COMPUESTOS HETEROBIFUNCIONALES Y MÉTODOS DE TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] Esta solicitud reivindica el beneficio y la prioridad de la solicitud de patente china con número de serie 202411404732.7, presentada el 9 de octubre de 2024; la solicitud de patente provisional de los Estados Unidos con número de serie 63/563.000, presentada el 8 de marzo de 2024; la solicitud de patente provisional de los Estados Unidos con número de serie 63/618.075, presentada el 5 de enero de 2024; y la solicitud de patente provisional de los Estados Unidos con número de serie 63/544.710, presentada el 18 de octubre de 2023; cuyos contenidos se incorporan en la presente por referencia en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0002] La invención proporciona compuestos heterobifuncionales, composiciones farmacéuticas y su uso en el tratamiento de enfermedades, tales como el cáncer.

ANTECEDENTES

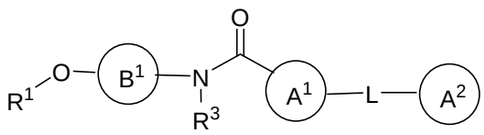
[0003] El cáncer sigue siendo un problema de salud importante a pesar de los considerables esfuerzos de investigación y los avances científicos que se recogen en la bibliografía para el tratamiento de esta enfermedad. Los tumores sólidos, incluidos el cáncer de próstata, el cáncer de mama y el cáncer de pulmón, siguen teniendo una alta prevalencia entre la población mundial. La incidencia del cáncer de próstata aumenta con la edad, y con el aumento de la longevidad de los seres humanos, continúa produciéndose un incremento correspondiente en la cantidad de pacientes que padecen cáncer de próstata. El cáncer de mama es uno de los cánceres más comunes entre las mujeres y una de las principales causas de muerte en mujeres de entre 50-55 años. El cáncer de pulmón es una de las principales causas de muerte entre los pacientes con cáncer, y más del 85 % de los casos son de cáncer broncopulmonar no microcítico (NSCLC, por sus siglas en inglés). Muchos casos de cáncer de pulmón se atribuyen al tabaquismo. Las opciones de tratamiento actuales para estos tipos de cáncer no son eficaces para todos los pacientes y/o pueden tener efectos secundarios adversos importantes.

[0004] Se necesitan nuevas terapias para abordar esta necesidad insatisfecha en el tratamiento del cáncer. En particular, se necesitan nuevas terapias que logren un efecto anticancerígeno a través de un mecanismo diferente al de las terapias comúnmente disponibles. Los mecanismos ilustrativos para terapias comunes contra el cáncer incluyen (a) la alquilación del ADN que limita la capacidad de la célula para reproducirse, (b) la inhibición de la topoisomerasa, en la que el agente terapéutico inhibe la actividad de una topoisomerasa limitando así la separación de las hebras de ADN, y (c) la inhibición mitótica, donde el agente terapéutico reduce la capacidad de la célula para dividirse. Las nuevas terapias que logran un efecto anticancerígeno a través de un mecanismo diferente ofrecen la oportunidad de tratar el cáncer de manera más eficaz y/o de tratar cánceres que se han vuelto resistentes a los medicamentos disponibles actualmente.

[0005] La presente invención responde a las necesidades antes mencionadas y proporciona otras ventajas relacionadas.

COMPENDIO

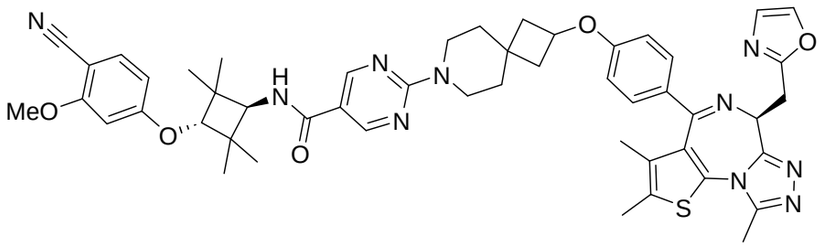
[0006] La invención proporciona compuestos heterobifuncionales, composiciones farmacéuticas y su uso en el tratamiento de enfermedades, tales como el cáncer. En particular, un aspecto de la invención proporciona un grupo de compuestos heterobifuncionales, tales como un compuesto representado por la Fórmula **I**:



(**I**)

o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, donde las variables son las definidas en la descripción detallada. En la descripción detallada se incluyen descripciones más exhaustivas de otros grupos de compuestos heterobifuncionales. La composición puede ser parte de una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable.

[0007] Otro aspecto de la invención proporciona un compuesto cristalino de la Fórmula **II-5**:



(**II-5**).

El compuesto puede ser parte de una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable.

[0008] Otro aspecto de la invención proporciona un método para tratar el cáncer. El método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto de la Fórmula **I**, para tratar el cáncer.

[0009] Otro aspecto de la invención proporciona un método para provocar la muerte de una célula cancerosa. El método comprende poner en contacto una célula cancerosa con una cantidad eficaz de un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto de la Fórmula **I**, para provocar la muerte de la célula cancerosa.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0010] **La Figura 1** es un gráfico que muestra la formación del complejo ternario detectado entre el compuesto de prueba, el receptor de andrógenos y la proteína BRD4, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 67.

[0011] **La Figura 2** es un gráfico que muestra la formación del complejo ternario detectado entre el Compuesto II-5, el receptor de andrógenos y la proteína BRD4, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 68.

[0012] **La Figura 3** es un gráfico que muestra la viabilidad celular en función de la dosis del Compuesto II-5, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 69.

[0013] **La Figura 4** es un gráfico que muestra la formación relativa del complejo ternario presente con el tratamiento del Compuesto II-5 en dosis variables en muestras recogidas al final del estudio del modelo de xenoinjerto tumoral VCaP de castración PK/PD, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 70.

[0014] **La Figura 5** es un gráfico que muestra la cantidad total relativa de ARNm de cMYC presente en los tumores recolectados al final del modelo VcaP de castración $V7^{+}$, PK/PD Ar^{amp}, para diferentes cantidades de dosis del Compuesto II-5, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 70.

[0015] **La Figura 6** es un gráfico que muestra la cantidad total relativa de ARNm de HEXIM1 presente en los tumores recolectados al final del modelo VcaP de castración $V7^{+}$, PK/PD Ar^{amp}, para cada una de las diferentes cantidades de dosis del Compuesto II-5, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 70.

[0016] **La Figura 7** es un gráfico que muestra la cantidad total relativa de ARNm de TXNIP presente en los tumores recolectados al final del modelo VcaP de castración $V7^{+}$, PK/PD Ar^{amp}, para cada una de las diferentes cantidades de dosis del Compuesto II-5, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 70.

[0017] **La Figura 8** es un gráfico que muestra el crecimiento del tumor en ratones tratados con el Compuesto II-5, el Compuesto A o el vehículo, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 70.

[0018] **La Figura 9** es un gráfico de cascada que muestra el cambio en el tamaño de los tumores al final del estudio en relación con el valor inicial en ratones tratados con el Compuesto II-5, el Compuesto A o el vehículo, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 70.

[0019] **La Figura 10** es un gráfico que muestra los niveles plasmáticos de PSA determinados en ratones al final del estudio tratados con el Compuesto II-5, el Compuesto A o el vehículo, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 70.

[0020] **La Figura 11** es un gráfico que muestra el volumen del tumor en ratones tratados con (i) vehículo, (ii) Compuesto II-5 de acuerdo con un primer régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue la misma que la usada para el vehículo y para el Compuesto A, (iii) Compuesto II-5 de acuerdo con un segundo régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue el doble de frecuente que la usada para el vehículo y para el Compuesto A, o (iv) Compuesto A, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 71.

[0021] **La Figura 12** es un gráfico de cascada que muestra un cambio en el tamaño de tumores al final del estudio en relación con el valor inicial en ratones tratados con (i) vehículo, (ii) Compuesto II-5 de acuerdo con un primer régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue la misma que la usada para el vehículo y para el Compuesto A, (iii) Compuesto II-5 de acuerdo con un segundo régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue el doble de frecuente que la usada para el vehículo y para el Compuesto A, o (iv) Compuesto A, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 71.

[0022] **La Figura 13** es un gráfico que muestra los niveles plasmáticos de PSA determinados en ratones al final del estudio tratados con (i) vehículo, (ii) Compuesto II-5 de acuerdo con un primer régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue la misma que la usada para el vehículo y para el Compuesto A, (iii) Compuesto II-5 de acuerdo con un segundo régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue el doble de frecuente que la usada para el vehículo y para el Compuesto A, o (iv) Compuesto A, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 71.

[0023] **La Figura 14** muestra un difractograma de polvo de rayos X del Compuesto II-5 en la Forma cristalina A, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 59.

[0024] **La Figura 15** muestra una curva de calorimetría diferencial de barrido del Compuesto II-5 en la Forma cristalina A, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 59.

[0025] **La Figura 16** muestra una curva de análisis termogravimétrico del Compuesto II-5 en la Forma cristalina A, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 59.

[0026] **La Figura 17** muestra un difractograma de polvo de rayos X del Compuesto II-5 en la Forma cristalina B, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 61.

[0027] **La Figura 18** muestra una curva de calorimetría diferencial de barrido del Compuesto II-5 en la Forma cristalina B, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 61.

[0028] **La Figura 19** muestra una curva de análisis termogravimétrico del Compuesto II-5 en la Forma cristalina B, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 61.

[0029] **La Figura 20** es un gráfico que muestra la formación relativa del complejo ternario presente en muestras recogidas al final del estudio del modelo de xenoinjerto tumoral VCaP de castración PK/PD, para ratones tratados con el Compuesto II-5, Compuesto B o un vehículo, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 72.

[0030] **La Figura 21** es un gráfico que muestra la cantidad total relativa de ARNm de cMYC presente en los tumores recolectados al final del modelo VcaP de castración $V7^{+}$, PK/PD Ar^{amp}, para cada uno del Compuesto II-5 y Compuesto B, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 72.

[0031] **La Figura 22** es un gráfico que muestra la cantidad total relativa de ARNm de HEXIM1 presente en los tumores recolectados al final del modelo VcaP de castración $V7^{+}$, PK/PD Ar^{amp}, para cada uno del Compuesto II-5 y Compuesto B, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 72.

[0032] **La Figura 23** es un gráfico que muestra el volumen del tumor en ratones tratados con (i) vehículo, (ii) el Compuesto II-5 o (iii) el Compuesto B, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 73.

[0033] **La Figura 24** proporciona gráficos que muestran la señal BRET normalizada frente a la concentración del compuesto para el Compuesto II-5 y el Compuesto B en el ensayo TE celular BRD4 con receptor de andrógenos inducible (AR), como se describe adicionalmente en el Ejemplo 74.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0034] La invención proporciona compuestos heterobifuncionales, composiciones farmacéuticas y su uso en el tratamiento de enfermedades, tales como el cáncer. La práctica de la presente invención emplea, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de química orgánica, farmacología, biología molecular (incluidas las técnicas recombinantes), biología celular, bioquímica e inmunología. Estas técnicas se explican en la literatura, por ejemplo en “Comprehensive Organic Synthesis” (B.M. Trost & I. Fleming, eds., 1991-1992); “Handbook of experimental immunology” (D.M. Weir & C.C. Blackwell, eds.); “Current protocols in molecular biology” (F.M. Ausubel *et al.*, eds., 1987, y actualizaciones periódicas); y “Current protocols in immunology” (J.E. Coligan *et al.*, eds., 1991), cada una de las cuales se incorpora aquí por referencia en su totalidad.

[0035] A continuación se establecen diversos aspectos de la invención en secciones; sin embargo, los aspectos de la invención descritos en una sección en particular no deben limitarse a ninguna sección en particular. Además, cuando una variable no va acompañada de

una definición, prevalece la definición anterior de la variable.

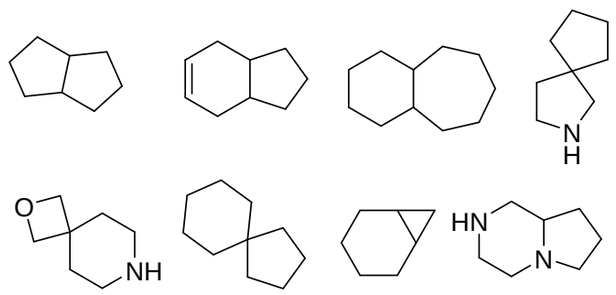
Definiciones

[0036] Los compuestos de la presente invención incluyen los descritos en general en la presente, y se ilustran adicionalmente mediante las clases, subclases y especies descritas en la presente. Como se usa en la presente, se aplicarán las siguientes definiciones a menos que se indique lo contrario. Estas definiciones se aplican independientemente de si un término se usa solo o en combinación con otros términos, a menos que se indique lo contrario. Por lo tanto, la definición de “alquilo” se aplica tanto al “alquilo” como a las porciones “alquilo” de “-O-alquilo”, etc. Para los fines de esta invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry y Physics, 75.ª ed. Además, los principios generales de la química orgánica se describen en “Organic Chemistry”, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, y “March's Advanced Organic Chemistry”, 5.ª ed., Ed.: Smith, M.B. y March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 2001, cuyo contenido completo se incorpora aquí por referencia.

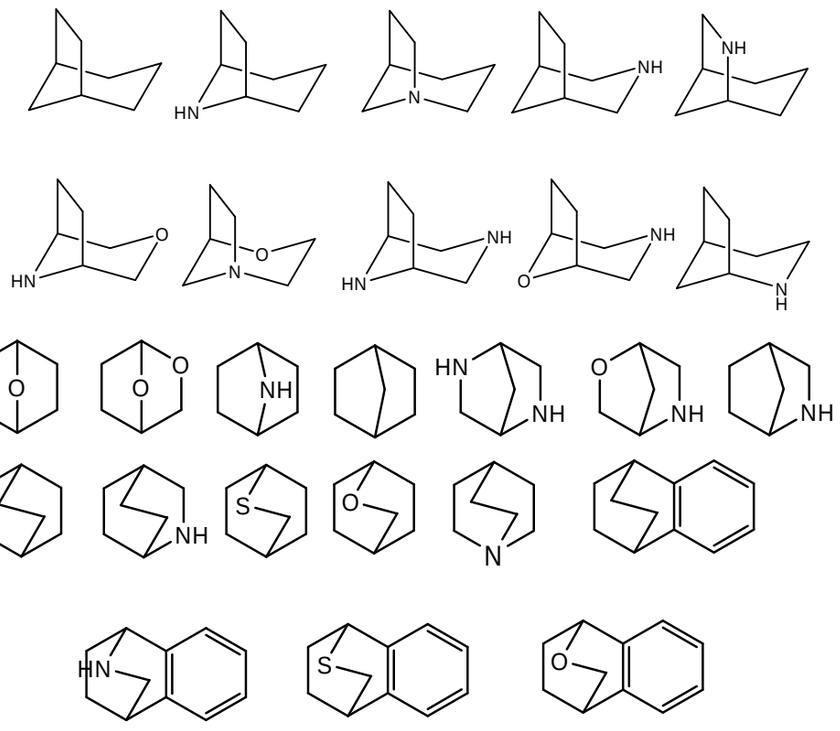
[0037] El término “alifático” o “grupo alifático”, como se utiliza en la presente, se refiere a una cadena de hidrocarburos lineal (es decir, no ramificada) o ramificada, sustituida o no sustituida, que está completamente saturada o que contiene una o más unidades de insaturación, o un hidrocarburo monocíclico o bicíclico que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático (también denominado en la presente como “cicloalifático”), que tiene un único punto de unión con el resto de la molécula. A menos que se especifique lo contrario, los grupos alifáticos contienen 1-6 átomos de carbono alifáticos. En algunas modalidades, los grupos alifáticos contienen 1-5 átomos de carbono alifáticos. En otras modalidades, los grupos alifáticos contienen 1-4 átomos de carbono alifáticos. En otras modalidades, los grupos alifáticos contienen 1-3 átomos de carbono alifáticos, y en otras modalidades, los grupos alifáticos contienen 1-2 átomos de carbono alifáticos. En algunas modalidades, “cicloalifático” se refiere a un hidrocarburo monocíclico C_3-C_6 que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático, y que tiene un único punto de unión con el resto de la molécula. Los grupos alifáticos adecuados incluyen, entre otros, grupos alquilo, alquenilo, alquinilo lineales o ramificados, sustituidos o no sustituidos e híbridos de estos, tales como (cicloalquil)alquilo, (cicloalquenil)alquilo o (cicloalquil)alquenilo.

[0038] Como se usa en la presente, el término “anillo bicíclico” o “sistema de anillo bicíclico” se refiere a cualquier sistema de anillo bicíclico, es decir, carbocíclico o heterocíclico, saturado o que tenga una o más unidades de insaturación, que tenga uno o más átomos en común entre los dos anillos del sistema de anillo. Por lo tanto, el término incluye cualquier fusión de anillos permitida, como la fusión *orto* o la espirocíclica. Como se usa en la presente, el término "heterobicíclico" es un subconjunto de "bicíclico" que requiere que uno o más heteroátomos estén presentes en uno o ambos anillos de la bicicleta. Dichos heteroátomos pueden estar presentes en las uniones de los anillos y pueden sustituirse opcionalmente, y pueden seleccionarse entre nitrógeno (incluidos los N-óxidos), oxígeno, azufre (incluidas las formas oxidadas tales como las sulfonas y los sulfonatos), fósforo (incluidas las formas oxidadas tales como los fosfatos), boro, etc. En algunas modalidades, un grupo bicíclico tiene 7-12 miembros de anillo y 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o

azufre. Como se usa en la presente, el término "bicíclico puenteado" se refiere a cualquier sistema de anillo bicíclico, es decir, carbocíclico o heterocíclico, saturado o parcialmente insaturado, que tenga al menos un puente. Según la definición de la IUPAC, un “puente” es una cadena no ramificada de átomos o un átomo o un enlace de valencia que conecta dos cabezas de puente, donde una “cabeza de puente” es cualquier átomo esquelético del sistema de anillo que está unido a tres o más átomos esqueléticos (excluyendo el hidrógeno). En algunas modalidades, un grupo bicíclico puenteado tiene 7-12 miembros de anillo y 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre. Estos grupos bicíclicos puenteados son bien conocidos en la técnica e incluyen aquellos grupos que se establecen a continuación, donde cada grupo está unido al resto de la molécula en cualquier átomo de carbono o nitrógeno sustituible. A menos que se especifique lo contrario, un grupo bicíclico puenteado puede sustituirse opcionalmente con uno o más sustituyentes, como se establece para los grupos alifáticos. Adicional o alternativamente, cualquier nitrógeno sustituible de un grupo bicíclico puenteado puede sustituirse opcionalmente. Los anillos bicíclicos ilustrativos incluyen:



[0039] Los bicíclicos puenteados ilustrativos incluyen:



.

[0040] El término “alquilo inferior” se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado de C_{1-4}. Algunos ejemplos de grupos alquilo inferiores son metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo y *terc*-butilo.

[0041] El término “haloalquilo inferior” se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado C_{1-4} que está sustituido con uno o más átomos de halógeno.

[0042] El término “heteroátomo” significa uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo

o silicio (incluyendo cualquier forma oxidada de nitrógeno, azufre, fósforo o silicio; la forma cuaternizada de cualquier nitrógeno básico o; un nitrógeno sustituible de un anillo heterocíclico, por ejemplo N (como en 3,4-dihidro-2*H*-pirrolilo), NH (como en pirrolidinilo) o NR^+ (como en pirrolidinilo N-sustituido)).

[0043] El término “insaturado”, como se usa en la presente, significa que un resto tiene una o más unidades de insaturación.

[0044] Como se usa en la presente, el término "cadena de hidrocarburos bivalentes C_{1-8} (o C_{1-6}) saturada o insaturada, lineal o ramificada" se refiere a cadenas de alquileno, alquenileno y alquinileno bivalentes que son lineales o ramificadas según se definen en la presente.

[0045] El término “alquileno” se refiere a un grupo alquilo bivalente. Una “cadena de alquileno” es un grupo polimetileno, es decir, $–(CH_2)_n–$, en donde n es un número entero positivo, preferiblemente de 1 a 6, de 1 a 4, de 1 a 3, de 1 a 2 o de 2 a 3. Una cadena de alquileno sustituida es un grupo polimetileno en el que uno o más átomos de hidrógeno del metileno se reemplazan por un sustituyente. Los sustituyentes adecuados incluyen los que se describen a continuación para un grupo alifático sustituido.

[0046] El término “-(alquileno C_0)-” se refiere a un enlace. En consecuencia, el término “-(alquileno C_{0-3})-” abarca un enlace (es decir, C_0) y un grupo -(alquileno C_{1-3})-.

[0047] El término “alquenileno” se refiere a un grupo alquenilo bivalente. Una cadena de alquenileno sustituida es un grupo de polimetileno que contiene al menos un doble enlace en el que uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan por un sustituyente. Los sustituyentes adecuados incluyen los que se describen a continuación para un grupo alifático sustituido.

[0048] El término “halógeno” se refiere a F, Cl, Br o I.

[0049] El término “arilo”, usado solo o como parte de un resto mayor como en “aralquilo”, “aralcoxi” o “ariloxialquilo”, se refiere a sistemas de anillos monocíclicos o bicíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros de anillo, en donde al menos un anillo del sistema es aromático y en donde cada anillo del sistema contiene de 3 a 7 miembros de anillo. El término “arilo” puede utilizarse indistintamente con el término “anillo arilo”. En ciertas modalidades de la presente invención, “arilo” se refiere a un sistema de anillo aromático que incluye, entre otros, fenilo, bifenilo, naftilo, antracilo y similares, que puede tener uno o más sustituyentes. También se incluye dentro del alcance del término "arilo", como se usa en la presente, un grupo en el que un anillo aromático está fusionado a uno o más anillos no aromáticos, tales como indanilo, ftalimidilo, naftimidilo, fenantridinilo o tetrahidronaftilo, y similares. El término “haloarilo” se refiere a un grupo arilo sustituido con al menos un halógeno. Los grupos haloarilo ilustrativos incluyen el clorofenilo (por ejemplo, 3-clorofenilo, 4-clorofenilo), fluorofenilo y similares. El término “fenileno” se refiere a un grupo fenilo bivalente.

[0050] Los términos “heteroarilo” y “heteroar–”, usados solos o como parte de un resto mayor, por ejemplo, “heteroaralquilo” o “heteroaralcoxi”, se refieren a grupos que tienen de 5 a 10 átomos de anillo, preferiblemente 5, 6 o 9 átomos de anillo; que tienen 6, 10 o 14 electrones π compartidos en una disposición cíclica; y que tienen, además de átomos de carbono, de uno a cinco heteroátomos. El término “heteroátomo” se refiere a nitrógeno, oxígeno o azufre, e incluye cualquier forma oxidada de nitrógeno o azufre, y cualquier forma cuaternizada de un nitrógeno básico. Los grupos heteroarílicos incluyen, entre otros, tienilo, furanilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo,

tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolizinilo, purinilo, naftiridinilo y pteridinilo. Los términos “heteroarilo” y “heteroar–”, como se usa en la presente, también incluyen grupos en los que un anillo heteroaromático está fusionado a uno o más anillos arilo, cicloalifáticos o heterociclilo, donde, a menos que se especifique lo contrario, el radical o punto de unión está en el anillo heteroaromático o en uno de los anillos a los que está fusionado el anillo heteroaromático. Algunos ejemplos no limitantes incluyen indolilo, isoindolilo, benzotienilo, benzofuranilo, dibenzofuranilo, indazolilo, bencimidazolilo, bencitiazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinnolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, 4*H*–quinolizinilo, carbazolilo, acridinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxazinilo, tetrahidroquinolinilo y tetrahidroisoquinolinilo. Un grupo heteroarilo puede ser mono– o bicíclico. El término “heteroarilo” puede usarse indistintamente con los términos “anillo heteroarilo”, “grupo heteroarilo” o “heteroaromático”, cualquiera de los cuales incluye anillos que se sustituyen opcionalmente. El término “heteroaralquilo” se refiere a un grupo alquilo sustituido por un heteroarilo, en donde las porciones alquilo y heteroarilo se sustituyen opcionalmente de forma independiente. El término “haloheteroarilo” se refiere a un grupo heteroarilo sustituido con al menos un halógeno. Los grupos haloheteroarilo ilustrativos incluyen cloropiridina, fluoropiridina, cloropirazol, fluoropirazol y similares. El término “heteroarileno” se refiere a un grupo heteroarilo bivalente. De manera similar, los términos “pirazoleno”, “imidazoleno” y “pirrolileno” se refieren, respectivamente a los grupos pirazolilo, imidazolilo y pirrolilo bivalentes. De manera similar, los términos “piridazinileno”, “pirimidinileno”, “pirazinileno” y “piridinileno” se refieren respectivamente a grupos bivalentes piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo y piridinilo.

[0051] Como se usa en la presente, los términos "heterociclo", "heterociclilo", "radical heterocíclico" y "anillo heterocíclico" se utilizan indistintamente y se refieren a un resto heterocíclico estable de 5 a 7 miembros monocíclico o de 7 a 10 miembros bicíclico, que es saturado o parcialmente insaturado y que, además de átomos de carbono, tiene uno o más heteroátomos, preferiblemente de uno a cuatro, como se definió anteriormente. Cuando se usa en referencia a un átomo del anillo de un heterociclo, el término "nitrógeno" incluye un nitrógeno sustituido. Como ejemplo, en un anillo saturado o parcialmente insaturado que tiene 0–3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre o nitrógeno, el nitrógeno puede ser N (como en 3,4–dihidro–2*H*–pirrolilo), NH (como en pirrolidinilo) o $^{+}$NR (como en pirrolidinilo *N*–sustituido).

[0052] Un anillo heterocíclico puede unirse a su grupo colgante en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que dé como resultado una estructura estable, y cualquiera de los átomos del anillo puede sustituirse opcionalmente. Ejemplos de tales radicales heterocíclicos saturados o parcialmente insaturados incluyen, entre otros, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiofenil pirrolidinilo, piperidinilo, pirrolinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, decahidroquinolinilo, oxazolidinilo, piperazinilo, dioxanilo, dioxolanilo, diazepinilo, oxazepinilo, tiazepinilo, morfolinilo, 2-oxa-6-azaspiro[3,3]heptano y quinuclidinilo. Los términos “heterociclo”, “heterociclilo”, “anillo heterociclilo”, “grupo heterocíclico”, “resto heterocíclico” y “radical heterocíclico” se usan indistintamente en la presente, e incluyen también grupos en los que un anillo heterocíclico está fusionado a uno o más anillos arilo, heteroarilo o cicloalifáticos, tales como indolilo, 3*H*–indolilo, cromanilo, fenantridinilo o tetrahidroquinolinilo.

Un grupo heterociclilo puede ser mono– o bicíclico. El término “heterociclilalquilo” se refiere a un grupo alquilo sustituido por un heterociclilo, en donde las porciones alquilo y heterociclilo se sustituyen opcionalmente de forma independiente. El término “heterociclileno” se refiere a un grupo heterociclilo bivalente. Los términos “piperidinileno”, “piperazinileno” y “azetidinileno” se refieren, respectivamente, a los grupos piperidinilo, piperazinilo y azetidinilo bivalentes.

[0053] Como se usa en la presente, el término “heterocicloalquilo” se refiere a un heterociclilo saturado. El término “heterocicloalquileno” se refiere a un grupo heterocicloalquilo bivalente.

[0054] Como se usa en la presente, el término "parcialmente insaturado" se refiere a un resto de anillo que incluye al menos un enlace doble o triple. El término “parcialmente insaturado” pretende abarcar los anillos que tienen múltiples sitios de insaturación, pero no pretende incluir los restos arilo o heteroarilo, como se definen en la presente.

[0055] Como se describe en la presente, los compuestos de la invención pueden contener restos “opcionalmente sustituidos”. En general, el término "sustituido", ya sea que esté precedido o no del término "opcionalmente", significa que uno o más hidrógenos del resto designado se reemplazan con un sustituyente adecuado. A menos que se indique lo contrario, un grupo "opcionalmente sustituido" puede tener un sustituyente adecuado en cada posición sustituible del grupo, y cuando más de una posición en una estructura dada puede sustituirse con más de un sustituyente seleccionado de un grupo específico, el sustituyente puede ser el mismo o diferente en cada posición. Las combinaciones de sustituyentes previstas en esta invención son preferiblemente aquellas que dan lugar a la formación de compuestos estables o químicamente viables. El término “estable”, como se usa en la presente, se refiere a compuestos que no se alteran sustancialmente cuando se someten a condiciones que permiten su producción, detección y, en ciertas modalidades, su recuperación, purificación y uso para uno o más de los fines descritos en la presente.

[0056] Cada carbono sustituyente o sustituible opcional es un sustituyente monovalente seleccionado independientemente entre halógeno; $–(CH_2)_{0–4}R°$; $–(CH_2)_{0–4}OR°$; $-O(CH_2)_{0-4}R^o$, $–O–(CH_2)_{0–4}C(O)OR°$; $–(CH_2)_{0–4}CH(OR°)_2$; $–(CH_2)_{0–4}SR°$; $–(CH_2)_{0–4}Ph$, que puede sustituirse por R°; $–(CH_2)_{0–4}O(CH_2)_{0–1}Ph$ que puede sustituirse por R°; –CH=CHPh, que puede sustituirse por R°; $–(CH_2)_{0–4}O(CH_2)_{0–1}$-piridilo que puede sustituirse por R°; $–NO_2$; –CN; $–N_3$; $-(CH_2)_{0–4}N(R°)_2$; $–(CH_2)_{0–4}N(R°)C(O)R°$; $–N(R°)C(S)R°$; $–(CH_2)_{0–4}N(R°)C(O)NR°_2$; $-N(R°)C(S)NR°_2$; $–(CH_2)_{0–4}N(R°)C(O)OR°$; $–N(R°)N(R°)C(O)R°$; $-N(R°)N(R°)C(O)NR°_2$; $-N(R°)N(R°)C(O)OR°$; $–(CH_2)_{0–4}C(O)R°$; $–C(S)R°$; $–(CH_2)_{0–4}C(O)OR°$; $–(CH_2)_{0–4}C(O)SR°$; $-(CH_2)_{0–4}C(O)OSiR°_3$; $–(CH_2)_{0–4}OC(O)R°$; $–OC(O)(CH_2)_{0–4}SR–$, SC(S)SR°; $–(CH_2)_{0–4}SC(O)R°$; $–(CH_2)_{0–4}C(O)NR°_2$; $–C(S)NR°_2$; $–C(S)SR°$; $–SC(S)SR°$, $-(CH_2)_{0–4}OC(O)NR°_2$; $-C(O)N(OR°)R°$; $–C(O)C(O)R°$; $–C(O)CH_2C(O)R°$; $–C(NOR°)R°$; $-(CH_2)_{0–4}SSR°$; $–(CH_2)_{0–4}S(O)_2R°$; $–(CH_2)_{0–4}S(O)_2OR°$; $–(CH_2)_{0–4}OS(O)_2R°$; $–S(O)_2NR°_2$; –S(O)(NR°)R°; $–S(O)_2N=C(NR°_2)_2$; $-(CH_2)_{0–4}S(O)R°$; $-N(R°)S(O)_2NR°_2$; $–N(R°)S(O)_2R°$; –N(OR°)R°; $–C(NH)NR°_2$; $–P(O)_2R°$; $-P(O)R°_2$; $-OP(O)R°_2$; $–OP(O)(OR°)_2$; $SiR°_3$; –(alquileno $C_{1–4}$ lineal o ramificado)O–$N(R°)_2$; o –(alquileno $C_{1–4}$ lineal o ramificado)C(O)O–$N(R°)_2$.

[0057] Cada R° es independientemente hidrógeno, $C_{1–6}$ alifático, $–CH_2Ph$, $–O(CH_2)_{0–1}Ph$, $-CH_2$-(anillo heteroarilo de 5-6 miembros), o un anillo arilo saturado, parcialmente insaturado o

de 5–6 miembros que tiene 0–4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, o, a pesar de la definición anterior, dos apariciones independientes de R°, junto con su(s) átomo(s) intermedio(s), forman un anillo mono- o bicíclico saturado, parcialmente insaturado o arilo de 3–12 miembros que tiene 0–4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre, que puede ser sustituido por un sustituyente divalente en un átomo de carbono saturado de R° seleccionado de =O y =S; o cada R° se sustituye opcionalmente con un sustituyente monovalente seleccionado independientemente entre halógeno, $–(CH_2)_{0–2}R^•$, –(haloR•), $–(CH_2)_{0–2}OH$, $–(CH_2)_{0–2}OR^•$, $–(CH_2)_{0–2}CH(OR^•)_2$; -O(haloR•), –CN, $–N_3$, $–(CH_2)_{0–2}C(O)R^•$, $–(CH_2)_{0–2}C(O)OH$, $–(CH_2)_{0–2}C(O)OR^•$, $–(CH_2)_{0–2}SR^•$, $–(CH_2)_{0–2}SH$, $–(CH_2)_{0–2}NH_2$, $–(CH_2)_{0–2}NHR^•$, $–(CH_2)_{0–2}NR^•_2$, $–NO_2$, $–SiR^•_3$, $–OSiR^•_3$, -C(O)SR•, –(alquileno $C_{1–4}$ lineal o ramificado)C(O)OR•, o –SSR•.

[0058] Cada R• se selecciona independientemente de $C_{1–4}$alifático, $–CH_2Ph$, $–O(CH_2)_{0–1}Ph$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5–6 miembros que tiene 0–4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre, y en donde cada R• no está sustituido o, cuando está precedido por halo, se sustituye solo con uno o más halógenos; o en donde un sustituyente opcional en un carbono saturado es un sustituyente divalente seleccionado independientemente entre =O, =S, $=NNR^*_2$, $=NNHC(O)R^*$, $=NNHC(O)OR^*$, $=NNHS(O)_2R^*$, $=NR^*$, $=NOR^*$, $–O(C(R^*_2))_{2–3}O–$, o $–S(C(R^*_2))_{2–3}S–$, o un sustituyente divalente unido a carbonos vecinales sustituibles de un grupo “opcionalmente sustituido” es $–O(CR^*_2)_{2–3}O–$, en donde cada aparición independiente de R^* se selecciona de hidrógeno, $C_{1–6}$alifático o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5–6 miembros no sustituido que tiene 0–4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre.

[0059] Cuando R^* es $C_{1–6}$ alifático, R^* está opcionalmente sustituido con halógeno, –R•, -(haloR•), -OH, –OR•, –O(haloR•), –CN, –C(O)OH, –C(O)OR•, $–NH_2$, –NHR•, $–NR^•_2$, o $–NO_2$, en donde cada R• se selecciona independientemente de $C_{1–4}$alifático, $–CH_2Ph$, $–O(CH_2)_{0–1}Ph$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5–6 miembros que tiene 0–4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, y en donde cada R• no está sustituido o cuando está precedido por halo está sustituido solo con uno o más halógenos.

[0060] Un sustituyente opcional en un nitrógeno sustituible es independientemente $–R^†$, $–NR^†_2$, $–C(O)R^†$, $–C(O)OR^†$, $–C(O)C(O)R^†$, $–C(O)CH_2C(O)R^†$, $-S(O)_2R^†$, $-S(O)_2NR^†_2$, $–C(S)NR^†_2$, $–C(NH)NR^†_2$, o $–N(R^†)S(O)_2R^†$; en donde cada $R^†$ es independientemente hidrógeno, $C_{1–6}$ alifático, –OPh no sustituido, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5–6 miembros no sustituido que tiene 0–4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, o, dos apariciones independientes de $R^†$, junto con su(s) átomo(s) intermedio(s) forman un anillo mono- o bicíclico saturado, parcialmente insaturado o arilo de 3–12 miembros no sustituido que tiene 0–4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre; en donde cuando $R^†$ es $C_{1–6}$ alifático, $R^†$ se sustituye opcionalmente con halógeno, –R•, -(haloR•), -OH, –OR•, –O(haloR•), –CN, –C(O)OH, –C(O)OR•, $–NH_2$, –NHR•, $–NR^•_2$, o $–NO_2$, en donde cada R• se selecciona independientemente de $C_{1–4}$alifático, $–CH_2Ph$, $–O(CH_2)_{0–1}Ph$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5–6 miembros que tiene 0–4 heteroátomos seleccionados

independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, y en donde cada R• no está sustituido o cuando está precedido por halo se sustituye solo con uno o más halógenos.

[0061] Como se usa en la presente, la expresión “sal farmacéuticamente aceptable” hace referencia a aquellas sales que, dentro del alcance del criterio médico, son adecuadas para su uso en contacto con tejidos humanos y animales invertebrados sin provocar una toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, con una relación beneficio/riesgo correspondiente razonable. Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en la técnica. por ejemplo, S.M. Berge *et al*., describen detalladamente las sales farmacéuticamente aceptables en J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1–19, que se incorpora en la presente como referencia. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención incluyen aquellas derivadas de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos adecuados. Los ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y no tóxicas son las sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como el ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico, o con ácidos orgánicos tales como el ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico, o mediante otros métodos usados en la técnica, tales como el intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, valerato y similares.

[0062] Además, se analizan los ácidos que generalmente se consideran adecuados para la formación de sales farmacéuticamente útiles a partir de compuestos farmacéuticos básicos, por ejemplo, por P. Stahl *et al.*, Camille G. (eds.) *Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use.* (2002) Zúrich: Wiley-VCH; S. Berge *et al.*, *Journal of Pharmaceutical Sciences* (1977) 66(1) 1-19; P. Gould, *International J. of Pharmaceutics* (1986) 33 201-217; Anderson *et al.*, *The Practice of Medicinal Chemistry* (1996), Academic Press, Nueva York; y en *The Orange Book* (Food & Drug Administration, Washington, D.C. en su sitio web). Estas descripciones se incorporan a la presente por referencia.

[0063] Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metales alcalinos, metales alcalinotérreos, amonio y N^+(alquilo $C_{1–4})_4$. Las sales representativas de metales alcalinos o alcalinotérreos incluyen el sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, etc. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen, cuando corresponde, cationes de amonio no tóxicos, amonio cuaternario y amina formados usando contraiones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato de alquilo inferior y sulfonato de arilo.

[0064] A menos que se indique lo contrario, las estructuras representadas en la presente también pretenden incluir todas las formas isoméricas (por ejemplo, enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales)) de la estructura; por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, los isómeros de doble enlace Z y E, y los

isómeros conformacionales Z y E. por lo tanto, los isómeros estereoquímicos individuales, así como las mezclas enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales) de los presentes compuestos, están dentro del alcance de la invención. A menos que se indique lo contrario, todas las formas tautoméricas de los compuestos de la invención están comprendidas dentro del alcance de la misma. La invención incluye compuestos que difieren únicamente en la presencia de uno o más átomos enriquecidos isotópicamente. por ejemplo, los compuestos que tienen las estructuras presentes que incluyen la sustitución de hidrógeno por deuterio o tritio, o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido con ^{13}C o ^{14}C están dentro del alcance de esta invención. Tales compuestos resultan útiles, por ejemplo, como herramientas analíticas, como sondas en ensayos biológicos o como agentes terapéuticos de acuerdo con la presente invención.

[0065] Las mezclas diastereoméricas pueden separarse en sus diastereómeros individuales en función de sus diferencias fisicoquímicas mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica, tales como, por ejemplo, cromatografía y/o cristalización fraccionada. Los enantiómeros pueden separarse mediante la conversión de la mezcla enantiomérica en una mezcla diastereomérica mediante la reacción con un compuesto ópticamente activo adecuado (*por ejemplo*, un auxiliar quiral tal como un alcohol quiral o cloruro de ácido de Mosher), que separa los diastereómeros y convierte (*por ejemplo*, hidroliza) los diastereómeros individuales en los enantiómeros puros correspondientes. Alternativamente, un enantiómero particular de un compuesto de la presente invención puede prepararse mediante síntesis asimétrica. Además, cuando la molécula contiene un grupo funcional básico (como un amino) o un grupo funcional ácido (como un ácido carboxílico), se forman sales diastereoméricas con un ácido o una base ópticamente activo apropiado, seguidas de la resolución de los diastereómeros así formados mediante cristalización fraccionada o métodos cromatográficos conocidos en la técnica, y la posterior recuperación de los enantiómeros puros.

[0066] Los estereoisómeros individuales de los compuestos de la invención pueden, por ejemplo, estar sustancialmente libres de otros isómeros, o pueden estar mezclados, por ejemplo, como racematos o con todos los demás estereoisómeros, o con otros estereoisómeros seleccionados. Los centros quirales en un compuesto de la presente invención pueden tener la configuración *S* o *R* según lo definido por las Recomendaciones de la *IUPAC* de 1974. Además, en la medida en que un compuesto descrito en la presente pueda existir como un atropoisómero (*por ejemplo*, biarilos sustituidos), todas las formas de dicho atropoisómero se consideran parte de esta invención.

[0067] Los nombres químicos, los nombres comunes y las estructuras químicas pueden usarse indistintamente para describir la misma estructura. Si a un compuesto químico se le hace referencia usando tanto su estructura química como su nombre químico, y existe ambigüedad entre la estructura y el nombre, la estructura prevalece. Cabe señalar también que cualquier átomo de carbono, así como cualquier heteroátomo con valencias insatisfechas en el texto, los esquemas, los ejemplos y las tablas de la presente, se supone que tiene la cantidad suficiente de átomos de hidrógeno para satisfacer dichas valencias.

[0068] Los términos “un” y “una”, como se usan en la presente, significan “uno o más” e incluyen el plural a menos que el contexto sea inapropiado.

[0069] El término “alquilo” se refiere a un hidrocarburo saturado, lineal o ramificado, tal

como un grupo lineal o ramificado de 1-12, 1-10 o 1-6 átomos de carbono, denominados en la presente como alquilo C_1-C_{12}, alquilo C_1-C_{10} y alquilo C_1-C_6, respectivamente. Los grupos alquilo ilustrativos incluyen, entre otros, metilo, etilo, propilo, isopropilo, 2-metil-1-propilo, 2-metil-2-propilo, 2-metil-1-butilo, 3-metil-1-butilo, 2-metil-3-butilo, 2,2-dimetil-1-propilo, 2-metil-1-pentilo, 3-metil-1-pentilo, 4-metil-1-pentilo, 2-metil-2-pentilo, 3-metil-2-pentilo, 4-metil-2-pentilo, 2,2-dimetil-1-butilo, 3,3-dimetil-1-butilo, 2-etil-1-butilo, butilo, isobutilo, *terc*-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, heptilo, octilo, etc.

[0070] El término “cicloalquilo” se refiere a un grupo de hidrocarburos cíclicos, bicíclicos o cíclicos puenteados (por ejemplo, adamantilo) saturados monovalentes de 3-12, 3-8, 4-8 o 4-6 carbonos, denominado en la presente, por ejemplo, como “cicloalquilo C_3-C_6 ”, derivado de un cicloalcano. Los grupos cicloalquilo ilustrativos incluyen el ciclohexilo, ciclopentilo, ciclobutilo y ciclopropilo. El término “cicloalquileno” se refiere a un grupo cicloalquilo bivalente.

[0071] El término “haloalquilo” se refiere a un grupo alquilo sustituido con al menos un halógeno. Los grupos haloalquilo ilustrativos incluyen -CH_2F, -CHF_2, -CF_3, -CH_2CF_3, -CF_2CF_3, y similares. El término “cloroalquilo” se refiere a un grupo alquilo que está sustituido con al menos un cloro. El término “bromoalquilo” se refiere a un grupo alquilo que está sustituido con al menos un bromo. El término “haloalquileno” se refiere a un grupo haloalquilo bivalente.

[0072] El término “hidroxialquilo” se refiere a un grupo alquilo que está sustituido con al menos un hidroxilo. Los grupos hidroxialquilo ilustrativos incluyen -CH_2CH_2OH, -$C(H)(OH)CH_3$, -$CH_2C(H)(OH)CH_2CH_2OH$ y similares.

[0073] El término “heteroalquilo” se refiere a un grupo alquilo en el que uno o más átomos de carbono han sido reemplazados por un heteroátomo (por ejemplo, N, O o S). Algunos ejemplos de grupos heteroalquilo son -OCH_3, -CH_2OCH_3, -$CH_2CH_2N(CH_3)_2$, y -CH_2CH_2OH. El grupo heteroalquilo puede contener, por ejemplo, de 2-4, de 2-6 o de 2-8 átomos seleccionados del grupo formado por carbono y un heteroátomo (por ejemplo, N, O o S). La expresión heteroalquilo de 3-8 miembros se refiere a un grupo heteroalquilo que tiene de 3-8 átomos seleccionados del grupo que consiste en carbono y un heteroátomo. El término “heteroalquileno” se refiere a un grupo heteroalquilo bivalente.

[0074] Los términos “alquenilo” y “alquinilo” son reconocidos en la técnica y se refieren a grupos alifáticos insaturados análogos en longitud y posible sustitución a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un enlace doble o triple, respectivamente. El término “haloalquenilo” se refiere a un grupo alquenilo sustituido con al menos un halógeno. El término “fluoroalquenilo” se refiere a un grupo alquenilo que está sustituido con al menos un fluoro. El término “nitroalquenilo” se refiere a un grupo alquenilo que está sustituido con al menos un nitro.

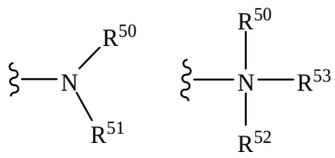
[0075] El término “carbocicliceno” se refiere a un grupo cicloalifático bivalente.

[0076] Los términos “alcoxilo” o “alcoxi” son reconocidos en la técnica y se refieren a un grupo alquilo, como se definió anteriormente, que tiene un radical de oxígeno unido a este. Los grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi, propiloxi, *terc*-butoxi y similares. El término “haloalcoxi” se refiere a un grupo alquilo sustituido con al menos un halógeno. Los grupos haloalquilo ilustrativos incluyen-OCH_2F, -$OCHF_2$, -OCF_3, -OCH_2CF_3, -OCF_2CF_3, y similares.

[0077] El término “oxo” es reconocido en la técnica y se refiere a un sustituyente “=O”. por

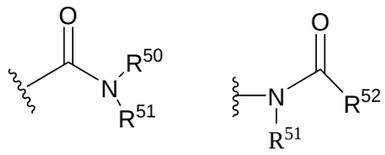
ejemplo, un ciclopentano sustituido con un grupo oxo es ciclopentanona.

[0078] El término “amino” es reconocido en la técnica y se refiere tanto a aminas no sustituidas como sustituidas, *por ejemplo*, un resto que puede representarse mediante las fórmulas generales:



en donde R^{50}, R^{51}, R^{52} y R^{53} representan cada uno independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo, $-(CH_2)_m-R^{61}$, o R^{50} y R^{51}, junto con el átomo de N al que están unidos completan un heterociclo que tiene de 4 a 8 átomos en la estructura del anillo; R^{61} representa un arilo, un cicloalquilo de 3-7 miembros, un cicloalquenilo de 4-7 miembros, un heteroarilo de 5-10 miembros o un heterociclilo de 3-10 miembros; y m es cero o un número entero en el rango de 1 a 8.

[0079] El término “amido” es reconocido en la técnica y se refiere tanto a amidas no sustituidas como sustituidas, *por ejemplo*, un resto que puede representarse mediante las fórmulas generales:



en donde R^{50} y R^{51} representan cada uno independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo,$-(CH_2)_m-R^{61}$, o R^{50} y R^{51}, junto con el átomo de N al que están unidos completan un heterociclo que tiene de 4 a 8 átomos en la estructura del anillo; R^{61} representa un arilo, un cicloalquilo de 3-7 miembros, un cicloalquenilo de 4-7 miembros, un heteroarilo de 5-10 miembros o un heterociclilo de 3-10 miembros; y m es cero o un número entero en el rango de 1 a 8; y R^{52} es un alquilo, un alquenilo, o $-(CH_2)_m-R^{61}$.

[0080] El símbolo “ 〰 ” indica un punto de unión.

[0081] Cuando un sustituyente o variable aparece más de una vez en cualquier componente o en el compuesto de la invención, su definición en cada aparición es independiente de su definición en todas las demás apariciones, a menos que se indique lo contrario.

[0082] Uno o más compuestos de la invención pueden existir tanto en forma no solvatada como solvatada con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares, y se pretende que la invención abarque tanto formas solvatadas como no solvatadas. “Solvato” significa una asociación física de un compuesto de esta invención con una o más moléculas de disolvente. Esta asociación física implica distintos grados de enlaces iónicos y covalentes, incluidos los enlaces de hidrógeno. En ciertos casos, el solvato podrá aislarse, por ejemplo, cuando una o más moléculas de disolvente se incorporan a la red cristalina del sólido cristalino. El término “solvato” abarca tanto los solvatos en fase de solución como los solvatos aislables. Los ejemplos no limitantes de solvatos adecuados incluyen los etanolatos, metanolatos y similares. Un “hidrato” es un solvato en donde la molécula de disolvente es H_2O.

[0083] Como se usa en la presente, los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente y se refieren a los organismos que serán tratados mediante los métodos de la

presente invención. Tales organismos incluyen preferiblemente, entre otros, mamíferos (*por ejemplo*, ratones, simios, equinos, bovinos, porcinos, caninos, felinos, y similares), y de manera aún más preferible incluyen a los seres humanos.

[0084] El término "IC_{50}" es reconocido en la técnica y se refiere a la concentración de un compuesto que se requiere para lograr una inhibición del 50 % del objetivo.

[0085] Como se usa en la presente, el término "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de un compuesto suficiente para producir resultados beneficiosos o deseados (*por ejemplo*, un resultado terapéutico, paliativo, inhibitorio o preventivo). Una cantidad eficaz puede administrarse en una o más administraciones, aplicaciones o dosis, y no está destinada a limitarse a una formulación o vía de administración en particular. Como se usa en la presente, el término "tratar" incluye cualquier efecto, *por ejemplo,* disminuir, reducir, modular, mejorar o eliminar, que dé como resultado la mejora de la condición, enfermedad, trastorno y similares, o la mejora de un síntoma de estos.

[0086] Como se usa en la presente, el término "composición farmacéutica" se refiere a la combinación de un agente activo con un excipiente, inerte o activo, lo que hace que la composición sea especialmente adecuada para uso diagnóstico o terapéutico *en vivo* o *ex vivo*.

[0087] Como se usa en la presente, el término "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquiera de los portadores farmacéuticos estándar, tal como una solución salina amortiguada con fosfato, agua, emulsiones (*por ejemplo*, tal como emulsiones de aceite/agua o agua/aceite) y varios tipos de agentes humectantes. Las composiciones también pueden incluir estabilizadores y conservantes. Para ejemplos de portadores, estabilizadores y adyuvantes, véase, *por ejemplo*, Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15.ª ed., Mack Publ. Co., Easton, PA [1975].

[0088] Para uso terapéutico, se considera que las sales de los compuestos de la presente invención son farmacéuticamente aceptables. Sin embargo, las sales de ácidos y bases que no son farmacéuticamente aceptables también pueden usarse, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable.

[0089] Además, cuando un compuesto de la invención contiene tanto un resto básico (tal como, entre otras, una piridina o un imidazol) como un resto ácido (tal como, entre otras, un ácido carboxílico), se pueden formar zwitteriones ("sales internas"). Tales sales ácidas y básicas usadas dentro del alcance de la invención son sales farmacéuticamente aceptables (*es decir*, no tóxicas y fisiológicamente aceptables). Tales sales de los compuestos de la invención pueden formarse, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto de la invención con una cantidad de ácido o base, tal como una cantidad equivalente, en un medio tal como aquel en el que precipita la sal o en un medio acuoso seguido de liofilización.

[0090] A lo largo de la descripción, cuando se describen composiciones que tienen, incluyen o comprenden componentes específicos, o cuando se describen procesos y métodos que tienen, incluyen o comprenden etapas específicas, se contempla que, además, existen composiciones de la presente invención que consisten esencialmente en, o consisten en, los componentes mencionados, y que existen procesos y métodos de acuerdo con la presente invención que consisten esencialmente en, o consisten en, las etapas de procesamiento mencionados.

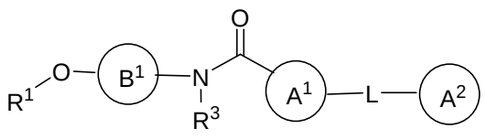
[0091] por lo general, las composiciones que especifican un porcentaje se basan en el peso, a menos que se especifique lo contrario.

I. Compuestos heterobifuncionales

[0092] Un aspecto de la invención proporciona compuestos heterobifuncionales. Estos compuestos pueden usarse en las composiciones farmacéuticas y los métodos terapéuticos descritos en la presente. En las siguientes secciones se describen compuestos ilustrativos, junto con procedimientos ejemplares para realizar los compuestos. Sin limitarse a ninguna teoría, los compuestos pueden facilitar los efectos terapéuticos al unirse tanto al receptor de andrógenos como a la proteína BRD4 (proteína 4 que contiene bromodominio).

Parte A: Un compuesto con la Fórmula I

[0093] Un aspecto de la invención proporciona un compuesto representado por la Fórmula **I**:



(**I**)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este; en donde:

R^1 es fenilo sustituido por (i) apariciones de ciano y m de R^4, y (ii) alcoxilo C_{1-4} o haloalcoxilo C_{1-4} ;

R^2 representa de forma independiente para cada aparición de alquilo C_{1-4} ;

R^3 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} ;

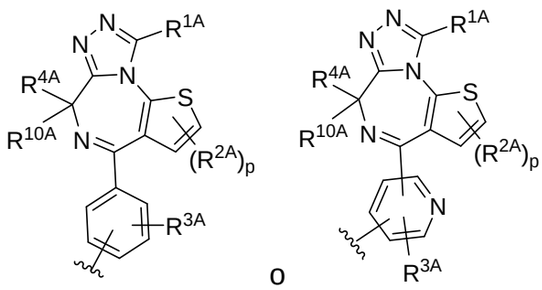
R^4 es alquilo C_{1-4} ;

R^5 representa de forma independiente para cada aparición de alquilo C_{1-4} o halógeno;

A^1 es un pirimidinileno, piridazinileno, pirazinileno, piridinileno o fenileno, cada uno de los cuales está sustituido con n apariciones de R^5;

L es un enlazador; y

A^2 es uno de los siguientes:



o

;

B^1 es (i) ciclobutileno sustituido por 1, 2, 3 o 4 apariciones de R^2 o (ii) ciclohexileno sustituido por 0, 1 o 2 apariciones de R^2;

R^{1A} es alquilo C_{1-4} o cicloalquilo C_{3-4};

R^{2A} representa de forma independiente para cada aparición de alquilo C_{1-4} o cicloalquilo C_{3-4};

R^{3A} es hidrógeno, halo, alquilo C_{1-4}, haloalquilo C_{1-4} o alcoxilo C_{1-4};

R^{4A} es -(alquileno C_{0-6})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre), -(alquileno C_{1-6})-$C(O)N(R^{5A})(R^{6A})$, -(alquileno C_{1-6})-$N(R^{5A})C(O)R^{7A}$, -(alquileno C_{1-6})-CO_2R^{7A}, -(alquileno C_{1-6})-$OC(O)R^{7A}$, -(alquileno C_{1-6})-ciano, -(alquileno C_{1-6})-O-(alquilo C_{1-6}), alquilo C_{1-6},

cicloalquilo C_{3-6} o hidrógeno; o R^{4A} y R^{10A} junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo carbocíclico saturado C_{3-5};

R^{5A} y R^{6A} son independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}; o R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 3-7 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno;

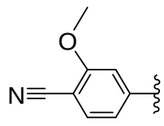
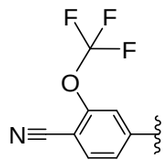
R^{7A} es alquilo C_{1-6}, -(alquileno C_{1-6})-(cicloalquilo C_{3-6}), o cicloalquilo C_{3-6};

R^{10A} es hidrógeno o alquilo C_{1-4}; y

m, n y p son independientemente 0, 1 o 2.

[0094] Las definiciones de las variables en la Fórmula **I** anterior abarcan múltiples grupos químicos. La solicitud contempla modalidades en las que, por ejemplo, i) la definición de una variable es un único grupo químico seleccionado de entre los grupos químicos establecidos anteriormente, ii) la definición de una variable es un grupo de dos o más de los grupos químicos seleccionados de entre los establecidos anteriormente, y iii) el compuesto se define mediante una combinación de variables en las que las variables se definen mediante (i) o (ii).

[0095] En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto de la Fórmula **I**.

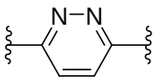
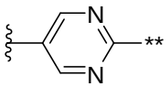
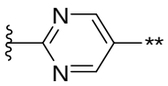
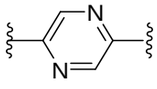
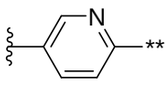
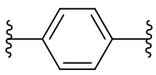
[0096] Como se define anteriormente en general, R^1 es fenilo sustituido por (i) apariciones de ciano y m de R^4, y (ii) alcoxilo C_{1-4} o haloalcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^1 es fenilo sustituido por (i) apariciones de ciano y m de R^4, y (ii) alcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^1 es fenilo sustituido por ciano y alcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^1 es fenilo sustituido por ciano y metoxi. En ciertas modalidades, R^1 es  . En ciertas modalidades, R^1 es fenilo sustituido por (i) apariciones de ciano y m de R^4, y (ii) haloalcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^1 es fenilo sustituido por ciano y haloalcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^1 es fenilo sustituido por ciano y fluoroalcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^1 es fenilo sustituido por ciano y trifluorometoxi. En ciertas modalidades, R^1 es  .

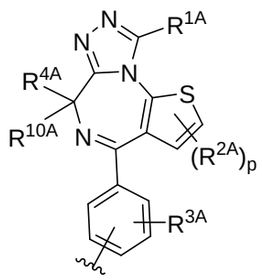
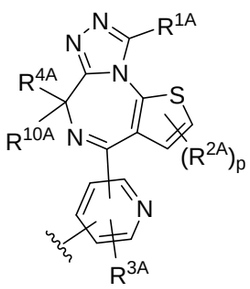
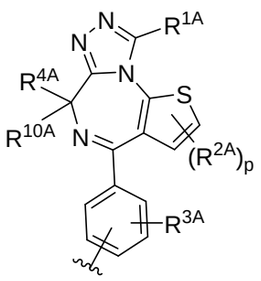
[0097] En ciertas modalidades, R^1 se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

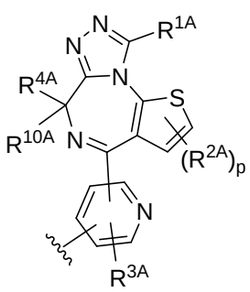
[0098] Como se definió en general anteriormente, R^2 representa de forma independiente para cada aparición de alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^2 es metilo. En ciertas modalidades, R^2 se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

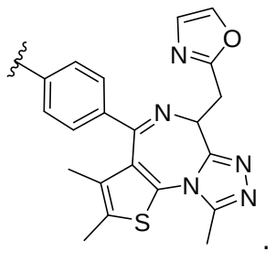
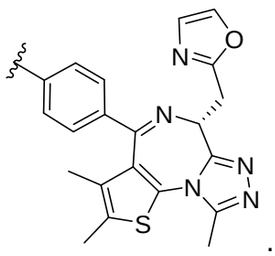
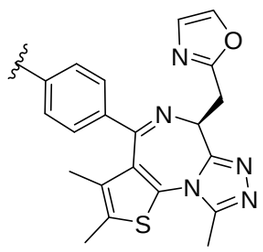
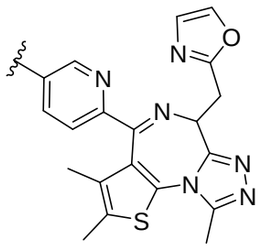
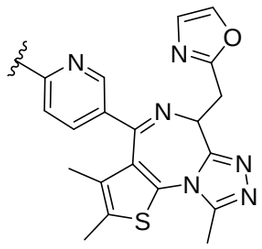
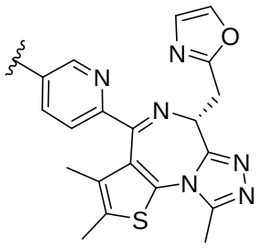
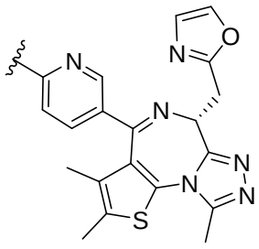
[0099] Como se definió en general anteriormente, R^3 es hidrógeno o alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^3 es hidrógeno. En ciertas modalidades, R^3 es un alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^3 se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

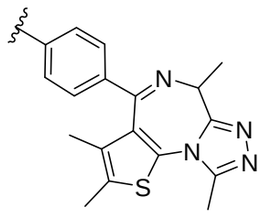
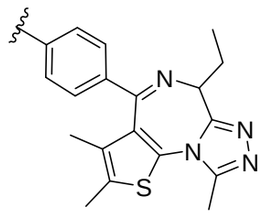
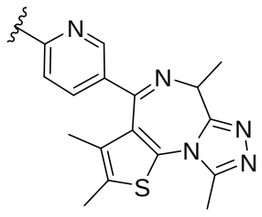
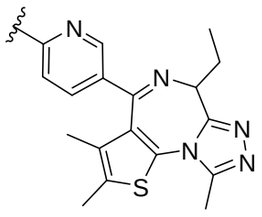
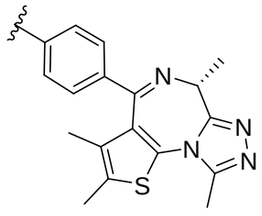
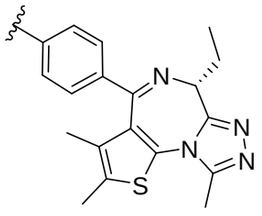
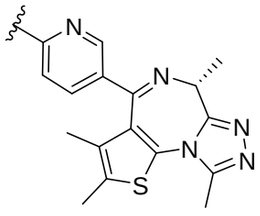
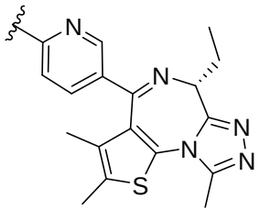
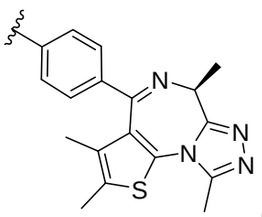
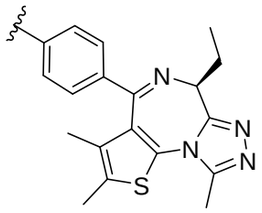
[0100] Como se definió en general anteriormente, A^1 es un pirimidinileno, piridazinileno, pirazinileno, piridinileno o fenileno, cada uno de los cuales está sustituido con n apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 es piridazinileno sustituido con n apariciones de R^5. En ciertas

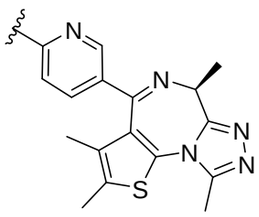
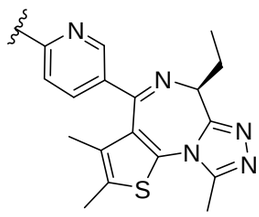
modalidades, A^1 is  . En ciertas modalidades, A^1 es pirimidinileno sustituido con n apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 es  , donde ** es el punto de unión a L. En ciertas modalidades, A^1 es  , donde ** es el punto de unión a L. En ciertas modalidades, A^1 es pirazinileno sustituido con n apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 is  . En ciertas modalidades, A^1 es piridinileno sustituido con n apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 es  , donde ** es el punto de unión a L. En ciertas modalidades, A^1 es fenileno sustituido con n apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 is  . En ciertas modalidades, A^1 es un piridazinileno sustituido con 0 apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 es un pirimidinileno sustituido con 0 apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 es un pirazinileno sustituido con 0 apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 es un piridinileno sustituido con 0 apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 es un fenileno sustituido con 0 apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 se selecciona de los grupos representados en los compuestos de la Tabla 1 o 2 a continuación.

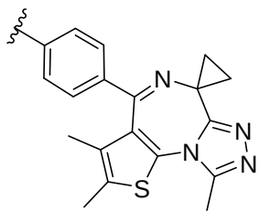
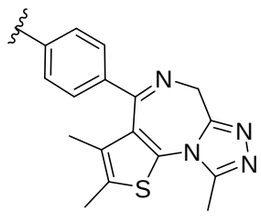
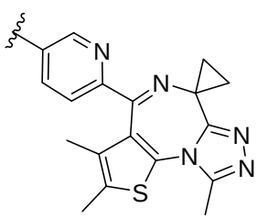
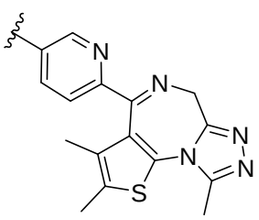
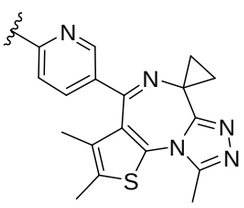
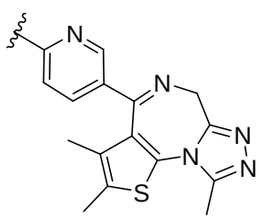
[0101] Como se definió en general anteriormente, A^2 es  o  . En ciertas modalidades, A^2 es  . En ciertas modalidades, A^2 es

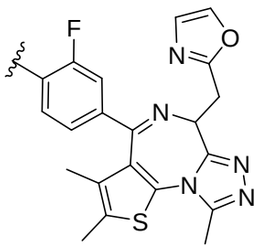
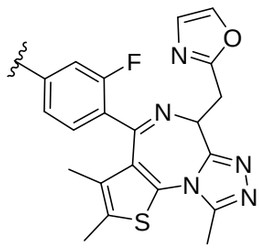
 .

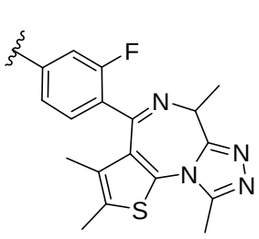
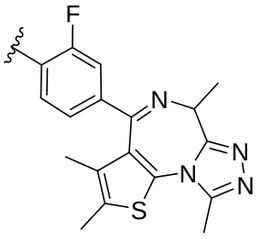
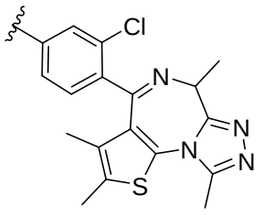
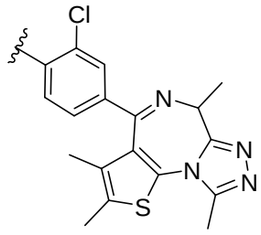
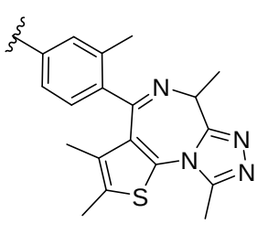
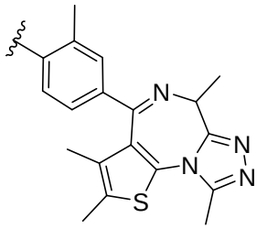
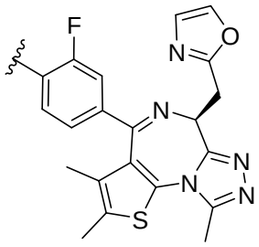
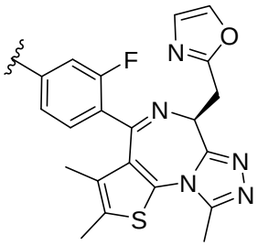
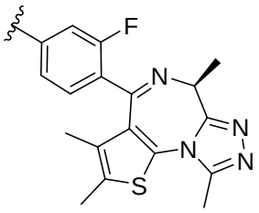
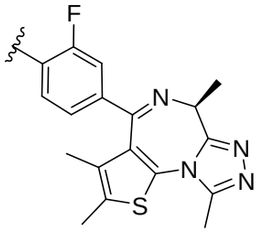
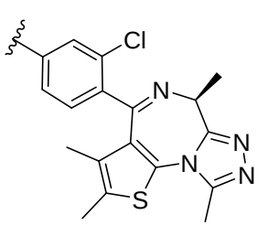
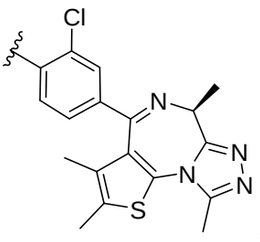
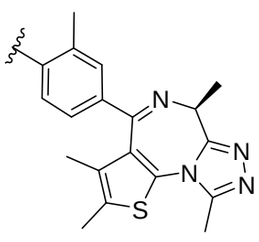
[0102] En ciertas modalidades, A^2 es  . En ciertas modalidades, A^2 es  . En ciertas modalidades, A^2 es  . En ciertas modalidades, A^2 es  o  . En ciertas modalidades, A^2 es  o  .

[0103] En ciertas modalidades, A^2 es  ,  ,  o  . En ciertas modalidades, A^2 es  ,  ,  o  . En ciertas modalidades, A^2 es  ,  ,

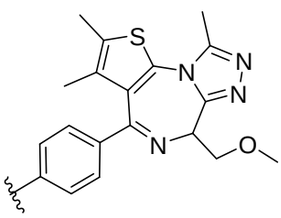
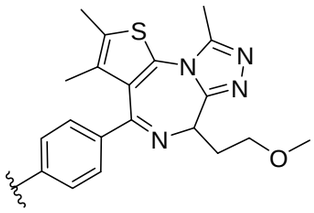
 o  .

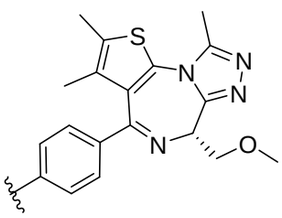
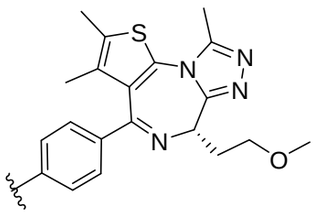
[0104] En ciertas modalidades, A^2 es  ,  ,  ,  ,  o  .

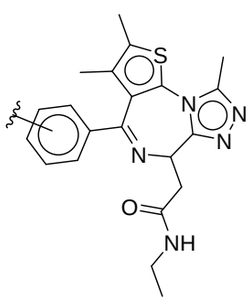
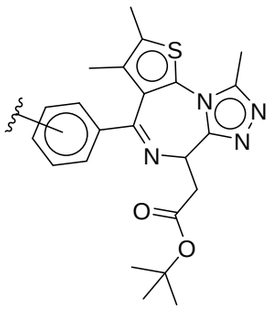
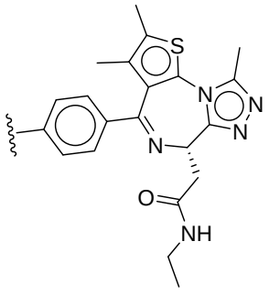
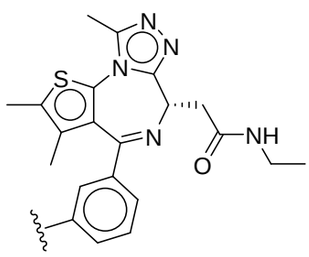
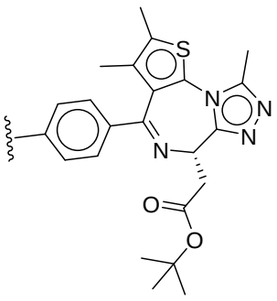
[0105] En ciertas modalidades, A^2 es  o  ,

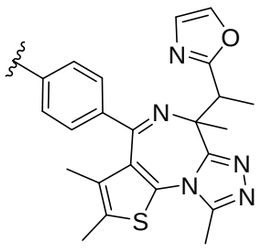
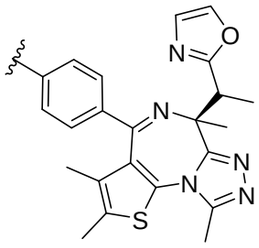
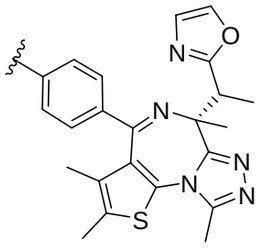
5  ,  ,  ,  ,  o  . En ciertas modalidades, A^2 es  ,  ,  ,  ,  ,  o  .

[0106] En ciertas modalidades, A^2 es uno de los siguientes:

. En ciertas modalidades, A^2 es uno de los siguientes:   .

[0107] En ciertas modalidades, A^2 es  o  . En ciertas modalidades, A^2 es  ,  o  .

[0108] En ciertas modalidades, A^2 es  . En ciertas modalidades, A^2 es  . En ciertas modalidades, A^2 es  .

[0109] En ciertas modalidades, A^2 se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0110] Como se definió en general anteriormente, B^1 es (i) ciclobutileno sustituido por 1, 2, 3 o 4 apariciones de R^2 o (ii) ciclohexileno sustituido por 0, 1 o 2 apariciones de R^2. En ciertas modalidades, B^1 es ciclobutileno sustituido por 1, 2, 3 o 4 apariciones de R^2. En ciertas modalidades, B^1 es ciclobutileno sustituido por 4 apariciones de R^2. En ciertas modalidades, B^1 es ciclohexileno sustituido por 0, 1 o 2 apariciones de R^2. En ciertas modalidades, B^1 es ciclohexileno sustituido por 0 apariciones de R^2 (es decir, B^1 es ciclohexileno). En ciertas modalidades, B^1 se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0111] Como se definió en general anteriormente, R^{1A} es alquilo C_{1-4} o cicloalquilo C_{3-4}. En ciertas modalidades, R^{1A} es alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{1A} es metilo. En ciertas modalidades, R^{1A} es cicloalquilo C_{3-4}. En ciertas modalidades, R^{1A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0112] Como se definió en general anteriormente, R^{2A} representa de forma independiente para cada aparición de alquilo C_{1-4} o cicloalquilo C_{3-4}. En ciertas modalidades, R^{2A} es alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{2A} es metilo. En ciertas modalidades, R^{2A} es cicloalquilo C_{3-4}. En ciertas modalidades, R^{2A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

Como se definió en general anteriormente, R^{3A} es hidrógeno, halo, alquilo C_{1-4}, haloalquilo C_{1-4} o alcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{3A} es hidrógeno, halo, alquilo C_{1-4} o alcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{3A} es hidrógeno. En ciertas modalidades, R^{3A} es halo. En ciertas modalidades, R^{3A} es fluoro. En ciertas modalidades, R^{3A} es cloro. En ciertas modalidades, R^{3A} es alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{3A} es metilo. En ciertas modalidades, R^{3A} es alcoxi C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{3A} es metoxi. En ciertas modalidades, R^{3A} es haloalquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{3A} es trifluorometilo. En ciertas modalidades, R^{3A} es halo, alquilo C_{1-4} o alcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{3A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0113] Como se definió en general anteriormente, R^{4A} es -(alquileno C_{0-6})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre), -(alquileno C_{1-6})-$C(O)N(R^{5A})(R^{6A})$, -(alquileno C_{1-6})-$N(R^{5A})C(O)R^{7A}$, -(alquileno C_{1-6})-CO_2R^{7A}, -(alquileno C_{1-6})-$OC(O)R^{7A}$, -(alquileno C_{1-6})-ciano, -(alquileno C_{1-6})-O-(alquilo C_{1-6}), alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-6} o hidrógeno; o R^{4A} y R^{10A} junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo carbocíclico saturado C_{3-5}. En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-$C(O)N(R^{5A})(R^{6A})$, -(alquileno C_{1-6})-$N(R^{5A})C(O)R^{7A}$, -(alquileno C_{1-6})-CO_2R^{7A}, -(alquileno C_{1-6})-$OC(O)R^{7A}$, o -(alquileno C_{0-6})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre). En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-$C(O)N(R^{5A})(R^{6A})$, -(alquileno C_{1-6})-$N(R^{5A})C(O)R^{7A}$, -(alquileno C_{1-6})-CO_2R^{7A}, o -(alquileno C_{1-6})-$OC(O)R^{7A}$. En ciertas modalidades, R^{4A} es hidrógeno. En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-ciano. En ciertas modalidades, R^{4A} es alquilo C_{1-6}. En ciertas modalidades, R^{4A} es metilo. En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-$C(O)N(R^{5A})(R^{6A})$. En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-CO_2R^{7A}. En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-$N(R^{5A})C(O)R^{7A}$. En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-$OC(O)R^{7A}$.

[0114] En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{0-6})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre). En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{0-6})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre). En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-2})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre). En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-2})-(heteroarilo de 5 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre). En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-2})-(oxazolilo).

[0115] En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-O-(alquilo C_{1-6}). En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-2})-O-(alquilo C_{1-2}).

[0116] En ciertas modalidades, R^{4A} y R^{10A}, junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman un anillo carbocíclico saturado C_{3-5}.

[0117] En ciertas modalidades, R^{4A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0118] Como se definió en general anteriormente, R^{5A} y R^{6A} son independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}; o R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 3-7 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} son independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{5A} es hidrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} es alquilo C_{1-6}. En ciertas modalidades, R^{5A} es cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{6A} es hidrógeno. En ciertas modalidades, R^{6A} es alquilo C_{1-6}. En ciertas modalidades, R^{6A} es cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 3-7 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 3 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 4 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 5 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 6 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 7 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación. En ciertas modalidades, R^{6A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

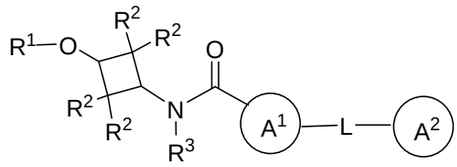
[0119] Como se definió en general anteriormente, R^{7A} es alquilo C_{1-6}, -(alquileno C_{1-6})-(cicloalquilo C_{3-6}), o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{7A} es alquilo C_{1-6}. En ciertas modalidades, R^{7A} es -(alquileno C_{1-6})-(cicloalquilo C_{3-6}). En ciertas modalidades, R^{7A} es cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{7A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0120] Como se definió en general anteriormente, R^{10A} es hidrógeno o alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{10A} es hidrógeno. En ciertas modalidades, R^{10A} es alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{10A} es metilo. En ciertas modalidades, R^{10A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0121] Como se definió en general anteriormente, m, n y p son independientemente 0, 1 o 2. En ciertas modalidades, p es 2. En ciertas modalidades, p es 1. En ciertas modalidades, p es 0. En ciertas modalidades, m es 0. En ciertas modalidades, m es 1. En ciertas modalidades, m es 2. En ciertas modalidades, n es 0. En ciertas modalidades, n es 1. En ciertas modalidades, q es 0. En ciertas modalidades, q es 1. En ciertas modalidades, q es 2. En ciertas modalidades, p se selecciona del valor correspondiente en los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación. En ciertas modalidades, m se selecciona del valor

correspondiente en los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación. En ciertas modalidades, n se selecciona del valor correspondiente en los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

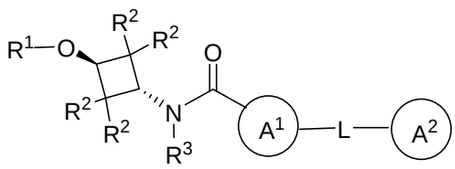
[0122] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **Ia** o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



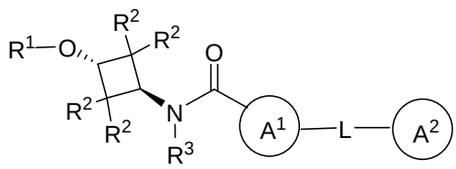
(**Ia**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables R^1, R^2, R^3, A^1, y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I.**

[0123] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **Ib** o **Ic**, o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



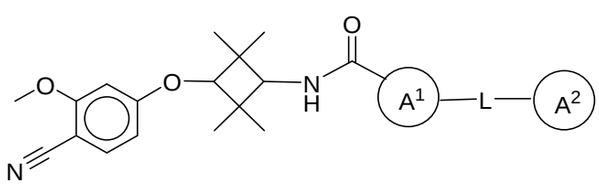
(**Ib**)



(**Ic**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables R^1, R^2, R^3, A^1, y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto de la Fórmula **Ib** o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto de la Fórmula **Ic** o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

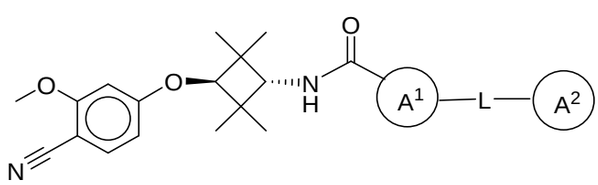
[0124] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **Id** o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



(**Id**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables A^1 y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**.

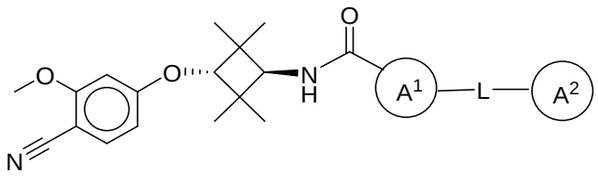
[0125] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **Ie** o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



(**Ie**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables A^1 y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**.

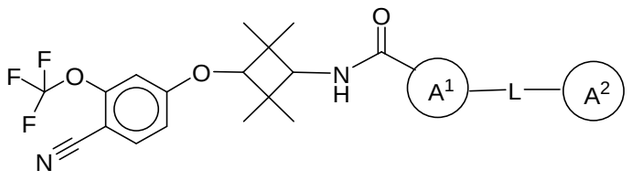
[0126] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **If** o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



(**If**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables A^1 y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**.

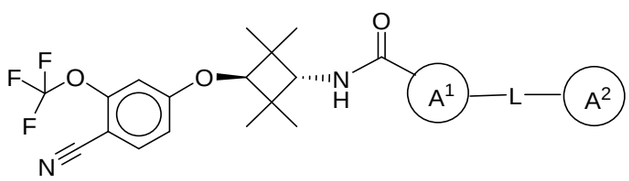
[0127] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **Ig** o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



(**Ig**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables A^1 y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**.

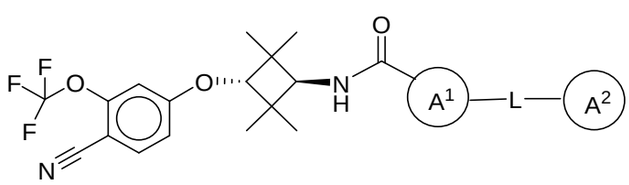
[0128] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **Ih** o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



(**Ih**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables A^1 y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**.

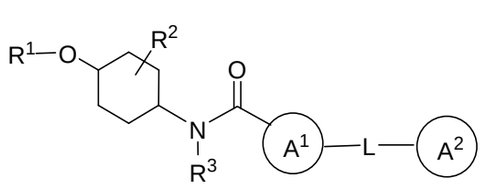
[0129] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **Ii** o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



(**Ii**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables A^1 y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**.

[0130] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula I se define adicionalmente por la Fórmula **Ij** o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:

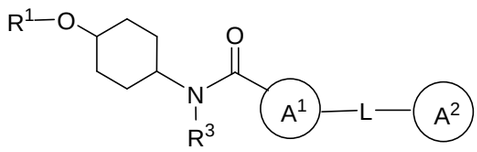


(**Ij**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables A^1 y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**. En ciertas modalidades, la definición de las variables R^1, R^2 y R^3 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la

Fórmula **I**.

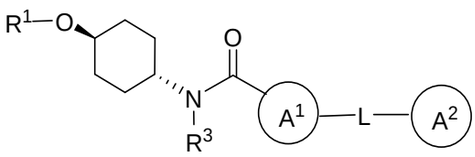
[0131] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **Ik** o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



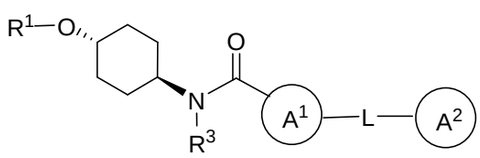
(**Ik**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables A^1 y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**. En ciertas modalidades, la definición de las variables R^1 y R^3 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**.

[0132] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **Il** o **Im**, o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



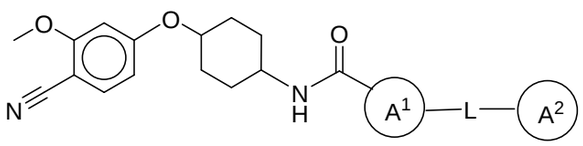
(**Il**)



(**Im**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables A^1 y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**. En ciertas modalidades, la definición de las variables R^1 y R^3 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto de la Fórmula **Il** o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto de la Fórmula **Im** o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

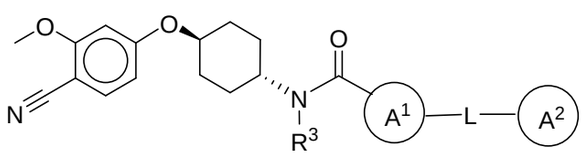
[0133] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **In** o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



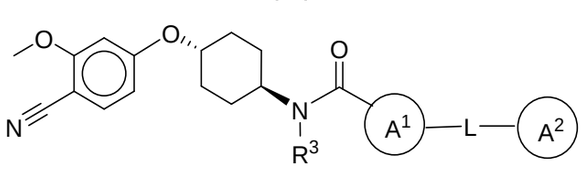
(**In**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables A^1 y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**.

[0134] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **Io** o **Ip**, o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



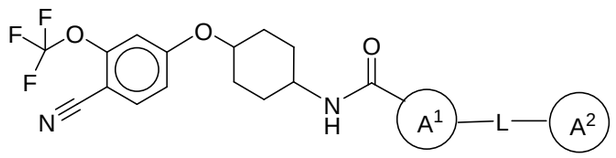
(**Io**)



(**Ip**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables A^1 y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**. En ciertas modalidades, la definición de la variable R^3 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto de la Fórmula **Io** o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto de la Fórmula **Ip** o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

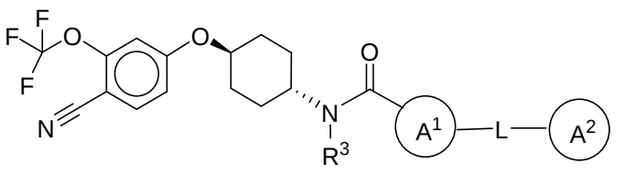
[0135] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **Iq** o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



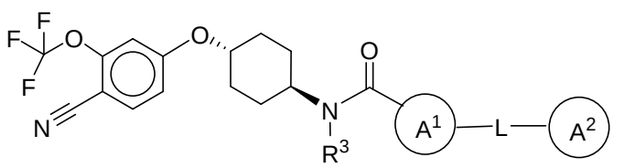
(**Iq**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables A^1 y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**.

[0136] En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula **I** se define adicionalmente por la Fórmula **Ir** o **Is**, o una sal farmacéuticamente aceptable de esta:



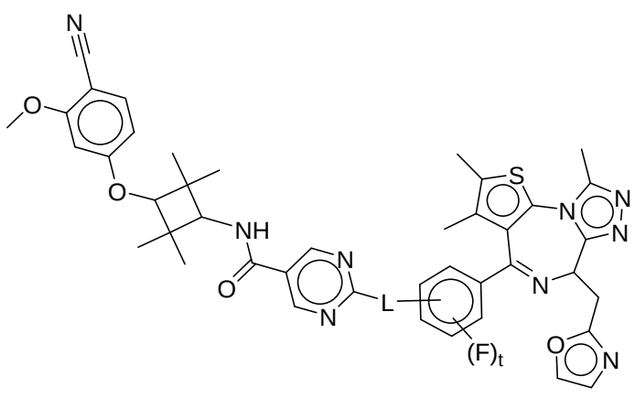
(**Ir**)



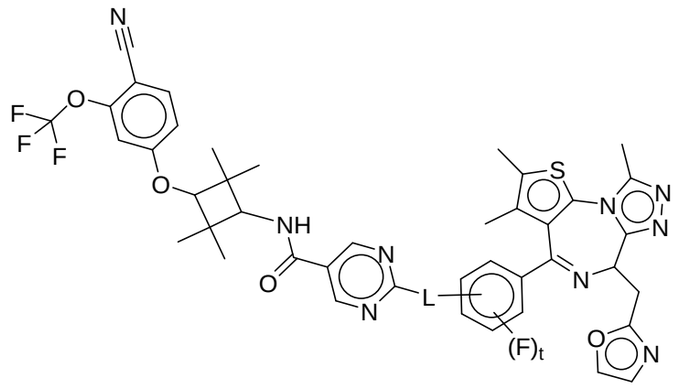
(**Is**).

En ciertas modalidades, la definición de las variables A^1 y A^2 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**. En ciertas modalidades, la definición de la variable R^3 es una de las modalidades descritas anteriormente en relación con la Fórmula **I**. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto de la Fórmula **Ir** o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto de la Fórmula **Is** o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

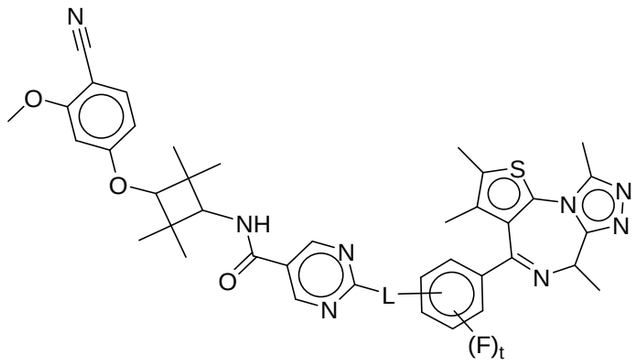
[0137] Otro aspecto de la invención proporciona un compuesto representado por la Fórmula **It**, **Iu**, **Iv** o **Iw**, o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



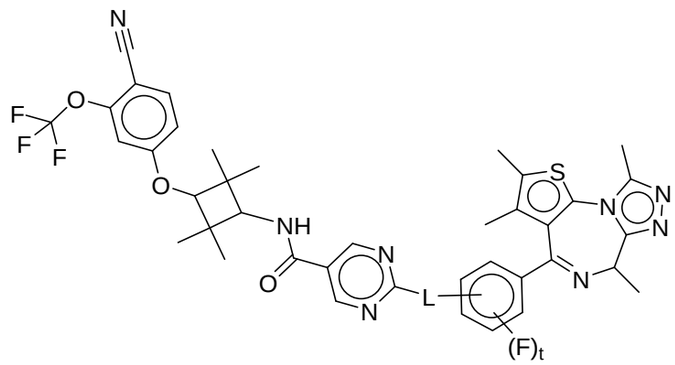
(**It**)



(**Iu**)



(**Iv**)



(**Iw**)

en donde

L es uno de los siguientes:

(i) -(anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 7-11 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-O-***, en donde *** es el punto de unión al grupo fenileno en dicha fórmula;

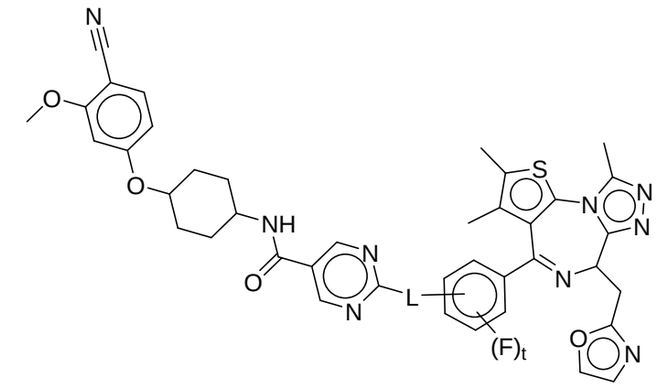
(ii) un anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 7-11 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno; o

(iii) -(anillo heterocíclico saturado espirocíclico de 7-11 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquinileno C_{2-4})-***, en donde *** es el punto de unión al grupo fenileno en dicha fórmula; y

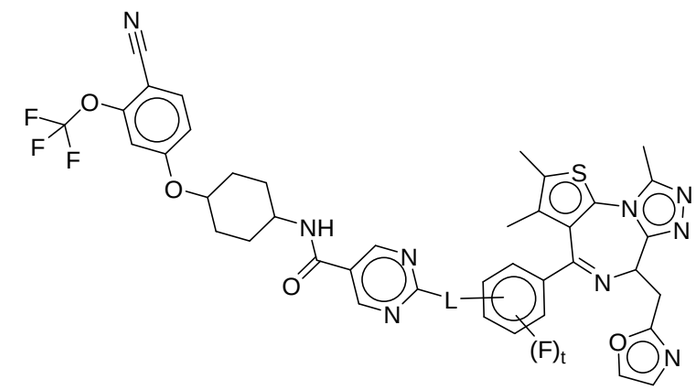
t es 0 o 1.

[0138] En ciertas modalidades, t es 0. En ciertas modalidades, t es 1.

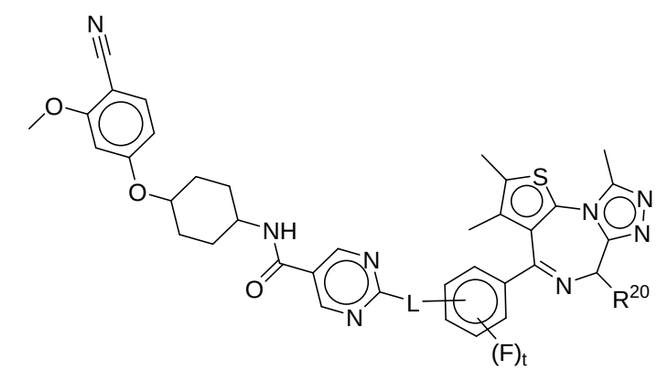
[0139] Otro aspecto de la invención proporciona un compuesto representado por la Fórmula **Ix**, **Iy**, **Iz** o **Iaa**, o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



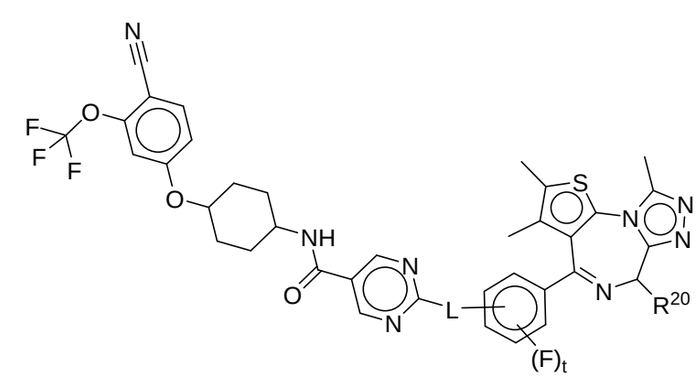
(**Ix**)



(**Iy**)



(**Iz**)



(**Iaa**)

en donde:

R^{20} es metilo, etilo, $-CH_2-O-CH_3$, o $-(CH_2)_2-O-CH_3$;

L es uno de los siguientes:

(i) -(anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 7-11 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-O-***, en donde *** es el punto de unión al grupo fenileno en dicha fórmula;

(ii) un anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 7-11 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de

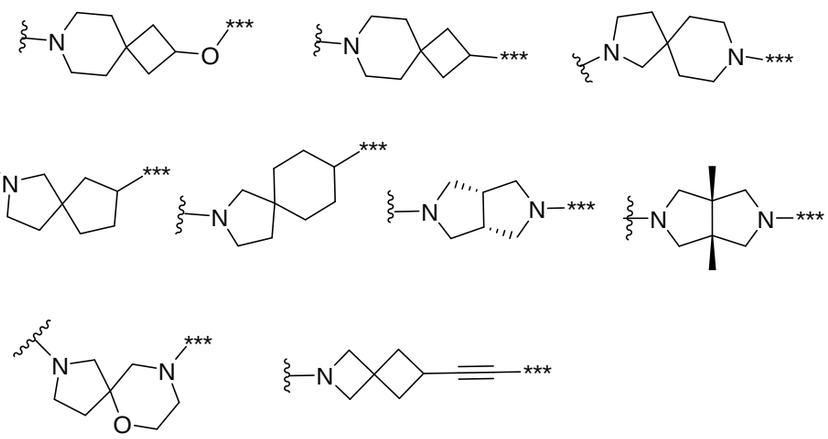
nitrógeno y oxígeno; o

(iii) -(anillo heterocíclico saturado espirocíclico de 7-11 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquinileno C_{2-4})-***, en donde *** es el punto de unión al grupo fenileno en dicha fórmula; y

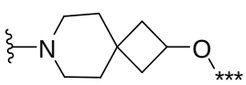
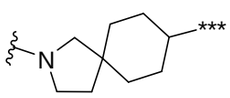
t es 0 o 1.

[0140] En ciertas modalidades, t es 0. En ciertas modalidades, t es 1. En ciertas modalidades, R^{20} es metilo o etilo. En ciertas modalidades, R^{20} es $-CH_2-O-CH_3$ o $-(CH_2)_2-O-CH_3$.

[0141] En ciertas modalidades, L es un -(anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 7-11 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-O-***, en donde *** es el punto de unión al grupo fenileno en dicha fórmula. En ciertas modalidades, L es un anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 7-11 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno. En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado espirocíclico de 7-11 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquinileno C_{2-4})-***, en donde *** es el punto de unión al grupo fenileno en dicha fórmula. En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:

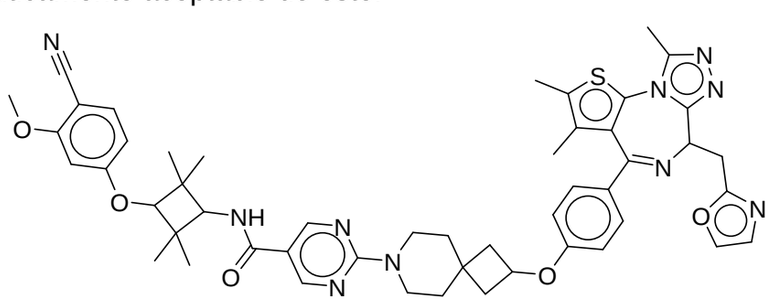


en donde *** es el punto de unión al grupo fenileno en dicha fórmula.

En ciertas modalidades, L es  , en donde *** es el punto de unión al grupo fenileno en dicha fórmula. En ciertas modalidades, L es  , en donde *** es el punto de unión al grupo fenileno en dicha fórmula.

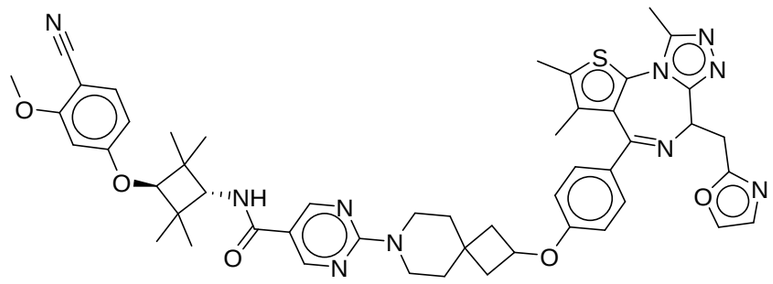
[0142] Los compuestos pueden caracterizarse adicionalmente de acuerdo con, por ejemplo, la identidad de L de acuerdo con otras modalidades ilustrativas de L que se proporcionan en la Parte C a continuación.

[0143] En ciertas modalidades, la presente descripción es representada por la Fórmula **Iab** o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



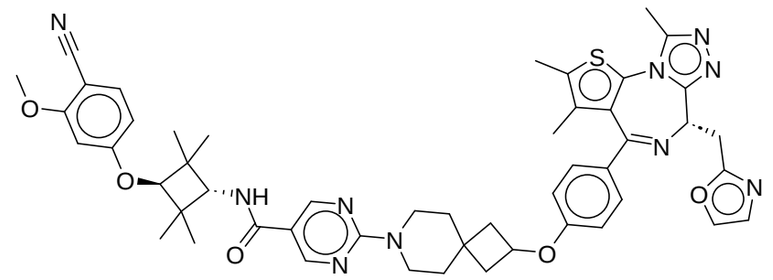
(**Iab**).

[0144] En ciertas modalidades, la presente descripción es representada por la Fórmula **Iac** o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



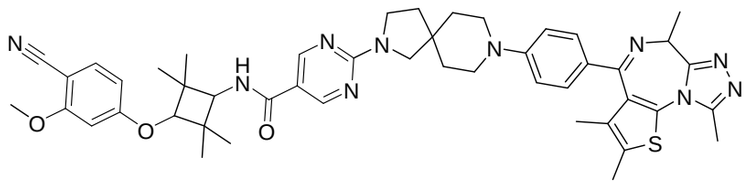
(**Iac**).

[0145] En ciertas modalidades, la presente descripción es representada por la Fórmula **Iad** o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



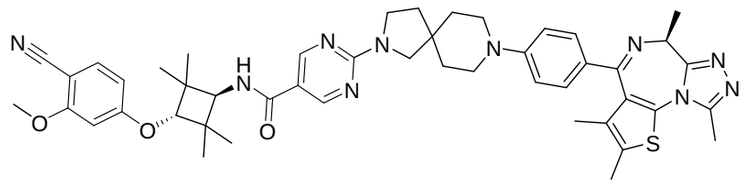
(**Iad**).

[0146] En ciertas modalidades, la presente descripción es representada por la Fórmula **Iae** o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



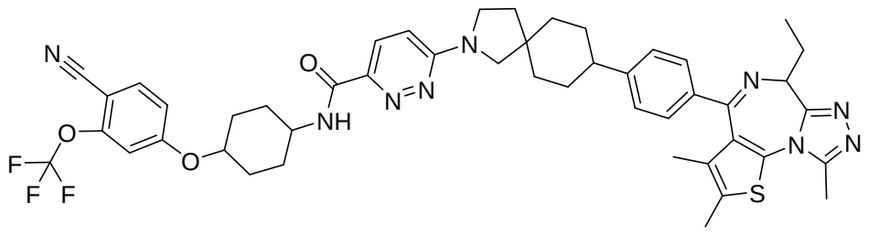
(**Iae**).

[0147] En ciertas modalidades, la presente descripción es representada por la Fórmula **Iaf** o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



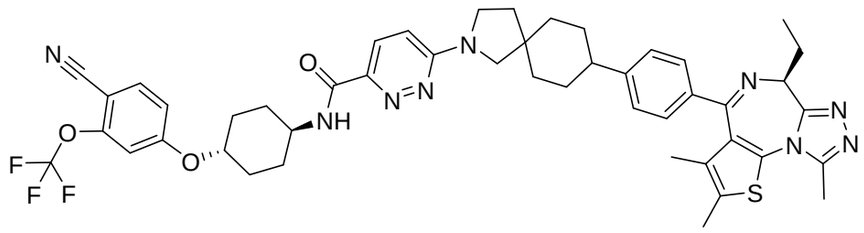
(**Iaf**).

[0148] En ciertas modalidades, la presente descripción es representada por la Fórmula **Iag** o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



(**Iag**).

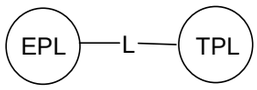
[0149] En ciertas modalidades, la presente descripción es representada por la Fórmula **Iah** o una sal farmacéuticamente aceptable de este:



(**Iah**).

Parte B: Compuestos de la Fórmula II

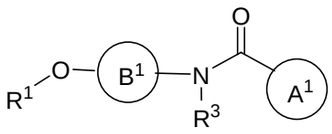
[0150] Otro aspecto de la invención proporciona un compuesto representado por la Fórmula **II**:



(**II**)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este; en donde:

TPL es un grupo definido por la Fórmula **II-1** que se sustituye por una aparición de R^{II-1A}, en donde la Fórmula **II-1** está representada por:



(**II-1**)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este; en donde:

R^{II-1A} es un enlace con L;

R^1 es fenilo sustituido por (i) apariciones de ciano y m de R^4, y (ii) alcoxilo C_{1-4} o haloalcoxilo C_{1-4};

R^2 representa de forma independiente para cada aparición de alquilo C_{1-4};

R^3 es hidrógeno o alquilo C_{1-4};

R^4 es alquilo C_{1-4};

R^5 representa de forma independiente para cada aparición de alquilo C_{1-4} o halógeno;

A^1 es un piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridinilo o fenilo, cada uno de los cuales está sustituido con n apariciones de R^5;

B^1 es (i) ciclobutileno sustituido por 1, 2, 3 o 4 apariciones de R^2 o (ii) ciclohexileno sustituido por 0, 1 o 2 apariciones de R^2;

L es un enlazador;

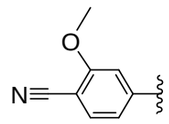
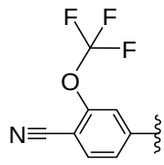
EPL es un resto que se une a BRD4; y

m y n son independientemente 0, 1 o 2.

[0151] Las definiciones de las variables en la Fórmula **II** anterior abarcan múltiples grupos químicos. La solicitud contempla modalidades en las que, por ejemplo, i) la definición de una variable es un único grupo químico seleccionado de entre los grupos químicos establecidos anteriormente, ii) la definición de una variable es un grupo de dos o más de los grupos químicos seleccionados de entre los establecidos anteriormente, y iii) el compuesto se define mediante una combinación de variables en las que las variables se definen mediante (i) o (ii).

[0152] En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto de la Fórmula **II**.

[0153] Como se definió en general anteriormente, R^1 es fenilo sustituido por (i) apariciones de ciano y m de R^4, y (ii) alcoxilo C_{1-4} o haloalcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^1 es fenilo

sustituido por (i) apariciones de ciano y m de R^4, y (ii) alcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^1 es fenilo sustituido por ciano y alcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^1 es fenilo sustituido por ciano y metoxi. En ciertas modalidades, R^1 es  . En ciertas modalidades, R^1 es fenilo sustituido por (i) apariciones de ciano y m de R^4, y (ii) haloalcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^1 es fenilo sustituido por ciano y haloalcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^1 es fenilo sustituido por ciano y fluoroalcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^1 es fenilo sustituido por ciano y trifluorometoxi. En ciertas modalidades, R^1 es  .

[0154] En ciertas modalidades, R^1 se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

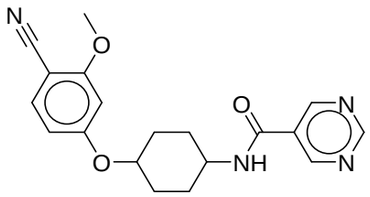
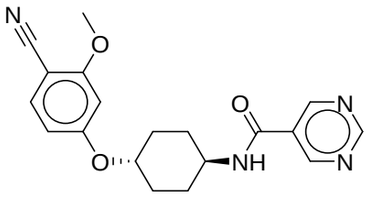
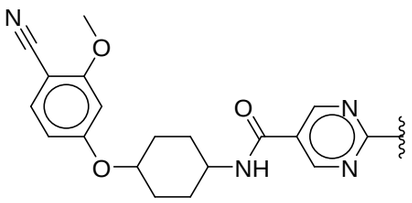
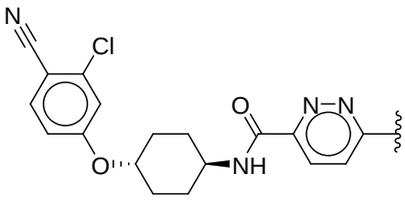
[0155] Como se definió en general anteriormente, R^2 representa de forma independiente para cada aparición de alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^2 es metilo. En ciertas modalidades, R^2 se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

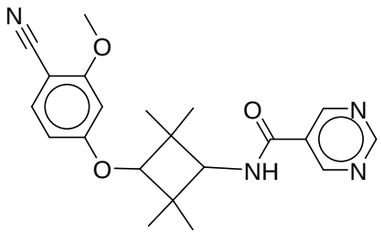
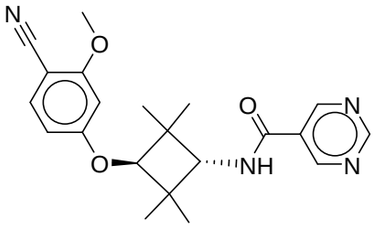
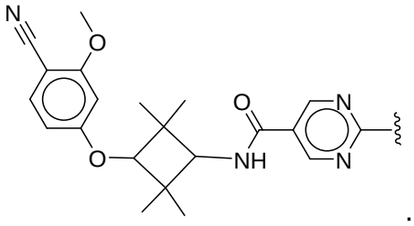
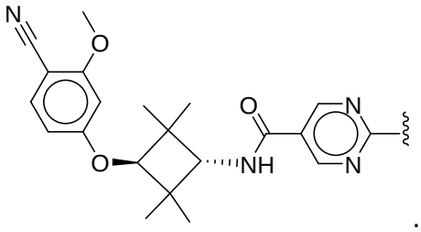
[0156] Como se definió en general anteriormente, R^3 es hidrógeno o alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^3 es hidrógeno. En ciertas modalidades, R^3 es un alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^3 se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0157] Como se definió en general anteriormente, A^1 es un piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridinilo o fenilo, cada uno de los cuales está sustituido con n apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 es piridazinilo sustituido con n apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 es pirimidinilo sustituido con n apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 es pirazinilo sustituido con n apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 es piridinilo sustituido con n apariciones de R^5. En En ciertas modalidades, A^1 es fenilo sustituido con n apariciones de R^5. En ciertas modalidades, A^1 se selecciona de los grupos representados en los compuestos de la Tabla 1 o 2 a continuación.

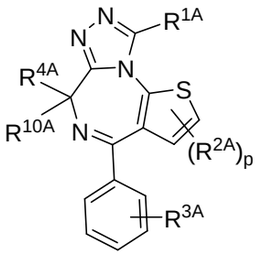
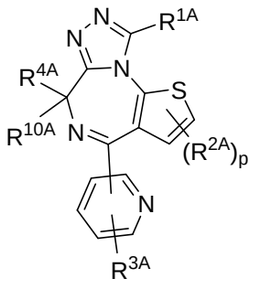
[0158] Como se definió en general anteriormente, B^1 es (i) ciclobutileno sustituido por 1, 2, 3 o 4 apariciones de R^2 o (ii) ciclohexileno sustituido por 0, 1 o 2 apariciones de R^2. En ciertas modalidades, B^1 es ciclobutileno sustituido por 1, 2, 3 o 4 apariciones de R^2. En ciertas modalidades, B^1 es ciclobutileno sustituido por 4 apariciones de R^2. En ciertas modalidades, B^1 es ciclohexileno sustituido por 0, 1 o 2 apariciones de R^2. En ciertas modalidades, B^1 es ciclohexileno sustituido por 0 apariciones de R^2 (es decir, B^1 es ciclohexileno). En ciertas modalidades, B^1 se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0159] En ciertas modalidades, m es 0. En ciertas modalidades, m es 1. En ciertas modalidades, m es 2. En ciertas modalidades, n es 0. En ciertas modalidades, n es 1. En ciertas modalidades, n es 2. En ciertas modalidades, m se selecciona del valor correspondiente en los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación. En ciertas modalidades, n se selecciona del valor correspondiente en los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0160] En ciertas modalidades, el TPL es  que se sustituye por una aparición de R^{II-1A}. En ciertas modalidades, el TPL es  que se sustituye por una aparición de R^{II-1A}. En ciertas modalidades, el TPL es  . En ciertas modalidades, el TPL es  .

[0161] En ciertas modalidades, el TPL es  que se sustituye por una aparición de R^{II-1A}. En ciertas modalidades, el TPL es  que se sustituye por una aparición de R^{II-1A}. En ciertas modalidades, el TPL es  . En ciertas modalidades, el TPL es  .

[0162] En ciertas modalidades, el EPL se define por la Fórmula **II-2** que se sustituye por una aparición de R^{II-2A}, en donde la Fórmula **II-2** está representada por:

o ;

en donde

R^{II-2A} es un enlace con L;

R^{1A} es alquilo C_{1-4} o cicloalquilo C_{3-4};

R^{2A} representa de forma independiente para cada aparición de alquilo C_{1-4} o cicloalquilo C_{3-4};

R^{3A} es hidrógeno, halo, alquilo C_{1-4}, o alcoxilo C_{1-4};

R^{4A} es -(alquileno C_{0-6})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre), -(alquileno C_{1-6})-$C(O)N(R^{5A})(R^{6A})$, -(alquileno C_{1-6})-$N(R^{5A})C(O)R^{7A}$, -(alquileno C_{1-6})-CO_2R^{7A}, -(alquileno C_{1-6})-$OC(O)R^{7A}$, -(alquileno C_{1-6})-ciano, -(alquileno C_{1-6})-O-(alquilo C_{1-6}), alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-6} o hidrógeno; o R^{4A} y R^{10A} junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo carbocíclico saturado C_{3-5};

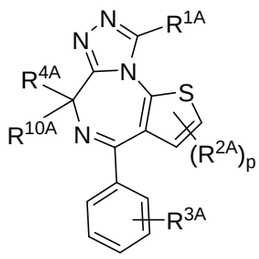
R^{5A} y R^{6A} son independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}; o R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 3-7 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno;

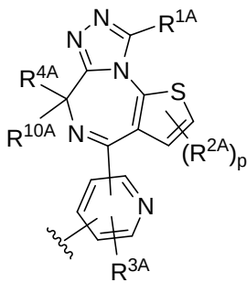
R^{7A} es alquilo C_{1-6}, -(alquileno C_{1-6})-(cicloalquilo C_{3-6}), o cicloalquilo C_{3-6};

R^{10A} es hidrógeno o alquilo C_{1-4}; y

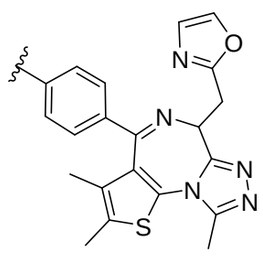
m, n y p son independientemente 0, 1 o 2.

[0163] En ciertas modalidades, el EPL se define por la Fórmula **II-2** que se sustituye por una aparición de R^{II-2A}, en donde la Fórmula **II-2** está representada por:

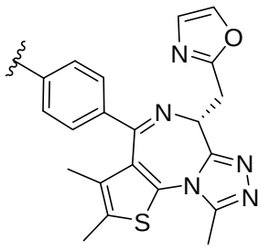
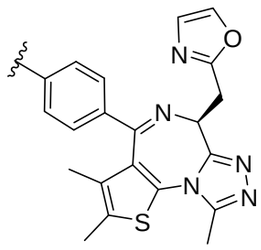
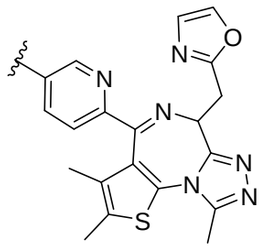
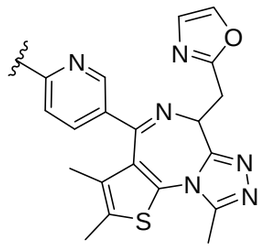
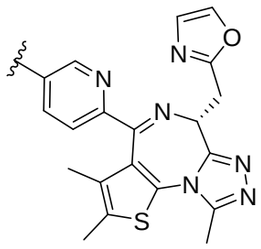
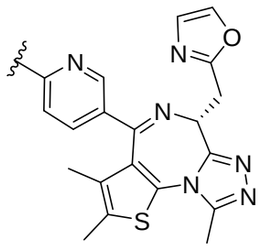


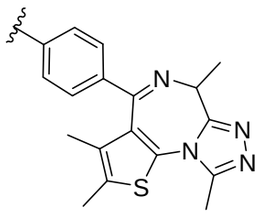
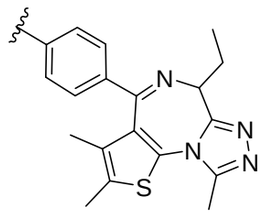
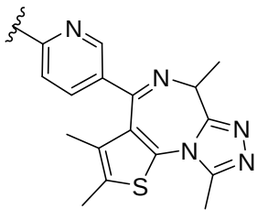
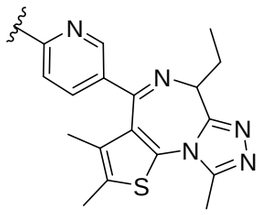
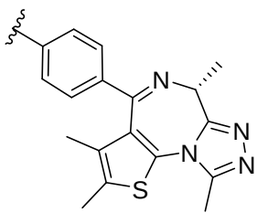
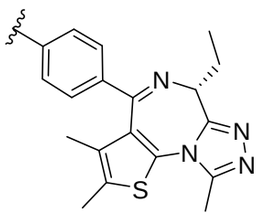
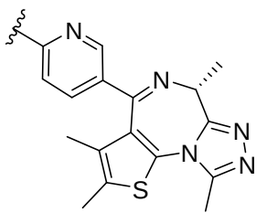
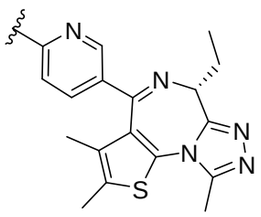
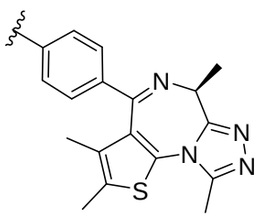
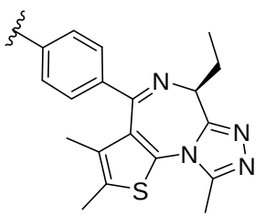
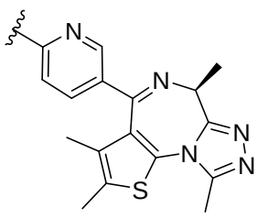
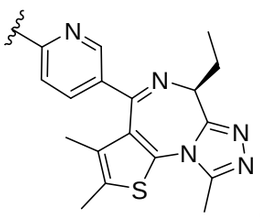


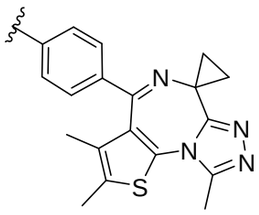
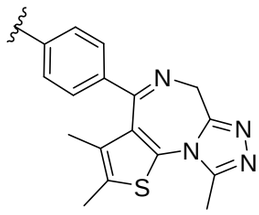
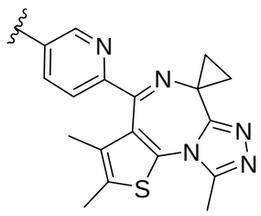
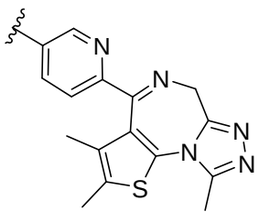
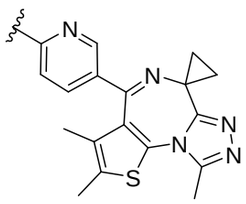
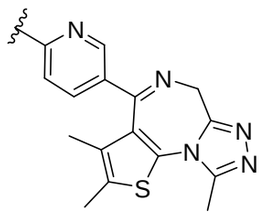
En ciertas modalidades, el EPL es .

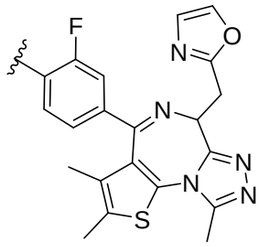
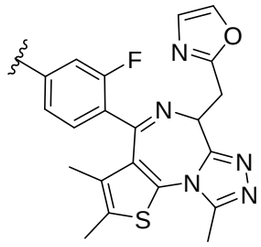
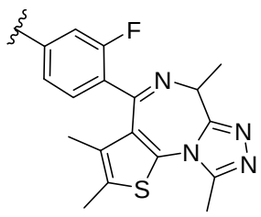
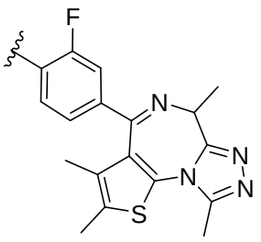
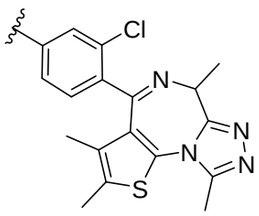
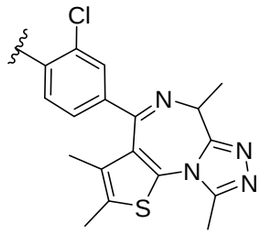
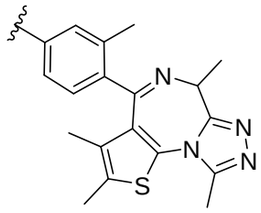
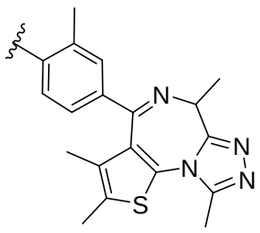
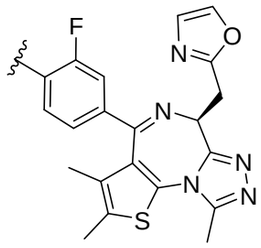
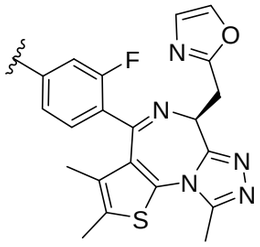
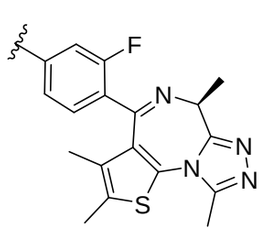
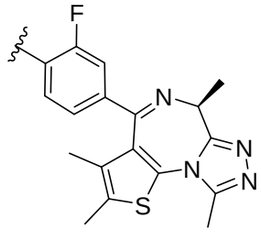
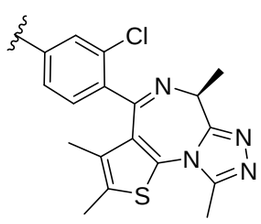
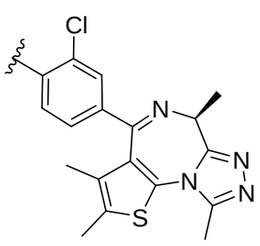
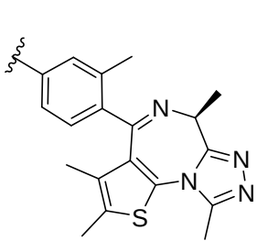
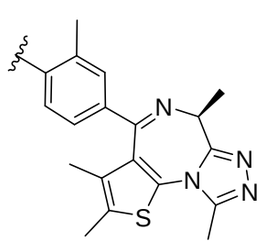


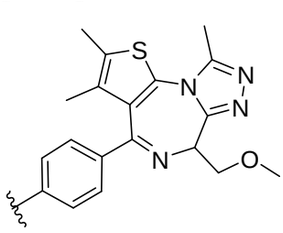
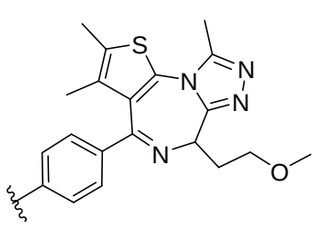
[0164] En ciertas modalidades, EPL es . En ciertas modalidades, EPL

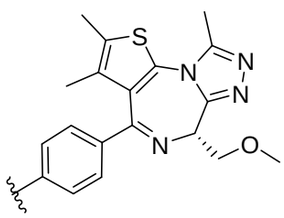
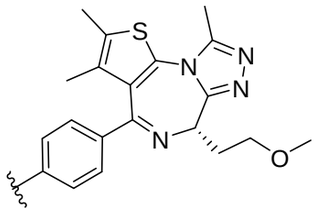
es  . En ciertas modalidades, EPL es  . En ciertas modalidades, EPL es  o  . En ciertas modalidades, EPL es  o  .

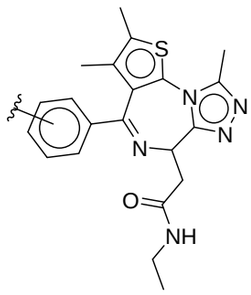
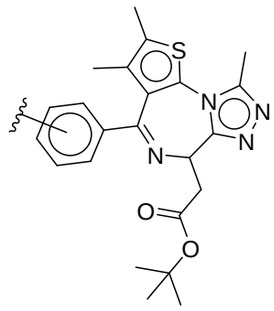
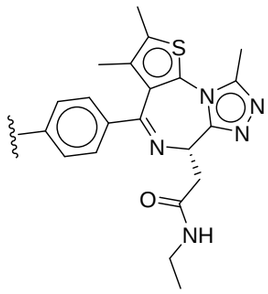
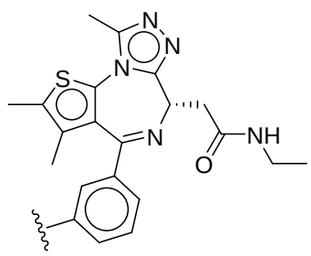
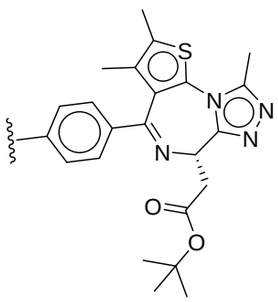
[0165] En ciertas modalidades, EPL es  ,  ,  o  . En ciertas modalidades, EPL es  ,  ,  o  . En ciertas modalidades, EPL es  ,  ,  o  .

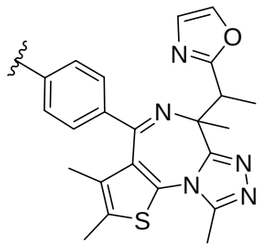
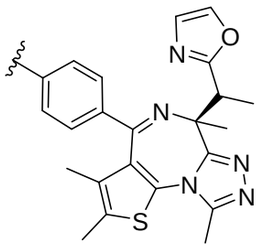
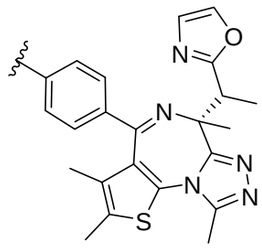
[0166] En ciertas modalidades, EPL es  ,  ,  ,  ,  o  .

[0167] En ciertas modalidades, EPL es  o  ,  ,  ,  ,  ,  o  . En ciertas modalidades, EPL es  ,  ,  ,  ,  ,  ,  o  .

[0168] En ciertas modalidades, EPL es uno de los siguientes:   . En ciertas modalidades, EPL es uno de los

siguientes:   .

[0169] En ciertas modalidades, EPL es  o  . En ciertas modalidades, EPL es  ,  o  .

[0170] En ciertas modalidades, EPL es  . En ciertas modalidades, EPL es  . En ciertas modalidades, EPL es  .

[0171] En ciertas modalidades, EPL se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0172] Como se definió en general anteriormente, R^{1A} es alquilo C_{1-4} o cicloalquilo C_{3-4}. En ciertas modalidades, R^{1A} es alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{1A} es metilo. En ciertas modalidades, R^{1A} es cicloalquilo C_{3-4}. En ciertas modalidades, R^{1A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0173] Como se definió en general anteriormente, R^{2A} representa de forma independiente para cada aparición de alquilo C_{1-4} o cicloalquilo C_{3-4}. En ciertas modalidades, R^{2A} es alquilo

C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{2A} es metilo. En ciertas modalidades, R^{2A} es cicloalquilo C_{3-4}. En ciertas modalidades, R^{2A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0174] Como se definió en general anteriormente, R^{3A} es hidrógeno, halo, alquilo C_{1-4}, o alcoxi C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{3A} es hidrógeno. En ciertas modalidades, R^{3A} es halo. En ciertas modalidades, R^{3A} es fluoro. En ciertas modalidades, R^{3A} es cloro. En ciertas modalidades, R^{3A} es alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{3A} es metilo. En ciertas modalidades, R^{3A} es alcoxi C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{3A} es metoxi. En ciertas modalidades, R^{3A} es halo, alquilo C_{1-4} o alcoxilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{3A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0175] Como se definió en general anteriormente, R^{4A} es -(alquileno C_{0-6})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre), -(alquileno C_{1-6})-$C(O)N(R^{5A})(R^{6A})$, -(alquileno C_{1-6})-$N(R^{5A})C(O)R^{7A}$, -(alquileno C_{1-6})-CO_2R^{7A}, -(alquileno C_{1-6})-$OC(O)R^{7A}$, -(alquileno C_{1-6})-ciano, -(alquileno C_{1-6})-O-(alquilo C_{1-6}), alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-6} o hidrógeno; o R^{4A} y R^{10A} junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo carbocíclico saturado C_{3-5}. En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-$C(O)N(R^{5A})(R^{6A})$, -(alquileno C_{1-6})-$N(R^{5A})C(O)R^{7A}$, -(alquileno C_{1-6})-CO_2R^{7A}, -(alquileno C_{1-6})-$OC(O)R^{7A}$, o -(alquileno C_{0-6})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre). En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-$C(O)N(R^{5A})(R^{6A})$, -(alquileno C_{1-6})-$N(R^{5A})C(O)R^{7A}$, -(alquileno C_{1-6})-CO_2R^{7A}, o -(alquileno C_{1-6})-$OC(O)R^{7A}$. En ciertas modalidades, R^{4A} es hidrógeno. En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-ciano. En ciertas modalidades, R^{4A} es alquilo C_{1-6}. En ciertas modalidades, R^{4A} es metilo. En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-$C(O)N(R^{5A})(R^{6A})$. En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-CO_2R^{7A}. En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-$N(R^{5A})C(O)R^{7A}$. En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-$OC(O)R^{7A}$.

[0176] En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{0-6})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre). En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{0-6})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre). En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-2})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre). En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-2})-(heteroarilo de 5 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre). En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-2})-(oxazolilo).

[0177] En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-6})-O-(alquilo C_{1-6}). En ciertas modalidades, R^{4A} es -(alquileno C_{1-2})-O-(alquilo C_{1-2}).

[0178] En ciertas modalidades, R^{4A} y R^{10A}, junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman un anillo carbocíclico saturado C_{3-5}.

[0179] En ciertas modalidades, R^{4A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0180] Como se definió en general anteriormente, R^{5A} y R^{6A} son independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}; o R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno

al que están unidos para formar un anillo de 3-7 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} son independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{5A} es hidrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} es alquilo C_{1-6}. En ciertas modalidades, R^{5A} es cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{6A} es hidrógeno. En ciertas modalidades, R^{6A} es alquilo C_{1-6}. En ciertas modalidades, R^{6A} es cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 3-7 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 3 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 4 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 5 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 6 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} y R^{6A} se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 7 miembros que contiene 1 átomo de nitrógeno. En ciertas modalidades, R^{5A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación. En ciertas modalidades, R^{6A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0181] Como se definió en general anteriormente, R^{7A} es alquilo C_{1-6}, -(alquileno C_{1-6})-(cicloalquilo C_{3-6}), o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{7A} es alquilo C_{1-6}. En ciertas modalidades, R^{7A} es -(alquileno C_{1-6})-(cicloalquilo C_{3-6}). En ciertas modalidades, R^{7A} es cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{7A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0182] Como se definió en general anteriormente, R^{10A} es hidrógeno o alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{10A} es hidrógeno. En ciertas modalidades, R^{10A} es alquilo C_{1-4}. En ciertas modalidades, R^{10A} es metilo. En ciertas modalidades, R^{10A} se selecciona de los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0183] Como se definió en general anteriormente, m, n y p son independientemente 0, 1 o 2. En ciertas modalidades, p es 2. En ciertas modalidades, p es 1. En ciertas modalidades, p es 0. En ciertas modalidades, m es 0. En ciertas modalidades, m es 1. En ciertas modalidades, m es 2. En ciertas modalidades, n es 0. En ciertas modalidades, n es 1. En ciertas modalidades, q es 0. En ciertas modalidades, q es 1. En ciertas modalidades, q es 2. En ciertas modalidades, p se selecciona del valor correspondiente en los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación. En ciertas modalidades, m se selecciona del valor correspondiente en los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación. En ciertas modalidades, n se selecciona del valor correspondiente en los grupos representados en los compuestos en la Tabla 1 o 2 a continuación.

[0184] En ciertas modalidades, el EPL se define mediante la variable A^2 establecida anteriormente en relación con la Fórmula I. En ciertas modalidades, el EPL se define mediante una o más de las modalidades para la variable A^2 establecidas en relación con la Fórmula I.

[0185] Los compuestos pueden caracterizarse adicionalmente de acuerdo con, por ejemplo, la identidad de L. Las modalidades ilustrativas adicionales de L se proporcionan en

la Parte C a continuación.

Parte C: Descripción adicional ilustrativa del componente enlazador(L) de los compuestos de la Fórmula I y II

[0186] Los compuestos de la Fórmula **I** y **II** pueden caracterizarse además de acuerdo con, por ejemplo, la identidad del componente enlazador(L). Se conocen en la técnica diversos tipos de enlazadores y pueden usarse en los compuestos heterobifuncionales descritos en la presente. por ejemplo, en ciertas modalidades, L comprende uno o más grupos opcionalmente sustituidos seleccionados de aminoácidos, cadenas de poliéter, grupos alifáticos y cualquier combinación de estos. En ciertas modalidades, L consiste en uno o más grupos opcionalmente sustituidos seleccionados de aminoácidos, cadenas de poliéter, grupos alifáticos y cualquier combinación de estos. En ciertas modalidades, L consiste en uno o más grupos seleccionados de aminoácidos, cadenas de poliéter, grupos alifáticos y cualquier combinación de estos.

[0187] En algunas modalidades, L es simétrico. En algunas modalidades, L es asimétrico. En ciertas modalidades, L es un enlace.

[0188] En ciertas modalidades, L es un enlace covalente o una cadena de hidrocarburos bivalente C_{1-30} saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde las unidades de metileno 1-15 de L se reemplazan opcional e independientemente por ciclopropileno, -N(H)-, -N(alquilo C_{1-4})-, -N(cicloalquilo C_{3-5})-, -O-, -C(O)-, -OC(O)-, -C(O)O-, -S-, -S(O)-, -$S(O)_2$-, -$S(O)_2$N(H)-, -$S(O)_2$N(alquilo C_{1-4})-, -$S(O)_2$N(cicloalquilo C_{3-5})-, -N(H)C(O)-, -N(alquilo C_{1-4})C(O)-, -N(cicloalquilo C_{3-5})C(O)-, -C(O)N(H)-, -C(O)N(alquilo C_{1-4})-, -C(O)N(cicloalquilo C_{3-5})-, fenileno, un arileno bicíclico de 8-10 miembros, un carbociclileno saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros, un carbociclileno bicíclico saturado o parcialmente insaturado de 8-10 miembros, un heterociclileno saturado o parcialmente insaturado de 3-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, un heterociclileno bicíclico saturado o parcialmente insaturado de 8-10 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, un heteroarileno de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, o un heteroarileno bicíclico de 8-10 miembros que tiene 1-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

[0189] En ciertas modalidades, L es una cadena de hidrocarburos C_{1-60} bivalente, saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-20 unidades de metileno del hidrocarburo se reemplazan independientemente con -O-, -S-, -N(R**)-, -OC(O)-, -C(O)O-, -S(O)-, -$S(O)_2$-, -N(R**)$S(O)_2$-, -$S(O)_2$N(R**)-, -N(R**)C(O)-, -C(O)N(R**)-, -OC(O)N(R**)-, -N(R**)C(O)O-, carbociclilo de 3-10 miembros opcionalmente sustituido, o heterociclilo de 3-10 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2, 3 o 4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, en donde R** representa independientemente para cada aparición hidrógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}.

[0190] En ciertas modalidades, L es una cadena de hidrocarburos C_{1-60} bivalente, saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-20 unidades de metileno del hidrocarburo se reemplazan independientemente con -O-, -S-, -N(H)-, -N(alquilo C_{1-6})-, -OC(O)-, -C(O)O-, -S(O)-, -$S(O)_2$-, -N(H)$S(O)_2$-, -N(alquilo C_{1-6})$S(O)_2$-, -$S(O)_2$N(H)-, -$S(O)_2$N(alquilo C_{1-6})-, -N(H)C(O)-, -N(alquilo C_{1-6})C(O)-, -C(O)N(H)-, -C(O)N(alquilo C_{1-6})-, -OC(O)N(H)-, -OC(O)N(alquilo C_{1-6})-, -N(H)C(O)O-, -N(alquilo C_{1-6})C(O)O-, carbociclilo de 3-10 miembros

opcionalmente sustituido, o heterociclilo de 3-10 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2, 3 o 4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre.

[0191] En ciertas modalidades, L es una cadena de hidrocarburos C_{3-30} bivalente, saturada, lineal o ramificada, en donde 0-15 unidades de metileno del hidrocarburo se reemplazan independientemente con -O-, -N(H)-, -N(alquilo C_{1-6})-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(H)C(O)-, -N(alquilo C_{1-6})C(O)-, -C(O)N(H)-, -C(O)N(alquilo C_{1-6})-, carbociclilo de 3-10 miembros o heterociclilo de 3-10 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre.

[0192] En ciertas modalidades, L es una cadena de hidrocarburos C_{3-30} bivalente, saturada, lineal o ramificada, en donde 0-15 unidades de metileno del hidrocarburo se reemplazan independientemente con -O-, -N(H)-, -N(alquilo C_{1-6})-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(H)C(O)-, -N(alquilo C_{1-6})C(O)-, -C(O)N(H)- o -C(O)N(alquilo C_{1-6})-.

[0193] En aun otras modalidades, L comprende una cadena de polietilenglicol cuyo tamaño varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 12 unidades de etilenglicol, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 unidades de etilenglicol, de aproximadamente 2 a aproximadamente 6 unidades de etilenglicol, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 unidades de etilenglicol, o de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 unidades de etilenglicol. En aun otras modalidades, L es un diradical de una cadena de polietilenglicol cuyo tamaño varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 12 unidades de etilenglicol, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 unidades de etilenglicol, de aproximadamente 2 a aproximadamente 6 unidades de etilenglicol, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 unidades de etilenglicol, o de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 unidades de etilenglicol.

[0194] En ciertas modalidades, L es un heteroalquileno que tiene de 4 a 30 átomos seleccionados de carbono, oxígeno, nitrógeno y azufre. En ciertas modalidades, L es un heteroalquileno que tiene de 4 a 20 átomos seleccionados de carbono, oxígeno, nitrógeno y azufre. En ciertas modalidades, L es un heteroalquileno que tiene de 4 a 10 átomos seleccionados de carbono, oxígeno, nitrógeno y azufre. En ciertas modalidades, L es un heteroalquileno que tiene de 4 a 30 átomos seleccionados de carbono, oxígeno y nitrógeno. En ciertas modalidades, L es un heteroalquileno que tiene de 4 a 20 átomos seleccionados de carbono, oxígeno y nitrógeno. En ciertas modalidades, L es un heteroalquileno que tiene de 4 a 10 átomos seleccionados de carbono, oxígeno y nitrógeno. En ciertas modalidades, L es un heteroalquileno que tiene de 4 a 30 átomos seleccionados de carbono y oxígeno. En ciertas modalidades, L es un heteroalquileno que tiene de 4 a 20 átomos seleccionados de carbono y oxígeno. En ciertas modalidades, L es un heteroalquileno que tiene de 4 a 10 átomos seleccionados de carbono y oxígeno.

[0195] En modalidades adicionales, L es un (poli)etilenglicol opcionalmente sustituido que tiene entre 1 y aproximadamente 100 unidades de etilenglicol, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 50 unidades de etilenglicol, entre 1 y aproximadamente 25 unidades de etilenglicol, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 10 unidades de etilenglicol, entre 1 y aproximadamente 8 unidades de etilenglicol, entre 1 y aproximadamente 6 unidades de etilenglicol, entre 2 y aproximadamente 4 unidades de etilenglicol, o grupos alquilo

opcionalmente sustituidos interdispersos con átomos de O, N, S, P o Si opcionalmente sustituidos. En ciertas modalidades, L se sustituye por un grupo arilo, fenilo, bencilo, alquilo, alquileno o heterociclo.

[0196] En ciertas modalidades, L es una cadena de hidrocarburos C_{1-45} bivalente, saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-10 unidades de metileno del hidrocarburo se reemplazan independientemente con -O-, -S-, -N(R**)-, -OC(O)-, -C(O)O-, -S(O)-, -$S(O)_2$-, -N(R**)$S(O)_2$-, -$S(O)_2$N(R**)-, -N(R**)C(O)-, -C(O)N(R**)-, -OC(O)N(R**)-, -N(R**)C(O)O-, carbociclilo opcionalmente sustituido, o heterociclilo opcionalmente sustituido, en donde R** representa independientemente para cada aparición hidrógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}.

[0197] En ciertas modalidades, L es una cadena de hidrocarburos C_{1-45} bivalente, saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-10 unidades de metileno del hidrocarburo se reemplazan independientemente con -O-, -S-, -N(R**)-, -OC(O)-, -C(O)O-, -S(O)-, -$S(O)_2$-, -N(R**)$S(O)_2$-, -$S(O)_2$N(R**)-, -N(R**)C(O)-, -C(O)N(R**)-, -OC(O)N(R**)-, -N(R**)C(O)O-, carbociclilo de 3-10 miembros opcionalmente sustituido, o heterociclilo de 3-10 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2, 3 o 4 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre, en donde R** representa independientemente para cada aparición hidrógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}.

[0198] En ciertas modalidades, L tiene la fórmula -N(R)-(heteroalquileno de 3-20 miembros opcionalmente sustituido)$_p$-CH_2-C(O)-, en donde R es hidrógeno o alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, y p es 0 o 1.

[0199] En ciertas modalidades, L tiene la fórmula -N(R)-(heteroalquileno de 3-20 miembros)$_p$-CH_2-C(O)-; en donde el heteroalquileno de 3-20 miembros está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3 o 4 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, haloalquilo C_1-C_6, cicloalquilo C_3-C_6, hidroxilo y ciano; R es hidrógeno o alquilo C_1-C_6 sustituido opcionalmente; y p es 0 o 1.

[0200] En ciertas modalidades, L tiene la fórmula -N(R)-(heteroalquileno de 3-20 miembros)$_p$-CH_2-C(O)-; en donde el heteroalquileno de 3-20 miembros está opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno y haloalquilo C_1-C_6; R es hidrógeno o alquilo C_1-C_6; y p es 0 o 1.

[0201] En ciertas modalidades, L es una cadena de hidrocarburos C_{1-60} bivalente, saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-20 unidades de metileno del hidrocarburo se reemplazan independientemente con -O-, -S-, -N(H)-, -N(alquilo C_{1-6})-, -OC(O)-, -C(O)O-, -S(O)-, -$S(O)_2$-, -N(H)$S(O)_2$-, -N(alquilo C_{1-6})$S(O)_2$-, -$S(O)_2$N(H)-, -$S(O)_2$N(alquilo C_{1-6})-, -N(H)C(O)-, -N(alquilo C_{1-6})C(O)-, -C(O)N(H)-, -C(O)N(alquilo C_{1-6})-, -OC(O)N(H)-, -OC(O)N(alquilo C_{1-6})-, -N(H)C(O)O-, -N(alquilo C_{1-6})C(O)O-, carbociclilo de 3-10 miembros opcionalmente sustituido, o heterociclilo de 3-10 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2, 3 o 4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre.

[0202] En ciertas modalidades, L es una cadena de hidrocarburos C_{3-30} bivalente, saturada, lineal o ramificada, en donde 0-15 unidades de metileno del hidrocarburo se reemplazan independientemente con -O-, -N(H)-, -N(alquilo C_{1-6})-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(H)C(O)-, -N(alquilo C_{1-6})C(O)-, -C(O)N(H)-, -C(O)N(alquilo C_{1-6})-, carbociclilo de 3-10 miembros o heterociclilo de 3-10 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de

nitrógeno, oxígeno y azufre.

[0203] En ciertas modalidades, L es una cadena de hidrocarburos C_{3-30} bivalente, saturada, lineal o ramificada, en donde 0-15 unidades de metileno del hidrocarburo se reemplazan independientemente con -O-, -N(H)-, -N(alquilo C_{1-6})-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(H)C(O)-, -N(alquilo C_{1-6})C(O)-, -C(O)N(H)- o -C(O)N(alquilo C_{1-6})-.

[0204] En ciertas modalidades, L es una cadena de hidrocarburos C_{5-40} bivalente, saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 1-20 unidades de metileno del hidrocarburo se reemplazan independientemente con -O-, -N(H)-, -N(alquilo C_{1-6})-, -N(H)C(O)-, -N(alquilo C_{1-6})C(O)-, -C(O)N(H)-, -C(O)N(alquilo C_{1-6})-, carbociclilo de 3-10 miembros opcionalmente sustituido, o heterociclilo de 3-10 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2, 3 o 4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre.

[0205] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 7-11 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de nitrógeno y oxígeno)-X^1-***, en donde X^1 es alquileno C_{0-4}, alquinileno C_{2-4} u O, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0206] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 8-10 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de nitrógeno y oxígeno, en donde el anillo heterocíclico está sustituido por 0, 1 o 2 apariciones de halo o alquilo C_{1-4})-X^1-***, en donde X^1 es alquileno C_{0-4}, alquinileno C_{2-4} u O, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0207] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado espirocíclico de 10-13 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de nitrógeno y oxígeno)-X^1-***, en donde X^1 es alquileno C_{0-4}, alquinileno C_{2-4} u O, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0208] En ciertas modalidades, X^1 es alquileno C_{1-4}. En ciertas modalidades, X^1 es alquinileno C_{2-4}. En ciertas modalidades, X^1 es -C≡C-. En ciertas modalidades, X^1 es O.

[0209] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado bicíclico, espirocíclico de 8-10 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno y oxígeno)-O-***, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0210] En ciertas modalidades, L es un anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 7-11 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de nitrógeno y oxígeno.

[0211] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado bicíclico fusionado de 8-10 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de nitrógeno y oxígeno, en donde el anillo heterocíclico está sustituido por 0, 1 o 2 apariciones de alquilo C_{1-4})-.

[0212] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado tricíclico de 9-13 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de nitrógeno y oxígeno)-(alquileno C_{0-4})-***, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0213] En ciertas modalidades, L es un anillo aromático fusionado o parcialmente insaturado de 8-10 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de nitrógeno y oxígeno.

[0214] En ciertas modalidades, L es un anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 7-8 miembros que contiene 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno.

[0215] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7

miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-X^3-(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-, en donde X^3 es alquileno C_{1-10}, -O-, -N(H)-, -N(alquilo C_{1-4})-, o un enlace.

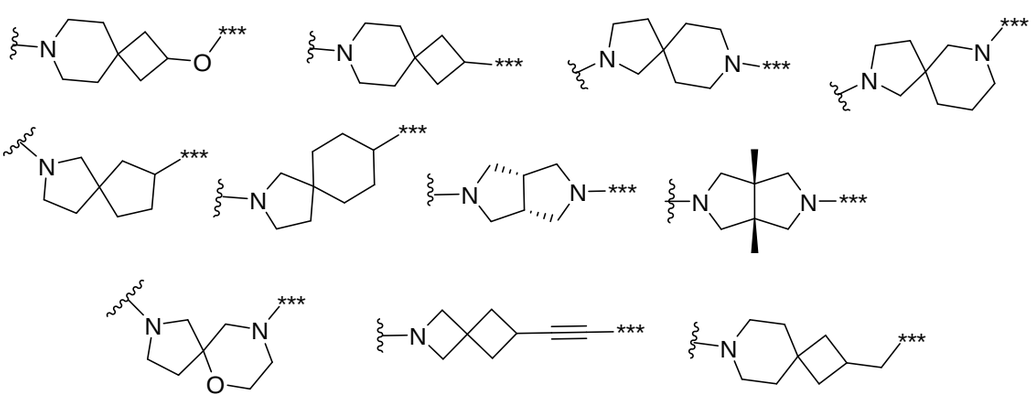
[0216] En ciertas modalidades, L es -(piperidinileno)-(alquileno C_{1-5})-(piperazinileno)-***, en donde *** es el punto de unión a A^2. En ciertas modalidades, L es -(piperazinileno)-(azetidinileno)-*** o -(azetidinileno)-(piperazinileno)-***, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0217] En ciertas modalidades, L es un -(anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 7-11 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-O-***, en donde *** es el punto de unión al grupo fenileno en dicha fórmula.

[0218] En ciertas modalidades, L es un anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 7-11 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno.

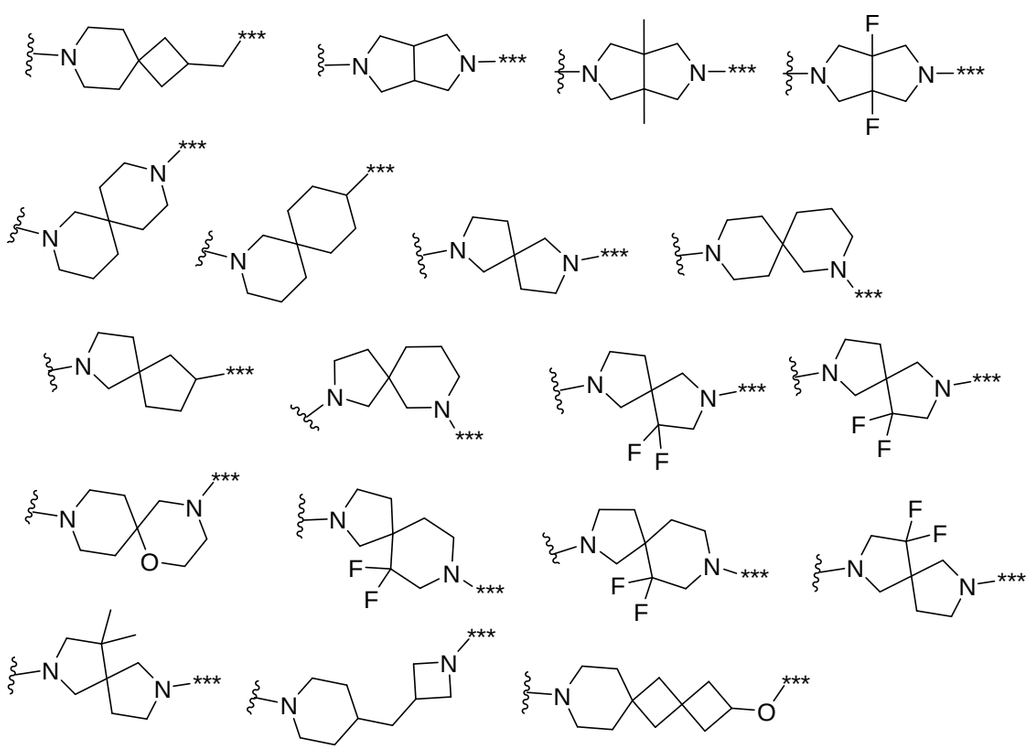
[0219] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado espirocíclico de 7-11 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquinileno C_{2-4})-***, en donde *** es el punto de unión al grupo fenileno en dicha fórmula.

[0220] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:

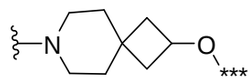
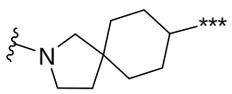


en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0221] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:



en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0222] En ciertas modalidades, L es  , en donde *** es el punto de unión a A^2. En ciertas modalidades, L es  , en donde *** es el punto de unión a A^2.

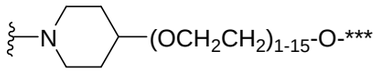
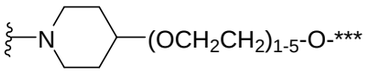
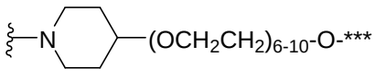
Modalidades adicionales ilustrativas para L

[0223] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-$(OCH_2CH_2)_{1-15}$-O-***, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0224] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-$(OCH_2CH_2)_{1-5}$-O-***, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0225] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-$(OCH_2CH_2)_{6-10}$-O-***, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0226] En ciertas modalidades, L es -piperidinileno-$(OCH_2CH_2)_{1-15}$-O-***, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0227] En ciertas modalidades, L es  , en donde *** es el punto de unión a A^2. En ciertas modalidades, L es  , en donde *** es el punto de unión a A^2. En ciertas modalidades, L es  , en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0228] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-$(OCH_2CH_2)_{1-15}$-N(H)C(O)-alquileno C_{1-10}-***, -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-$(OCH_2CH_2)_{1-15}$-N(alquilo C_{1-4})C(O)-alquileno C_{1-10}-***, -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-$(OCH_2CH_2)_{1-15}$-C(O)N(H)-alquileno C_{1-10}-***, o -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-$(OCH_2CH_2)_{1-15}$-C(O)N(alquilo C_{1-4})-alquileno C_{1-10}-***, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0229] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-$(OCH_2CH_2)_{1-10}$-N(H)C(O)-alquileno C_{1-5}-***, -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-$(OCH_2CH_2)_{1-10}$-N(alquilo C_{1-4})C(O)-alquileno C_{1-5}-***, -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-$(OCH_2CH_2)_{1-10}$-C(O)N(H)-alquileno C_{1-5}-***, o -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-$OCH_2CH_2)_{1-10}$-C(O)N(alquilo C_{1-4})-alquileno C_{1-5}-***, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0230] En ciertas modalidades, L es -piperidinileno-$(OCH_2CH_2)_{1-5}$-N(H)C(O)-alquileno C_{1-5}-

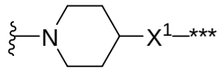
, -piperidinileno-$(OCH_2CH_2)_{1-5}$-N(alquilo C_{1-4})C(O)-alquileno C_{1-5}-, -piperidinileno-$(OCH_2CH_2)_{1-5}$-C(O)N(H)-alquileno C_{1-5}-***, o -piperidinileno-$(OCH_2CH_2)_{1-5}$-C(O)N(alquilo C_{1-4})-alquileno C_{1-5}-***, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0231] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-$(OCH_2CH_2)_{1-10}$-***, -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-10})-O-***, o -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-alquileno C_{1-10}, en donde *** es el punto de unión a A^2.

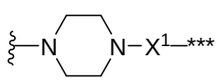
[0232] En ciertas modalidades, L es -piperidinileno-$(OCH_2CH_2)_{1-5}$-***, -piperidinileno-(alquileno C_{0-5})-O-***, o -piperidinileno-(alquileno C_{1-5})-***, en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0233] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-X^1-***, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^1 es (i) alquileno C_{1-10} donde 1 o 2 grupos metileno se reemplazan opcionalmente por -O-, -N(H)- o -N(alquilo C_{1-4})-, (ii) un anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, o (iii) -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{1-10})-.

[0234] En ciertas modalidades, L es -(piperidinileno)-X^1-***, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^1 es (i) alquileno C_{1-5} donde 1 o 2 grupos metileno se reemplazan opcionalmente por -O-, -N(H)- o -N(alquilo C_{1-4})-, (ii) un anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-4 miembros que contiene 1 heteroátomo seleccionado de nitrógeno, o (iii) -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-4 miembros que contiene 1 heteroátomo seleccionado de nitrógeno)-(alquileno C_{1-5})-.

[0235] En ciertas modalidades, L es  , en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^1 es (i) alquileno C_{1-10} donde 1 o 2 grupos metileno se reemplazan opcionalmente por -O-, -N(H)- o -N(alquilo C_{1-4})-, (ii) un anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, o (iii) -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{1-10})-.

[0236] En ciertas modalidades, L es -(piperazinileno)-X^1-***, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^1 es (i) alquileno C_{1-5} donde 1 o 2 grupos metileno se reemplazan opcionalmente por -O-, (ii) un anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-4 miembros que contiene 1 heteroátomo seleccionado de nitrógeno, o (iii) -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-4 miembros que contiene 1 heteroátomo seleccionado de nitrógeno)-(alquileno C_{1-5})-.

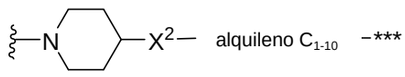
[0237] En ciertas modalidades, L es  , en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^1 es (i) alquileno C_{1-10} donde 1 o 2 grupos metileno se reemplazan opcionalmente por -O-, (ii) un anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, o (iii) -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{1-10})-

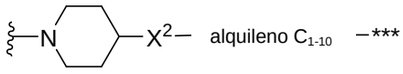
.

[0238] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-X^2-(alquileno C_{1-10})-***, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^2 es -O-, -N(H)- o -N(alquilo C_{1-6})-. En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-X^2-(alquileno C_{1-10})-***, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^2 es -O-.

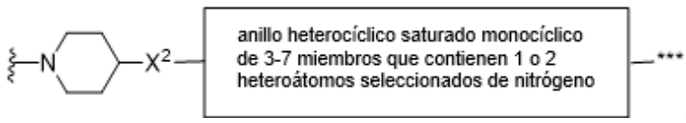
[0239] En ciertas modalidades, L es -(piperidinileno)-X^2-(alquileno C_{1-10})-***, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^2 es -O-, -N(H)- o -N(alquilo C_{1-6})-. En ciertas modalidades, L es -(piperidinileno)-X^2-(alquileno C_{1-10})-***, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^2 es -O-.

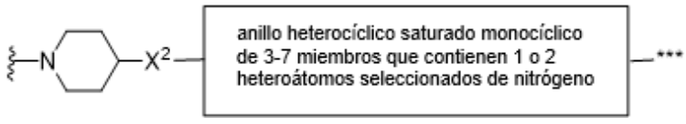
[0240] En ciertas modalidades, L es -(piperidinileno)-X^2-(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-***, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^2 es -O-, -N(H)- o -N(alquilo C_{1-6})-. En ciertas modalidades, L es -(piperidinileno)-X^2-(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-***, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^2 es -O-.

[0241] En ciertas modalidades, L es 

, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^2 es -O-, -N(H)-, o -N(alquilo C_{1-6})-. En ciertas modalidades, L es 

, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^2 es -O-.

[0242] En ciertas modalidades, L es 

, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^2 es -O-, -N(H)-, o -N(alquilo C_{1-6})-. En ciertas modalidades, L es 

, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^2 es -O-.

[0243] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-X^1-***, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^1 es $-(OCH_2CH_2)_{1-10}$ donde 1 grupo CH_2 se reemplaza opcionalmente con -C(H)(cicloalquilo C_{3-6})-.

[0244] En ciertas modalidades, L es un anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 7-11 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de nitrógeno y oxígeno. En ciertas modalidades, L es un anillo heterocíclico saturado espirocíclico o bicíclico fusionado de 7-8 miembros que contiene 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno.

[0245] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-X^3-(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-, en donde X^3 es alquileno C_{1-10}, -O-, -N(H)-, -N(alquilo C_{1-4})-, o un enlace.

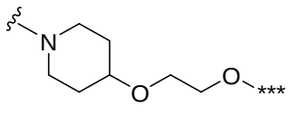
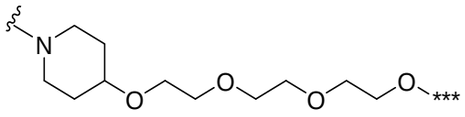
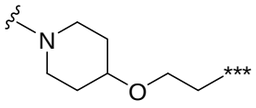
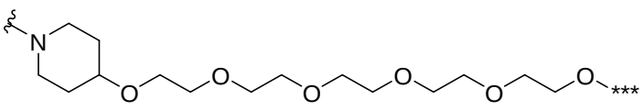
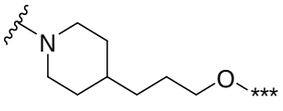
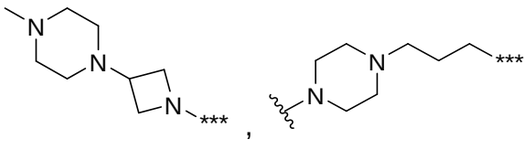
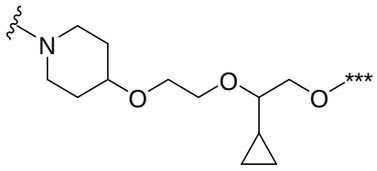
[0246] En ciertas modalidades, L es -(piperidinileno)-(alquileno C_{1-5})-(piperazinileno)-***, en donde *** es el punto de unión a A^2.

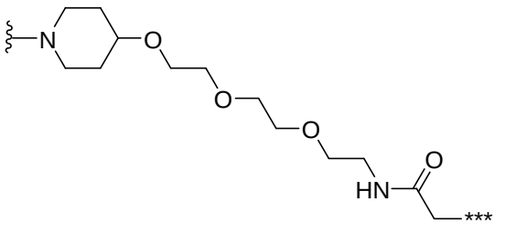
[0247] En ciertas modalidades, L es -(piperazinileno)-(azetidinileno)-*** o (azetidinileno)-(piperazinileno)-***, en donde *** es el punto de unión a A^2.

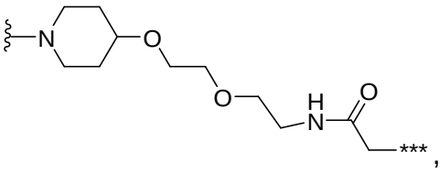
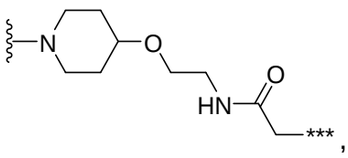
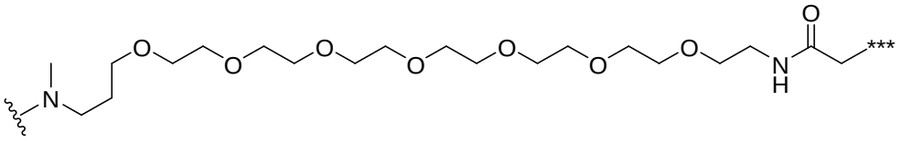
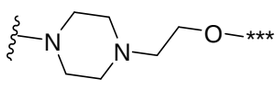
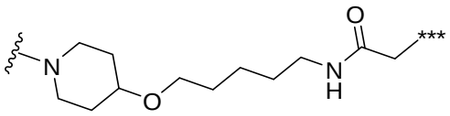
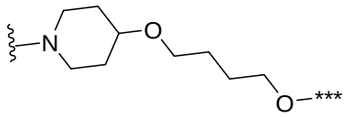
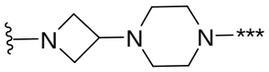
[0248] En ciertas modalidades, L es -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-X^3-(cicloalquileno C_{3-6})-O-***, -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-X^3-(cicloalquileno C_{3-6})-N(H)-***, o -(anillo heterocíclico saturado monocíclico de 3-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-X^3-(cicloalquileno C_{3-6})-N(alquilo C_{1-4})-***, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^3 es alquileno C_{1-10}, -O-, -N(H)-, -N(alquilo C_{1-4})-, o un enlace.

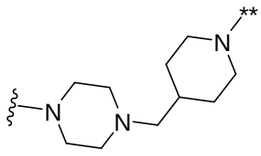
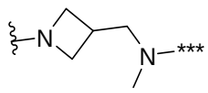
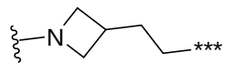
[0249] En ciertas modalidades, L es -(piperidinileno)-X^3-(cicloalquileno C_{3-6})-O-***, -(piperidinileno)-X^3-(cicloalquileno C_{3-6})-N(H)-***, o -(piperidinileno)-X^3-(cicloalquileno C_{3-6})-***, en donde *** es el punto de unión a A^2, y X^3 es alquileno C_{1-10}, -O-, -N(H)-, -N(alquilo C_{1-4})-, o un enlace.

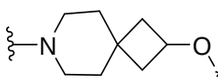
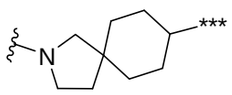
[0250] En ciertas modalidades, L tiene la fórmula –(alquileno C_{0-12})-(heteroalquileno de 3-40 miembros opcionalmente sustituido)-(alquileno C_{0-12})-.

[0251] En ciertas modalidades, L es  ,  ,  ,  ,  ,  ,  en donde *** es el punto de unión a A^2.

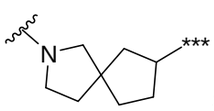
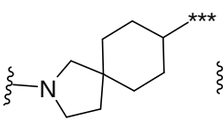
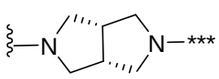
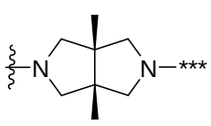
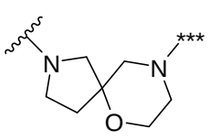
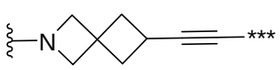
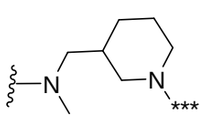


[0252] En ciertas modalidades, L es  ,  ,  ,  ,  ,  ,  .




en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0253] En ciertas modalidades, L es  o  , en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0254] En ciertas modalidades, L es








en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0255] En ciertas modalidades, L es -(heterociclilo espirocíclico de 8-12 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-(cicloalquileno C_{3-4})-***, -(heterociclilo espirocíclico de 8-12 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-(alquileno C_{0-4})-***, -(heterociclilo espirocíclico de 8-12 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-C(O)-(alquileno C_{1-4})-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-(heterociclileno monocíclico saturado de 3-5 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionado independientemente de nitrógeno y oxígeno)-O-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-(alquileno C_{0-4})-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos)-(alquileno C_{0-4})-O-***, -(heterociclilo espirocíclico de 8-12 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-C(O))-***, -(heterociclilo espirocíclico de 8-12 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-O-(alquileno C_{0-6})-***, -(heterociclilo espirocíclico de 8-12 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{1-6})-O-(alquileno C_{0-6})-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos)-C(O)N(H)-(alquileno C_{0-6})-***, -(N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{0-6})-C(O)N(H)-(alquileno C_{0-6})-***, -(heterociclilo espirocíclico de 8-12 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-(alquinileno C_{2-4})-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-(alquilo C_{1-6})-(heterociclileno monocíclico saturado de 3-5 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-

6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-C(O)N(H)-(alquileno C_{0-6})-N(H))-***, -(C(O)N(H)-(alquileno C_{0-6})-(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos)-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-N(alquilo C_{1-6})-(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-O-***, -C(O)-(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-C(O)-***, -(alquileno C_{0-6})-(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-C(O)-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-C(O)-(alquileno C_{0-6})***, -C(O)-(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{1-6})-***, -(C(O)N(H)-(alquileno C_{1-6})-C(O)N(H)-(alquileno C_{0-6})-***, o -(heterociclilo bicíclico fusionado de 8-11 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-(alquileno C_{1-4})-***,en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0256] En ciertas modalidades, L es -N(alquilo C_{1-6})-(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-C(O)-(alquileno C_{0-6})-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-4})-O-***, -(alquileno C_{0-6})-N(H)C(O)N(H)-(alquileno C_{0-6})-***, -N(H)-(alquileno C_{0-6})-(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-6})-***, -(alquileno C_{0-6})-C(O)-(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-6})-***, -(alquileno C_{0-6})-(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-C(O)N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{0-6})-***, -(alquileno C_{0-6})-(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-6})-N(alquilo C_{1-6})-(heterociclileno monocíclico saturado de 3-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-***, -(heterociclilo monocíclico de 4-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-6})-O-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-O-***, -(heterociclilo monocíclico de 4-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-6})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-O-***, -(heterociclilo monocíclico de 4-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-6})-(heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-***, -(heterociclilo espirocíclico de 8-12 miembros sustituido con 1 o 2 fluoro que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-(alquileno C_{1-4})-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-4})-(cicloalquileno C_{3-6})-(alquileno C_{0-4})-O-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-4})-(cicloalquileno C_{3-6})-(alquileno C_{0-4})-***, -

(alquileno C_{0-4})-(heterociclilo espirocíclico de 8-12 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-***, -(alquileno C_{0-4})-(cicloalquileno C_{3-6})-(alquinileno C_{2-4})-***, -(alquileno C_{0-4})-(heterociclilo bicíclico fusionado de 8-10 miembros sustituido con 1 o dos fluoro que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-4})-***, -(heterociclilo espirocíclico de 8-12 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-O-***, -(heterociclilo espirocíclico de 8-12 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-(alquileno C_{0-4})-(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-***, -(alquileno C_{0-4})-(heterociclilo saturado de 4-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(fenileno sustituido con trifluorometilo)-(alquileno C_{0-4})-N(H)-***, o es -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-C(O)-(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-6})-***, -(cicloalquileno C_{3-6})-C(O)N(alquilo C_{1-6})(alquileno C_{0-6})-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(fenileno sustituido con 0 o 1 apariciones de metilo o halo)-(alquileno C_{0-6})-***, -(heterociclileno monocíclico saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-6})-(heterociclileno monocíclico sustituido con oxo saturado de 5-6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno)-(alquileno C_{0-6})-***, -(heterociclilo sustituido con alquilo C_{1-4} espirocíclico de 8-12 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos independientemente seleccionados de nitrógeno y oxígeno)-(alquileno C_{0-6})-$(O)_{0-1}$***, -(alquinileno C_{2-4})-(heterociclilo espirocíclico de 8-12 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-(alquileno C_{0-4})-***, -(alquileno C_{0-4})-(cicloalquileno C_{3-7})-(alquinileno C_{2-4})-***, -(alquileno C_{1-4})-(heterociclilo espirocíclico de 8-12 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-(alquileno C_{0-4})-***, -(alquileno C_{1-4})-(heterociclilo saturado de 5-7 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-(alquileno C_{0-4})-***, -(alquileno C_{0-4})-(heterociclilo saturado de 5-7 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno y oxígeno)-(alquenileno C_{2-4})-***, o -(alquileno C_{0-4})-(heterociclilo saturado de 6-8 miembros sustituido con 1 o 2 fluoro que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno y oxígeno)-(alquileno C_{0-4})-***,en donde *** es el punto de unión a A^2.

[0257] En ciertas modalidades, L es -N(H)-(alquileno C_{2-9})-O-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-(alquileno C_{10-20})-O-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-(alquileno C_{7-15})-C(O)-***, -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-(alquileno C_{2-9})-O-(alquileno C_{1-6})-C(O)N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-(alquileno C_{2-9})-O-(alquileno C_{1-6})-C(O)N(H)-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, o -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-

(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, donde *** es un punto de unión a A^2.

[0258] En ciertas modalidades, L es -N(H)-(alquileno C_{2-9})-O-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-(alquileno C_{10-20})-O-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-(alquileno C_{7-15})-C(O)-***, -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-(alquileno C_{2-9})-O-(alquileno C_{1-6})-C(O)N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-(alquileno C_{2-9})-O-(alquileno C_{1-6})-C(O)N(H)-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, o -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, donde *** es un punto de unión a A^2.

[0259] En ciertas modalidades, L es -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})C(O)-(alquileno C_{1-6})***, -N(H)-(alquileno C_{1-6})-N(H)C(O)-(alquileno C_{1-6})***, -N(H)-(alquileno C_{2-6})-***, -N(H)-(alquileno C_{7-15})-***, -N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{2-6})-***, -N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{7-15})-***, -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-(alquileno C_{1-6})-(heterocicloalquileno de 3-6 miembros)-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-(alquileno C_{1-6})-(heterocicloalquileno de 3-6 miembros)-(alquileno C_{1-6})-N(H)-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-(alquileno C_{2-6})-N(H)-(alquileno C_{1-6})-***, o -N(H)-(alquileno C_{2-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, donde *** es un punto de unión a A^2.

[0260] En ciertas modalidades, L es -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-C(O)-***, -N(H)-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})C(O)-(alquileno C_{1-6})***, -N(H)-(alquileno C_{1-6})-N(H)C(O)-(alquileno C_{1-6})***, -N(H)-(alquileno C_{2-6})-***, -N(H)-(alquileno C_{7-15})-***, -N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{2-6})-***, -N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{7-15})-***, -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-(alquileno C_{1-6})-(heterocicloalquileno de 3-6 miembros)-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-(alquileno C_{1-6})-(heterocicloalquileno de 3-6 miembros)-(alquileno C_{1-6})-N(H)-(alquileno C_{1-6})-***, -N(H)-(alquileno C_{2-6})-N(H)-(alquileno C_{1-6})-***, o -N(H)-(alquileno C_{2-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, donde *** es un punto de unión a A^2.

[0261] En ciertas modalidades, L es -[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-***, -[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-***, -[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})(alquileno C_{1-6})-***, -[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})(alquileno C_{1-6})-***, -[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)(alquileno C_{1-6})-***, -[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-C(O)N(H)-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-N(H)C(O)-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-C(O)N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-N(H)C(O)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-C(O)N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-N(H)C(O)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-C(O)N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-N(H)C(O)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-C(O)N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, o -(alquileno C_{1-9})-N(H)C(O)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-}

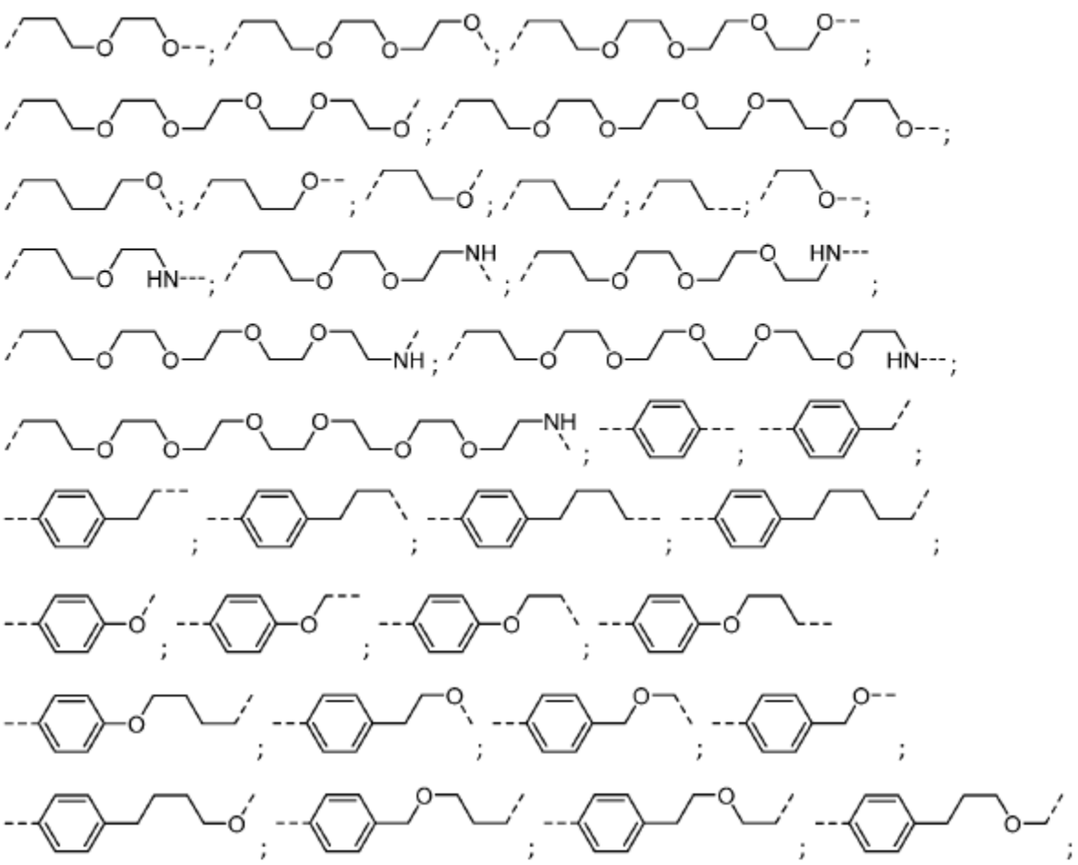
$_6$)-***, donde *** es un punto de unión a A^2.

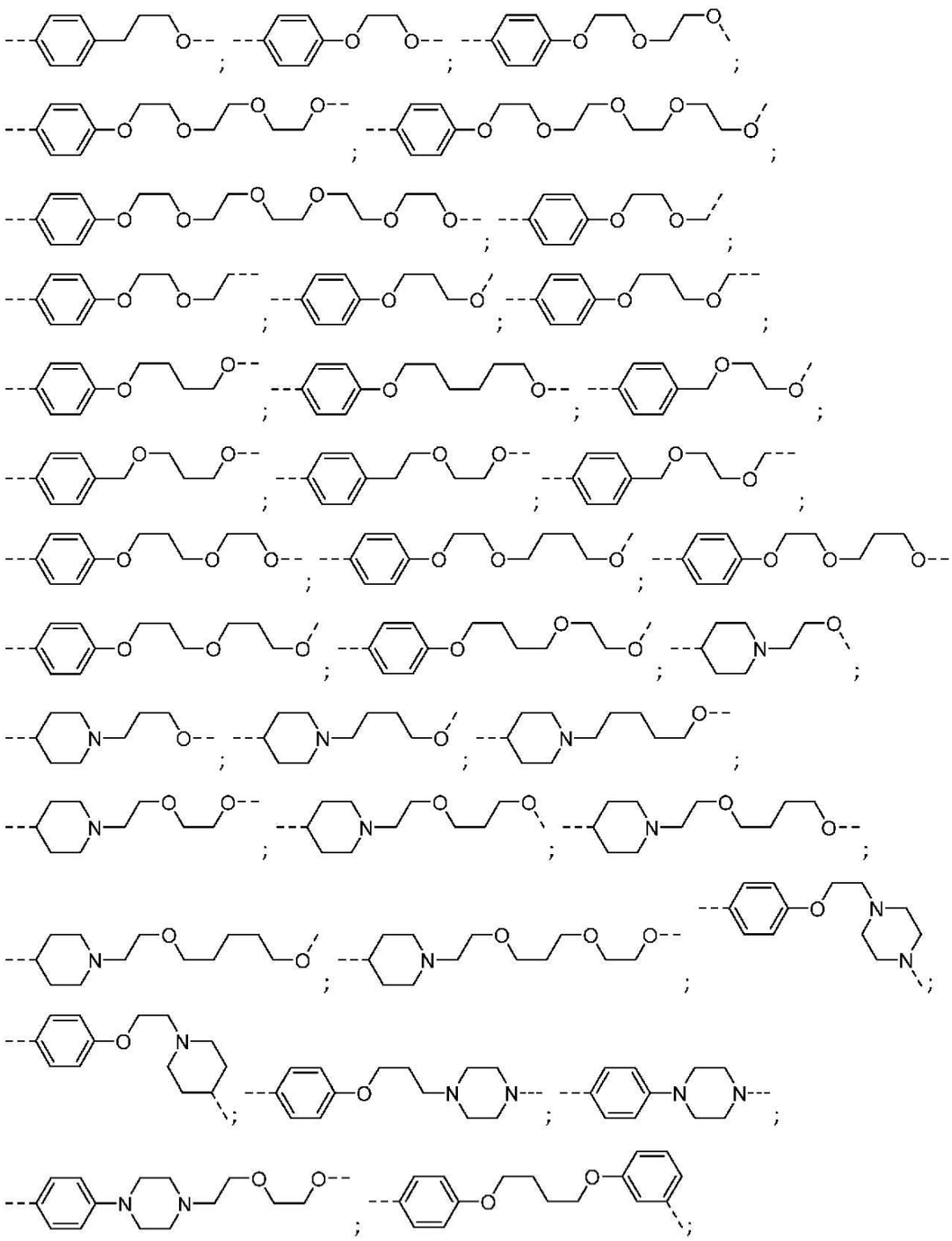
[0262] En ciertas modalidades, L es -[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-***, -[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-***, -[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})(alquileno C_{1-6})-***, -[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})(alquileno C_{1-6})-***, -[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)(alquileno C_{1-6})-***, -[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-C(O)N(H)-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-N(H)C(O)-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-C(O)N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-N(H)C(O)-[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-C(O)N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-N(H)C(O)-[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-C(O)N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-N(H)C(O)-[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, -(alquileno C_{1-9})-C(O)N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, o -(alquileno C_{1-9})-N(H)C(O)-[(CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-(alquileno C_{1-6})-***, donde *** es un punto de unión a A^2.

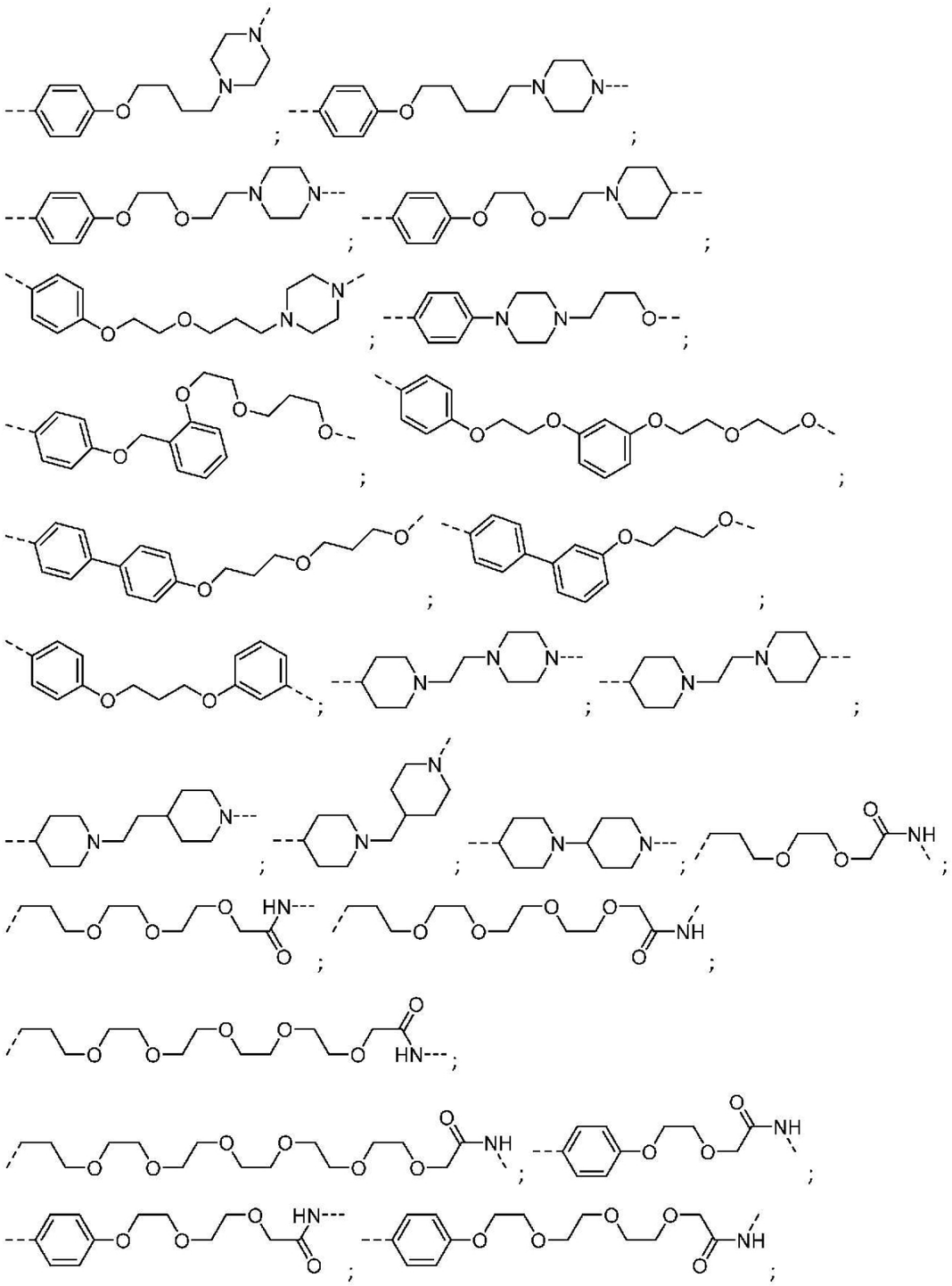
[0263] En ciertas modalidades, L es -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)-***, -N(H)-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)-***, -N(alquilo C_{1-6})-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)-***, -N(alquilo C_{1-6})-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)-***, -N(alquilo C_{1-6})-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-***, o -N(alquilo C_{1-6})-[(alquileno C_{2-4})-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-***, donde *** es un punto de unión a A^2.

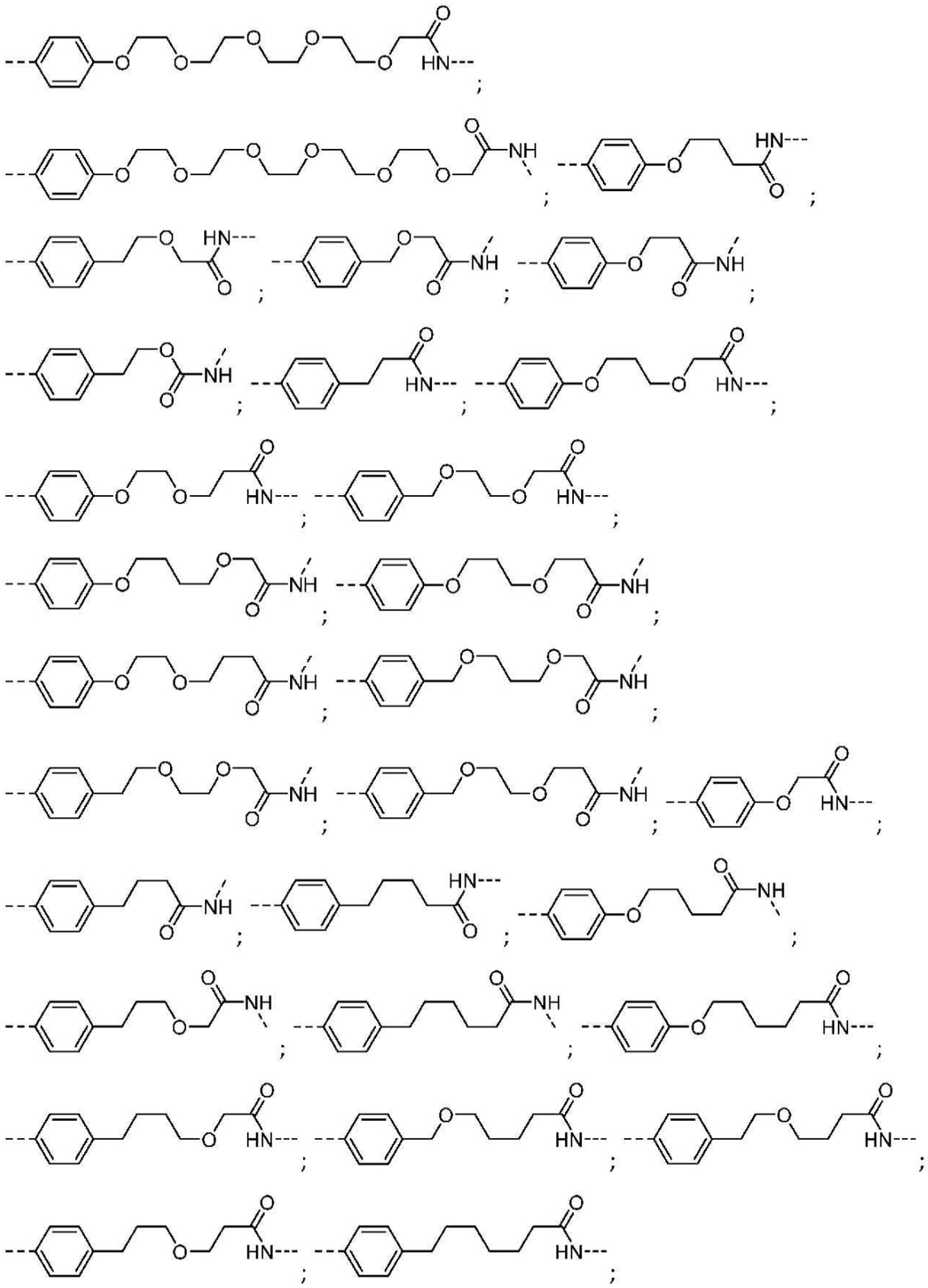
[0264] En ciertas modalidades, L es -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)-***, -N(H)-[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)-***, -N(alquilo C_{1-6})-[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)-***, -N(alquilo C_{1-6})-[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(H)-***, -N(alquilo C_{1-6})-[CH_2CH_2-O-]$_{2-6}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-***, o -N(alquilo C_{1-6})-[CH_2CH_2-O-]$_{7-15}$-(alquileno C_{1-6})-N(alquilo C_{1-6})-***, donde *** es un punto de unión a A^2.

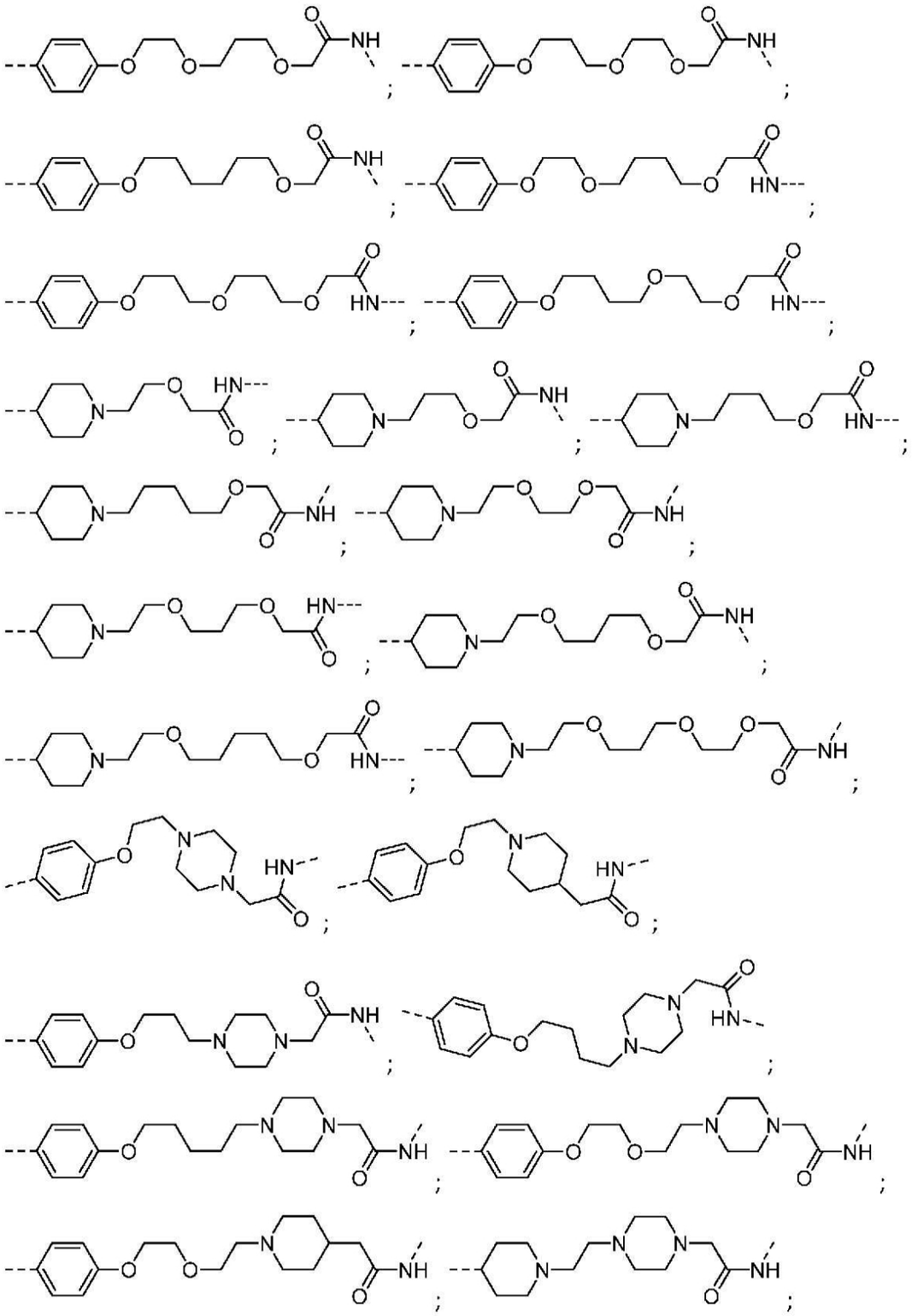
[0265] En algunas modalidades, L es uno de los siguientes:

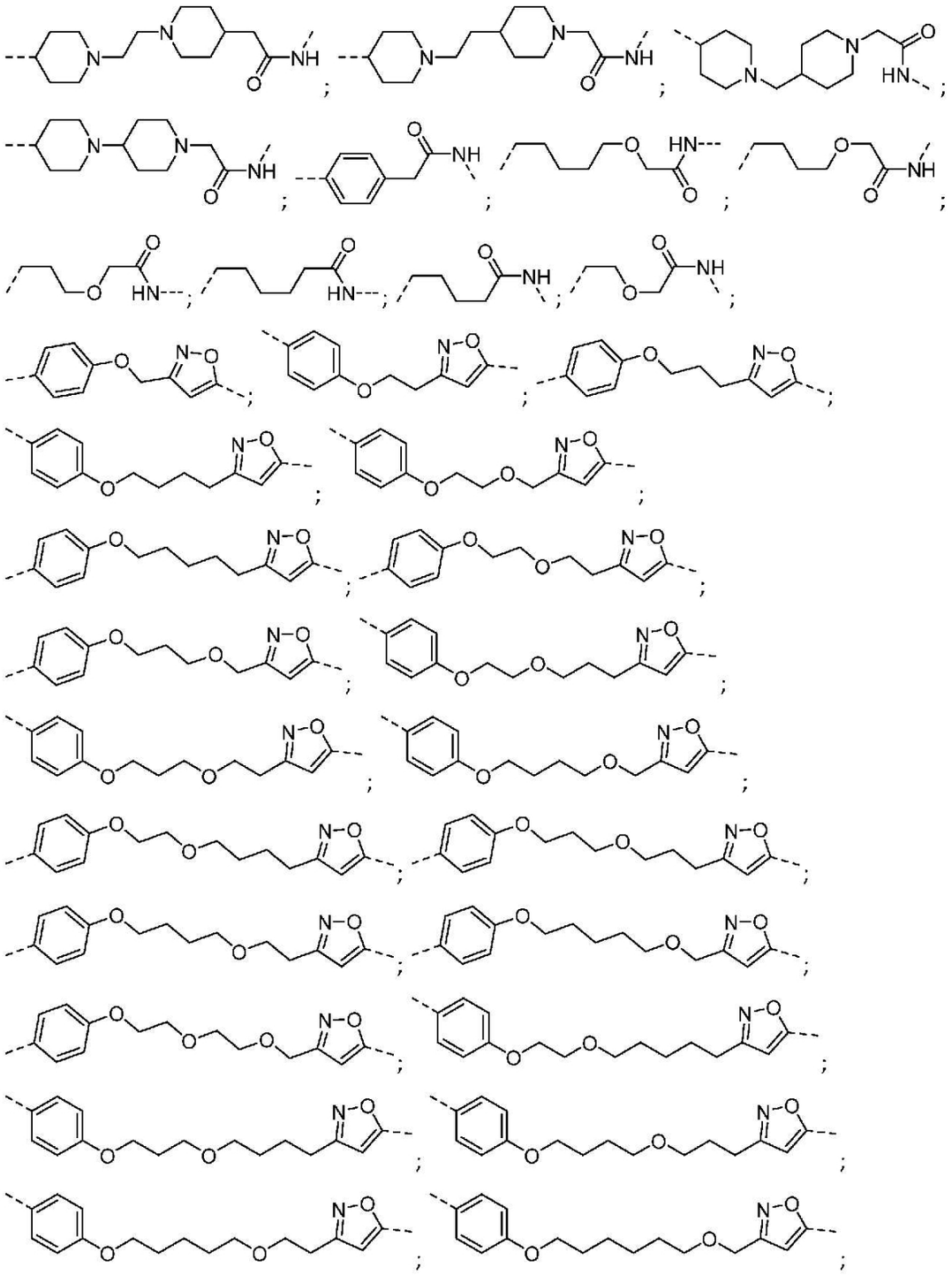


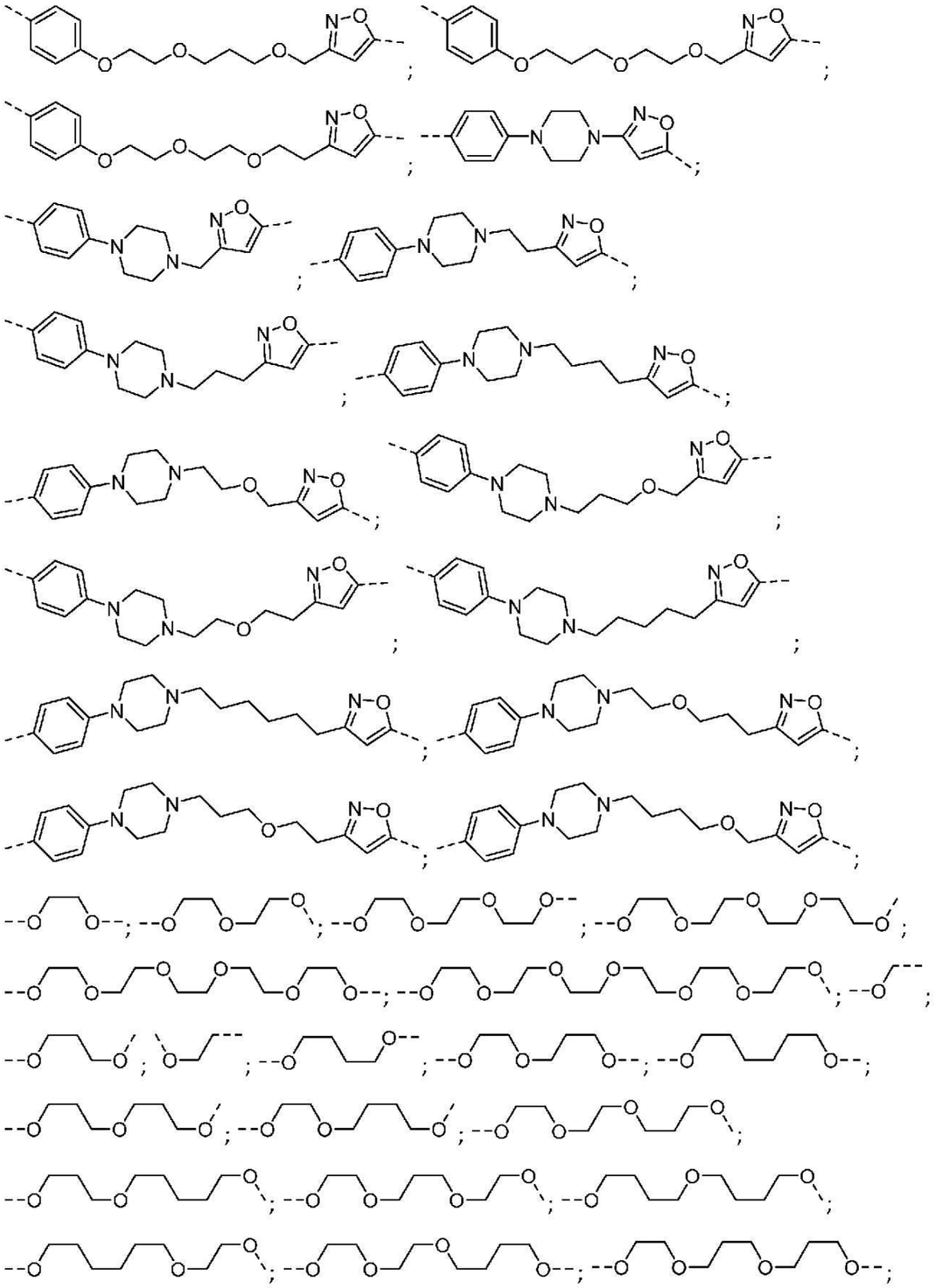


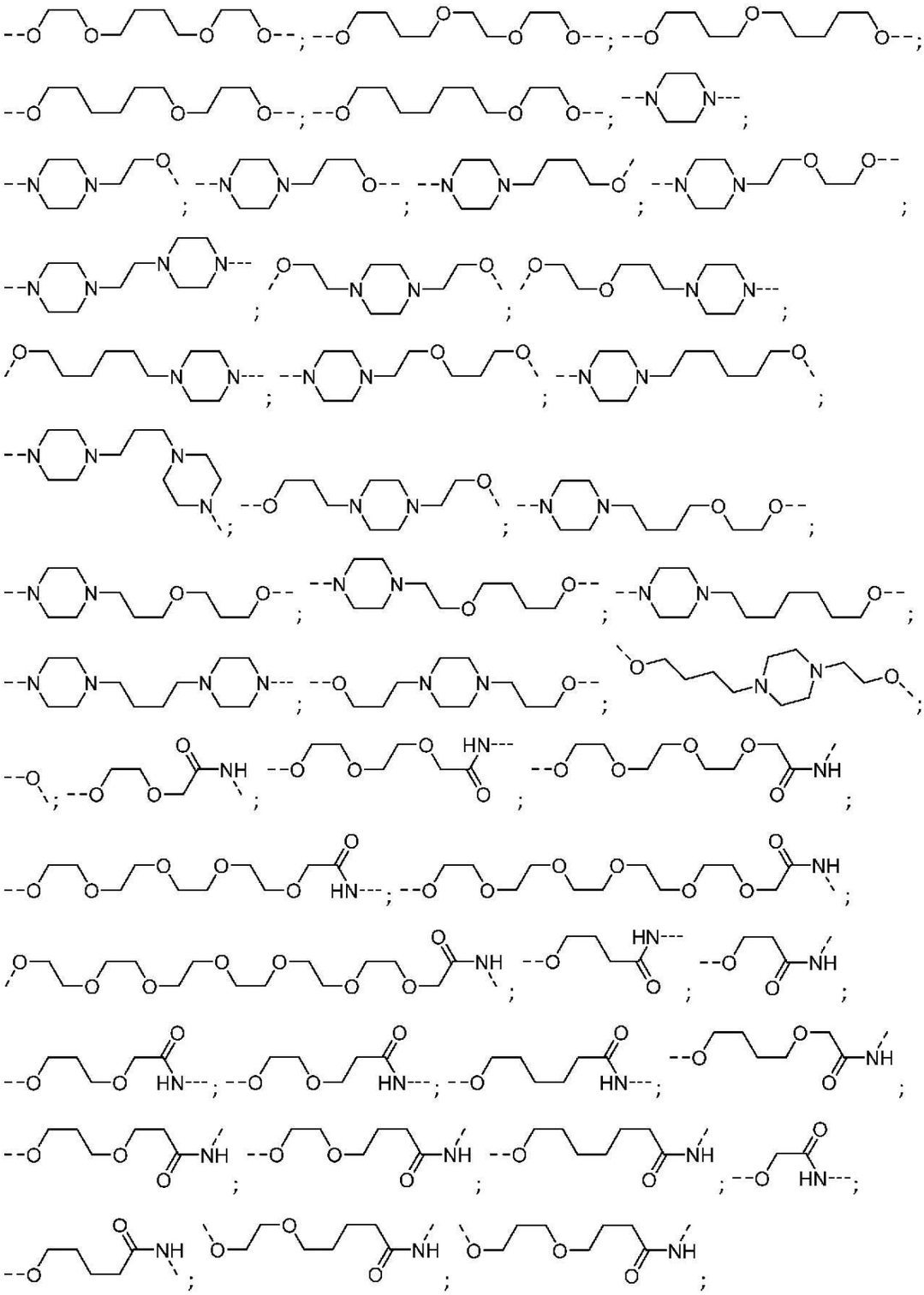


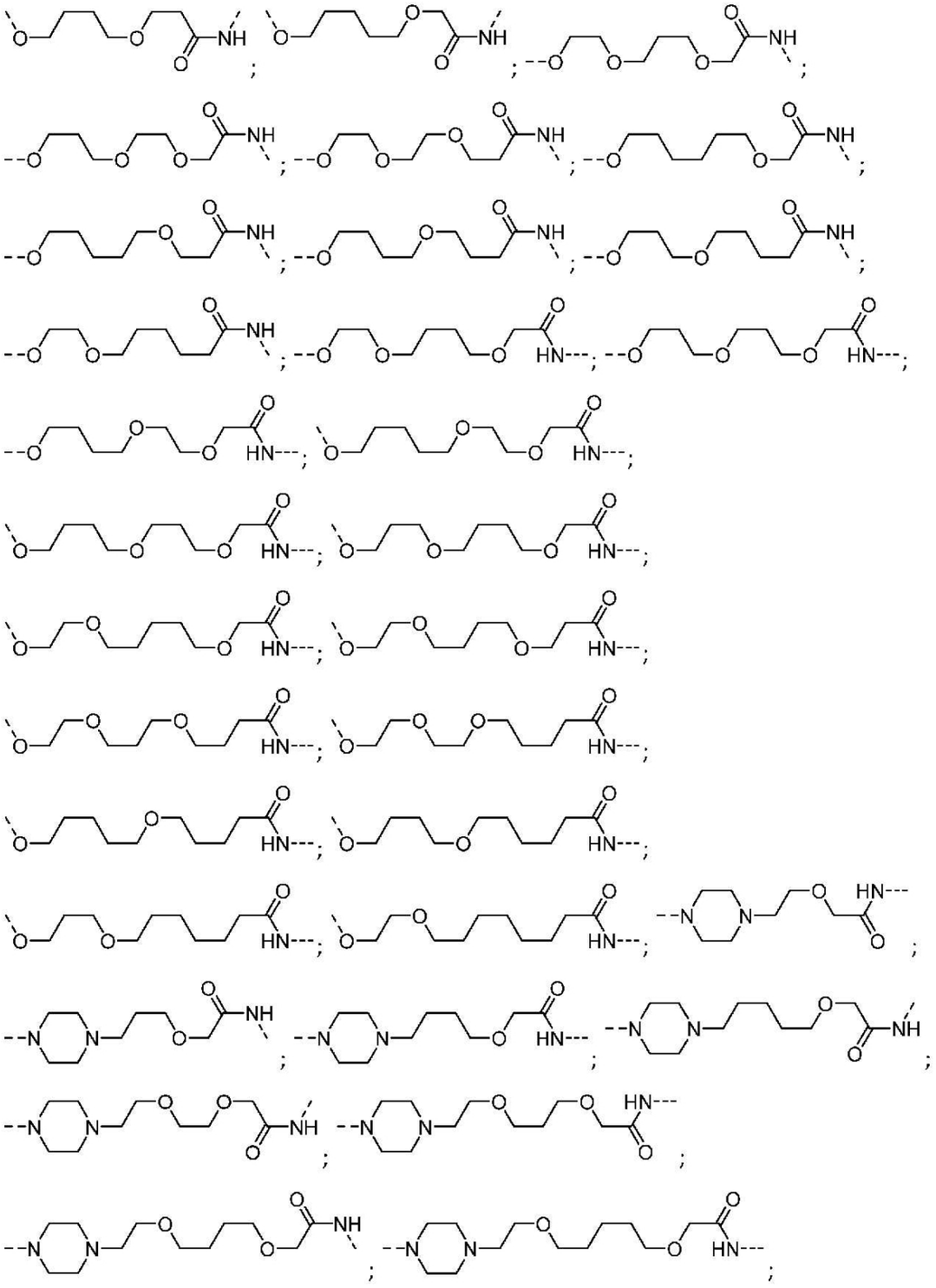


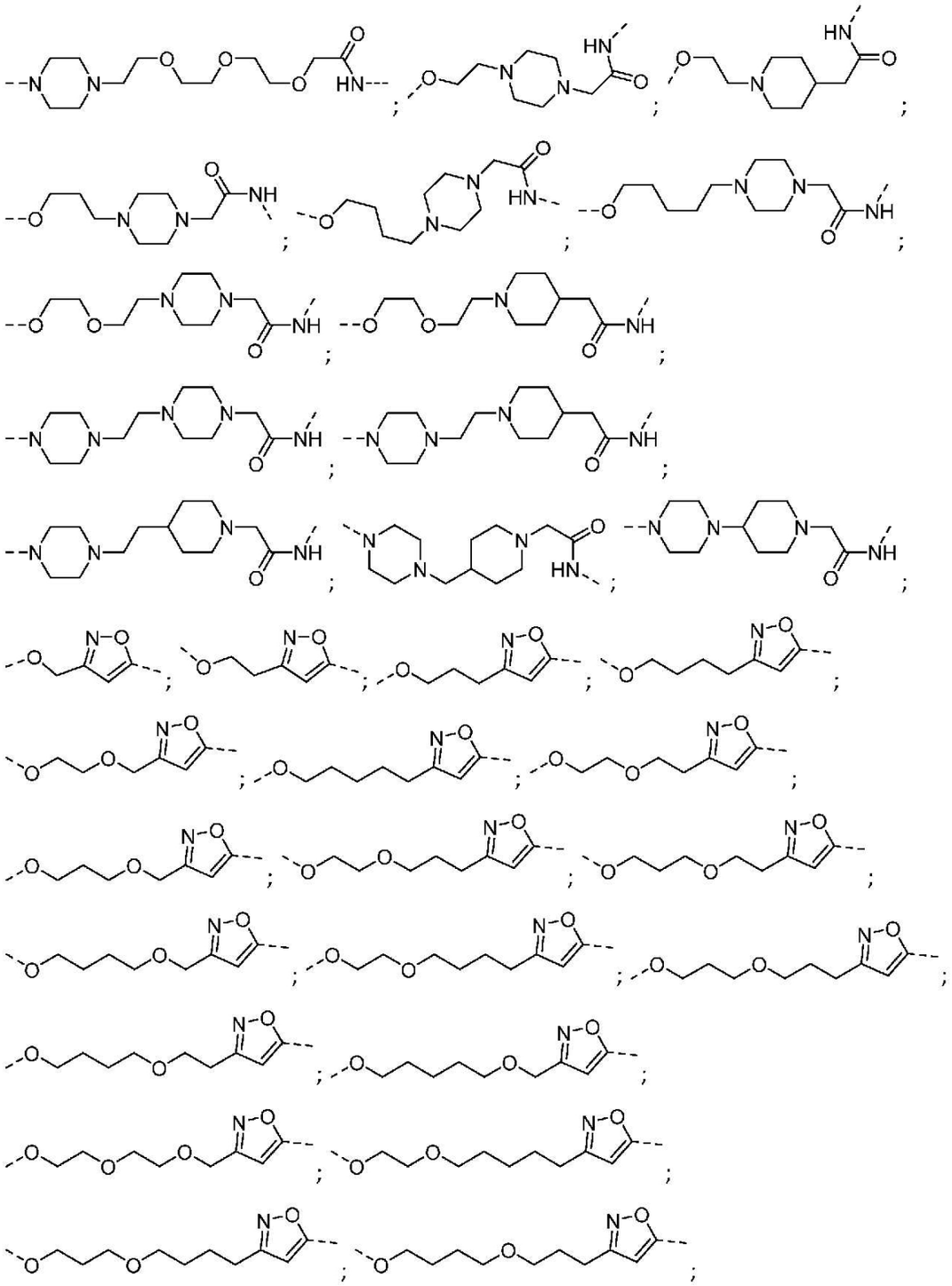


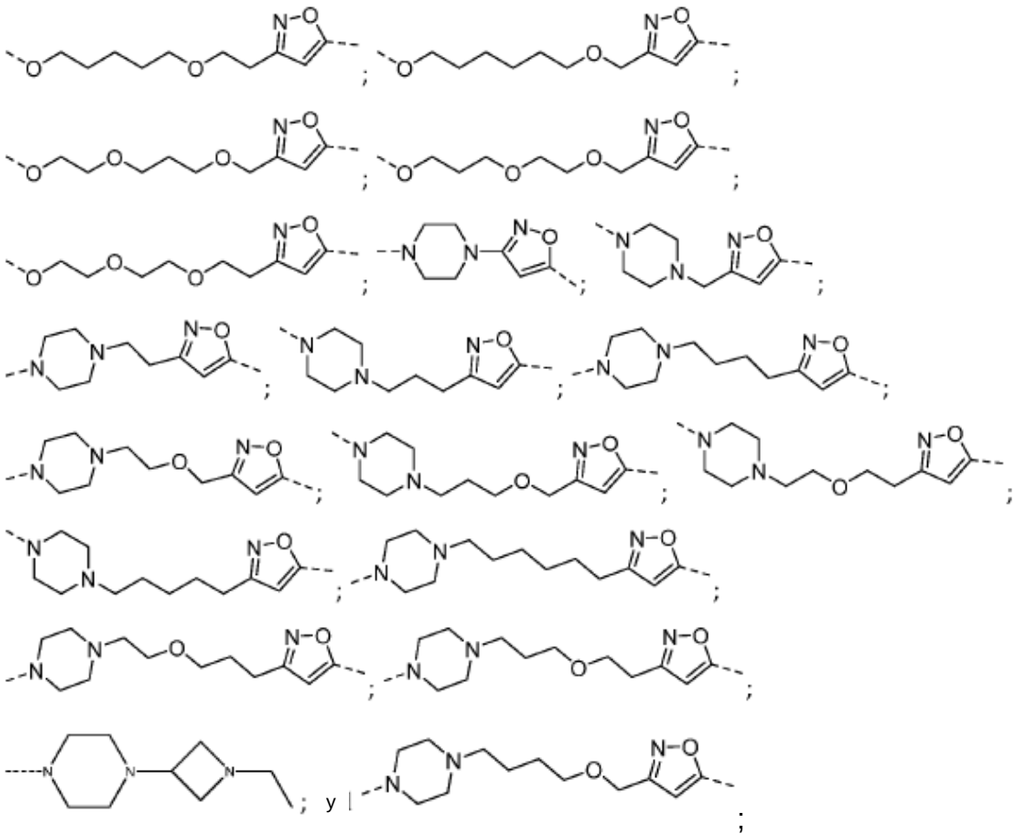










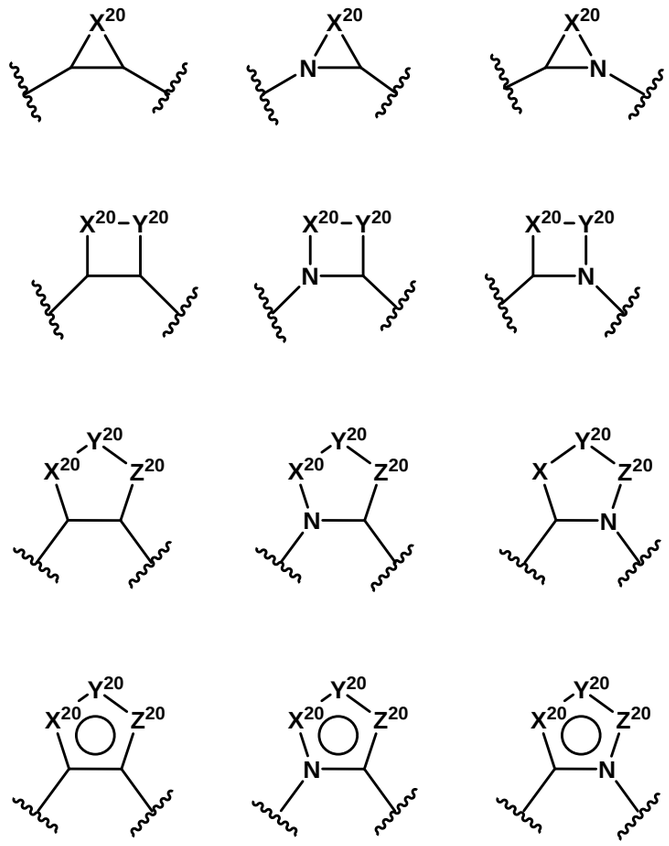


en donde una línea discontinua indica un punto de unión.

[0266] En ciertas modalidades, L es -C(H)(R^{100})-, -C(R^{100})$_2$-, O, -N(R^{101})-, -S(O)$_2$-, un cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido, un cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido o un heterociclileno de 3-7 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}, y R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

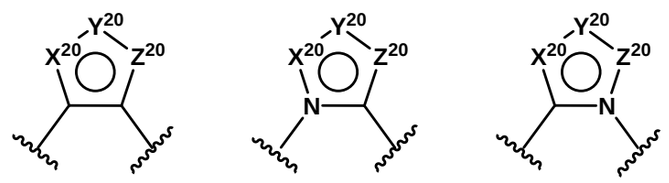
[0267] En ciertas modalidades, L es -CH_2-Y^{20}-, -C(H)(R^{100})-Y^{20}-, -C(R^{100})$_2$-Y^{20}-, -O-Y^{20}-, -N(R^{101})-Y^{20}-, -S(O)$_2$-Y^{20}-, -C(O)-Y^{20}-, -(cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido)-Y^{20}-, -(cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido)-Y^{20}-, -(heterociclileno de 3-7 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre)-Y^{20}-, -Y^{20}-CH_2-, -Y^{20}-C(H)(R^{100})-, -Y^{20}-C(R^{100})$_2$-, -Y^{20}-O-, -Y^{20}-N(R^{101})-, -Y^{20}-S(O)$_2$-, -Y^{20}-C(O)-, -Y^{20}-(cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido)-, -Y^{20}-(cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido)-, o -Y^{20}-(heterociclileno de 3-7 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre)-; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}, y R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

[0268] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:



en donde X^{20}, Y^{20}, y Z^{20} son independientemente $-CH_2-$, $-C(H)(R^{100})-$, $-C(R^{100})_2-$, O, $-N(R^{101})-$, $-S(O)_2-$, -C(O)-, un cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido, o un cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}, y R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

[0269] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:



en donde X^{20}, Y^{20}, y Z^{20} son independientemente $-C(R^{100})-$ o -N-; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

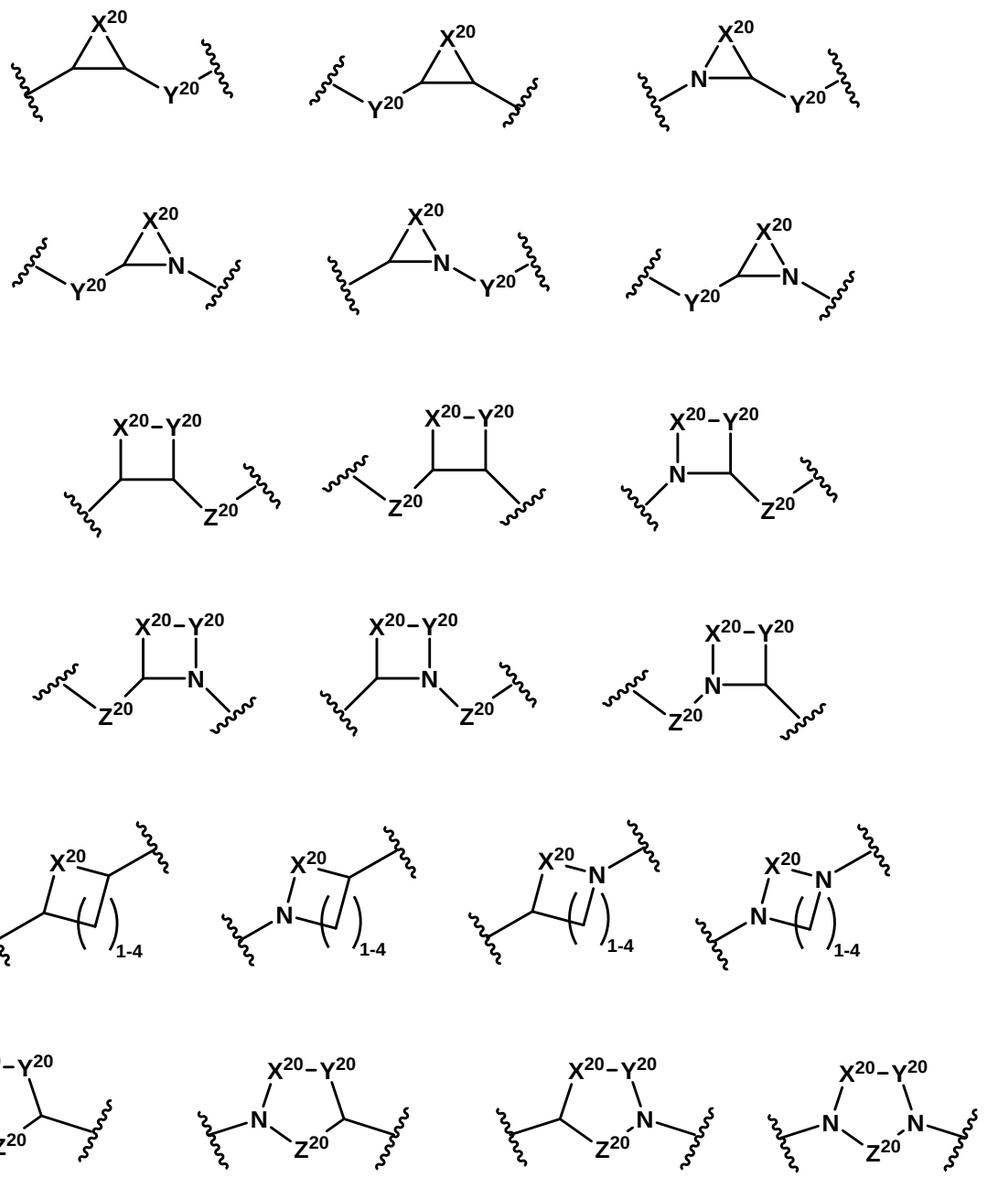
[0270] En ciertas modalidades, L es $-X^{20}-Y^{20}-Z^{20}-$, en donde X^{20}, Y^{20}, y Z^{20} son independientemente $-CH_2-$, $-C(H)(R^{100})-$, $-C(R^{100})_2-$, O, $-N(R^{101})-$, $-S(O)_2-$, -C(O)-, un cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido, un cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido, o heterociclileno de 3-7 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}, y R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En

ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

[0271] En ciertas modalidades, L es $-X^{20}=Y^{20}-Z^{21}-$, en donde X^{20} y Y^{20} son independientemente $-C(R^{100})-$ o $-N-$, y Z^{21} es $-CH_2-$, $-C(H)(R^{100})-$, $-C(R^{100})_2-$, O, $-N(R^{101})-$, $-S(O)_2-$, $-C(O)-$, un cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido, o un cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}, y R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

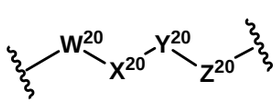
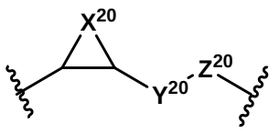
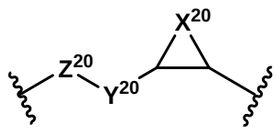
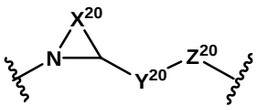
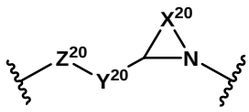
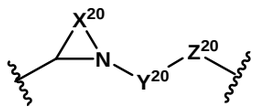
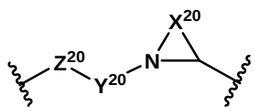
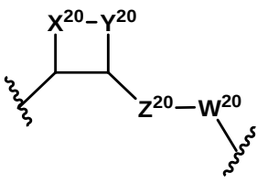
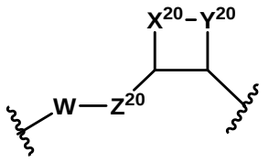
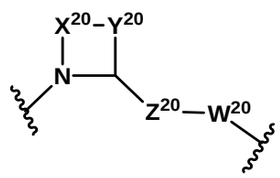
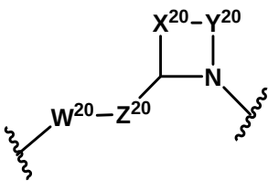
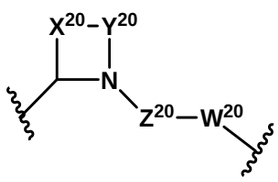
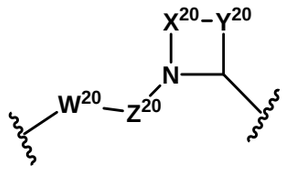
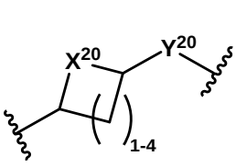
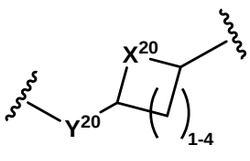
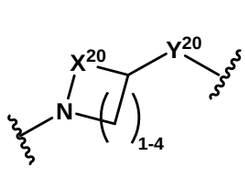
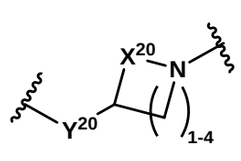
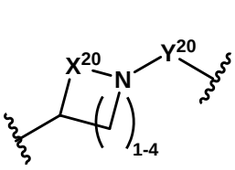
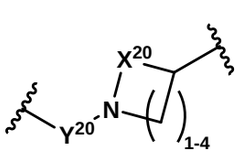
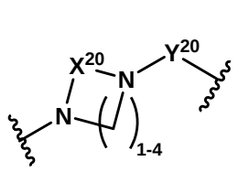
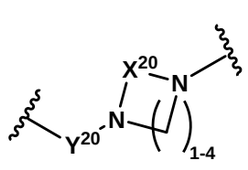
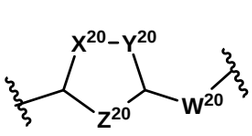
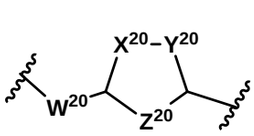
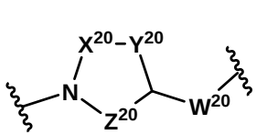
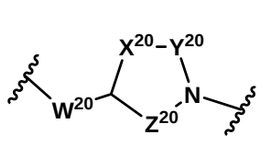
[0272] En ciertas modalidades, L es $-C\equiv C-Z^{20}-$, en donde Z^{20} es $-CH_2-$, $-C(H)(R^{100})-$, $-C(R^{100})_2-$, O, $-N(R^{101})-$, $-S(O)_2-$, $-C(O)-$, un cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido, o un cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}, y R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

[0273] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:

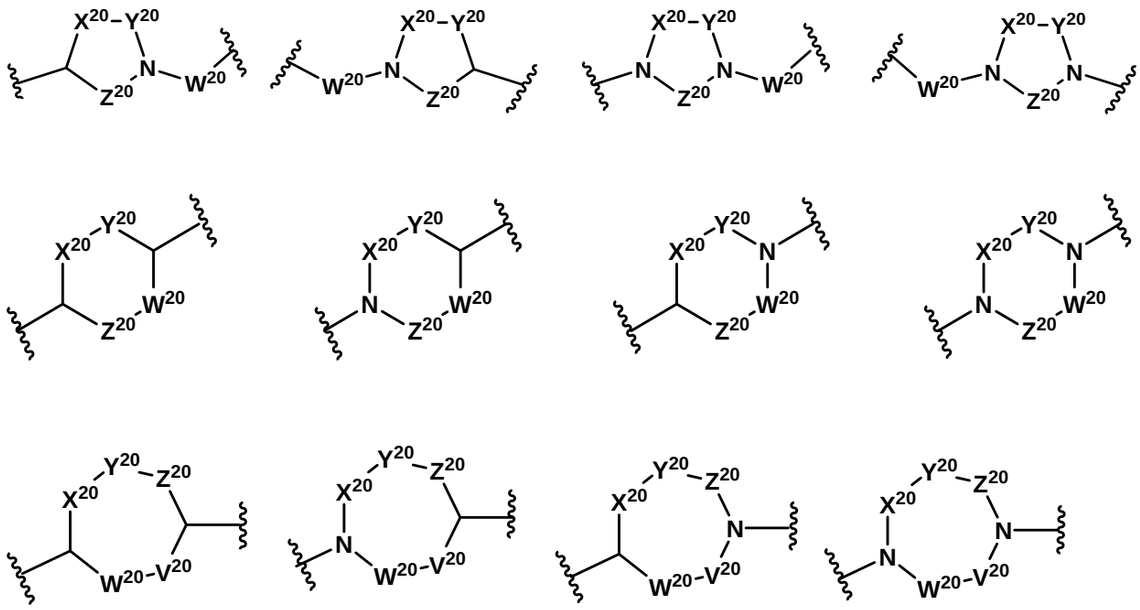


en donde X^{20}, Y^{20}, y Z^{20} son independientemente -CH_2-, -C(H)(R^{100})-, -C(R^{100})$_2$-, O, -N(R^{101})-, -$S(O)_2$-, -C(O)-, un cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido, un cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido, o heterociclileno de 3-7 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}, y R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

[0274] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:

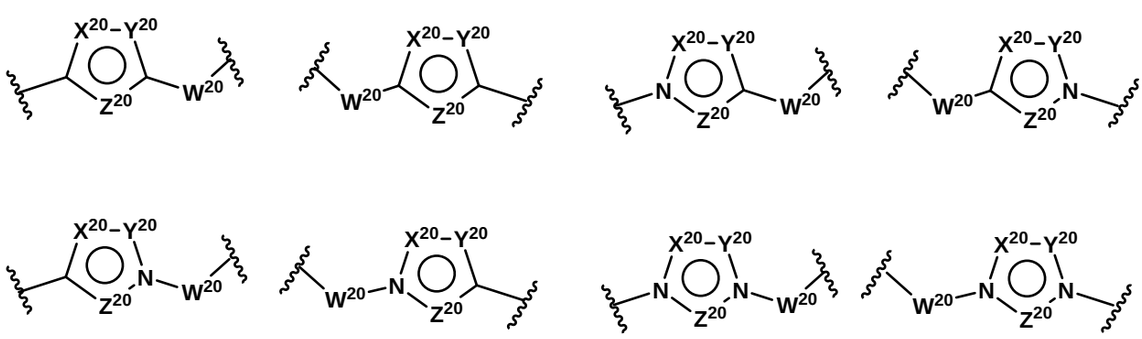


























[0275] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:



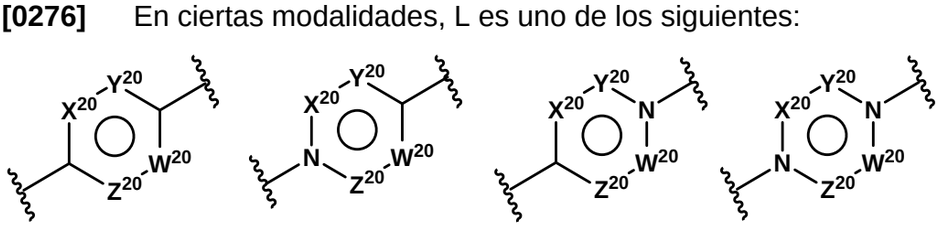
en donde V^{20}, W^{20}, X^{20}, Y^{20}, y Z^{20} son independientemente $-CH_2-$, $-C(H)(R^{100})-$, $-C(R^{100})_2-$, O, $-N(R^{101})-$, $-S(O)_2-$, -C(O)-, un cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido, un cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido, o heterociclileno de 3-7 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}, y R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

[0275] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:



en donde W^{20}, X^{20}, Y^{20}, y Z^{20} son independientemente $-C(R^{100})-$ o -N-; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

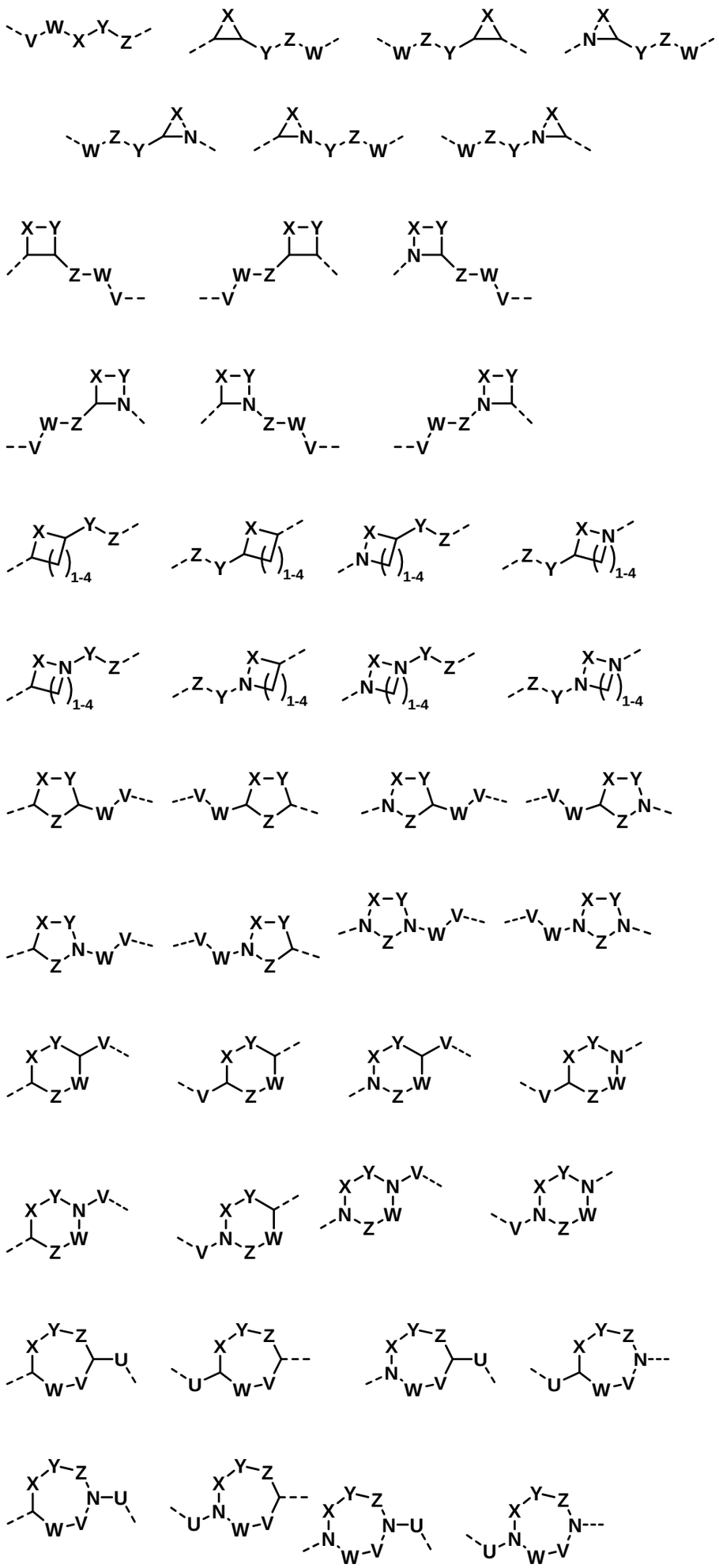
[0276] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:



en donde W^{20}, X^{20}, Y^{20}, y Z^{20} son independientemente $-C(R^{100})-$ o -N-; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}.

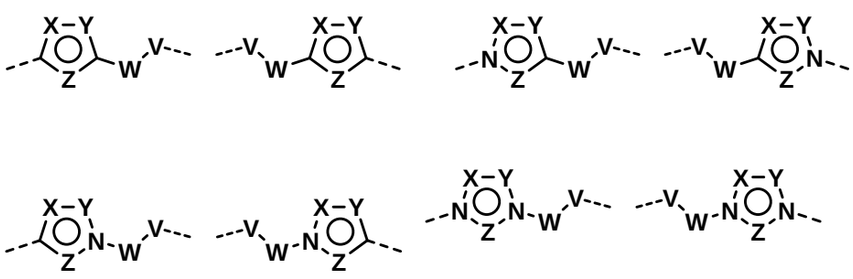
En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

[0277] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:



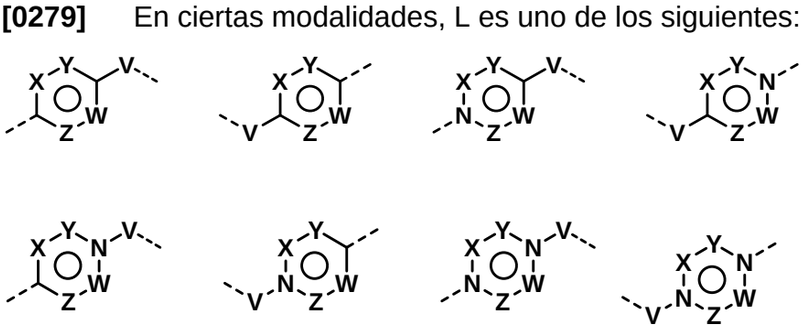
en donde U, V, W, X, Y, y Z son independientemente -CH_2-, -C(H)(R^{100})-, -C(R^{100})$_2$-, O, -N(R^{101})-, -S(O)$_2$-, -C(O)-, un cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido, un cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido, o heterociclileno de 3-7 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}; R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}; y una línea discontinua indica un punto de unión. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

[0278] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:



en donde X, Y, y Z son independientemente -C(R^{100})- o -N-; V y W son independientemente -CH_2-, -C(H)(R^{100})-, -C(R^{100})$_2$-, O, -N(R^{101})-, -S(O)$_2$-, -C(O)-, un cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido, un cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido, o heterociclileno de 3-7 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}; R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}; y una línea discontinua indica un punto de unión. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

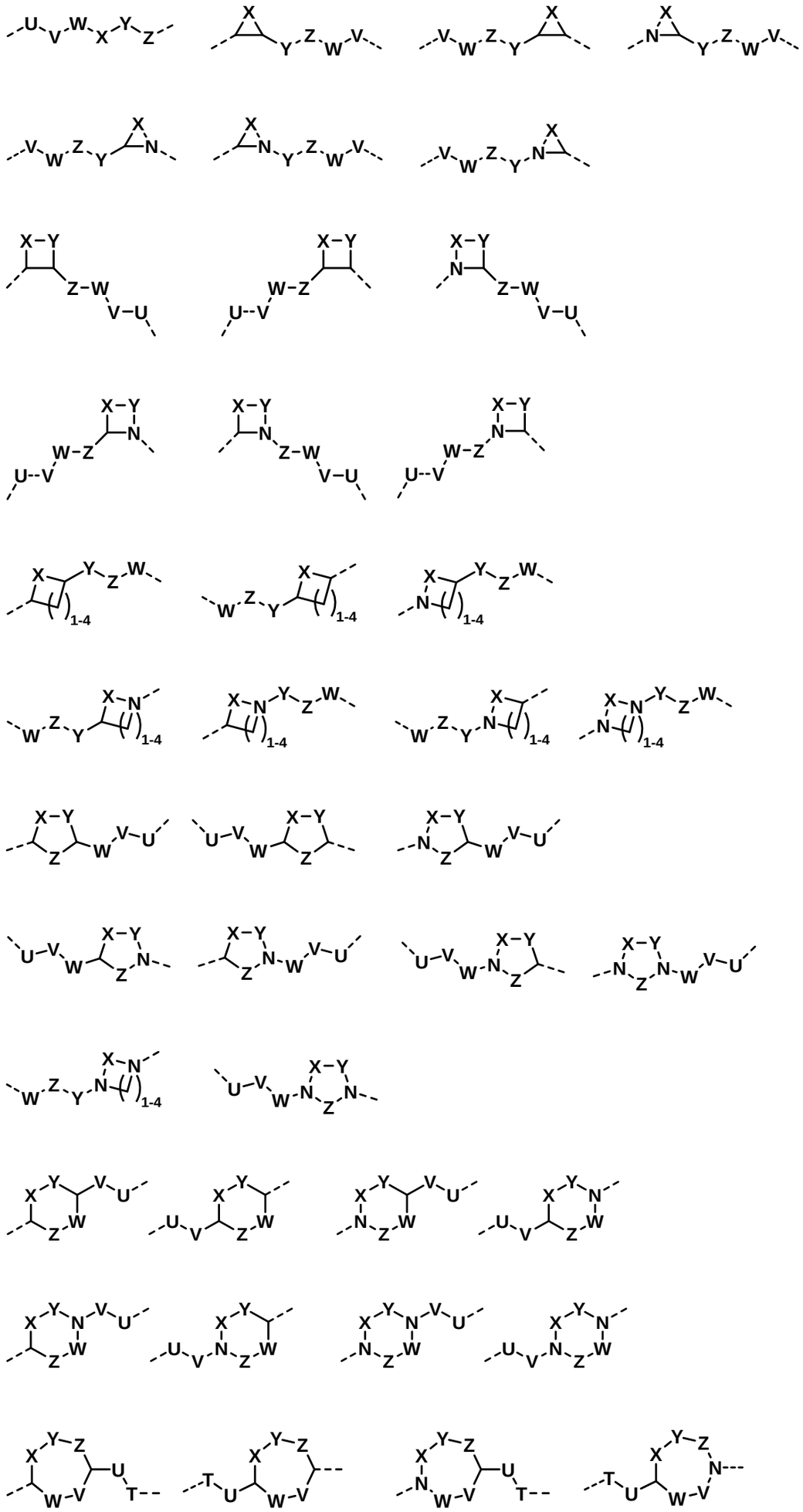
[0279] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:

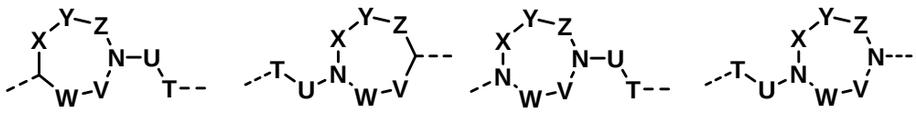


en donde W, X, Y, y Z son independientemente -C(R^{100})- o -N-; V es -CH_2-, -C(H)(R^{100})-, -C(R^{100})$_2$-, O, -N(R^{101})-, -S(O)$_2$-, -C(O)-, un cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido, un cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido, o heterociclileno de 3-7 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}; R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}; y una línea discontinua indica un punto de unión. En ciertas modalidades, R^{100}

representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

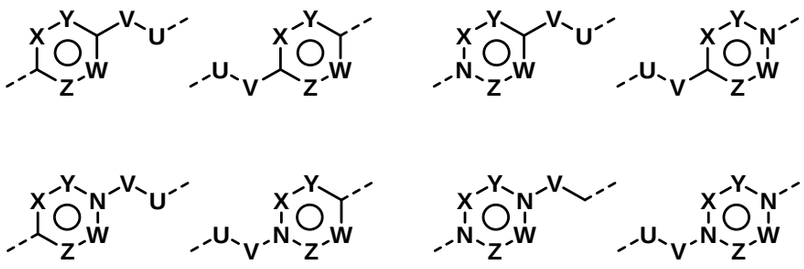
[0280] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:





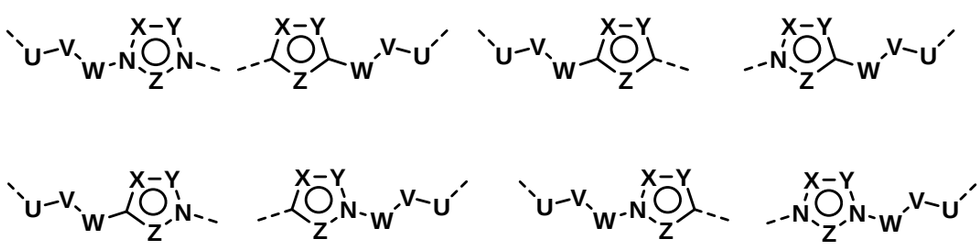
en donde T, U, V, W, X, Y, y Z son independientemente -CH_2-, -C(H)(R^{100})-, -C(R^{100})$_2$-, O, -N(R^{101})-, -S(O)$_2$-, -C(O)-, un cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido, un cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido, o heterociclileno de 3-7 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}; R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}; y una línea discontinua indica un punto de unión. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

[0281] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:



en donde W, X, Y, y Z son independientemente -C(R^{100})- o -N-; U y V son independientemente -CH_2-, -C(H)(R^{100})-, -C(R^{100})$_2$-, O, -N(R^{101})-, -S(O)$_2$-, -C(O)-, un cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido, un cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido, o heterociclileno de 3-7 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre; R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}; R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}; y una línea discontinua indica un punto de unión. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

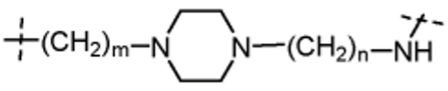
[0282] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:

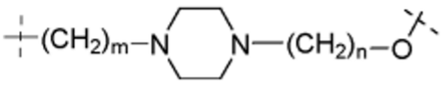


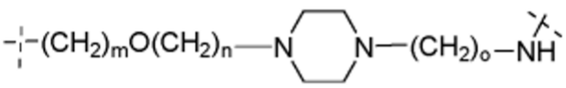
en donde X, Y, y Z son independientemente -C(R^{100})- o -N-; U, V y W son independientemente -CH_2-, -C(H)(R^{100})-, -C(R^{100})$_2$-, O, -N(R^{101})-, -S(O)$_2$-, -C(O)-, un cicloalquileno C_{3-7} opcionalmente sustituido, un cicloalquenileno C_{4-7} opcionalmente sustituido, o heterociclileno de 3-7 miembros opcionalmente sustituido que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados

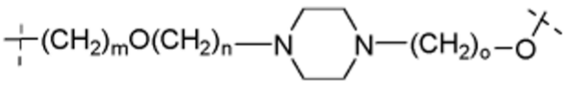
de oxígeno, nitrógeno y azufre; en donde R^{100} representa independientemente para cada aparición hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}; R^{101} es hidrógeno, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-6}; y una línea discontinua indica un punto de unión. En ciertas modalidades, R^{100} representa independiente para cada aparición hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo. En ciertas modalidades, R^{101} es hidrógeno, metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

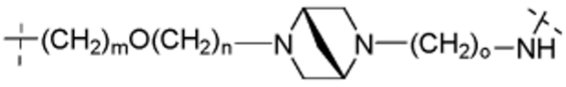
[0283] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:

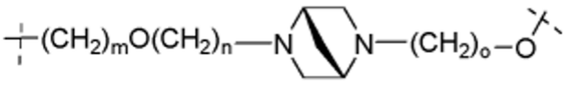

;

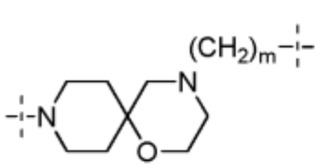

;

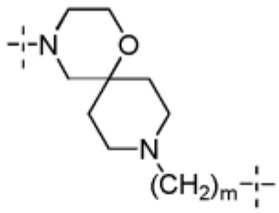

;

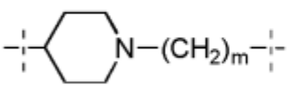

;

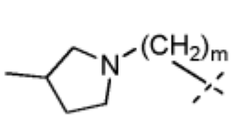

;

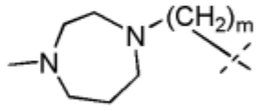


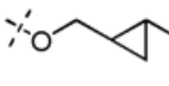

;

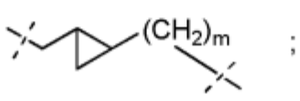

;


;


;

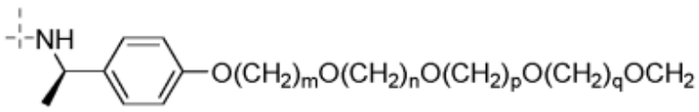


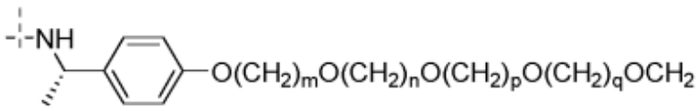

;

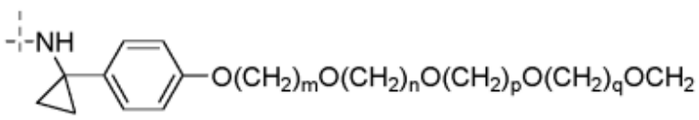

;

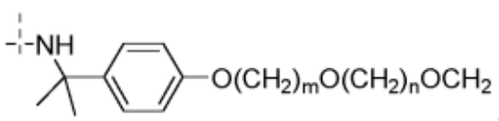
;

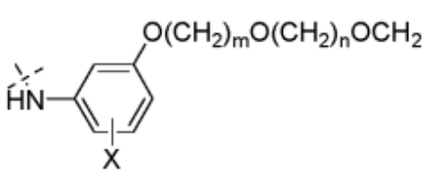
;

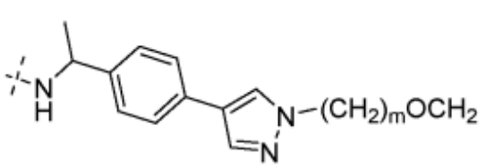

;


;


;

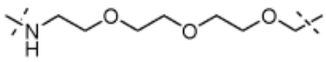
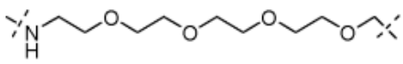
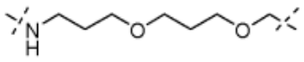
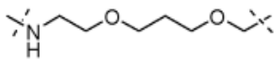
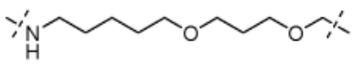
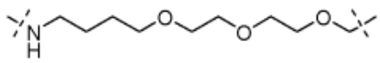
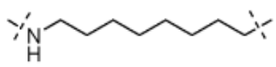
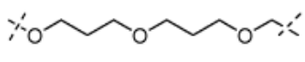
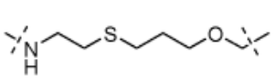
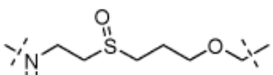
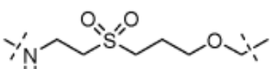
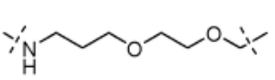
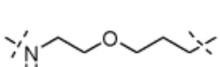
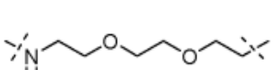
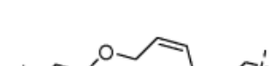
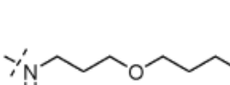
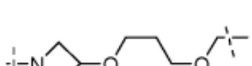

;


; y

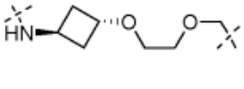
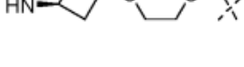
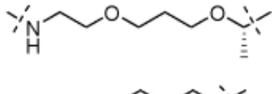
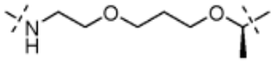
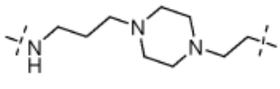
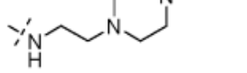
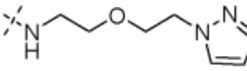
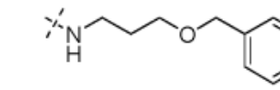
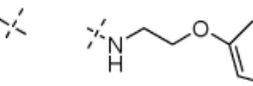
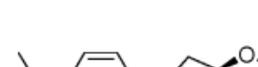

; en donde

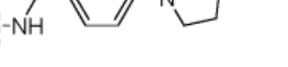
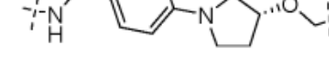
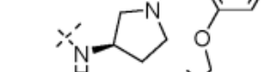
Las variables m, n, o, p y q son independientemente 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20.

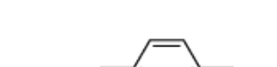
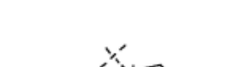
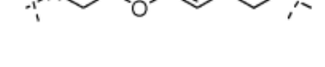
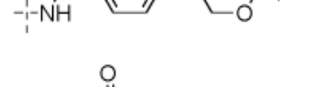
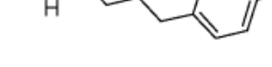
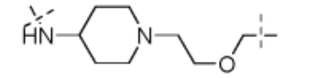
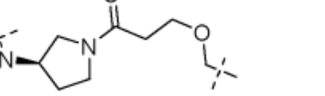
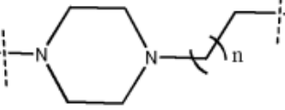
[0284] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:

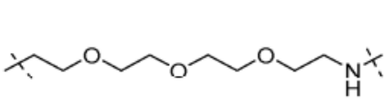
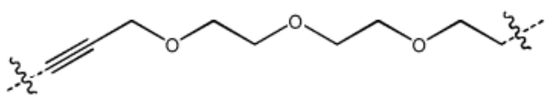
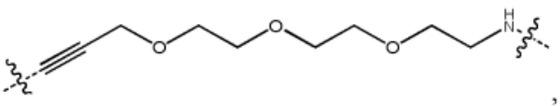
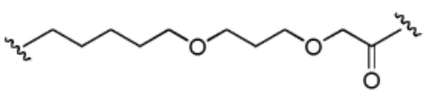
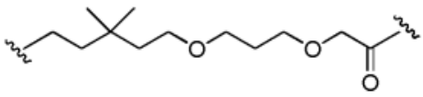
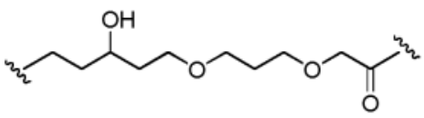
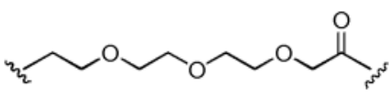
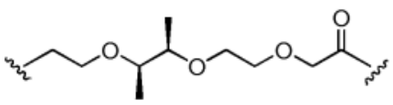
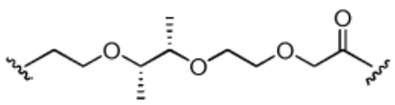
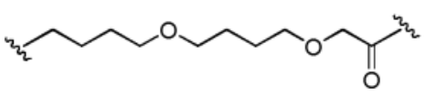
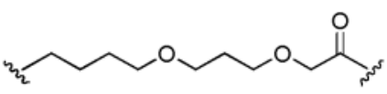
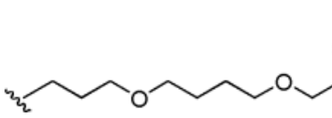
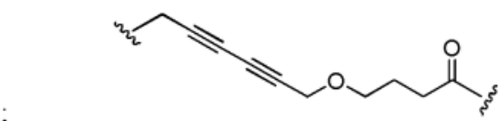


















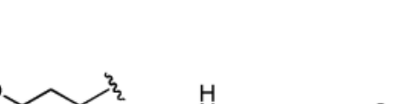
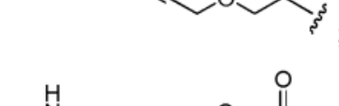
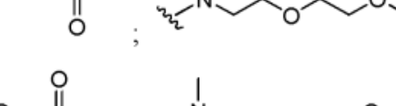
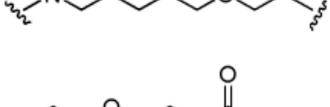
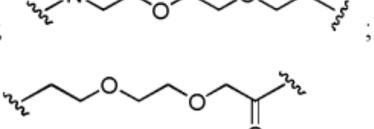
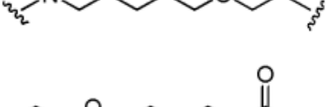
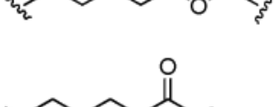
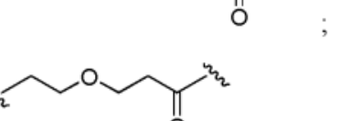
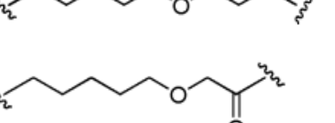
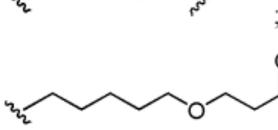
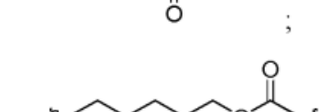
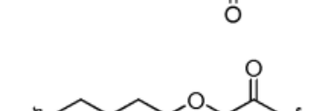




,

,

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

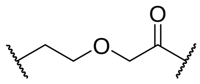
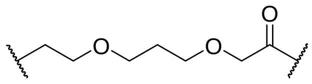
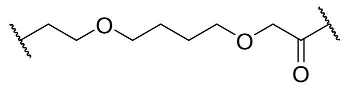
;

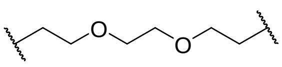
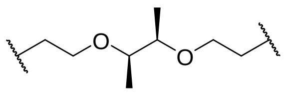
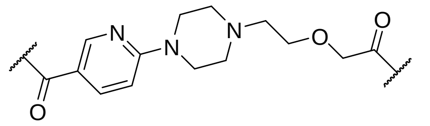
;

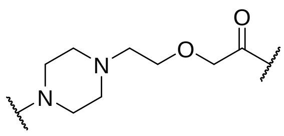
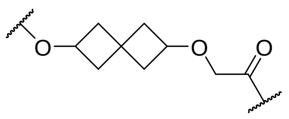
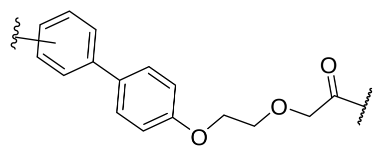
;

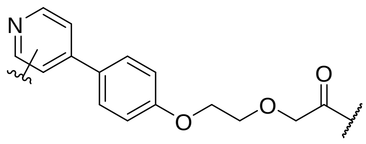
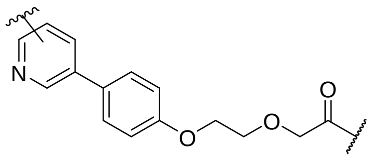
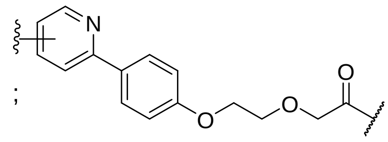
;

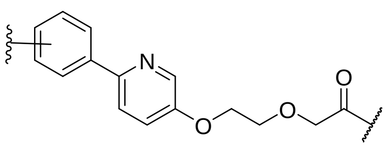
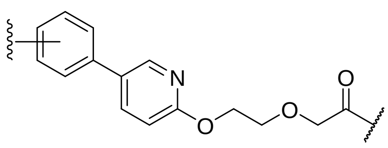
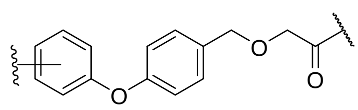
;

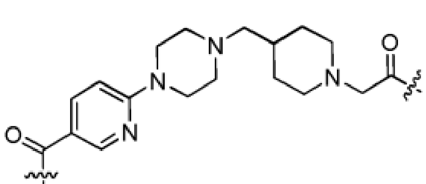
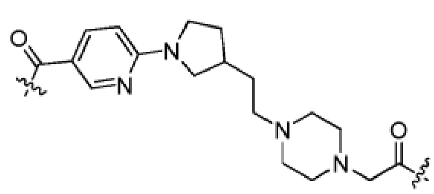
 ;  ;  ;

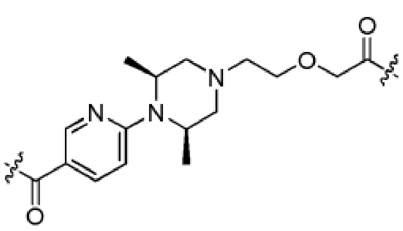
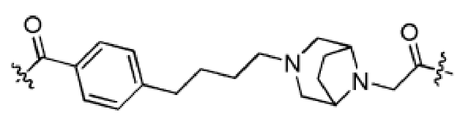
 ;  ;  ;

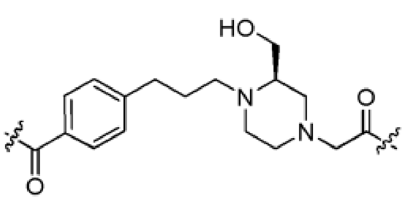
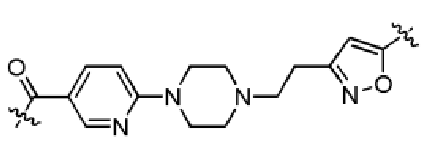
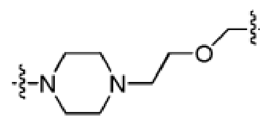
 ;  ;  ;

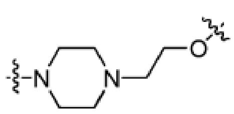
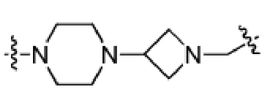
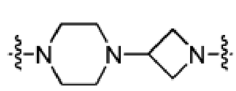
 ;  ;  ;

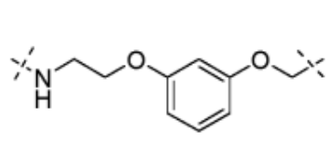
 ;  ;  ;

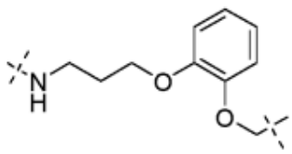
 ;  ;

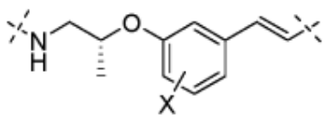
 ;  ;

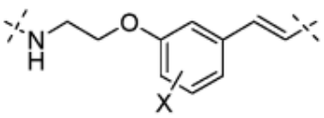
 ;  ;  ;

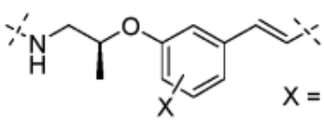
 ;  ;  ;



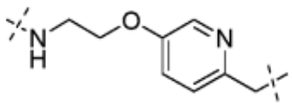


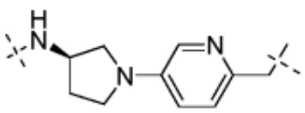


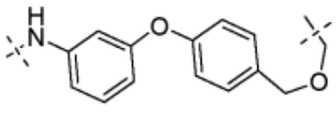


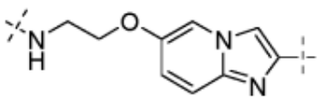


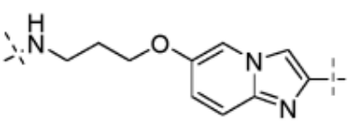
X = H, F

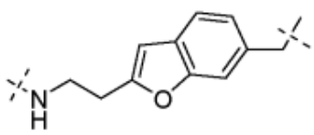


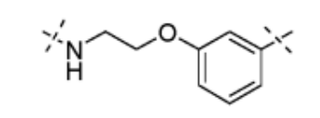


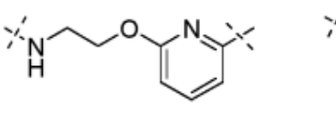


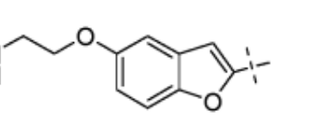


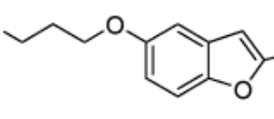


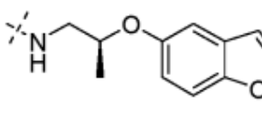


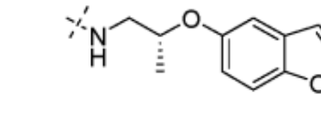


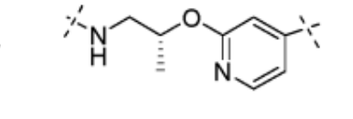


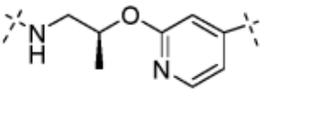


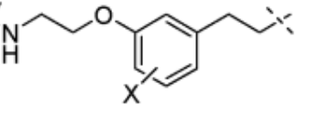


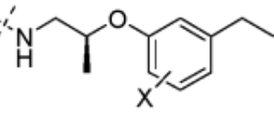


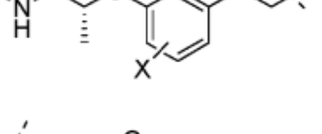


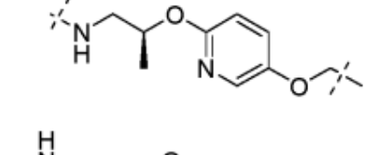


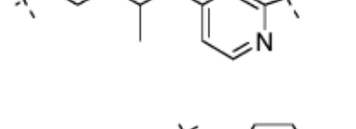


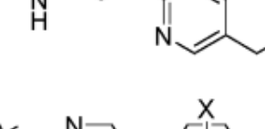


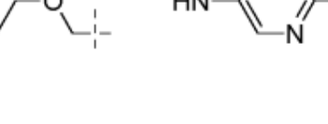


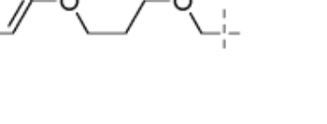


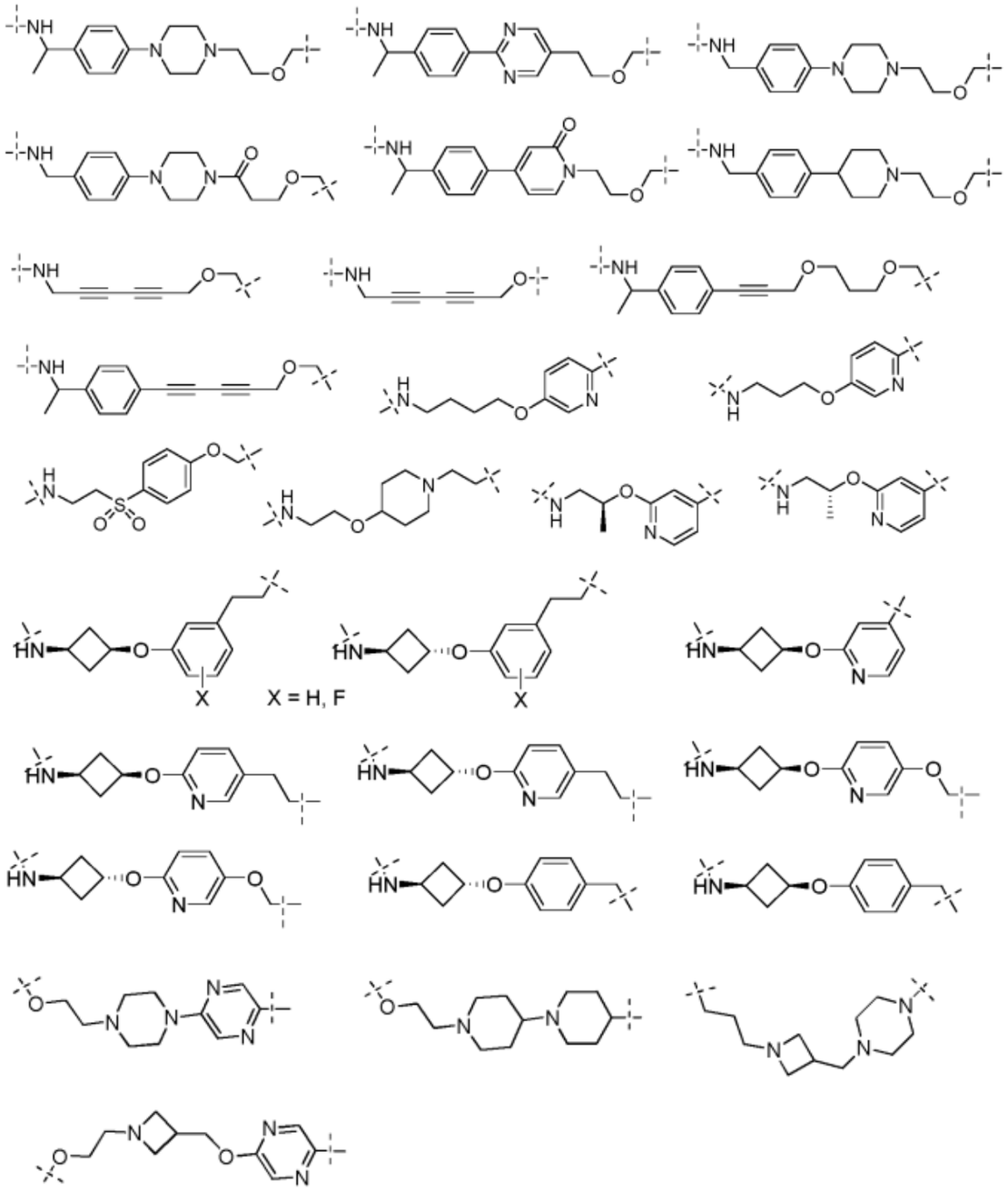


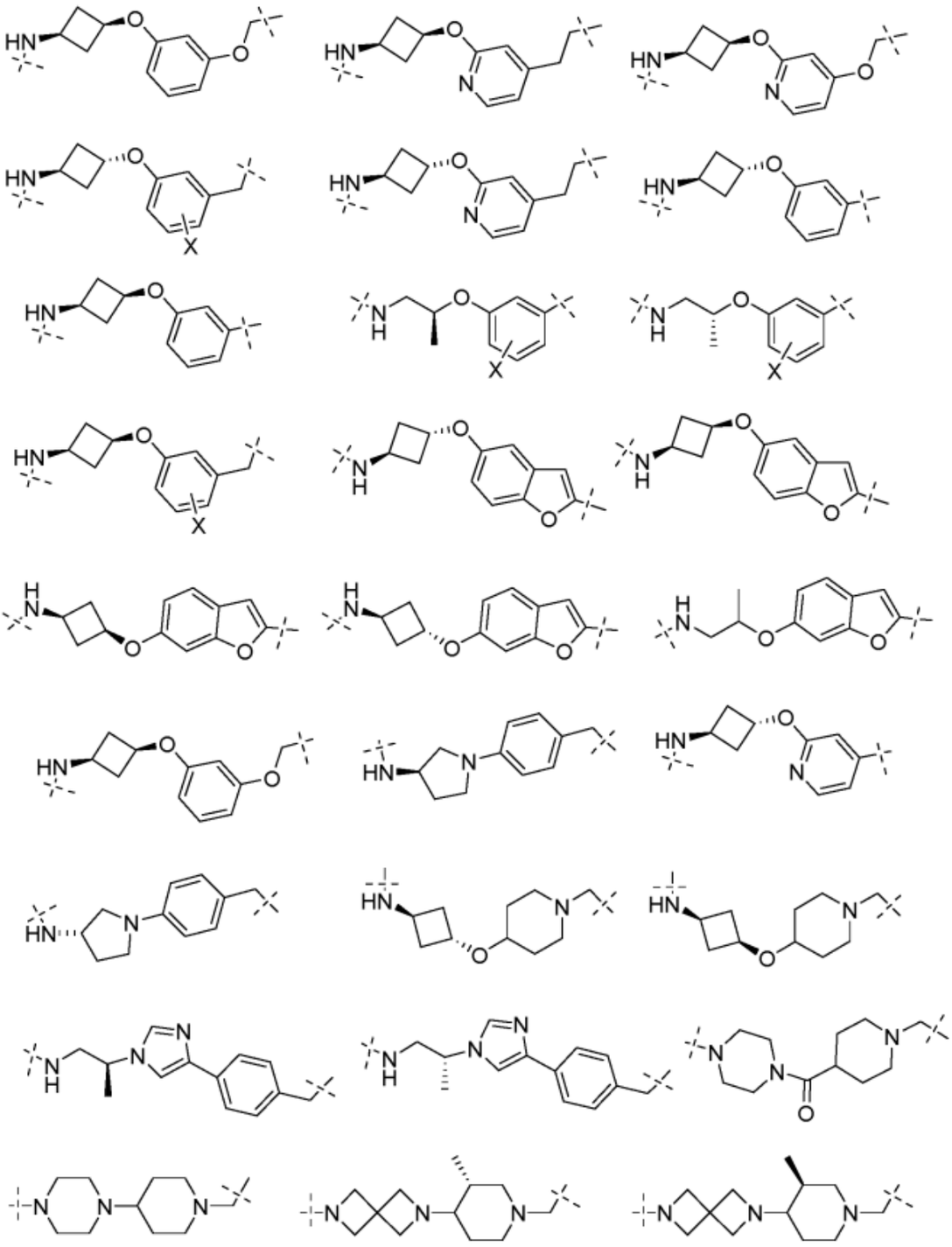


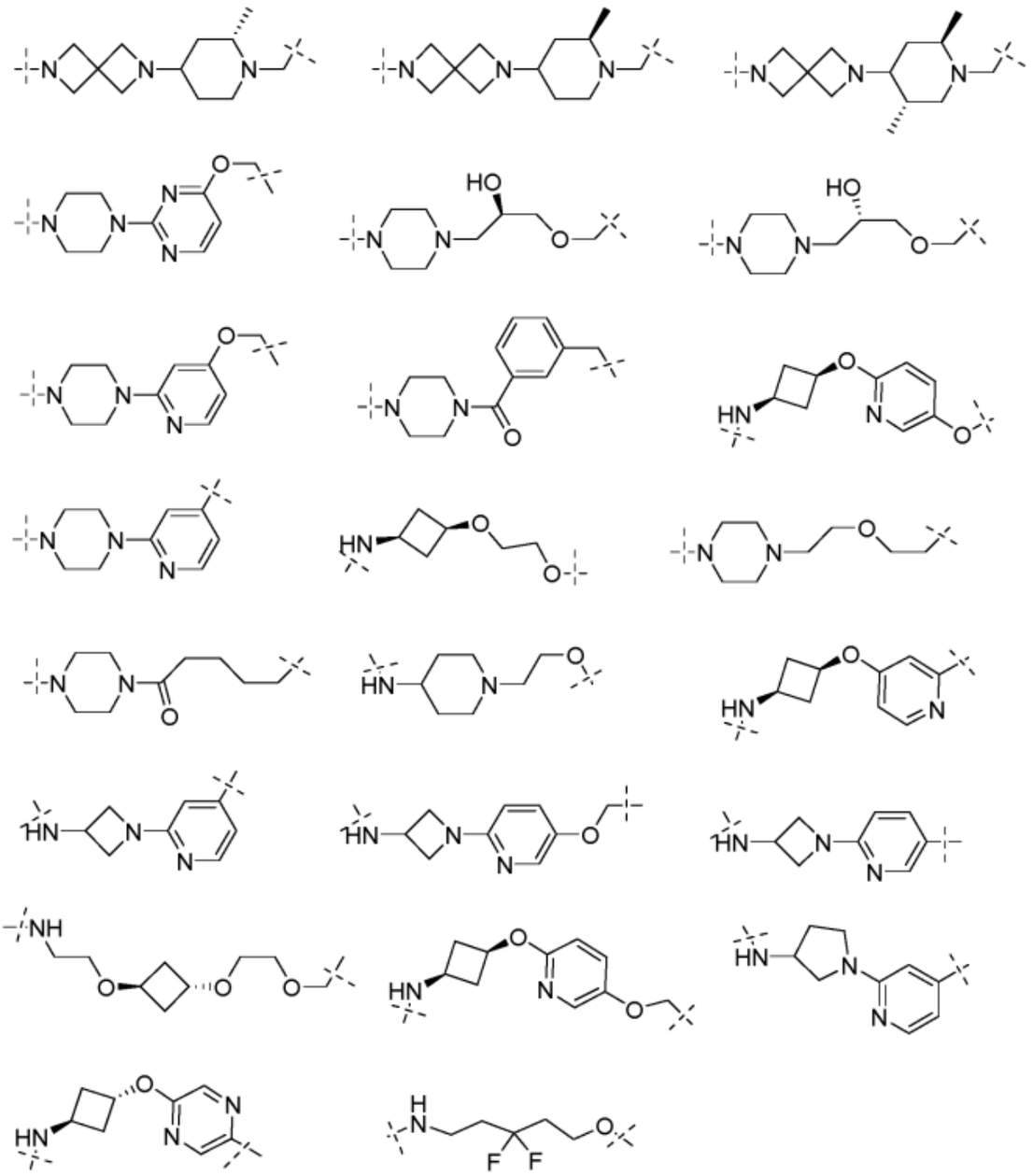






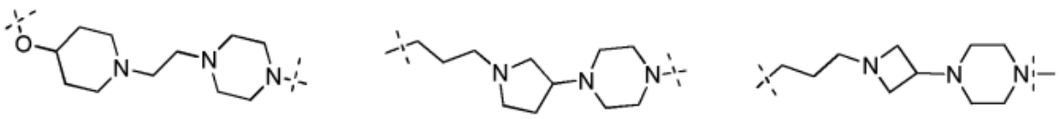

X = H, F

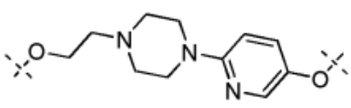
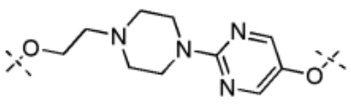
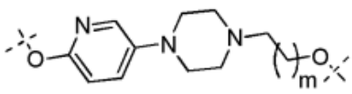
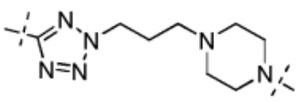
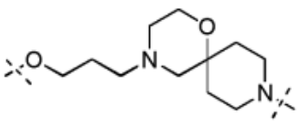
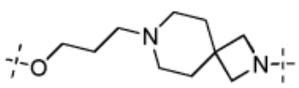
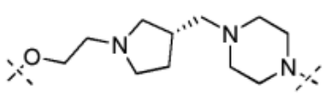
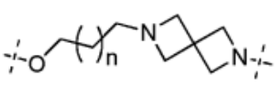
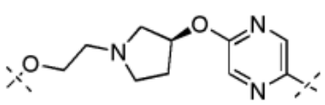
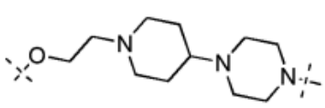
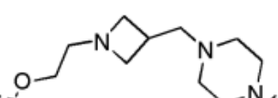
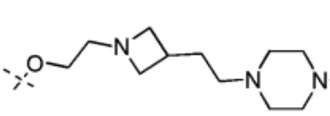
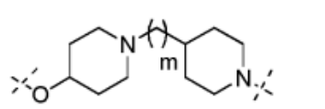
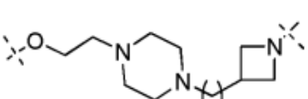
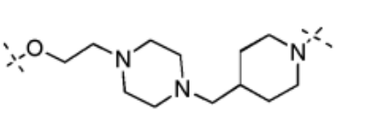
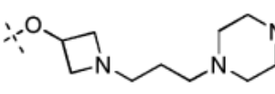
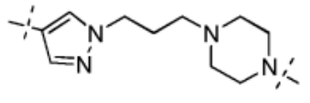
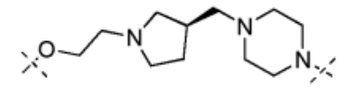
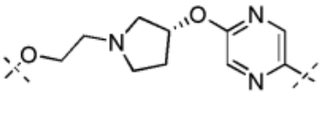
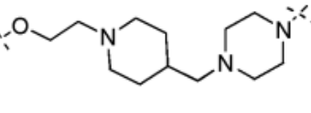
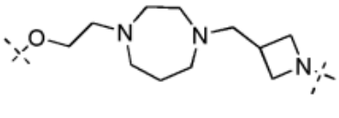
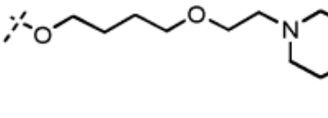
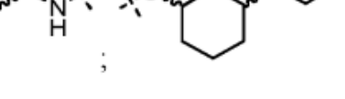
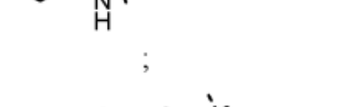
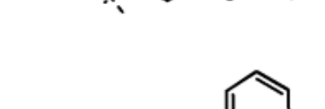
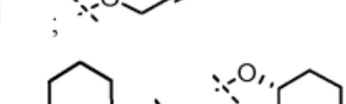
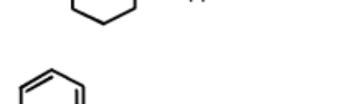


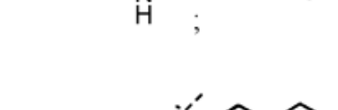


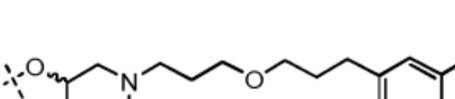
en donde cualquier m o n son independientemente 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6; y cualquier X es H o F.

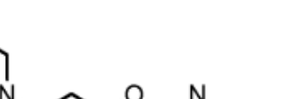
[0285] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:

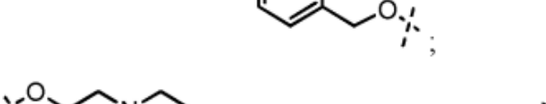


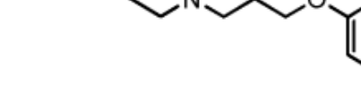
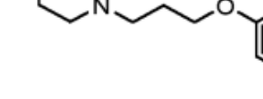




























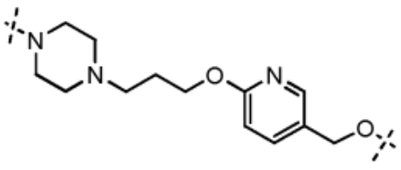
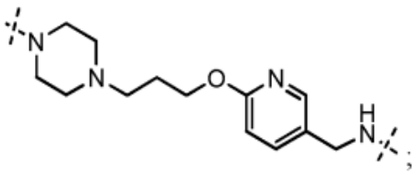
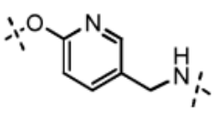
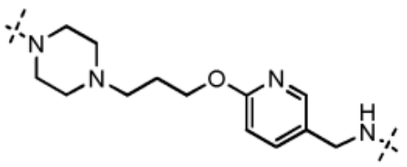
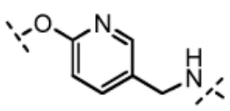
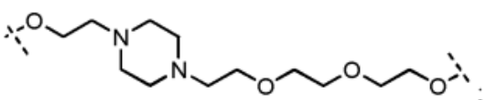
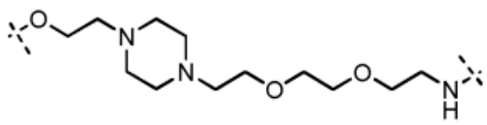
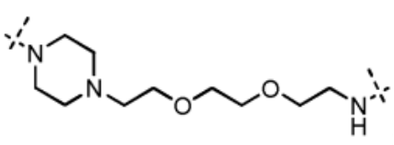
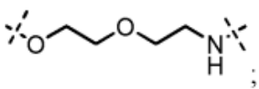
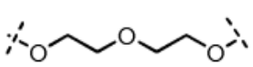
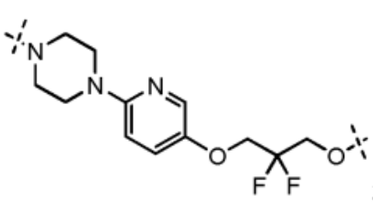
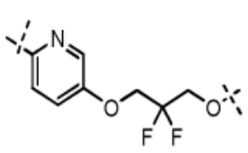
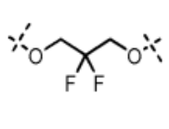
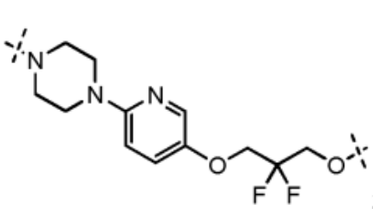
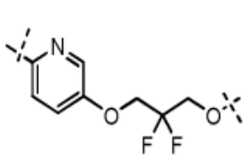
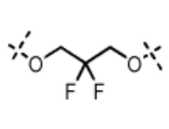
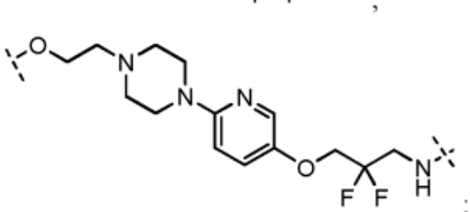
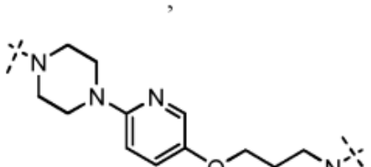
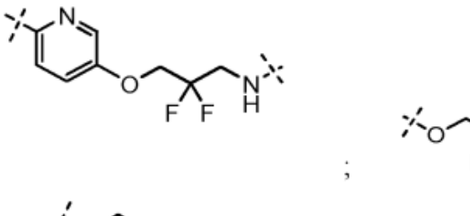
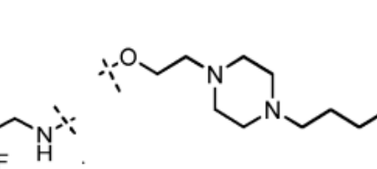
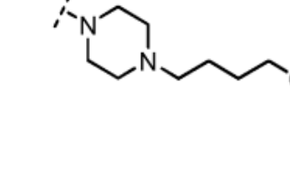


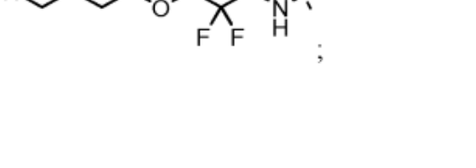






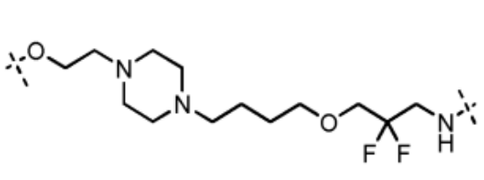



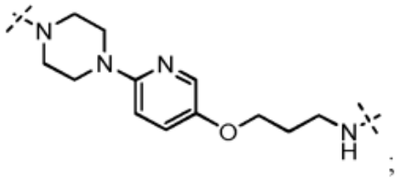

;

;

;

;

;

;

;

;

;


;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

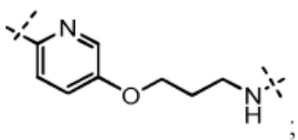
;

;

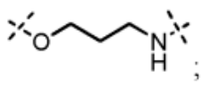
;

;


;

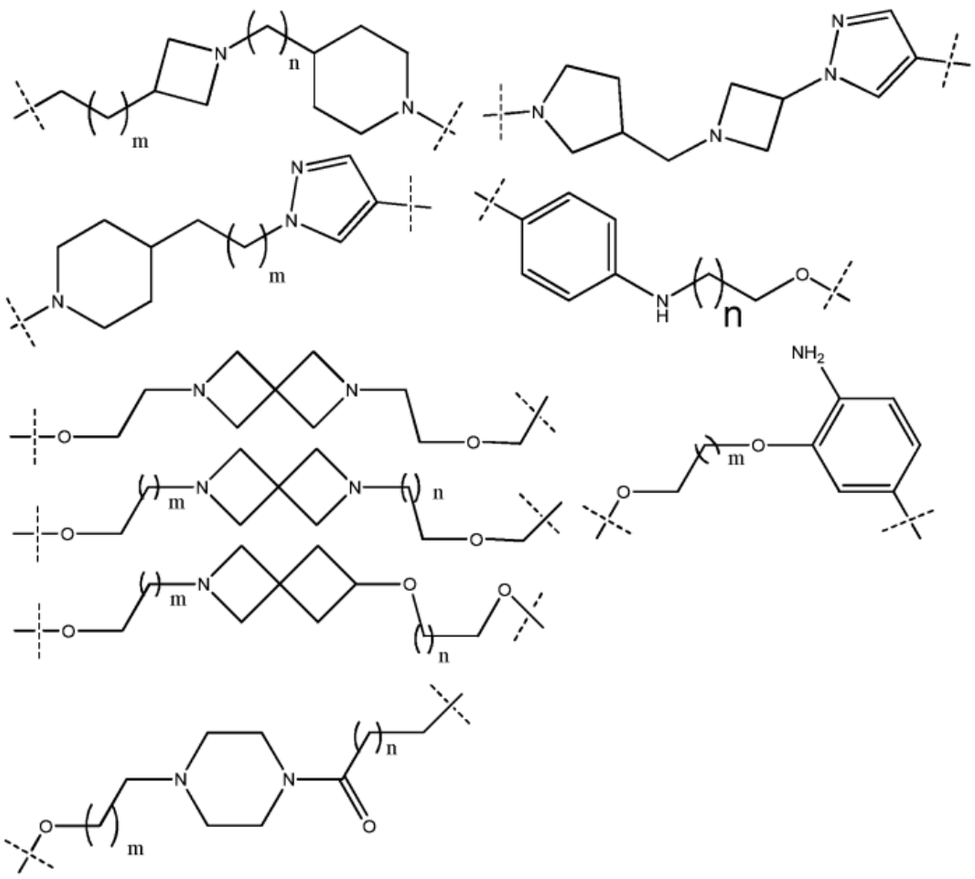

;

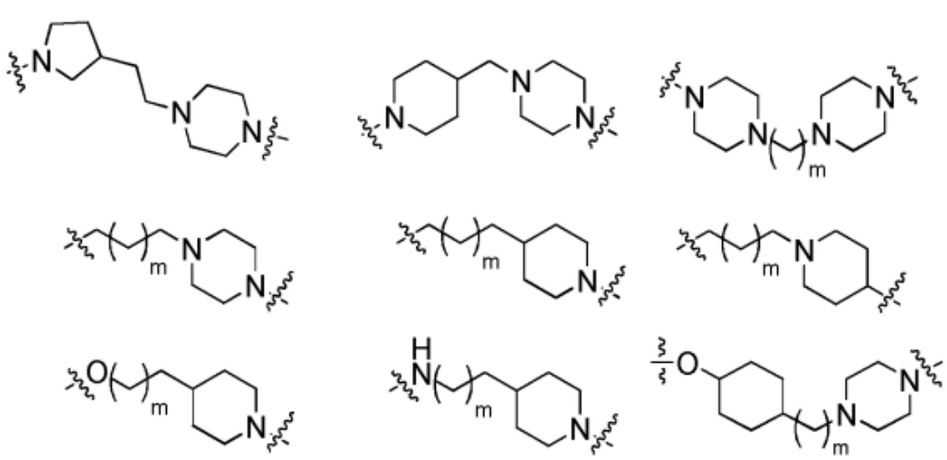

;

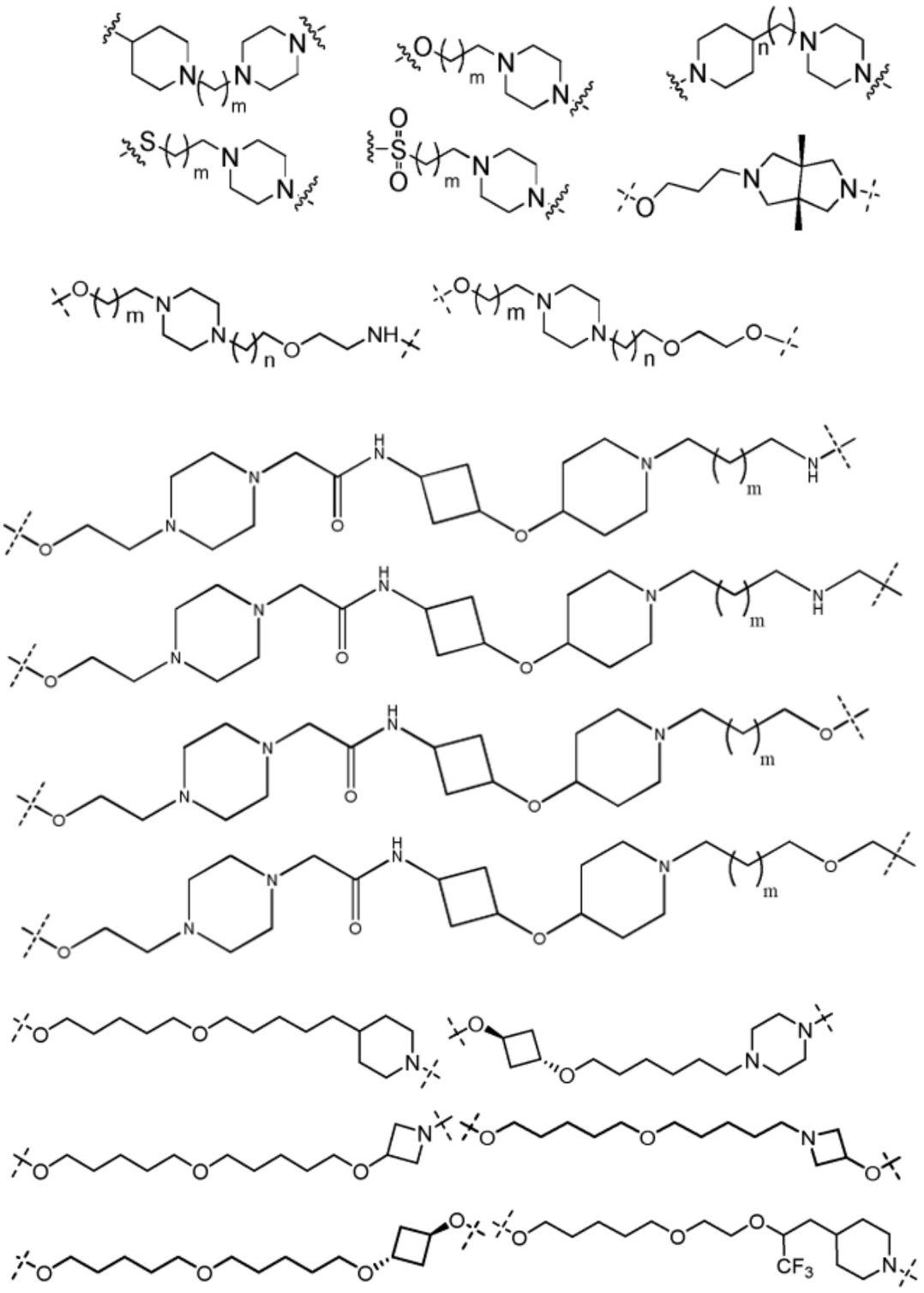

;

en donde cualquier m o n son independientemente 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6.

[0286] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:

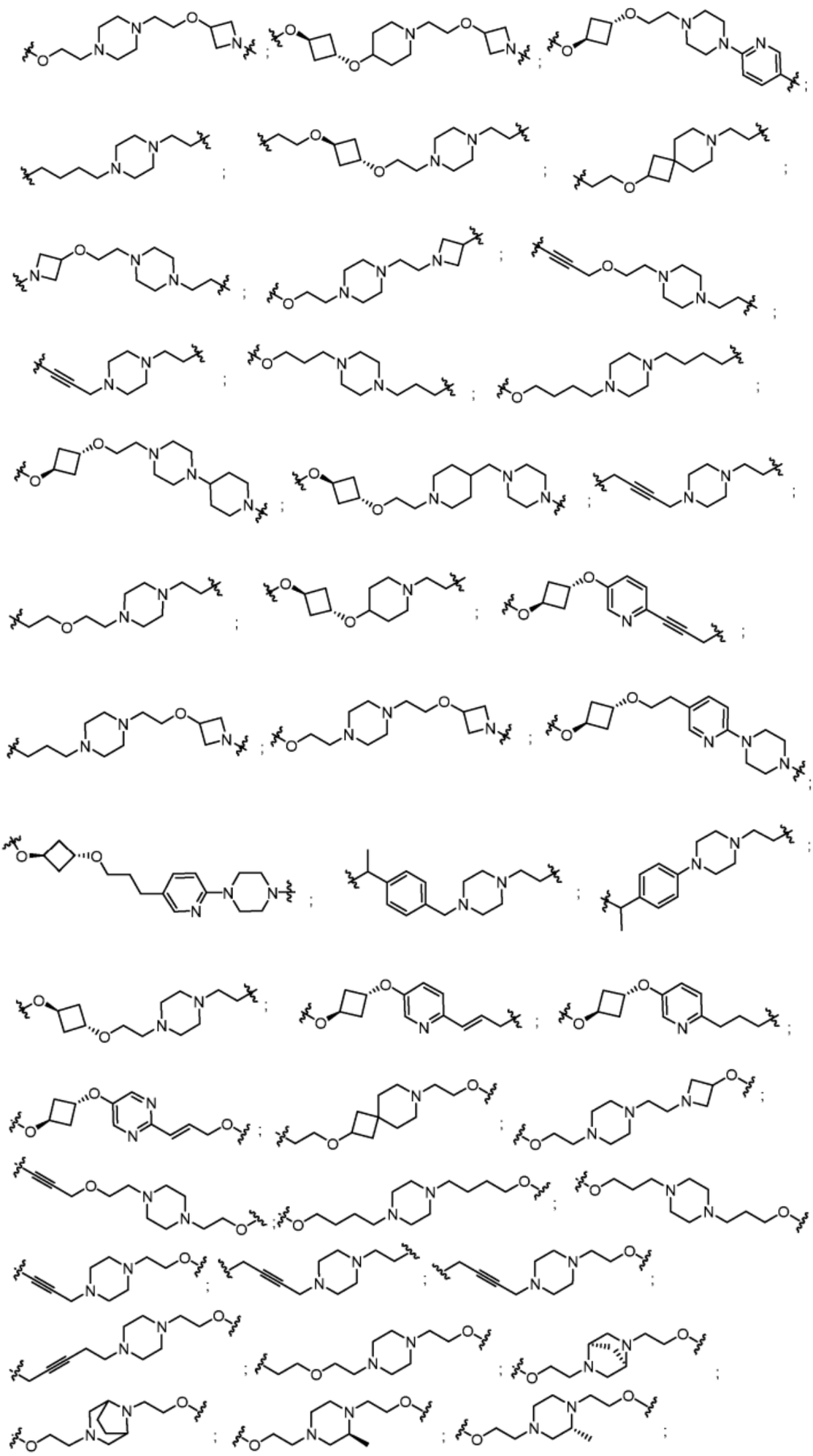


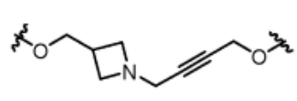
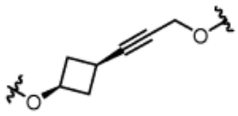
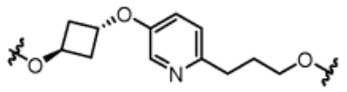
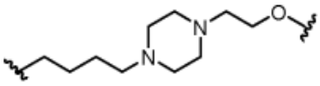
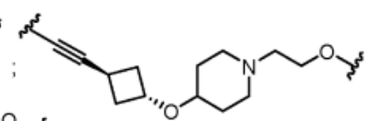
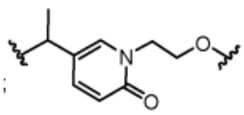
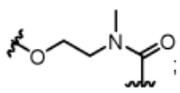
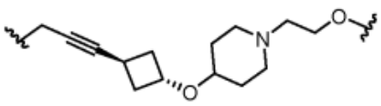
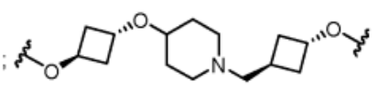
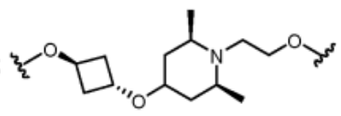
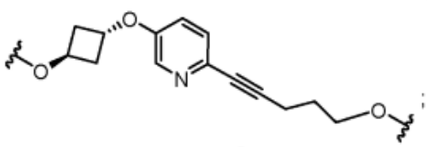
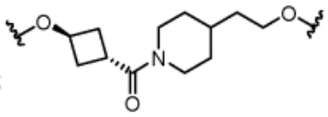
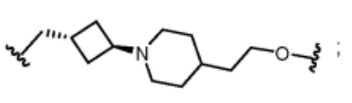
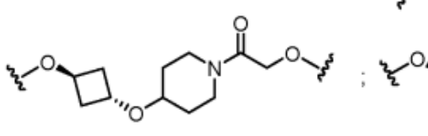
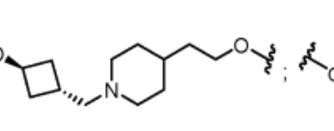
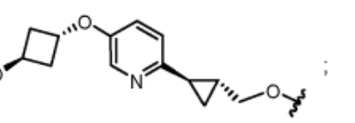
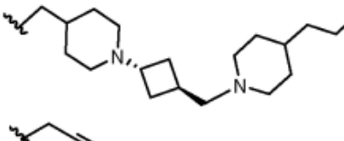
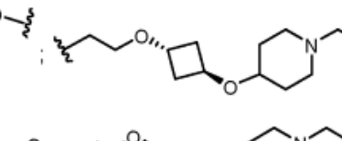
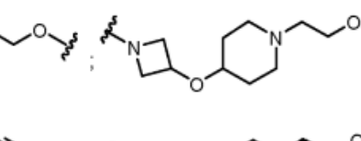
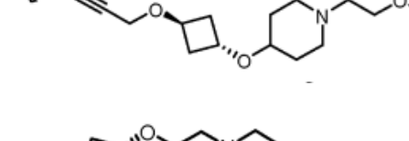
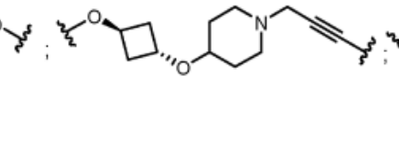
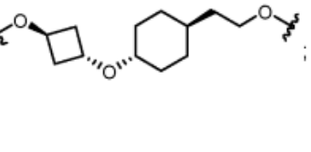
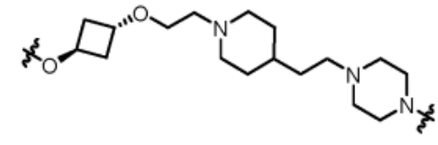
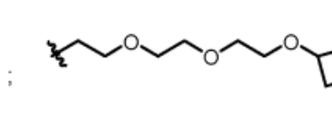


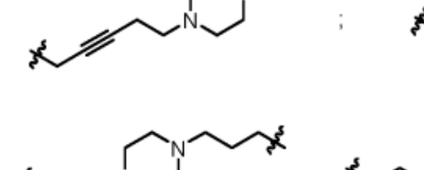
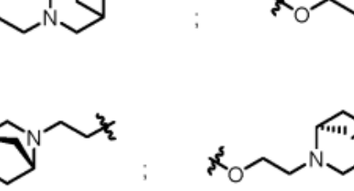
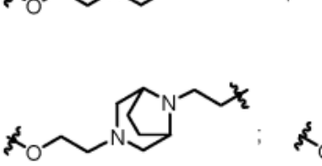
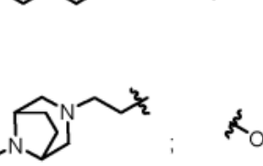
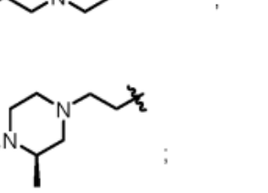
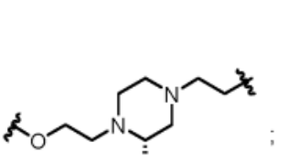
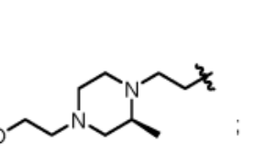
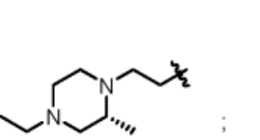
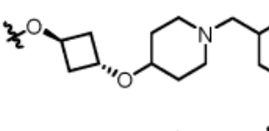
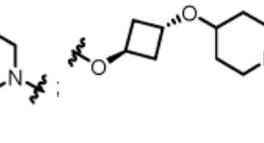
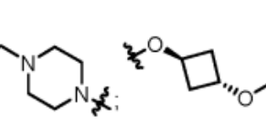
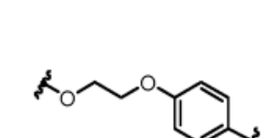
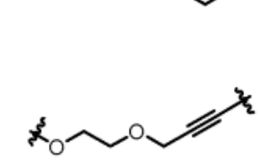
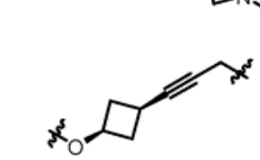
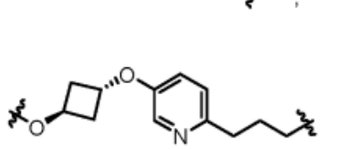
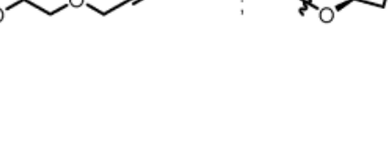


en donde cualquier m o n son independientemente 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6.

[0287] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:




;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

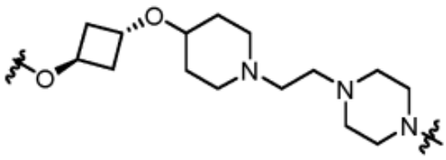
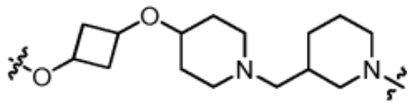
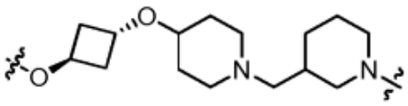
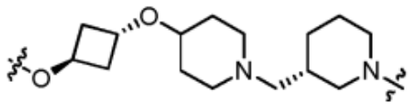
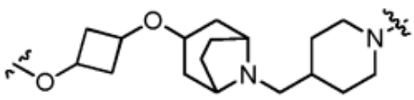
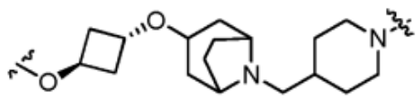
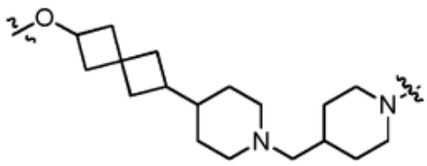
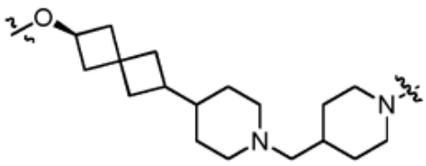
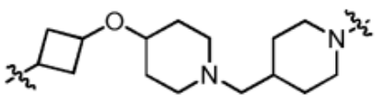
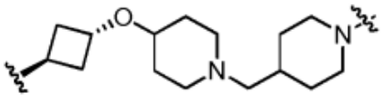
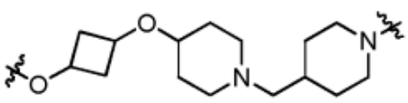
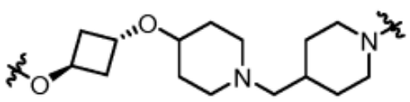
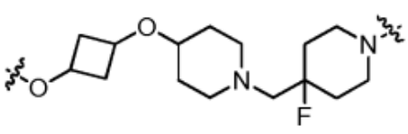
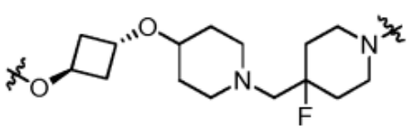
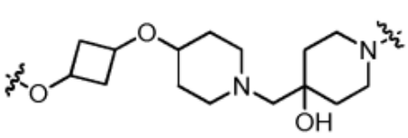
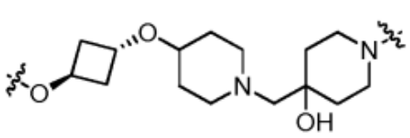
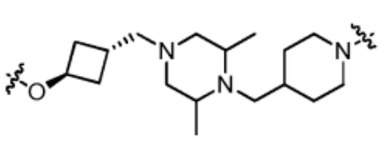
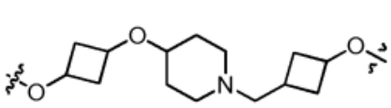
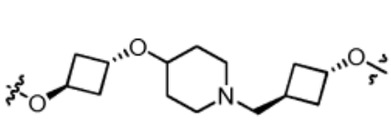
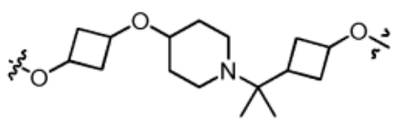
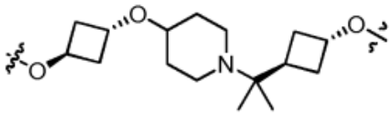
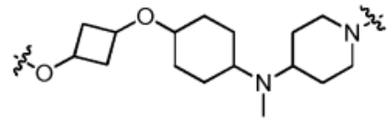
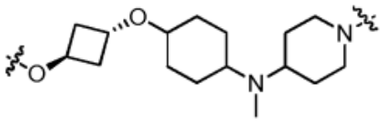
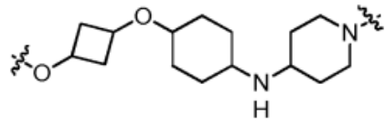
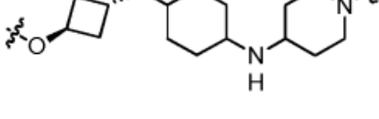
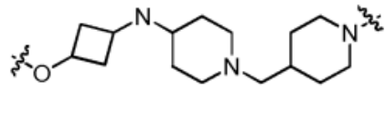
;

;

;
y

.

[0288] En ciertas modalidades, L es uno de los siguientes:

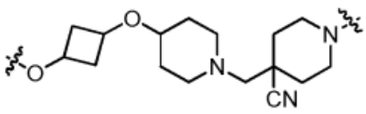
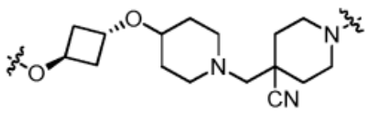

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

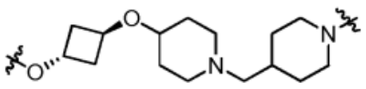
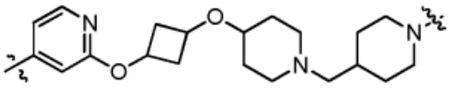
;

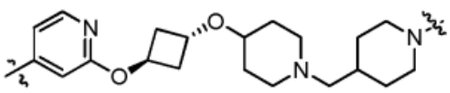
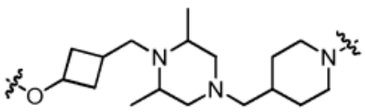
;

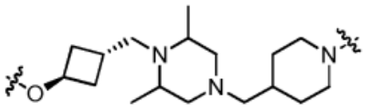
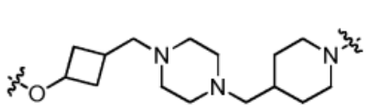
;

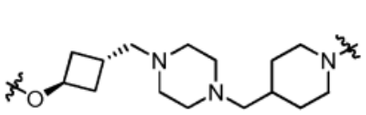
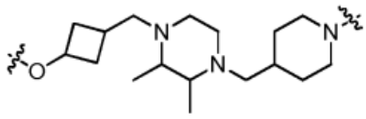
;

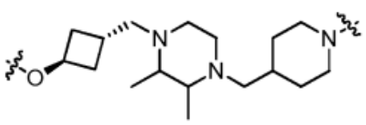
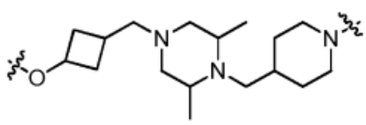


;

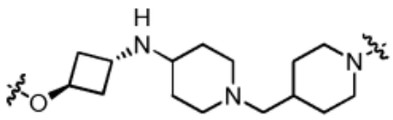
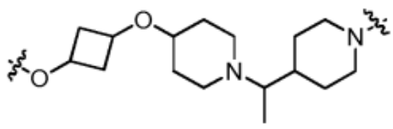


;

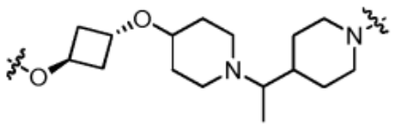
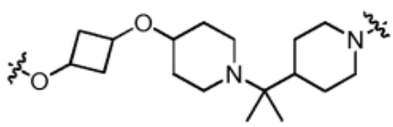


;

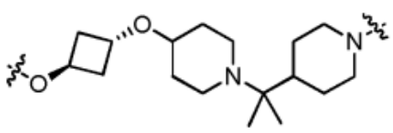
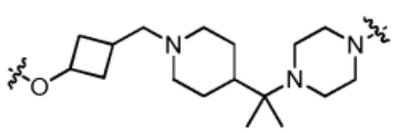


;

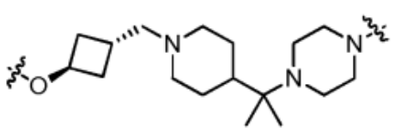
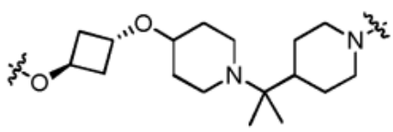


;

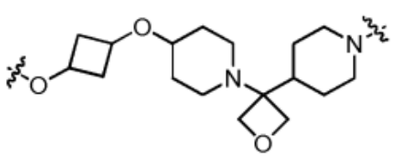
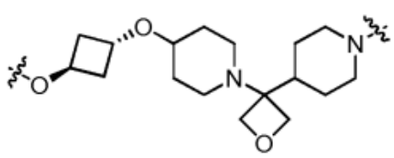


;

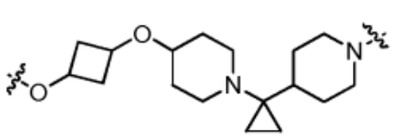
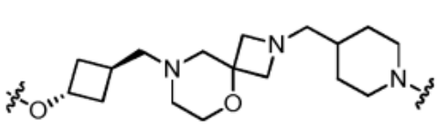

;

;

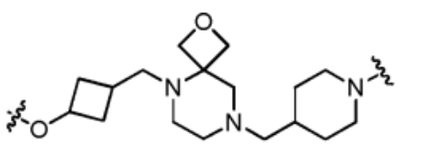
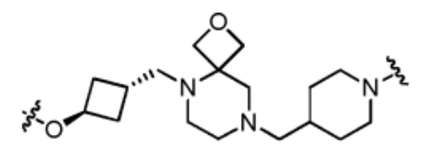

;

;

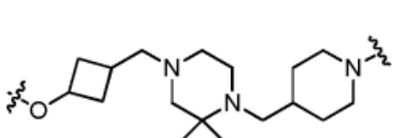
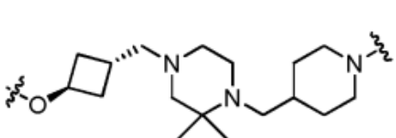

;

;

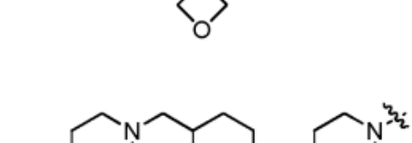
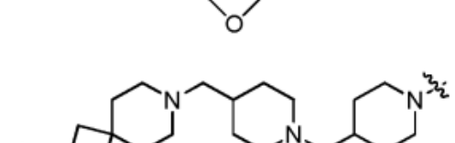

;

;

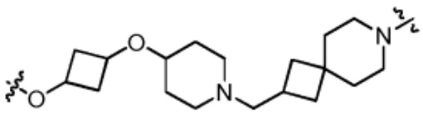
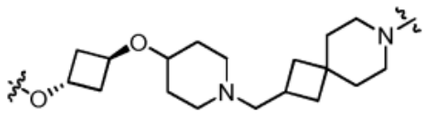
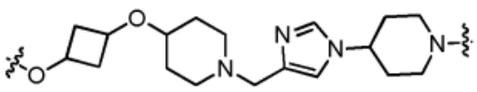
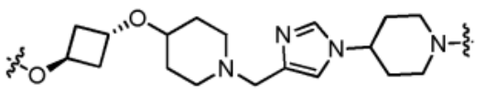
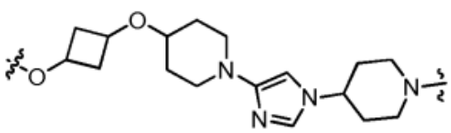
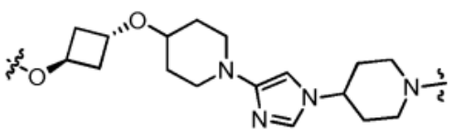
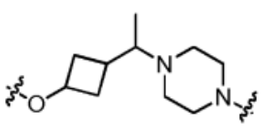
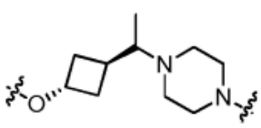
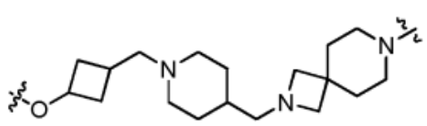
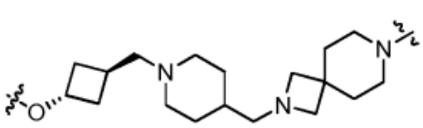
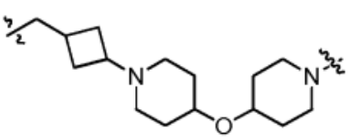
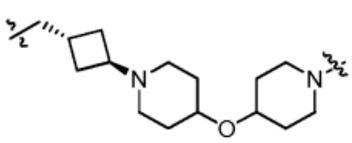
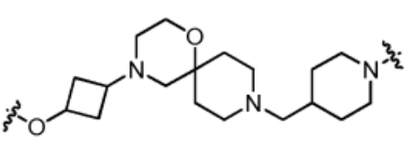
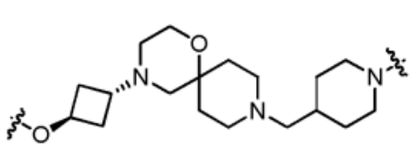
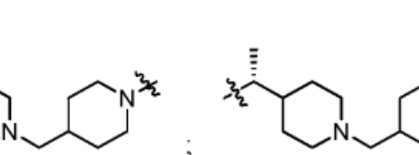
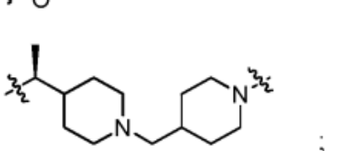
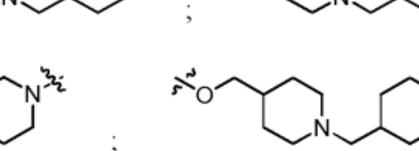
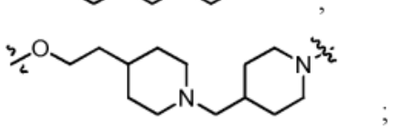
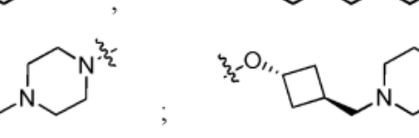
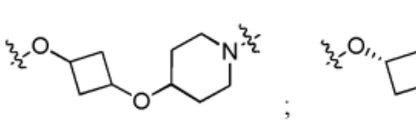
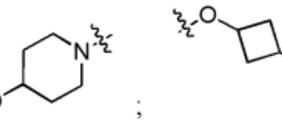
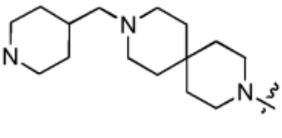

;

;


;

;


;

;


;

;


;

;


;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

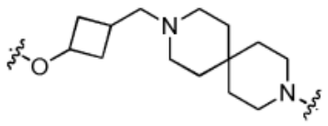
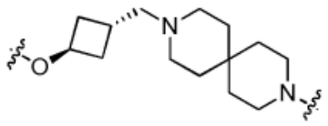
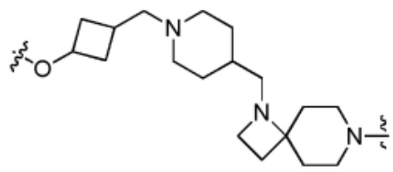
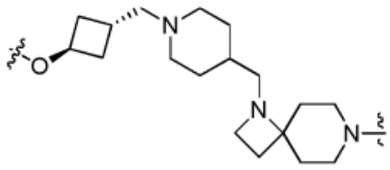
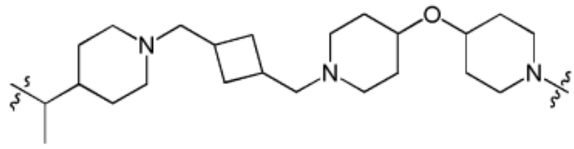
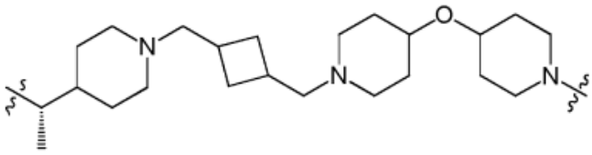
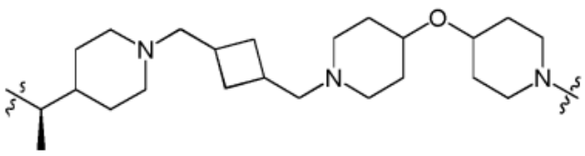
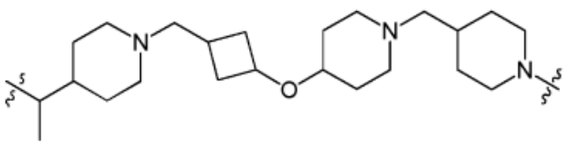
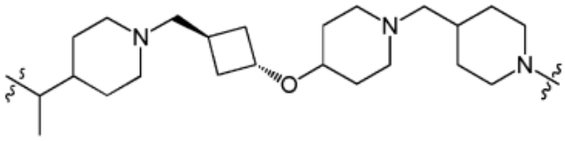
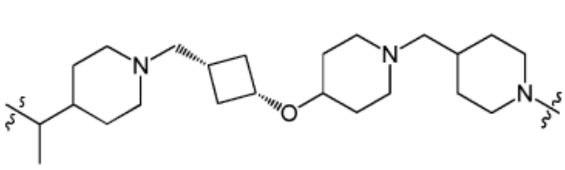
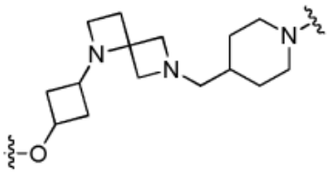
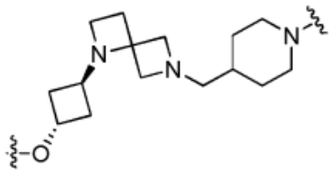
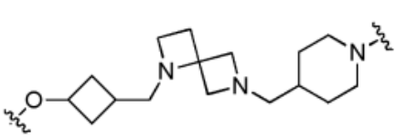
;

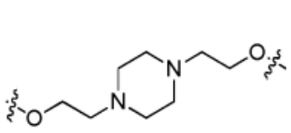
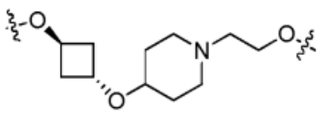
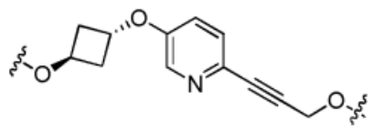
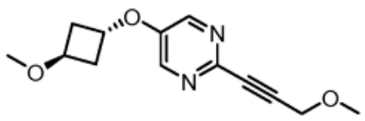
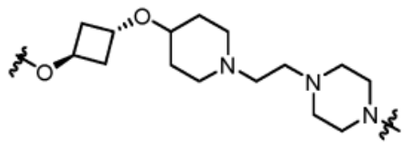
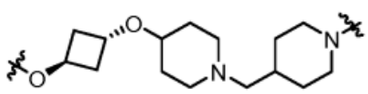
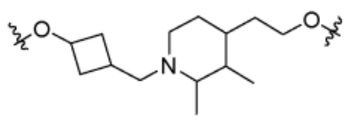
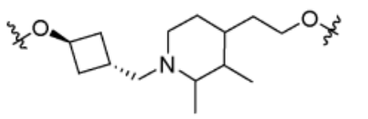
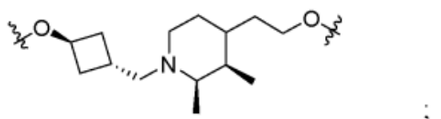
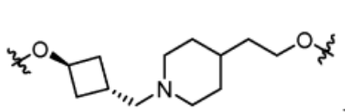
;

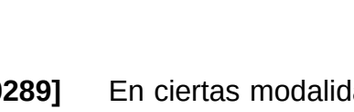
;

;

;


;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;


;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

; y

.

[0289] En ciertas modalidades, L tiene la fórmula –(alquileno C_{0-12})-(heteroalquileno de 3-40 miembros opcionalmente sustituido)-(alquileno C_{0-12})-. En ciertas modalidades, L es alquileno C_{4-14}. En ciertas modalidades, L es -$(CH_2)_{6-10}$-.

[0290] En ciertas modalidades, L es -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_2$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_3$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_4$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_5$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_6$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_7$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_8$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_9$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_{10}$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_{11}$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_{12}$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_{13}$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_{14}$-***, -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_{15}$-***, o -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_{16-20}$-***, donde *** es un punto de unión a A^2.

[0291] En ciertas modalidades, L es -(alquileno C_{2-20})-$(OCH_2CH_2)_{2-4}$-(alquileno C_{0-4})-***, -(alquileno C_{2-20})-$(OCH_2CH_2)_{5-7}$-(alquileno C_{0-4})-***, -(alquileno C_{2-20})-$(OCH_2CH_2)_{8-10}$-(alquileno C_{0-4})-***, -(alquileno C_{2-20})-$(OCH_2CH_2)_{11-13}$-(alquileno C_{0-4})-***, -(alquileno C_{2-20})-$(OCH_2CH_2)_{14-16}$-(alquileno C_{0-4})-***, -(alquileno C_{2-20})-$(OCH_2CH_2)_{17-20}$-(alquileno C_{0-4})-***, -(alquileno C_{1-20})-$(OCH_2CH_2)_{1-10}$-(alquileno C_{0-4})-C(O)-***, o -(alquileno C_{1-20})-$(OCH_2CH_2)_{11-20}$-(alquileno C_{0-4})-C(O)-***, donde *** es un punto de unión a A^2.

[0292] En ciertas modalidades, L es -$O(CH_2CH_2O)_{2-4}$-(alquileno C_{0-4})-***, -$O(CH_2CH_2O)_{5-7}$-(alquileno C_{0-4})-***, -$O(CH_2CH_2O)_{8-10}$-(alquileno C_{0-4})-***, -$O(CH_2CH_2O)_{11-13}$-(alquileno C_{0-4})-***, -$O(CH_2CH_2O)_{14-16}$-(alquileno C_{0-4})-***, -$O(CH_2CH_2O)_{16-20}$-(alquileno C_{0-4})-***, -$O(CH_2CH_2O)_{2-10}$-(alquileno C_{0-4})C(O)-***, o -$O(CH_2CH_2O)_{11-20}$-(alquileno C_{0-4})C(O)-***, donde *** es un punto de unión a A^2.

[0293] En ciertas modalidades, L es -(alquileno C_{0-20})-$(OCH_2CH_2)_{1-10}$-(N(alquilo C_{1-4}))-***, -(alquileno C_{0-20})-$(OCH_2CH_2)_{11-20}$-(N(alquilo C_{1-4}))-***, -(alquileno C_{0-20})-$(CH_2CH_2O)_{1-10}$-(alquileno C_{2-10})-(N(alquilo C_{1-4}))-(alquileno C_{0-10})-***, o -(alquileno C_{0-20})-$(CH_2CH_2O)_{11-20}$-(alquileno C_{2-10})-(N(alquilo C_{1-4}))-(alquileno C_{0-10})-***, donde *** es un punto de unión a A^2.

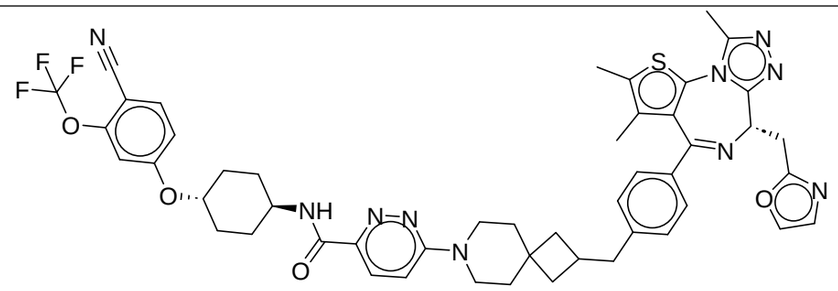
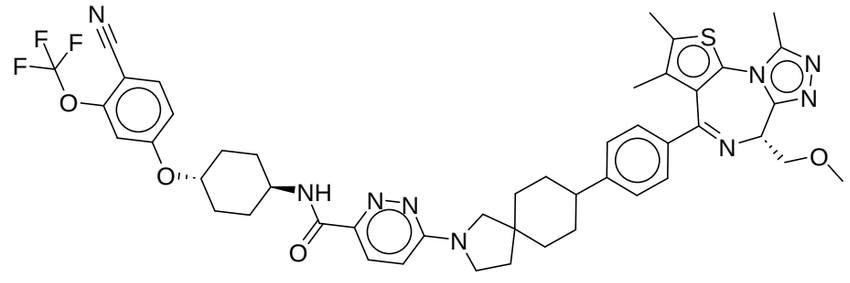
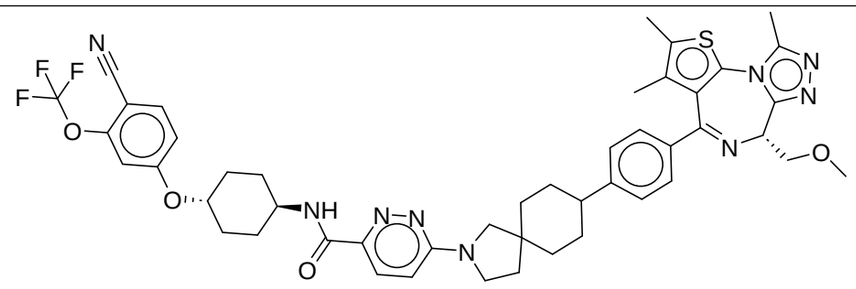
[0294] En ciertas modalidades, L se selecciona de aquellos representados en los compuestos en la Tabla 1, a continuación.

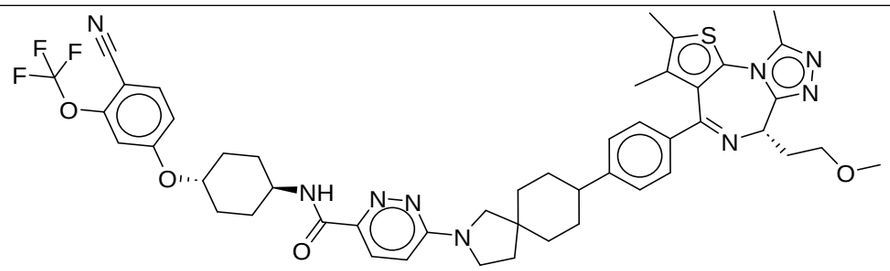
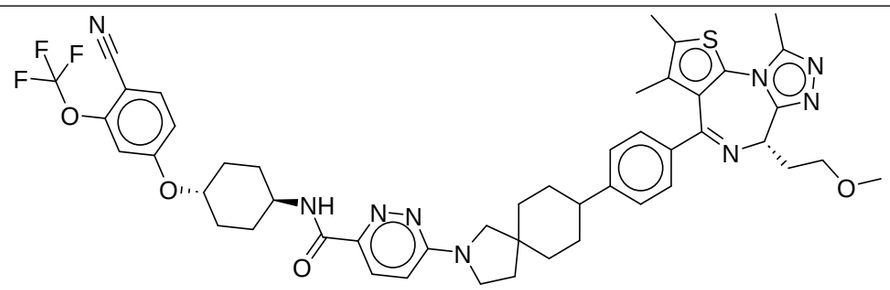
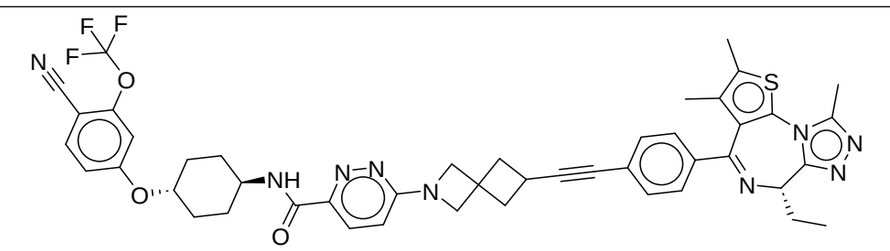
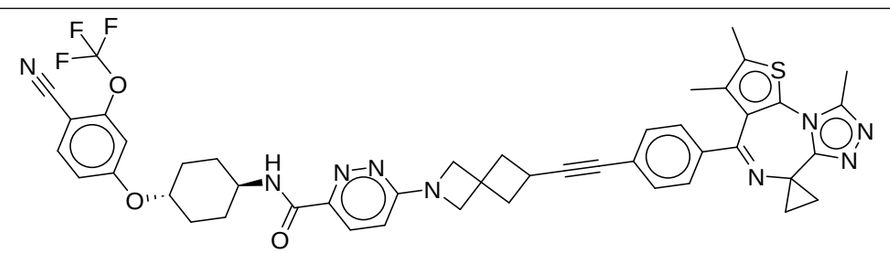
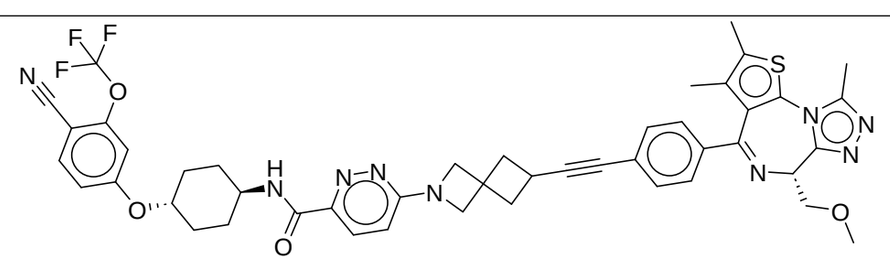
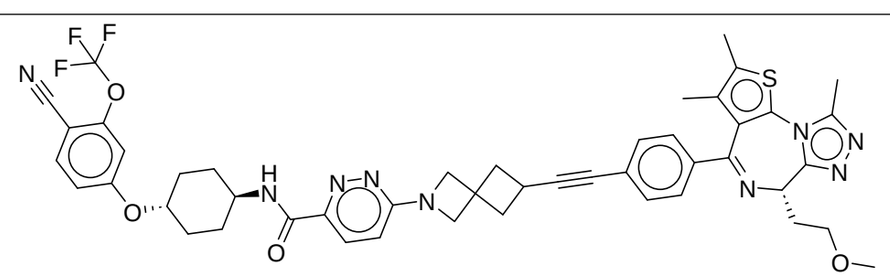
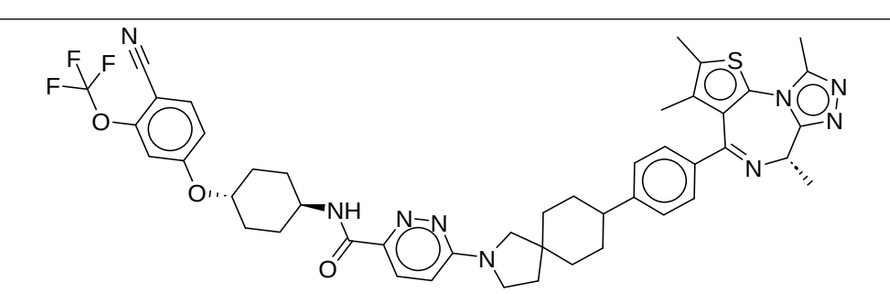
Compuestos específicos ilustrativos

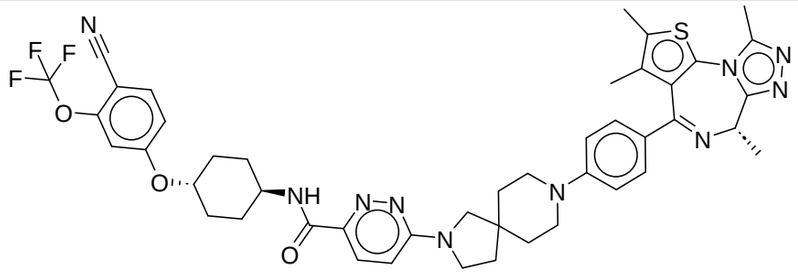
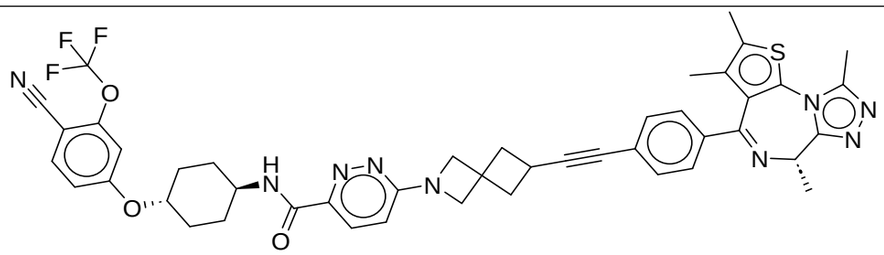
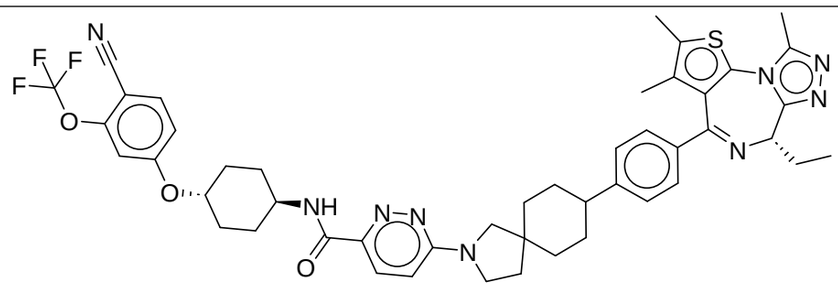
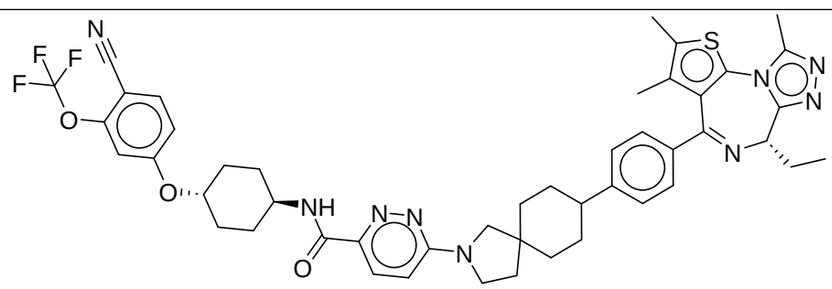
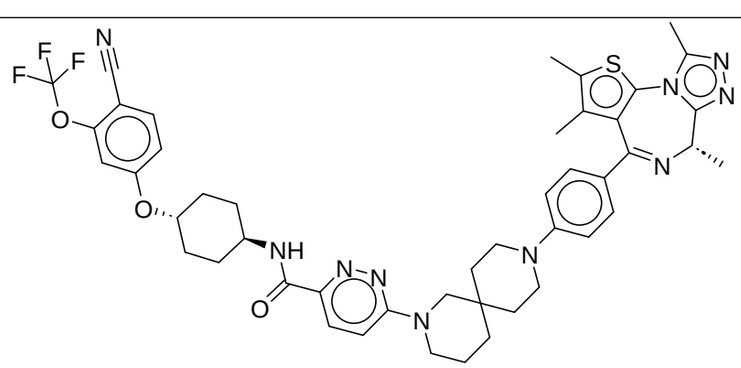
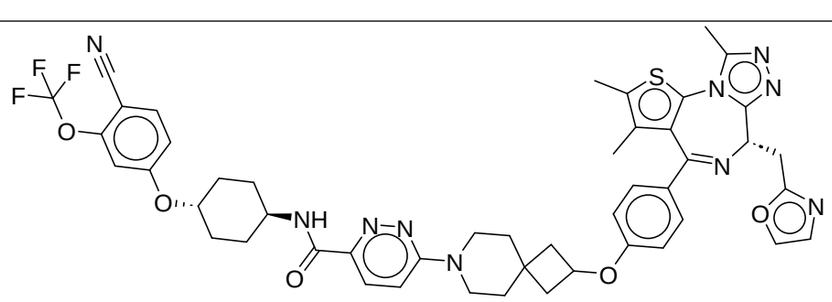
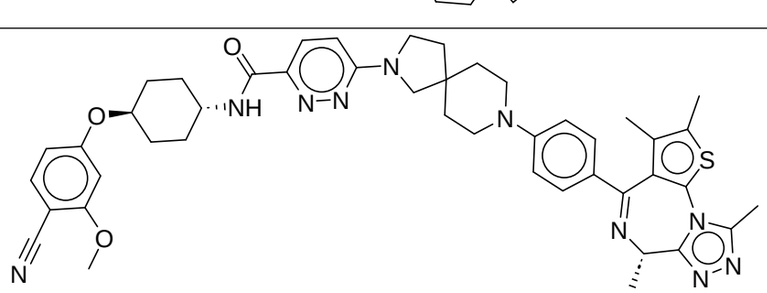
[0295] En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto en la Tabla 1 o 2, o una sal

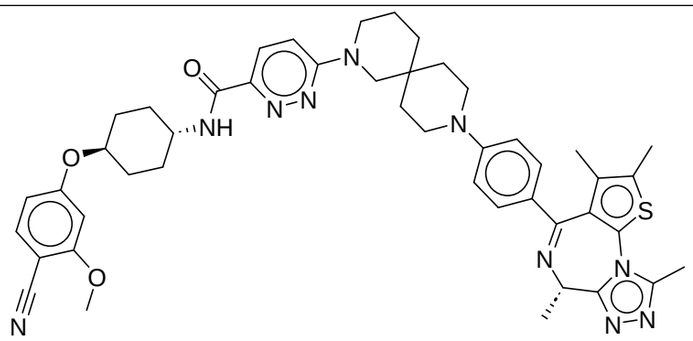
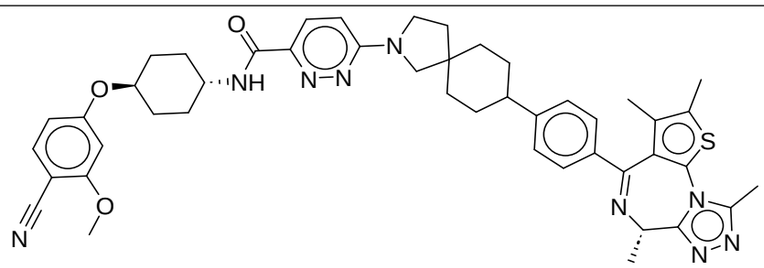
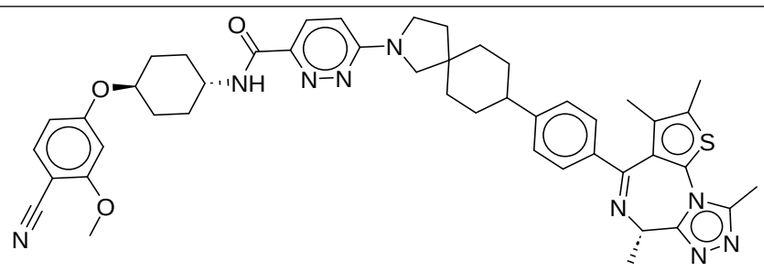
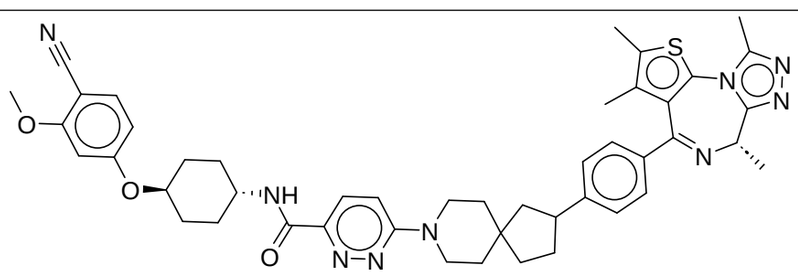
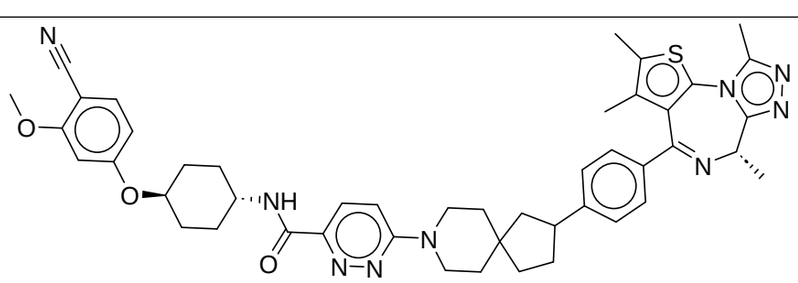
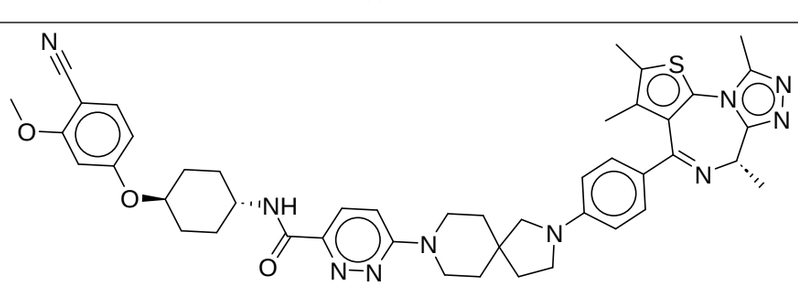
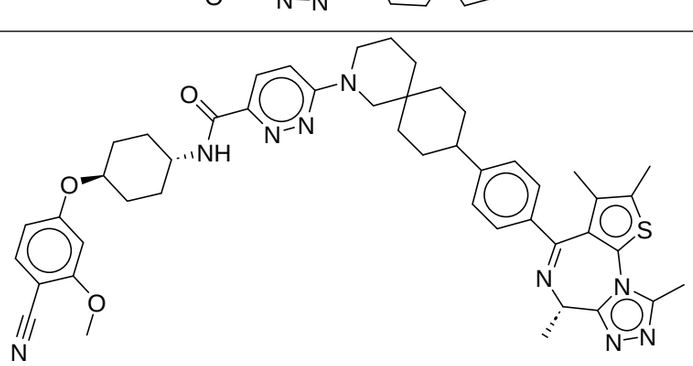
farmacéuticamente aceptable de este. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto en la Tabla 1 o 2. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto en la Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto en la Tabla 1. En ciertas modalidades, el compuesto es uno cualquiera de los compuestos I-1 a I-124 en la Tabla 1 o uno cualquiera de los compuestos II-1 a II-12 en la Tabla 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos. En ciertas modalidades, el compuesto es uno cualquiera de los compuestos I-1 a I-124 en la Tabla 1 o uno cualquiera de los compuestos II-1 a II-12 de la Tabla 2. En ciertas modalidades, el compuesto es uno cualquiera de los compuestos I-1 a I-124 en la Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos. En ciertas modalidades, el compuesto es uno cualquiera de los compuestos I-1 a I-124 en la Tabla 1. En ciertas modalidades, el compuesto es uno cualquiera de los compuestos II-1 a II-12 en la Tabla 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos. En ciertas modalidades, el compuesto es uno cualquiera de los compuestos II-1 a II-12 en la Tabla 2. En ciertas modalidades, el compuesto es uno cualquiera de los compuestos I-1 a I-137 en la Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos. En ciertas modalidades, el compuesto es uno cualquiera de los compuestos I-1 a I-137 en la Tabla 1. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto en la Tabla 3, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto en la Tabla 3.

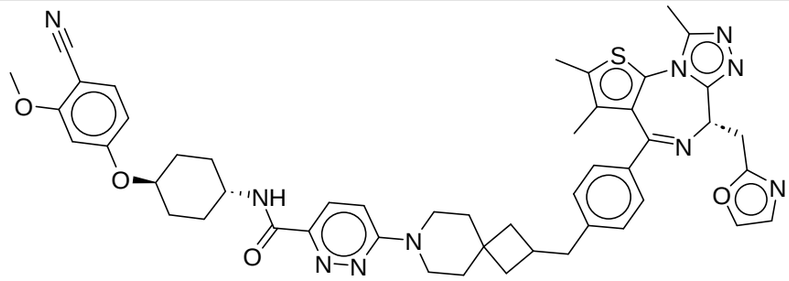
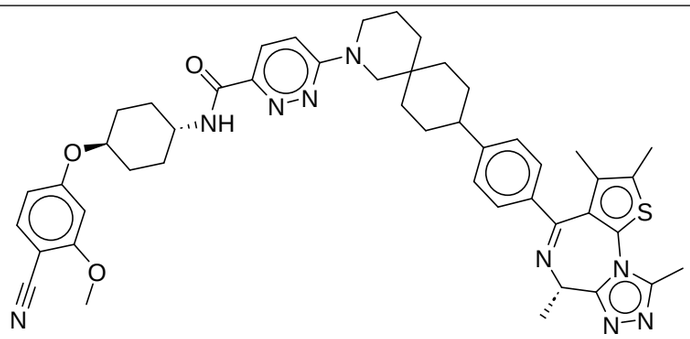
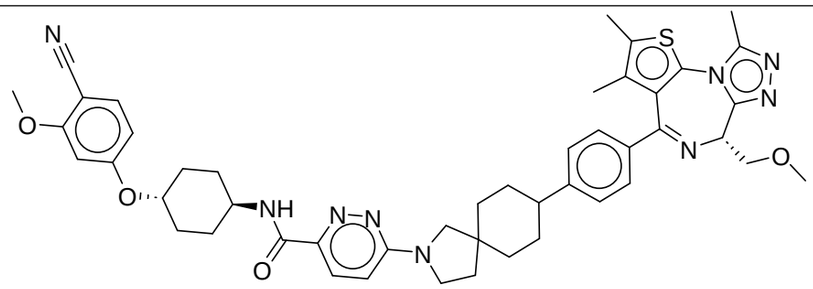
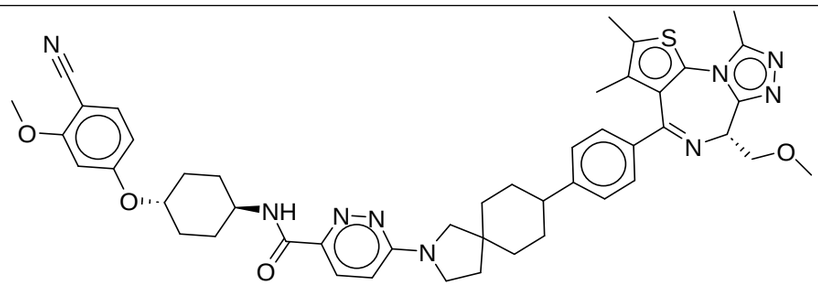
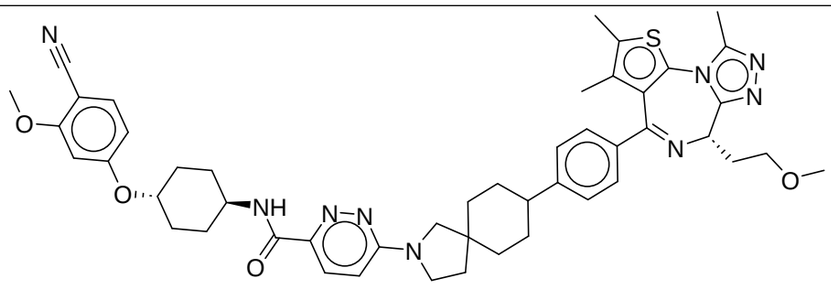
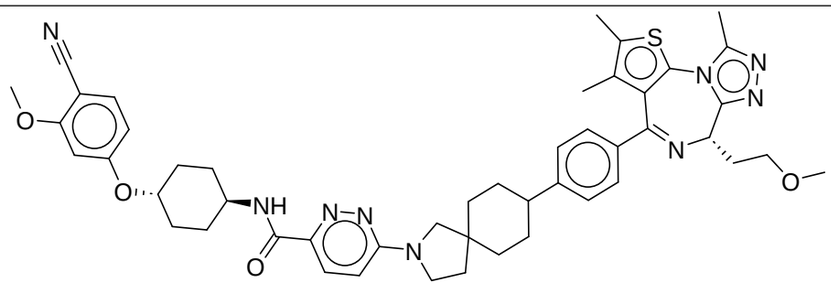
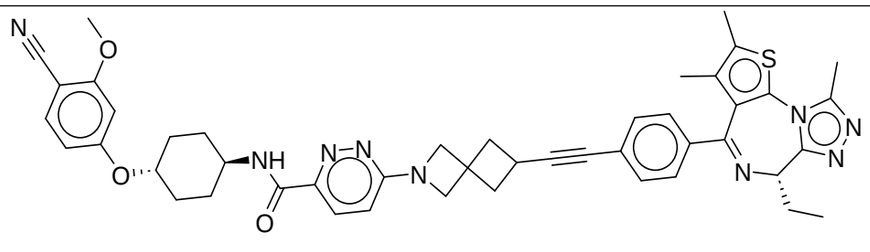
TABLA 1.

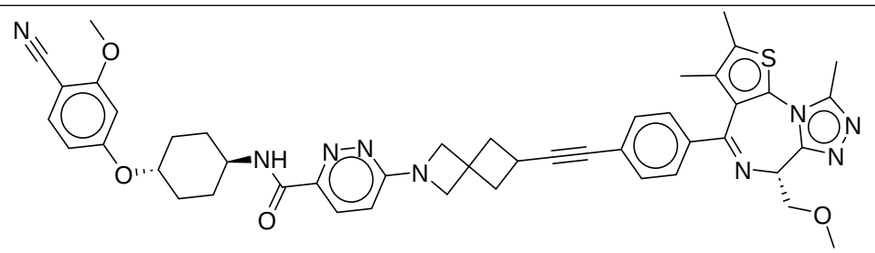
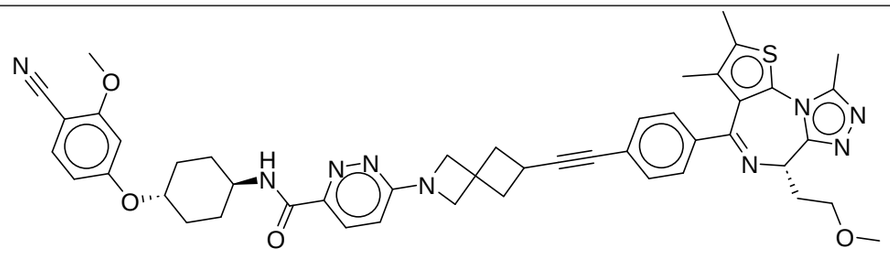
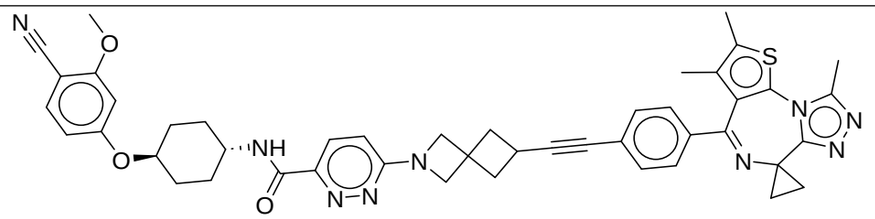
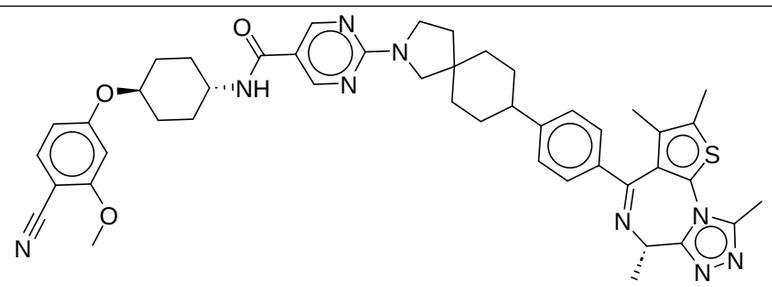
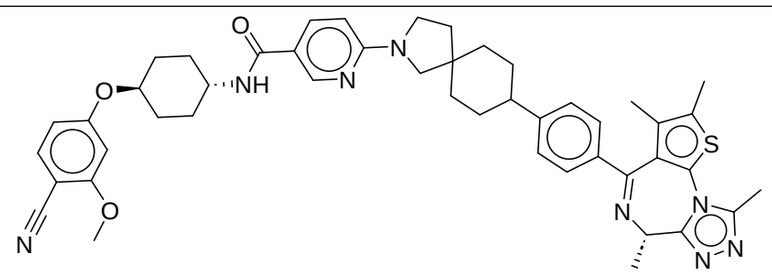
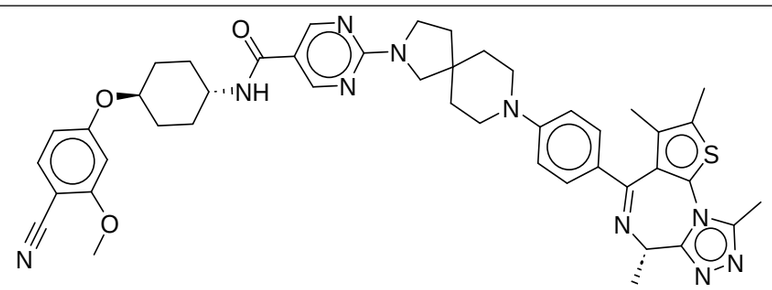
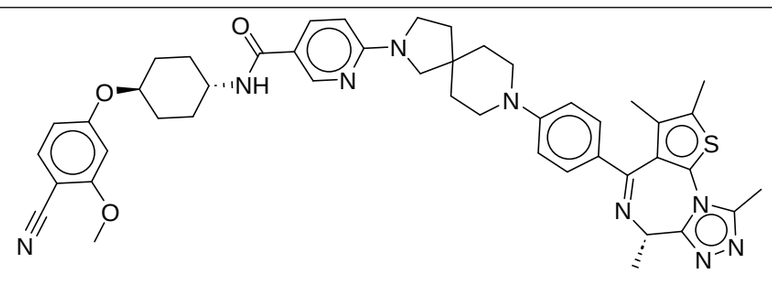
Compuesto n.°	**Estructura química**
I-1	
I-2	
I-3	

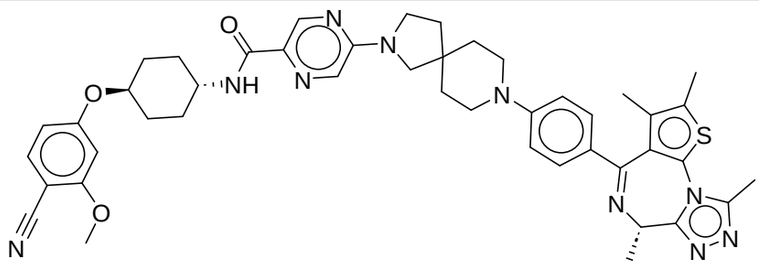
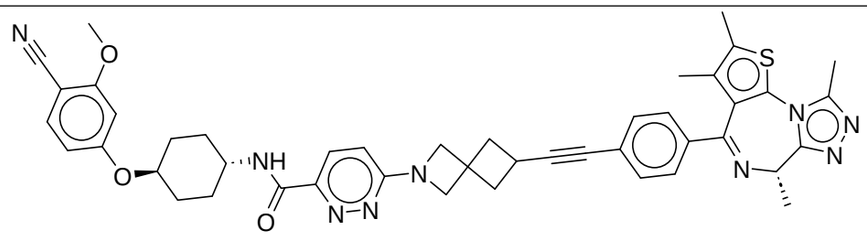
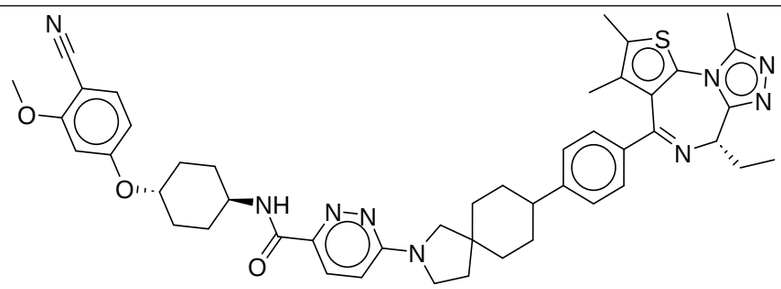
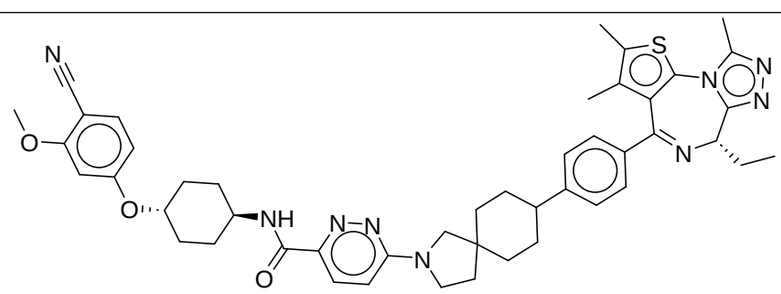
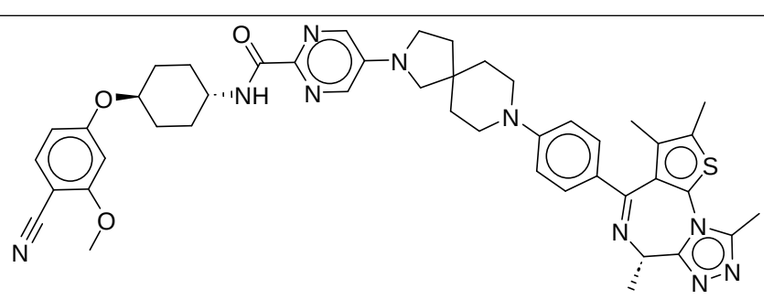
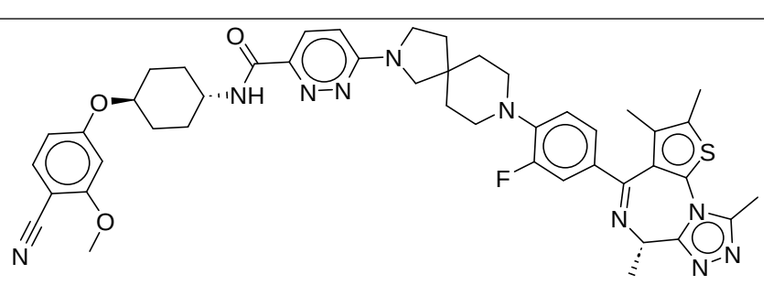
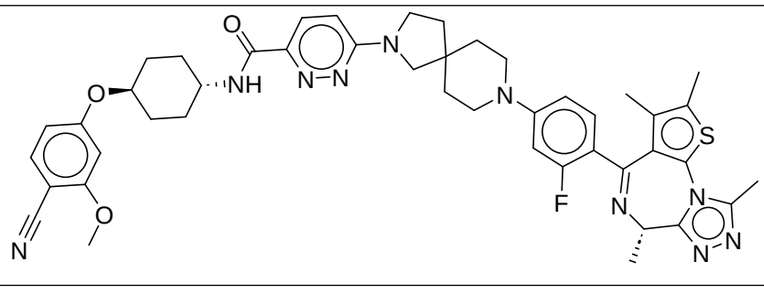
I-4	
I-5	
I-6	
I-7	
I-8	
I-9	
I-10	

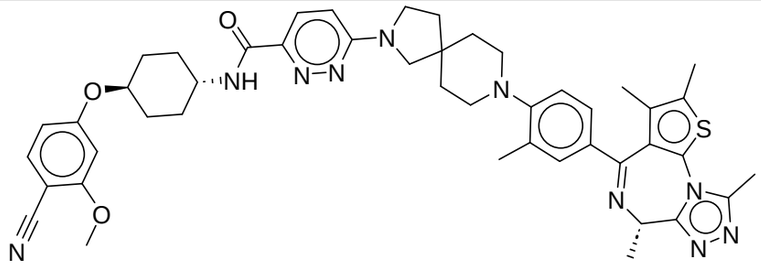
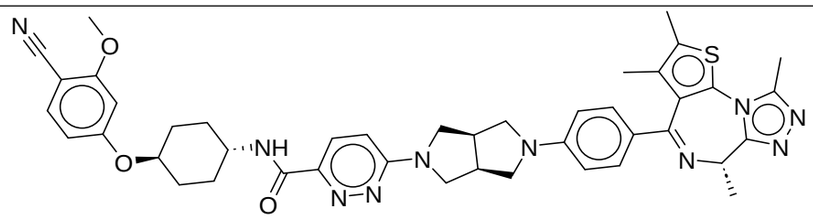
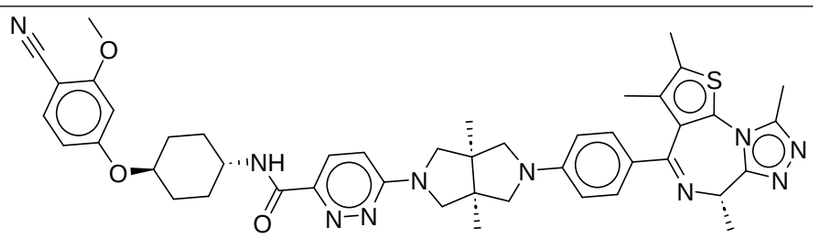
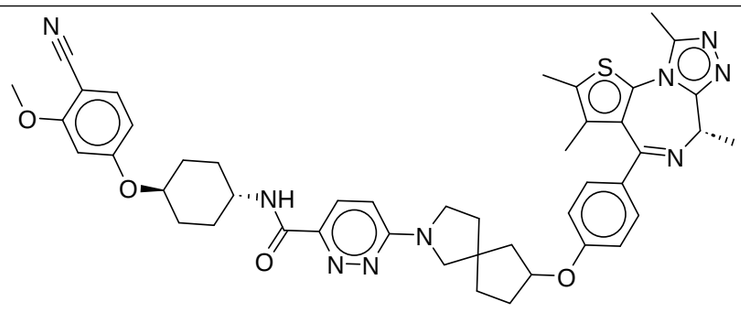
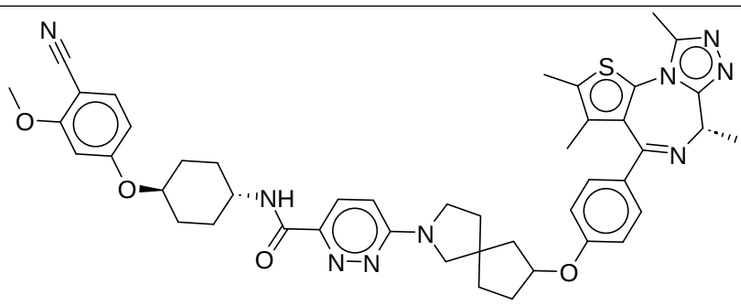
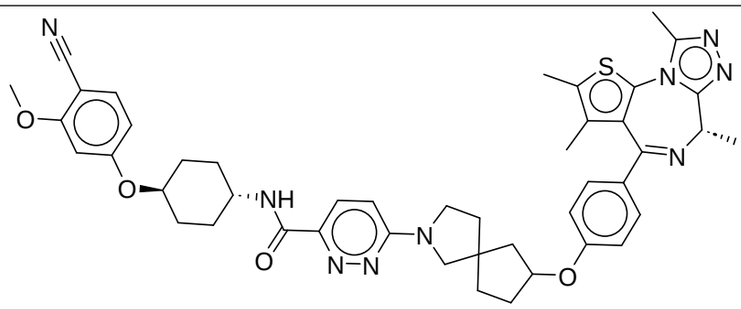
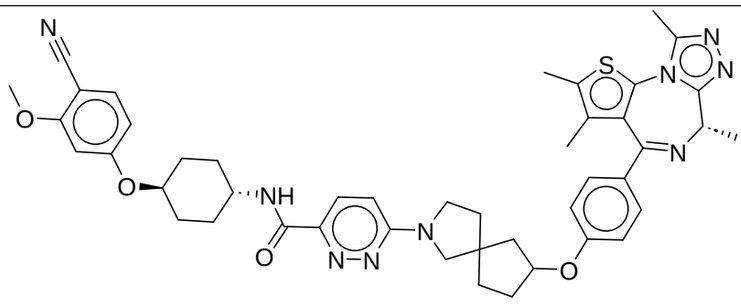
I-11	
I-12	
I-13	
I-14	
I-15	
I-16	
I-17	

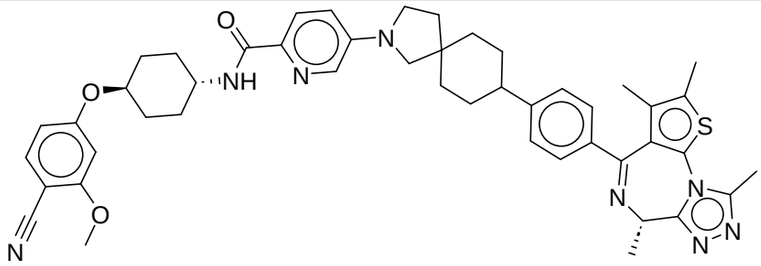
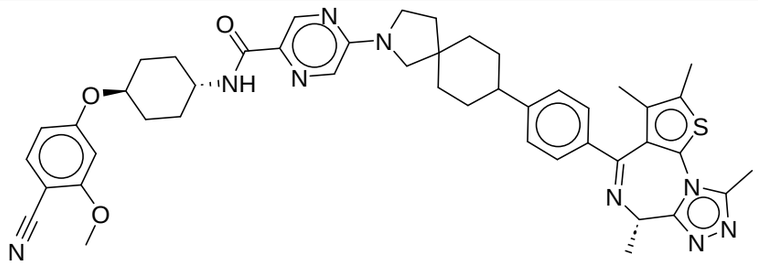
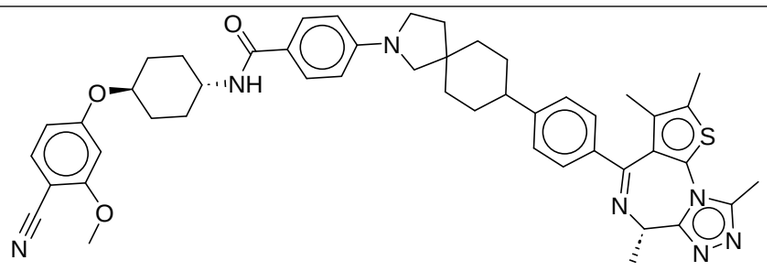
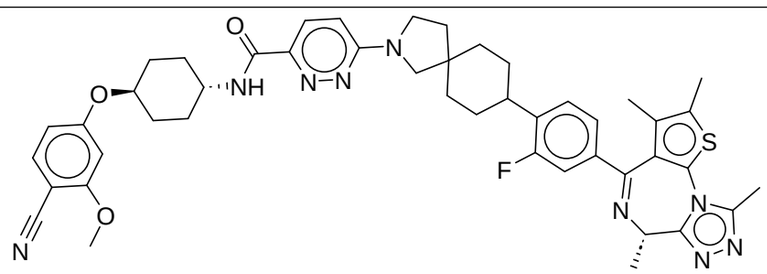
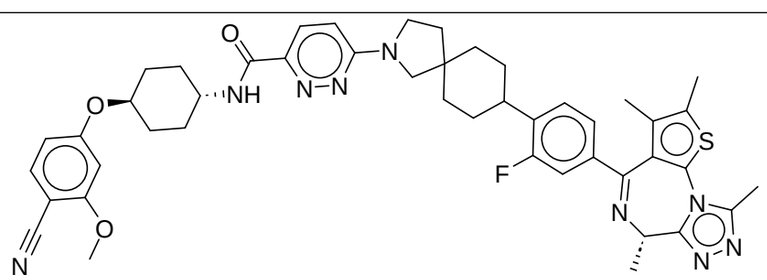
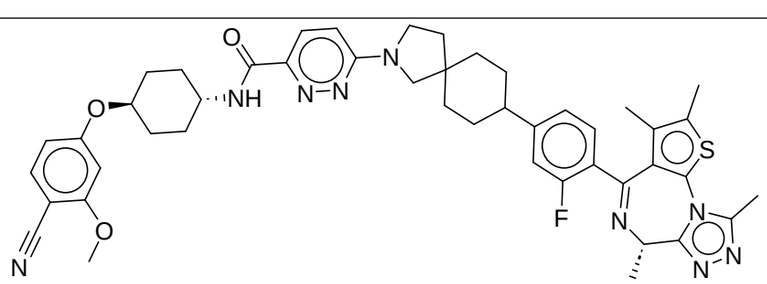
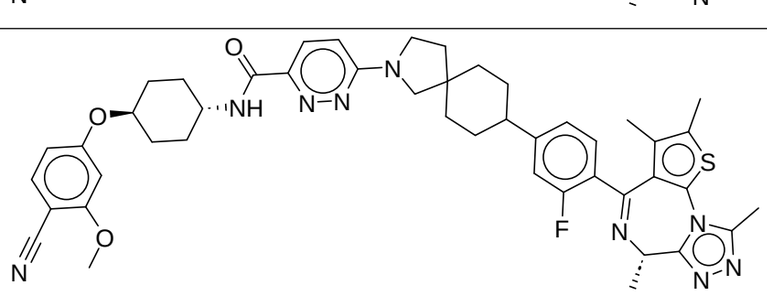
I-18	
I-19	
I-20	
I-21	
I-22	
I-23	
I-24	

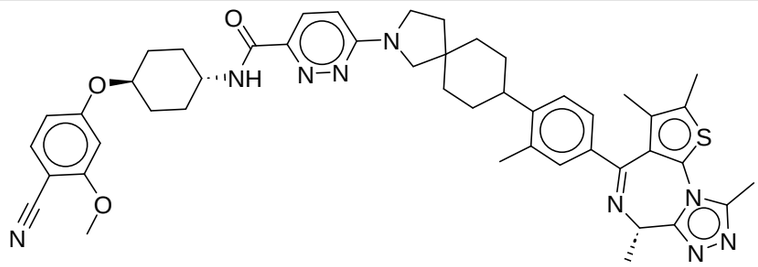
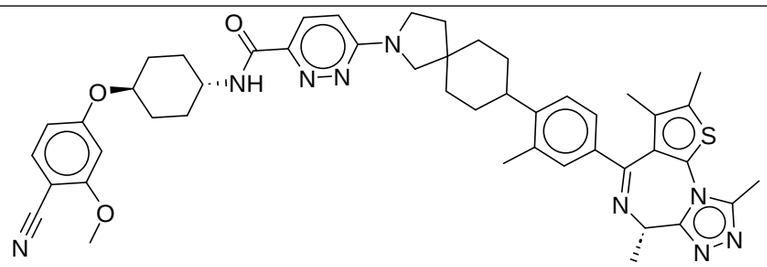
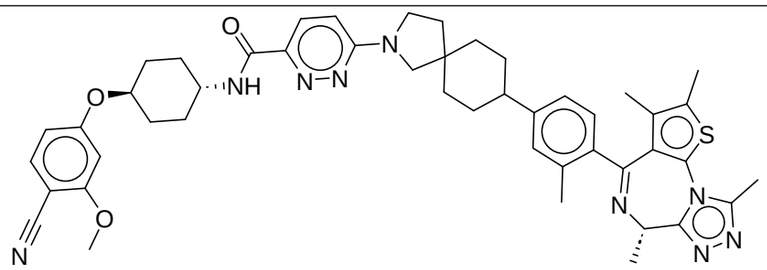
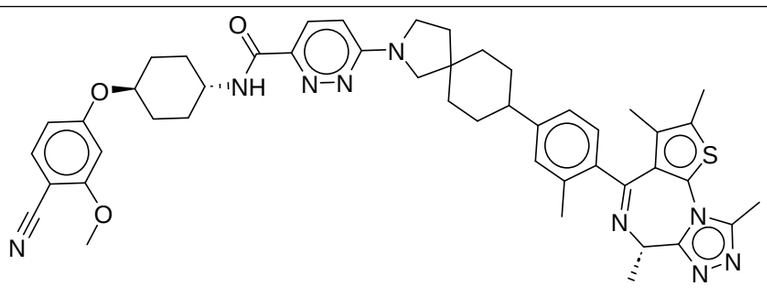
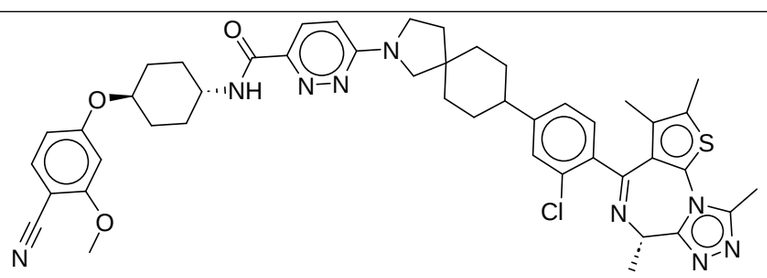
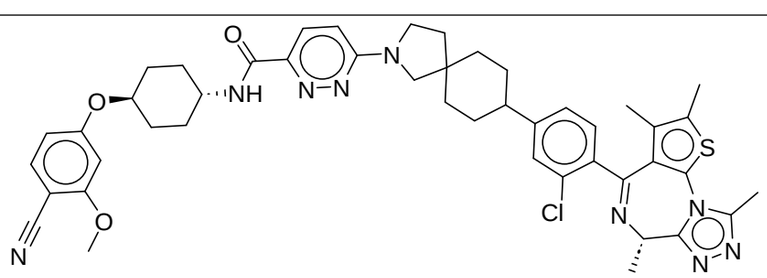
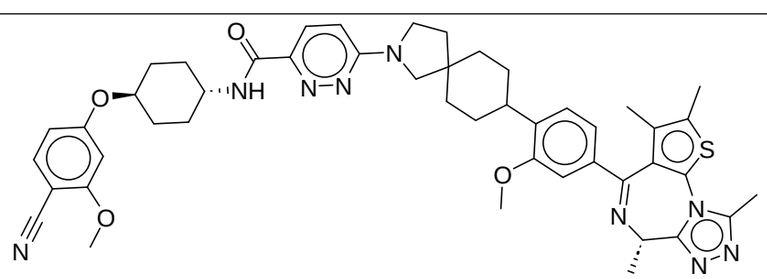
I-25	
I-26	
I-27	
I-28	
I-29	
I-30	
I-31	

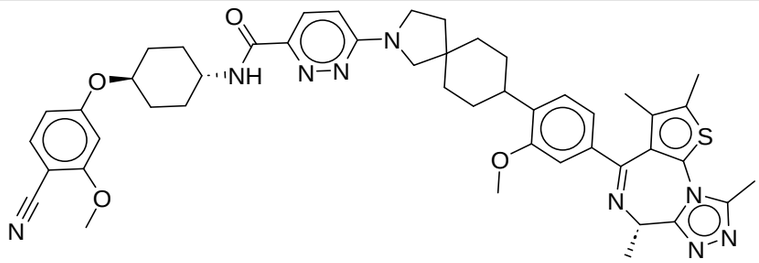
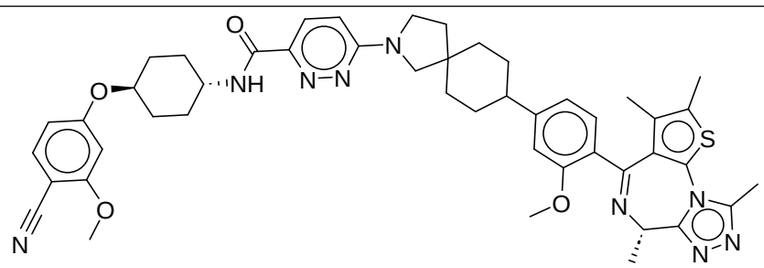
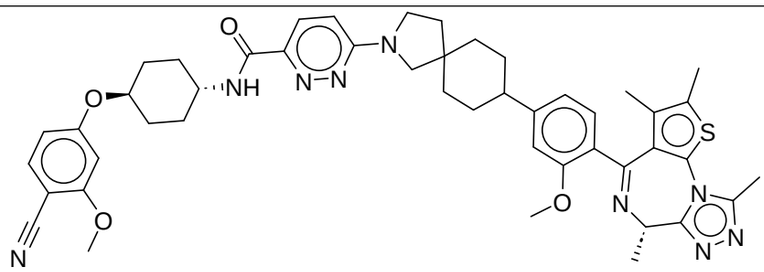
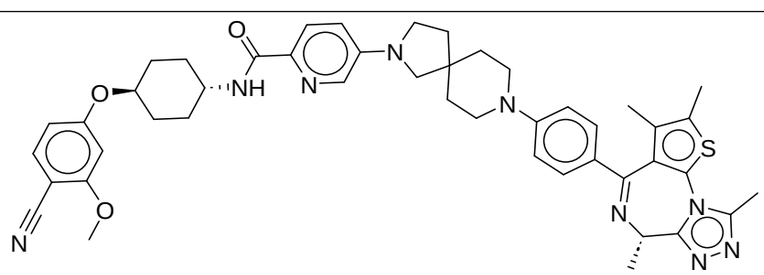
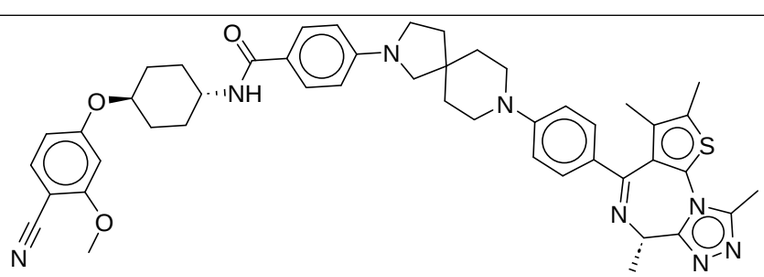
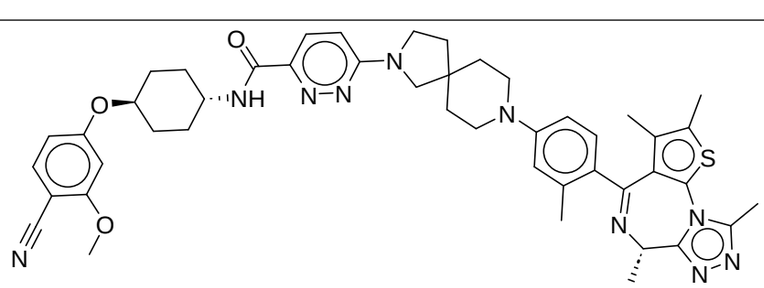
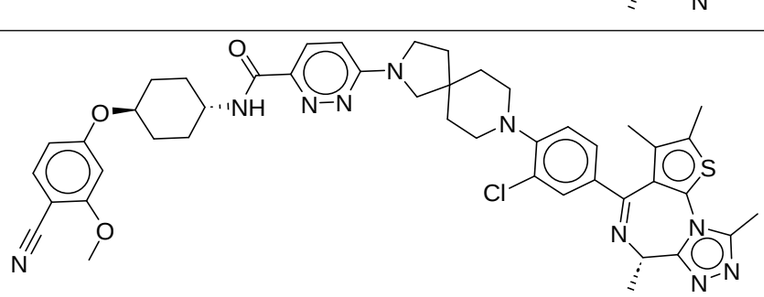
I-32	
I-33	
I-34	
I-35	
I-36	
I-37	
I-38	

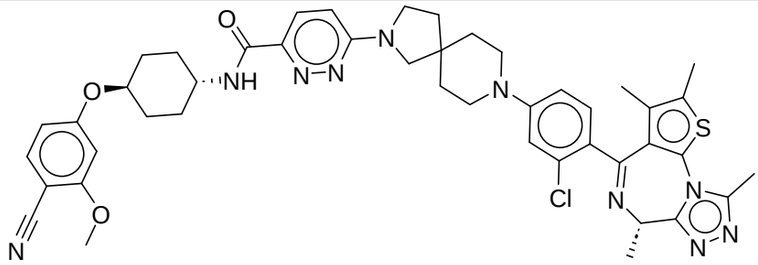
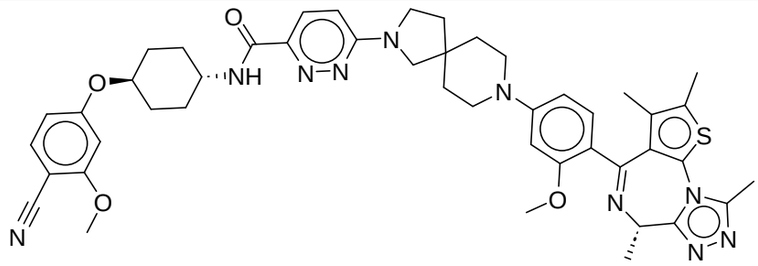
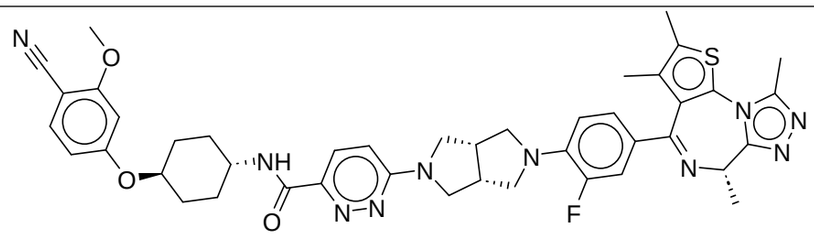
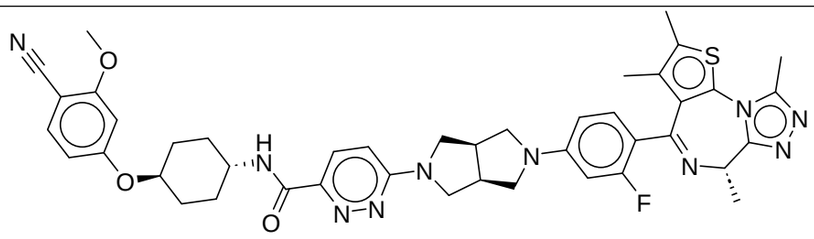
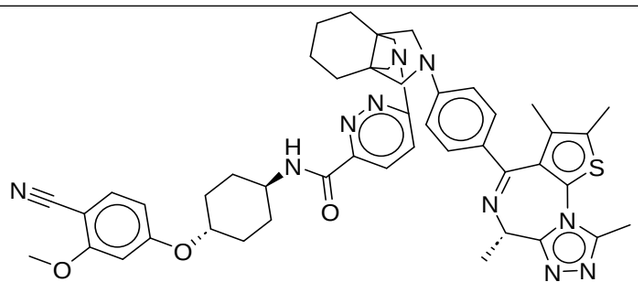
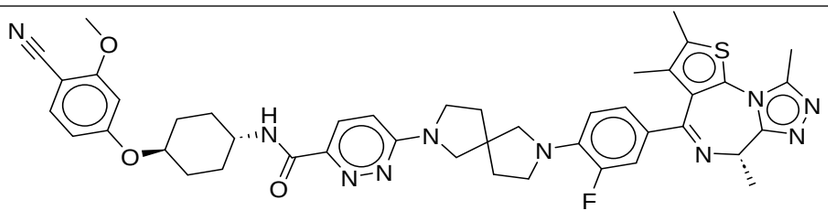
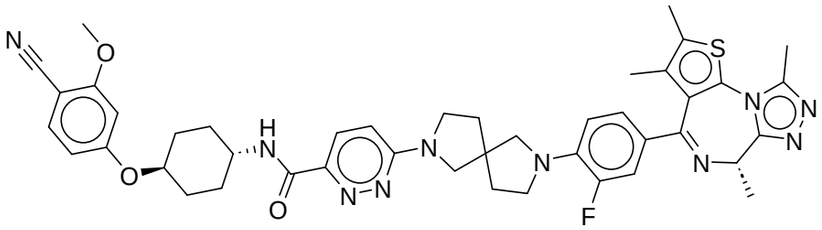
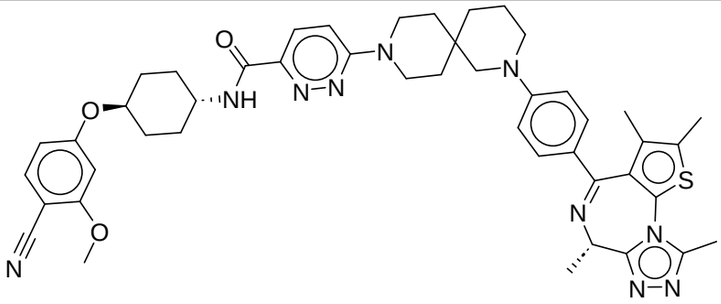
I-39	
I-40	
I-41	
I-42	
I-43	
I-44	
I-45	

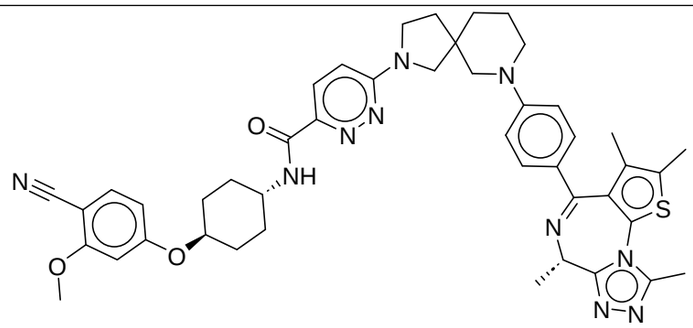
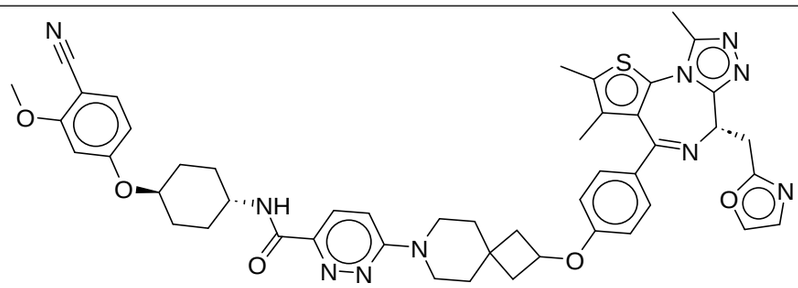
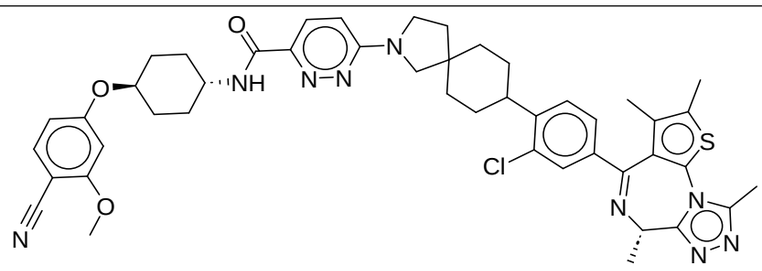
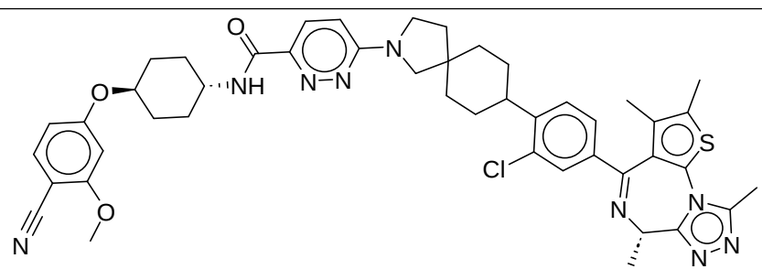
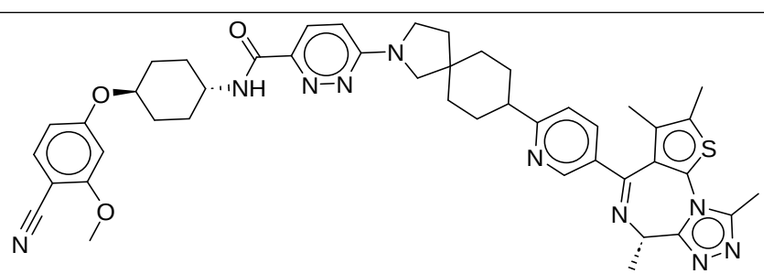
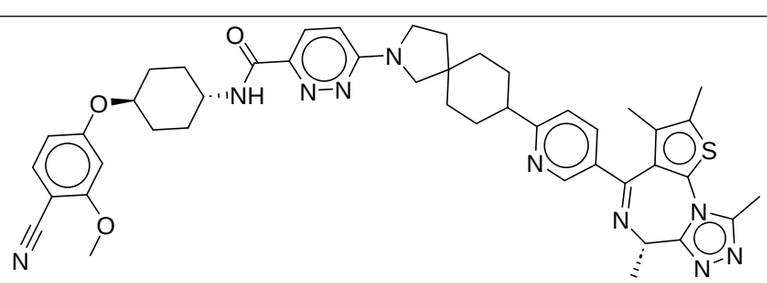
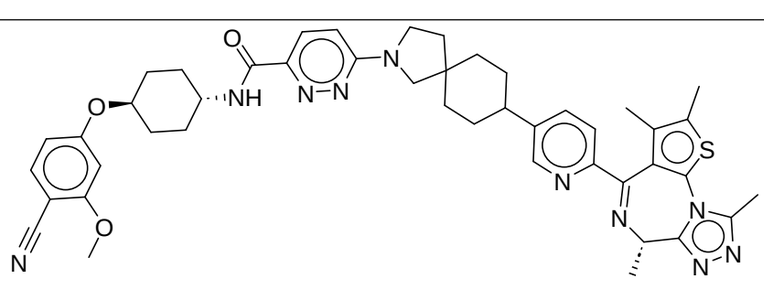
I-46	
I-47	
I-48	
I-49	
I-50	
I-51	
I-52	

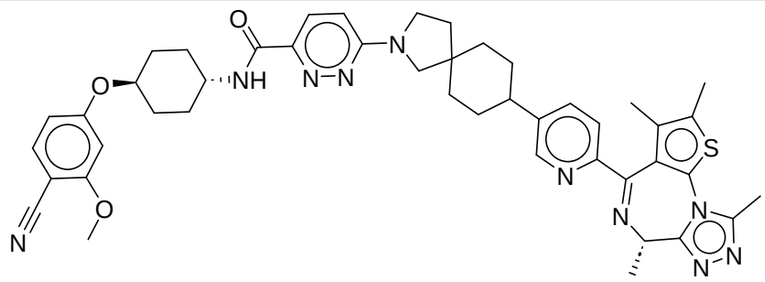
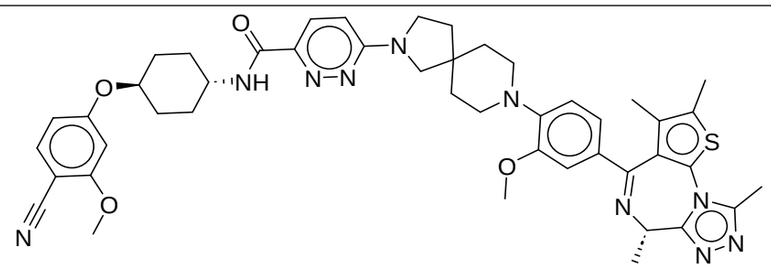
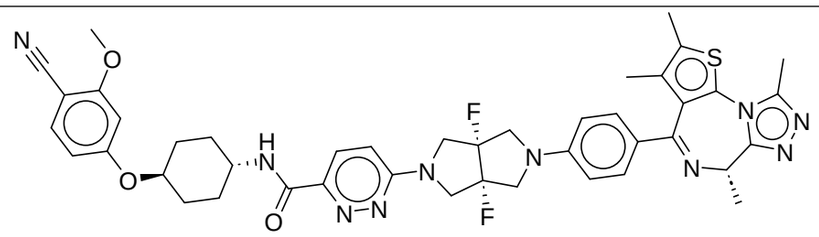
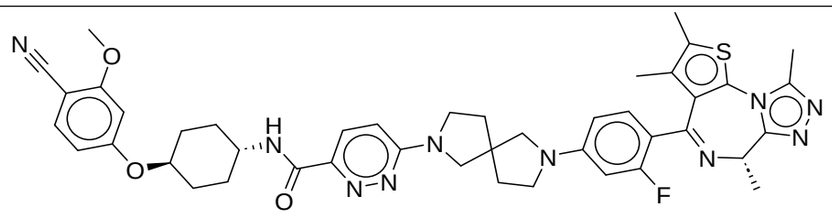
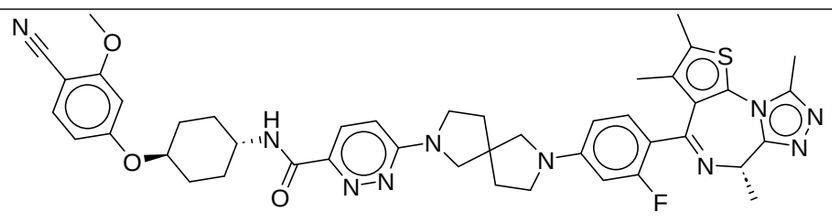
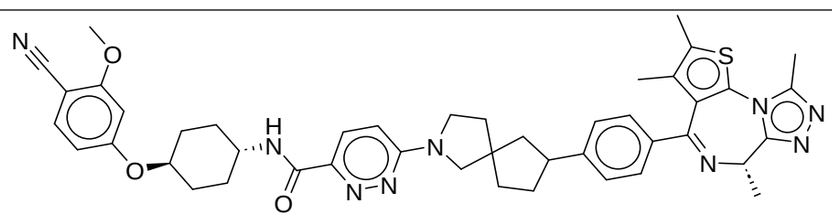
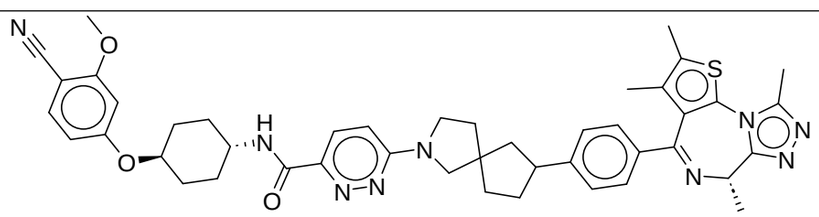
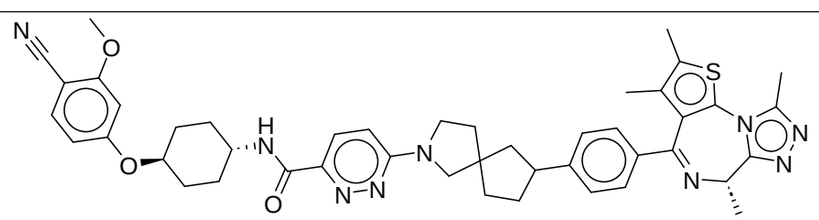
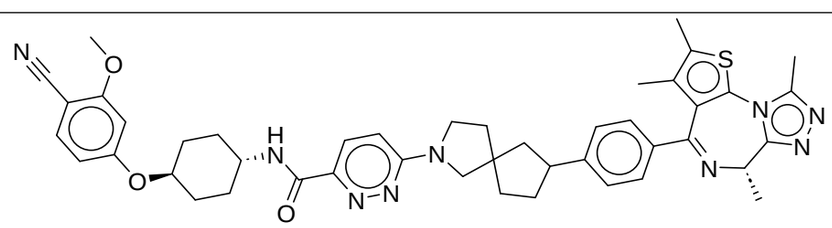
I-53	
I-54	
I-55	
I-56	
I-57	
I-58	
I-59	

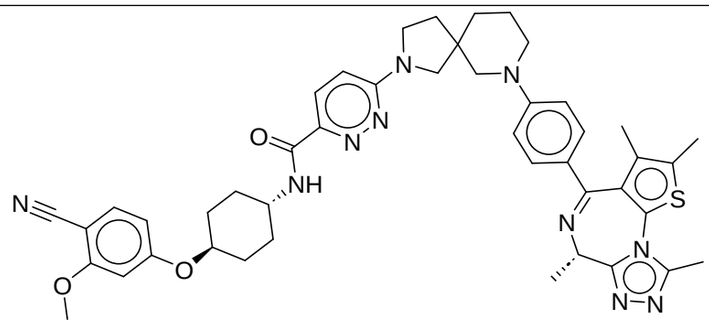
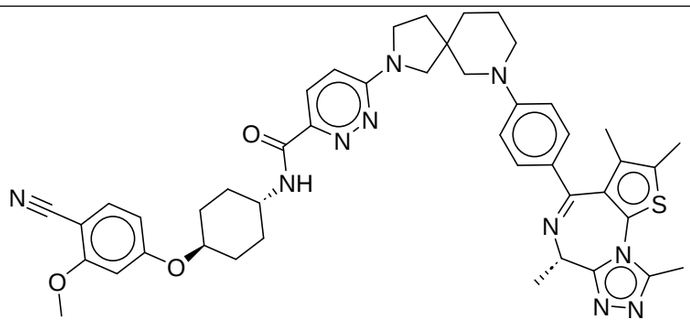
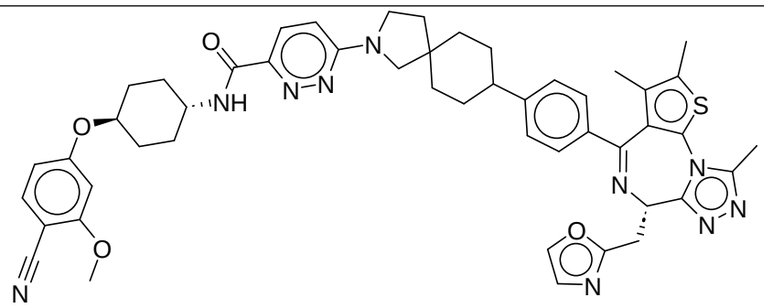
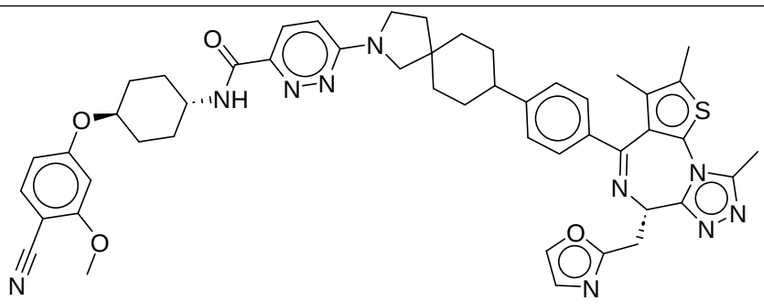
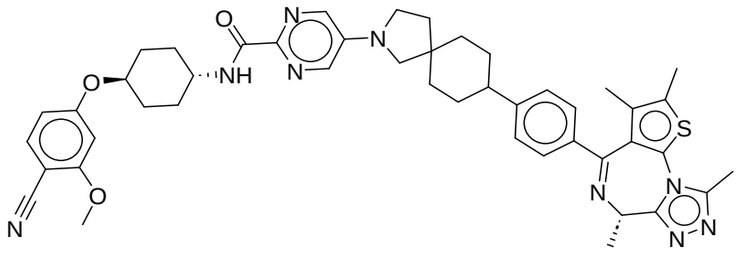
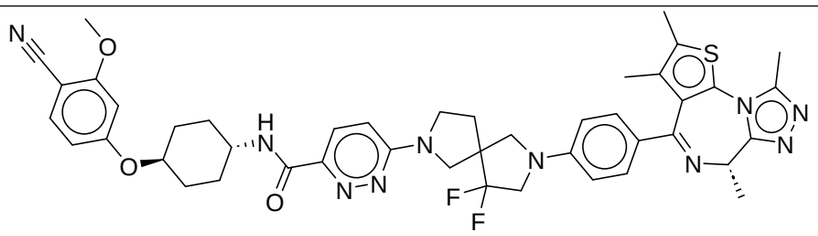
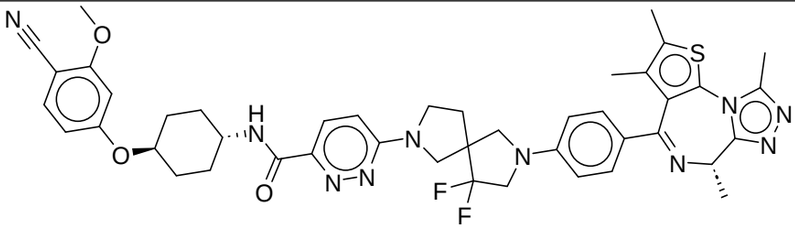
I-60	
I-61	
I-62	
I-63	
I-64	
I-65	
I-66	

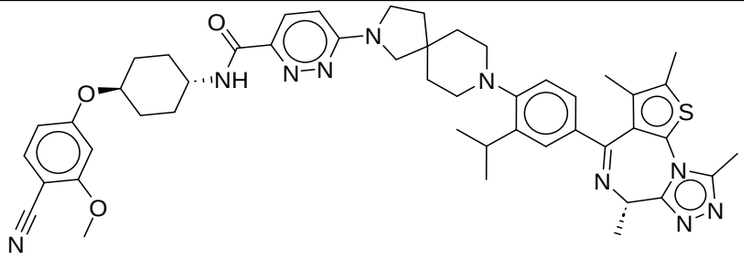
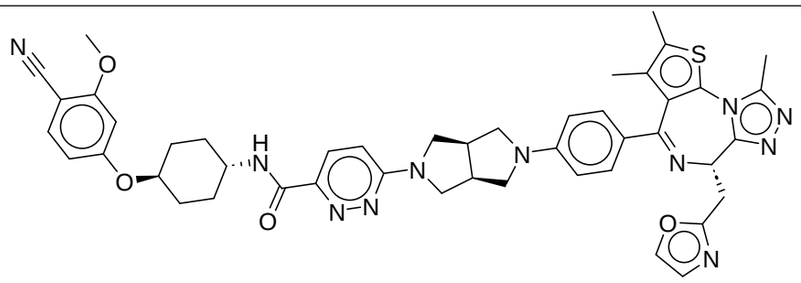
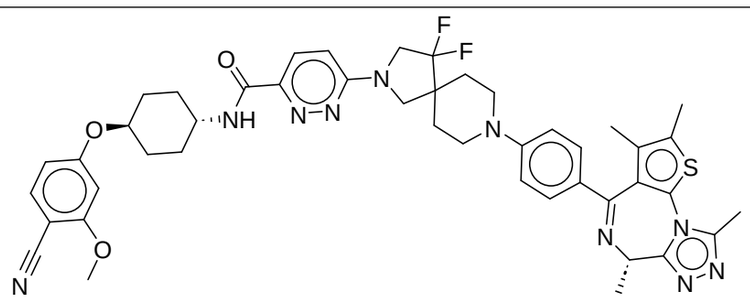
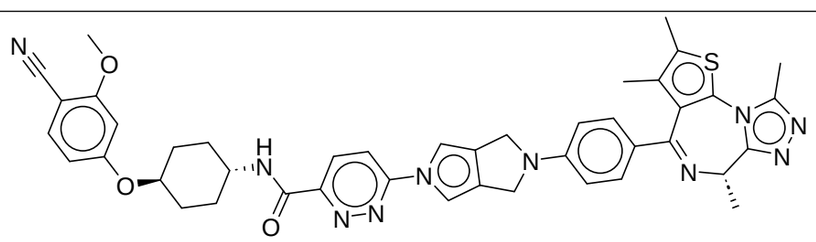
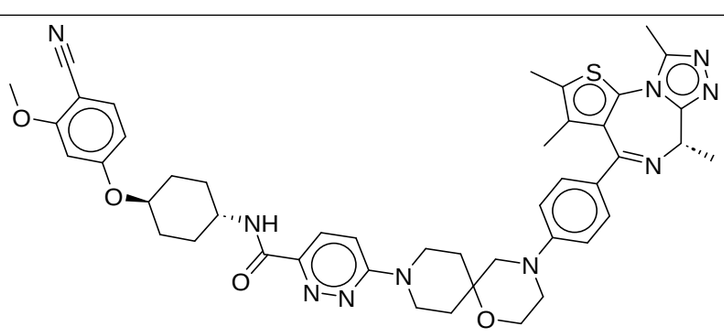
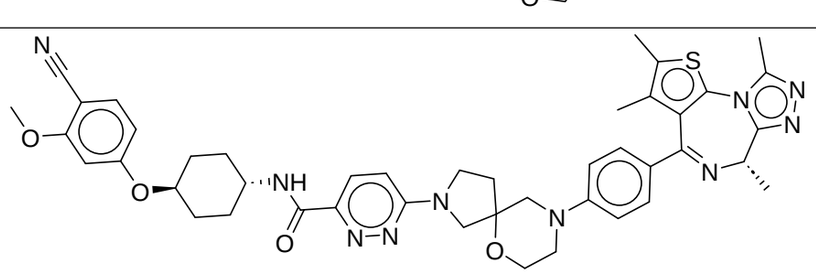
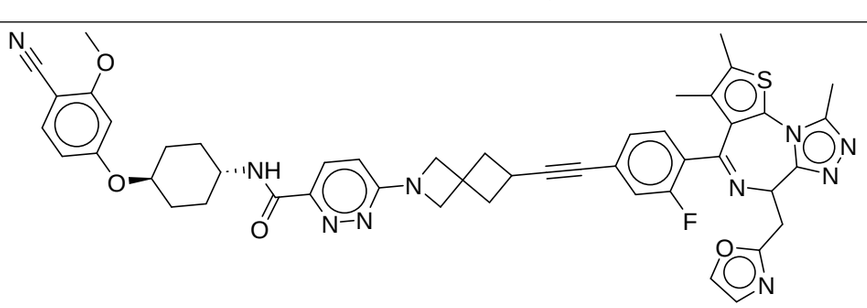
I-67	
I-68	
I-69	
I-70	
I-71	
I-72	
I-73	

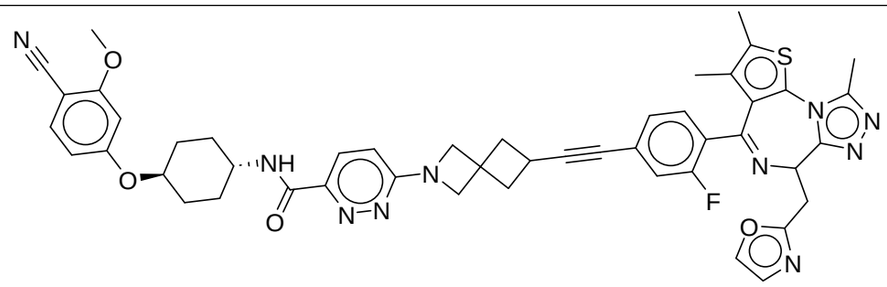
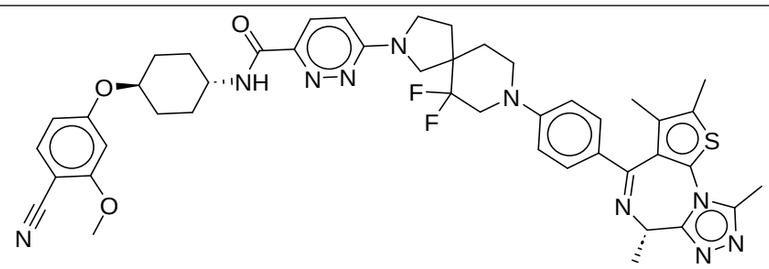
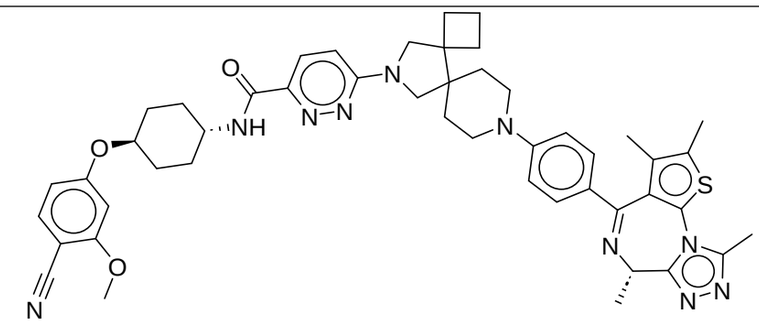
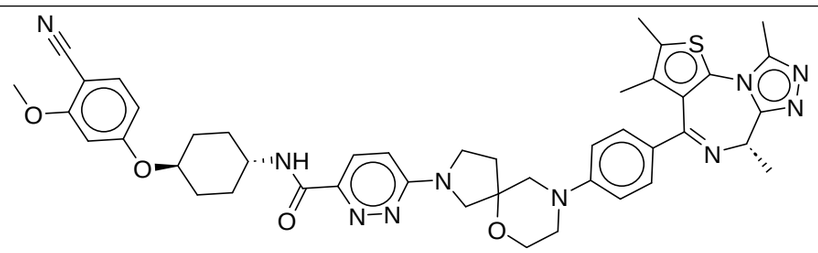
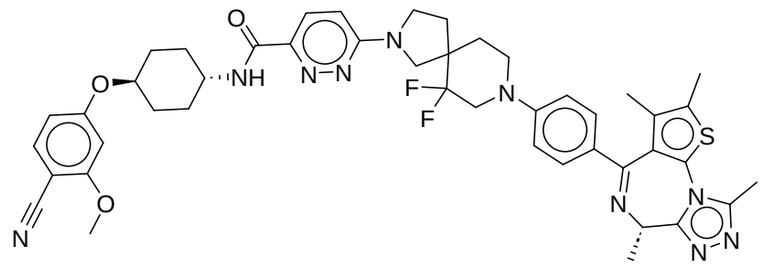
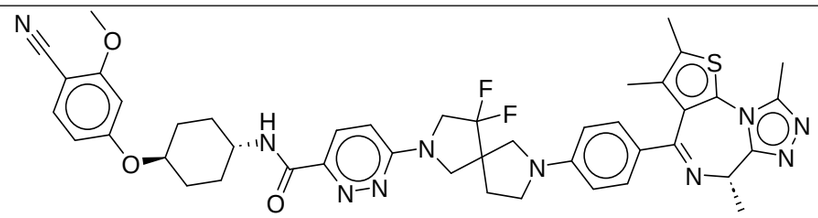
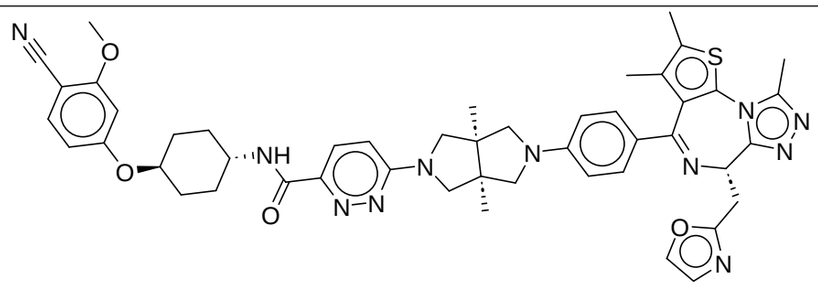
I-74	
I-75	
I-76	
I-77	
I-78	
I-79	
I-80	
I-81	

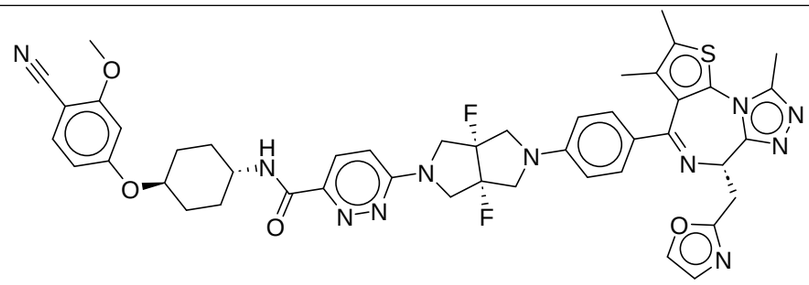
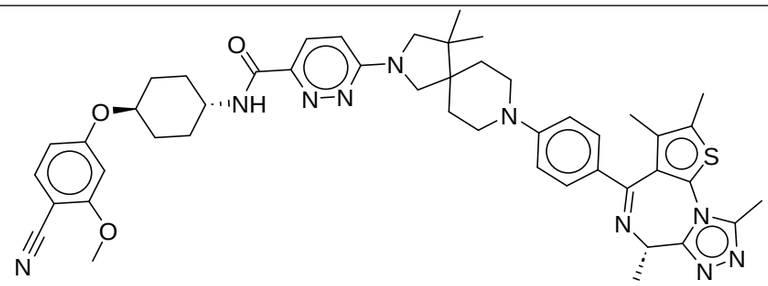
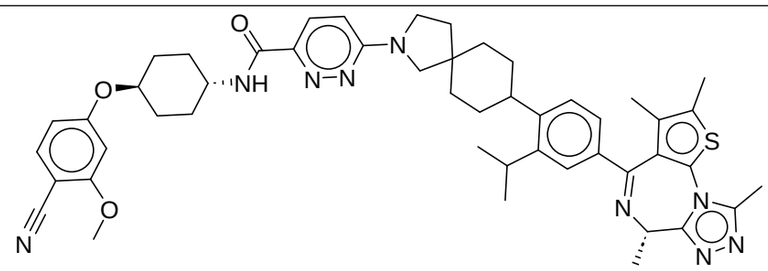
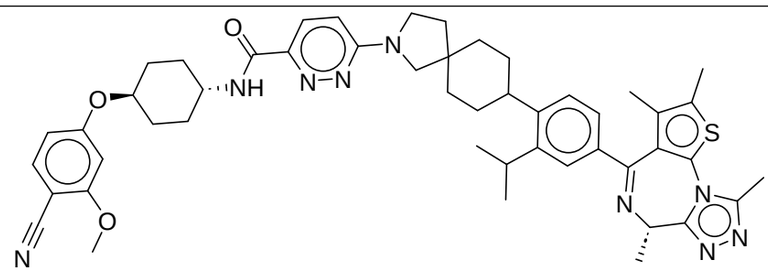
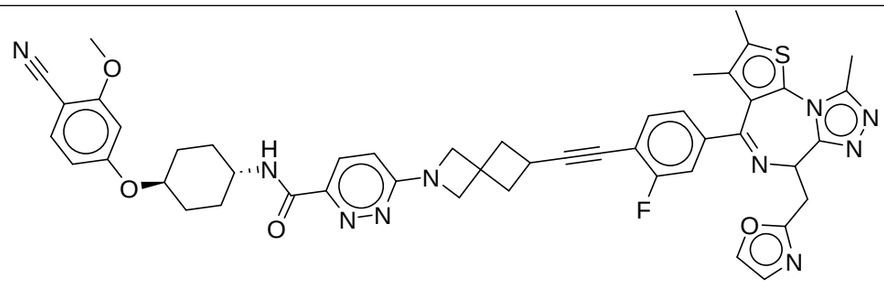
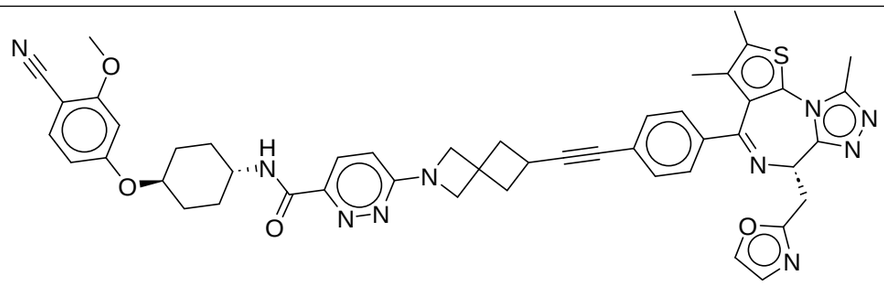
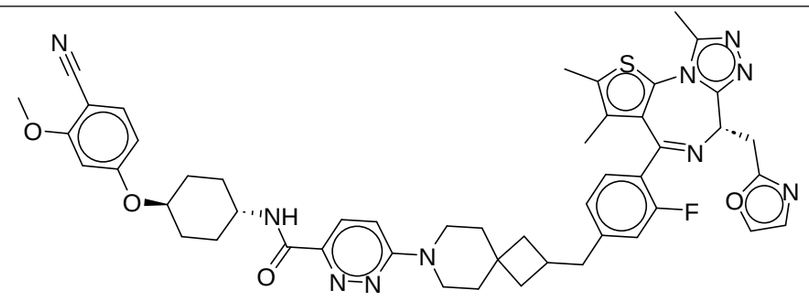
I-82	
I-83	
I-84	
I-85	
I-86	
I-87	
I-88	

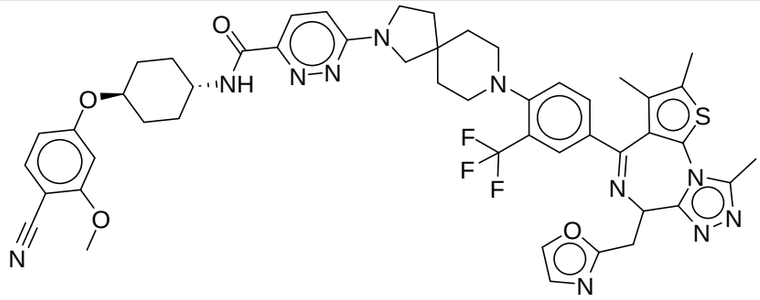
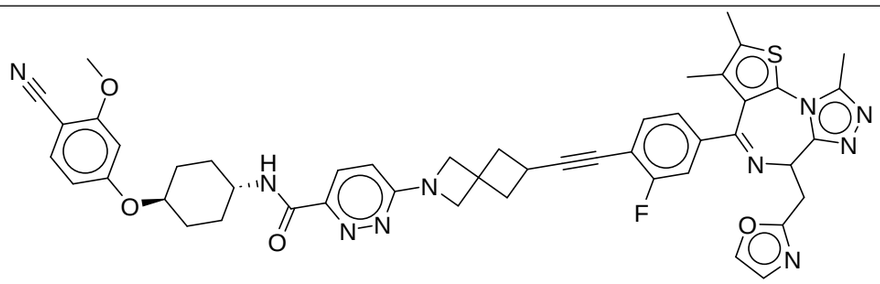
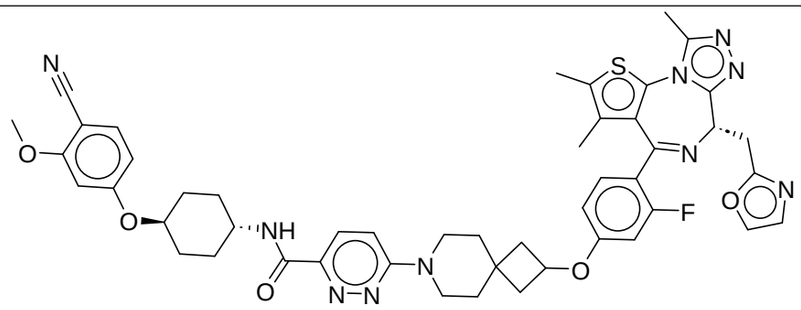
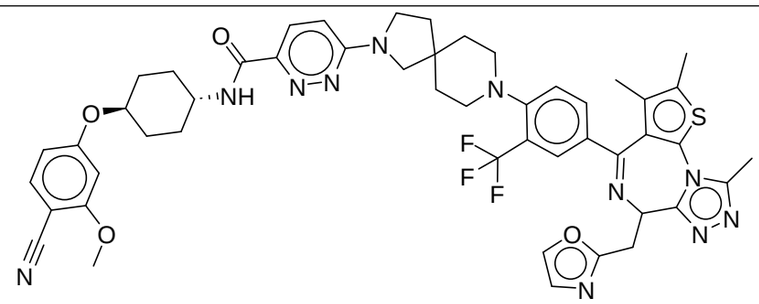
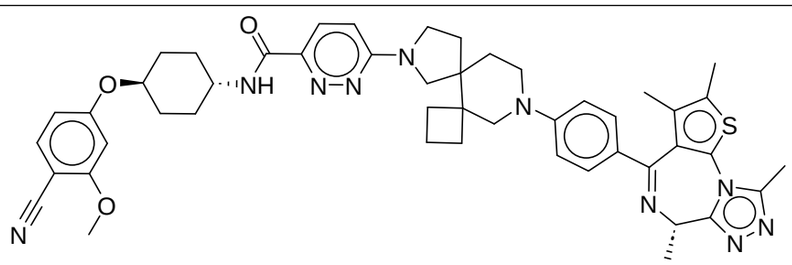
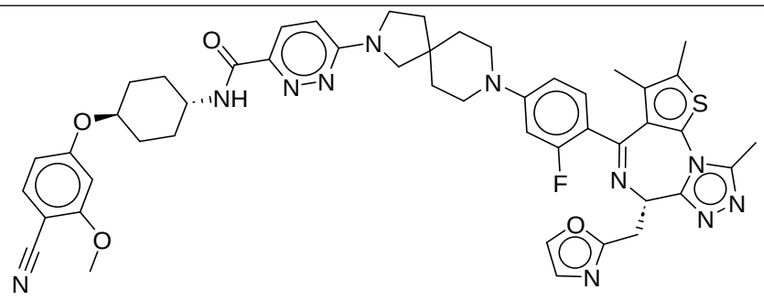
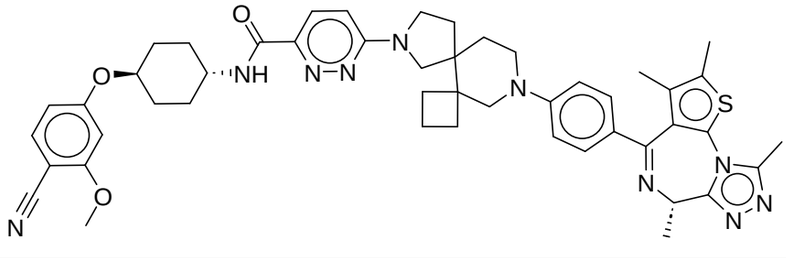
I-89	
I-90	
I-91	
I-92	
I-93	
I-94	
I-95	
I-96	
I-97	

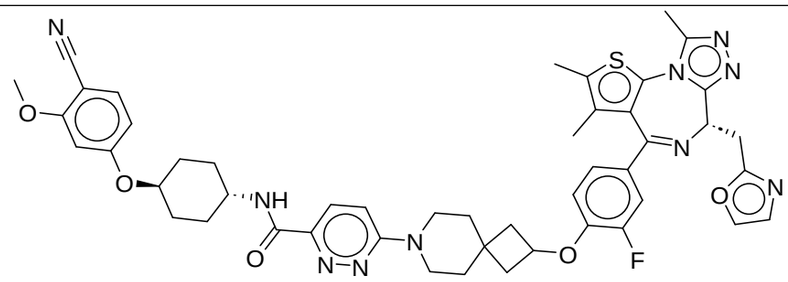
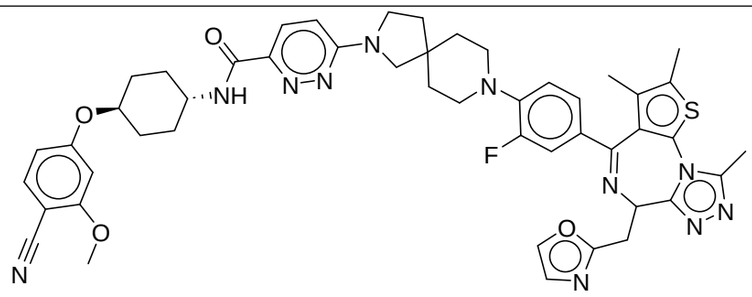
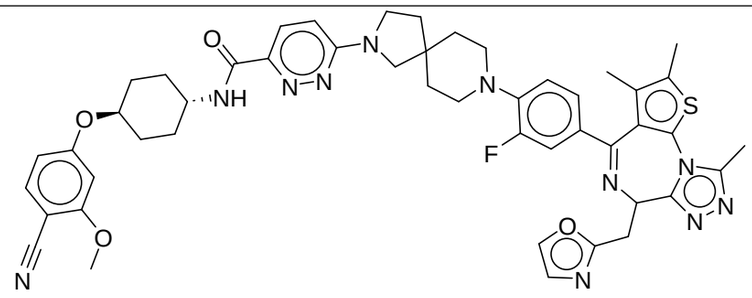
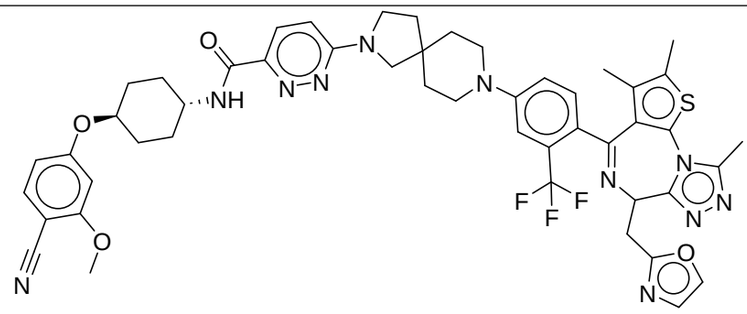
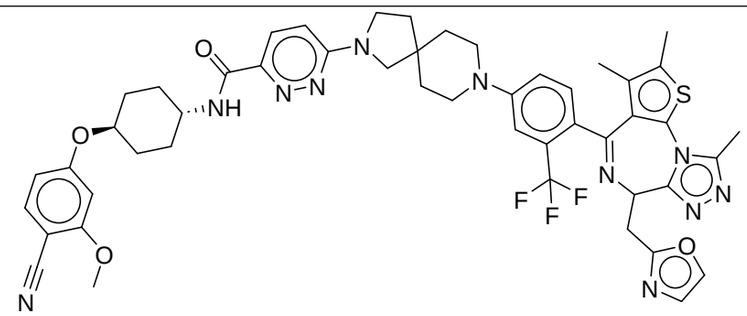
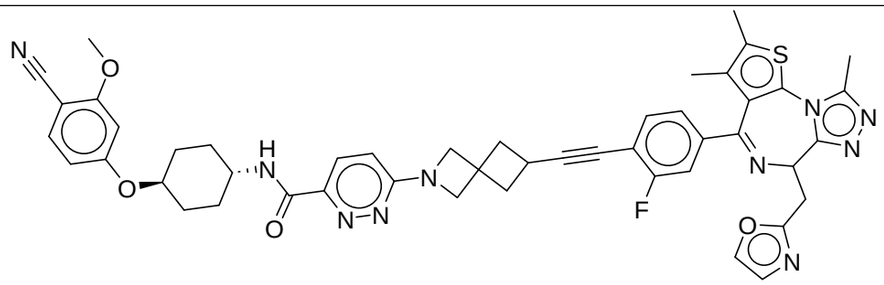
I-98	
I-99	
I-100	
I-101	
I-102	
I-103	
I-104	

I-105	
I-106	
I-107	
I-108	
I-109	
I-110	
I-111	

I-112	
I-113	
I-114	
I-115	
I-116	
I-117	
I-118	

I-119	
I-120	
I-121	
I-122	
I-123	 Estereoisómero I
I-124	
I-125	

I-126	
I-127	 Estereoisómero II
I-128	
I-129	
I-130	
I-131	
I-132	

I-133	
I-134	 Estereoisómero I
I-135	 Estereoisómero II
I-136	
I-137	
I-138	

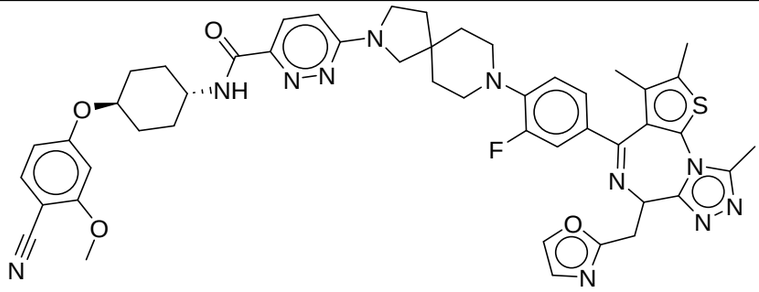
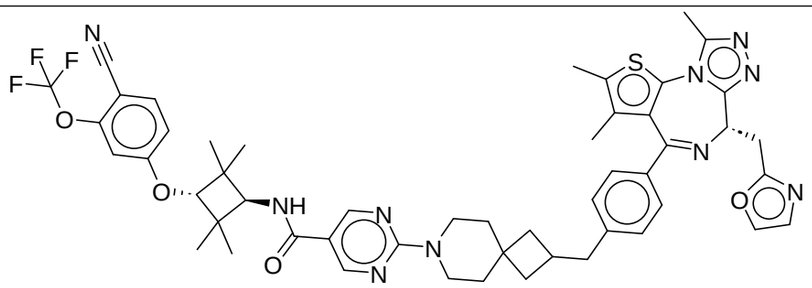
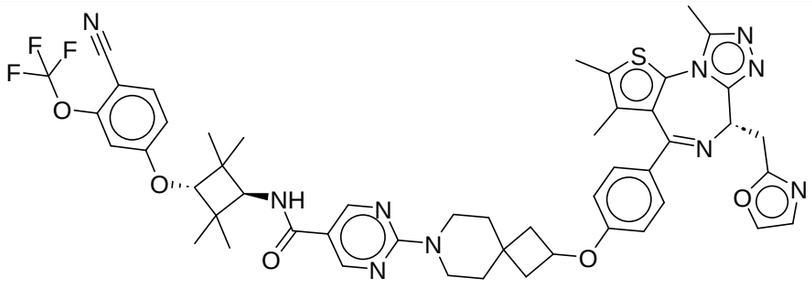
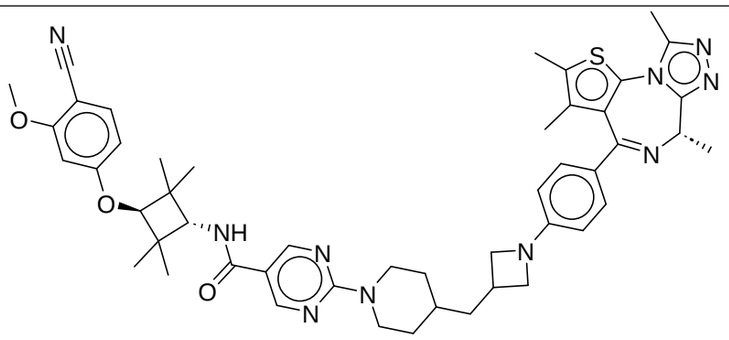
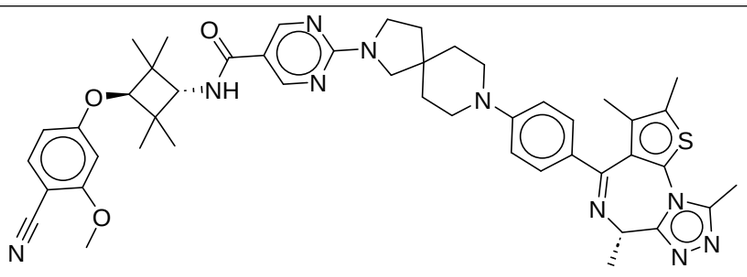
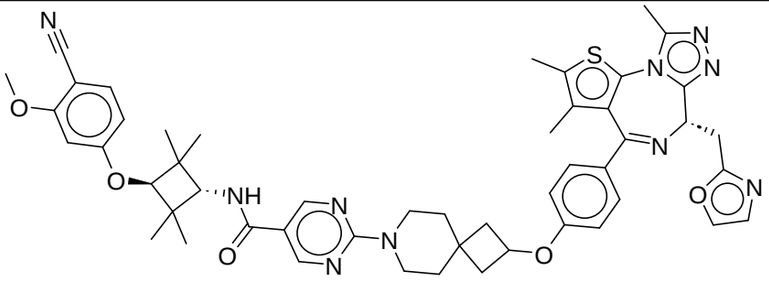
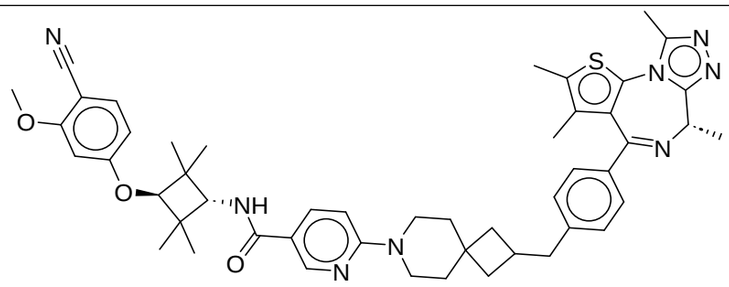
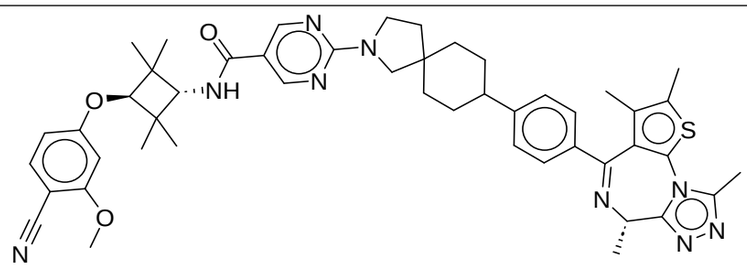
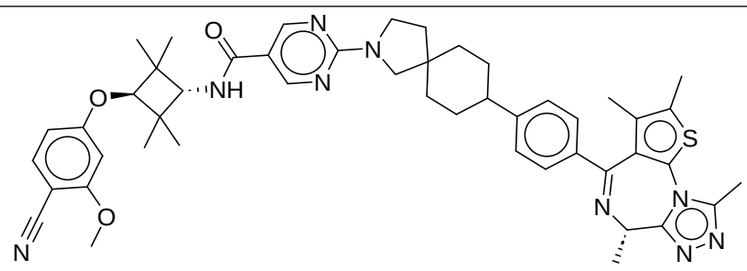
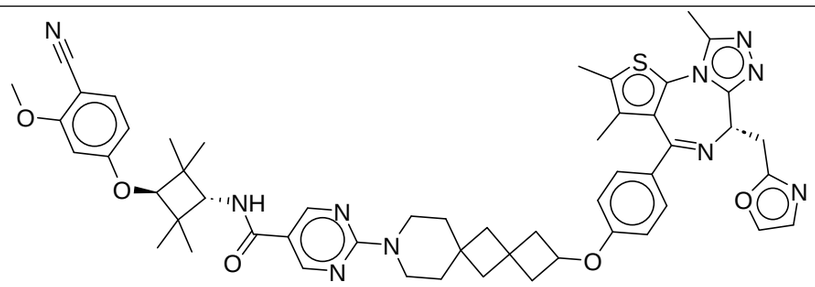
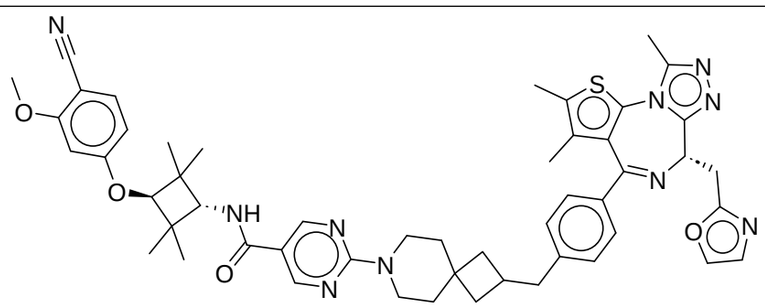
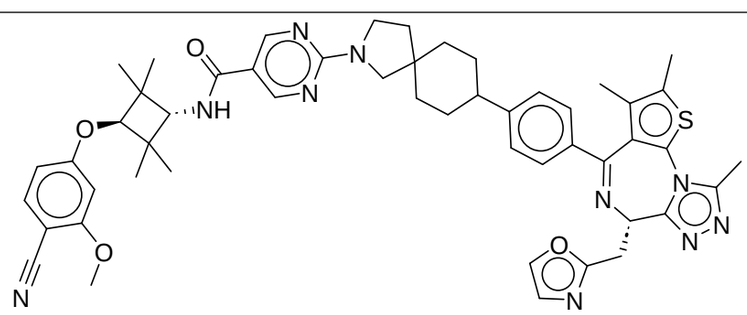
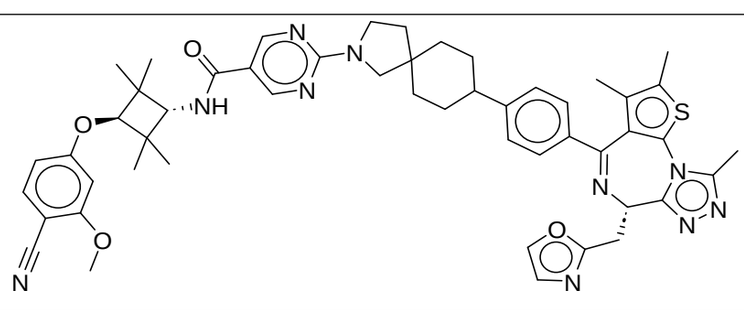
I-139	

TABLA 2.

Compuesto n.°	**Estructura química**
II-1	
II-2	
II-3	
II-4	
II-5	

II-6	
II-7	
II-8	
II-9	
II-10	
II-11	
II-12	

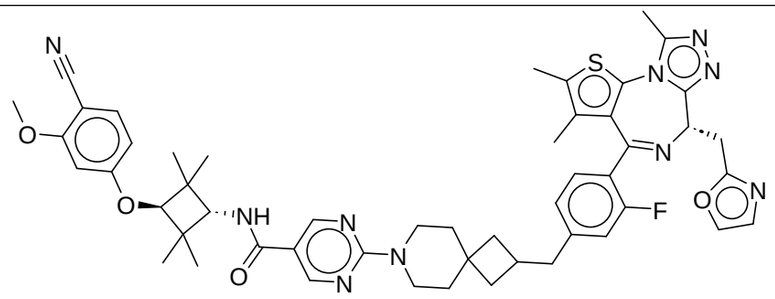
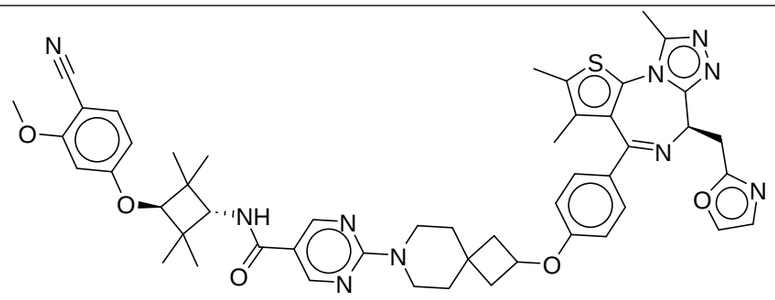
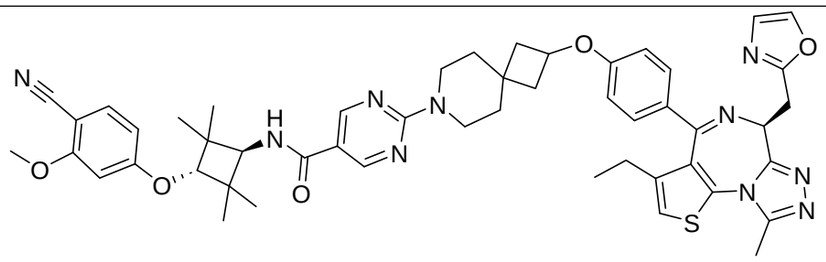
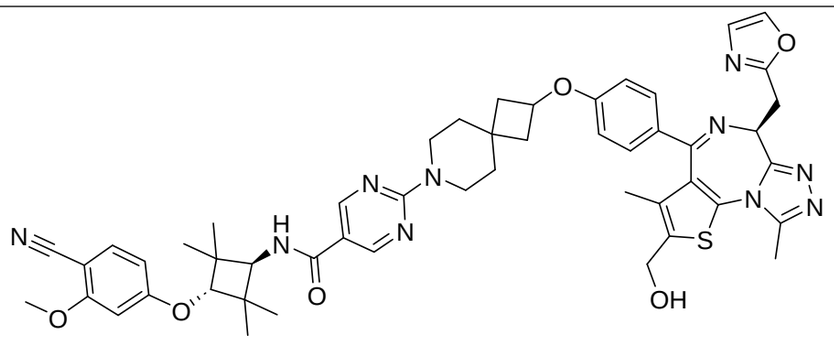
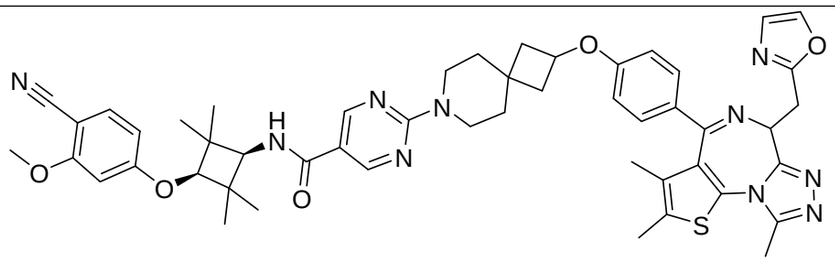
II-13	
II-14	

TABLA 3.

Compuesto n.°	**Estructura química**
III-1	
III-2	
III-3	

Métodos sintéticos

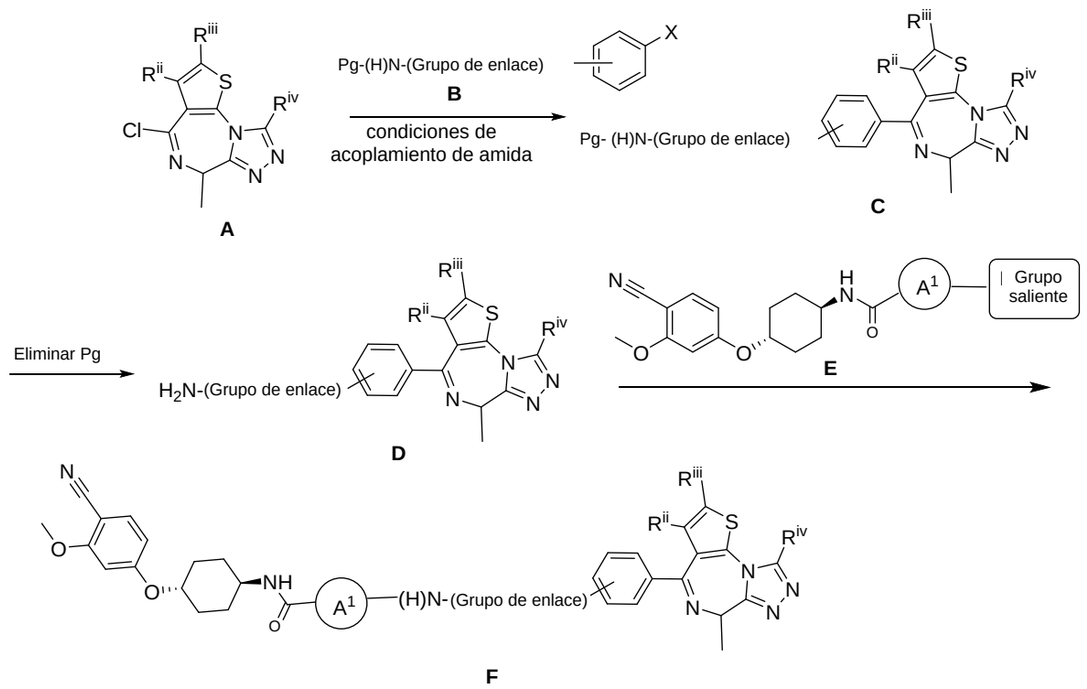
[0296] Los métodos para preparar los compuestos descritos en la presente se ilustran en el siguiente esquema sintético. El esquema se presenta con el fin de ilustrar la invención y no pretende limitar el alcance ni el espíritu de la misma. Las materias primas que se muestran en el esquema pueden obtenerse de fuentes comerciales o prepararse siguiendo los procedimientos descritos en la bibliografía.

[0297] En el esquema, un experto en la técnica de la síntesis orgánica entiende que la funcionalidad presente en las distintas partes de la molécula debe ser compatible con los

reactivos y las reacciones propuestas. Los sustituyentes incompatibles con las condiciones de reacción serán evidentes para un experto en la técnica, por lo que se indican métodos alternativos (por ejemplo, el uso de grupos protectores o reacciones alternativas). La química y la estrategia de protección de grupos son bien conocidas, como se describe, por ejemplo, en "Protecting Groups in Organic Synthesis", T.W. Greene y P.G.M. Wuts, 3ª edición, John Wiley & Sons, 1999, cuyo contenido completo se incorpora a la presente como referencia.

[0298] La ruta sintética ilustrada en el esquema 1 es un método general para preparar compuestos de la Fórmula **F**. La reacción del cloruro **A** y el compuesto **B**, donde X es un éster borónico en condiciones de acoplamiento con paladio, proporciona el compuesto **C.** La eliminación del grupo protector (Pg) del compuesto **C** proporciona el compuesto **D.** El grupo Pg puede ser, por ejemplo, un grupo protector Boc que se puede eliminar tratando el compuesto con ácido trifluoroacético. El acoplamiento del compuesto **D** con el compuesto **E** (tal como una reacción de sustitución aromática nucleófila cuando el grupo saliente en el compuesto **E** es cloro) proporciona el compuesto final de la Fórmula **F.**

ESQUEMA 1.

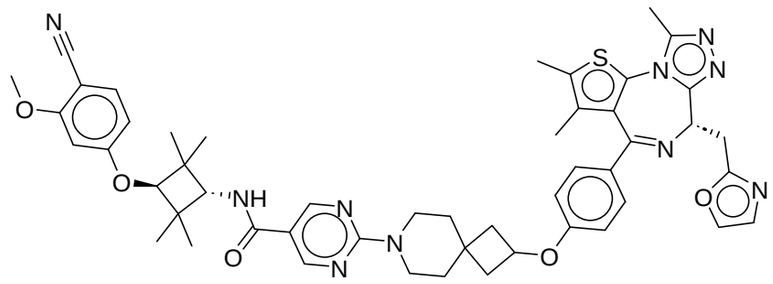


[0299] La ruta sintética modular ilustrada en el Esquema 1 se puede modificar fácilmente para obtener compuestos adicionales mediante la realización de transformaciones de grupos funcionales en los compuestos intermedios y/o finales. Tales transformaciones de grupos funcionales son bien conocidas en la técnica, como se describe, por ejemplo, en *Comprehensive Organic Synthesis* (B.M. Trost & I. Fleming, eds., 1991-1992); *Organic Synthesis, 3.ª ed.* (Michael B. Smith, Wavefunction, Inc., Irvine: 2010); *Modern Methods of Organic Synthesis, 4.ª ed.* (William Carruthers e Iain Coldham, Cambridge University Press, Cambridge: 2004); *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 8.ª ed.*, (Michael B. Smith, John Wiley & Sons, Nueva York: 2020); y *Comprehensive Organic Transformations: A Guide a Functional Group Preparations, 3.ª ed.* (Richard C. Larock, ed., John Wiley & Sons, Nueva York: 2018). Se pueden emplear estrategias de protección de grupos funcionales, según corresponda, para adaptarse a los diferentes grupos funcionales de las moléculas usadas en la ruta sintética. La química y la estrategia de protección de grupos se describen, por ejemplo, en *Protecting Groups in Organic Synthesis, 3.ª ed,*T.W. Greene y

P.G.M. Wuts, John Wiley & Sons, 1999 y *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 5.ª ed*, (Peter G.M. Wuts, John Wiley & Sons: 2014).

Parte D: Formas cristalinas del compuesto de la Fórmula II-5

[0300] Otro aspecto de la invención proporciona un compuesto cristalino de la Fórmula II-5:



(II-5).

[0301] Las formas cristalinas del compuesto de la Fórmula II-5 pueden proporcionar propiedades que hacen que el compuesto sea superior para su uso en la fabricación. Por ejemplo, se ha identificado la Forma cristalina A del compuesto de la Fórmula II-5, que posee propiedades particularmente buenas. Una de las ventajas de la Forma cristalina A es que demuestra una estabilidad superior en comparación con la Forma cristalina B.

Forma cristalina A

[0302] Un aspecto de la invención proporciona un compuesto cristalino de la Fórmula II-5 que tiene la Forma cristalina A. La Forma cristalina A puede caracterizarse de acuerdo con la difracción de rayos X de polvo, la calorimetría diferencial de barrido y/o la pureza.

[0303] En ciertas modalidades, el compuesto exhibe un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos en los siguientes ángulos de difracción (2θ): 13,1 ± 0,2, 17,6 ± 0,2, 18,3 ± 0,2, 18,7 ± 0,2, 19,5 ± 0,2, 23,8 ± 0,2, y 25,6 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en el siguiente ángulo de difracción (2θ): 8,1 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 9,9 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 10,5 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 15,8 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 19,8 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 25,3 ± 0,2.

[0304] En ciertas modalidades, el compuesto exhibe un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos un pico desde los siguientes ángulos de difracción (2θ): 13,1 ± 0,2, 17,6 ± 0,2, 18,3 ± 0,2, 18,7 ± 0,2, 19,5 ± 0,2, 23,8 ± 0,2, y 25,6 ± 0,2. En ciertas modalidades, el compuesto exhibe un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos dos, tres o cuatro picos desde los siguientes ángulos de difracción (2θ): 13,1 ± 0,2, 17,6 ± 0,2, 18,3 ± 0,2, 18,7 ± 0,2, 19,5 ± 0,2, 23,8 ± 0,2, y 25,6 ± 0,2. En ciertas modalidades, el compuesto exhibe un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos cinco picos desde los siguientes ángulos de difracción (2θ): 13,1 ± 0,2, 17,6 ± 0,2, 18,3 ± 0,2,

18,7 ± 0,2, 19,5 ± 0,2, 23,8 ± 0,2, y 25,6 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en el siguiente ángulo de difracción (2θ): 8,1 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 9,9 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 10,5 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 15,8 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 19,8 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 25,3 ± 0,2.

[0305] En ciertas modalidades, la intensidad relativa del pico en dichos ángulos de difracción (2θ) es al menos del 20 %. En ciertas modalidades, la intensidad relativa del pico en dichos ángulos de difracción (2θ) es al menos del 30 %.

[0306] En ciertas modalidades, el compuesto se caracteriza por el siguiente patrón de difracción de polvo de rayos X expresado en términos de ángulo de difracción 2θ, distancias interplanares d, e intensidad relativa (expresada como un porcentaje con respecto al pico más intenso):

Ángulo [2θ]	**espaciado-d [Å]**	**Intensidad relativa (%)**
8,1	11,0	28
8,3	10,6	13
8,6	10,2	22
9,5	9,3	8
9,9	8,9	34
10,5	8,4	31
11,7	7,6	9
12,1	7,3	8
13,1	6,8	81
13,5	6,5	9
15,5	5,7	10
15,8	5,6	28
16,1	5,5	14
16,6	5,3	9
17,6	5,0	39
18,0	4,9	14
18,3	4,9	38
18,7	4,7	37
19,5	4,5	100
19,8	4,5	37

Ángulo [2θ]	**espaciado-d [Å]**	**Intensidad relativa (%)**
20,4	4,4	11
21,6	4,1	22
22,7	3,9	5
23,3	3,8	9
23,5	3,8	21
23,8	3,7	56
24,3	3,7	22
25,1	3,5	20
25,3	3,5	30
25,6	3,5	64
26,2	3,4	7
27,0	3,3	6
27,5	3,2	7
28,8	3,1	6
31,9	2,8	6
33,1	2,7	5
33,7	2,7	8

.

[0307] En ciertas modalidades, el compuesto tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente como se muestra en la Figura 14.

[0308] En ciertas modalidades, el compuesto tiene un punto de fusión inicial, determinado mediante calorimetría diferencial de barrido en el rango de aproximadamente 180 grados Celsius a aproximadamente 200 grados Celsius. En ciertas modalidades, el compuesto presenta un punto de fusión inicial, determinado mediante calorimetría diferencial de barrido de aproximadamente 192 grados Celsius. En ciertas modalidades, el compuesto presenta un punto de fusión inicial, determinado mediante calorimetría diferencial de barrido de 192 grados Celsius. En ciertas modalidades, el compuesto tiene una curva de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente igual a la que se muestra en la Figura 15.

[0309] En ciertas modalidades, el compuesto tiene una pureza superior al 98 % en peso. En ciertas modalidades, el compuesto tiene una pureza superior al 99 % en peso. En ciertas modalidades, el compuesto tiene una pureza superior al 99,5 % en peso. En ciertas modalidades, la pureza del compuesto se determina mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Forma cristalina B

[0310] Otro aspecto de la invención proporciona un compuesto cristalino de la Fórmula II-5 que tiene la Forma cristalina B. La Forma cristalina B puede caracterizarse de acuerdo con la difracción de rayos X de polvo, la calorimetría diferencial de barrido y/o la pureza.

[0311] En ciertas modalidades, el compuesto exhibe un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos en los siguientes ángulos de difracción (2θ): 9,4 ± 0,2, 12,8 ± 0,2, 15,4 ± 0,2, 18,2 ± 0,2, 18,7 ± 0,2, 20,2 ± 0,2, y 24,6 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de

difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 8,5 ± 0,2, 11,7 ± 0,2, 12,5 ± 0,2, 17,6 ± 0,2, 19,6 ± 0,2, 21,9 ± 0,2, y 23,5 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 8,5 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 11,7 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 12,5 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 17,6 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 19,6 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 21,9 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 23,5 ± 0,2.

[0312] En ciertas modalidades, el compuesto exhibe un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos un pico desde los siguientes ángulos de difracción (2θ): 9,4 ± 0,2, 12,8 ± 0,2, 15,4 ± 0,2, 18,2 ± 0,2, 18,7 ± 0,2, 20,2 ± 0,2, y 24,6 ± 0,2. En ciertas modalidades, el compuesto exhibe un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos dos, tres o cuatro picos desde los siguientes ángulos de difracción (2θ): 9,4 ± 0,2, 12,8 ± 0,2, 15,4 ± 0,2, 18,2 ± 0,2, 18,7 ± 0,2, 20,2 ± 0,2, y 24,6 ± 0,2. En ciertas modalidades, el compuesto exhibe un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos cinco picos desde los siguientes ángulos de difracción (2θ): 9,4 ± 0,2, 12,8 ± 0,2, 15,4 ± 0,2, 18,2 ± 0,2, 18,7 ± 0,2, 20,2 ± 0,2, y 24,6 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 8,5 ± 0,2, 11,7 ± 0,2, 12,5 ± 0,2, 17,6 ± 0,2, 19,6 ± 0,2, 21,9 ± 0,2, y 23,5 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 8,5 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 11,7 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 12,5 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 17,6 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 19,6 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 21,9 ± 0,2. En ciertas modalidades, el patrón de difracción de polvo de rayos X comprende además un pico en uno o más de los siguientes ángulos de difracción (2θ): 23,5 ± 0,2.

[0313] En ciertas modalidades, la intensidad relativa del pico en dichos ángulos de difracción (2θ) es al menos del 20 %. En ciertas modalidades, la intensidad relativa del pico en dichos ángulos de difracción (2θ) es al menos del 30 %.

[0314] En ciertas modalidades, el compuesto se caracteriza por el siguiente patrón de difracción de polvo de rayos X expresado en términos de ángulo de difracción 2θ, distancias interplanares d e intensidad relativa (expresada como un porcentaje con respecto al pico más intenso):

Ángulo [2θ]	**espaciado-d [Å]**	**Intensidad relativa (%)**
5,9	15,0	19
8,0	11,0	10
8,5	10,3	47
9,1	9,7	24
9,4	9,4	61
11,7	7,5	34
12,5	7,1	32
12,8	6,9	50
14,5	6,1	6
14,8	6,0	9
15,4	5,8	100
15,9	5,6	6
17,1	5,2	15
17,6	5,0	44
18,2	4,9	57
18,7	4,7	85
19,6	4,5	36
20,2	4,4	91
20,8	4,3	11
21,0	4,2	12
21,4	4,2	10
21,9	4,1	38
22,3	4,0	22
22,9	3,9	10
23,5	3,8	34
23,9	3,7	20
24,6	3,6	74
25,1	3,5	21
25,4	3,5	5
26,1	3,4	23
26,5	3,4	5
27,1	3,3	22
27,4	3,3	5
28,7	3,1	14
29,8	3,0	11
31,0	2,9	6

Ángulo [2θ]	**espaciado-d [Å]**	**Intensidad relativa (%)**
32,4	2,8	7

.

[0315] En ciertas modalidades, el compuesto tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente como se muestra en la Figura 17.

[0316] En ciertas modalidades, el compuesto tiene un punto de fusión inicial, determinado mediante calorimetría diferencial de barrido en el rango de aproximadamente 180 grados Celsius a aproximadamente 200 grados Celsius. En ciertas modalidades, el compuesto presenta un punto de fusión inicial, determinado mediante calorimetría diferencial de barrido de aproximadamente 192 grados Celsius. En ciertas modalidades, el compuesto presenta un punto de fusión inicial, determinado mediante calorimetría diferencial de barrido de 192 grados Celsius. En ciertas modalidades, el compuesto tiene una curva de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente igual a la que se muestra en la Figura 18.

[0317] En ciertas modalidades, el compuesto tiene una pureza superior al 98 % en peso. En ciertas modalidades, el compuesto tiene una pureza superior al 99 % en peso. En ciertas modalidades, el compuesto tiene una pureza superior al 99,5 % en peso. En ciertas modalidades, la pureza del compuesto se determina mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

[0318] La descripción anterior describe múltiples modalidades relacionadas con formas cristalinas del compuesto de la Fórmula II-5. La solicitud de patente contempla específicamente todas las combinaciones de las modalidades.

II. Aplicaciones terapéuticas

[0319] Los compuestos heterobifuncionales descritos en la presente, tales como un compuesto de la Fórmula **I**, **II** u otros compuestos de la Sección I, proporcionan beneficios terapéuticos a los pacientes que padecen cáncer. En consecuencia, un aspecto de la invención proporciona un método para tratar el cáncer. El método consiste en administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto de la Fórmula **I**, **II**, u otro compuesto en la Sección I, para tratar el cáncer. En ciertas modalidades, el compuesto es un compuesto de la Fórmula **I**. En ciertas modalidades, el compuesto particular de la Fórmula **I** es un compuesto definido por una de las modalidades descritas anteriormente.

Cáncer

[0320] En ciertas modalidades, el cáncer es cáncer de ovario, cáncer de útero, cáncer de endometrio, cáncer de cuello uterino, cáncer de próstata, cáncer testicular, cáncer de mama, cáncer de cerebro, cáncer de pulmón, cáncer bucal, cáncer de esófago, cáncer de vías respiratorias y digestivas altas, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de piel, carcinoma de glándulas sebáceas, cánceres de vías biliares y vesícula biliar, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de vejiga, cáncer de vías urinarias, cáncer de riñón, cáncer de ojo, cáncer de tiroides, linfoma o leucemia. En ciertas modalidades, el cáncer es cáncer de próstata.

[0321] En ciertas modalidades, el cáncer es cáncer epidermoide, cáncer de pulmón que incluye el cáncer broncopulmonar microcítico, cáncer broncopulmonar no microcítico, cáncer

de vulva, cáncer de tiroides, adenocarcinoma de pulmón y carcinoma epidermoide del pulmón, cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago que incluye el 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 endometrial o uterino, carcinoma de glándulas salivales, cáncer de riñón o renal, cáncer de próstata, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma de pene y cáncer de vías respiratorias y digestivas altas. En ciertas modalidades, el cáncer es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en LLA, leucemia linfocítica aguda de linaje T (LLA -T), linfoma linfoblástico de linaje T (LL-T), linfoma de linfocitos T periféricos, leucemia de linfocitos T del adulto, LLA pre-B, linfomas pre-B, linfoma de linfocitos B grandes, linfoma de Burkitt, LLA de linfocitos B, LLA con cromosoma Filadelfia positivo, LMC con cromosoma Filadelfia positivo, linfoma, leucemia, enfermedades mieloproliferativas de mieloma múltiple, linfoma de linfocitos B grandes o linfoma de linfocitos B.

[0322] En modalidades, el cáncer es un tumor sólido o leucemia. En otras modalidades, el cáncer es cáncer de colon, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma epidermoide, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, cáncer de pulmón, leucemia, cáncer de vejiga, cáncer de estómago, cáncer de cuello uterino, cáncer testicular, cáncer de piel, cáncer de recto, cáncer de tiroides, cáncer de riñón, cáncer de útero, cáncer de esófago, cáncer de hígado, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, neuroblastoma o retinoblastoma. En ciertas otras modalidades, el cáncer es cáncer broncopulmonar microcítico, cáncer broncopulmonar no microcítico, melanoma, cáncer del tejido del sistema nervioso central, cáncer cerebral, linfoma de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano, linfoma cutáneo de linfocitos T, linfoma cutáneo de linfocitos B o linfoma difuso de linfocitos B grandes. En otras modalidades, el cáncer es cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer broncopulmonar microcítico, cáncer broncopulmonar no microcítico, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer de ovario, leucemia, melanoma o cáncer del tejido del sistema nervioso central. En otras modalidades, el cáncer es cáncer de colon, cáncer broncopulmonar microcítico, cáncer broncopulmonar no microcítico, cáncer renal, cáncer de ovario, cáncer renal o melanoma.

[0323] En ciertas modalidades, el cáncer es un fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteógeno, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, tumor de Ewing, leiomiosarcoma, rabdomiosarcoma, carcinoma epidermoide, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma de vías biliares, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma o hemangioblastoma.

[0324] En ciertas modalidades, el cáncer es un neuroblastoma, meningioma, hemangiopericitoma, metástasis cerebral múltiple, glioblastoma multiforme, glioblastoma, glioma del tronco encefálico, tumor cerebral maligno de mal pronóstico, glioma maligno, astrocitoma anaplásico, oligodendroglioma anaplásico, tumor neuroendocrino, adenocarcinoma rectal, cáncer colorrectal Dukes C y D, carcinoma colorrectal irresecable,

carcinoma hepatocelular metastásico, sarcoma de Kaposi, leucemia mieloblástica aguda cariotipo, linfoma de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano, linfoma cutáneo de linfocitos T, linfoma cutáneo de linfocitos B, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma folicular de escasa malignidad, melanoma metastásico, melanoma localizado, mesotelioma maligno, síndrome de mesotelioma con derrame pleural maligno, carcinoma peritoneal, carcinoma seroso papilar, sarcoma ginecológico, sarcoma de tejidos blandos, esclerodermia, vasculitis cutánea, histiocitosis de células de Langerhans, leiomiosarcoma, fibrodysplasia ossificans progresiva, cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal, sarcoma de tejidos blandos de alto riesgo resecado, carcinoma hepatocelular irresecable, macroglobulinemia de Waidenstrom, mieloma latente, mieloma de escasa malignidad, cáncer de trompas de Falopio, cáncer de próstata independiente de andrógenos, cáncer de próstata no metastásico en estadio IV dependiente de andrógenos, cáncer de próstata insensible a las hormonas, cáncer de próstata insensible a la quimioterapia, cáncer de próstata resistente a la castración, cáncer de próstata metastásico resistente a la castración, carcinoma papilar de tiroides, carcinoma folicular de tiroides, carcinoma medular de tiroides o leiomioma.

[0325] En ciertas modalidades, el cáncer es cáncer óseo, cáncer de páncreas, cáncer de piel, cáncer de vías respiratorias o digestivas altas, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer de ovario, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, gastrointestinal (gástrico, colorrectal y duodenal), cáncer de útero, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma del endometrio, carcinoma del cuello uterino, carcinoma de la vagina, carcinoma de la vulva, enfermedad de Hodgkin, cáncer del esófago, cáncer del intestino delgado, cáncer del sistema endocrino, cáncer de tiroides, cáncer de paratiroides, cáncer de la glándula suprarrenal, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de la uretra, cáncer del pene, cáncer de próstata, cáncer testicular, leucemia crónica o aguda, leucemia mieloide crónica, linfomas linfocíticos, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o uréter, carcinoma de células renales, carcinoma de pelvis renal, linfoma no hodgkiniano, tumores del eje espinal, glioma del tronco encefálico, adenoma hipofisario, cáncer adrenocortical, cáncer de vesícula biliar, mieloma múltiple, colangiocarcinoma, fibrosarcoma, neuroblastoma, retinoblastoma o una combinación de uno o más de los cánceres anteriores.

[0326] En ciertas modalidades, el cáncer es carcinoma hepatocelular, cáncer de ovario, cáncer epitelial de ovario o cáncer de trompa de Falopio; cistadenocarcinoma seroso papilar o carcinoma seroso papilar uterino (UPSC, por sus siglas en inglés); cáncer de próstata; cáncer testicular; cáncer de vesícula biliar; hepatocolangiocarcinoma; sarcoma sinovial de tejidos blandos y óseo; rabdomiosarcoma; osteosarcoma; condrosarcoma; sarcoma de Ewing; cáncer de tiroides anaplásico; adenoma adrenocortical; cáncer de páncreas; carcinoma ductal pancreático o adenocarcinoma pancreático; cáncer gastrointestinal/de estómago (GIST, por sus siglas en inglés); linfoma; carcinoma epidermoide de vías respiratorias y digestivas altas (SCCHN, por sus siglas en inglés); cáncer de glándulas salivales; glioma o cáncer cerebral; tumores malignos de la vaina de los nervios periféricos asociados a neurofibromatosis tipo 1 (MPNST, por sus siglas en inglés); macroglobulinemia de Waldenström; o meduloblastoma.

[0327] En ciertas modalidades, el cáncer es carcinoma hepatocelular (HCC, por sus siglas en inglés), hepatoblastoma, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de ovario, cáncer epitelial de ovario, cáncer de trompa de Falopio, cistadenocarcinoma seroso papilar, carcinoma seroso

papilar uterino (UPSC), hepatocolangiocarcinoma, sarcoma sinovial de tejidos blandos y óseo, rabdomiosarcoma, osteosarcoma, cáncer de tiroides anaplásico, adenoma adrenocortical, cáncer de páncreas, carcinoma ductal pancreático, adenocarcinoma pancreático, glioma, tumores malignos de la vaina de los nervios periféricos asociados a neurofibromatosis tipo 1 (MPNST), macroglobulinemia de Waldenström; o meduloblastoma.

[0328] En ciertas modalidades, el cáncer es un tumor sólido, tal como un sarcoma, un carcinoma o un linfoma. En ciertas modalidades, el cáncer es cáncer de riñón; carcinoma hepatocelular (HCC) o hepatoblastoma, o cáncer de hígado; melanoma; cáncer de mama; carcinoma colorrectal, o cáncer colorrectal; cáncer de colon; cáncer del recto; cáncer anal; cáncer de pulmón, tal como cáncer broncopulmonar no microcítico (NSCLC, por sus siglas en inglés) o cáncer broncopulmonar microcítico (SCLC, por sus siglas en inglés); cáncer de ovario, cáncer epitelial de ovario, carcinoma de ovario o cáncer de trompa de Falopio; cistadenocarcinoma seroso papilar o carcinoma seroso papilar uterino (UPSC); cáncer de próstata; cáncer testicular; cáncer de vesícula biliar; hepatocolangiocarcinoma; sarcoma sinovial de tejidos blandos y óseo; rabdomiosarcoma; osteosarcoma; condrosarcoma; sarcoma de Ewing; cáncer de tiroides anaplásico; carcinoma adrenocortical; cáncer de páncreas; carcinoma ductal pancreático o adenocarcinoma pancreático; cáncer gastrointestinal/de estómago (GIST); linfoma; carcinoma epidermoide de vías respiratorias y digestivas altas (SCCHN); cáncer de glándulas salivales; glioma o cáncer cerebral; tumores malignos de la vaina de los nervios periféricos asociados a neurofibromatosis tipo 1 (MPNST); macroglobulinemia de Waldenström; o meduloblastoma.

[0329] En ciertas modalidades, el cáncer es carcinoma de células renales, carcinoma hepatocelular (HCC), hepatoblastoma, carcinoma colorrectal, cáncer colorrectal, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer anal, cáncer de ovario, cáncer epitelial de ovario, carcinoma de ovario, cáncer de trompa de Falopio, cistadenocarcinoma seroso papilar, carcinoma seroso papilar uterino (UPSC), hepatocolangiocarcinoma, sarcoma sinovial de tejidos blandos y óseo, rabdomiosarcoma, osteosarcoma, condrosarcoma, cáncer de tiroides anaplásico, carcinoma adrenocortical, cáncer de páncreas, carcinoma ductal pancreático, adenocarcinoma pancreático, glioma, cáncer cerebral, tumores malignos de la vaina de los nervios periféricos asociados a neurofibromatosis tipo 1 (MPNST), macroglobulinemia de Waldenström; o meduloblastoma.

[0330] En ciertas modalidades, el cáncer es carcinoma hepatocelular (HCC, por sus siglas en inglés), hepatoblastoma, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de ovario, cáncer epitelial de ovario, carcinoma de ovario, cáncer de trompa de Falopio, cistadenocarcinoma seroso papilar, carcinoma seroso papilar uterino (UPSC), hepatocolangiocarcinoma, sarcoma sinovial de tejidos blandos y óseo, rabdomiosarcoma, osteosarcoma, cáncer de tiroides anaplásico, carcinoma adrenocortical, cáncer de páncreas, carcinoma ductal pancreático, adenocarcinoma pancreático, glioma, tumores malignos de la vaina de los nervios periféricos asociados a neurofibromatosis tipo 1 (MPNST), macroglobulinemia de Waldenström; o meduloblastoma.

[0331] En ciertas modalidades, el cáncer es carcinoma hepatocelular (HCC). En algunas modalidades, el cáncer es hepatoblastoma. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de colon. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer rectal. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de ovario o carcinoma de ovario. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer

epitelial de ovario. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de trompa de Falopio. En algunas modalidades, el cáncer es cistadenocarcinoma seroso papilar. En algunas modalidades, el cáncer es carcinoma seroso papilar uterino (UPSC). En algunas modalidades, el cáncer es hepatocolangiocarcinoma. En algunas modalidades, el cáncer es sarcoma sinovial de tejidos blandos y óseos. En algunas modalidades, el cáncer es rabdomiosarcoma. En algunas modalidades, el cáncer es osteosarcoma. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de tiroides anaplásico. En algunas modalidades, el cáncer es carcinoma adrenocortical. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer pancreático o carcinoma ductal pancreático. En algunas modalidades, el cáncer es adenocarcinoma pancreático. En algunas modalidades, el cáncer es glioma. En algunas modalidades, el cáncer son tumores malignos de la vaina de los nervios periféricos (MPNST). En algunas modalidades, el cáncer es MPNST asociado a neurofibromatosis tipo 1. En algunas modalidades, el cáncer es macroglobulinemia de Waldenström. En algunas modalidades, el cáncer es meduloblastoma.

Provocar la muerte de las células cancerosas

[0332] Otro aspecto de la invención proporciona un método para provocar la muerte de una célula cancerosa. El método comprende poner en contacto una célula cancerosa con una cantidad eficaz de un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto de la Fórmula **I** o **II**, u otros compuestos en la Sección I, para provocar la muerte de la célula cancerosa. En ciertas modalidades, el compuesto particular de la Fórmula **I** o **II** es un compuesto definido por una de las modalidades descritas anteriormente.

[0333] En ciertas modalidades, la célula cancerosa se selecciona de cáncer de ovario, cáncer de útero, cáncer de endometrio, cáncer de cuello uterino, cáncer de próstata, cáncer testicular, cáncer de mama, cáncer de cerebro, cáncer de pulmón, cáncer bucal, cáncer de esófago, cáncer de vías respiratorias y digestivas altas, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de piel, carcinoma de glándulas sebáceas, cánceres de vías biliares y vesícula biliar, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de vejiga, cáncer de vías urinarias, cáncer de riñón, cáncer de ojo, cáncer de tiroides, linfoma o leucemia. En ciertas modalidades, la célula cancerosa es uno o más de los cánceres enumerados en la sección anterior titulada "Cáncer". En ciertas modalidades, la célula cancerosa es una célula de cáncer de próstata.

Ensayos ilustrativos de actividad biológica

[0334] Los compuestos descritos en la presente pueden evaluarse para determinar su actividad biológica mediante los ensayos descritos en la presente.

A. Ensayo de afinidad de unión al receptor de andrógenos

[0335] Los compuestos pueden someterse a pruebas para determinar su capacidad de unirse al receptor de andrógenos usando el siguiente procedimiento. Fracciones del citosol celular (106 células/punto) se incuban durante 24 h a 4 °C con 1 nM de [^{3}H]metiltrienolona en ausencia o presencia del compuesto de prueba en un amortiguador que contiene 25 mM de Hepes-Tris (pH 7,4), 1 mM de EDTA, 10 mM de Na_2MoO_4, 2 mM de DTT, 5 µM de acetónido de triamcinolona y 10 % de glicerol. La unión inespecífica puede determinarse en presencia de 1 µM de testosterona. Tras la incubación, las muestras se filtran rápidamente al vacío a través de filtros de fibra de vidrio (GF/B, Packard) previamente impregnados con PEI al 0,3 % y se enjuagan varias veces con 50 mM de Tris-HCl helado usando un recolector de células de

96 muestras (Unifilter, Packard). Los filtros se secan y luego se mide su radiactividad en un contador de centelleo (Topcount, Packard) usando un cóctel de centelleo (Microscint 0, Packard). Los resultados se expresan como un porcentaje de inhibición de la unión específica del radioligando de control. El compuesto de referencia estándar es la testosterona, que se prueba en cada experimento en varias concentraciones para obtener una curva de competición a partir de la cual se calcula su IC_{50}.

B. Ensayo de afinidad de unión a BRD4-BD1

[0336] Se puede probar la capacidad de los compuestos para unirse a BRD4-BD1 usando el siguiente procedimiento experimental. Los compuestos pueden analizarse mediante un ensayo bromoKdELECT. Las cepas del fago T7 que presentan bromodominios se cultivan en paralelo en bloques de 24 pocillos en una cepa huésped *de E. coli* derivada de la cepa BL21. Las bacterias *E. coli* se cultivan hasta la fase logarítmica y se infectan con el fago T7 procedente de una reserva congelada (multiplicidad de infección = 0,4) y se incuban con agitación a 32 °C hasta su lisis (90-150 minutos). Los lisados se centrifugan (5000 x g) y se filtran (0,2 µm) para eliminar los restos celulares. Las microesferas magnéticas recubiertas de estreptavidina se tratan con ligandos de moléculas pequeñas biotiniladas o péptidos acetilados durante 30 minutos a temperatura ambiente para generar resinas de afinidad para ensayos de bromodominios. Las microesferas unidas al ligando se bloquean con un exceso de biotina y se lavan con un amortiguador de bloqueo (SeaBlock (Pierce), 1 % BSA, 0,05 % Tween 20, 1 mM DTT) para eliminar el ligando no unido y reducir la unión inespecífica de fagos. Las reacciones de unión se preparan combinando bromodominios, microesferas de afinidad ligadas y compuestos de prueba en un amortiguador de unión 1x (17 % SeaBlock, 0,33 x PBS, 0,04 % Tween 20, 0,02 % BSA, 0,004 % azida sódica, 7,4 mM DTT). Los compuestos de prueba se preparan como soluciones madre 1000X en DMSO al 100 %. Los valores de Kd se determinan usando una serie de diluciones de compuestos de 11 puntos con un factor de dilución de 3 con un punto de control con DMSO. Todos los compuestos para las mediciones de Kd se distribuyen mediante transferencia acústica (dispensación sin contacto) en DMSO al 100 %. A continuación, los compuestos se diluyen directamente en los ensayos de manera que la concentración final de DMSO sea del 0,09 %. Todas las reacciones pueden realizarse en placas de polipropileno de 384 pocillos. Cada una tiene un volumen final de 0,02 ml. Las placas de ensayo se incuban a temperatura ambiente con agitación durante 1 hora y las perlas de afinidad se lavan con amortiguador de lavado (1x PBS, 0,05 % Tween 20). A continuación, las microesferas se resuspenden en amortiguador de elución (1x PBS, 0,05 % Tween 20, 2 µM de ligando de afinidad no biotinilado) y se incuban a temperatura ambiente con agitación durante 30 minutos. La concentración de bromodominios en los eluidos se puede medir mediante qPCR.

C. Ensayo de afinidad de unión a BRD4-BD2

[0337] Se puede probar la capacidad de los compuestos para unirse a BRD4-BD2 usando el siguiente procedimiento experimental. Los compuestos pueden analizarse mediante un ensayo bromoKdELECT. Las cepas del fago T7 que presentan bromodominios se cultivan en paralelo en bloques de 24 pocillos en una cepa huésped *de E. coli* derivada de la cepa BL21. Las bacterias *E. coli* se cultivan hasta la fase logarítmica y se infectan con el fago T7 procedente de una reserva congelada (multiplicidad de infección = 0,4) y se incuban con

agitación a 32 °C hasta su lisis (90-150 minutos). Los lisados se centrifugan (5000 x g) y se filtran (0,2 µm) para eliminar los restos celulares. Las microesferas magnéticas recubiertas de estreptavidina se tratan con ligandos de moléculas pequeñas biotiniladas o péptidos acetilados durante 30 minutos a temperatura ambiente para generar resinas de afinidad para ensayos de bromodominios. Las microesferas unidas al ligando se bloquean con un exceso de biotina y se lavan con un amortiguador de bloqueo (SeaBlock (Pierce), 1 % BSA, 0,05 % Tween 20, 1 mM DTT) para eliminar el ligando no unido y reducir la unión inespecífica de fagos. Las reacciones de unión se preparan combinando bromodominios, microesferas de afinidad ligadas y compuestos de prueba en un amortiguador de unión 1x (17 % SeaBlock, 0,33 x PBS, 0,04 % Tween 20, 0,02 % BSA, 0,004 % azida sódica, 7,4 mM DTT). Los compuestos de prueba se preparan como soluciones madre 1000X en DMSO al 100 %. Los valores de Kd se determinaron usando una serie de diluciones de compuestos de 11 puntos con un factor de dilución de 3 con un punto de control con DMSO. Todos los compuestos para las mediciones de Kd se distribuyen mediante transferencia acústica (dispensación sin contacto) en DMSO al 100 %. A continuación, los compuestos se diluyen directamente en los ensayos de manera que la concentración final de DMSO sea del 0,09 %. Las reacciones pueden realizarse en placas de polipropileno de 384 pocillos. Cada una tiene un volumen final de 0,02 ml. Las placas de ensayo se incuban a temperatura ambiente con agitación durante 1 hora y las perlas de afinidad se lavan con amortiguador de lavado (1x PBS, 0,05 % Tween 20). A continuación, las microesferas se resuspenden en amortiguador de elución (1x PBS, 0,05 % Tween 20, 2 µM de ligando de afinidad no biotinilado) y se incuban a temperatura ambiente con agitación durante 30 minutos. La concentración de bromodominios en los eluidos se puede medir mediante qPCR.

Terapias de combinación

[0338] Los compuestos útiles en los métodos de la invención pueden usarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales útiles para el tratamiento de cualquier enfermedad contemplada en la presente. Estos agentes terapéuticos adicionales pueden comprender compuestos disponibles comercialmente o que pueden sintetizarse para expertos en la técnica. Se sabe que estos agentes terapéuticos adicionales tratan, previenen o reducen los síntomas de una enfermedad o trastorno contemplado en la presente.

[0339] En consecuencia, en ciertas modalidades, el método comprende además administrar al sujeto un agente terapéutico adicional que trata la enfermedad contemplada en la presente.

[0340] En ciertas modalidades, la administración del compuesto de la invención al sujeto permite administrar una dosis menor del agente terapéutico adicional en comparación con la dosis del agente terapéutico adicional solo que se requiere para lograr resultados similares en el tratamiento de la enfermedad contemplada en la presente. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el compuesto de la invención mejora la actividad terapéutica del compuesto terapéutico adicional, lo que permite utilizar una dosis menor del compuesto terapéutico adicional para lograr el mismo efecto.

[0341] Se puede calcular un efecto sinérgico, por ejemplo, usando métodos adecuados tales como, por ejemplo, la ecuación Sigmoid-E_{max} (Holford y Scheiner, 1981, Clin. Pharmacokinet. 6:429-453), la ecuación de aditividad de Loewe (Loewe y Muischnek, 1926,

Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114:313-326) y la ecuación del efecto mediano (Chou & Talalay, 1984, Adv. Enzyme Regul. 22:27-55). Cada una de las ecuaciones mencionadas anteriormente puede aplicarse a datos experimentales para generar un gráfico correspondiente que ayude a evaluar los efectos de la combinación de fármacos. Las gráficas correspondientes asociadas a las ecuaciones mencionadas anteriormente son la curva de concentración-efecto, la curva isobolograma y la curva del índice de combinación, respectivamente.

[0342] En ciertas modalidades, el compuesto de la invención y el agente terapéutico se administran conjuntamente al sujeto. En otras modalidades, el compuesto de la invención y el agente terapéutico se formulan y administran conjuntamente al sujeto.

[0343] En ciertas modalidades, el compuesto se administra en combinación con un segundo agente terapéutico con actividad contra el cáncer. En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es mitomicina, tretinoína, ribomustina, gemcitabina, vincristina, etopósido, cladribina, mitobronitol, metotrexato, doxorrubicina, carbocuona, pentostatina, nitracrina, zinostatina, cetrorelix, letrozol, raltitrexed, daunorrubicina, fadrozol, fotemustina, timalfasina, sobuzoxano, nedaplatino, citarabina, bicalutamida, vinorelbina, vesnarinona, aminoglutetimida, amsacrina, proglumida, acetato de eliptinio, ketanserina, doxifluridina, etretinato, isotretinoína, estreptozocina, nimustina, vindesina, flutamida, drogenil, butocina, carmofur, razoxano, sizofilán, carboplatino, mitolactol, tegafur, ifosfamida, prednimustina, picibanil, levamisol, tenipósido, improsulfán, enocitabina, lisurida, oximetolona, tamoxifeno, progesterona, mepitiostano, epitiostanol, formestano, interferón alfa, interferón 2 alfa, interferón beta, interferón gamma, factor estimulante de colonias 1, factor estimulante de colonias 2, denileucina diftitox, interleucina 2 y factor liberador de hormona luteinizante.

[0344] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de mTor, que inhibe la proliferación celular, la angiogénesis y la captación de glucosa. Los inhibidores de mTor aprobados que resultan útiles en la presente invención incluyen everolimus (Afinitor®, Novartis); temsirolimus (Torisel®, Pfizer); y sirolimus (Rapamune®, Pfizer).

[0345] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de la poli(ADP-ribosa) polimerasa (PARP). Los inhibidores de PARP aprobados que resultan útiles en la presente invención incluyen olaparib (Lynparza®, AstraZeneca); rucaparib (Rubraca®, Clovis Oncology); y niraparib (Zejula®, Tesaro). Otros inhibidores de PARP que se están estudiando y que podrían usarse en la presente invención incluyen talazoparib (MDV3800/BMN 673/LT00673, Medivation/Pfizer/Biomarin); veliparib (ABT-888, AbbVie); y BGB-290 (BeiGene, Inc.).

[0346] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K). Los inhibidores de PI3K aprobados que resultan útiles en la presente invención incluyen idelalisib (Zydelig®, Gilead). Otros inhibidores de PI3K que se están estudiando y que podrían usarse en la presente invención incluyen alpelisib (BYL719, Novartis); taselisib (GDC-0032, Genentech/Roche); pictilisib (GDC-0941, Genentech/Roche); copanlisib (BAY806946, Bayer); duvelisib (anteriormente IPI-145, Infinity Pharmaceuticals); PQR309 (Piqur Therapeutics, Suiza); y TGR1202 (anteriormente RP5230, TG Therapeutics).

[0347] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor del proteasoma. Los inhibidores del proteasoma aprobados que resultan útiles en la presente invención incluyen bortezomib (Velcade®, Takeda); carfilzomib (Kyprolis®, Amgen); e

ixazomib (Ninlaro®, Takeda).

[0348] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de la histona desacetilasa (HDAC). Los inhibidores de HDAC aprobados que resultan útiles en la presente invención incluyen vorinostat (Zolinza®, Merck); romidepsina (Istodax®, Celgene); panobinostat (Farydak®, Novartis); y belinostat (Beleodaq®, Spectrum Pharmaceuticals). Otros inhibidores de HDAC que se están estudiando y que podrían usarse en la presente invención incluyen entinostat (SNDX-275, Syndax Pharmaceuticals) (NCT00866333); y chidamide (Epidaza®, HBI-8000, Chipscreen Biosciences, China).

[0349] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de CDK, tal como por ejemplo un inhibidor de CDK 4/6. Los inhibidores de CDK 4/6 aprobados que resultan útiles en la presente invención incluyen palbociclib (Ibrance®, Pfizer) y ribociclib (Kisqali®, Novartis). Otros inhibidores de CDK 4/6 que se están estudiando y que podrían usarse en la presente invención incluyen abemaciclib (Ly2835219, Eli Lilly) y trilaciclib (G1T28, G1 Therapeutics).

[0350] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de la indolamina (2,3)-dioxigenasa (IDO). Los inhibidores de IDO que se están estudiando y que podrían usarse en la presente invención se incluyen epacadostat (INCB024360, Incyte); indoximod (NLG-8189, NewLink Genetics Corporation); capmanitib (INC280, Novartis); GDC-0919 (Genentech/Roche); PF-06840003 (Pfizer); BMS:F001287 (Bristol-Myers Squibb); Phy906/KD108 (Phytoceutica); y una enzima que degrada la quinurenina (Kynase, Kyn Therapeutics).

[0351] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un antagonista de un factor de crecimiento, tal como un antagonista del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), o del factor de crecimiento epidérmico (EGF) o su receptor (EGFR). Los antagonistas del PDGF aprobados que pueden usarse en la presente invención incluye olaratumab (Lartruvo®; Eli Lilly). Los antagonistas del EGFR aprobados que pueden usarse en la presente invención incluyen cetuximab (Erbitux®, Eli Lilly); necitumumab (Portrazza®, Eli Lilly); panitumumab (Vectibix®, Amgen); y osimertinib (dirigido al EGFR activado, Tagrisso®, AstraZeneca).

[0352] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de la aromatasa. Los inhibidores de la aromatasa aprobados que pueden usarse en la presente invención incluyen el exemestano (Aromasin®, Pfizer), el anastazol (Arimidex®, AstraZeneca) y el letrozol (Femara®, Novartis).

[0353] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un antagonista de la vía hedgehog. Los inhibidores de la vía hedgehog aprobados que pueden usarse en la presente invención incluyen sonidegib (Odomzo®, Sun Pharmaceuticals) y vismodegib (Erivedge®, Genentech), ambos para el tratamiento del carcinoma de células basales.

[0354] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de ácido fólico. Entre los inhibidores del ácido fólico aprobados que resultan útiles en la presente invención se incluye el pemetrexed (Alimta®, Eli Lilly).

[0355] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor del receptor de quimiocinas CC tipo 4 (CCR4). Los inhibidores de CCR4 que se están estudiando y que podrían ser útiles en la presente invención se incluye mogamulizumab (Poteligeo®, Kyowa

Hakko Kirin, Japón).

[0356] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de la isocitrato deshidrogenasa (IDH). Los inhibidores de IDH que se están estudiando y que podrían usarse en la presente invención incluyen AG120 (Celgene; NCT02677922); AG221 (Celgene, NCT02677922; NCT02577406); BAY1436032 (Bayer, NCT02746081); IDH305 (Novartis, NCT02987010).

[0357] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de la arginasa. Los inhibidores de la arginasa que se están estudiando y que podrían usarse en la presente invención incluyen AEB1102 (arginasa recombinante pegilada, Aeglea Biotherapeutics), que se está estudiando en ensayos clínicos de fase 1 para la leucemia mieloide aguda y el síndrome mielodisplásico (NCT02732184) y tumores sólidos (NCT02561234); y CB-1158 (Calithera Biosciences).

[0358] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de la glutaminasa. Los inhibidores de la glutaminasa que se están estudiando y que podrían usarse en la presente invención incluye el CB-839 (Calithera Biosciences).

[0359] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un anticuerpo que se une a los antígenos tumorales, es decir, a las proteínas expresadas en la superficie celular de las células tumorales. Los anticuerpos aprobados que se unen a antígenos tumorales que pueden usarse en la presente invención incluyen rituximab (Rituxan®, Genentech/BiogenIdec); ofatumumab (anti-CD20, Arzerra®, GlaxoSmithKline); obinutuzumab (anti-CD20, Gazyva®, Genentech), ibritumomab (anti-CD20 e itrio-90, Zevalin®, Spectrum Pharmaceuticals); daratumumab (anti-CD38, Darzalex®, Janssen Biotech), dinutuximab (anti-glicolípido GD2, Unituxin®, United Therapeutics); trastuzumab (anti-HER2, Herceptin®, Genentech); ado-trastuzumab emtansina (anti-HER2, fusionado a emtansina, Kadcyla®, Genentech); y pertuzumab (anti-HER2, Perjeta®, Genentech); y brentuximab vedotin (conjugado fármaco-anti-CD30, Adcetris®, Seattle Genetics).

[0360] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de topoisomerasa. Los inhibidores de la topoisomerasa aprobados que resultan útiles en la presente invención incluyen irinotecán (Onivyde®, Merrimack Pharmaceuticals) y topotecán (Hycamtin®, GlaxoSmithKline). Los inhibidores de la topoisomerasa que se están estudiando y que podrían usarse en la presente invención incluye la pixantrona (Pixuvri®, CTI Biopharma).

[0361] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de nucleósidos u otro tratamiento que interfiere con la síntesis normal de ADN, la síntesis de proteínas, la replicación celular o que de otro modo inhibe las células de rápida proliferación. Dichos inhibidores de nucleósidos u otros fármacos incluyen trabectedina (agente alquilante de guanidina, Yondelis®, Janssen Oncology), mecloretamina (agente alquilante, Valchlor®, Aktelion Pharmaceuticals); vincristina (Oncovin®, Eli Lilly; Vincasar®, Teva Pharmaceuticals; Marqibo®, Talon Therapeutics); temozolomida (profármaco del agente alquilante 5-(3-metiltriazen-1-il)-imidazol-4-carboxamida (MTIC) Temodar®, Merck); inyección de citarabina (ara-C, análogo de citidina antimetabólico, Pfizer); lomustina (agente alquilante, CeeNU®, Bristol-Myers Squibb; Gleostine®, NextSource Biotechnology); azacitidina (análogo de nucleósido de pirimidina de citidina, Vidaza®, Celgene); mepesuccinato de omacetaxina (éster de cefalotaxina) (inhibidor de la síntesis de proteínas, Synribo®; Teva Pharmaceuticals);

asparaginasa Erwinia chrysanthemi (enzima para el agotamiento de asparagina, Elspar®, Lundbeck; Erwinaze®, EUSA Pharma); mesilato de eribulina (inhibidor de microtúbulos, antimitótico basado en tubulina, Halaven®, Eisai); cabazitaxel (inhibidor de microtúbulos, antimitótico basado en tubulina, Jevtana®, Sanofi-Aventis); capacetrina (inhibidor de la timidilato sintasa, Xeloda®, Genentech); bendamustina (derivado bifuncional de mecloretamina, que se cree que forma enlaces cruzados entre cadenas de ADN, Treanda®, Cephalon/Teva); ixabepilona (análogo semisintético de epotilona B, inhibidor de microtúbulos, antimitótico basado en tubulina, Ixempra®, Bristol-Myers Squibb); nelarabina (profármaco de análogo de desoxiguanosina, inhibidor metabólico de nucleósidos, Arranon®, Novartis); clorafabina (profármaco de inhibidor de la ribonucleótido reductasa, inhibidor competitivo de la desoxicitidina, Clolar®, Sanofi-Aventis); y trifluridina y tipiracilo (análogo de nucleósido basado en timidina e inhibidor de la timidina fosforilasa, Lonsurf®, Taiho Oncology).

[0362] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un fármaco a base de platino, también conocido como platinos. Los platinos provocan la reticulación del ADN, de manera que inhiben la reparación del ADN y/o la síntesis del ADN, principalmente en células de rápida reproducción, tales como las células cancerosas. Entre los tratamientos terapéuticos aprobados a base de platino que pueden usarse en la presente invención se incluyen el cisplatino (Platinol®, Bristol-Myers Squibb); el carboplatino (Paraplatin®, Bristol-Myers Squibb; también Teva; Pfizer); el oxaliplatino (Eloxitin®, Sanofi-Aventis); y el nedaplatino (Aqupla®, Shionogi). Otros fármacos basados en platino que han sido sometidos a ensayos clínicos y que pueden usarse en la presente invención incluyen el picoplatino (Poniard Pharmaceuticals) y el satraplatino (JM-216, Agennix).

[0363] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un compuesto de taxano, que provoca la alteración de los microtúbulos, que son esenciales para la división celular. Los compuestos de taxano aprobados que pueden usarse en la presente invención incluyen el paclitaxel (Taxol®, Bristol-Myers Squibb), el docetaxel (Taxotere®, Sanofi-Aventis; Docefrez®, Sun Pharmaceutical), el paclitaxel unido a albúmina (Abraxane®; Abraxis/Celgene) y el cabazitaxel (Jevtana®, Sanofi-Aventis). Otros compuestos de taxano que han sido sometidos a pruebas clínicas y que pueden usarse en la presente invención incluyen SID530 (SK Chemicals, Co.) (NCT00931008).

[0364] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de proteínas antiapoptóticas, tal como la BCL-2. Los fármacos antiapoptóticos aprobados que pueden usarse en la presente invención incluyen venetoclax (Venclexta®, AbbVie/Genentech) y blinatumomab (Blincyto®, Amgen). Otros agentes terapéuticos dirigidos a las proteínas apoptóticas que han sido sometidos a ensayos clínicos y que pueden usarse en la presente invención incluyen navitoclax (ABT-263, Abbott), un inhibidor de BCL-2 (NCT02079740).

[0365] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un modulador selectivo del receptor de estrógenos (SERM), que interfiere con la síntesis o la actividad de los estrógenos. Los SERM aprobados que resultan útiles en la presente invención incluye el raloxifeno (Evista®, Eli Lilly).

[0366] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de la interacción entre las dos proteínas supresoras primarias de p53, MDMX y MDM2. Los inhibidores de las proteínas supresoras de p53 que se están estudiando y que podrían usarse

en la presente invención incluye ALRN-6924 (Aileron), un péptido estabilizado que se une con igual potencia a MDMX y MDM2 e interrumpe la interacción de p53 con esta proteína. Actualmente, ALRN-6924 se está evaluando en ensayos clínicos para el tratamiento de la LMA, el síndrome mielodisplásico avanzado (SMD) y el linfoma de linfocitos T periféricos (LCTP) (NCT02909972; NCT02264613).

[0367] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor del factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta o TGFβ). Los inhibidores de las proteínas TGF-beta que se están estudiando y que podrían usarse en la presente invención se incluye NIS793 (Novartis), un anticuerpo anti-TGF-beta que se está probando clínicamente para el tratamiento de diversos tipos de cáncer, incluidos el de mama, pulmón, hepatocelular, colorrectal, pancreático, de próstata y renal (NCT 02947165). En algunas formulaciones, el inhibidor de las proteínas TGF-beta es fresolimumab (GC1008; Sanofi-Genzyme), que se está estudiando para el melanoma (NCT00923169); el carcinoma de células renales (NCT00356460); y el cáncer broncopulmonar no microcítico (NCT02581787). Además, en algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es una trampa de TGF-beta, tal como se describe en Connolly et al. (2012) Int'l J. Biological Sciences 8:964-978. Un compuesto terapéutico que actualmente se encuentra en ensayos clínicos para el tratamiento de tumores sólidos es M7824 (Merck KgaA—anteriormente MSB0011459X), que es un compuesto biespecífico, trampa anti-PD-L1/TGFβ (NCT02699515); y (NCT02517398). M7824 está compuesto por un anticuerpo IgG1 totalmente humano contra PD-L1 fusionado al dominio extracelular del receptor II de TGF-beta humano, que funciona como una "trampa" para TGFβ.

[0368] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es una vacuna contra el cáncer. En algunas modalidades, la vacuna contra el cáncer se selecciona entre sipuleucel-T (Provenge®, Dendreon/Valeant Pharmaceuticals), que ha sido aprobada para el tratamiento del cáncer de próstata metastásico resistente a la castración (resistente a hormonas) asintomático o con síntomas mínimos; y talimogén laherparepvec (Imlygic®, BioVex/Amgen, anteriormente conocida como T-VEC), una terapia viral oncolítica genéticamente modificada aprobada para el tratamiento de lesiones cutáneas, subcutáneas y ganglionares irresecables en el melanoma. En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional se selecciona de una terapia viral oncolítica tal como pexastimogén devacirepvec (PexaVec/JX-594, SillaJen/anteriormente Jennerex Biotherapeutics), un virus vaccinia deficiente en timidina quinasa (TK) modificado para expresar GM-CSF, para carcinoma hepatocelular (NCT02562755) y melanoma (NCT00429312); pelareorep (Reolysin®, Oncolytics Biotech), una variante del virus huérfano respiratorio entérico (reovirus) que no se replica en células que no están activadas por RAS, en numerosos cánceres, incluido el cáncer colorrectal (NCT01622543); cáncer de próstata (NCT01619813); cáncer epidermoide de vías respiratorias y digestivas altas (NCT01166542); adenocarcinoma pancreático (NCT00998322); y cáncer broncopulmonar no microcítico (NSCLC) (NCT 00861627); enadenotucirev (NG-348, PsiOxus, anteriormente conocido como ColoAd1), un adenovirus modificado para expresar un CD80 de longitud completa y un fragmento de anticuerpo específico para la proteína CD3 del receptor de linfocitos T, en cáncer de ovario (NCT02028117); tumores epiteliales metastásicos o avanzados tal como en cáncer colorrectal, cáncer de vejiga, carcinoma epidermoide de vías respiratorias y digestivas altas y cáncer de glándulas salivales (NCT02636036); ONCOS-102

(Targovax/anteriormente Oncos), un adenovirus modificado para expresar GM-CSF, en melanoma (NCT03003676); y enfermedad peritoneal, cáncer colorrectal o cáncer de ovario (NCT02963831); GL-ONC1 (GLV-1h68/GLV-1h153, Genelux GmbH), virus vaccinia modificado para expresar beta-galactosidasa (beta-gal)/beta-glucuronidasa o simportador beta-gal/humano de yoduro de sodio (hNIS), respectivamente, se estudiaron en carcinomatosis peritoneal (NCT01443260); cáncer de trompas de Falopio, cáncer de ovario (NCT 02759588); o CG0070 (Cold Genesys), un adenovirus modificado para expresar GM-CSF, en cáncer de vejiga (NCT02365818).

[0369] En ciertas modalidades, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de puntos de control inmunitarios seleccionado de un antagonista de PD-1, un antagonista de PD-L1 o un antagonista de CTLA-4. En algunas modalidades, un compuesto descrito en la presente o una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra en combinación con nivolumab (anticuerpo anti-PD-1, Opdivo®, Bristol-Myers Squibb); pembrolizumab (anticuerpo anti-PD-1, Keytruda®, Merck); ipilimumab (anticuerpo anti-CTLA-4, Yervoy®, Bristol-Myers Squibb); durvalumab (anticuerpo anti-PD-L1, Imfinzi®, AstraZeneca); o atezolizumab (anticuerpo anti-PD-L1, Tecentriq®, Genentech). Otros inhibidores de puntos de control inmunitarios adecuados para su uso en la presente invención incluyen REGN2810 (Regeneron), un anticuerpo anti-PD-1 probado en pacientes con carcinoma de células basales (NCT03132636); NSCLC (NCT03088540); carcinoma epidermoide cutáneo (NCT02760498); linfoma (NCT02651662); y melanoma (NCT03002376); pidilizumab (CureTech), también conocido como CT-011, un anticuerpo que se une a PD-1, en ensayos clínicos para linfoma difuso de linfocitos B grandes y mieloma múltiple; avelumab (Bavencio®, Pfizer/Merck KGaA), también conocido como MSB0010718C), un anticuerpo anti-PD-L1 IgG1 totalmente humano, en ensayos clínicos para cáncer broncopulmonar no microcítico, carcinoma de células de Merkel, mesotelioma, tumores sólidos, cáncer renal, cáncer de ovario, cáncer de vejiga, cáncer de vías respiratorias y digestivas altas; y PDR001 (Novartis), un anticuerpo inhibidor que se une a PD-1, en ensayos clínicos para cáncer broncopulmonar no microcítico, melanoma, cáncer de mama triple negativo y tumores sólidos avanzados o metastásicos. Tremelimumab (CP-675,206; Astrazeneca) es un anticuerpo monoclonal totalmente humano contra CTLA-4 que se ha estudiado en ensayos clínicos para diversas indicaciones, entre ellas: mesotelioma, cáncer colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de mama, cáncer de pulmón y cáncer broncopulmonar no microcítico, adenocarcinoma ductal pancreático, cáncer de páncreas, cáncer de células germinales, carcinoma epidermoide de vías respiratorias y digestivas altas, carcinoma hepatocelular, cáncer de próstata, cáncer de endometrio, cáncer metastásico en el hígado, cáncer de hígado, linfoma de linfocitos B grandes, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de tiroides anaplásico metastásico, cáncer urotelial, cáncer de trompas de Falopio, mieloma múltiple, cáncer de vejiga, sarcoma de tejidos blandos y melanoma. AGEN-1884 (Agenus) es un anticuerpo anti-CTLA4 que se está estudiando en ensayos clínicos de fase 1 para tumores sólidos avanzados (NCT02694822).

[0370] Otro aspecto de la invención proporciona el uso de un compuesto descrito en la presente (tal como un compuesto de la Fórmula **I**, Fórmula **II** u otros compuestos de la Sección I) en la fabricación de un medicamento. En ciertas modalidades, el medicamento se utiliza para tratar una enfermedad descrita en la presente, tal como el cáncer.

[0371] Otro aspecto de la invención proporciona el uso de un compuesto descrito en la presente (tal como un compuesto de la Fórmula **I**, Fórmula **II** u otros compuestos de la Sección I) para el tratamiento de una enfermedad médica, como una enfermedad descrita en la presente (*por ejemplo*, cáncer).

[0372] Otro aspecto de la invención proporciona un compuesto descrito en la presente (tal como un compuesto de la Fórmula **I**, Fórmula **II** u otros compuestos de la Sección I) para su uso en el tratamiento de un trastorno médico, tal como un trastorno médico descrito en la presente, tal como el cáncer.

Evaluación de la inhibición del crecimiento celular de células HEK293 y células HeLa

[0373] Los compuestos pueden evaluarse para determinar su capacidad de inhibir la proliferación de células HEK293 o células HeLa de acuerdo con el siguiente procedimiento. Las células HEK293 y HeLa se cultivan en medio DMEM suplementado con 10 % de suero fetal bovino y 1 % de Penn/Strep. Las células se siembran en placas blancas de 384 pocillos a una densidad de 500 células por pocillo en 25 µl de medio completo. Tras la siembra, las placas se centrifugan a 300 × g durante tres minutos y se cultivan a 37 °C con un 5 % de CO_2en una incubadora de cultivo de tejidos humidificada. Después de 24 horas, los compuestos se titulan en 100 % de DMSO y se diluyen en medio de cultivo celular completo. Se añade una alícuota de 25 µl de la mezcla de compuesto/medio a las células para alcanzar un volumen total de 50 µl en el pocillo. Se usa DMSO solo como control negativo. A continuación, las placas se centrifugan a 300 × g durante tres minutos y se almacenan a 37 °C con un 5 % de CO_2 durante tres días. En el día 0 y el día 3 del tratamiento con el compuesto, la viabilidad celular se cuantifica con el reactivo CellTiter-Glo 2,0 (Promega).Después de equilibrar las microplacas a temperatura ambiente durante 30minutos, se dispensan25 µL del reactivo CellTiter-Glo 2,0 en cada pocillo para alcanzar un volumen total de 75 µL. Las placas se mezclan en un agitador durante 2 minutos a 500 rpm, seguido de una incubación de 10 minutos a temperatura ambiente. Tras un giro rápido, las lecturas de luminiscencia se miden con un lector de placas EnVision. Los datos se normalizan con respecto a las lecturas del día 0 y del día 3 tratadas con DMSO. Se aplica un ajuste de curva de regresión no lineal de cuatro parámetros a los datos de dosis-respuesta en el software de análisis de datos GraphPad Prism para determinar la concentración inhibitoria de crecimiento medio máximo (GI_{50}) para cada compuesto.

III. Composiciones farmacéuticas y consideraciones sobre la dosificación

[0374] Como se indicó anteriormente, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de los compuestos descritos anteriormente, formulados junto con uno o más portadores (aditivos) y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse especialmente para su administración en forma sólida o líquida, incluyendo aquellas adaptadas para lo siguiente: (1) administración oral, por ejemplo, soluciones orales (soluciones acuosas o no acuosas o suspensiones), comprimidos, *por ejemplo*, aquellos destinados a la absorción bucal, sublingual y sistémica, inyecciones rápidas, polvos, gránulos, pastas para aplicación en la lengua; (2) administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril, o una formulación de liberación sostenida; (3) aplicación tópica, por

ejemplo, como una crema, ungüento o un parche o aerosol de liberación controlada aplicado a la piel; (4) intravaginal o intrarrectal, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma; (5) sublingual; (6) ocular; (7) transdérmica; o (8) nasal. En ciertas modalidades, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en la presente (por ejemplo, un compuesto de la Fórmula I) y un portador farmacéuticamente aceptable.

[0375] La frase “cantidad terapéuticamente eficaz”, como se usa en la presente, significa la cantidad de un compuesto, material o composición que comprende un compuesto de la presente invención que es eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado en al menos una subpoblación de células en un animal con una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

[0376] La expresión “farmacéuticamente aceptable” se emplea en la presente como referencia a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del criterio médico, son adecuadas para su uso en contacto con tejidos humanos y animales sin provocar una toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, con una relación beneficio/riesgo correspondiente razonable.

[0377] En las composiciones también pueden estar presentes agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como el lauril sulfato de sodio y el estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes.

[0378] Ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares; y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

[0379] Las formulaciones de la presente invención incluyen aquellas adecuadas para administración oral, nasal, tópica (incluidas la bucal y la sublingual), rectal, vaginal y/o parenteral. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosis unitaria y pueden prepararse mediante cualquier método conocido en la técnica farmacéutica. La cantidad de principio activo que se puede combinar con un material portador para producir una única forma de dosificación variará en función del huésped que se esté tratando y del modo de administración particular. La cantidad de principio activo que se puede combinar con un material portador para producir una única forma de dosificación generalmente será la cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico. En general, de un cien por ciento, esta cantidad oscilará de aproximadamente 0,1 por ciento a aproximadamente noventa y nueve por ciento del ingrediente activo, preferiblemente de aproximadamente 5 por ciento a aproximadamente 70 por ciento, con mayor preferencia de aproximadamente 10 por ciento a aproximadamente 30 por ciento.

[0380] En ciertas modalidades, una formulación de la presente invención comprende un excipiente seleccionado del grupo que consiste en ciclodextrinas, celulosas, liposomas, agentes formadores de micelas, *por ejemplo*, ácidos biliares, y portadores poliméricos, *por*

ejemplo, poliésteres y polianhídridos; y un compuesto de la presente invención. En ciertas modalidades, una formulación antes mencionada hace que un compuesto de la presente invención sea biodisponible por vía oral.

[0381] Los métodos para preparar estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de combinar un compuesto de la presente invención con el portador y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan combinando de manera uniforme e íntima un compuesto de la presente invención con portadores líquidos, o portadores sólidos finamente divididos, o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto.

[0382] Las formulaciones de la invención aptas para administración oral pueden presentarse en forma de cápsulas, obleas, pastillas, comprimidos, pastillas para chupar (usando una base con sabor, generalmente sacarosa y acacia o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite en agua o agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) y/o como enjuagues bucales y similares, cada uno de los cuales contiene una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente invención como un ingrediente activo. Un compuesto de la presente invención también puede administrarse en forma de inyección rápida, electuario o pasta.

[0383] En las formas farmacéuticas sólidas de la invención para administración oral (cápsulas, tabletas, píldoras, grageas, polvos, gránulos, pastillas y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los siguientes: (1) rellenos o extensores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes desintegrantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de la solución, tales como parafina; (6) aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario y tensioactivos, tales como poloxámero y lauril sulfato de sodio; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico, monoestearato de glicerol y tensioactivos no iónicos; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, estearato de zinc, estearato de sodio, ácido esteárico y mezclas de estos; (10) agentes colorantes; y (11) agentes de liberación controlada, tales como crospovidona o etilcelulosa. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes amortiguadores. También se pueden emplear composiciones sólidas de un tipo similar como rellenos en cápsulas de gelatina blandas y duras, usando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

[0384] Un comprimido puede elaborarse mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos pueden prepararse usando un aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, desintegrante (por ejemplo, glicolato sódico de almidón o carboximetilcelulosa sódica reticulada), tensioactivo o agente dispersante. Los comprimidos moldeados pueden

elaborarse mediante el moldeo, en una máquina adecuada, de una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

[0385] Los comprimidos y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden ranurarse o recubrirse con capas o cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos ampliamente conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Asimismo, pueden formularse para lograr una liberación lenta o controlada del principio activo mediante, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Pueden formularse para una liberación rápida, *por ejemplo*, mediante liofilización. Pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro que retiene bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse en agua estéril u otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Estas composiciones también pueden contener, opcionalmente, agentes opacificantes y pueden tener una composición que libere el o los ingredientes activos únicamente, o preferentemente, en una determinada porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de forma retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede presentarse en forma microencapsulada, si corresponde, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

[0386] Las formas farmacéuticas líquidas para la administración oral de los compuestos de la invención incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes de uso común en la técnica, tales como por ejemplo agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, de semilla de algodón, maní, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de estos.

[0387] Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, emulsionantes y suspensivos, edulcorantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes y conservantes.

[0388] Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto y mezclas de estos.

[0389] Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la invención para administración rectal o vaginal pueden presentarse en forma de supositorio, que puede prepararse mezclando uno o más compuestos de la invención con uno o más excipientes o portadores adecuados no irritantes que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera para supositorios o un salicilato, y que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a temperatura corporal y, por lo tanto, se derretirá en el recto o la cavidad vaginal y liberará el compuesto activo.

[0390] Las formulaciones de la presente invención que son adecuadas para la

administración vaginal también incluyen óvulos, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en aerosol que contienen excipientes que se consideran apropiados en la técnica.

[0391] Las formas farmacéuticas para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen polvos, aerosoles, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches y medicamentos inhalatorios. El compuesto activo puede mezclarse en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable, así como con cualquier conservante, amortiguador o propulsor que sea necesario.

[0392] Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo de esta invención, excipientes tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de estos.

[0393] Los polvos y aerosoles pueden contener, además de un compuesto de esta invención, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Los aerosoles también pueden contener propulsores habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

[0394] Los parches transdérmicos tienen la ventaja adicional de proporcionar una administración controlada de un compuesto de la presente invención al organismo. Estas formas farmacéuticas pueden elaborarse disolviendo o dispersando el compuesto en el medio adecuado. Los potenciadores de la absorción también pueden usarse para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad de dicho flujo puede controlarse mediante el uso de una membrana reguladora de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

[0395] Las formulaciones oftálmicas, los ungüentos, polvos, soluciones y productos similares para el ojo también se consideran dentro del alcance de esta invención.

[0396] Las composiciones farmacéuticas de esta invención, aptas para administración parenteral, comprenden uno o más compuestos de la invención en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden reconstituirse en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener azúcares, alcoholes, antioxidantes, amortiguadores, bacteriostáticos, solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto o agentes suspensivos o espesantes.

[0397] Los ejemplos de portadores acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen el agua, etanol, polioles (tales como el glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares) y mezclas adecuadas de estos, aceites vegetales, tales como el aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como el oleato de etilo. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de tensioactivos.

[0398] Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La

prevención de la acción de los microorganismos sobre los compuestos en cuestión puede garantizarse mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, y similares. También puede ser conveniente incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio y similares, en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede lograrse mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

[0399] En algunos casos, para prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco tras la inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con baja solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución, que a su vez puede depender del tamaño y la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de un fármaco administrado por vía parenteral se consigue disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.

[0400] Las formulaciones inyectables de depósito se elaboran mediante la formación de matrices de microcápsulas de los compuestos en cuestión en polímeros biodegradables tales como el polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la relación de fármaco con respecto a polímero y de la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Otros ejemplos de polímeros biodegradables incluyen los poli(ortoésteres) y los poli(anhídridos). Las formulaciones de depósito inyectables también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

[0401] Cuando los compuestos de la presente invención se administran como fármacos a humanos y animales, pueden administrarse puros o como una composición farmacéutica que contenga, por ejemplo, del 0,1 al 99 % (preferiblemente del 10 al 30 %) del ingrediente activo en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

[0402] Los preparados de la presente invención pueden administrarse por vía oral, parenteral, tópica o rectal. Por supuesto, se proporcionan en formatos adecuados para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en forma de tabletas o cápsulas, por inyección, inhalación, loción oftálmica, pomada, supositorio, etc.; administración por inyección, infusión o inhalación; tópica por loción o pomada; y rectal por supositorios. Se prefieren las administraciones orales.

[0403] Las frases “administración parenteral” y “administrado parenteralmente”, como se usan en la presente, se refieren a modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, generalmente por inyección, e incluyen, entre otros, la inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbitaria, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intrarraquídea e intraesternal.

[0404] Las expresiones “administración sistémica”, “administrado sistémicamente”, “administración periférica” y “administrado periféricamente”, como se usa en la presente, se refieren a la administración de un compuesto, fármaco u otro material que no sea directamente en el sistema nervioso central, de manera que ingrese al sistema del paciente y, por lo tanto, esté sujeto al metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, la administración

subcutánea.

[0405] Estos compuestos pueden administrarse a humanos y otros animales con fines terapéuticos por cualquier vía de administración adecuada, incluyendo la oral, nasal, por ejemplo, un aerosol, rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, en forma de polvos, ungüentos o gotas, incluyendo la bucal y la sublingual.

[0406] Independientemente de la vía de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, que pueden usarse en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas farmacéuticamente aceptables mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la técnica.

[0407] Los niveles de dosis reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración determinados, sin que resulte tóxico para el paciente.

[0408] El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto particular empleado de la presente invención, o el éster, sal o amida de este, la vía de administración, el momento de administración, la tasa de excreción o metabolismo del compuesto particular que se emplea, la tasa y entensión de la absorción, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación con el compuesto particular empleado, la edad, sexo, peso, condición, salud general e historial médico previo del paciente que se está tratando, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

[0409] Un médico o veterinario con conocimientos en la técnica puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz de la composición farmacéutica necesaria. Por ejemplo, el médico o el veterinario podrían comenzar administrando dosis de los compuestos de la invención empleados en la composición farmacéutica en niveles inferiores a los necesarios para lograr el efecto terapéutico deseado y aumentar gradualmente la dosis hasta alcanzar dicho efecto.

[0410] En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la invención será aquella cantidad del compuesto que sea la dosis más baja eficaz para producir un efecto terapéutico. La dosis efectiva dependerá generalmente de los factores descritos anteriormente. Preferiblemente, los compuestos se administran de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg, más preferiblemente de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, e incluso más preferiblemente de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg. Cuando los compuestos descritos en la presente se administran conjuntamente con otro agente (*por ejemplo*, como agentes sensibilizadores), la cantidad eficaz puede ser menor que cuando el agente se utiliza solo.

[0411] Si se desea, la dosis diaria eficaz del compuesto activo puede administrarse en dos, tres, cuatro, cinco, seis o más subdosis administradas por separado a intervalos apropiados a lo largo del día, opcionalmente, en formas de dosificación unitarias. La dosis preferida es una administración al día.

[0412] La invención proporciona además una forma de dosificación unitaria (tal como un comprimido o una cápsula) que comprende una fenilpirimidinona sustituida heterobifuncional

o un compuesto relacionado descrito en la presente, en una cantidad terapéuticamente eficaz para el tratamiento de un trastorno médico descrito en la presente.

IV. KITS MÉDICOS

[0413] Otro aspecto de esta invención es un kit que comprende (i) un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto de la Fórmula **I**, Fórmula **II** u otros compuestos de la Sección I, e (ii) instrucciones de uso, tal como para el tratamiento del cáncer.

EJEMPLOS

[0414] La invención que se describe de forma general se comprenderá mejor haciendo referencia a los siguientes ejemplos, que se incluyen simplemente con fines ilustrativos de ciertos aspectos y modalidades de la presente invención, y no pretenden limitar la invención.

Métodos generales

[0415] Todas las reacciones se llevaron a cabo en una atmósfera de nitrógeno o argón seco. La cristalería se secó en el horno antes de su uso. A menos que se indique lo contrario, los reactivos o materiales comunes se obtuvieron de fuentes comerciales y se usaron sin purificación adicional. *La N*,*N*-diisopropiletilamina (DIPEA) anhidra se obtuvo por destilación sobre hidróxido de potasio. El tetrahidrofurano (THF), el diclorometano (CH_2Cl_2) y la dimetilformamida (DMF) se secaron mediante un sistema de secado de disolventes PureSolv™. PTLC se refiere a la separación cromatográfica preparativa en capa fina. Abreviaturas: HFIP (hexafluoroisopropanol), HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetanosulfónico. Se realizó cromatografía de columna rápida usando gel de sílice 60 (230-400 mallas). Se realizó cromatografía analítica de capa fina (TLC) en placas de gel de sílice Merck con indicador QF-254 y se visualizó mediante UV o $KMnO_4$.

[0416] Los espectros de NMR ^1H y ^{13}C se registraron en un espectrómetro Agilent DD_2 500 (500 MHz ^1H; 125 MHz ^{13}C) o Agilent DD_2 600 (600 MHz ^1H; 150 MHz ^{13}C) o Agilent DD_2 400 (400 MHz ^1H; 100 MHz ^{13}C) a temperatura ambiente. Los desplazamientos químicos se informaron en ppm en relación con $CDCl_3$ (δ 7,26 ppm ^1H; δ 77,0 ppm ^{13}C), CD_3OD (δ 3,31 ppm ^1H; δ 49,00 ppm ^{13}C), o d_6-DMSO (δ 2,50 ppm ^1H; δ 39,52 ppm ^{13}C). Los desplazamientos químicos de NMR se expresaron en ppm en relación con los picos del disolvente interno, y las constantes de acoplamiento se midieron en Hz. (bs = señal ancha). En la mayoría de los casos, solo se informan los picos del rotámero principal.

[0417] Los espectros de masas se obtuvieron usando espectrómetros LC/MSD de la serie Agilent 1100. Los análisis de HPLC analítica se llevaron a cabo en una columna C-18 de 250 x 4,6 mm usando condiciones de gradiente (10-100 % B, caudal = 1,0 mL/min, 20 min), o como se describe en las tablas del método LC-MS.

[0418] A menos que se indique lo contrario, la HPLC preparativa se realizó en una columna C-18 de 250 x 21,2 mm usando condiciones de gradiente (10-100 % B, caudal = 10,0 mL/min, 20 min). Los eluyentes usados fueron: disolvente A (H_2O con 0,1 % de TFA) y disolvente B (CH_3CN con 0,1 % de TFA). Los productos finales se purificaban normalmente mediante HPLC de fase inversa, PTLC o cromatografía de columna rápida.

Método LC-MS 01		
Instrumento		Agilent 1100 LC y Agilent G1956A
Software		Agilent Chemstation Rev. B. 04,03[54]
	Columna	Agilent ZORBAX 5 µm SB-Aq, 2,1*50 mm

HPLC	Fase móvil	A: 0,0375 % de TFA en agua (v/v)		
		B: 0,01875 % de TFA en acetonitrilo (v/v)		
	Gradiente	Tiempo (min)	B (%)	Caudal (mL/min)
		0,00	1	0,8
		0,40	1	0,8
		3,40	90	0,8
		3,90	100	0,8
		3,91	1	0,8
		4,00	1	1,0
		4,50	1	1,0
	Tiempo de publicación (min)	0		
	Temp. de la columna	50 °C		
	Detector	DAD		
MS	Fuente de ionización	ESI		
	Gas de secado	N_2		
	Flujo de gas de secado	10 (L/min)		
	Presión del nebulizador	40 (psi)		
	Temperatura del gas de secado	350 °C		
	Voltaje capilar	2500 (V)		
	Polaridad MS	Positivo		

Método LC-MS 5-95				
Instrumento		SHIMADZU LCMS-2020		
Software		LabSolution Versión 5,93		
HPLC	Columna	Kinetex EVO C18 2,1 X 30 mm, 5 um		
	Fase móvil	A: 0,0375 % de TFA en agua (v/v)		
		B: 0,01875 % de TFA en acetonitrilo (v/v)		
	Gradiente	Tiempo (min)	B (%)	Caudal (mL/min)
		0,0	5	1,5
		0,80	95	1,5
		1,20	95	1,5
		1,21	5	1,5
		1,55	5	1,5
	Temp. de la columna	50 °C		
	Detector	PDA (220 nm y 254 nm)		
MS	Fuente de ionización	ESI		
	Flujo de gas de secado	15 (L/min)		
	Voltaje DL	120(v)		
	Voltaje CC de Qarray	20(V)		
	Polaridad MS	Positivo		

	Modo MS	Escaneo
	Rango de masas	100-1000

Método LC-MS 10				
Instrumento		Agilent 1100 LC y Agilent G1956A		
Software		Agilent Chemstation Rev. B. 04,03[54]		
HPLC	Columna	Agilent ZORBAX 5 µm SB-Aq, 2,1*50 mm		
	Fase móvil	A: 0,0375 % de TFA en agua (v/v)		
		B: 0,01875 % de TFA en acetonitrilo (v/v)		
	Gradiente	Tiempo (min)	B (%)	Caudal (mL/min)
		0,00	10	0,8
		0,40	10	0,8
		3,40	100	0,8
		3,90	100	0,8
		3,91	10	0,8
		4,00	10	1,0
		4,50	10	1,0
	Tiempo de publicación (min)	0		
	Temp. de la columna	50 °C		
	Detector	DAD		
MS	Fuente de ionización	ESI		
	Gas de secado	N_2		
	Flujo de gas de secado	10 (L/min)		
	Presión del nebulizador	40 (psi)		
	Temperatura del gas de secado	350 °C		
	Voltaje capilar	2500 (V)		
	Polaridad MS	Positivo		
	Modo MS	Escaneo		
	Rango de masas	100-1500		

LC-MS Método 25				
Instrumento		Agilent 1100 LC y Agilent G1956A		
Software		Agilent Chemstation Rev. B. 04,03[54]		
HPLC	Columna	Agilent ZORBAX 5 µm SB-Aq, 2,1*50 mm		
	Fase móvil	A: 0,0375 % de TFA en agua (v/v)		
		B: 0,01875 % de TFA en acetonitrilo (v/v)		
	Gradiente	Tiempo	B (%)	Caudal (mL/min)

		(min)		
		0,00	25	0,8
		0,40	25	0,8
		3,40	100	0,8
		3,90	100	0,8
		3,91	25	0,8
		4,00	25	1,0
		4,50	25	1,0
	Tiempo de publicación (min)	0		
	Temp. de la columna	50 °C		
	Detector	DAD		
MS	Fuente de ionización	ESI		
	Gas de secado	N_2		
	Flujo de gas de secado	10 (L/min)		
	Presión del nebulizador	40 (psi)		
	Temperatura del gas de secado	350 °C		
	Voltaje capilar	2500 (V) Positivo		
	Polaridad MS	Positivo		
	Modo MS	Escaneo		

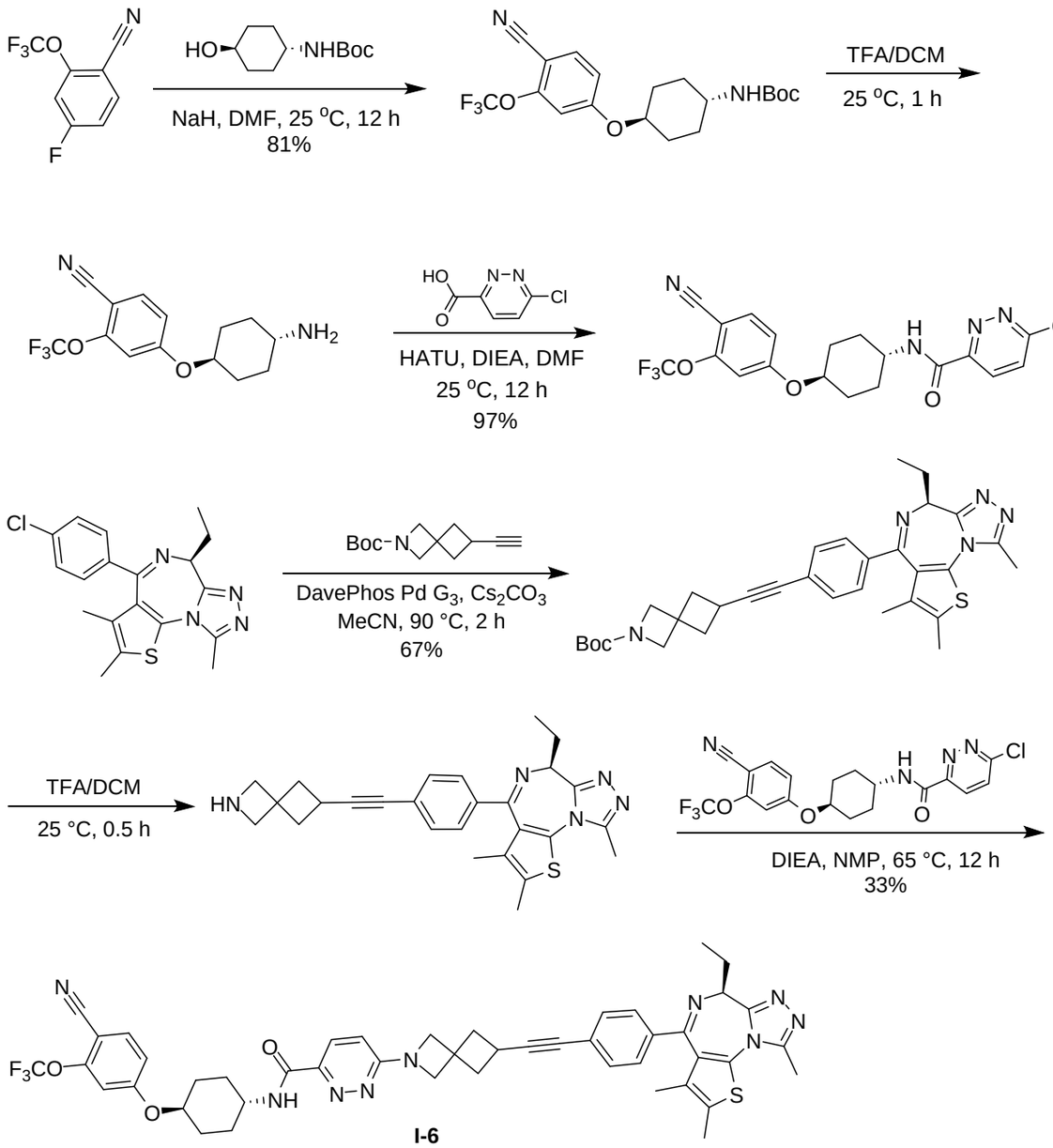
MÉTODO LC-MS 40				
Instrumento		Agilent 1100 LC y Agilent G1956A		
Software		Agilent Chemstation Rev. B. 04,03[16]		
HPLC	Columna	Agilent ZORBAX 5 µm SB-Aq, 2,1*50 mm		
	Fase móvil	A: 0,0375 % de TFA en agua (v/v)		
		B: 0,01875 % de TFA en acetonitrilo (v/v)		
	Gradiente	Tiempo (min)	B (%)	Caudal (mL/min)
		0,00	40	0,8
		0,40	40	0,8
		3,40	100	0,8
		3,90	100	0,8
		3,91	40	0,8
		4,00	40	1,0
		4,50	40	1,0
	Tiempo de	0		

	publicación (min)	
	Temp. de la columna	50 °C
	Detector	DAD(Agilent 1100)/ELSD(Agilent 1260 Infinity)
MS	Fuente de ionización	ESI
	Gas de secado	N_2
	Flujo de gas de secado	10 (L/min)
	Presión del nebulizador	2070 (Torr)
	Temperatura del gas de secado	350 °C
	Voltaje capilar	2500 (V) Positivo

[0419] Las siguientes abreviaturas se usan en la presente: ACN o MeCN: acetonitrilo; AcO: acetato; AcOH: ácido acético; B_2pin_2: bis(pinacolato)diboro; BINAP: 2,2′-bis(difenil-fosfino)-1,1′-binaftilo; Bn: bencilo; Boc: *terc*-butoxicarbonilo; BPD: bis(pinacolato) diboro; BrettPhos Pd G3: metanosulfonato de [(2-di-ciclohexilfosfino-3,6-dimetoxi-2′,4′,6′-triisopropil-1,1′-bifenilo)-2-(2′-amino-1,1′-bifenilo)]paladio(II) metanosulfonato; DavePhos Pd G3: metanosulfonato de [2-(diciclohexil-fosfino)-2-(N,N-dimetilamino)-1,1-bifenilo]-2-(2-amino-1,1-bifenilo)]paladio(II); DCM: diclorometano; DIAD: azodicarboxilato de diisopropilo; DIEA: diisopropiletilamina; DMAC: dimetilacetamida; DMAP: 4-dimetilaminopiridina; DMF: dimetilformamida; DMSO: dimetilsulfóxido; EtOH: etanol; EA o EtOAc: acetato de etilo; *equiv* o *eq*: equivalentes molares; FA: ácido fórmico; Fmoc: fluorenilmetoxicarbonilo; h: hora u horas; HATU: hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]piridinio 3-óxido; HPLC: cromatografía líquida de alta presión; IPA o *i*-PrOH: alcohol isopropílico; JQ1: ácido 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético; LCMS o LC-MS: cromatografía líquida-espectrometría de masas; MeOH: metanol; min: minuto o minutos; MS: espectrometría de masas; *n*-BuLi: *n*-butil litio; NMM: *N*-metilmorfolina; NMP: N-metilpirrolidona; NMR: resonancia magnética nuclear; PCy_3: triciclohexilfospina; $Pd(dba)_2$: bis(dibencilidenoacetona) de paladio(0); $Pd_2(dba)_3$: tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0); $Pd(dppf)Cl_2$: dicloropaladio(II) [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]; PE: éter de petróleo; PPA: ácido polifosfórico; psi: libras por pulgada cuadrada; rt: temperatura ambiente; SFC: cromatografía de fluidos supercríticos; SPhos Pd G3: metanosulfonato de (2-diciclohexilfosfino-2′,6′-dimetoxibifenil) [2-(2′-amino-1,1′-bifenilo)]paladio(II); tBuXPhos Pd G3: metanosulfonato(2-di-t-butilfosfino-2',4',6'-tri-i-propil-1,1'-bifenil)(2'-amino-1,1'-bifenil-2-il)paladio(II); *terc*-BuO: *terc*-butóxido; *terc*-BuOH: *terc*-butanol; TEA: trietilamina; TFA: ácido trifluoroacético; THF: tetrahidrofurano; TMP: tetrametilpiperidina; TMS: trimetilsililo; Tos o Ts: *p*-toluenosulfonilo; T4P: 3-{2,6,8-trioxo-9-[(2*R*,3*R*,4*R*)-2,3,4,5-tetrahidroxipentil]-1,2,3,6,8,9-hexahidro-7*H*-purin-7-il}propil dihidrógeno fosfato; XANTPHOS: (9,9-dimetil-9*H*-xanteno-4,5-diil)bis (difenilfosfano); y XPhos: diciclohexil[2',4',6'-tris(propan-2-il)[1,1'-bifenil]-2-il]fosfano.

<u>EJEMPLO 1</u> – Síntesis de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-

pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-6).



I-6

[0420] Etapa 1: Preparación de ((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-(trifluorometoxi) fenoxi)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo. A una solución de ((1*r*,4*r*)-4-hidroxiciclohexilo) carbamato de *terc*-butilo (3,15 g, 14,63 mmol, 1,5 *equiv*) en DMF (20 mL) y THF (20 mL) se le añadió NaH (585 mg, 14,63 mmol, 60 % de pureza, 1,5 *equiv*) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. Luego, se añadió 4-fluoro-2-(trifluorometoxi)benzonitrilo (2 g, 9,75 mmol, 1,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl (20 mL) a 0 °C y luego se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (100 mL x 3), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 5/1). Se obtuvo ((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-(trifluorometoxi) fenoxi)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (3,15 g, 7,87 mmol, 81 % de rendimiento) como un sólido blanco.

[0421] Etapa 2: Preparación de 4-(((1*r*,4*r*)-4-aminociclohexil)oxi)-2-(trifluorometoxi) benzonitrilo. Una solución de ((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi) ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (3,14 g, 7,84 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (20 mL) y TFA (10 mL) se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró para obtener 4-(((1*r*,4*r*)-4-aminociclohexil)oxi)-2-(trifluorometoxi)benzonitrilo (3,25 g, 7,84 mmol, sal de TFA)

como un aceite incoloro.

[0422] Etapa 3: Preparación de 6-cloro-*N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi] ciclohexil]piridazina-3-carboxamida. A una solución de 4-(((1*r*,4*r*)-4-aminociclohexil)oxi)-2-(trifluorometoxi)benzonitrilo (3,25 g, 7,84 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA) y ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico (1,24 g, 7,84 mmol, 1,0 *equiv*) en DMF (20 mL) se le añadió DIEA (3,04 g, 23,53 mmol, 4,10 mL, 3,0 *equiv*) y HATU (4,47 g, 11,77 mmol, 1,5 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se añadió a agua helada (200 ml) y se filtró para obtener 6-cloro-*N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (3,34 g, 7,58 mmol, 97 % de rendimiento) como un sólido blanco.

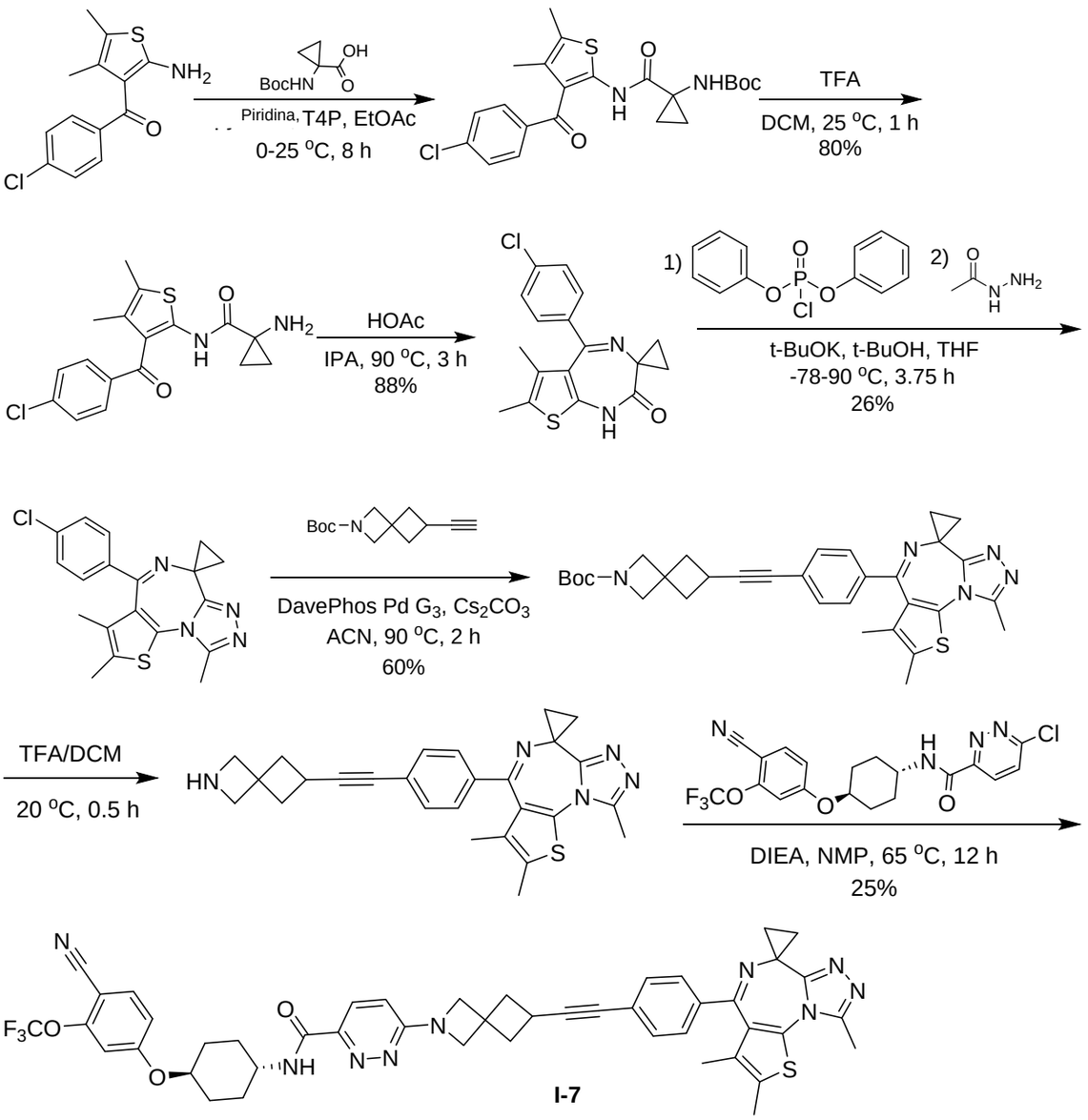
[0423] Etapa 4: Preparación de 6-[2-[4-[(9***S***)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (9*S*)-7-(4-clorofenil)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (400 mg, 1,08 mmol, 1,0 *equiv*), 6-etinil-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (597 mg, 2,70 mmol, 2,5 *equiv*), y Cs_2CO_3 (597 mg, 2,70 mmol, 2,5 *equiv*) en MeCN (8 mL) se agregó DavePhos Pd G_3 (82 mg, 0,11 mmol, 0,1 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 2 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para obtener el producto bruto. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 70 %-90 % B durante 10 min) para proporcionar 6-[2-[4-[(9*S*)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (400 mg, 720 µmol, 67 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0424] Etapa 5: Preparación de (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 6-[2-[4-[(9*S*)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3] heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (100 mg, 180 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,5 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$ saturado a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x 2), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para dar (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3] heptan-6-il)etinil]fenil]-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (82 mg) como un aceite amarillo.

[0425] Etapa 6: Preparación de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-6). A una solución de (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (82 mg, 0,18 mmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi] ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (95 mg, 0,22 mmol, 1,2 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (70 mg, 0,54 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 70 %-90 % B durante 10 min) para proporcionar *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-

tetrazatriciclo[8,3,0,0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (53 mg, 60 µmol, 33 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,91 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 7,76 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,47 - 7,40 (m, 4H), 7,13 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,06 (s, 1H), 6,87 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 4,61 - 4,44 (m, 1H), 4,25 (d, *J* = 6,0 Hz, 4H), 4,03 - 3,91 (m, 2H), 3,25 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 2,77 - 2,68 (m, 5H), 2,52 - 2,43 (m, 7H), 2,21 (s, 2H), 2,09 (d, *J* = 3,6 Hz, 2H), 1,70 (s, 3H), 1,65 (t, *J* = 9,8 Hz, 4H), 1,23 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,416 min, *m/z* = 860,5 $[M+H]^+$.

<u>EJEMPLO 2</u> – Síntesis de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[6-[2-[4-(4,5,13-trimetilespiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]-7-il)fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-7).



I-7

[0426] Etapa 1: Preparación de *N*-[1-[[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]carbamoil]ciclopropil]carbamato de *terc*-butilo. A una solución de (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-clorofenil)metanona (26 g, 97,8 mmol, 1,0 *equiv*), ácido 1-(*terc*-butoxicarbonilamino) ciclopropanocarboxílico (59 g, 293,5 mmol, 3,0 *equiv*), y piridina (38,7 g, 489 mmol, 39,5 mL, 5,0 *equiv*) en EtOAc (50 mL) se agregó T4P (211,5 g, 293,5 mmol, 50 % pureza, 3,0 *equiv*) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 8 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se diluyó con $NaHCO_3$ (100 mL) y se extrajo con acetato de etilo (250 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 mL), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a

presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se trituró con éter de petróleo/acetato de etilo (3:1, 200 mL) para obtener *N*-[1-[[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]carbamoil]ciclopropil]carbamato de *terc*-butilo (48 g, bruto) como un sólido amarillo.

[0427] Etapa 2: Preparación de 1-amino-*N*-[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]ciclopropanocarboxamida. A una solución de *N*-[1-[[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]carbamoil]ciclopropil]carbamato de *terc*-butilo (43 g, 95,8 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (140 mL) se agregó TFA (218 g, 1,9 mol, 142 mL, 20,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se diluyó con $NaHCO_3$ (200 mL) y se extrajo con acetato de etilo (250 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener 1-amino-*N*-[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]ciclopropanocarboxamida (27 g, 80 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

[0428] Etapa 3: Preparación de 5-(4-clorofenil)-6,7-dimetil-espiro[1*H*-tieno[2,3-*e*][1,4]diazepina-3,1'-ciclopropano]-2-ona. A una solución de 1-amino-*N*-[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]ciclopropanocarboxamida (27 g, 77,4 mmol, 1,0 *equiv*) en IPA (270 mL) se agregó AcOH (23,2 g, 387 mmol, 22 mL, 5,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se trituró con acetato de etilo (200 mL) para proporcionar 5-(4-clorofenil)-6,7-dimetil-espiro[1*H*-tieno[2,3-*e*][1,4]diazepina-3,1'-ciclopropano]-2-ona (22,6 g, 88 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0429] Etapa 4: Preparación de 7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-espiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]. Se agregó *terc*-BuOK (1 M, 6,7 mL, 1,1 *equiv*) a una solución de 5-(4-clorofenil)-6,7-dimetil-espiro[1*H*-tieno[2,3-*e*][1,4]diazepina-3,1'-ciclopropano]-2-ona (2 g, 6 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (25 mL) a -78 °C. La mezcla de reacción se calentó a -10 °C durante 0,5 horas y se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a -78 °C. Se añadió [cloro(fenoxi)fosforil]oxibenceno (1,95 g, 7,3 mmol, 1,5 mL, 1,2 *equiv*) a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se calentó a -10 °C durante 0,75 horas. Luego, se añadió acetohidrazida (672 mg, 9 mmol, 1,5 *equiv*) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C. Después de 1 hora, se añadió *terc*-BuOH (30 mL) a la mezcla de reacción y la mezcla se calentó a 90 °C durante 1 hora. La mezcla se vertió en agua (100 ml) y se extrajo con diclorometano (200 ml x 2). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200 mL) y se secó sobre Na_2SO_4. La mezcla se concentró para proporcionar un residuo, que se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 37 %-67 % B durante 15 min) para proporcionar 7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-espiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano] (600 mg, 26 % rendimiento) como un sólido blanco.

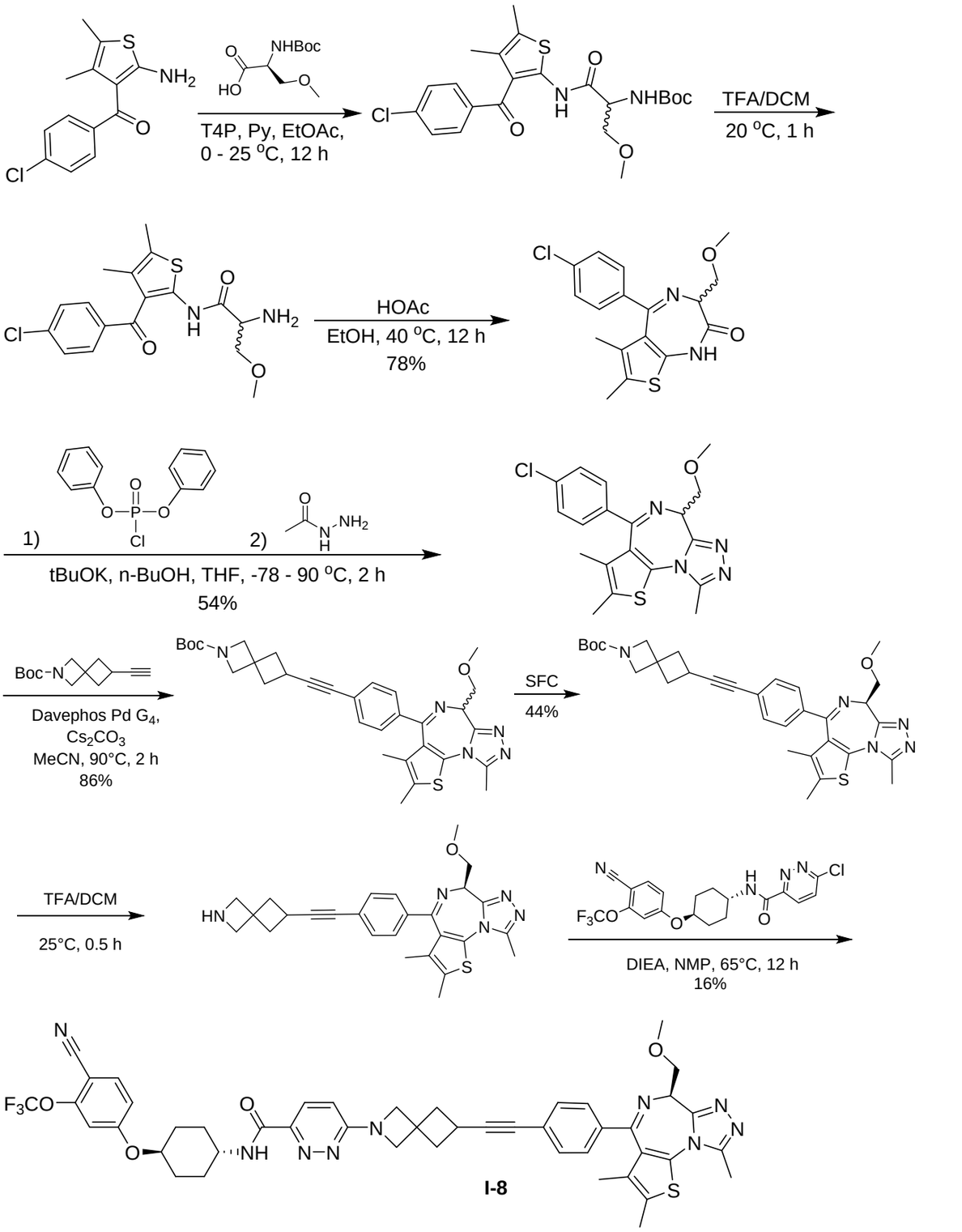
[0430] Etapa 5: Preparación de 6-[2-[4-(4,5,13-trimetilespiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]-7-il)fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-espiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano] (400 mg, 1,08 mmol, 1,0 *equiv*) y 6-etinil-2-azaspiro[3,3] heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (599 mg, 2,71 mmol, 2,5 *equiv*) en ACN (8 mL) se agregó DavePhos

Pd G_3 (82,7 mg, 108 µmol, 0,1 *equiv*) y Cs_2CO_3 (706 mg, 2,17 mmol, 2,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró para obtener el producto bruto. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC(columna: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente:55 %-85 % B durante 15 min) para proporcionar 6-[2-[4-(4,5,13-trimetilespiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]-7-il)fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (360 mg, 650 µmol, 60 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0431] Etapa 6: Preparación de 7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-4,5,13-trimetil-espiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]. A una solución de 6-[2-[4-(4,5,13-trimetilespiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]-7-il)fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (180 mg, 325 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró, se basificó con $NaHCO_3$ acuoso y se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 30 mL x 2). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (10 mL x 2), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y se concentró para producir 7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-4,5,13-trimetil-espiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano] (146 mg, 321 µmol, bruto) como un aceite amarillo, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0432] Etapa 7: Preparación de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[6-[2-[4-(4,5,13-trimetilespiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]-7-il)fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-7). A una solución de 7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-4,5,13-trimetil-espiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano] (73,0 mg, 160 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (62,4 mg, 482 µmol, 84,1 µL, 3,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi] ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (70,9 mg, 160 µmol, 1,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 x 25 mm 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 60 %-80 % B durante 8 min) para producir *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi] ciclohexil]-6-[6-[2-[4-(4,5,13-trimetil-espiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]-7-il)fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (34,4 mg, 40,1 µmol, 25 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,91 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 7,76 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,47 - 7,40 (m, 4H), 7,13 (dd, *J* = 2,3, 8,8 Hz, 1H), 7,06 (s, 1H), 6,85 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 4,56 - 4,51 (m, 1H), 4,24 (d, *J* = 5,9 Hz, 4H), 4,02 - 3,92 (m, 1H), 3,25 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 2,79 - 2,68 (m, 5H), 2,51 - 2,42 (m, 5H), 2,22 (br d, *J* = 4,2 Hz, 2H), 2,10 (br s, 2H), 1,96 - 1,86 (m, 1H), 1,70 - 1,60 (m, 7H), 1,54 (dt, *J* = 6,5, 8,5 Hz, 1H), 0,90 (br t, *J* = 8,7 Hz, 2H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,376 min, *m/z* = 858,5 $[M+H]^+$.

<u>EJEMPLO 3</u> – Síntesis de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-8).



[0433] Etapa 1: Preparación de (1-((3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-3-metoxi-1-oxopropan-2-il)carbamato de *terc*-butilo. A una solución de (2-amino-4,5-dimetiltiofen-3-il)(4-clorofenil)metanona (10,0g, 37,6 mmol, 1,0 *equiv*) y *N*-(*terc*-butoxicarbonil)-O-metil-L-serina (16,5 g, 75,26 mmol, 2,0 *equiv*) en e (25 mL) se agregó piridina (17,8 g, 225,7 mmol, 18,2 mL, 6,0 *equiv*) y T4P (81,3 g, 112,8 mmol, 50 % pureza, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. A la mezcla de reacción se le añadió agua helada (200 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (2 x 200 ml). La fase orgánica combinada se lavó con 0,5 M HCl (100 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró *al vacío* para dar (1-((3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-3-metoxi-1-oxopropan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (17,0 g, bruto) como un sólido amarillo.

[0434] Etapa 2: Preparación de 2-amino-*N*-(3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)-3-metoxipropanamida. A una solución de (1-((3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-3-metoxi-1-oxopropan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (17,0 g, 36,4 mmol, 1,*0 equiv*) en DCM (20

mL) se agregó TFA (20 mL). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un residuo. Al residuo se le añadió DCM (100 mL) y se ajustó el pH a 7 con la adición de $NaHCO_3$ (250 mL). La mezcla se extrajo con diclorometano:metanol (10:1, 3 x 750 mL). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (250 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró *al vacío* para obtener 2-amino-*N*-(3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)-3-metoxipropanamida cruda (13 g, cruda), que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0435] Etapa 3: Preparación de 5-(4-clorofenil)-3-(metoximetil)-6,7-dimetil-1,3-dihidro-2*H*-tieno[2,3-*e*][1,4]diazepin-2-ona. A una solución de 2-amino-*N*-(3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)-3-metoxipropanamida (12,0 g, 32,7 mmol, 1,0 *equiv*) en EtOH (60 mL) se agregó AcOH (10,4 g, 174,6 mmol, 10 mL, 5,3 *equiv*). La mezcla se agitó a 40 °C durante 12 horas. A la mezcla de reacción se le añadió agua (250 mL) y la mezcla se extrajo con diclorometano:metanol (10:1, 200 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (250 ml), se secó sobre Na_2SO_4anhidro, se filtró y se concentró *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1 a 3*I*1). Se obtuvo 5-(4-clorofenil)-3-(metoximetil)-6,7-dimetil-1,3-dihidro-2*H*-tieno[2,3-*e*][1,4]diazepin-2-ona (9,0 g, 25,8 mmol, 78 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

[0436] Etapa 4: Preparación de (9*R*)-7-(4-clorofenil)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. Se agregó *terc*-butóxido de potasio (1,0 M, 15,7 mL, 1,1 *equiv*) a una solución de 5-(4-clorofenil)-3-(metoximetil)-6,7-dimetil-1,3-dihidro-2*H*-tieno[2,3-*e*][1,4]diazepin-2-ona (5,0 g, 14,3 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (50 mL) a -78 °C. La mezcla de reacción se calentó a 25 °C y se agitó a 25 °C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se enfrió a -78 °C. Se añadió fosforocloridato de difenilo (4,6 g, 17,2 mmol, 3,5 mL, 1,2 *equiv*) a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se calentó a 25 °C durante 30 minutos. Se añadió acetohidrazida (1,59 g, 21,5 mmol, 1,5 *eq*) a la mezcla de reacción a 25 °C. A continuación, se añadió inmediatamente *n*-butanol (50 mL) a la mezcla de reacción con agitación, y la mezcla se calentó a 90 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactivó con H_2O (100 mL) a 0 °C y luego se extrajo con EtOAc (2 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (100 mL), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 250 x 80 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; gradiente: 45 %-75 % B durante 20 min) para proporcionar (9*R*)-7-(4-clorofenil)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7, 10,12-pentaeno (8,0 g, 7,75 mmol, 54 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0437] Etapa 5: Preparación de 6-[2-[4-[9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (9*R*)-7-(4-clorofenil)-9-(metoxi-metil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7, 10,12-pentaeno (400 mg, 1,03 mmol, 1,0 *equiv*) y 6-etinil-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (572 mg, 2,58 mmol, 2,5 *equiv*) en MeCN (5 mL) se agregó DavePhos Pd G_3 (79 mg, 103 µmol, 0,1 *equiv*) y Cs_2CO_3 (674 mg, 2,07 mmol, 2,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 2 horas. La mezcla se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN];

gradiente: 56 %-86 % B durante 10 min) para proporcionar 6-[2-[4-[9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (450 mg, 787 µmol, 76 % rendimiento) como un aceite incoloro.

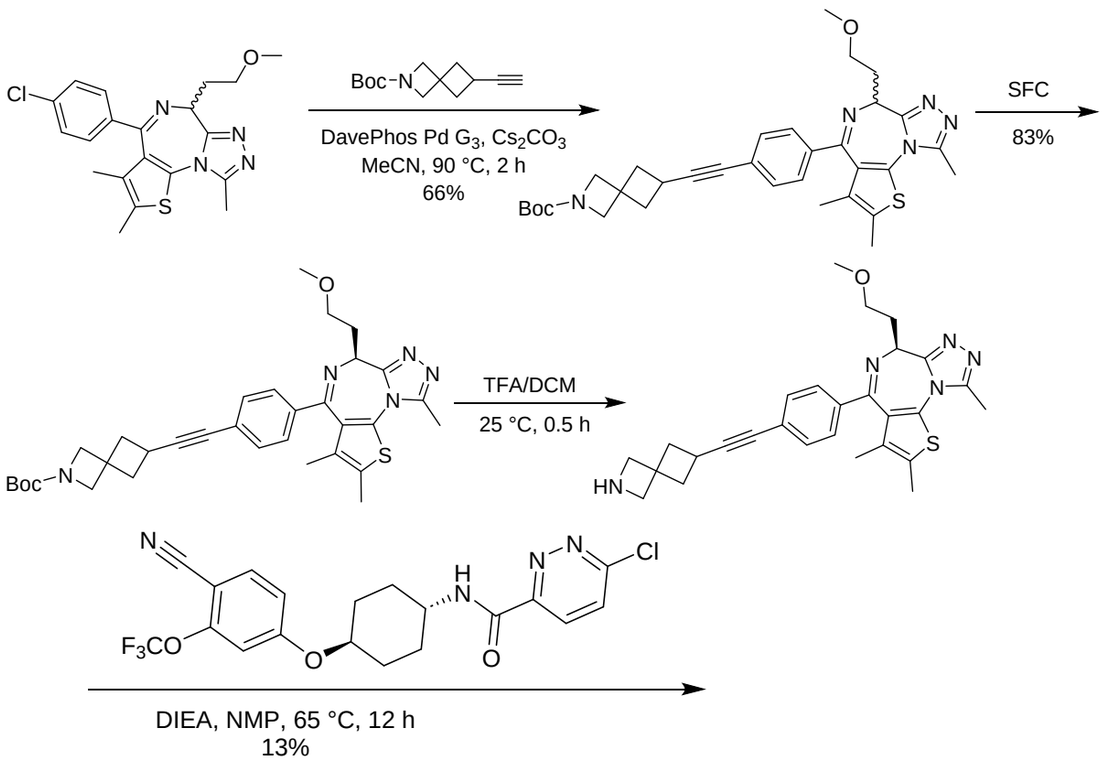
[0438] Etapa 6: Preparación de *terc*-butil-6-[2-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato.Se purificó 6-[2-[4-[9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo mediante *prep*-SFC(columna: DAICEL CHIRALPAK AS(250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-EtOH]; B%: 40 %, modo de elución isocrático) y *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 58 %-88 % B durante 10 min) para producir *terc*-butilo-6-[2-[4-[(9*R*)-9-(metoxi-metil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3] heptano-2-carboxilato (200 mg, 350 µmol, 44 % rendimiento) como un aceite incoloro.

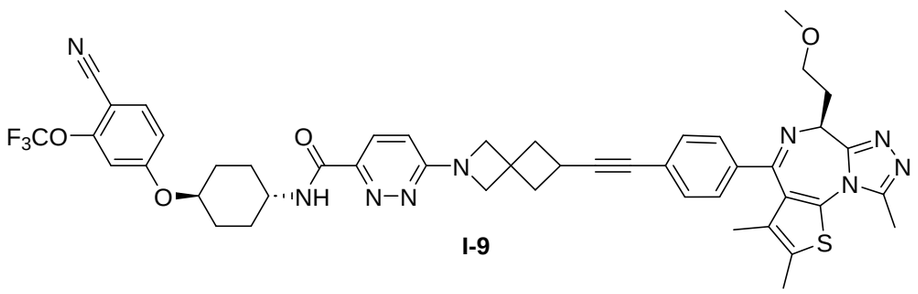
[0439] Etapa 7: Preparación de (9*R*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 6-[2-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (190 mg, 332 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$ saturado a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 50 mL x 2), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró para producir (9*R*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (157 mg, bruto) como un aceite incoloro.

[0440] Etapa 8: Preparación de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-8). A una solución de (9*R*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7, 10,12-pentaeno (78 mg, 165 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi) fenoxi]ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (80 mg, 182 µmol, 1,1 *equiv*) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (64 mg, 496 µmol, 86 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 58 %-88 % B durante 10 min) para producir el compuesto *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi] ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7, 10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3] heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (23 mg, 26 µmol, 16 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,93 (s, 1H), 7,80 - 7,77 (m, 1H), 7,50 - 7,42 (m, 4H), 7,17 - 7,14 (m, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,93 - 6,88 (m, 1H), 4,60 - 4,49 (m, 1H), 4,48 - 4,42 (m, 1H), 4,42 - 4,37 (m, 2H), 4,31 - 4,26 (m, 4H), 4,05 - 3,93 (m, 1H), 3,57 (s, 3H), 3,25 (s, 1H), 2,81 - 2,73 (m, 2H), 2,72 (s, 3H), 2,53 - 2,48 (m, 2H), 2,47 (s, 3H), 2,27 - 2,18

(m, 2H), 2,16 - 2,05 (m, 2H), 1,72 (s, 3H), 1,70 - 1,63 (m, 4H), -2,51 - -2,53 (m, 1H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,341 min, *m/z* = 876,5 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

EJEMPLO 4 – Síntesis de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-9).





I-9

[0441] Etapa 1: Preparación de 6-[2-[4-[9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (9*S*)-7-(4-clorofenil)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (250 mg, 624 µmol, 1,0 *equiv*), 6-etinil-2-azaspiro[3,3] heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (345 mg, 1,56 mmol, 2,5 *equiv*), y Cs_2CO_3 (406 mg, 1,25 mmol, 2,0 *equiv*) en MeCN (5 mL) se agregó DavePhos Pd G_3 (47 mg, 62 µmol, 0,1 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 2 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para obtener el producto bruto. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 68 %-88 % B durante 10 min) para producir 6-[2-[4-[9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (240 mg, 410 µmol, 66 % rendimiento) como un sólido blanco.

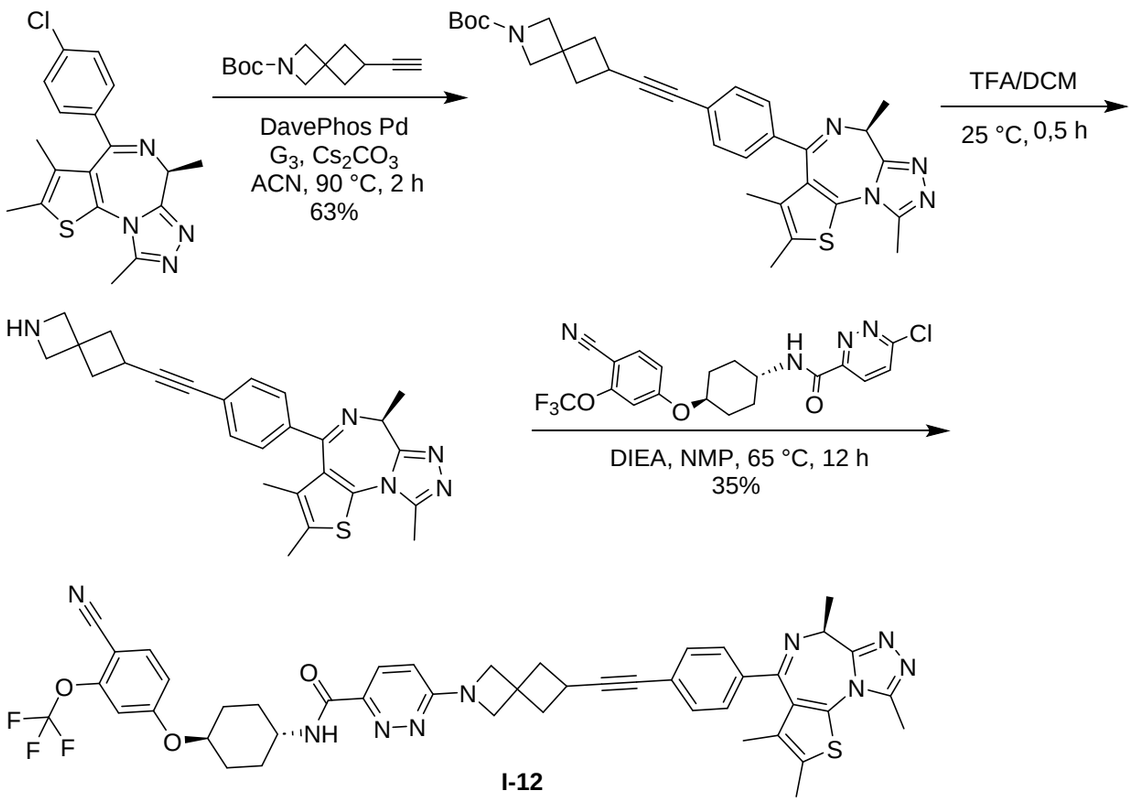
[0442] Etapa 2: Preparación de 6-[2-[4-[(9***S***)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-

azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo. Se purificó 6-[2-[4-[9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato *terc*-butilo mediante *prep*-SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AD (250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-ACN/*i*-PrOH (0,1 % $NH_3.H_2O$)]; B%: 45 %, modo de elución isocrático) para producir 6-[2-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (200 mg, 341 µmol, 83 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0443] Etapa 3: Preparación de (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 6-[2-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (100 mg, 171 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,5 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$ saturado a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 2 x 20 mL), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró para proporcionar (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (83 mg) como un aceite amarillo.

[0444] Etapa 4: Preparación de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-9). A una solución de (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (83 mg, 0,17 mmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (90 mg, 0,21 mmol, 1,2 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (66 mg, 0,51 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 66 %-86 % B durante 10 min) para producir *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (20 mg, 22 µmol, 13 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,93 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,76 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,47 – 7,40 (m, 4H), 7,13 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,89 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 4,60 – 4,48 (m, 1H), 4,29 – 4,23 (m, 5H), 4,03 – 3,92 (m, 1H), 3,87 – 3,73 (m, 2H), 3,35 (s, 3H), 3,28 – 3,23 (m, 1H), 2,77 – 2,69 (m, 7H), 2,51 – 2,44 (m, 5H), 2,21 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 2,10 (d, *J* = 3,8 Hz, 2H), 1,70 (s, 3H), 1,68 – 1,61 (m, 4H).

<u>EJEMPLO 5</u> – Síntesis de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7, 10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-12)



I-12

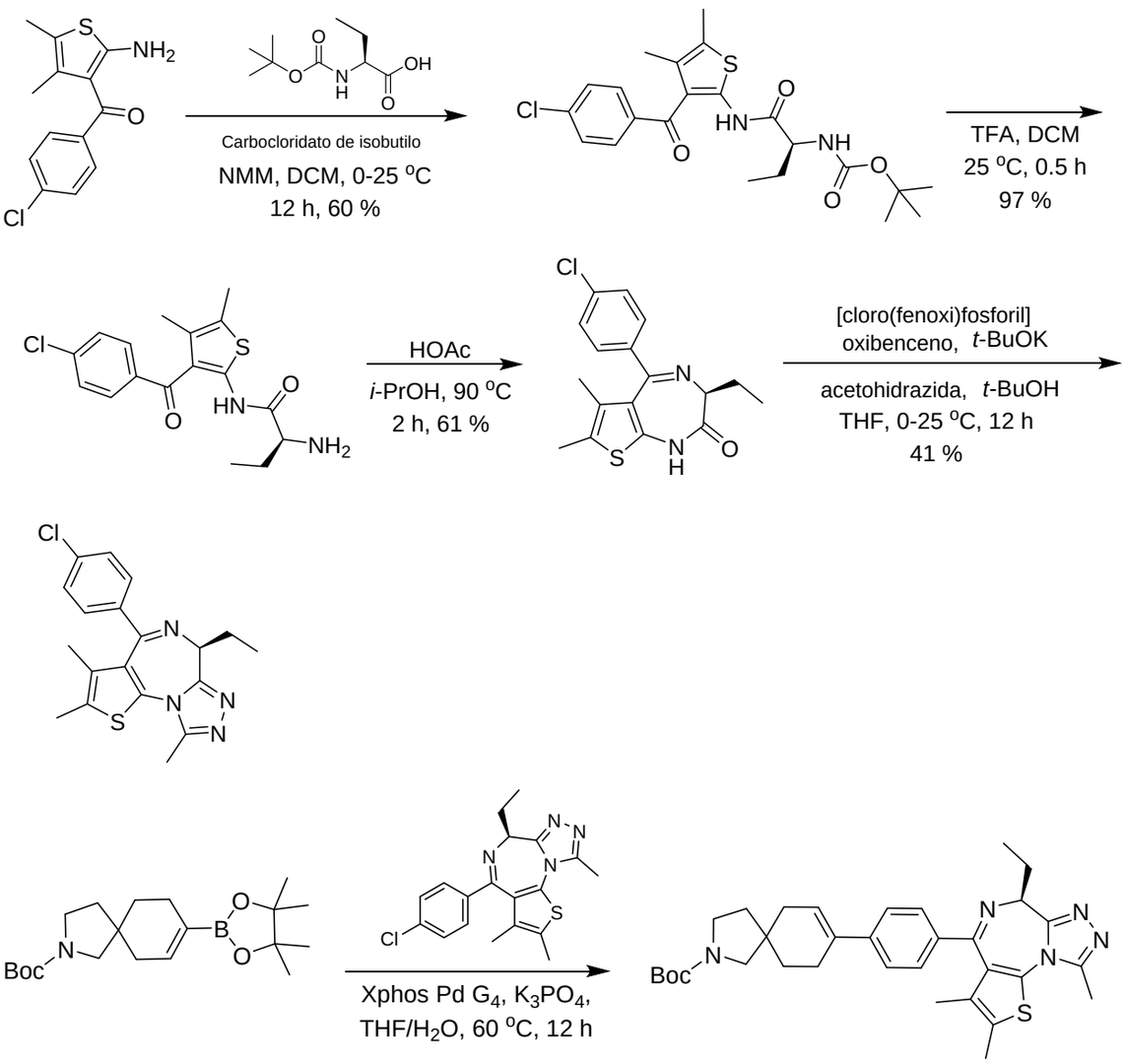
[0445] Etapa 1: Preparación de 6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3] heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (400 mg, 1,12 mmol, 1,0 *equiv*) y 6-etinil-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (620 mg, 2,80 mmol, 2,5 *equiv*) en ACN (5,0 mL) se agregó DavePhos Pd G_3 (86,0 mg, 112 µmol, 0,1 *equiv*) y Cs_2CO_3 (730 mg, 2,24 mmol, 2,0 *equiv*) en N_2. La suspensión se desgasificó al vacío y se purgó con N_2 tres veces. La mezcla se agitó a N_2 a 90 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante HPLC *preparativa*(columna: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 57 %-87 % B durante 15 min). Se obtuvo el compuesto 6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (380 mg, 701 µmol, 63 % rendimiento) como un aceite marrón.

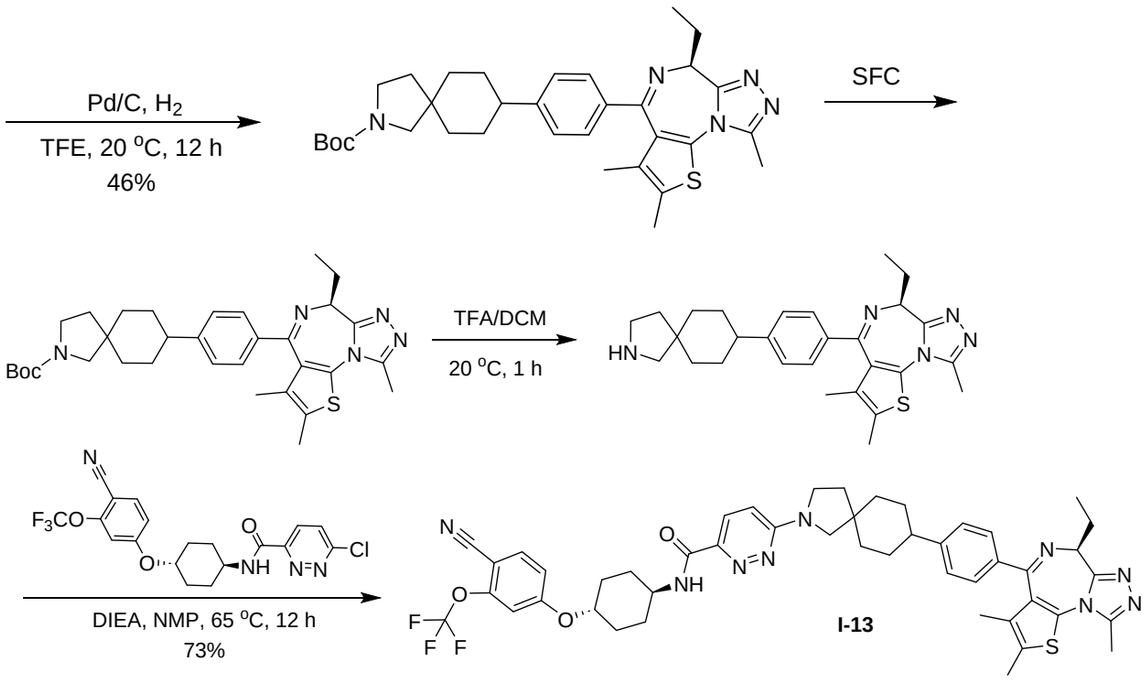
[0446] Etapa 2: Preparación de (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3] heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (100 mg, 185 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2,0 mL) se agregó TFA (1,0 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y basificó con $NaHCO_3$ acuoso y se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x 2) se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró a presión reducida para producir (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (82,0 mg, 185 µmol, 100 % rendimiento) como un aceite incoloro.

[0447] Etapa 3: Preparación de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-

2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-12). A una solución de 6-cloro-*N*-[4-(3-cloro-4-ciano-fenoxi)ciclohexil] piridazina-3-carboxamida (83,0 mg, 212 µmol, 1,3 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (63,0 mg, 490 µmol, 85 µL, 3,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi) fenoxi]ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (89,0 mg, 203 µmol, 1,1 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 53 %-73 % B durante min) para producir *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi] ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (54,68 mg, 64,64 µmol, 35 % rendimiento) como un sólido blancuzco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,91 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 7,76 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,46 – 7,40 (m, 4H), 7,15 – 7,11 (m, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,86 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 4,53 (br s, 1H), 4,33 – 4,22 (m, 5H), 3,98 (br d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 3,64 – 3,58 (m, 1H), 3,29 – 3,21 (m, 1H), 2,76 – 2,72 (m, 1H), 2,70 (s, 3H), 2,49 (br d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,21 (br s, 2H), 2,09 (br s, 2H), 2.–0 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,71 – 1,62 (m, 6H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,416 min, *m/z* = 860,5 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 6</u> – Síntesis de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi) ciclohexil)-6-(8-(4-((*S*)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (I-13)





[0448] Etapa 1: Preparación de *N*-[(1*S*)-1-[[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]carbamoil] propil] carbamato *terc*-butilo. A una solución de ácido (2*S*)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino) butanoico (4,6 g, 22,6 mmol, 3,0 *equiv*) en DCM (30 mL) se agregó NMM (4,6 g, 45 mmol, 5,0 mL, 6,0 *equiv*) y carbonocloridato de isobutilo (4,6 g, 33 mmol, 4,4 mL, 4,5 *equiv*) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. A continuación, se añadió (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil) –(4-clorofenil)metanona (2 g, 7,5 mmol, 1,0 *equiv*) y la mezcla se agitó a 25 °C durante 11 horas adicionales. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 62 %-92 % B durante 15 min) para proporcionar *N*-[(1*S*)-1-[[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]carbamoil] propil] carbamato de *terc*-butilo (1 g, 29 % rendimiento).

[0449] Etapa 2: Preparación de (2*S*)-2-amino-*N*-[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]butanamida. A una solución de *N*-[(1*S*)-1-[[3-(4-clorobenzoil)-4, 5-dimetil-2-tienil]carbamoil]propil] carbamato de *terc*-butilo (500 mg, 1,1 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (5 mL) se agregó TFA (1,3 g, 11,1 mmol, 823 µL, 10,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró. El producto, (2*S*)-2-amino-*N*-[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]butanamida, se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0450] Etapa 3: Preparación de (3*S*)-5- (4-clorofenil)-3-etil-6,7-dimetil-1,3-dihidrotieno[2,3-*e*][1,4]diazepin-2-ona. A una solución de (2*S*)-2-amino-*N*-[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]butanamida (380 mg, 1,1 mmol, 1,0 *equiv*) en *i*-PrOH (5 mL) se agregó AcOH (325 mg, 5,4 mmol, 310 µL, 5,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1 a 3*/*1) para proporcionar (3*S*)-5-(4-clorofenil)-3-etil-6,7-dimetil-1,3-dihidrotieno[2,3-*e*][1,4]diazepin-2-ona (220 mg, 61 % rendimiento).

[0451] Etapa 4: Preparación de (9*S*)-7-(4-clorofenil)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. Se agregó *terc*-butoxido de potasio (1 M, 859 µL, 1,3 *equiv*) a (3*S*)-5-(4-clorofenil)-3-etil-6,7-dimetil-1,3-

dihidrotieno[2,3-*e*][1,4]diazepin-2-ona (220 mg, 660 µmol, 1,0 *equiv*) en THF (5 mL) a -78 °C. La mezcla de reacción se calentó a -10 °C durante 0,5 horas y se agitó a 25 °C durante 0,5 horas adicionales. La mezcla de reacción se enfrió a -78 °C. Se añadió [cloro(fenoxi)fosforil]oxibenceno (230 mg, 859 µmol, 178 µL, 1,3 *equiv*) a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se calentó a -10 °C durante 0,75 horas. Luego, se añadió acetohidrazida (73 mg, 991 µmol, 1,5 *equiv*) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C. Después de 1 hora, se añadieron (5 ml) de *terc*-BuOH a la mezcla de reacción y la mezcla se calentó a 90 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex Luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 47 %-77 % B durante 10 min) para proporcionar (9*S*)-7-(4-clorofenil)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (100 mg, 41 % rendimiento).

[0452] Etapa 5: Preparación de 8-(4-((*S*)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo. Una mezcla de 8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (636 mg, 1,75 mmol, 1,0 *equiv*), (9*S*)-7-(4-clorofenil)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (650 mg, 1,75 mmol, 1,0 *equiv*), Xphos Pd G_4 (150 mg, 175 µmol, 0,1 *equiv*), y K_3PO_4 (1,12 g, 5,26 mmol, 3,0 *equiv*) en H_2O (1 mL) y THF (4 mL) se agitó a 60 °C durante 12 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo = 1:1 a 0:1) para producir 8-(4-((*S*)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4] diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,3 g, bruto) como un sólido amarillo.

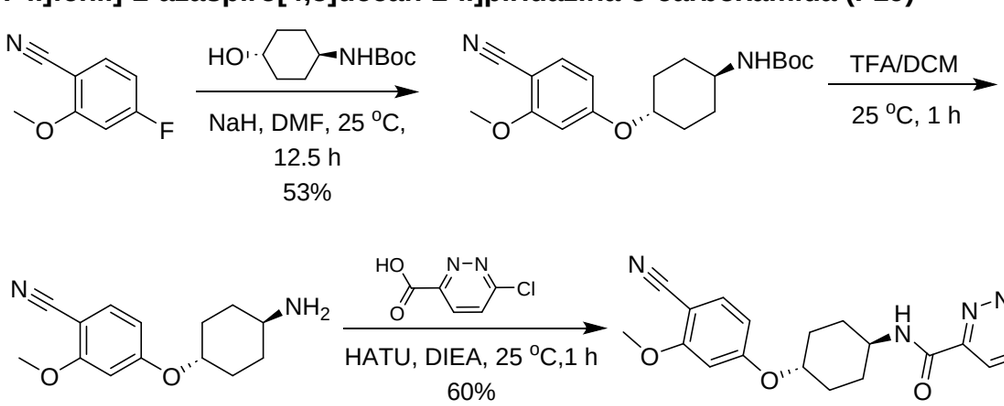
[0453] Etapa 6: Preparación de (*S*)-8-(4-(6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 8-(4-((*S*)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4] diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,3 mg, 2,3 mmol, 1,0 *equiv*) en TFE (4 mL) se agregó Pd/C (940 mg, 10 % pureza). La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; gradiente: 45 %-75 % B durante 10 min) para producir (*S*)-8-(4-(6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il) fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (600 mg, 1,05 mmol, 46 % rendimiento) como un sólido amarillo.

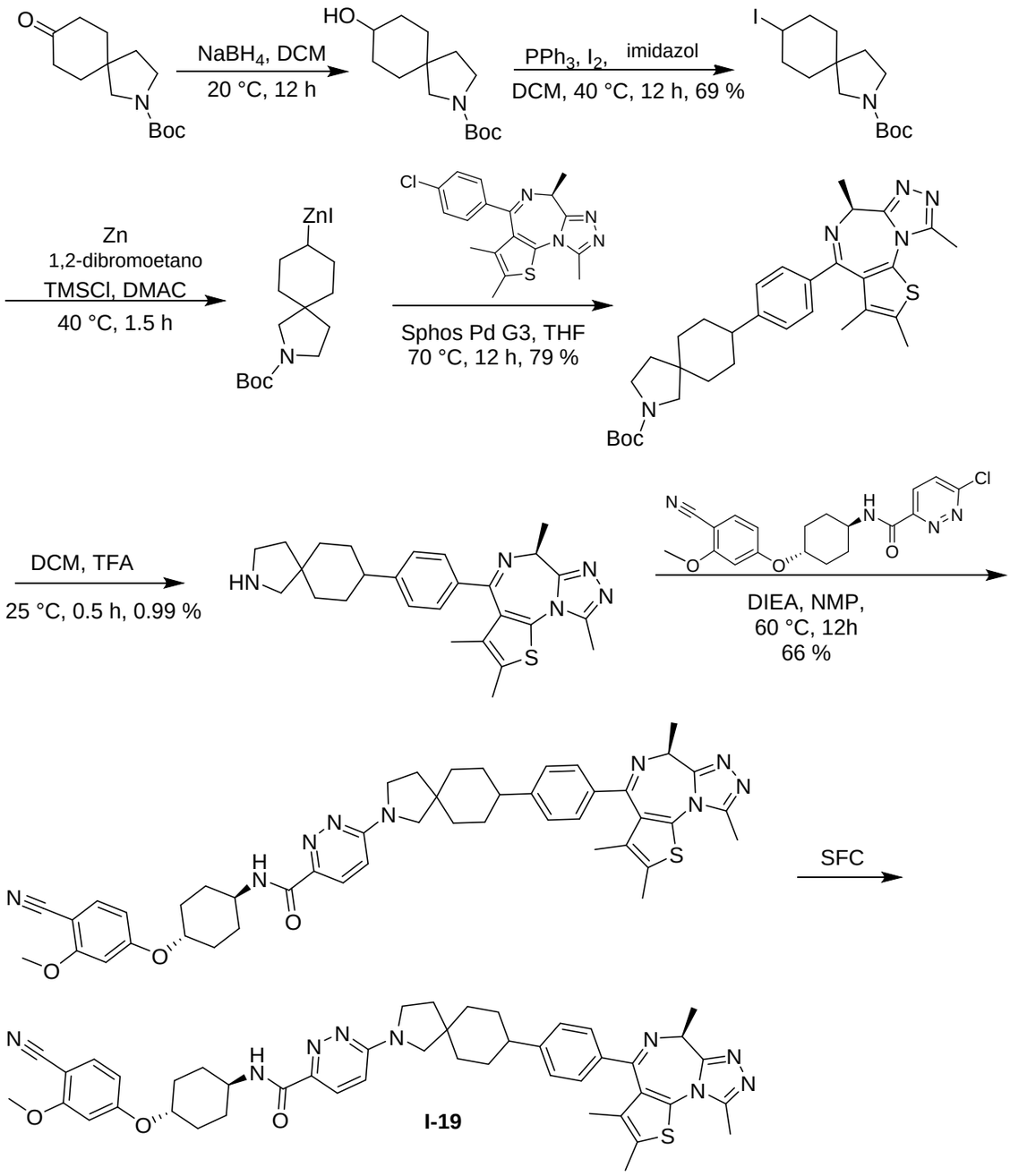
[0454] Etapa 7: Preparación de (*S*)-8-(4-(6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo.Se separó (*S*)-8-(4-(6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato (600 mg, 1,05 mmol) de *terc*-butilo mediante SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AD (250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-EtOH (0,1 % $NH_3.H_2O$)]; B %: 50 %, modo de elución isocrático) para producir (*S*)-8-(4-(6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (350 mg, 609 µmol).

[0455] Etapa 8: Preparación de (*S*)-4-(4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina. A una solución de (*S*)-8-(4-(6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (300 mg, 575 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$ acuoso. Después de la extracción con DCM/MeOH (10:1, 10 mL x 2), la fase orgánica se concentró para producir producto bruto, (*S*)-4-(4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il) fenil)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (270 mg, bruto), que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0456] Etapa 9: Preparación de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi) ciclohexil)-6-(8-(4-((*S*)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4] diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (I-13). A una solución de (*S*)-4-(4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (130 mg, 274 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (106 mg, 823 µmol, 143 µL, 3,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi)ciclohexil)piridazina-3-carboxamida (157 mg, 356 µmol, 1,3 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 50 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 60 %-90 % B durante 10 min) para producir *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-(trifluorometoxi) fenoxi)ciclohexil)-6-(8-(4-((*S*)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*] [1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (177 mg, 199 µmol, 73 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,92 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 7,76 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,45 – 7,38 (m, 2H), 7,37 – 7,29 (m, 2H), 7,14 (dd, *J* = 2,3, 8,8 Hz, 1H), 7,09 – 7,01 (m, 2H), 4,57 – 4,47 (m, 1H), 4,05 – 3,90 (m, 2H), 3,77 – 3,50 (m, 4H), 2,70 (s, 3H), 2,68 – 2,59 (m, 1H), 2,57 – 2,46 (m, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,29 – 2,18 (m, 2H), 2,15 – 2,04 (m, 2H), 1,96 (br t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 1,91 – 1,76 (m, 4H), 1,74 – 1,56 (m, 11H), 1,23 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,306 min, *m/z* = 878,6 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 7</u> – Síntesis de *N*-[(1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-19)





[0457] Etapa 1: Preparación de ((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo. A una solución de NaH (1,25 g, 31,21 mmol, 60 % pureza, 1,2 *equiv*) en DMF (60 mL) en atmósfera de N_2 a 0 °C se agregó ((1*r*,4*r*)-4-hidroxiciclohexil) carbamato de *terc*-butilo (5,6 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Después de 30 minutos, se añadió 4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo (3,93 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Se dejó que la mezcla de reacción se calentara lentamente hasta alcanzar los 25 °C y se agitó durante 12 horas. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (100 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 0:1 a 3:1) para producir ((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (4,8 g, 13,86 mmol, 53 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0458] Etapa 2: Preparación de 4-(((1*r*,4*r*)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxi-benzonitrilo. A una solución de ((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (0,5 g, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente para producir 4-(((1*r*,4*r*)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520

mg, 1,44 mmol, 99,99 % rendimiento, sal de TFA) como un aceite amarillo.

[0459] Etapa 3: Preparación de 6-cloro-*N*-[(1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi) ciclohexil]piridazina-3-carboxamida. A una solución de 4-(((1*r*,4*r*)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA) y ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico (229 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DMF (2 mL) se agregó HATU (823 mg, 2,16 mmol, 1,5 *equiv*) y DIEA (560 mg, 4,33 mmol, 754 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 49 %-69 % B durante 8 min) para producir 6-cloro-*N*-[(1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (337 mg, 871 µmol, 60 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0460] Etapa 4: Preparación de 8-hidroxi-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 8-oxo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 7,8 mmol, 1 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó $NaBH_4$ (400 mg, 10 mmol, 1,3 *equiv*). La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para obtener 8-hidroxi-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo bruto, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0461] Etapa 5: Preparación de 8-yodo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 8-hidroxi-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 7,8 mmol, 1 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó PPh_3 (2,8 g, 10 mmol, 1,4 *equiv*), imidazol (1,6 g, 23 mmol, 3 *equiv*), e I_2 (2,9 g, 11 mmol, 2 mL, 1,5 *equiv*). La mezcla se agitó a 40 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante prep-TLC (SiO_2, EA:PE = 5:1) para producir 8-yodo-2-azaspiro [4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 69 % rendimiento) como un aceite blanco.

[0462] Etapa 6: Preparación de (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-yodo-zinc. A una solución agitada de Zn (830 mg, 12 mmol, 5,8 *equiv*) en DMAC (2 mL) se agregó TMSCl (88 mg, 810 µmol, 102 µL, 0,37 *equiv*) y 1,2-dibromoehano (152 mg, 810 µmol, 61 µL, 0,37 *equiv*) en DMAC (1 mL) a 40 °C. Después de 30 minutos de agitación, se agregó 8-yodo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (800 mg, 2 mmol, 1 *equiv*). La mezcla se agitó a 40 °C durante 1 hora adicional y se filtró. Después de la filtración, el filtrado se concentró para obtener (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-yodo-zinc bruto, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0463] Etapa 7: Preparación de 8-[4-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de *terc*-butilo.** A una solución de (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-yodo-zinc (940 mg, 2 mmol, 3,8 *equiv*) y (9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (200 mg, 560 µmol, 1 *equiv*) en THF (1 mL) se agregó diciclohexil-[2-(2,6-dimetoxifenil)fenil]fosfano; metanosulfonato;(2-fenilanilino)paladio(1^+) (87 mg, 112 µmol, 0,2 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex Luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 65 %-95 % B durante 9 min) para producir 8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-

2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (250 mg, 79 % rendimiento) como un sólido amarillo.

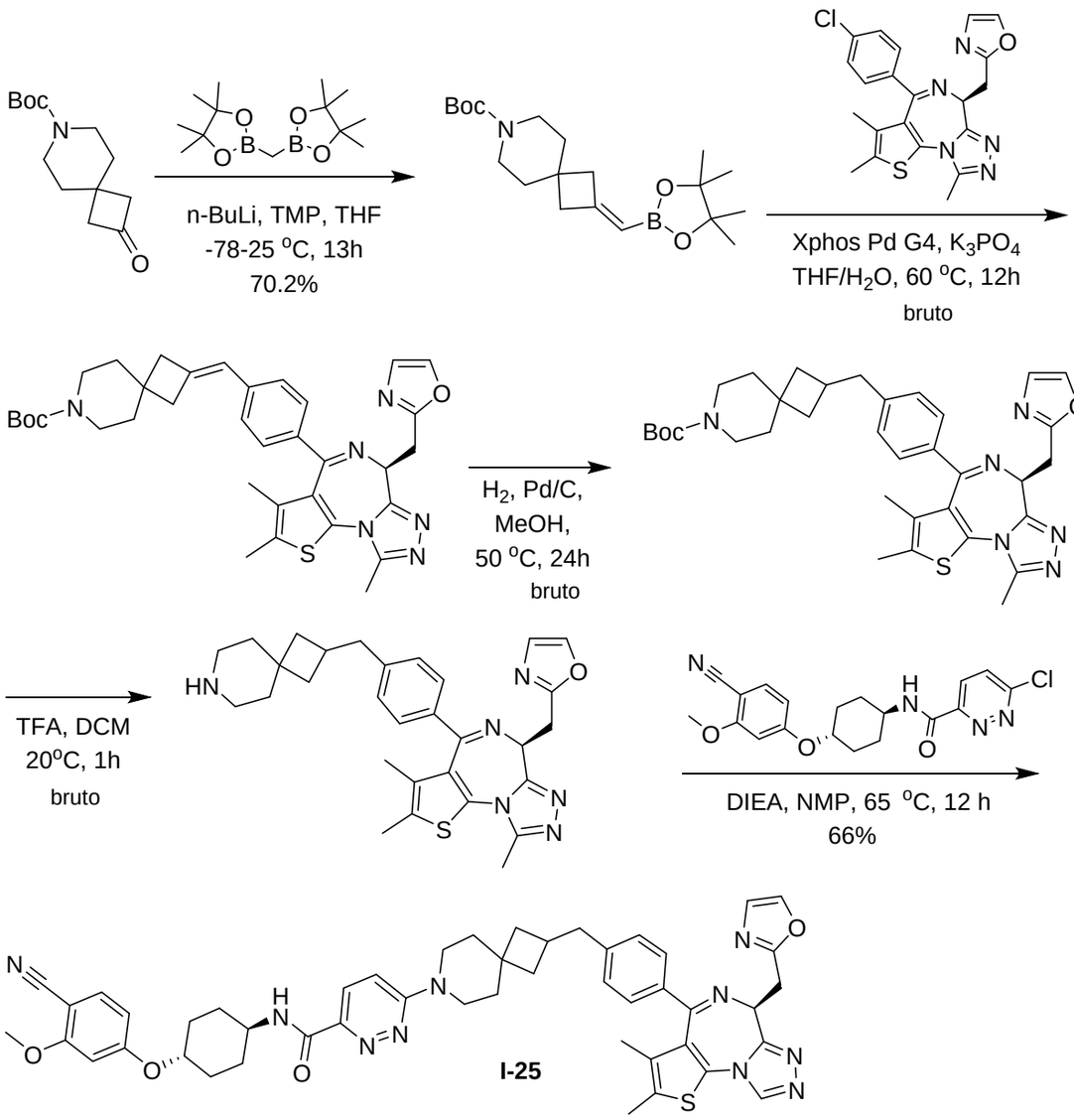
[0464] Etapa 8: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (830 mg, 1 mmol, 1 *equiv*) en DCM (3 mL) se agregó TFA (1 g, 13 mmol, 1 mL, 9 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se filtró, se diluyó con H_2O (20 mL) y se extrajo con acetato de etilo (30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. El producto bruto se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0465] Etapa 9: Preparación de *N*-[(1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida. A una solución de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (0,15 g, 326 µmol, 1 *equiv*) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (371 mg, 2 mmol, 0,5 mL, 8 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[(1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (138 mg, 358 µmol, 1,1 *equiv*). La mezcla se agitó a 60 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró, se diluyó con H_2O (20 mL) y se extrajo con acetato de etilo (30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, diclorometano:metanol = 10:1) para proporcionar *N*-[(1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5] decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (0,17 g, 195 µmol, 59 % rendimiento, 93 % pureza) como un sólido blanco.

[0466] Etapa 10: Preparación de *N*-[(1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-19).Se purificó *N*-[(1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (170 mg) mediante *prep*-SFC (columna: DAICEL CHIRALCEL OD (250 mm x 30 mm x 10 µm); fase móvil: [CO_2-ACN/MeOH (0,1 % $NH_3.H_2O$)]; B %: 65 %, modo de elución isocrático) para proporcionar *N*-[(1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi) ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (53 mg, 33 %) como un sólido blanco. ^{1}H NMR: (400 MHz, MeOD) δ = 7,94 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 7,52 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 7,46 – 7,40 (m, 2H), 7,38 – 7,32 (m, 2H), 7,06 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 6,72 – 6,64 (m, 2H), 4,58 (s, 1H), 4,55 – 4,46 (m, 1H), 4,34 – 4,24 (m, 1H), 4,05 – 3,96 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,74 – 3,52 (m, 4H), 2,72 (s, 3H), 2,44 (s, 3H), 2,24 (s, 2H), 2,16 – 2,08 (m, 2H), 2,04 – 1,94 (m, 5H), 1,92 – 1,82 (m, 4H), 1,72 – 1,62 (m, 10H). QCMS:

MS (ES^+): RT = 1,977 min, *m/z* = 810 [M+1]; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 8</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]piridazina-3-carboxamida (I-25)



[0467] Etapa 1: Preparación de 2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de TMP (18,50 g, 131,00 mmol, 22,24 mL, 2,09 *eq*) en THF (150 mL) se agregó *n*-BuLi (2,5 M, 52,40 mL, 2,09 *eq*) gota a gota a -30 °C. Después de la adición, la mezcla se agitó a -30 °C durante 1 hora, y luego se agregó 4,4,5,5-tetrametil-2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)metil]-1,3,2-dioxaborolano (25,53 g, 95,27 mmol, 1,52 *eq*) en THF (40 mL) gota a gota a -78 °C. La mezcla resultante se agitó a -78 °C durante 1 hora. A continuación, se agregó 2-oxo-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (15 g, 62,68 mmol, 1 *eq*) en THF (40 mL) a -78 °C. La mezcla se agitó a -78 °C durante 1 hora y luego se agitó a 25 °C durante 10 horas adicionales. La mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl acuoso (150 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (100 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron para dar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice (ISCO®; columna rápida de sílice SepaFlash® de 80 g, eluyente de un gradiente de acetato de etilo/éter de petróleo de 0~10 % a 100 mL/min). El compuesto 2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (16 g, 44,04 mmol, 70,26 % rendimiento) se obtuvo como un aceite

amarillo.

[0468] Etapa 2: Preparación de 2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]metileno]-7-azaspiro[3,5] nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo. Una mezcla de 2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (1,29 g, 3,55 mmol, 1,51 *eq*), 2-[[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (1 g, 2,36 mmol, 1 *eq*), Xphos Pd G_4 (203 mg, 235,92 µmol, 0,1 *eq*), y K_3PO_4 (1,00 g, 4,72 mmol, 2 *eq*) en THF (10 mL) y H_2O (1 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. La mezcla se agitó a 60 °C durante 12 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida en gel de sílice (ISCO®; columna rápida de sílice SepaFlash® de 40 g, eluyente de 0~9 % DCM/MeOH a 30 mL/min). El compuesto 2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (1,85 g, bruto) se obtuvo como un sólido amarillo.

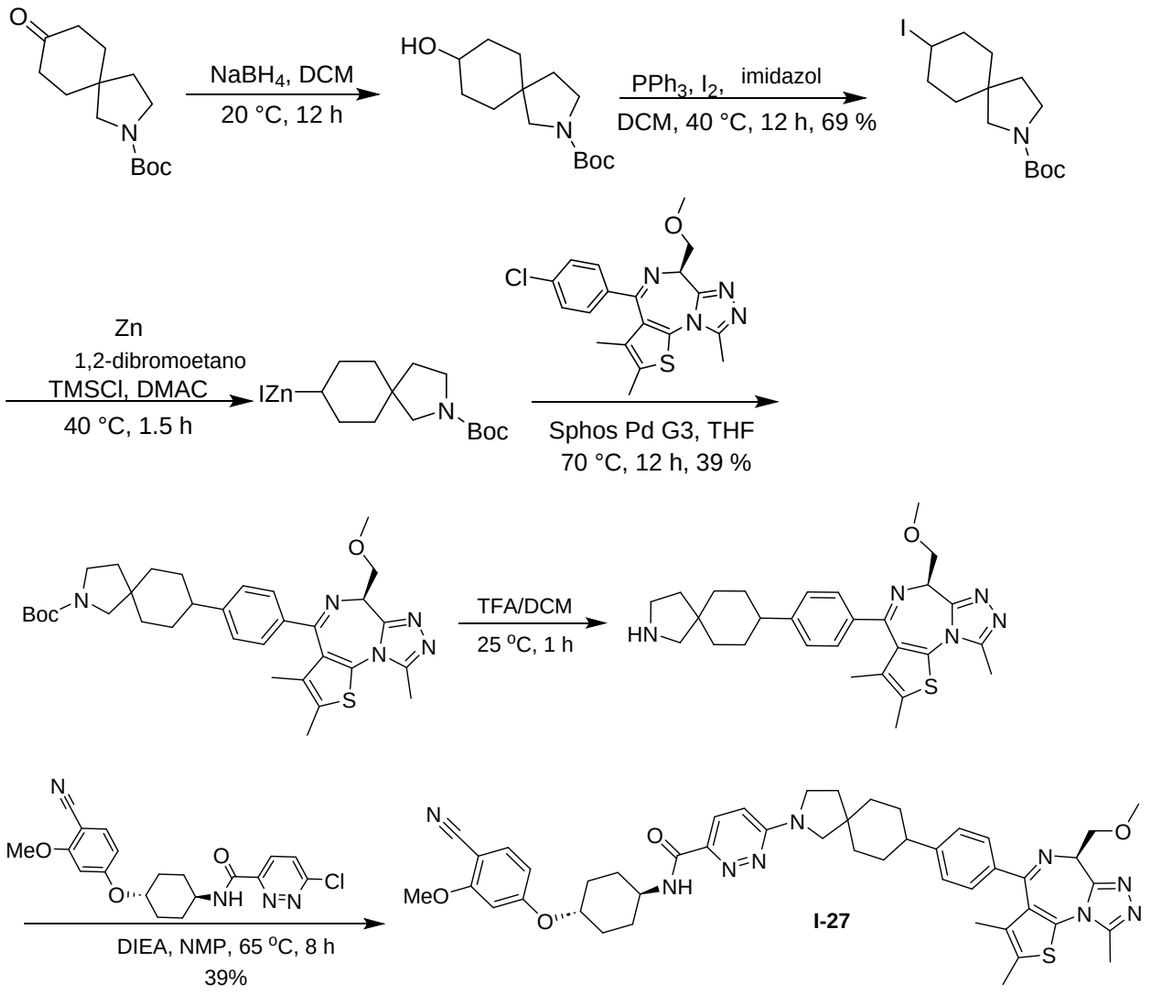
[0469] Etapa 3: Preparación de 2-[[4-[(9***S***)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]metil]-7-azaspiro [3,5] nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo**. A una solución de 2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (850 mg, 1,36 mmol, 1 *eq*) en MeOH (10 mL) se agregó Pd/C (300 mg, 281,90 µmol, 10 % pureza, 2,07 x 10^{-1} *eq*) en atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó con H_2 tres veces. La mezcla se agitó en H_2 (50 psi) a 50 °C durante 24 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El compuesto 2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]metilo]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (720 mg, bruto) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0470] Etapa 4: Preparación de 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-ilmetil)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil] oxazol. A una solución de 2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] metil]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (720 mg, 1,15 mmol, 1 *eq*) en DCM (8 mL) se agregó TFA (2,30 g, 20,19 mmol, 1,5 mL, 17,58 *eq*). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se diluyó con $NaHCO_3$ acuoso (20 mL) y se extrajo con DCM (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El compuesto 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-ilmetil)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil] oxazol (540 mg, bruto) se obtuvo como un sólido blancuzco.

[0471] Etapa 5: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]piridazina-3-

carboxamida (I-25). A una solución de 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-ilmetil)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (160 mg, 304 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (118 mg, 911 µmol, 159 µL, 3,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil] piridazina-3-carboxamida (153 mg, 395 µmol, 1,3 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 64 %-94 % B durante 10 min) para producir el compuesto *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]piridazina-3-carboxamida (178 mg, 200 µmol, 66 % rendimiento) como un sólido blancuzco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,93 – 7,79 (m, 2H), 7,49 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 7,35 – 7,24 (m, 3H), 7,22 – 7,15 (m, 2H), 7,14 – 7,08 (m, 1H), 6,71 – 6,57 (m, 2H), 4,82 – 4,69 (m, 1H), 4,58 – 4,34 (m, 1H), 3,93 (br s, 3H), 3,92 – 3,88 (m, 3H), 3,73 – 3,57 (m, 4H), 2,84 – 2,72 (m, 2H), 2,71 – 2,66 (m, 3H), 2,63 – 2,51 (m, 1H), 2,47 – 2,35 (m, 3H), 2,25 – 2,04 (m, 4H), 2,02 – 1,93 (m, 2H), 1,76 – 1,49 (m, 13H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,426 min, *m/z* = 877,4 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 9</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-27)



[0472] Etapa 1: Preparación de 8-hidroxi-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 8-oxo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 7,8 mmol, 1 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó $NaBH_4$ (400 mg, 10 mmol, 1,3 *equiv*). La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión

reducida para obtener 8-hidroxi-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo bruto, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0473] Etapa 2: Preparación de 8-yodo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 8-hidroxi-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 7,8 mmol, 1 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó PPh_3 (2,8 g, 10 mmol, 1,4 *equiv*), imidazol (1,6 g, 23 mmol, 3 *equiv*), e I_2 (2,9 g, 11 mmol, 2 mL, 1,5 *equiv*). La mezcla se agitó a 40 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y concentró a presión reducida para proporcionar un residuo, que se purificó mediante prep-TLC (SiO_2, acetato de etilo:éter de petróleo = 5:1) para producir 8-yodo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 69 % rendimiento) como un aceite blanco.

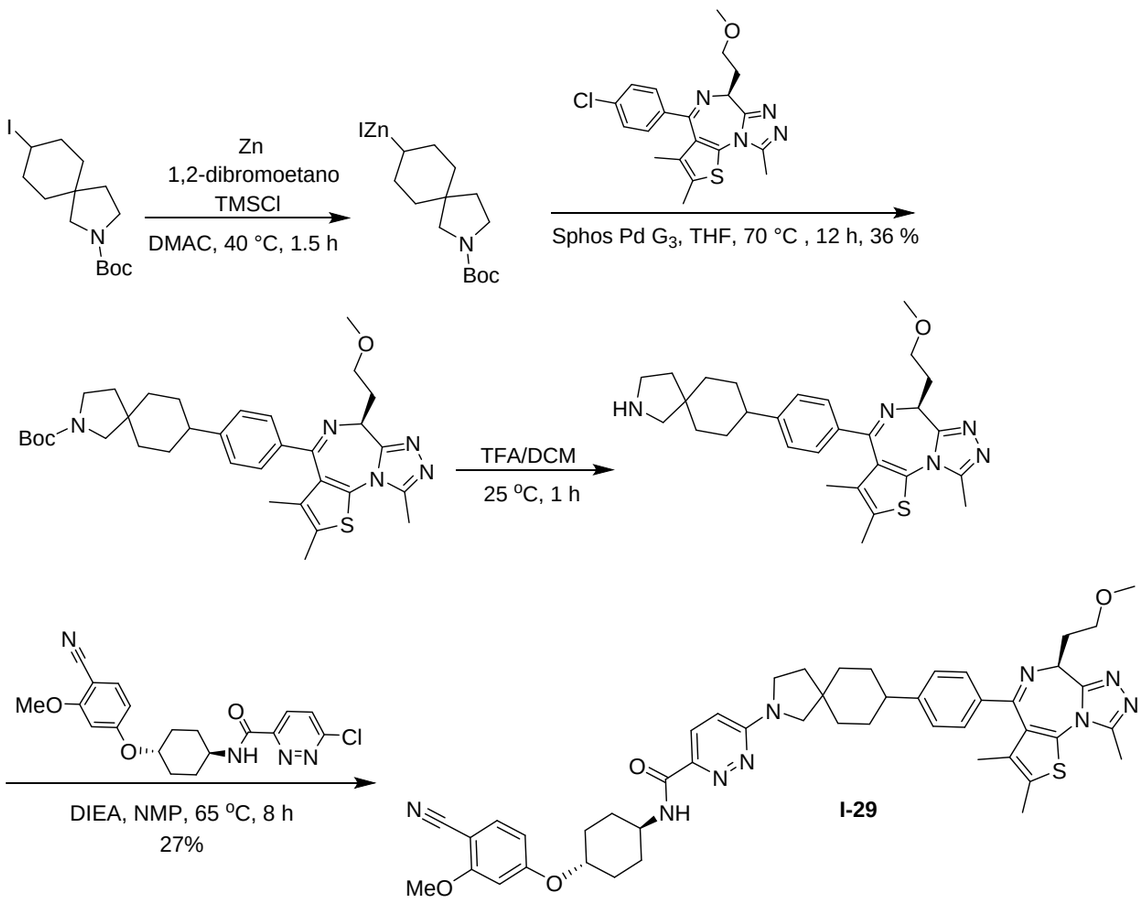
[0474] Etapa 3: Preparación de (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-yodo-zinc. A una solución agitada de Zn (830 mg, 12 mmol, 5,8 *equiv*) en DMAC (2 mL) se agregó TMSCl (88 mg, 810 µmol, 102 µL, 0,37 *equiv*) y 1,2-dibromoehano (152 mg, 810 µmol, 61 µL, 0,37 *equiv*) en DMAC (1 mL) a 40 °C. Después de agitar durante 30 minutos, se agregó 8-yodo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (800 mg, 2 mmol, 1 *equiv*). La mezcla se agitó a 40 °C durante 1 hora adicional y luego se filtró. El filtrado se concentró para obtener el producto bruto (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-yodo-zinc.

[0475] Etapa 4: Preparación de 8-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (9*R*)-7-(4-clorofenil)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12- tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7, 10,12-pentaeno (202 mg, 522 µmol, 1 *equiv*) y (2-*terc*- butoxicarbonil-2-azaspiro [4,5]decan-8-il)-yodo-zinc (900 mg, 2,09 mmol, 4 *equiv*) en THF (2 mL) se agregó Sphos Pd G_3 (81 mg, 104 µmol, 0,2 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (80 mL) y se extrajo con EtOAc (80 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (300 mL), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (condición de FA; columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 66 %-96 % B durante 10 min) para proporcionar 8-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca- 2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (120 mg, 39 % rendimiento).

[0476] Etapa 5: Preparación de (9*R*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (70 mg, 118 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,5 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró, se basificó con $NaHCO_3$ acuoso y se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 10 mL x 3). La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y se concentró para proporcionar (9*R*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (110 mg, 224 µmol) como un sólido amarillo.

[0477] Etapa 6: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-27). A una solución de (9*R*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (55 mg, 112 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (56 mg, 146 µmol, 1,3 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (45 mg, 336 µmol, 0,1 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 8 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 x 25 mm 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 60 %-80 % B durante 8 minutos) para producir *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (38,17 mg, 44,31 µmol, 39,45 % rendimiento, 97,51 % pureza) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,94 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 7,53 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,48 – 7,41 (m, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,07 (br d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 6,72 – 6,62 (m, 2H), 4,47 – 4,32 (m, 3H), 4,05 – 3,96 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,74 – 3,53 (m, 7H), 2,77 – 2,61 (m, 4H), 2,46 (s, 3H), 2,29 – 2,18 (m, 2H), 2,13 (br d, *J* = 4,0 Hz, 2H), 1,98 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 1,86 – 1,86 (m, 1H), 1,92 – 1,80 (m, 4H), 1,74 – 1,59 (m, 11H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,115 min, *m/z* = 840,1 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 10</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-29)



[0478] Etapa 1: Preparación de (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-yodo-zinc. A una solución agitada de Zn (1,4 g, 22 mmol, 10 *equiv*) en DMAC (2 mL) se agregó TMSCl (88 mg, 810 µmol, 102 µL, 0,37 *equiv*) y 1,2-dibromoetano (152 mg, 810 µmol,

61 µL, 0,37 *equiv*) en DMAC (1 mL) a 40 °C. Después de agitar durante 30 minutos, se agregó 8-yodo-2-azaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (800 mg, 2 mmol, 1 *equiv*). La mezcla se agitó a 40 °C durante 1 hora adicional y se filtró. El filtrado se concentró para obtener (2-*terc*-butoxi-carbonil-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-yodo-zinc bruto, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

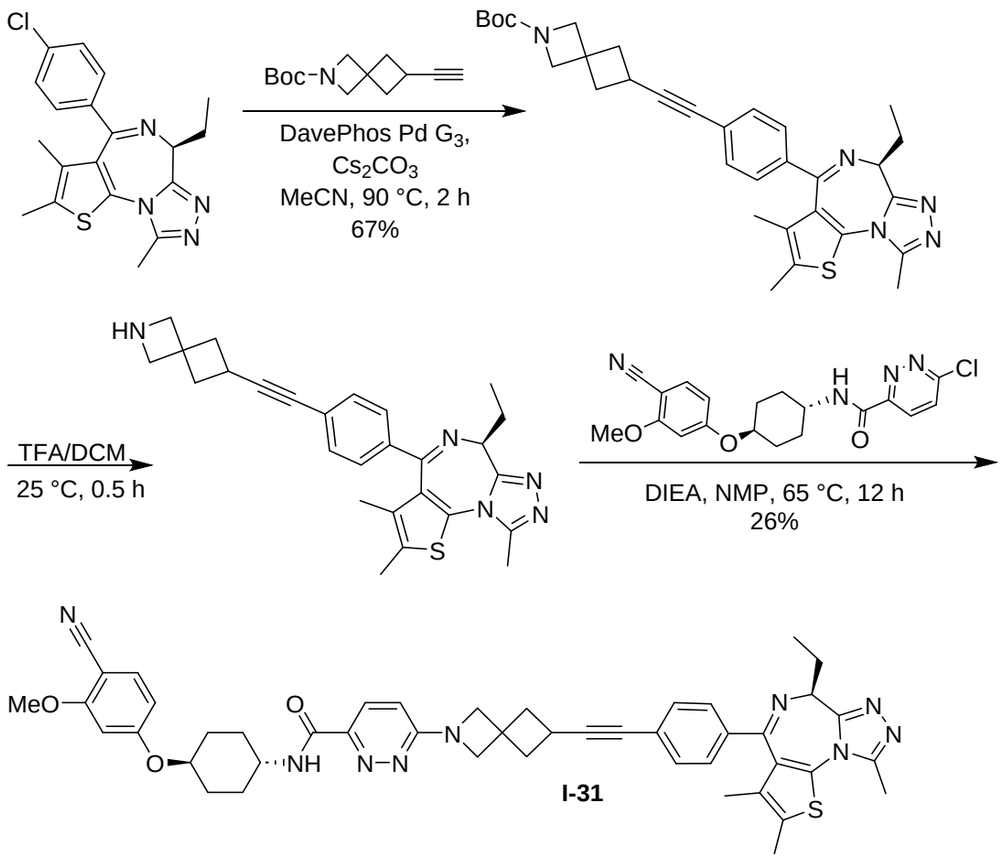
[0479] Etapa 2: Preparación de 8-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5] decan-8-il)-yodo-zinc (940 mg, 2 mmol, 4 *equiv*) y (9*S*)-7-(4-clorofenil)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7, 10,12-pentaeno (200 mg, 498 µmol, 1 *equiv*) en THF (1 mL) se agregó Sphos Pd G_3 (77 mg, 99 µmol, 0,2 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 68 %-98 % B durante 10 min) para producir 8-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (110 mg, 182 µmol, 36 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0480] Etapa 3: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (75 mg, 124 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,5 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró, se basificó con $NaHCO_3$ acuoso y se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 10 mL x 3). La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró para producir (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (120 mg, 238 µmol) como un sólido amarillo.

[0481] Etapa 4: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-29). A una solución de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (60 mg, 120 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (60 mg, 155 µmol, 1,3 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (50 mg, 357 µmol, 0,1 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 8 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 x 25 mm 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 60 %-80 % B durante 8 min) para proporcionar *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (28,66 mg, 32,78 µmol, 27,51 % rendimiento, 97,67 % pureza) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,94 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 7,56 – 7,49 (m, 1H), 7,47 – 7,40 (m, 2H), 7,38 – 7,32 (m, 2H), 7,07 (br d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 6,71 – 6,65 (m, 2H), 4,27 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,05 – 3,96

(m, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,88 – 3,82 (m, 1H), 3,82 – 3,75 (m, 1H), 3,72 – 3,58 (m, 4H), 3,37 (s, 3H), 2,73 – 2,72 (m, 1H), 2,77 – 2,71 (m, 5H), 2,69 – 2,61 (m, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,28 – 2,20 (m, 2H), 2,16 – 2,08 (m, 2H), 1,98 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 1,92 – 1,83 (m, 4H), 1,70 – 1,63 (m, 11H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,145 min, *m/z* = 854,1 [$M+H^+$]; método LCMS: 25.

EJEMPLO 11 – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-31)



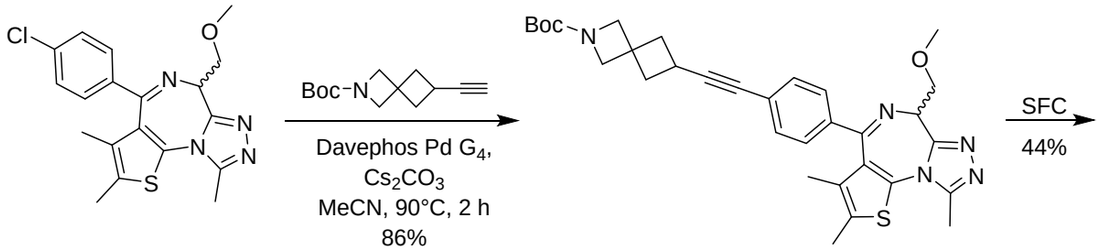
[0482] Etapa 1: Preparación de 6-[2-[4-[(9*S*)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (9*S*)-7-(4-clorofenil)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (400 mg, 1,08 mmol, 1,0 *equiv*), 6-etinil-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (597 mg, 2,70 mmol, 2,5 *equiv*), y Cs_2CO_3 (597 mg, 2,70 mmol, 2,5 *equiv*) en MeCN (8 mL) se agregó DavePhos Pd G_3 (82 mg, 0,11 mmol, 0,1 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 2 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para obtener el producto bruto. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 70 %-90 % B durante 10 min) para proporcionar 6-[2-[4-[(9*S*)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (400 mg, 720 µmol, 67 % rendimiento) como un sólido blanco.

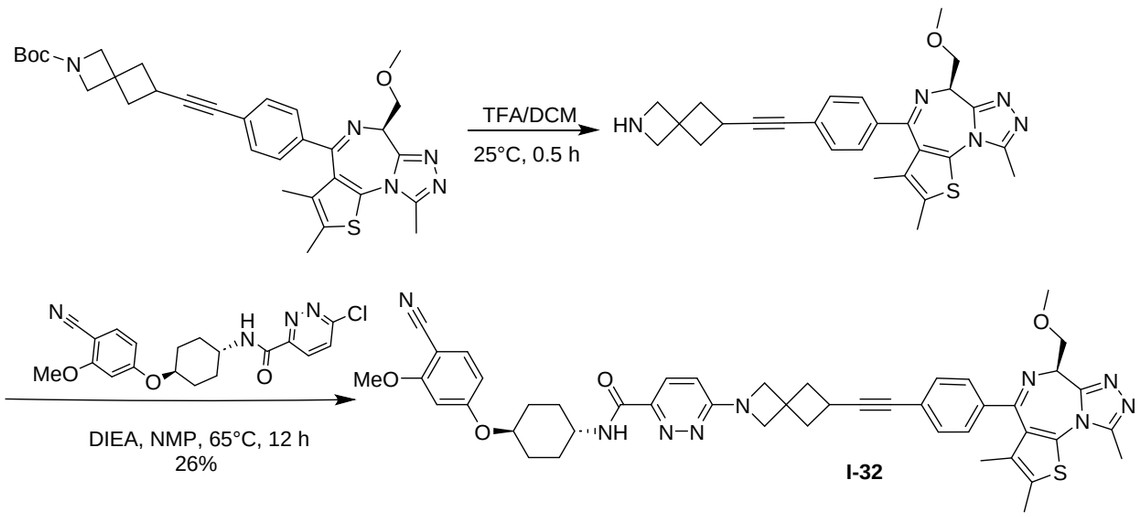
[0483] Etapa 2: Preparación de (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 6-[2-[4-[(9*S*)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3] heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (100 mg, 180 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,5 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$

saturado a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x 2), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para dar (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3] heptan-6-il)etinil]fenil]-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (82 mg) como un aceite amarillo.

[0484] Etapa 3: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-31). A una solución de (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (82 mg, 0,18 mmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi) ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (84 mg, 0,22 mmol, 1,2 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (70 mg, 0,54 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. A la mezcla de reacción se le añadió agua (10 mL) y la mezcla se extrajo con EtOAc (10 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 10 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 62 %-82 % B durante 10 min) para proporcionar *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (38 mg, 47 µmol, 26 % rendimiento) como un sólido gris. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,91 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 7,50 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,47 – 7,39 (m, 4H), 6,85 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 6,70 – 6,62 (m, 2H), 4,53 – 4,42 (m, 1H), 4,24 (d, *J* = 6,2 Hz, 4H), 4,02 – 3,94 (m, 2H), 3,92 (s, 3H), 3,25 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H), 2,77 – 2,67 (m, 5H), 2,51 (s, 7H), 2,21 (d, *J* = 5,0 Hz, 2H), 2,14 – 2,03 (m, 2H), 1,70 (s, 3H), 1,63 (t, *J* = 9,6 Hz, 4H), 1,23 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,237 min, *m/z* = 806,5 $[M+H]^+$.

<u>EJEMPLO 12</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-32)





[0485] Etapa 1: Preparación de 6-[2-[4-[9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (9*R*)-7-(4-clorofenil)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (400 mg, 1,03 mmol, 1,0 *equiv*) y 6-etinil-2-azaspiro[3,3] heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (572 mg, 2,58 mmol, 2,5 *equiv*) en MeCN (5 mL) se agregó DavePhos Pd G_3 (79 mg, 103 µmol, 0,1 *equiv*) y Cs_2CO_3 (674 mg, 2,07 mmol, 2,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 2 horas. La mezcla se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 56 %-86 % B durante 10 min) para proporcionar 6-[2-[4-[9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (450 mg, 787 µmol, 76 % rendimiento) como un aceite incoloro.

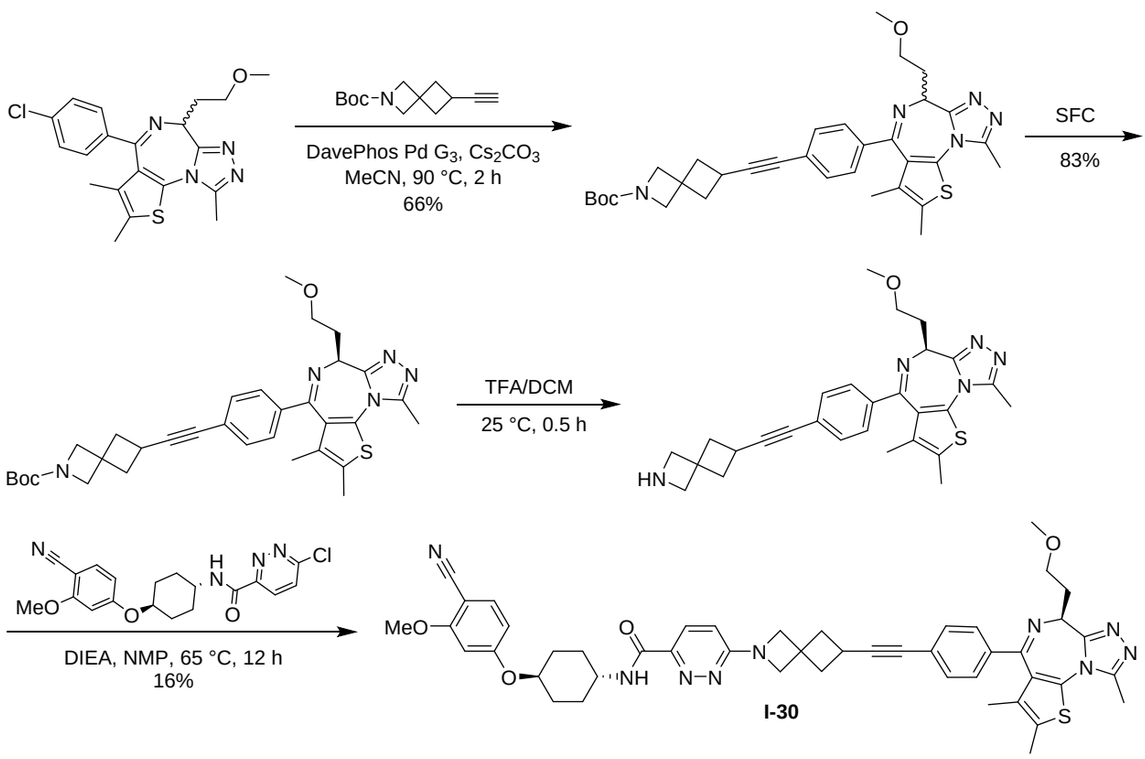
[0486] Etapa 2: Preparación de *terc*-butilo-6-[2-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato.Se purificó 6-[2-[4-[9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo mediante *prep*-SFC(columna: DAICEL CHIRALPAK AS(250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-EtOH]; B%: 40 %, modo de elución isocrático) y *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 58 %-88 % B durante 10 min) para producir *terc*-butilo-6-[2-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3] heptano-2-carboxilato (200 mg, 350 µmol, 44 % rendimiento) como un aceite incoloro.

[0487] Etapa 3: Preparación de (9*R*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 6-[2-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (190 mg, 332 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$ saturado a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 50 mL x 2), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró para producir (9*R*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-

tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (157 mg, bruto) como un aceite incoloro.

[0488] Etapa 4: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-32). A una solución de (9*R*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil] fenil]-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (78 mg, 165 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (71 mg, 182 µmol, 1,1 *equiv*) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (64 mg, 496 µmol, 86 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 52 %-82 % B durante 10 min) para producir *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (35 mg, 42 µmol, 26 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,93 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,54 – 7,42 (m, 5H), 6,87 (d, *J* = 9,2Hz, 1H), 6,67 (s, 2H), 4,54 – 4,42 (m, 2H), 4,41 – 4,34 (m, 2H), 4,26 (d, *J* = 6,4 Hz, 4H), 4,03 – 3,96 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,57 (s, 3H), 3,27 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 2,79 – 2,73 (m, 2H), 2,72 (s, 3H), 2,54 – 2,47 (m, 2H), 2,47 (s, 3H), 2,23 (s, 2H), 2,16 – 2,07 (m, 2H), 1,72 (s, 3H), 1,65 (t, *J* = 9,8 Hz, 4H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,47min, *m/z* = 822,4 $[M+H]^+$; método LCMS: 10.

<u>EJEMPLO 13</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-30)



[0489] Etapa 1: Preparación de 6-[2-[4-[9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] etin il]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (9*S*)-7-(4-clorofenil)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (250 mg, 624 µmol, 1,0 *equiv*), 6-etinil-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-

butilo (345 mg, 1,56 mmol, 2,5 *equiv*), y Cs_2CO_3 (406 mg, 1,25 mmol, 2,0 *equiv*) en MeCN (5 mL) se agregó DavePhos Pd G_3 (47 mg, 62 µmol, 0,1 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 2 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para obtener el producto bruto. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 68 %-88 % B durante 10 min) para producir 6-[2-[4-[9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (240 mg, 410 µmol, 66 % rendimiento) como un sólido blanco.

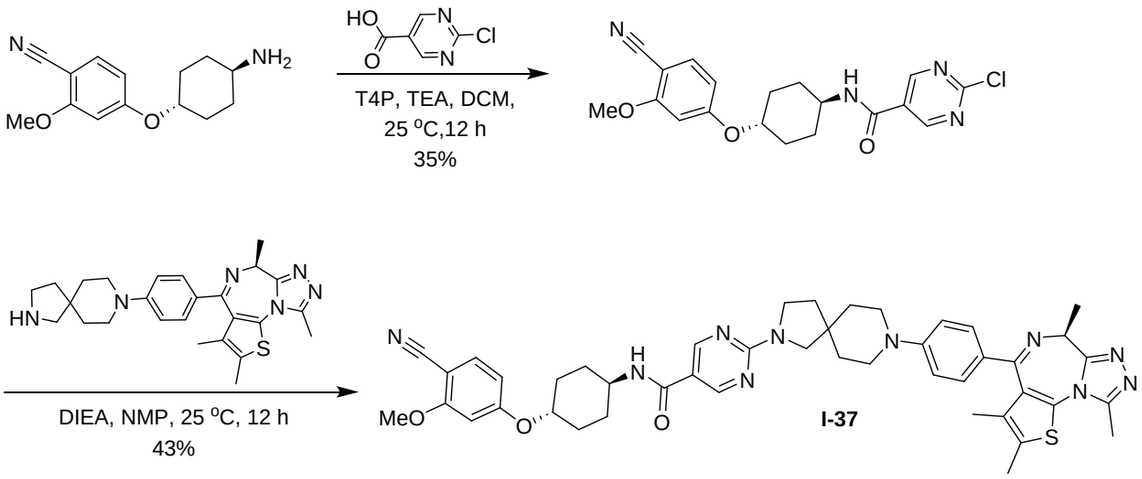
[0490] Etapa 2: Preparación de 6-[2-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo. Se purificó 6-[2-[4-[9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato *terc*-butilo mediante *prep*-SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AD (250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-ACN/*i*-PrOH (0,1 % $NH_3.H_2O$)]; B%: 45 %, modo de elución isocrático) para producir 6-[2-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (200 mg, 341 µmol, 83 % rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco.

[0491] Etapa 3: Preparación de (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 6-[2-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (100 mg, 171 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,5 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$ saturado a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 2 x 20 mL), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró para proporcionar (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (83 mg) como un aceite amarillo.

[0492] Etapa 4: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-30). A una solución de (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil] fenil]-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (83 mg, 0,17 mmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (80 mg, 0,21 mmol, 1,2 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (66 mg, 0,51 mmol, 3,0 *equiv*). El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 57 %-77 % B durante 10 min) para producir *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (24 mg, 28 µmol, 16 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,91 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 7,50 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,47 – 7,40 (m, 4H), 6,85 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 6,69 – 6,64 (m, 2H), 4,53 – 4,45 (m, 1H), 4,29 – 4,21 (m, 5H), 4,02 – 3,94 (m, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,87 – 3,73 (m, 2H), 3,35 (s, 3H), 3,28 – 3,23

(m, 1H), 2,76 – 2,67 (m, 7H), 2,51 – 2,43 (m, 5H), 2,27 – 2,16 (m, 2H), 2,09 (s, 2H), 1,70 (s, 3H), 1,63 (t, *J* = 9,8 Hz, 4H).

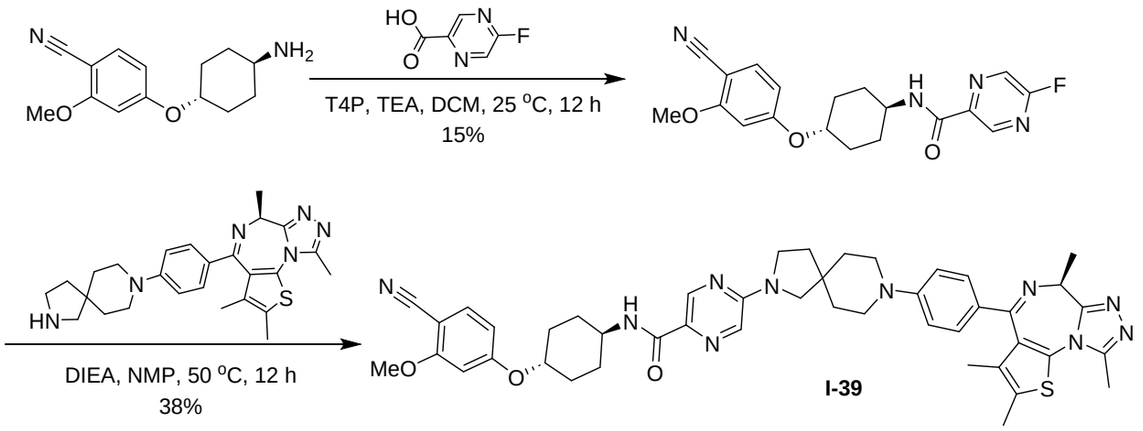
EJEMPLO 14 – Síntesis de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-2-(8-(4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il)pirimidina-5-carboxamida (I-37)



[0493] Etapa 1: Preparación de 2-cloro-*N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)pirimidina-5-carboxamida. A una solución de 4-(((1*r*,4*r*)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (500 mg, 1,39 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA) y ácido 2-cloropirimidina-5-carboxílico (286 mg, 1,80 mmol, 1,3 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó T4P (1,69 g, 2,35 mmol, 50 % pureza, 1,7 *equiv*) y TEA (421 mg, 4,16 mmol, 579 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un producto bruto. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters Xbridge C18 150 mm x 50 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 30 %-60 % B durante 10 min) para producir 2-cloro-*N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)pirimidina-5-carboxamida (190 mg, 491 µmol, 35 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0494] Etapa 2: Preparación de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-2-(8-(4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il)pirimidina-5-carboxamida (I-37). A una solución de (*S*)-4-(4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (75 mg, 163 µmol, 1,0 *equiv*) y 2-cloro-*N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)pirimidina-5-carboxamida (69 mg, 179 µmol, 1,1 *equiv*)) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (63 mg, 488 µmol, 85 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 46 %-66 % B durante 8 min) para proporcionar *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-2-(8-(4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il) pirimidina-5-carboxamida (59 mg, 69 µmol, 43 % rendimiento, 95 % pureza) como un sólido amarillo. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8,75 (s, 2H), 7,50 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,34 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,97 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,69 – 6,57 (m, 2H), 4,58 (br s, 3H), 4,48 – 4,38 (m, 1H), 4,23 (q, *J* = 6,7 Hz, 1H), 3,91 (s, 4H), 3,71 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,55 (s, 2H), 3,49 – 3,39 (m, 2H), 2,69 (s, 3H), 2,44 (s, 3H), 2,28 – 2,16 (m, 2H), 2,07 (br d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 2,02 – 1,93 (m, 5H), 1,82 – 1,69 (m, 7H), 1,65 – 1,49 (m, 4H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 1,825 min, *m/z* = 811,6 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

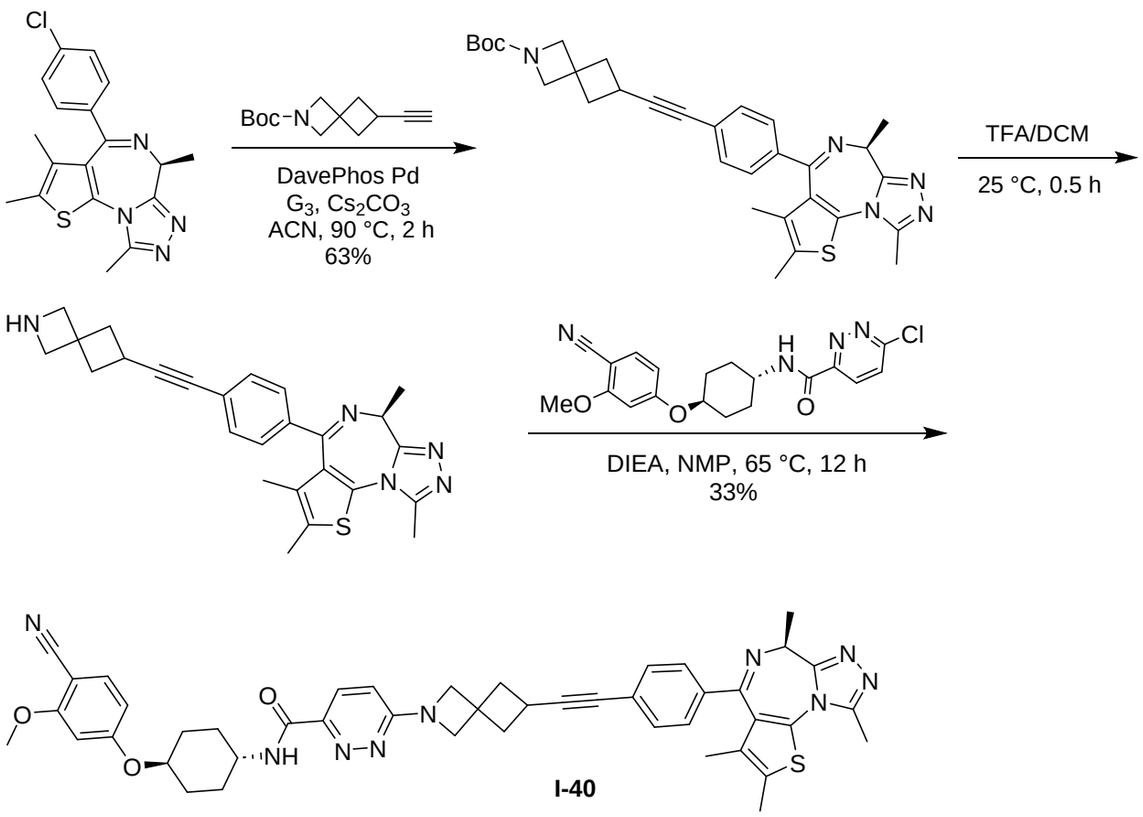
EJEMPLO 15 – Síntesis de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-5-(8-(4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il)pirazina-2-carboxamida (I-39)



[0495] Etapa 1: Preparación de *N*-((*1r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-5-fluoropirazina-2-carboxamida. A una solución de 4-(((1*r*,4*r*)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (500 mg, 1,39 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA) y ácido 5-fluoropirazina-2-carboxílico (286 mg, 1,80 mmol, 1,3 *equiv*) en DCM (4 mL) se agregó T4P (1,69 g, 2,35 mmol, 50 % pureza, 1,7 *equiv*) y TEA (421 mg, 4,16 mmol, 579 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un producto bruto. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters Xbridge C18 150 x 50mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 33 %-63 % B durante 10 min) para proporcionar el compuesto *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-5-fluoropirazina-2-carboxamida (80 mg, 207 µmol, 15 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0496] Etapa 2: Preparación de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-5-(8-(4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il)pirazina-2-carboxamida (I-39). A una solución de (*S*)-4-(4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4] diazepina (76 mg, 196 µmol, 1,1 *equiv*) y *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)-5-fluoropirazina-2-carboxamida (82 mg, 178 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (69 mg, 534 µmol, 93 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 53 %-73 % B durante 8 min) para proporcionar el compuesto *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-5-(8-(4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,8-diazaspiro [4,5]decan-2-il)pirazina-2-carboxamida (57 mg, 67 µmol, 38 % rendimiento, 95 % pureza) como un sólido amarillo. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8,65 (d, *J* = 1,3 Hz, 1H), 7,93 (d, *J* = 1,3 Hz, 1H), 7,55 – 7,44 (m, 1H), 7,34 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,96 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 6,70 – 6,60 (m, 2H), 4,58 (br s, 3H), 4,51 – 4,42 (m, 1H), 4,22 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,00 – 3,86 (m, 4H), 3,70 – 3,65 (m, 2H), 3,51 (s, 2H), 3,47 – 3,38 (m, 2H), 2,69 (s, 3H), 2,44 (s, 3H), 2,19 (br d, *J* = 2,6 Hz, 2H), 2,11 – 1,93 (m, 8H), 1,82 – 1,74 (m, 4H), 1,73 (s, 3H), 1,66 – 1,57 (m, 4H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 1,912 min, *m/z* = 811,6 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

EJEMPLO 16 – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-40)



I-40

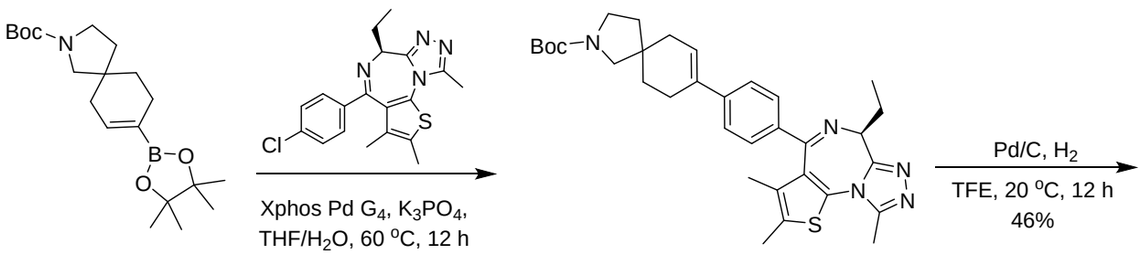
[0497] Etapa 1: Preparación de 6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (400 mg, 1,12 mmol, 1,0 *equiv*) y 6-etinil-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (620 mg, 2,80 mmol, 2,5 *equiv*) en ACN (5,0 mL) se agregó DavePhos Pd G_3 (86,0 mg, 112 µmol, 0,1 *equiv*) y Cs_2CO_3 (730 mg, 2,24 mmol, 2,0 *equiv*) en N_2. La suspensión se desgasificó al vacío y se purgó con N_2 tres veces. La mezcla se agitó a N_2 a 90 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante HPLC *preparativa*(columna: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 57 %-87 % B durante 15 min). Se obtuvo el compuesto 6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (380 mg, 701 µmol, 63 % rendimiento) como un aceite marrón.

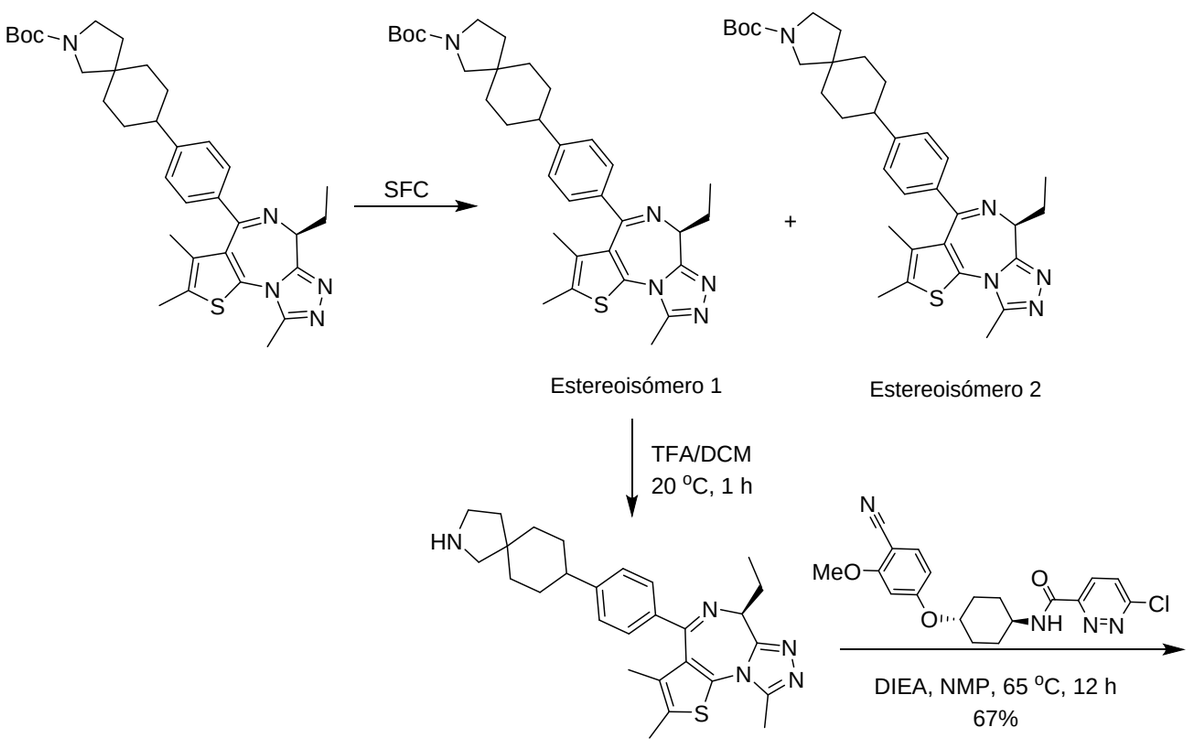
[0498] Etapa 2: Preparación de (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3] heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (100 mg, 185 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2,0 mL) se agregó TFA (1,0 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y basificó con $NaHCO_3$ acuoso, se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x 2) se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró a presión reducida para producir (9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (82,0 mg, 185 µmol, 100 % rendimiento) como un aceite incoloro.

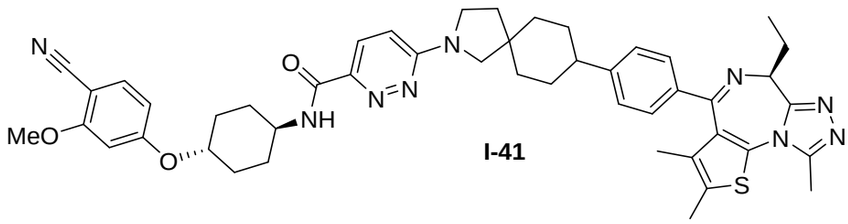
[0499] Etapa 3: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-40). A una solución de

(9*S*)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (82 mg, 185 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (79 mg, 203 µmol, 1,1 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (119 mg, 923 µmol, 161 µL, 5,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC(columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente:62 %-82 % B durante 10 min). El compuesto *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi) ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (49 mg, 62 µmol, 33 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,97 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 7,50 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 7,46 – 7,40 (m, 4H), 6,98 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 6,65 (s, 1H), 6,66 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 4,99 – 4,90 (m, 1H), 4,47 (br d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 4,35 – 4,27 (m, 5H), 3,95 (br d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,63 – 3,58 (m, 1H), 3,29 – 3,22 (m, 1H), 2,77 – 2,66 (m, 5H), 2,51 – 2,45 (m, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,21 (br s, 2H), 2,11 – 1,97 (m, 5H), 1,69 (s, 3H), 1,67 – 1,58 (m, 4H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,148 min, *m/z* = 792,5 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 17</u> – Síntesis de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(8-(4-((*S*)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (I-41)







I-41

[0500] Etapa 1: Preparación de 8-(4-((*S*)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo. Una mezcla de 8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (636 mg, 1,75 mmol, 1,0 *equiv*), (9*S*)-7-(4-clorofenil)-9-etil-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (650 mg, 1,75 mmol, 1,0 *equiv*), Xphos Pd G_4 (150 mg, 175 µmol, 0,1 *equiv*), y K_3PO_4 (1,12 g, 5,26 mmol, 3,0 *equiv*) en H_2O (1 mL) y THF (4 mL) se agitó a 60 °C durante 12 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1 a 0:1) para producir 8-(4-((*S*)-6-etil-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4] diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,3 g, bruto) como un sólido amarillo.

[0501] Etapa 2: Preparación de (*S*)-8-(4-(6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 8-(4-((*S*)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4] diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,3 mg, 2,3 mmol, 1,0 *equiv*) en TFE (4 mL) se agregó Pd/C (940 mg, 10 % pureza). La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de H_2 a 20 °C (15 psi) durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; gradiente: 45 %-75 % B durante 10 min) para producir (*S*)-8-(4-(6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (600 mg, 1,05 mmol, 46 % rendimiento) como un sólido amarillo.

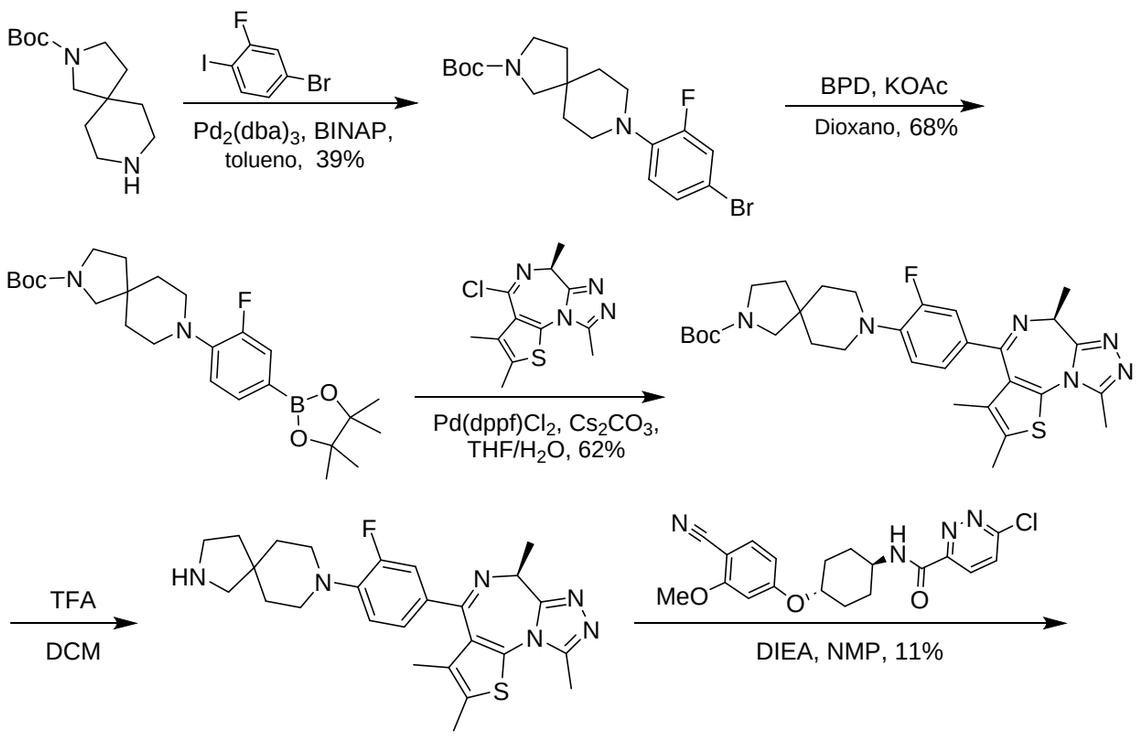
[0502] Etapa 3: Preparación de (*S*)-8-(4-(6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. Se separó (*S*)-8-(4-(6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il) fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato (600 mg, 1,05 mmol) de *terc*-butilo mediante SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AD (250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-EtOH (0,1 %$NH_3.H_2O$)]; B%: 50 %, modo de elución isocrático) para producir el estereoisómero 1 (350 mg, 609 µmol) y el estereoisómero 2 (230 mg, 400 µmol) que difieren por la estereoquímica al centro espiro adyancente a la pirrolidina.

[0503] Etapa 4: Preparación de (*S*)-4-(4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina. A una solución de (*S*)-8-(4-(6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (300 mg, 575 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$ acuoso. Después de la extracción con DCM/MeOH (10:1, 10 mL x 2), la fase orgánica se concentró para producir el producto bruto (*S*)-4-(4-(2-

azaspiro[4,5]decan-8-il) fenil)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (270 mg, bruto) y se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0504] Etapa 5: Preparación de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(8-(4-((*S*)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il) fenil)-2-azaspiro[4,5]decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (I-41). A una solución de (*S*)-4-(4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4] triazolo [4,3-*a*][1,4]diazepina (130 mg, 274 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (106 mg, 822 µmol, 143 µL, 3,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)piridazina-3-carboxamida (138 mg, 356 µmol, 1,3 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 50 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 57 %-87 % B durante 10 min) para producir *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(8-(4-((*S*)-6-etil-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (155 mg, 184 µmol, 67 % rendimiento) como un sólido amarillo. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,92 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 7,54 – 7,47 (m, 1H), 7,46 – 7,38 (m, 2H), 7,37 – 7,28 (m, 2H), 7,05 (brd, *J* = 9,2 Hz, 1H), 6,70 – 6,63 (m, 2H), 4,54 – 4,43 (m, 1H), 3,97 (dd, *J* = 6,5, 7,9 Hz, 2H), 3,92 (s, 3H), 3,79 – 3,50 (m, 4H), 2,75 – 2,69 (m, 3H), 2,68 – 2,58 (m, 1H), 2,55 – 2,46 (m, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,27 – 2,17 (m, 2H), 2,15 – 2,05 (m, 2H), 1,95 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 1,90 – 1,77 (m, 4H), 1,74 – 1,54 (m, 12H), 1,22 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,124 min, *m/z* = 824,7 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 18</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-44)



I-44

[0505] **Etapa 1: Preparación de** 8-(4-bromo-2-fluoro-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,0 g, 4,16 mmol, 1 *eq*) y 4-bromo-2-fluoro-1-yodo-benceno (1,25 g, 4,16 mmol, 1 *eq*) en tolueno (20 mL) se agregó Cs_2CO_3 (3,39 g, 10,40 mmol, 2,5 *eq*), $Pd_2(dba)_3$ (381,01 mg, 416,08 µmol, 0,03 *eq*), y Xantphos (240,75 mg, 416,08 µmol, 0,1 *eq*). La mezcla se agitó a 100 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el tolueno. El residuo se diluyó con H_2O (50 mL) y se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (150 mL x 1), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 1:0 a 9:1). El compuesto 8-(4-bromo-2-fluoro-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (673 mg, 1,61 mmol, 38,74 % de rendimiento, 99,0 % de pureza) se obtuvo como un sólido amarillo, lo cual se confirmó mediante LCMS.

[0506] **Etapa 2: Preparación de** 8-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2- carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-(4-bromo-2-fluoro-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (370 mg, 895,18 µmol, 1 *eq*) en dioxano (15 mL) se agregó BPD (272,79 mg, 1,07 mmol, 1,2 *eq*), $Pd(dppf)Cl_2.CH_2Cl_2$ (73,10 mg, 89,52 µmol, 0,1 *eq*), y KOAc (263,57 mg, 2,69 mmol, 3 *eq*). La mezcla se agitó a 100 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 1:0 a 9:1). El compuesto 8-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (280 mg, 608,18 µmol, 67,94 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo claro.

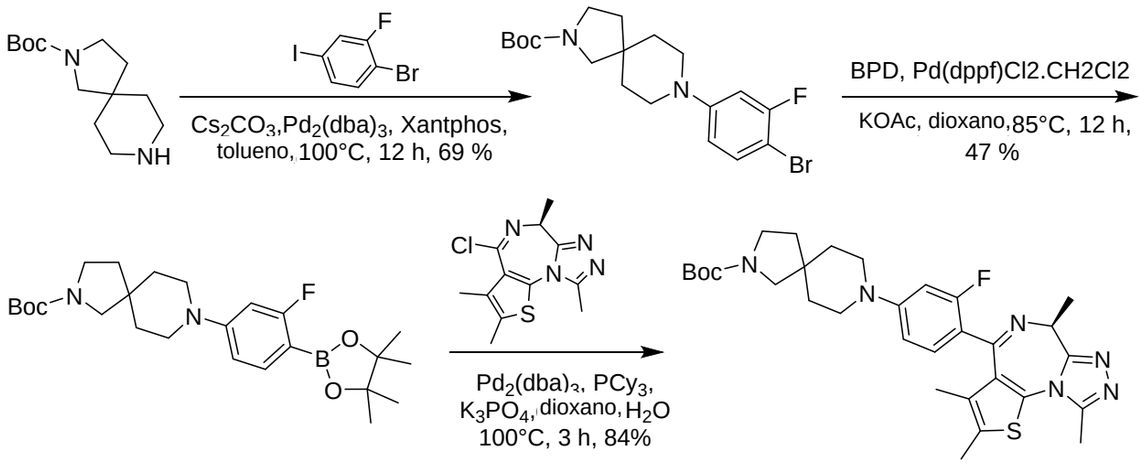
[0507] **Etapa 3: Preparación de** 8-[2-fluoro-4-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo**. A una solución de 8-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8- diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (327,94 mg, 712,31 µmol, 1,0 *eq*) y (9*S*)-7-cloro-4,5,9,13-tetrametil-3-tia1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (200 mg, 712,31 µmol, 1,0 *eq*) en THF (9 mL) y H_2O (3 mL) se agregó Cs_2CO_3 (580,21 mg, 1,78 mmol, 2,5 *eq*) y $Pd(dppf)Cl_2.CH_2Cl_2$ (116,34 mg, 142,46 µmol, 0,2 *eq*). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el THF. El residuo se diluyó con H_2O (50 mL) y se extrajo con DCM (50 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (150 mL x 2), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (SiO_2, DCM:MeOH = 10:1). El compuesto 8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (290 mg, 444,96 µmol, 62,47 % rendimiento, 88,8 % pureza) se obtuvo como un sólido amarillo, que se confirmó mediante LCMS y ^{1}H NMR.

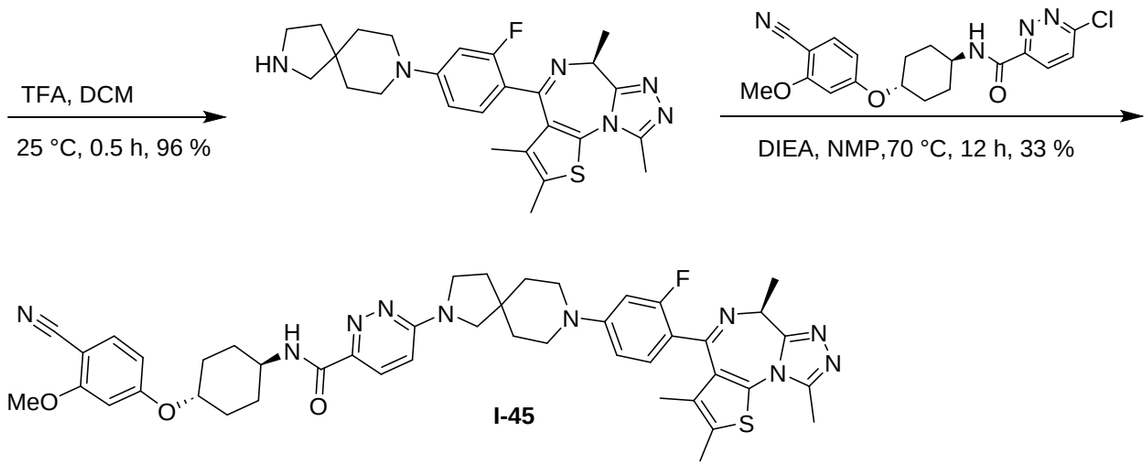
[0508] **Etapa 4: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)-3-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12- tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno.** A una solución de 8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-

carboxilato de *terc*-butilo (170 mg, 260,84 µmol, 1 *eq*) en DCM (6 mL) se añadió TFA (11,92 g, 104,54 mmol, 7,77 mL, 400,80 *eq*) a 25 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar un residuo. El compuesto (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)-3-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (120 mg, bruto) se obtuvo como un aceite marrón.

[0509] Etapa 5: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2- il]piridazina-3-carboxamida (I-44). A una solución de (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)-3-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12- tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (120 mg, 250,72 µmol, 1 *eq*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3- metoxi-fenoxi) ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (96,99 mg, 250,72 µmol, 1 *eq*) en NMP (2 mL) se agregó DIEA (324,03 mg, 2,51 mmol, 436,69 µL, 10 *eq*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 45 %-75 % B durante 1 min). El compuesto *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il] piridazina-3-carboxamida (24,04 mg, 28,19 µmol, 11,24 % rendimiento, 97,20 % pureza) se obtuvo como un sólido blanco, que se confirmó mediante SFC, QC LCMS, y ^{1}H NMR). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO): δ 8,50 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,82 (d, *J* = 9,2 Hz,, 1H), 7,63 – 7,56 (m, 1H), 7,21 (d, *J* = 14,0 Hz, 1H), 7,17 – 7,10 (m, 1H), 7,09 – 7,02 (m, 1H), 6,97 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 6,75 – 6,68 (m, 2H), 4,56 – 4,42 (m, 1H), 4,21 – 4,14 (m, 1H), 3,95 – 3,80 (m, 4H), 3,70 – 3,53 (m, 2H), 3,52 – 3,40 (m, 2H), 3,18 – 3,05 (m, 4H), 2,59 (s, 3H), 2,41 (s, 3H), 2,16 – 2,07 (m, 2H), 1,99 – 1,84 (m, 7H), 1,76 – 1,49 (m, 11H). LC-MS: MS (ES^{+}): R_t = 0,513 min, *m/z* = 829,3 $[M+H]^{+}$; método LCMS: 5-95.

<u>EJEMPLO 19</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[3-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-45)





I-45

[0510] **Etapa 1: Preparación de 8-(4-bromo-3-fluoro-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de *terc*-butilo.** A una solución de 2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (1 g, 4,16 mmol, 1 *eq*) y 1-bromo-2-fluoro-4-yodo-benceno (1,25 g, 4,16 mmol, 1 *eq*) en tolueno (20 mL) se agregó Cs_2CO_3 (3,39 g, 10,40 mmol, 2,5 *eq*), $Pd_2(dba)_3$ (114,30 mg, 124,82 µmol, 0,03 *eq*), y Xantphos (240,75 mg, 416,08 µmol, 0,1 *eq*). La mezcla se agitó a 100 °C durante 12 horas. A la mezcla de reacción se le añadió agua (80 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (100 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL x 3), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El producto bruto se purificó mediante cromatografía rápida en gel de sílice (ISCO®; columna flash de sílice SepaFlash® de 12 g, eluyente de un gradiente de acetato de etilo/éter de petróleo de 0~8 % a 80 mL/min). El compuesto 8-(4-bromo-3-fluoro-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,2 g, 2,90 mmol, 69,78 % de rendimiento) se obtuvo como un aceite amarillo.

[0511] **Etapa 2: Preparación de** 8-[3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-(4-bromo-3-fluoro-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (600 mg, 1,45 mmol, 1 *eq*) en dioxano (10 mL) se agregó BPD (442,36 mg, 1,74 mmol, 1,2 *eq*), $Pd(dppf)Cl_2.CH_2Cl_2$ (118,55 mg, 145,16 µmol, 0,1 *eq*), y KOAc (427,40 mg, 4,35 mmol, 3 *eq*). La mezcla se agitó a 85 °C durante 12 horas. A la mezcla de reacción se le añadió agua (80 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (100 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL x 3), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El producto bruto se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice (ISCO®; columna rápida de sílice SepaFlash® de 20 g, eluyente de un gradiente de acetato de etilo/éter de petróleo de 0~10 % a 70 mL/min). El compuesto 8-[3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (320 mg, 695,07 µmol, 47,88 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0512] **Etapa 3: Preparación de** 8-[3-fluoro-4-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo**. A una solución de 8-[3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (426,32 mg, 926,01 µmol, 1,3 *eq*) y (9*S*)-7-cloro-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (200 mg, 712,31 µmol, 1 *eq*) en H_2O (1,2 mL) se agregó $Pd_2(dba)_3$ (65,23 mg, 71,23 µmol, 0,1 *eq*), Pcy_3 (39,95 mg, 142,46 µmol,

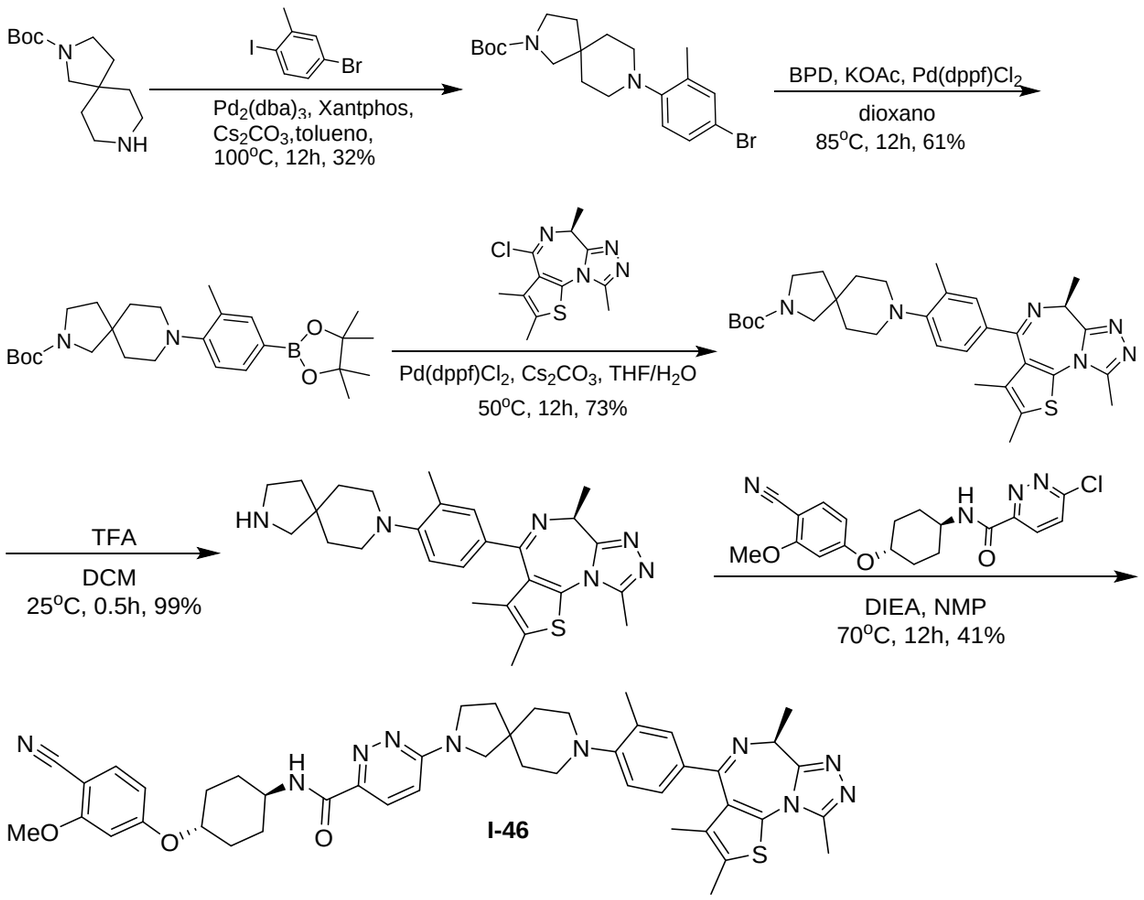
46,19 µL, 0,2 *eq*), y K_3PO_4 (453,60 mg, 2,14 mmol, 3 *eq*) en dioxano (6 mL). La suspensión se desgasificó y se purgó con N_2 tres veces. La mezcla se agitó a N_2 a 100 °C durante 3 horas. A la mezcla de reacción se le añadió agua (80 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (100 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL x 3), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (SiO_2, DCM:MeOH = 10:1). El compuesto 8-[3-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (350 mg, 604,76 µmol, 84,90 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0513] Etapa 4: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)-2-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[3-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (100 mg, 172,79 µmol, 1 *eq*) en DCM (5 mL) se agregó TFA (19,70 mg, 172,79 µmol, 12,83 µL, 1 *eq*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: YMC-Actus Triart C18 150 mm x 30 mm x 7 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 8 %-38 % B durante 10 min). El compuesto (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)-2-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (80 mg, 167,14 µmol, 96,73 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0514] Etapa 5: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[3-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-45). Una mezcla de (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)-2-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (110 mg, 229,82 µmol, 1 *eq*), DIEA (594,06 mg, 4,60 mmol, 800,62 µL, 20 *eq*), y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (88,90 mg, 229,82 µmol, 1 *eq*) en NMP (5 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas en atmósfera de N_2. A la mezcla de reacción se le añadió agua (20 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (30 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL x 3), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: YMC-Actus Triart C18 150 mm x 30 mm x 7 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 40 %-70 % B durante 10 min). El compuesto *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[3-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (67,95 mg, 76,83 µmol, 33,43 % rendimiento, 93,73 % pureza) se obtuvo como un sólido amarillo. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8,51 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,83 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,62 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,32 (br t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,98 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 6,83 (dd, *J* = 2,0, 8,8 Hz, 1H), 6,76 – 6,66 (m, 3H), 4,58 – 4,43 (m, 1H), 4,21 – 4,11 (m, 1H), 3,92 – 3,81 (m, 4H), 3,64 (br d, *J* = 5,2 Hz, 2H), 3,52 – 3,36 (m, 5H), 2,58 (s, 3H), 2,38 (s, 3H), 2,16 – 2,08 (m, 2H), 1,99 – 1,89 (m, 4H), 1,86 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 1,71 – 1,58 (m, 9H), 1,57 – 1,48 (m, 2H), 1,24 (br s, 1H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 0,480 min, *m/z* = 829,4 [M+1];

método LCMS: 5-95.

<u>EJEMPLO 20</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-metil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-46)



I-46

[0515] **Etapa 1: Preparación de** 8-(4-bromo-2-metil-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (500 mg, 2,08 mmol, 1,0 *equiv*) en tolueno (10 mL) se agregó Cs_2CO_3 (1,69 g, 5,20 mmol, 2,5 *equiv*), $Pd_2(dba)_3$ (57 mg, 62 µmol, 0,03 *equiv*), 4-bromo-1-yodo-2-metil-benceno (926 mg, 3,12 mmol, 1,5 *equiv*), y Xantphos (120 mg, 208 µmol, 0,1 *equiv*). La mezcla se agitó a 100 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 20:1 a 5**:**1) para proporcionar 8-(4-bromo-2-metil-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (270 mg, 32 % rendimiento).

[0516] **Etapa 2: Preparación de** 8-[2-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-(4-bromo-2-metil-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (440 mg, 1,07 mmol, 1,0 *equiv*) en dioxano (5 mL) se agregó BPD (818,84 mg, 3,22 mmol, 3,0 *equiv*), $Pd(dppf)Cl_2$ (157 mg, 215 µmol, 0,2 *equiv*), y KOAc (421,94 mg, 4,30 mmol, 4,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 85 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante prep-TLC (SiO_2, acetato de etilo:MeOH = 20:1) para proporcionar 8-[2-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (300 mg, 61 % rendimiento).

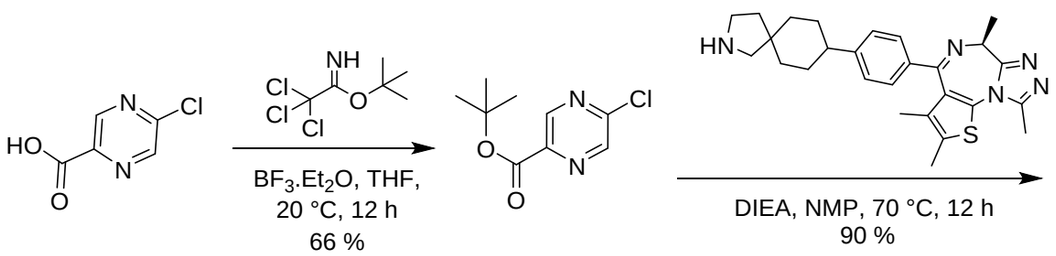
[0517] **Etapa 3: Preparación de** 8-[2-metil-4-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo**. A una solución de 8-[2-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (243 mg, 534 µmol, 1,5 *equiv*) en THF (4 mL) y H_2O (2 mL) se agregó $Pd(dppf)Cl_2$ (52 mg, 71

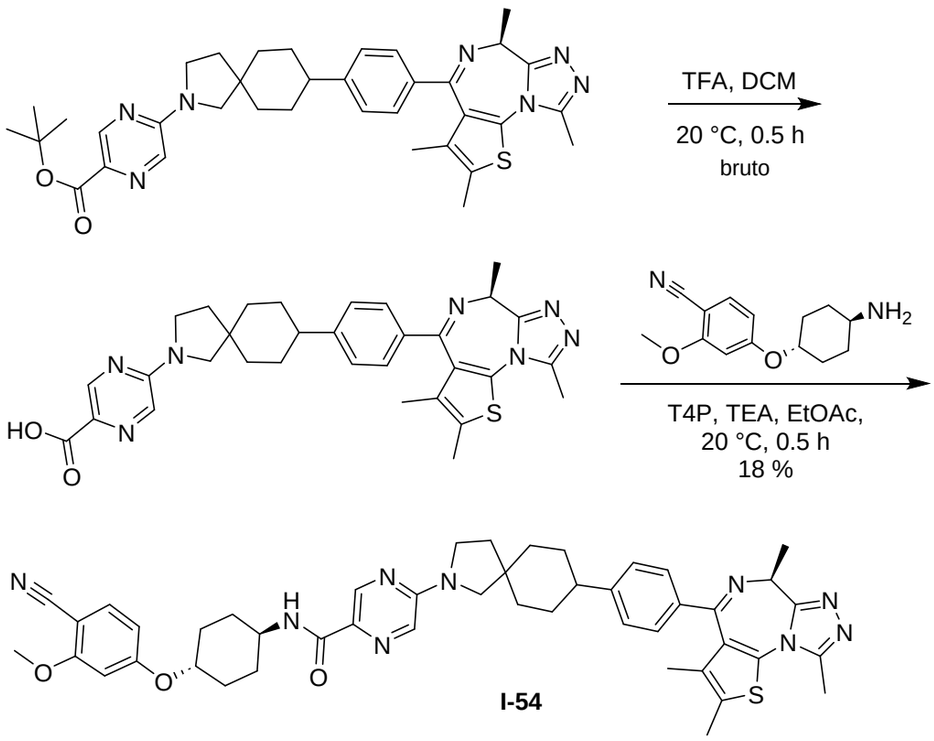
μmol, 0,2 *equiv*), Cs_2CO_3 (348 mg, 1,07 mmol, 3,0 *equiv*), y (9*S*)-7-cloro-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (100 mg, 356 μmol, 1,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. El residuo se purificó mediante prep-TLC (SiO_2, acetato de etilo:MeOH = 30:1) para proporcionar 8-[2-metil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (150 mg, 73 % rendimiento).

[0518] Etapa 4: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)-3-metil-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[2-metil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (150 mg, 261 μmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,3 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas para proporcionar (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro [4,5]decan-8-il)-3-metil-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (123,8 mg, 99 % rendimiento) como un residuo, que se usó directamente en la siguiente etapa.

[0519] Etapa 5: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-metil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-46). A una solución de (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)-3-metil-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (123 mg, 259 μmol, 1,0 *equiv*) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (67 mg, 518 μmol, 2,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (100 mg, 259 μmol, 1,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas y se purificó mediante prep-HPLC(columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 μm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; gradiente: 30 %-60 % B durante 10 min) para proporcionar *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi) ciclohexil]-6-[8-[2-metil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il] piridazina-3-carboxamida (92 mg, 41 % rendimiento). ^{1}H NMR (400 MHz, CDCl3): δ 8,14 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,84 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,57 – 7,42 (m, 2H), 7,27 (s, 1H), 6,99 (s, 2H), 6,59 – 6,37 (m, 2H), 4,45 – 4,25 (m, 2H), 4,14 – 3,98 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,84 – 3,57 (m, 4H), 3,26 – 2,86 (m, 5H), 2,79 (s, 3H), 2,48 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,23 – 2,15 (m, 7H), 2,10 (s, 2H), 1,86 (s, 3H), 1,75 (s, 3H), 1,72 – 1,61 (m, 2H), 1,58 – 1,46 (m, 2H). LC-MS: MS (ES^+): RT =1,796 min, *m/z* = 825,6 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 21</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-5-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]pirazina-2-carboxamida (I-54)





I-54

[0520] **Etapa 1: Preparación de** 5-cloropirazina-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de ácido 5-cloropirazina-2-carboxílico (1,12 g, 7,04 mmol, 1 *equiv*) en THF (20 mL) se agregó eterato de trifluoruro de boro (400 mg, 2,82 mmol, 0,4 *equiv*) y 2,2,2-tricloroetanimidato de *terc*-butilo (3,08 g, 14,08 mmol, 2 *equiv*). La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 100:1 a 10:1) para proporcionar 5-cloropirazina-2-carboxilato de *terc*-butilo (1 g, 66 % rendimiento) como un sólido blanco.

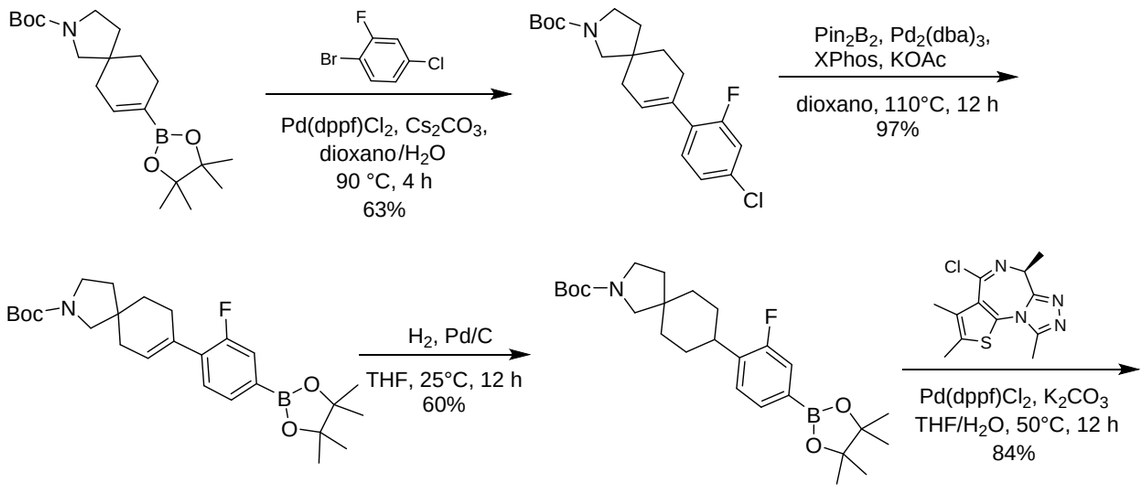
[0521] **Etapa 2: Preparación de** 5-[8-[4-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decan-2-il]pirazina-2-carboxilato de *terc*-butilo**. A una solución de 5-cloropirazina-2-carboxilato de *terc*-butilo (224 mg, 1,04 mmol, 3 *equiv*) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (135 mg, 1,04 mmol, 3 *equiv*) y (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (160 mg, 348 µmol, 1 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante prep-TLC (SiO_2, DCM:MeOH = 10:1) para proporcionar 5-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il] pirazina-2-carboxilato de *terc*-butilo (200 mg, 90 % rendimiento) como un aceite amarillo.

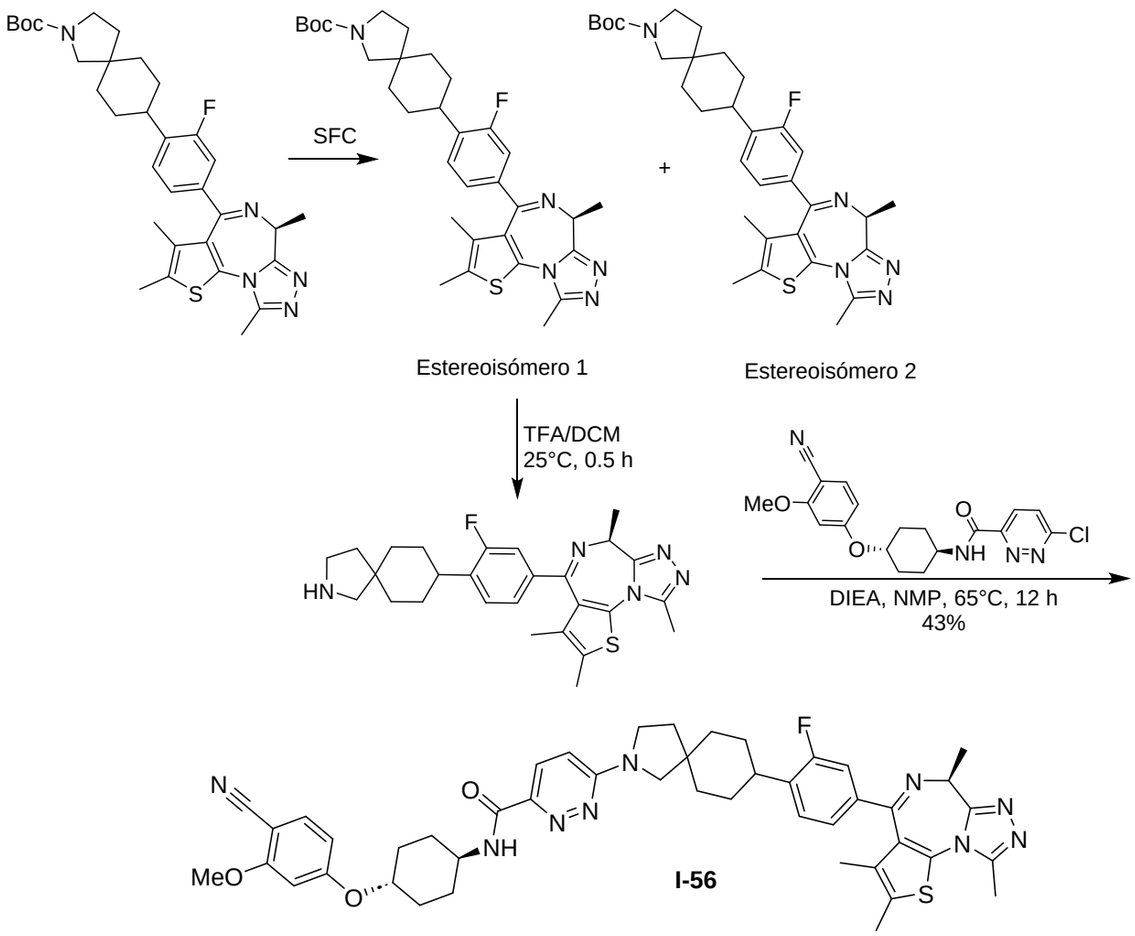
[0522] **Etapa 3: Preparación de ácido 5-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]pirazina-2-carboxílico.** A una solución de 5-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decan-2-il]pirazina-2-carboxilato de *terc*-butilo (200 mg, 313 µmol, 1 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar ácido 5-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]pirazina-2-carboxílico (180 mg) como un aceite amarillo.

[0523] Etapa **4: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-5-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-**

pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]pirazina-2-carboxamida (I-54). A una solución de 4-(4-aminociclohexoxi)-2-metoxi-benzonitrilo (64 mg, 178 µmol, 1,4 *equiv*, sal de TFA) en EtOAc (1 mL) se agregó T4P (134 mg, 186 µmol, 50 % pureza, 1,5 *equiv*), ácido 5-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]pirazina-2-carboxílico (72 mg, 124 µmol, 1 *equiv*), y TEA (63 mg, 620 µmol, 5 *equiv*). La mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 63 %-93 % B durante 10 min) para proporcionar *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi) ciclohexil]-5-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]pirazina-2-carboxamida (18 mg, 18 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 8,87 (d, *J*=0,76 Hz, 1 H), 7,73 (s, 1 H), 7,37 – 7,50 (m, 4 H), 7,21 (d, *J*=8,12 Hz, 2 H), 6,42 – 6,55 (m, 2 H), 4,27 – 4,38 (m, 1 H), 4,16 – 4,21 (m, 1 H), 4,00 – 4,10 (m, 1 H), 3,90 (s, 3 H), 3,43 – 3,72 (m, 4 H), 2,63 – 2,72 (m, 3 H), 2,50 – 2,61 (m, 1 H), 2,42 (s, 3 H), 2,16 – 2,25 (m, 4 H), 2,10 (d, *J*=6,76 Hz, 3 H), 1,77 – 1,96 (m, 8 H), 1,40 – 1,66 (m, 9 H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,461 min, *m/z* = 810,5 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 22</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10, 12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-56)





[0524] **Etapa 1: Preparación de** 8-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (400 mg, 1,10 mmol, 1,1 *equiv*) y 1-bromo-4-cloro-2-fluoro-benceno (201 mg, 1,00 mmol, 1,0 *equiv*) en dioxano (10 mL) y H_2O (2 mL) se agregó Cs_2CO_3 (978 mg, 3,00 mmol, 3,0 *equiv*) y $Pd(dppf)Cl_2$ (146 mg, 200 µmol, 0,2 *equiv*) en N_2 .La mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (30 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el producto bruto. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10:1 a 5**:**1). El compuesto 8-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (230 mg, 629 µmol, 63 % de rendimiento) se obtuvo como un aceite incoloro.

[0525] **Etapa 2: Preparación de *terc*-butilo 8-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato**. A una solución de 8-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (230 mg, 629 µmol, 1,0 *equiv*) y 4,4,5,5-tetrametil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (239 mg, 943 µmol, 1,5 *equiv*) en dioxano (5 mL) se agregó $Pd_2(dba)_3$ (17,3 mg, 18,9 µmol, 0,03 *equiv*), XPhos (36,0 mg, 75,4 µmol, 0,12 *equiv*), y KOAc (185 mg, 1,89 mmol, 3,0 *equiv*) en N_2. La reacción se agitó a 110 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (30 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el producto bruto. El compuesto 8-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (280 mg, 612 µmol, 97,38 % rendimiento) se obtuvo como un aceite incoloro.

[0526] Etapa 3: Preparación de 8-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (300 mg, 656 µmol, 1,0 *equiv*) en THF (10 mL) se agregó Pd/C (69,8 mg, 10 % pureza, húmero) en N_2. La suspensión se purgó con H_2 y luego se agitó en atmósfera de H_2 a 25 °C (15 psi) durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró para obtener el producto bruto. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo = 2:1). El compuesto 8-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (180 mg, 392 µmol, 60 % rendimiento) se obtuvo como un aceite incoloro.

[0527] Etapa 4: Preparación de 8-[2-fluoro-4-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo**. A una solución de 8-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (170 mg, 370 µmol, 1,0 *equiv*) y (9*S*)-7-cloro-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (125 mg, 444 µmol, 1,2 *equiv*) en THF (2 mL) y H_2O (0,4 mL) se agregó Pd(dppf)Cl_2 (27,1 mg, 37,0 µmol, 0,1 *equiv*) y K_2CO_3 (153 mg, 1,11 mmol, 3,0 *equiv*) en N_2. La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró para obtener el producto bruto. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 75 %-95 % B durante 10 min). El compuesto 8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (180 mg, 312 µmol, 84 % rendimiento) se obtuvo como un aceite incoloro.

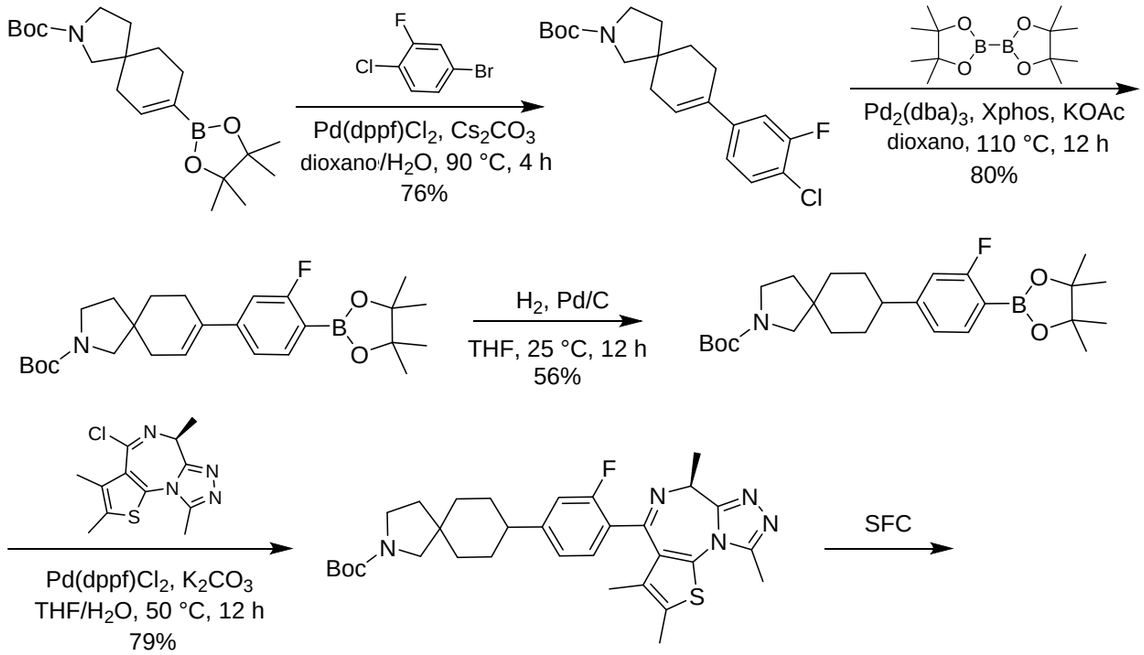
[0528] Etapa 5: Preparación de 8-[2-fluoro-4-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo**. La mezcla se purificó mediante *prep*-SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AD (250 mm x 30 mm,10 µm); fase móvil: [CO_2-ACN/*i*-PrOH (0,1 % $NH_3.H_2O$)]; B%: 55 %, modo de elución isocrático) para producir un primer estereoisómero de 8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (30 mg, 51,93 µmol, 16,67 % rendimiento) y un segundo estereoisómero de 8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (26 mg, 45,00 µmol, 14,44 % rendimiento) como un aceite incoloro. Los dos estereoisómeros se diferencian por la estereoquímica en el centro espiro adyacente a la pirrolidina.

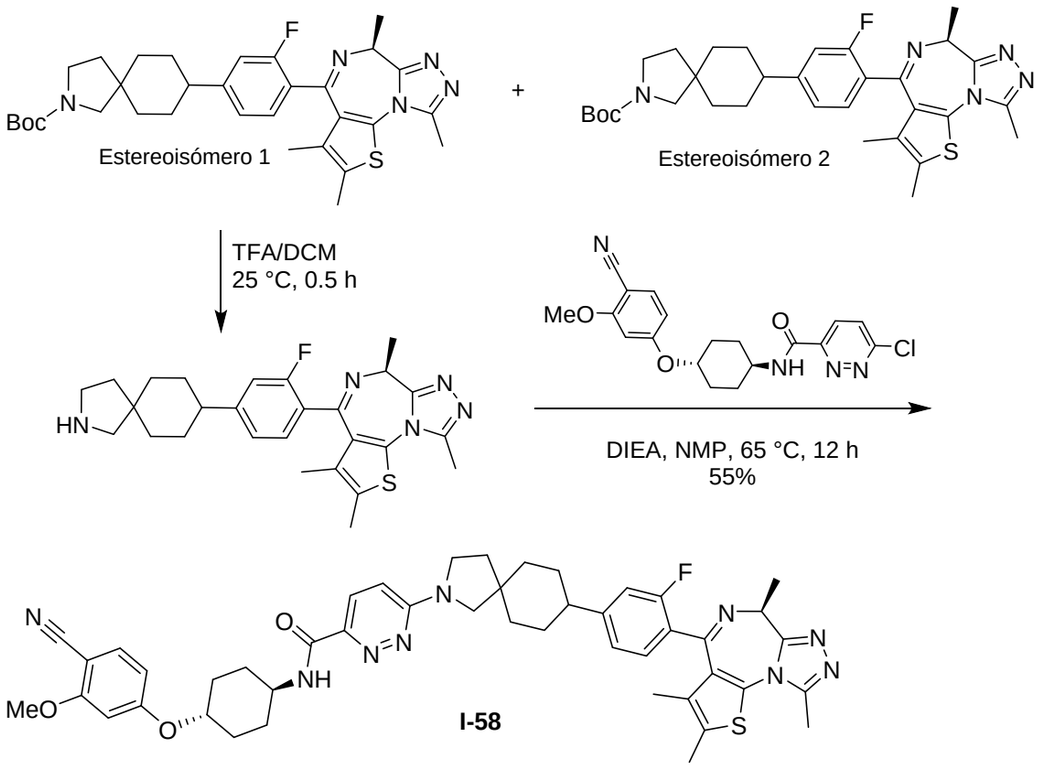
[0529] Etapa 6: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-3-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,9,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (30,0 mg, 53,2 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1,0 mL). La reacción se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$ saturado a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x

2), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para obtener el producto bruto. El compuesto (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-3-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (25,4 mg, 53,2 µmol, 100,00 % rendimiento) se obtuvo como un aceite amarillo y se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0530] Etapa 7: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-56). A una solución de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-3-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (25,4 mg, 53,2 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (20,6 mg, 53,2 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (34,4 mg, 266 µmol, 46,4 µL, 5,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC(columna: Waters Xbridge 150 mm x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 55 %-75 % B durante 53 min). El compuesto *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (18,8 mg, 22,7 µmol, 43 % rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco. ^{1}HNMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,92 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 7,50 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 7,40 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,22 (d, *J* = 9,5 Hz, 2H), 7,04 (br d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 6,65 (s, 1H), 6,67 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 5,17 (s, 1H), 4,58 (s, 7H), 4,28 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,61 (br s, 3H), 2,70 (s, 3H), 2,44 (s, 3H), 2,22 (br s, 2H), 2,10 (br s, 2H), 2,04 - 1,93 (m, 5H), 1,85 (br d, *J* = 9,5 Hz, 4H), 1,76 - 1,57 (m, 12H), 1,37 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,278 min, *m/z* = 828,6 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 23</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[3-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10, 12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-58)





[0531] **Etapa 1: Preparación de** 8-(4-cloro-3-fluoro-fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (400 mg, 1,10 mmol, 1,1 *equiv*) y 4-bromo-1-cloro-2-fluoro-benceno (210 mg, 1,00 mmol, 1,0 *equiv*) en dioxano (10 mL) y agua (2 mL) se agregó Pd(dppf)Cl_2 (146 mg, 200 µmol, 0,2 *equiv*) y Cs_2CO_3 (978 mg, 3,00 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (50 mL) y se extrajo con EtOAc (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (15 mL x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 50:1 a 5:1) para proporcionar 8-(4-cloro-3-fluoro-fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (280 mg, 765 µmol, 76 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0532] **Etapa 2: Preparación de** 8-[3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-(4-cloro-3-fluoro-fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (250 mg, 683 µmol, 1,0 *equiv*) y 4,4,5,5-tetrametil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (260 mg, 1,02 mmol, 1,5 *equiv*) en dioxano (1 mL) se agregó $Pd_2(dba)_3$ (63 mg, 68 µmol, 0,1 *equiv*), KOAc (201 mg, 2,05 mmol, 3,0 *equiv*), y Xphos (65 mg, 137 µmol, 0,2 *equiv*). La mezcla se agitó a 110 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL) y se extrajo con EtOAc (15 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (15 mL x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 20:1 a 0:1) para producir 8-[3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (250 mg, 546 µmol, 80 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0533] **Etapa 3: Preparación de** 8-[3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-[3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de

terc-butilo (250 mg, 546 µmol, 1,0 *equiv*) en THF (5 mL) se agregó Pd/C (60 mg, 55 µmol, 10 % pureza, 0,1 *equiv*) en atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó con H_2 tres veces. La mezcla se agitó en H_2 (15 psi) a 25 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante *prep*-TLC (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 5:1) para producir 8-[3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (140 mg, 305 µmol, 56 % rendimiento) como un aceite incoloro.

[0534] Etapa 4: Preparación de 8-[3-fluoro-4-[(9***S***)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 8-[3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (131 mg, 284 µmol, 1,0 *equiv*) y (9*S*)-7-cloro-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (96 mg, 341 µmol, 1,2 *equiv*) en THF (1 mL) y H_2O (0,2 mL) se agregó K_2CO_3 (118 mg, 853 µmol, 3,0 *equiv*) y Pd(dppf)Cl_2 (21 mg, 28 µmol, 0,1 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se filtró y se concentró para obtener el producto bruto. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 62 %-92 % B durante 10 min) para producir 8-[3-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (130 mg, 225 µmol, 79 % rendimiento) como un aceite incoloro.

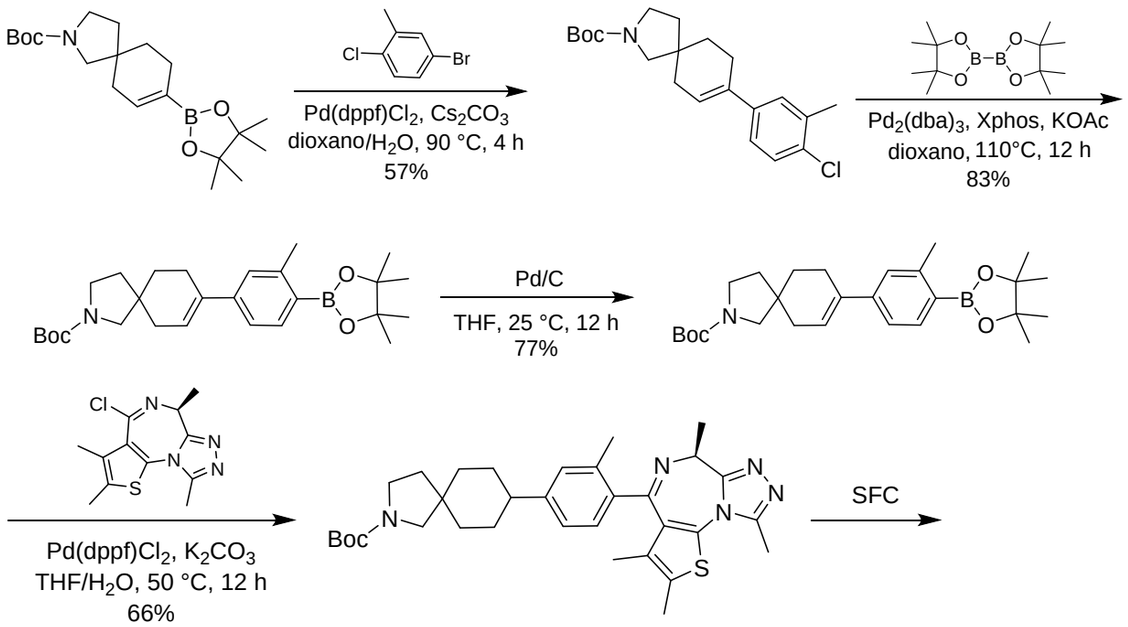
[0535] Etapa 5: Preparación de 8-[3-fluoro-4-[(9***S***)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo.** Se purificó 8-[3-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de *terc*-butilo mediante *prep*-SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AD (250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-ACN/*i*-PrOH (0,1 % $NH_3.H_2O$)]; B%: 60 %, modo de elución isocrático) para producir un primer estereoisómero de 8-[3-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (60 mg, 104 µmol, 46 % rendimiento) y un segundo estereoisómero de 8-[3-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (40 mg, 69 µmol, 31 % rendimiento) como un sólido blanco. Los dos estereoisómeros se diferencian por la estereoquímica en el centro espiro adyacente a la pirrolidina.

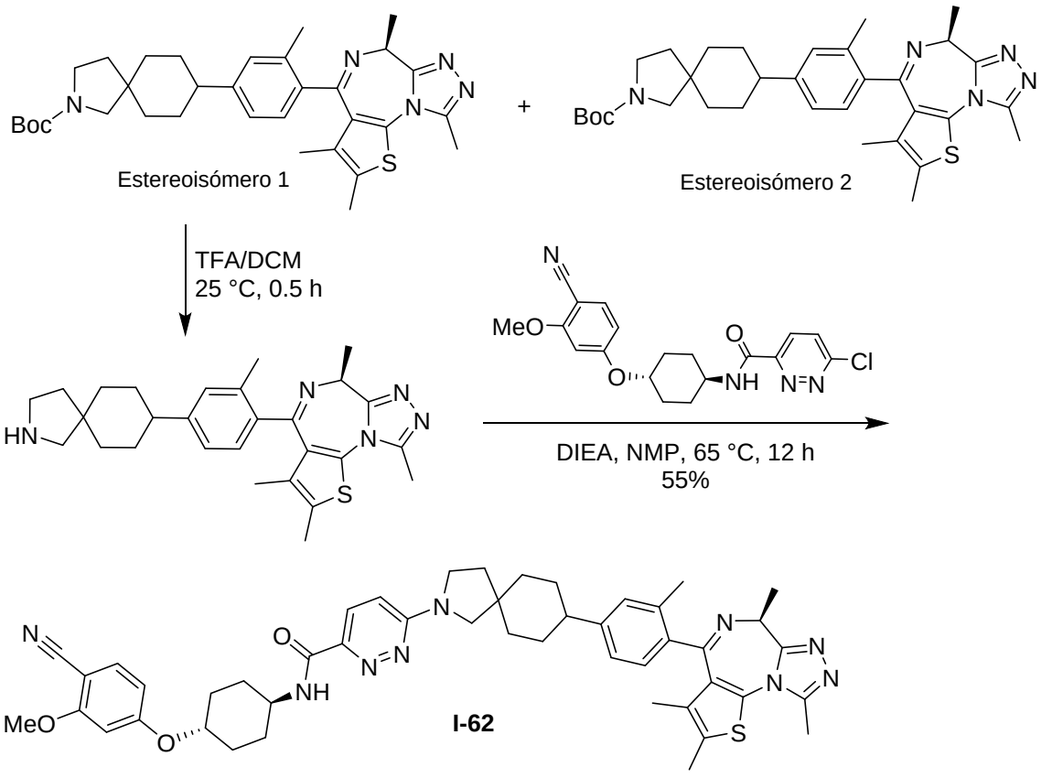
[0536] Etapa 6: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-2-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[3-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (60 mg, 104 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,5 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$ saturado a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x 2), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró para proporcionar el compuesto (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5] decan-8-il)-2-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-

tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (49 mg, 104 µmol, 100 % rendimiento) como un aceite incoloro.

[0537] Etapa 7: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[3-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-58). A una solución de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-2-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (50 mg, 104 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (40 mg, 104 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (40 mg, 312 µmol, 54 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 60 %-80 % B durante 8 min) para producir *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[3-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (49 mg, 57 µmol, 55 % rendimiento, 96 % pureza) d como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,94 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,60 – 7,40 (m, 2H), 7,22 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,14 – 7,03 (m, 2H), 6,73 – 6,64 (m, 2H), 4,55 – 4,48 (m, 1H), 4,34 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,06 - 3,96 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,65 (s, 2H), 2,72 (s, 4H), 2,43 (s, 3H), 2,27 - 2,08 (m, 4H), 2,02 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 1,98 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,94 - 1,83 (m, 4H), 1,74 - 1,67 (m, 6H), 1,67 - 1,60 (m, 5H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,216 min, *m/z* = 828,5 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 24</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[3-metil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-62)





[0538] **Etapa 1: Preparación de** 8-(4-cloro-3-metil-fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (500 mg, 1,38 mmol, 1,1 *equiv*) y 4-bromo-1-cloro-2-metil-benceno (257 mg, 1,25 mmol, 1,0 *equiv*) en dioxano (10 mL) y agua (2 mL) se agregó $Pd(dppf)Cl_2$ (183 mg, 250 µmol, 0,2 *equiv*) y Cs_2CO_3 (1,22 g, 3,75 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL) y se extrajo con EtOAc (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (15 mL x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un producto bruto. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 50:1 a 5:1) para proporcionar 8-(4-cloro-3-metil-fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (260 mg, 718 µmol, 57 % rendimiento) como un aceite incoloro.

[0539] **Etapa 2: Preparación de** 8-[3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-(4-cloro-3-metil-fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (250 mg, 691 µmol, 1,0 *equiv*) y 4,4,5,5-tetrametil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (263 mg, 1,04 mmol, 1,5 *equiv*) en dioxano (1 mL) se agregó $Pd_2(dba)_3$ (63 mg, 69 µmol, 0,1 *equiv*), KOAc (203 mg, 2,07 mmol, 3,0 *equiv*), y XPhos (66 mg, 138 µmol, 0,2 *equiv*). La mezcla se agitó a 110 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL) y se extrajo con EtOAc (15 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (15 mL x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron para proporcionar un producto bruto. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 20:1 a 0:1) para producir 8-[3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (260 mg, 573 µmol, 83 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0540] **Etapa 3: Preparación de** 8-[3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-[3-metil-4-

(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (260 mg, 573 µmol, 1,0 *equiv*) en THF (5 mL) se agregó Pd/C (61 mg, , 10 % pureza) en atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó con H_2 tres veces. La mezcla se agitó en H_2 (15 psi) a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante *prep*-TLC (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 5:1) para proporcionar 8-[3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (200 mg, 439 µmol, 77 % rendimiento) como un aceite incoloro.

[0541] Etapa 4: Preparación de 8-[3-metil-4-[(9***S***)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo**. A una solución de 8-[3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (190 mg, 419 µmol, 1,0 *equiv*) y (9*S*)-7-cloro-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (141 mg, 503 µmol, 1,2 *equiv*) en THF (1 mL) y H_2O (0,2 mL) se agregó K_2CO_3 (174 mg, 1,26 mmol, 3,0 *equiv*) y Pd(dppf)Cl_2 (31 mg, 42 µmol, 0,1 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL) y se extrajo con EtOAc (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 62 %-92 % B durante 10 min) para proporcionar 8-[3-metil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (160 mg, 279 µmol, 66 % rendimiento) como un aceite incoloro.

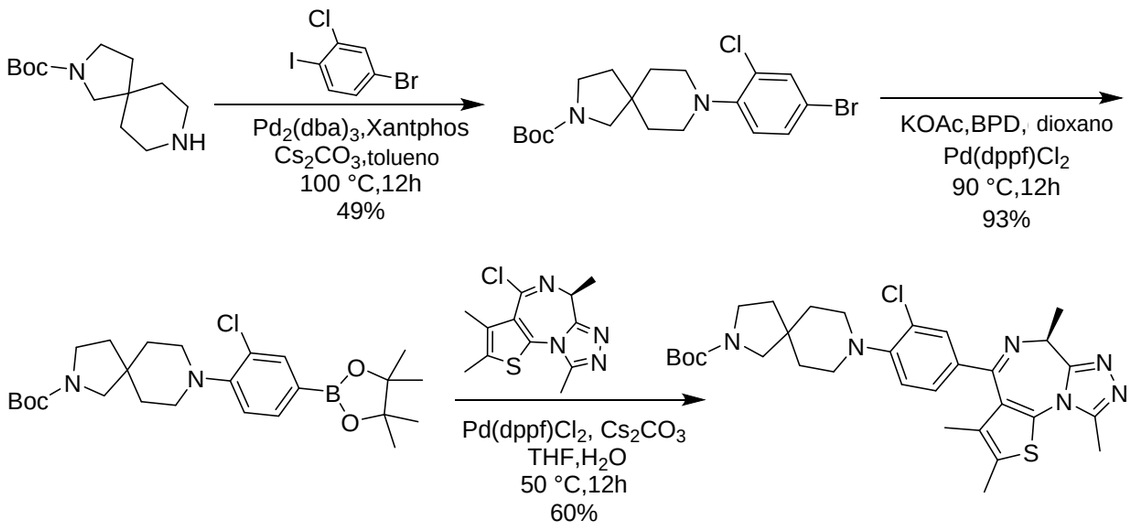
[0542] Etapa 5: Preparación de 8-[3-metil-4-[(9***S***)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo**. Se purificó 8-[3-metil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de *terc*-butilo mediante *prep*-SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AD (250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-ACN/*i*-PrOH (0,1 % $NH_3.H_2O$)]; B%: 55 %, modo de elución isocrático) para proporcionar un primer estereoisómero de 8-[3-metil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (60 mg, 104 µmol, 46 % rendimiento) y un segundo estereoisómero de 8-[3-metil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (40 mg, 69 µmol, 31 % rendimiento) como un sólido blanco. Los dos estereoisómeros se diferencian por la estereoquímica en el centro espiro adyacente a la pirrolidina.

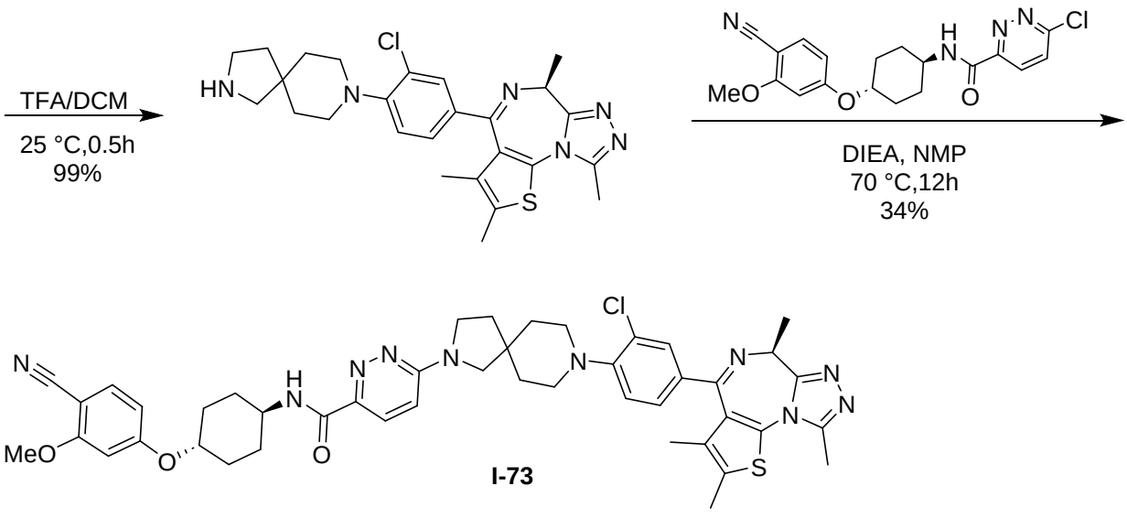
[0543] Etapa 6: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-2-metil-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[3-metil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (60 mg, 104,57 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,5

mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$ saturado a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x 2), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró para proporcionar (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-2-metil-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (49 mg, 104 µmol, 100 % rendimiento) como un aceite incoloro.

[0544] Etapa 7: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[3-metil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-62). A una solución de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-2-metil-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (49 mg, 105 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (40 mg, 105 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (40 mg, 313 µmol, 54 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 64 %-84 % B durante 8 min) para proporcionar *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[3-metil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (50 mg, 58 µmol, 55 % rendimiento, 96,08 % pureza) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8,49 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,02 - 7,89 (m, 1H), 7,53 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,21 - 7,02 (m, 4H), 6,77 - 6,63 (m, 2H), 4,44 - 4,30 (m, 1H), 4,05 - 3,97 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,79 - 3,65 (m, 2H), 3,36 (s, 2H), 2,73 (s, 3H), 2,66 - 2,58 (m, 1H), 2,41 (s, 3H), 2,28 - 2,20 (m, 2H), 2,12 (s, 4H), 2,01 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 1,98 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,86 (d, *J* = 9,4 Hz, 4H), 1,73 - 1,61 (m, 8H), 1,56 (s, 3H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,058 min, *m/z* = 824,6 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 25</u> – Síntesis de 6-[8-[2-cloro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (I-73)





I-73

[0545] **Etapa 1: Preparación de** 8-(4-bromo-2-cloro-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (1 g, 4,16 mmol, 1,0 *equiv*) en tolueno (20 mL) se agregó 4-bromo-2-cloro-1-yodo-benceno (1,98 g, 6,24 mmol, 1,5 *equiv*), $Pd_2(dba)_3$ (190 mg, 208 µmol, 0,05 *equiv*), Xantphos (240 mg, 416 µmol, 0,1 *equiv*), y Cs_2CO_3 (3,39 g, 10,40 mmol, 2,5 *equiv*). La mezcla se agitó a 100 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (20 mL) y se extrajo con acetato de etilo (10 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL x 2), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante prep-TLC (SiO_2, acetato de etilo:éter de petróleo = 1:0) para proporcionar 8-(4-bromo-2-cloro-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (880 mg, 49 % rendimiento).

[0546] **Etapa 2: Preparación de** 8-[2-cloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-(4-bromo-2-cloro-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (780 mg, 1,81 mmol, 1,0 equiv) en dioxano (28 mL) se agregó $Pd(dppf)Cl_2$ (265 mg, 363 µmol, 0,2 *equiv*), BPD (691 mg, 2,72 mmol, 1,5 *equiv*), y KOAc (534 mg, 5,44 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 12 horas. La mezcla se diluyó con H_2O (20 mL) y se extrajo con acetato de etilo (10 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL x 2), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante prep-TLC (SiO_2, acetato de etilo:éter de petróleo = 1:0) para proporcionar 8-[2-cloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (800 mg, 93 % rendimiento).

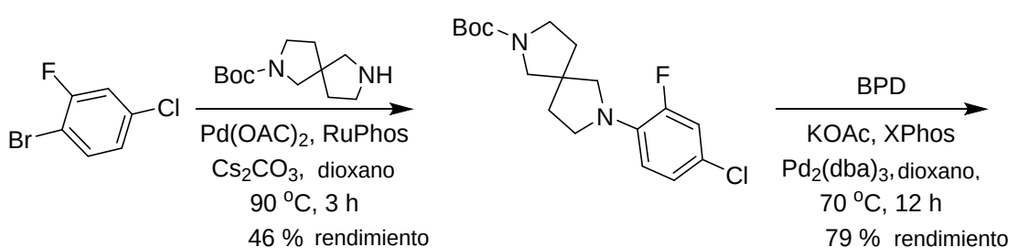
[0547] **Etapa 3: Preparación de** 8-[2-cloro-4-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo.** A una solución de 8-[2-cloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (382 mg, 802 µmol, 1,5 *equiv*) en THF (9 mL) y H_2O (4,5 mL) se agregó (9*S*)-7-cloro-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (150 mg, 535 µmol, 1,0 *equiv*), $Pd(dppf)Cl_2$ (78 mg, 107 µmol, 0,2 *equiv*), y Cs_2CO_3 (522 mg, 1,60 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (20 mL) y se extrajo con acetato de etilo (10 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL x 2), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante prep-TLC

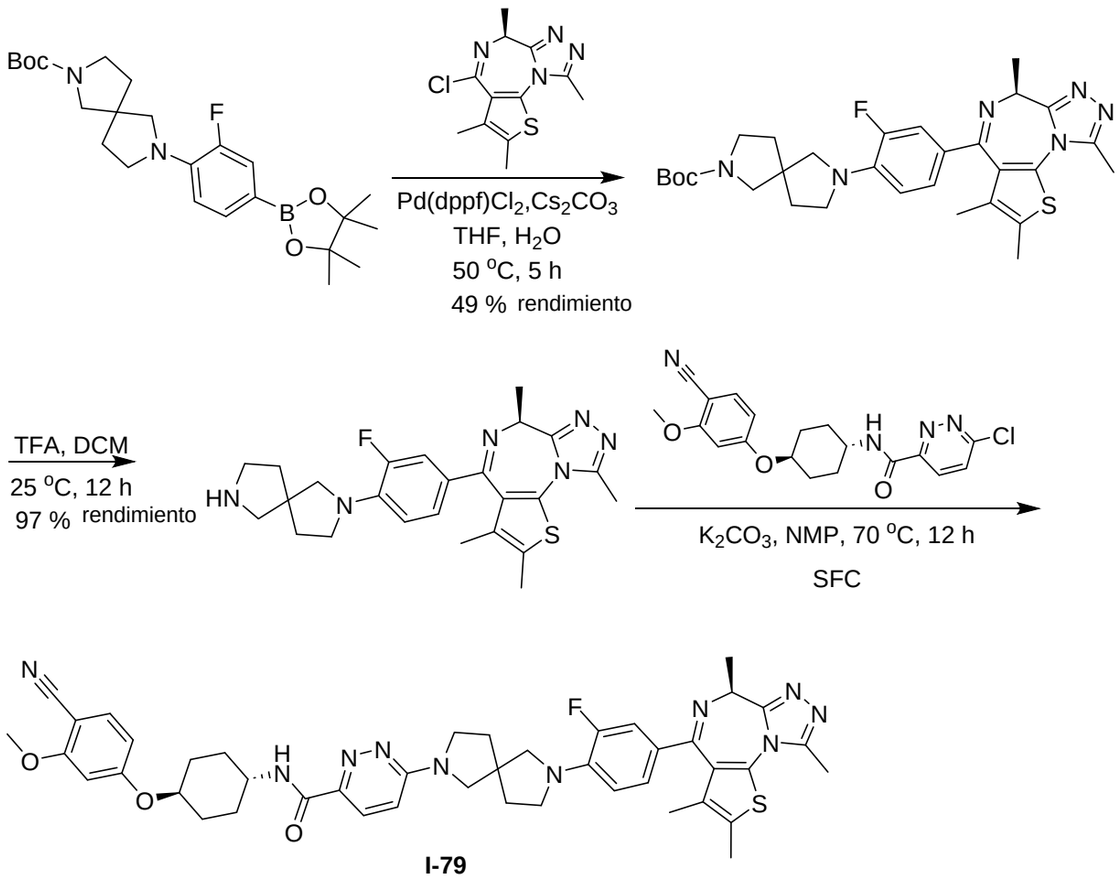
(SiO_2, acetato de etilo:éter de petróleo = 1:0) para proporcionar 8-[2-cloro-4-[(9S)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro [4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (320 mg, 60 rendimiento).

[0548] Etapa 4: Preparación de (9*S*)-7-[3-cloro-4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[2-cloro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (150 mg, 152 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (3 mL) se agregó TFA (1,0 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. El residuo se diluyó con $NaHCO_3$ (20 mL) y se extrajo con DCM (10 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera saturada (30 mL), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y concentraron para proporcionar (9*S*)-7-[3-cloro-4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (124 mg, 99 % rendimiento).

[0549] Etapa 5: Preparación de 6-[8-[2-cloro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (I-73). A una solución de (9*S*)-7-[3-cloro-4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (124 mg, 151 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (0,4 mL) se agregó DIEA (58 mg, 450 µmol, 3,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (69 mg, 180 µmol, 1,2 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se lavó con H_2O (20 mL), se extrajo con acetato de etilo (10 mL x 3), se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 58 %-88 % B durante 10 min) para proporcionar 6-[8-[2-cloro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (47,04 mg, 34 % rendimiento). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8,00 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 7,89 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,56 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 7,47 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,39-7,31 (m, 1H), 7,00 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,73 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 6,55-6,49 (m, 1H), 6,47 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 4,38-4,30 (m, 1H), 4,11 - 4,00 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,78-3,54 (m, 3H), 3,30-2,92 (m, 4H), 2,69 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,25-2,13 (m, 4H), 2,11-2,00 (m, 5H), 1,90-1,83 (m, 4H), 1,74-1,62 (m, 7H), 1,53-1,40 (m, 2H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,084 min, *m/z* = 845,5$[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 26</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[7-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7, 10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-79)





I-79

[0550] **Etapa 1: Preparación de** 7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-2,7-diazaspiro[4,4] nonano-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,5 g, 6,6 mmol, 1,0 *equiv*) y 1-bromo-4-cloro-2-fluoro-benceno (2 g, 9,9 mmol, 1,24 mL, 1,5 *equiv*) en dioxano (15 mL) se agregó $Pd(OAc)_2$ (149 mg, 663 µmol, 0,1 *equiv*), Cs_2CO_3 (6,5 g, 19,9 mmol, 3,0 *equiv*), y RuPhos (619 mg, 1,3 mmol, 0,2 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 3 horas en atmósfera de N_2. La mezcla se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 20:1 a 10:1) para proporcionar 7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-2,7-diazaspiro [4,4]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,1 g, 46 % rendimiento).

[0551] **Etapa 2: Preparación de** 7-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** Una mezcla de 7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (500 mg, 1,4 mmol, 1,0 *equiv*), 4,4,5,5-tetrametil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (716 mg, 2,8 mmol, 2,0 *equiv*), KOAc (553 mg, 5,6 mmol, 4,0 *equiv*), XPhos (100 mg, 211 µmol, 0,15 *equiv*), y $Pd_2(dba)_3$ (65 mg, 70 µmol, 0,05 *equiv*) en dioxano (10 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. Luego, la mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas en atmósfera de N_2. La mezcla se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 50:1 a 10:1) para proporcionar 7-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (500 mg, 79 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0552] **Etapa 3: Preparación de** 7-[2-fluoro-4-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,7-

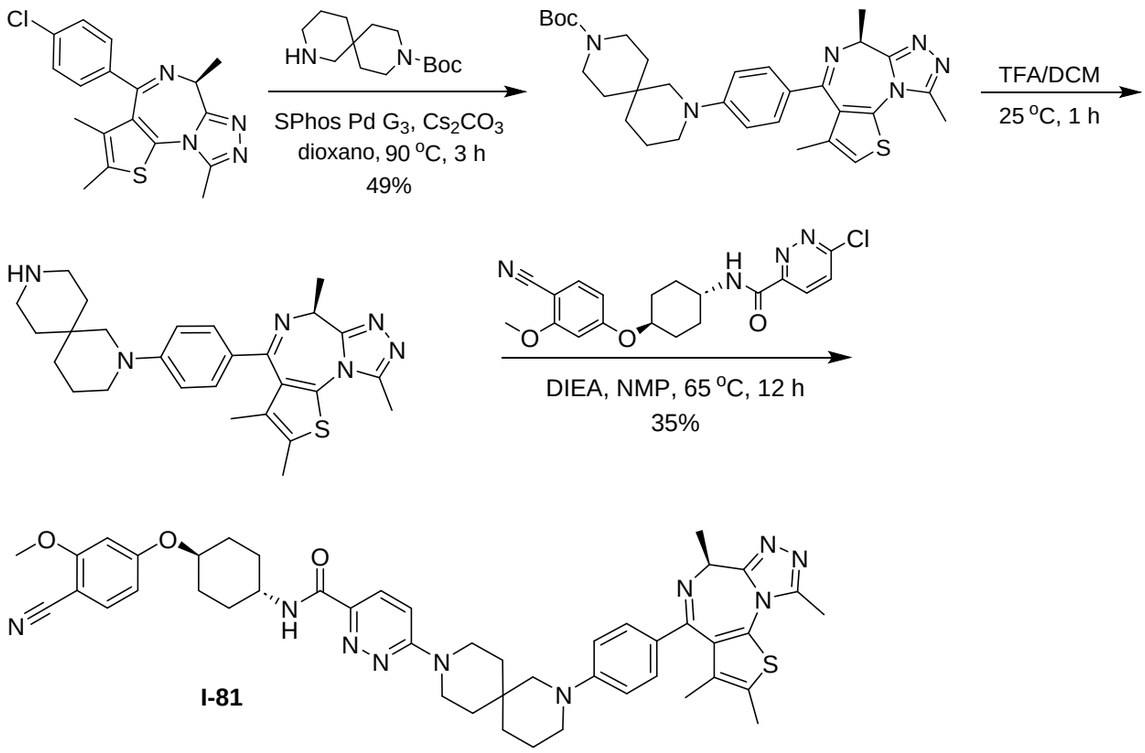
diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (9*S*)-7-cloro-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (200 mg, 712 µmol, 1,0 *equiv*) y 7-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (540 mg, 1,2 mmol, 1,7 *eq*) en THF (8 mL) y H_2O (4 mL) se agregó $Pd(dppf)Cl_2$ (104 mg, 142 µmol, 0,2 *equiv*) y Cs_2CO_3 (696 mg, 2,1 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 50 °C durante 12 horas en atmósfera de N_2. La mezcla se diluyó con agua (5 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante *prep*-TLC (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 0:1) para proporcionar 7-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,7-diazaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (200 mg, 49 % rendimiento).

[0553] Etapa 4: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 7-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,7-diazaspiro[4,4] nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (200 mg, 354 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (3 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se diluyó con $NaHCO_3$ (10 mL) y se extrajo con acetato de etilo (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron para proporcionar (9*S*)-7-[4-(2,7-diazaspiro[4,4] nonan-2-il)-3-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (160 mg, 97 % rendimiento).

[0554] Etapa 5: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[7-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-79). A una solución de (9*S*)-7-[4-(2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il)-3-fluoro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (160 mg, 344 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (89 mg, 688 µmol, 2,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(3-cloro-4-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (122 mg, 310 µmol, 0,9 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas y se concentró. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; gradiente: 29 %-59 % B durante 10 min) y SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AS (250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-MeOH/ACN]; B%: 65 %, modo de elución isocrático) para proporcionar *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi) ciclohexil]-6-[7-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,7-diazaspiro[4,4]nonan-2-il] piridazina-3-carboxamida (37 mg, 12 % rendimiento). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,04-7,97 (m, 1H), 7,92-7,84 (m, 1H), 7,50-7,43 (m, 1H), 7,25-7,09 (m, 2H), 6,76-6,69 (m, 1H), 6,57-6,44 (m, 3H), 4,39-4,29 (m, 1H), 4,19-4,00 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,84-3,56 (m, 6H), 3,55-3,47 (m, 2H), 2,67 (s, 3H), 2,42 (s, 3H), 2,26-2,12 (m, 6H), 2,12-2,00 (m, 5H), 1,80 (s, 3H), 1,76-1,71 (m, 2H), 1,53-1,39 (m, 2H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 1,665 min, *m/z* = 815,5 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 27</u> – Síntesis de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(2-(4-((*S*)-

2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)piridazina-3-carboxamida (I-81)



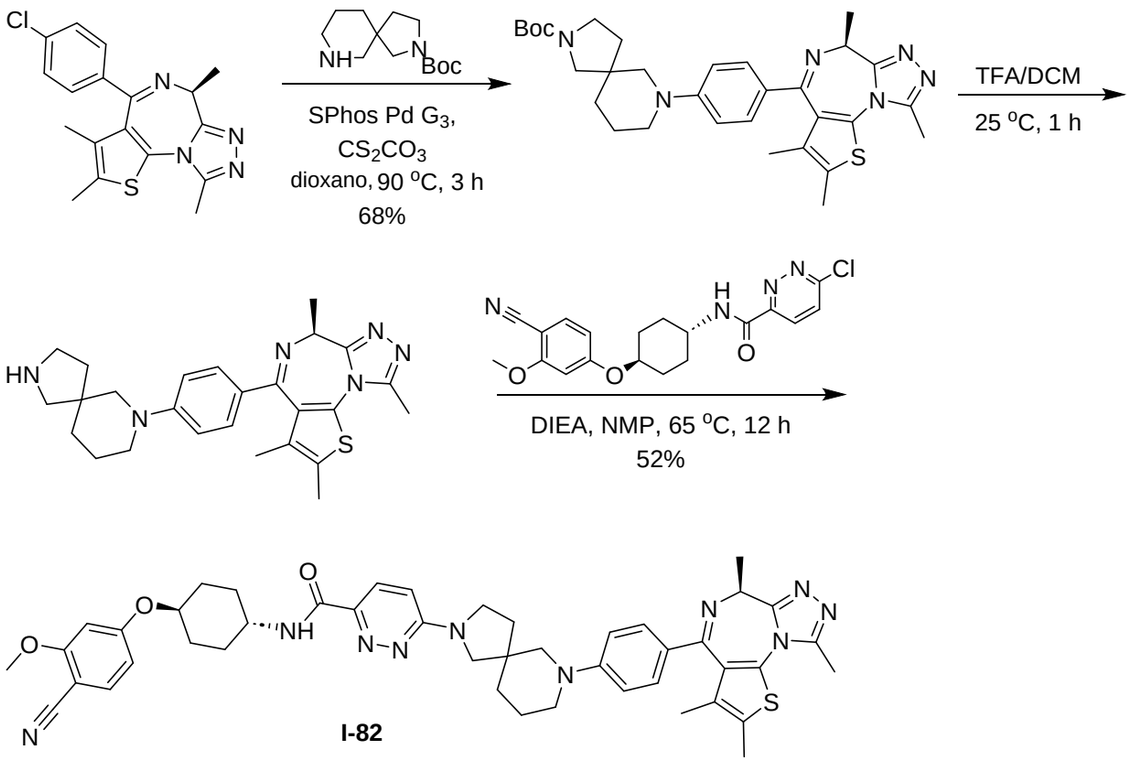
[0555] Etapa 1: Preparación de (*S*)-2-(4-(2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,9-diazaspiro[5,5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (*S*)-4-(4-clorofenil)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (215 mg, 602 µmol, 1,0 *equiv*) y *terc*-butilo 2,9-diazaspiro[5,5]undecano-9-carboxilato (230 mg, 904 µmol, 1,5 *equiv*) en dioxano (4 mL) se agregó SPhos Pd G_3 (47 mg, 60 µmol, 0,1 *equiv*) y Cs_2CO_3 (393 mg, 1,2 mmol, 2,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 28 %-58 % B durante 10 min) para proporcionar el compuesto (*S*)-2-(4-(2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4] triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il) fenil)-2,9-diazaspiro[5,5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (170 mg, 296 µmol, 49 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0556] Etapa 2: Preparación de (*S*)-4-(4-(2,9-diazaspiro[5,5]undecan-2-il)fenil)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina. A una solución de (*S*)-2-(4-(2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,9-diazaspiro[5,5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (170 mg, 296 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$ saturado a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 2 x 20 mL), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para proporcionar (*S*)-4-(4-(2,9-diazaspiro[5,5]undecan-2-il)fenil)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo [4,3-*a*][1,4]diazepina (140 mg, 295 µmol, 99 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0557] Etapa **3: Preparación de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(2-(4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)piridazina-3-carboxamida (I-81).** A una solución de (*S*)-4-(4-(2,9-diazaspiro[5,5]undecan-2-il)fenil)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo [4,3-*a*][1,4]diazepina (70 mg, 147 µmol, 1 *equiv*) y 6-cloro-*N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-

metoxifenoxi)ciclohexil)piridazina-3-carboxamida (74 mg, 192 µmol, 1,3 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (57 mg, 442 µmol, 77 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 60 %-80 % B durante 8 min) para producir el compuesto *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(2-(4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,9-diazaspiro[5,5] undecan-9-il)piridazina-3-carboxamida (45mg, 52 µmol, 35,00 % rendimiento, 95 % pureza) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,88 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 7,49 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 7,31 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,24 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 6,93 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,67 - 6,62 (m, 2H), 4,63 - 4,37 (m, 2H), 4,23 (q, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,01 - 3,86 (m, 4H), 3,75 (br t, *J* = 5,6 Hz, 4H), 3,30 - 3,26 (m, 2H), 3,23 (s, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,19 (br s, 2H), 2,12 - 2,01 (m, 2H), 1,96 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,78 - 1,69 (m, 5H), 1,69 - 1,54 (m, 10H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 1,817 min, *m/z* = 825,6 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 28</u> – Síntesis de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(7-(4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6H-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,7-diazaspiro[4,5]decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (I-82)



I-82

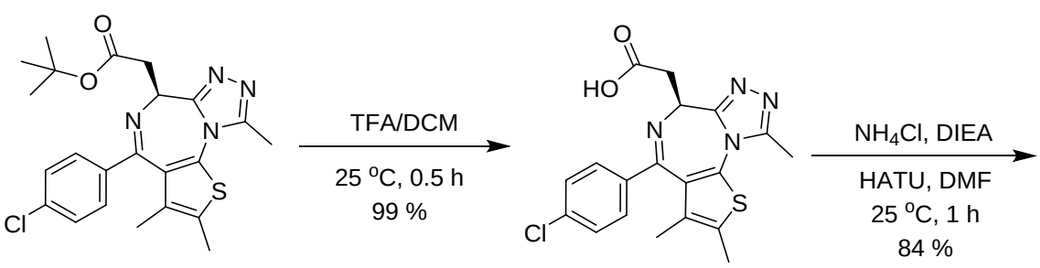
[0558] Etapa 1: Preparación de 7-(4-((***S***)**-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,7-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de ***terc***-butilo. A una solución de (*S*)-4-(4-clorofenil)-2,3,6,9-tetrametil-6H-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (215 mg, 602 µmol, 1,0 *equiv*) y 2,7-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (217 mg, 904 µmol, 1,5 *equiv*) en dioxano (4 mL) se agregó SPhos Pd G_3 (47 mg, 60 µmol, 0,1 *equiv*) y Cs_2CO_3 (393 mg, 1,2 mmol, 2,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 26 %-56 % B durante 10 min) para proporcionar el compuesto 7-(4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il) fenil)-2,7-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (230 mg, 410 µmol, 68 % rendimiento) como

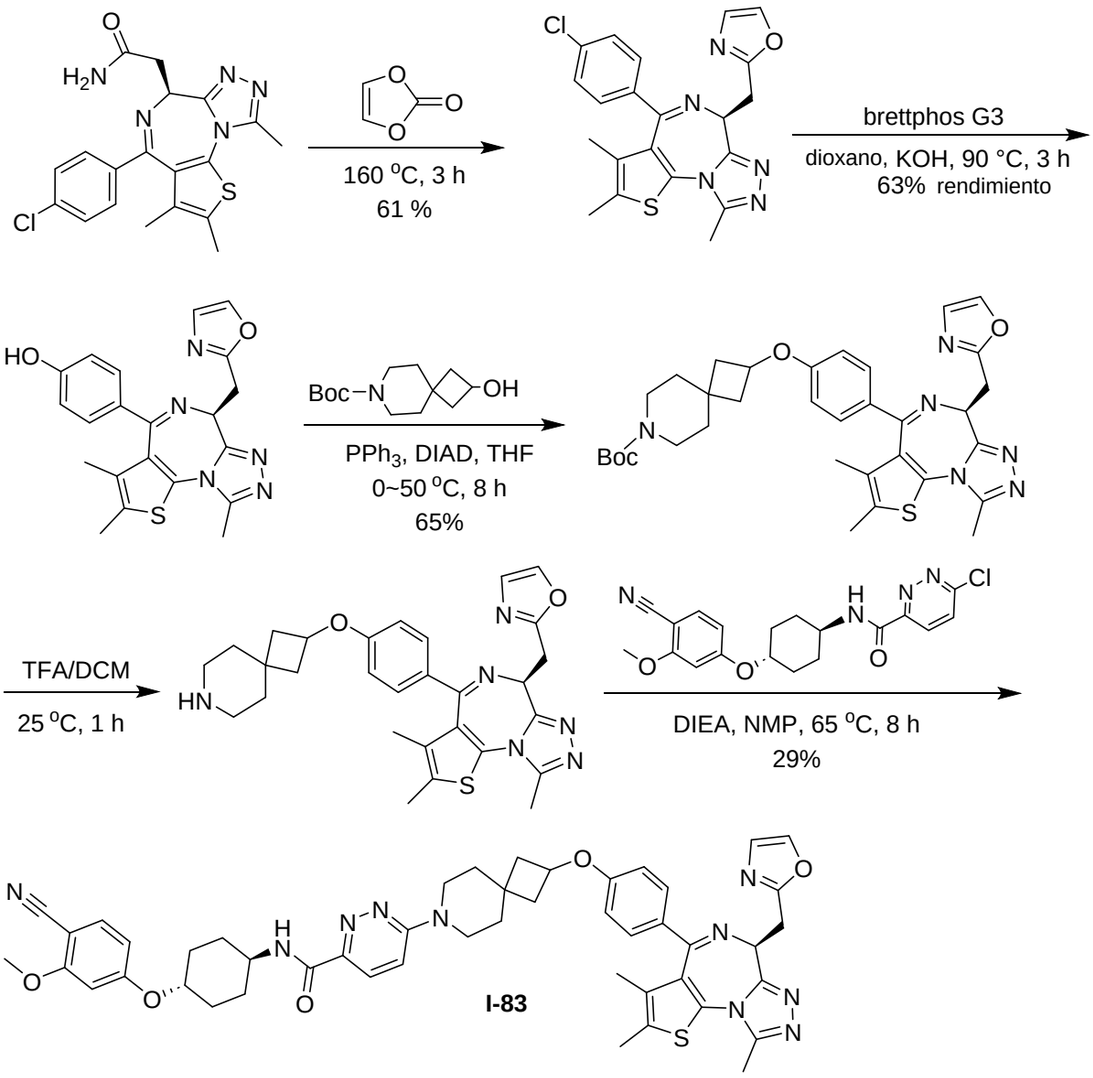
un sólido amarillo.

[0559] Etapa 2: Preparación de (6*S*)-4-(4-(2,7-diazaspiro[4,5]decan-7-il)fenil)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina. A una solución de 7-(4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,7-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (230 mg, 410 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró, se basificó con $NaHCO_3$ acuoso y se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 10 mL x 2). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (10 mL x 3), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró para producir (6*S*)-4-(4-(2,7-diazaspiro[4,5]decan-7-il)fenil)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (188 mg, 408 µmol, 99 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0560] Etapa 3: Preparación de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(7-(4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,7-diazaspiro[4,5]decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (I-82). A una solución de (6*S*)-4-(4-(2,7-diazaspiro[4,5]decan-7-il)fenil)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (94 mg, 204 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)piridazina-3-carboxamida (103 mg, 265 µmol, 1,3 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (79 mg, 612 µmol, 107 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 55 %-75 % B durante 8 min) para producir el compuesto *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(7-(4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2,7-diazaspiro[4,5] decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (90 mg, 106 µmol, 52 % rendimiento, 95 % pureza) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,95 - 7,83 (m, 1H), 7,50 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,29 (br d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,99 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,70 - 6,60 (m, 2H), 4,54 - 4,44 (m, 2H), 4,29 - 4,17 (m, 1H), 4,03 - 3,84 (m, 4H), 3,80 - 3,65 (m, 3H), 3,55 - 3,34 (m, 3H), 3,22 - 3,08 (m, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,47 - 2,37 (m, 3H), 2,29 - 2,17 (m, 2H), 2,16 - 2,05 (m, 3H), 2,00 - 1,91 (m, 4H), 1,89 - 1,76 (m, 3H), 1,74 - 1,67 (m, 4H), 1,67 - 1,59 (m, 4H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 1,642 min, *m/z* = 811,5 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 29</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]piridazina-3-carboxamida (I-83)





[0561] Etapa 1: Preparación de ácido 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético. A una solución de 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de *terc*-butilo comercialmente disponible (CAS Registry No. 1268524-70-4; 1,0 g, 2,1 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (10 mL) se agregó TFA (7,7 g, 67 mmol, 5,0 mL, 30 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo, ácido 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (877 mg, 99 % rendimiento), se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0562] Etapa 2: Preparación de 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetamida. A una solución de ácido 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (877 mg, 2,19 mmol, 1,0 *equiv*) y NH_4Cl (351 mg, 6,56 mmol, 3,0 *equiv*) en DMF (8 mL) se agregó HATU (915 mg, 2,41 mmol, 1,1 *equiv*) y DIEA (848 mg, 6,56 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Waters Xbridge C18 150 mm x 50 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; B%: 24 %-54 %, 10 min) para proporcionar 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetamida (740 mg, 84 % rendimiento).

[0563] Etapa 3: Preparación de 2-[[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. A una solución de 1,3-dioxol-2-ona (103 mg, 1,20 mmol, 1,2 *equiv*) y 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il] acetamida (400 mg, 1,00 mmol, 1,0 *equiv*) en PPA (4 mL). La mezcla se agitó a 160 °C durante 3 horas. La mezcla se inactivó con H_2O (50 mL) a 0 °C y luego se diluyó con acetato de etilo (200 mL). La mezcla se lavó con H_2O (15 mL x 2) y luego se lavó nuevamente con H_2O (10 mL x 3) para eliminar el PPA. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (10 mL x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 2:1 a 0:1) para proporcionar 2-[[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (260 mg, 61 % rendimiento).

[0564] Etapa 4: Preparación de 4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenol. Una mezcla de 2-[[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (5,8 g, 13,7 mmol, 1,0 *equiv*), BrettPhos Pd G3 (1,2 g, 1,4 mmol, 0,1 *equiv*), y KOH (3,8 g, 68,4 mmol, 5,0 *equiv*) en dioxano (58 mL) y H_2O (11,6 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. Luego, la mezcla se agitó a 90 °C durante 3 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (2000 ml) y agua (500 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (500 mL x 2), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, diclorometano:metanol = 40:1) para proporcionar 4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenol (3,5 g, 8,6 mmol, 63 % rendimiento) como un sólido amarillo.

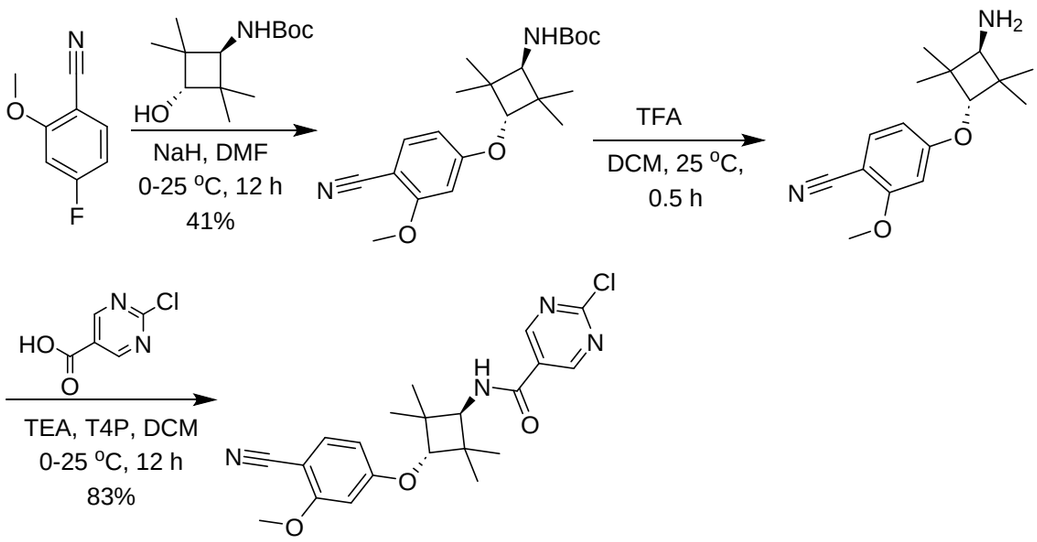
[0565] Etapa 5: Preparación de 2-[4-[(9***S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo.** A una solución de PPh_3 (485 mg, 1,85 mmol, 2,5 *equiv*) en THF (3 mL) se agregó DIAD (300 mg, 1,48 mmol, 0,3 mL, 2,0 *equiv*) a 0 °C durante 30 minutos. A continuación, se agregó 4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetraza-triciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenol (300 mg, 740 µmol, 1,0 *equiv*) y 2-hidroxi-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (357 mg, 1,48 mmol, 2,0 *equiv*) en THF (3 mL). La mezcla se agitó a 0-50 °C durante 8 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo a diclorometano: metanol = 1:1 a 10:1) para proporcionar 2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (300 mg, 477 µmol, 65 % rendimiento) como un aceite incoloro.

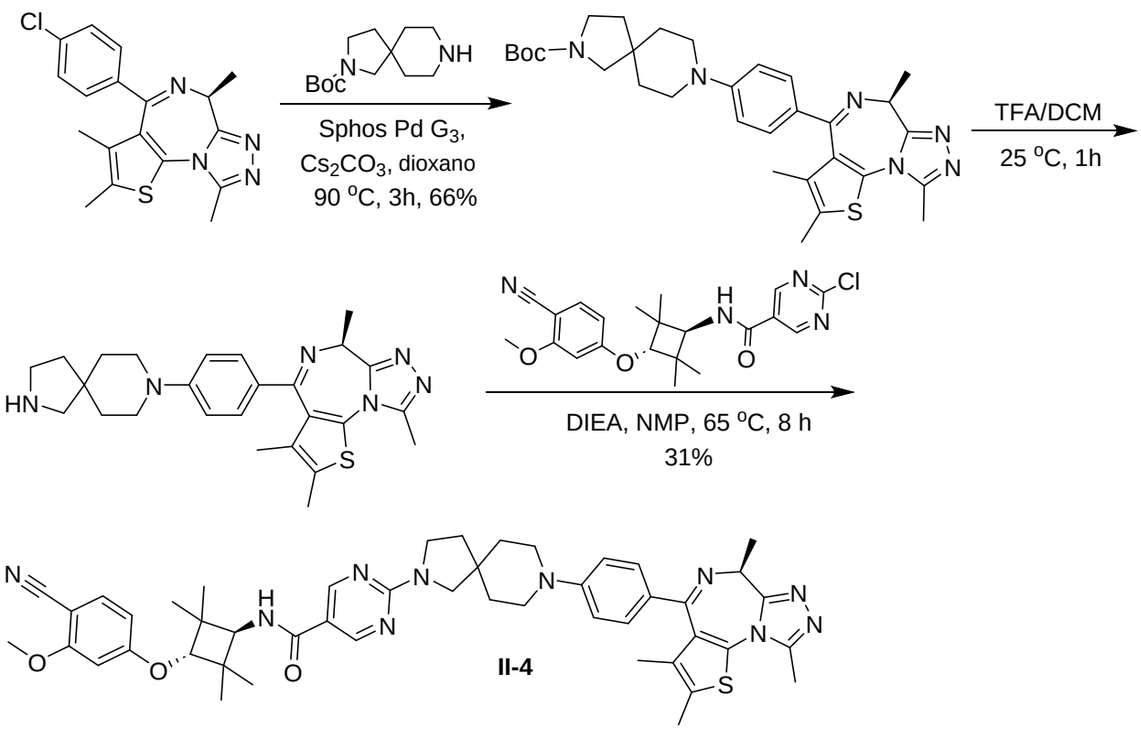
[0566] Etapa 6: Preparación de 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. A una solución de 2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (200 mg, 318 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL)

se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró y se inactivó con $NaHCO_3$ (30 mL) a 0 °C. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x 3), se secaron sobreNa_2SO_4, se filtraron y concentraron a presión reducida para proporcionar 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil] oxazol (160 mg, 302 µmol) como un sólido amarillo.

[0567] Etapa 7: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]piridazina-3-carboxamida (I-83). A una solución de 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (100 mg, 190 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (88 mg, 227 µmol, 1,2 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (75 mg, 567 µmol, 0,1 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 8 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 60 %-90 % B durante 10 min) para proporcionar *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]piridazina-3-carboxamida (49,42 mg, 56,01 µmol, 29 % rendimiento, 99,63 % pureza) como un sólido blancuzco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,91 (t, *J* = 4,8 Hz, 2H), 7,55 - 7,50 (m, 1H), 7,38 - 7,29 (m, 3H), 7,14 (s, 1H), 6,86 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 6,71 - 6,65 (m, 2H), 4,76 (dd, *J* = 6,4, 8,3 Hz, 1H), 4,51 (br s, 1H), 4,04 - 3,95 (m, 3H), 3,93 (s, 3H), 3,83 - 3,76 (m, 2H), 3,75 - 3,68 (m, 2H), 2,72 (s, 3H), 2,60 - 2,51 (m, 2H), 2,47 (s, 3H), 2,29 - 2,19 (m, 2H), 2,16 - 2,07 (m, 2H), 2,00 (br dd, *J* = 6,1, 13,1 Hz, 2H), 1,78 (td, *J* = 5,5, 15,8 Hz, 4H), 1,72 (s, 3H), 1,65 (br t, *J* = 9,6 Hz, 4H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,346 min, *m/z* = 879,1 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 30</u> – Síntesis de *N*-[3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]pirimidina-5-carboxamida (II-4)





[0568] Etapa 1: Preparación de *N*-[3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]carbamato de *terc*-butilo. A una solución de *N*-(3-hidroxi-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil)carbamato de *terc*-butilo (7,0 g, 28 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (130 mL) se agregó NaH (1,38 g, 34,5 mmol, 60 % pureza, 1,2 *equiv*) a 0 °C. Después de agitar a 25 °C durante 0,5 horas, se agregó 4-fluoro-2-metoxi-benzonitrilo (5,22 g, 34,5 mmol, 1,2 *equiv*) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se añadió lentamente a agua fría (500 ml) y se extrajo con DCM(300 mL x 3). La fase orgánica se lavó con agua (500 ml x 3). La fase orgánica se secó y se concentró. El producto bruto se trituró con acetato de etilo (200 ml) a 0 ˚C durante 10 minutos. La mezcla se filtró para obtener una torta. La torta se lavó con acetato de etilo (50 mL x 3) y se secó. Se obtuvo *N*-[3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]carbamato de *terc*-butilo (15 g, 35 mmol, 41 % rendimiento, 89 % pureza) como un sólido blanco.

[0569] Etapa 2: Preparación de 4-(3-amino-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutoxi)-2-metoxi-benzonitrilo. A una solución de *N*-[3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]carbamato de *terc*-butilo (14 g, 37 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó TFA (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 0,5 horas y luego se concentró para proporcionar 4-(3-Amino-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutoxi)-2-metoxi-benzonitrilo bruto (14,52 g, 37,39 mmol, TFA) como un aceite incoloro.

[0570] Etapa 3: Preparación de 2-cloro-*N*-[3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida. A una solución de 4-(3-amino-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutoxi)-2-metoxi-benzonitrilo (14,52 g, 37,39 mmol, 1,0 *equiv*, TFA) en DCM (100 mL) se agregó TEA (18,92 g, 186,9 mmol, 26 mL, 5,0 *equiv*), ácido 2-cloropirimidina-5-carboxílico (5,93 g, 37,3 mmol, 1,0 *equiv*), y T4P (26,94 g, 37,39 mmol, 50 % pureza, 1,0 *equiv*) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (400 mL) y se lavó con 1 M HCl (200 mL). La fase orgánica se lavó con $NaHCO_3$ saturado (200 mL), se secó y se concentró. El producto bruto se trituró con éter de petróleo/acetato de etilo (1:1, 200 ml) a 25 ˚C durante 5 minutos. La mezcla se filtró para obtener una torta que se lavó con éter de petróleo/acetato de etilo (1:1, 50 mL x 3) y se secó.

El producto, 2-cloro-*N*-[3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida (13 g, 31 mmol, 83 % rendimiento), se obtuvo como un sólido blanco.

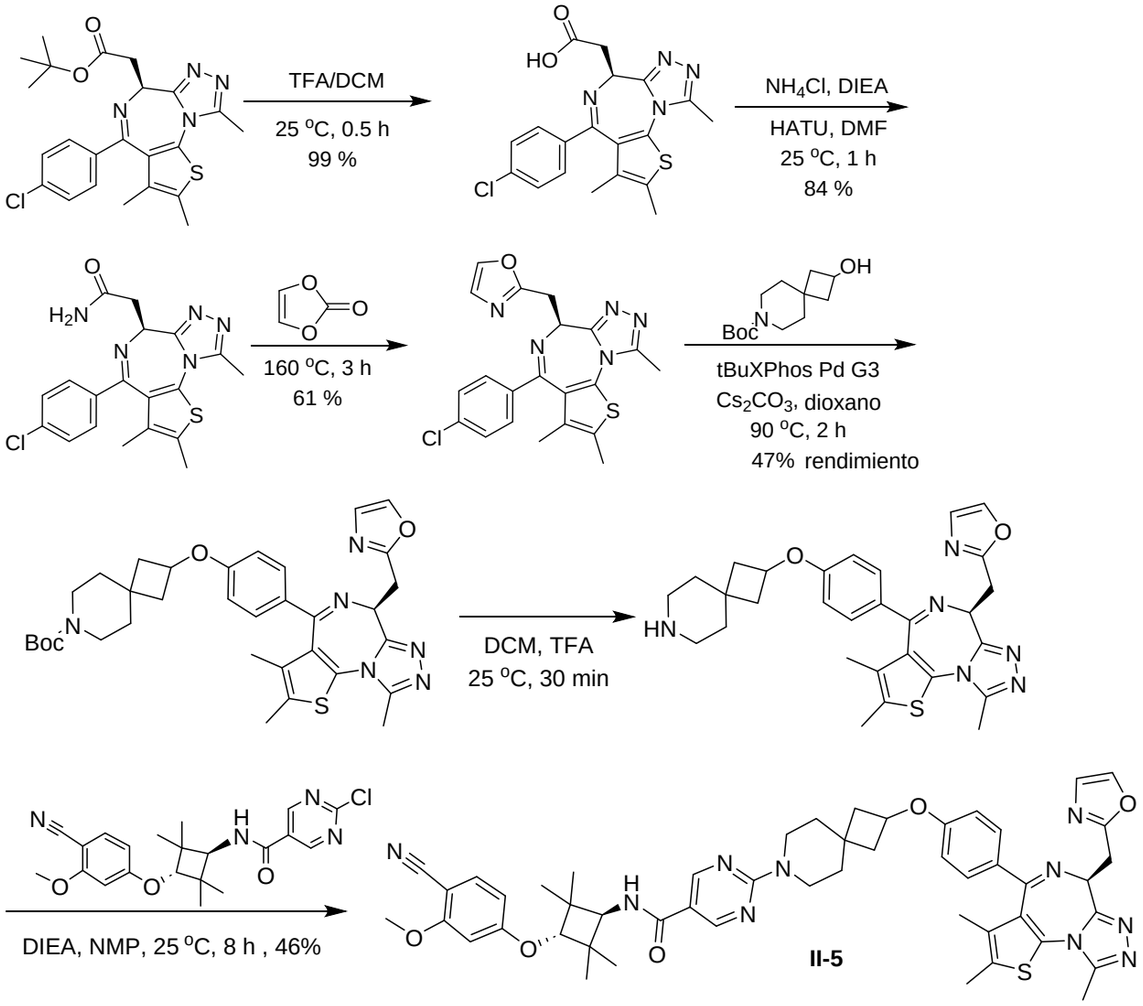
[0571] Etapa 4: Preparación de 8-[4-[(9***S***)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5] **decano-2-carboxilato de *terc*-butilo.** Una mezcla de (9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (200 mg, 560 µmol, 1,0 *equiv*), 2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (202 mg, 840 µmol, 1,5 *equiv*), SPhos Pd G_3 (88 mg, 112 µmol, 0,2 *equiv*), y Cs_2CO_3 (548 mg, 1,68 mmol, 3,0 *equiv*) en dioxano (3 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. La mezcla se agitó a 90 °C durante 3 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 28 %-58 % B durante 25 min) para proporcionar 8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (210 mg, 374 µmol, 66 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0572] Etapa 5: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (210 mg, 374 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora y luego se concentró para obtener un residuo. El residuo se basificó con $NaHCO_3$ acuoso y luego se extrajo con DCM:MeOH (10:1, 20 mL x 3). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (40 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y se concentró para proporcionar (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (170 mg, 369 µmol) como un sólido amarillo.

[0573] Etapa 6: Preparación de *N*-[3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]pirimidina-5-carboxamida (II-4). A una solución de (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (100 mg, 217 µmol, 1,0 *equiv*) y 2-cloro-*N*-[3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida (117 mg, 282 µmol, 1,3 *equiv*) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (85 mg, 651 µmol, 0,1 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 8 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 80 %-100 % B durante 10 min) para producir *N*-[3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro [4,5]decan-2-il]pirimidina-5-carboxamida (61,05 mg, 67,16 µmol, 31 % rendimiento, 92,3 % pureza) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8,77 (s, 2H), 7,54 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,37 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,99 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 6,64 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,57 (dd, *J* = 2,1, 8,6 Hz, 1H), 4,31 - 4,23 (m, 2H), 4,15 (s, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,74 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,59 (s, 2H), 3,45 (br s, 2H), 3,34 (br s, 2H), 3,31 (br s, 1H), 2,71 (s, 3H), 2,46 (s, 3H), 2,06 - 1,97

(m, 5H), 1,79 (br s, 3H), 1,76 (s, 3H), 1,31 (s, 6H), 1,24 (s, 6H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 1,943 min, *m/z* = 839,4 $[M+H]^+$.

EJEMPLO 31 – Síntesis de *N*-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5] nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (II-5)



[0574] Etapa **1: Preparación de ácido 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético**. A una solución de 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de *terc*-butilo (1,0 g, 2,1 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (10 mL) se agregó TFA (7,7 g, 67 mmol, 5,0 mL, 30 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo, ácido 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (877 mg, 99 % rendimiento), se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0575] Etapa 2: Preparación de 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetamida. A una solución de ácido 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (877 mg, 2,19 mmol, 1,0 *equiv*) y NH_4Cl (351 mg, 6,56 mmol, 3,0 *equiv*) en DMF (8 mL) se agregó HATU (915 mg, 2,41 mmol, 1,1 *equiv*) y DIEA (848 mg, 6,56 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Waters Xbridge C18 150 mm x 50mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; B%: 24 %-54 %, 10 min) para

proporcionar 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetamida (740 mg, 84 % rendimiento).

[0576] Etapa 3: Preparación de 2-[[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. Una solución de 1,3-dioxol-2-ona (103 mg, 1,20 mmol, 1,2 *equiv*) y 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetamida (400 mg, 1,00 mmol, 1,0 *equiv*) en PPA (4 mL) se agitó a 160 °C durante 3 horas. La mezcla se inactivó con H_2O (50 mL) a 0 °C y luego se diluyó con acetato de etilo (200 mL). La mezcla se lavó con H_2O (15 mL x 2) y luego se lavó nuevamente con H_2O (10 mL x 3) para eliminar el PPA. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (10 mL x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 2:1 a 0:1) para proporcionar 2-[[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (260 mg, 61 % rendimiento).

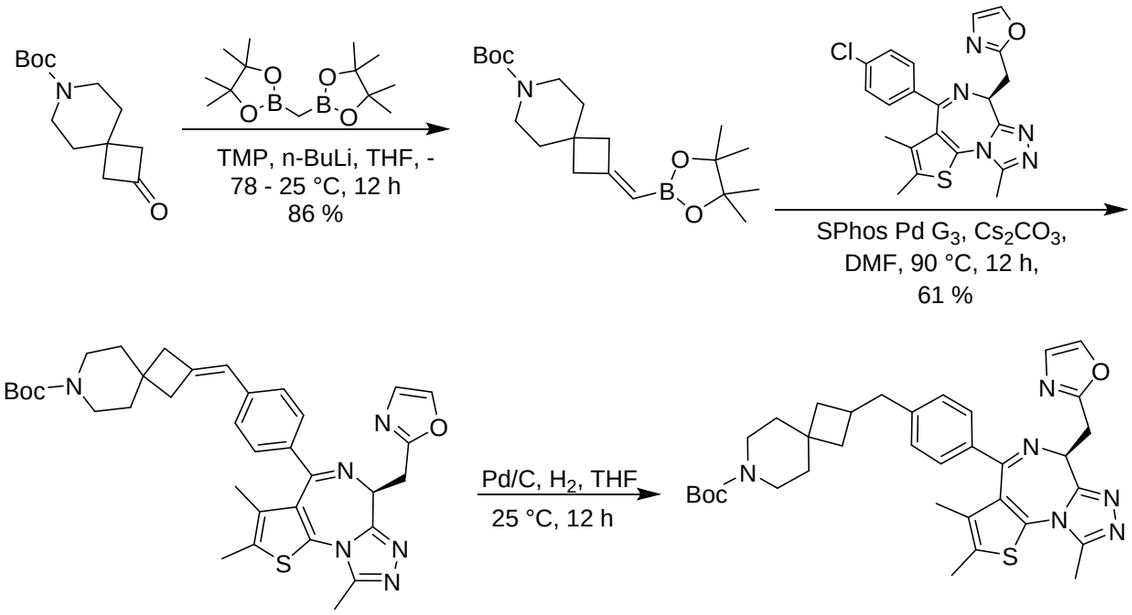
[0577] Etapa 4: Preparación de 2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 2-[[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (300 mg, 707 µmol, 1,0 *equiv*) y 2-hidroxi-7-azaspiro[3,5] nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (853 mg, 3,54 mmol, 5,0 *equiv*) en dioxano (5 mL) se agregó tBuXPhos Pd G3 (112 mg, 141 µmol, 0,2 *equiv*) y Cs_2CO_3 (1,1 g, 3,5 mmol, 5,0 *equiv*). La mezcla se desgasificó y se purgó con N_2 tres veces, y luego la mezcla se agitó a 90 °C durante 2 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida de gel de sílice (ISCO®; 2 g columna rápida de sílice SepaFlash®, eluyente de 0~3 % metanol/diclorometanogradiente a 18 mL/min) para proporcionar 2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (210 mg, 333 µmol, 47 % rendimiento) como un sólido amarillo.

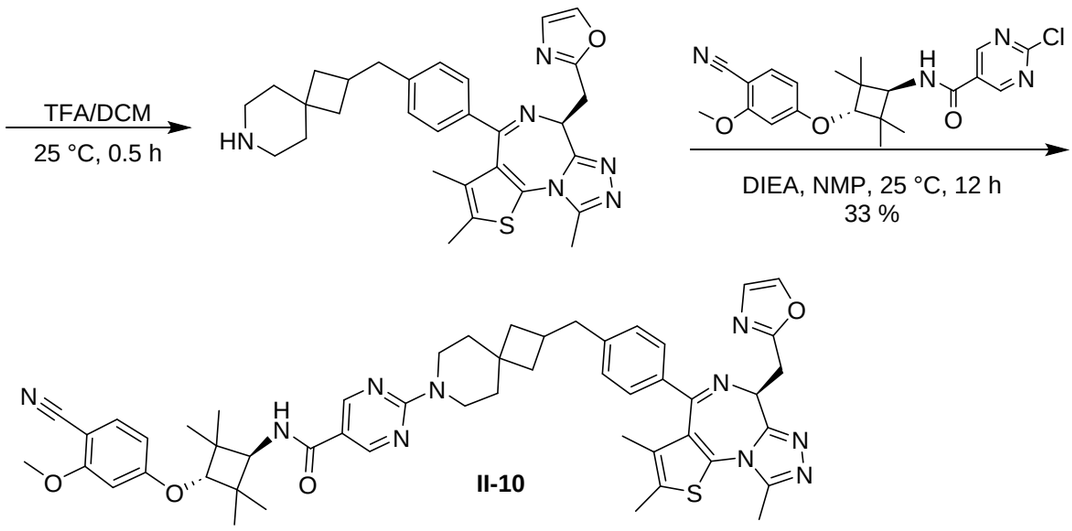
[0578] Etapa 5: Preparación de 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. Una mezcla de 2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (210 mg, 333 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) y TFA (0,6 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. La mezcla se agitó a 25 °C durante 30 minutos en atmósfera de N_2. La mezcla se concentró para proporcionar un residuo, 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro [3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (214 mg, 332 µmol, 99 % rendimiento, TFA), como un aceite marrón, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0579] Etapa 6: Preparación de *N*-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-

tetrazatriciclo[8,3,0,0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5] nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (II-5). A una solución de 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,0^{2,6}] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (80 mg, 151 µmol, 1,0 *equiv*) y 2-cloro-*N*-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida (94 mg, 227 µmol, 1,5 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (60 mg, 460 µmol, 0,1 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 8 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters Xbridge C18 150 mm x 50mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 54 %-84 % B durante 10 min) para proporcionar *N*-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (63,7 mg, 70,13 µmol, 46 % rendimiento, 99,86 % pureza) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8,74 (s, 2H), 7,91 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H), 7,54 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,34 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,14 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H), 6,85 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 6,64 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,57 (dd, *J* = 2,1, 8,6 Hz, 1H), 4,79 - 4,71 (m, 2H), 4,27 - 4,25 (m, 1H), 4,16 - 4,12 (m, 1H), 3,95 (s, 7H), 3,90 - 3,83 (m, 2H), 2,72 (s, 3H), 2,61 - 2,50 (m, 2H), 2,48 (s, 3H), 2,03 - 1,92 (m, 2H), 1,72 (s, 7H), 1,30 (s, 6H), 1,24 (s, 6H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,698 min, *m/z* = 907,4 [M+H]$^+$.

<u>EJEMPLO 32</u> – Síntesis de *N*-[3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro [3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (II-10)





[0580] **Etapa 1: Preparación de** 2-[(4, 4, 5, 5-tetrametil-1, 3, 2-dioxaborolan-2-il) metileno]-7-azaspiro [3,5] nonano-7-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de TMP (885 mg, 6,2 mmol, 1,0 mL, 1,5 *equiv*) en THF (4 mL) se agregó *n*-BuLi (2,5 M, 2,5mL, 1,5 *equiv*) a -30 °C en atmósfera de N_2. Después de la adición, la mezcla se agitó a -30 °C durante 30 minutos. A continuación, se agregó 4,4,5,5-tetrametil-2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)metil]-1,3,2-dioxaborolano (1,4 g, 5,0 mmol, 1,2 *equiv*) en THF (3 mL) gota a gota a -78 °C. Después de la adición, la mezcla se agitó a a -78 °C durante 30 minutos. A continuación, se agregó 2-oxo-7-azaspiro [3,5] nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (1,0 g, 4,18 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (3 mL) gota a gota a -78 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 ºC durante 12 horas. Luego, la mezcla resultante se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota NH_4Cl (15 mL) acuosa saturada. Tras agitar durante una hora adicional, la mezcla resultante se filtró y el disolvente se eliminó *al vacío*. Se añadió agua (20 mL) al residuo resultante y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (20 mL x 3). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (20 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró al vacío para proporcionar 2-[(4, 4, 5, 5-tetrametil-1, 3, 2-dioxaborolan-2-il) metileno]-7-azaspiro [3,5] nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (1,3 g, 86 % rendimiento) como un aceite incoloro.

[0581] **Etapa 2: Preparación de** 2-[[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 2-[[7-(4-clorofenil)-4, 5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02, 6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il] metil]oxazol (400 mg, 943,8 µmol, 1,0 *equiv*) y 2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (530 mg, 1,6 mmol, 1,5 *equiv*) en DMF (6 mL) se agregó SPhos Pd G_3 (73 mg, 94 µmol, 0,1 *equiv*) y Cs_2CO_3 (307 mg, 943 µmol, 1,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex Luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; B%: 62 %-92 %, 10 min) para proporcionar 2-[[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (400 mg, 61 %rendimiento) como un sólido amarillo.

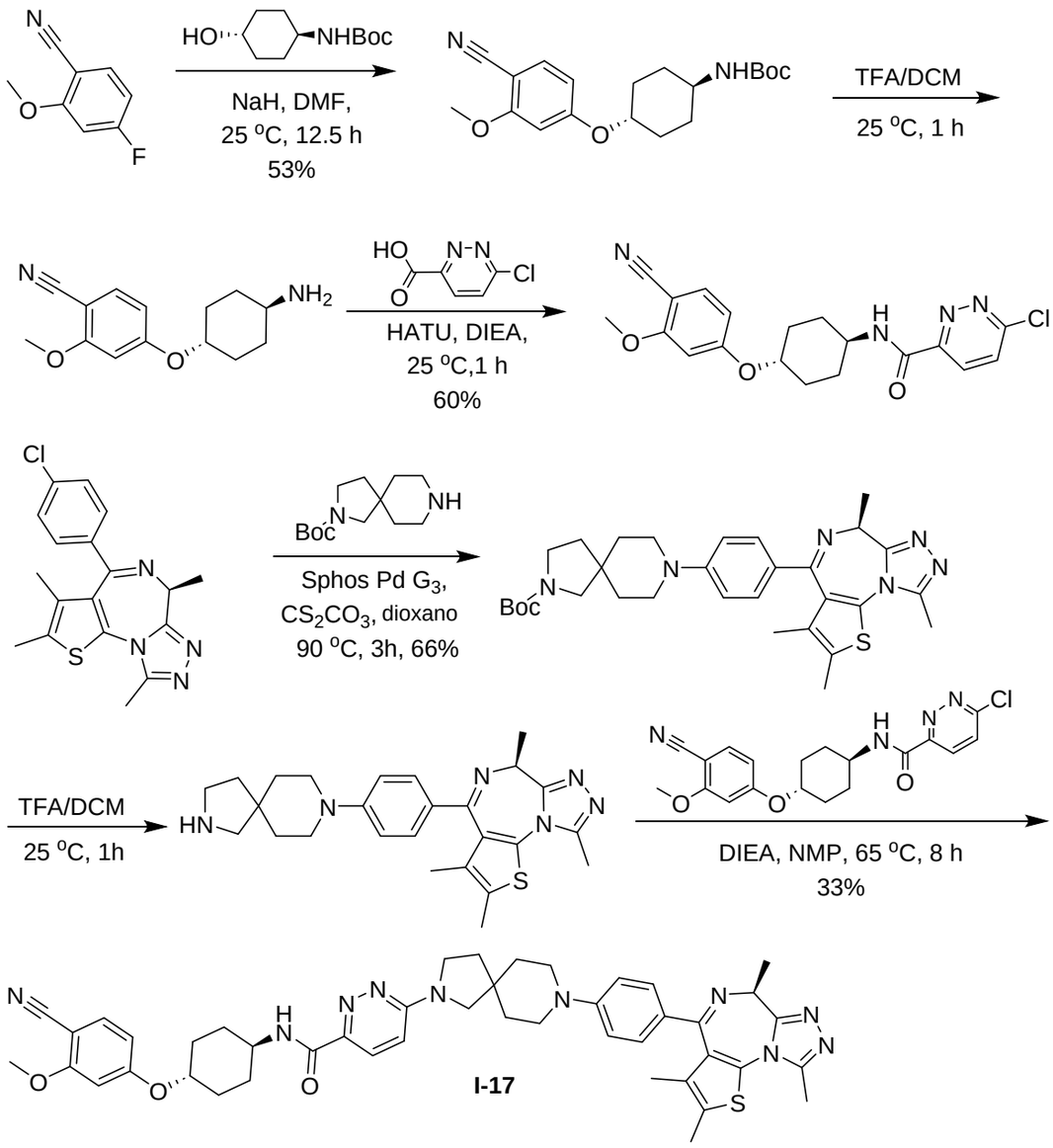
[0582] **Etapa 3: Preparación de** 2-[[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonano-

7-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 2-[[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (0,4 g, 642 µmol, 1,0 *equiv*) en THF (8 mL) se agregó Pd/C (0,45 g, 10 % pureza) en H_2 (15 psi). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas en H_2 (15 psi). La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 2-[[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (0,4 g, 99 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0583] Etapa 4: Preparación de 2-[[7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-ilmetil)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. A una solución de 2-[[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (0,4 g, 638 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (1,2 g, 10,7 mmol, 800 µL, 16,8 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 2-[[7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-ilmetil)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (0,407 g, 99 % rendimiento) como un aceite incoloro.

[0584] Etapa 5: Preparación de *N*-[3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (II-10). A una solución de 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-ilmetil)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (100 mg, 189 µmol, 1,0 *equiv*) y 2-cloro-*N*-[3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida (102 mg, 246 µmol, 1,3 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (74,2 mg, 574 µmol, 100 uL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters Xbridge 150 mm x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 70 %-100 % B durante 10 min) para producir *N*-[3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (58 mg, 33 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,70 (s, 2 H), 7,90 (s, 1 H), 7,51 (d, *J* = 8,56 Hz, 1 H), 7,29 (d, *J* = 8,07 Hz, 2 H), 7,18 (d, *J* = 8,07 Hz, 2 H), 7,12 (s, 1 H), 6,62 (d, *J* = 1,83 Hz, 1 H), 6,54 (dd, *J* = 8,56, 1,96 Hz, 1 H), 4,74 - 4,79 (m, 1 H), 4,23 (s, 1 H), 4,11 (s, 1 H), 3,90 - 4,04 (m, 5 H), 3,79 - 3,87 (m, 2 H), 3,72 - 3,78 (m, 2 H), 2,76 (d, *J* = 7,34 Hz, 2 H), 2,70 (s, 3 H), 2,54 - 2,63 (m, 1 H), 2,45 (s, 3 H), 1,92 - 2,02 (m, 2 H), 1,49 - 1,67 (m, 9 H), 1,27 (s, 6 H), 1,21 (s, 6 H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,936 min, *m/z* = 905,6 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 33</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-17)



[0585] Etapa 1: Preparación de ((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo. A una solución de NaH (1,25 g, 31,21 mmol, 60 % pureza, 1,2 *equiv*) en DMF (60 mL) en atmósfera de N_2 a 0 °C se agregó ((1*r*,4*r*)-4-hidroxiciclohexil) carbamato de *terc*-butilo (5,6 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Después de 30 minutos, se añadió 4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo (3,93 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Se dejó que la mezcla de reacción alcance lentamente 25 °C y se agitó durante 12 horas. La mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl acuosa saturada (100 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 0:1 a 3:1) para producir ((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (4,8 g, 13,86 mmol, 53 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0586] Etapa 2: Preparación de 4-(((1*r*,4*r*)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo. A una solución de ((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (0,5 g, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para para producir 4-(((1*r*,4*r*)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 99,99 % rendimiento, sal de TFA) como un aceite amarillo.

[0587] Etapa 3: Preparación de 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil] piridazina-3-carboxamida. A una solución de 4-(((1*r*,4*r*)-4-aminociclohexil)oxi)-2-

metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA) y ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico (229 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DMF (2 mL) se agregó HATU (823 mg, 2,16 mmol, 1,5 *equiv*) y DIEA (560 mg, 4,33 mmol, 754 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 49 %-69 % B durante 8 min) para producir 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (337 mg, 871 µmol, 60 % rendimiento) como un sólido blanco.

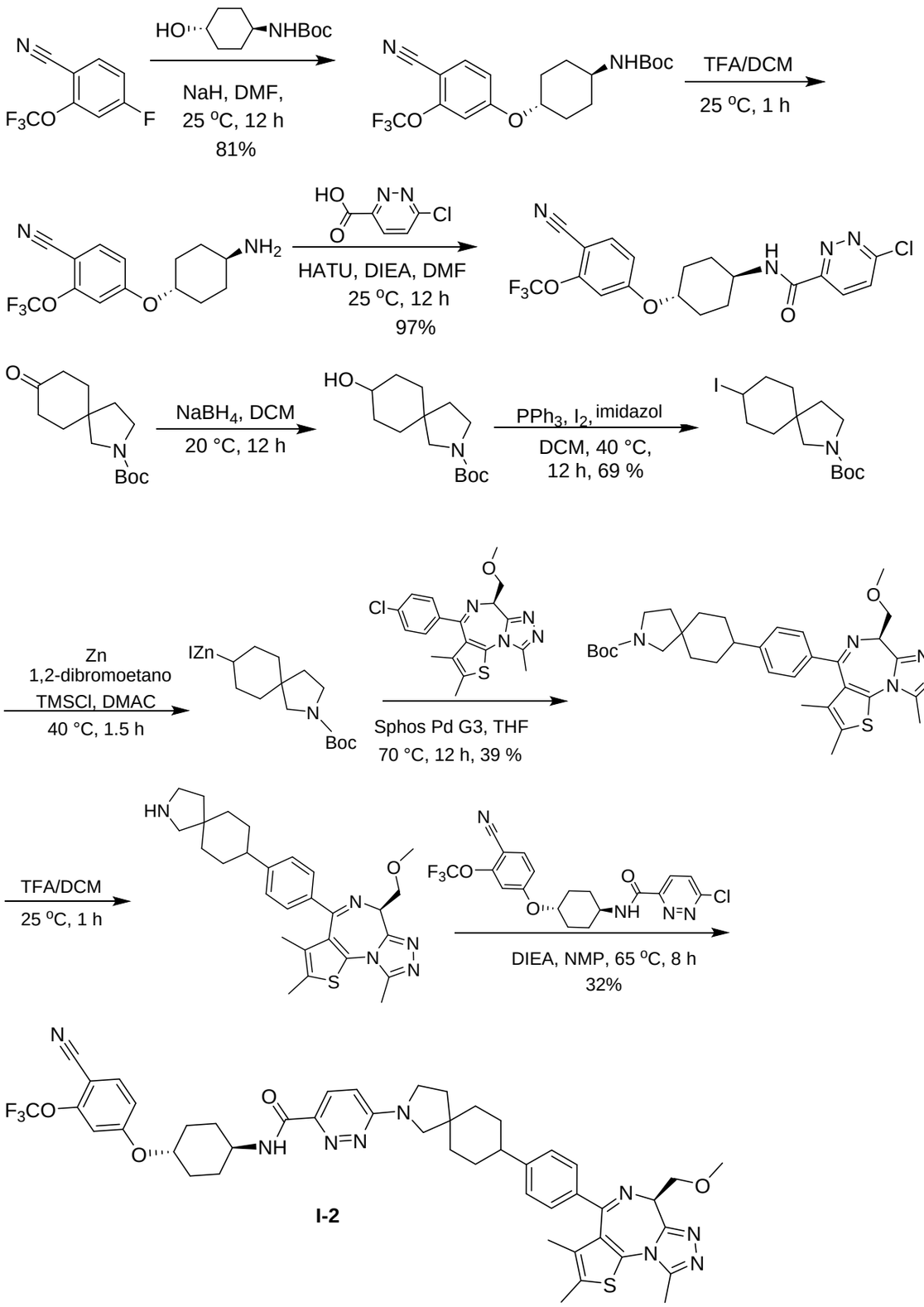
[0588] Etapa 4: Preparación de 8-[4-[(9***S***)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** Una mezcla de (9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (200 mg, 560 µmol, 1,0 *equiv*), 2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (202 mg, 840 µmol, 1,5 *equiv*), SPhos Pd G_3 (88 mg, 112 µmol, 0,2 *equiv*), y Cs_2CO_3 (548 mg, 1,68 mmol, 3,0 *equiv*) en dioxano (3 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. La mezcla se agitó a 90 °C durante 3 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 28 %-58 % B durante 25 min) para proporcionar 8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (210 mg, 374 µmol, 66 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0589] Etapa 5: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (210 mg, 374 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora y luego se concentró *al vacío*. El residuo se basificó con $NaHCO_3$ acuoso y luego se extrajo con DCM:MeOH (10:1, 20 mL x 3). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (40 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y se concentró para proporcionar (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (170 mg, 369 µmol) como un sólido amarillo.

[0590] Etapa 6: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-17). A una solución de (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (100 mg, 217 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (109 mg, 282 µmol, 1,3 *equiv*) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (85 mg, 651 µmol, 0,1 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 8 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters Xbridge C18 150 mm x 50mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 45 %-75 % B durante 10 min) para proporcionar *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi) ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-

il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (58,59 mg, 71,79 µmol, 33 % rendimiento, 99,37 % pureza) como un sólido amarillo. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,94 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 7,52 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 7,36 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,01 (dd, *J* = 9,3, 18,0 Hz, 3H), 6,73 - 6,63 (m, 2H), 4,56 - 4,43 (m, 1H), 4,30 - 4,20 (m, 1H), 4,04 - 3,96 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,71 (br d, *J* = 3,4 Hz, 2H), 3,61 - 3,41 (m, 4H), 3,38 - 3,34 (m, 2H), 2,71 (s, 3H), 2,46 (s, 3H), 2,28 - 2,18 (m, 2H), 2,16 - 2,03 (m, 4H), 1,99 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 1,86 - 1,78 (m, 4H), 1,75 (s, 3H), 1,65 (br t, *J* = 9,6 Hz, 4H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 1,597 min, *m/z* = 811,4 $[M+H]^+$.

<u>EJEMPLO 34</u> – Síntesis de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-2)



I-2

[0591] Etapa 1: Preparación de ((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-(trifluorometoxi) fenoxi)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo. A una solución de ((1*r*,4*r*)-4-hidroxiciclohexilo)

carbamato de *terc*-butilo (3,15 g, 14,63 mmol, 1,5 *equiv*) en DMF (20 mL) y THF (20 mL) se le añadió NaH (585 mg, 14,63 mmol, 60 % de pureza, 1,5 *equiv*) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. A continuación, se añadió 4-fluoro-2-(trifluorometoxi)benzonitrilo (2 g, 9,75 mmol, 1,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl (20 mL) acuoso saturado a 0 °C y luego se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (100 mL x 3), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo **=** 20:1 a 5:1). Se obtuvo el compuesto ((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (3,15 g, 7,87 mmol, 81 % de rendimiento) como un sólido blanco.

[0592] Etapa 2: Preparación de 4-(((1*r*,4*r*)-4-aminociclohexil)oxi)-2-(trifluorometoxi) benzonitrilo. A una solución de ((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi) ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (3,14 g, 7,84 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó TFA (10 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró para obtener 4-(((1*r*,4*r*)-4-aminociclohexil)oxi)-2-(trifluorometoxi)benzonitrilo (3,25 g, 7,84 mmol, sal de TFA) como un aceite incoloro.

[0593] Etapa 3: Preparación de 6-cloro-*N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-(trifluorometoxi) fenoxi)ciclohexil)piridazina-3-carboxamida. A una solución de 4-(((1*r*,4*r*)-4-amino-ciclohexil)oxi)-2-(trifluorometoxi)benzonitrilo (3,25 g, 7,84 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA) y ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico (1,24 g, 7,84 mmol, 1,0 *equiv*) en DMF (20 mL) se le añadió DIEA (3,04 g, 23,53 mmol, 4,10 mL, 3,0 *equiv*) y HATU (4,47 g, 11,77 mmol, 1,5 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se añadió a agua helada (200 ml) y se filtró para obtener 6-cloro-*N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi)ciclohexil)piridazina-3-carboxamida (3,34 g, 7,58 mmol, 97 % de rendimiento) como un sólido blanco.

[0594] Etapa 4: Preparación de 8-hidroxi-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 8-oxo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 7,8 mmol, 1 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó $NaBH_4$ (400 mg, 10 mmol, 1,3 *equiv*). La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener el producto bruto 8-hidroxi-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo como residuo.

[0595] Etapa 5: Preparación de 8-yodo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 8-hidroxi-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 7,8 mmol, 1 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó PPh_3 (2,8 g, 10 mmol, 1,4 *equiv*), imidazol (1,6 g, 23 mmol, 3 *equiv*), e I_2 (2,9 g, 11 mmol, 2 mL, 1,5 *equiv*). La mezcla se agitó a 40 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante prep-TLC (SiO_2, acetato de etilo:éter de petróleo = 5:1) para producir 8-yodo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 69 % rendimiento) como un aceite blanco.

[0596] Etapa 6: Preparación de (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-yodo-zinc. A una solución agitada de Zn (830 mg, 12 mmol, 5,8 *equiv*) en DMAC (2 mL) se agregó TMSCl (88 mg, 810 µmol, 102 µL, 0,37 *equiv*) y 1,2-dibromoehano (152 mg, 810 µmol,

61 µL, 0,37 *equiv*) en DMAC (1 mL) a 40 °C. Después de agitar durante 30 minutos, se agregó 8-yodo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (800 mg, 2 mmol, 1 *equiv*). La mezcla se agitó a 40 °C durante 1 hora adicional y se filtró. El filtrado se concentró para obtener (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-yodo-zinc bruto.

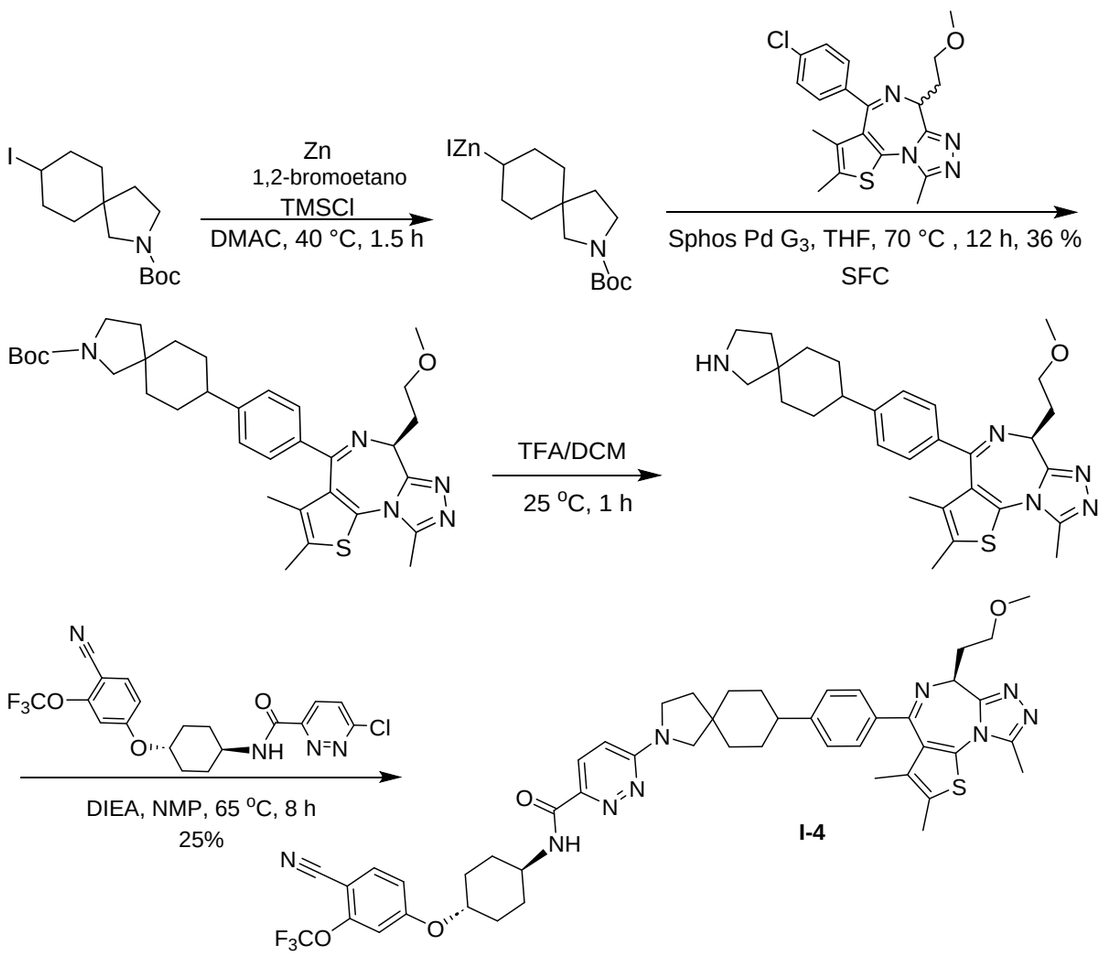
[0597] Etapa 7: Preparación de 8-[4-[(9***R***)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo**. A una solución de (9*R*)-7-(4-clorofenil)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (202 mg, 522 µmol, 1 *equiv*) y (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-yodo-zinc (900 mg, 2,09 mmol, 4 *equiv*) en THF (2 mL) se agregó SPhos Pd G_3 (81 mg, 104 µmol, 0,2 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (80 mL) y se extrajo con EtOAc (80 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (300 mL), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (condición de FA; columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 66 %-96 % B durante 10 min) para proporcionar 8-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (120 mg, 39 % rendimiento).

[0598] Etapa 8: Preparación de (9*R*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (70 mg, 118 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,5 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró, se basificó con $NaHCO_3$ acuoso y se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 10 mL x 3). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y se concentró para proporcionar (9*R*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (110 mg, 224 µmol) como un sólido amarillo.

[0599] Etapa 9: Preparación de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il] piridazina-3-carboxamida (I-2). A una solución de (9*R*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (55 mg, 112 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (65 mg, 146 µmol, 1,3 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (45 mg, 336 µmol, 0,1 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 8 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 65 %-85 % B durante 8 min) para proporcionar *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*R*)-9-(metoximetil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10, 12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (32,72 mg, 36,05 µmol,

32,09 % rendimiento, 98,49 % pureza) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,94 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 7,78 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,49 - 7,42 (m, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,16 (dd, *J* = 2,3, 8,7 Hz, 1H), 7,08 (s, 2H), 4,38 (br d, *J* = 11,9 Hz, 3H), 4,05 - 3,94 (m, 1H), 3,57 (s, 7H), 2,72 (s, 3H), 2,70 - 2,61 (m, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,24 (br s, 2H), 2,16 - 2,08 (m, 2H), 1,98 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 1,93 - 1,81 (m, 4H), 1,74 - 1,62 (m, 11H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,305 min, *m/z* = 894,6 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 35</u> – Síntesis de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-4)



[0600] Etapa 1: Preparación de (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-yodo-zinc. A una solución agitada de Zn (1,4 g, 22 mmol, 10 *equiv*) en DMAC (2 mL) se agregó TMSCl (88 mg, 810 µmol, 102 µL, 0,37 *equiv*) y 1,2-dibromoetano (152 mg, 810 µmol, 61 µL, 0,37 *equiv*) en DMAC (1 mL) a 40 °C. Después de agitar durante 30 minutos, se agregó 8-yodo-2-azaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (800 mg, 2 mmol, 1 *equiv*). La mezcla se agitó a 40 °C durante 1 hora adicional y luego se filtró. Después de la filtración, el filtrado se concentró para obtener (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-yodo-zinc bruto.

[0601] Etapa 2: Preparación de 8-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5] decan-8-il)-yodo-zinc (940 mg, 2 mmol, 4 *equiv*) y (9*S*)-7-(4-clorofenil)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (200 mg, 498 µmol, 1 *equiv*) en THF (1 mL) se agregó SPhos Pd G_3 (77 mg, 99 µmol, 0,2 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante prep-

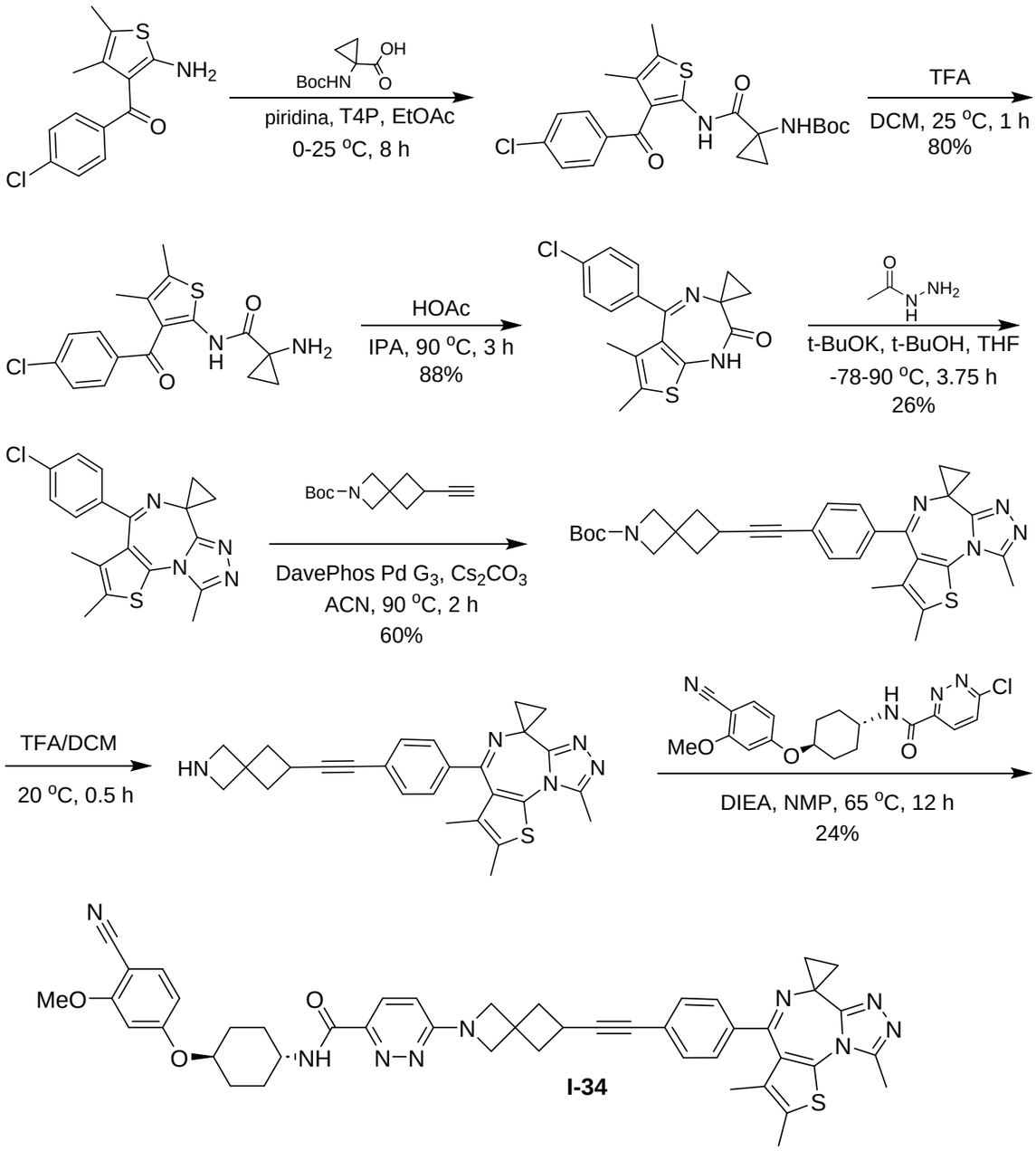
HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 68 %-98 % B durante 10 min) para producir 8-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (110 mg, 182 µmol, 36 % rendimiento) como un sólido blanco. El residuo (110 mg, 182 µmol) se separó mediante SFC quiral (columna: DAICEL CHIRALPAK IK (250 mm x 50 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-ACN/*i*-PrOH (0,1 % $NH_3.H_2O$)]; B %: 60 %, modo de elución isocrático) y luego se purificó adicionalmente mediante SFC quiral (columna: DAICEL CHIRALPAK IK (250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-ACN/*i*-PrOH (0,1 % $NH_3.H_2O$)]; B %: 50 %, modo de elución isocrático) para proporcionar el producto enantiopuro deseado (47 mg, 76 µmol, 42 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0602] Etapa 3: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (75 mg, 124 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,5 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró, se basificó con $NaHCO_3$ acuoso y se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 10 mL x 3). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para producir (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (120 mg, 238 µmol) como un sólido amarillo.

[0603] Etapa 4: Preparación de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-4). A una solución de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (60 mg, 120 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (68 mg, 155 µmol, 1,3 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (50 mg, 357 µmol, 0,1 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 8 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 67 %-87 % B durante 8 min) para producir *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-9-(2-metoxietil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (28,26 mg, 30,80 µmol, 25,86 % rendimiento, 98,96 % pureza) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,94 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 7,78 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,47 - 7,40 (m, 2H), 7,39 - 7,31 (m, 2H), 7,16 (dd, *J* = 2,3, 8,8 Hz, 1H), 7,08 (s, 2H), 4,27 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,05 - 3,96 (m, 1H), 3,88 - 3,83 (m, 1H), 3,81 - 3,76 (m, 1H), 3,73 - 3,58 (m, 3H), 3,37 (s, 3H), 2,76 - 2,70 (m, 5H), 2,69 - 2,63 (m, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,28 - 2,20 (m, 2H), 2,18 - 2,09 (m, 2H), 2,01 - 1,94 (m, 2H), 1,93 - 1,82 (m, 4H), 1,69 (s, 11H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,331 min, *m/z* = 908,1 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 36</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-(4,5,13-trimetilespiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-

9,1'-ciclopropano]-7-il)fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-34)



I-34

[0604] Etapa 1: Preparación de *N*-[1-[[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]carbamoil]ciclopropil]carbamato de *terc*-butilo. A una solución de (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-clorofenil)metanona (26 g, 97,8 mmol, 1,0 *equiv*), ácido 1-(*terc*-butoxicarbonilamino) ciclopropanocarboxílico (59 g, 293,5 mmol, 3,0 *equiv*), y piridina (38,7 g, 489 mmol, 39,5 mL, 5,0 *equiv*) en EtOAc (50 mL) se agregó T4P (211,5 g, 293,5 mmol, 50 % pureza, 3,0 *equiv*) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 8 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se diluyó con $NaHCO_3$ (100 mL) acuoso saturado y se extrajo con 500 mL de acetato de etilo (250 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 mL), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se trituró con éter de petróleo:acetato de etilo (3:1, 200 mL) para obtener *N*-[1-[[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]carbamoil]ciclopropil]carbamato de *terc*-butilo (48 g, bruto) como un sólido amarillo.

[0605] Etapa 2: Preparación de 1-amino-*N*-[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]ciclopropano carboxamida. A una solución de *N*-[1-[[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]carbamoil]ciclopropil]carbamato de *terc*-butilo (43 g, 95,8 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (140

mL) se agregó TFA (218 g, 1,9 mol, 142 mL, 20,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se diluyó con $NaHCO_3$ (200 mL) acuoso saturado y se extrajo con 500 mL de acetato de etilo (250 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener 1-amino-*N*-[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]ciclopropano carboxamida (27 g, 80 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

[0606] Etapa 3: Preparación de 5-(4-clorofenil)-6,7-dimetil-espiro[1*H*-tieno[2,3-*e*][1,4]diazepina-3,1'-ciclopropano]-2-ona. A una solución de 1-amino-*N*-[3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]ciclopropano carboxamida (27 g, 77,4 mmol, 1,0 *equiv*) en IPA (270 mL) se agregó AcOH (23,2 g, 387 mmol, 22 mL, 5,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se trituró con acetato de etilo (200 mL) para proporcionar 5-(4-clorofenil)-6,7-dimetil-espiro[1*H*-tieno[2,3-*e*][1,4]diazepina-3,1'-ciclopropano]-2-ona (22,6 g, 88 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0607] Etapa 4: Preparación de 7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-espiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]. Se agregó *terc*-butóxido de potasio(1 M, 6,7 mL, 1,1 *equiv*) a una solución de 5-(4-clorofenil)-6,7-dimetil-espiro[1*H*-tieno[2,3-*e*][1,4]diazepina-3,1'-ciclopropano]-2-ona (2 g, 6 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (25 mL) a -78 °C. La mezcla de reacción se calentó a -10 °C durante 0,5 horas y se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a -78 °C. Se añadió [cloro(fenoxi) fosforil]oxibenceno (1,95 g, 7,3 mmol, 1,5 mL, 1,2 *equiv*) a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se calentó a -10 °C durante 0,75 horas. A continuación, se añadió acetohidrazida (672 mg, 9 mmol, 1,5 *equiv*) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C. Después de 1 hora, se añadió *terc*-BuOH (30 mL) y la mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 1 hora. La mezcla se vertió en agua (100 ml) y se extrajo con DCM (200 ml x 2). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200 mL) y se secó sobre Na_2SO_4. La mezcla se concentró para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 37 %-67 % B durante 15 min) para proporcionar 7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-espiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano] (600 mg, 26 % rendimiento) como un sólido blanco.

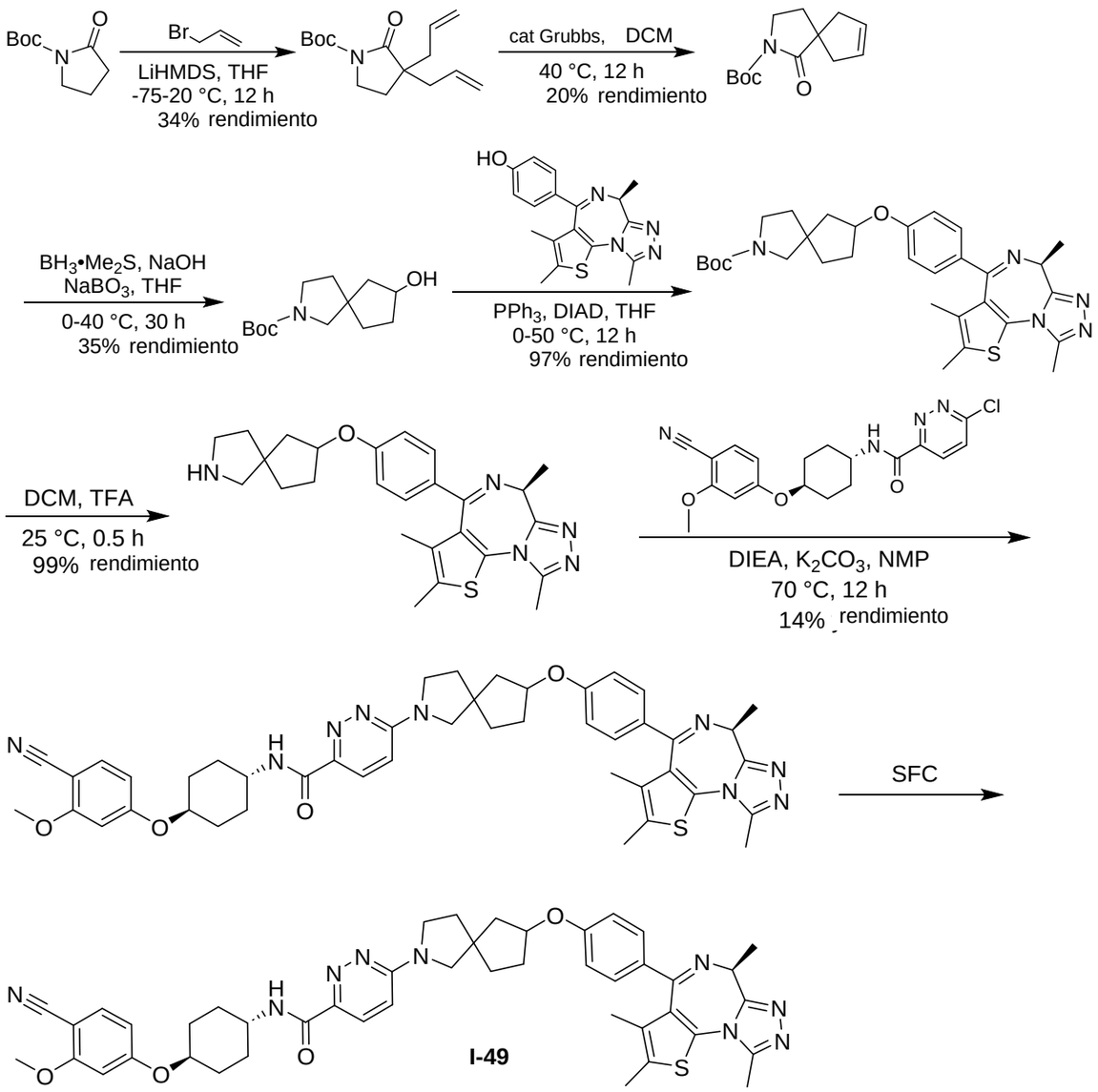
[0608] Etapa 5: Preparación de 6-[2-[4-(4,5,13-trimetilespiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]-7-il)fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-espiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano] (400 mg, 1,08 mmol, 1,0 *equiv*) y 6-etinil-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (599 mg, 2,71 mmol, 2,5 *equiv*) en ACN (8 mL) se agregó DavePhos Pd G_3 (82,7 mg, 108 µmol, 0,1 *equiv*) y Cs_2CO_3 (706 mg, 2,17 mmol, 2,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC(columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 55 %-85 % B durante 15 min) para proporcionar 6-[2-[4-(4,5,13-trimetilespiro[3-tia-1,8,11,12-

tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]-7-il)fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (360 mg, 650 µmol, 60 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0609] Etapa 6: Preparación de 7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-4,5,13-trimetil-espiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]. A una solución de 6-[2-[4-(4,5,13-trimetilespiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]-7-il)fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (180 mg, 325 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró, se basificó con $NaHCO_3$ acuoso y se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 30 mL x 2). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (10 mL x 2), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y se concentró para producir 7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-4,5,13-trimetil-espiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano] (146 mg, 321 µmol, bruto) como un aceite amarillo, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0610] Etapa 7: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-(4,5,13-trimetilespiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]-7-il)fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-34). A una solución de 7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-4,5,13-trimetil-espiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano] (73,0 mg, 160 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (62,4 mg, 482 µmol, 84,1 µL, 3,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil] piridazina-3-carboxamida (62,2 mg, 160 µmol, 1,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC(columna: Waters xbridge 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua(NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 52 %-72 % B durante 8 min) para producir *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-(4,5,13-trimetilespiro[3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno-9,1'-ciclopropano]-7-il)fenil] etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (31,5 mg, 39,1 µmol, 24 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,91 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 7,50 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 7,45 - 7,40 (m, 4H), 6,85 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 6,70 - 6,63 (m, 2H), 4,53 - 4,44 (m, 1H), 4,24 (d, *J* = 6,1 Hz, 4H), 3,99 - 3,90 (m, 4H), 3,25 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 2,77 - 2,68 (m, 5H), 2,51 - 2,42 (m, 5H), 2,25 - 2,17 (m, 2H), 2,09 (br d, *J* = 1,7 Hz, 2H), 1,90 (dt, *J* = 5,4, 8,7 Hz, 1H), 1,68 - 1,59 (m, 7H), 1,58 - 1,50 (m, 1H), 0,94 - 0,86 (m, 2H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,191 min, *m/z* = 804,6 $[M+H]^+$.

<u>EJEMPLO 37</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-2-azaspiro[4,4]nonan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-49)



I-49

[0611] **Etapa 1: Preparación de** 3,3-dialil-2-oxo-pirrolidina-1-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 2-oxopirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (20,0 g, 107,9 mmol, 18,4 mL, 1,0 *equiv*) en THF (200 mL) se agregó gota a gota LiHMDS (1 M, 269,9 mL, 2,5 *equiv*) a -75 °C. Después de la adición, la mezcla se agitó a a -75 °C durante 0,5 horas. A continuación, se añadió gota a gota 3-bromoprop-1-eno (39,2 g, 323,9 mmol, 3,0 *equiv*) a -78 °C. La mezcla resultante se agitó a 20 ºC durante 12 horas. El residuo se diluyó con EtOAc (1000 mL) y se lavó con H_2O (1000 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (1000 mL x 2), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 1:0 a 20:1) para proporcionar 3,3-dialil-2-oxo-pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (10,0 g, 37,7 mmol, 34 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0612] **Etapa 2: Preparación de** 1-oxo-2-azaspiro[4,4]non-7-eno-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** Una mezcla de 3,3-dialil-2-oxo-pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (5,5 g, 20,7 mmol, 1,0 *equiv*), bencilideno-[1,3-bis(2,4,6-trimetilfenil)imidazolidin-2-ilideno]-dicloro-rutenium; triciclohexilfosfano (352 mg, 415 µmol, 0,1 *equiv*) en DCM (500 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. La mezcla se agitó a 40 °C durante 12 horas en atmósfera de N_2. La mezcla se concentró para proporcionar un residuo, que se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 1:0 a 40:1) para proporcionar 1-oxo-2-azaspiro[4,4]non-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,0 g, 4,2 mmol, 20 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0613] Etapa 3: Preparación de 8-hidroxi-2-azaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 1-oxo-2-azaspiro[4,4]non-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,0 g, 4,2 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (10 mL) se agregó BH_3-Me_2S (10 M, 2,1 mL, 5,0 *equiv*) a 0 °C. La mezcla se agitó a 40 °C durante 12 horas. Luego, a la mezcla se agregó NaOH (5 M, 2,9 mL, 3,5 *equiv*) y sodio;3-oxidodioxaborirano;tetrahidrato (2,6 g, 16,9 mmol, 3,3 mL, 4,0 *equiv*) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. El residuo se inactivó con NaOH (40 mL), se extrajo con EtOAc (200 mL x 3) y se lavó con H_2O (300 mL). La fase orgánica se concentró para producir un residuo, que se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 6:1 a 2:1) para proporcionar 8-hidroxi-2-azaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (360 mg, 1,5 mmol, 35 % rendimiento) como un aceite amarillo.

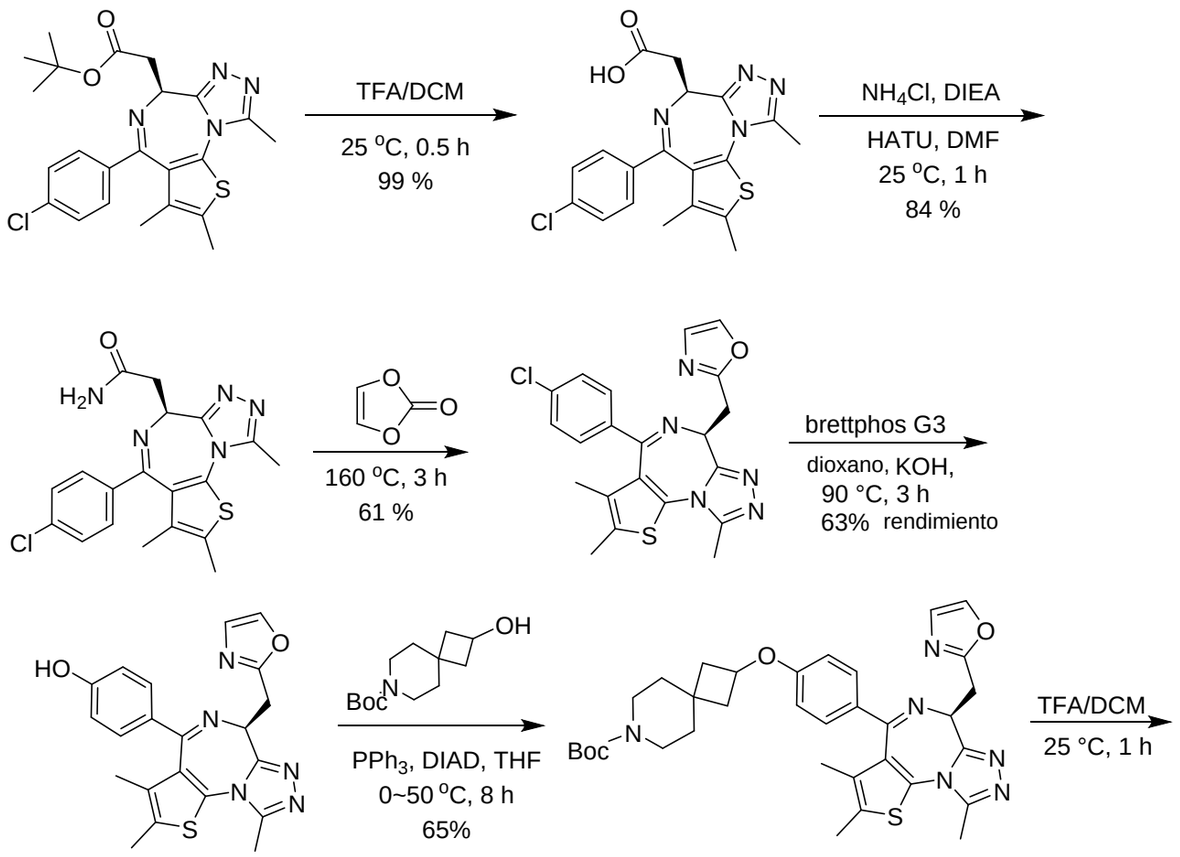
[0614] Etapa 4: Preparación de 8-[4-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-2-azaspiro[4,4] nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una mezcla de PPh_3 (0,5 M, 21,7 mL, 22,0 *equiv*) en THF (3 mL) se agregó DIAD (1,8 g, 8,9 mmol, 1,7 mL, 20,0 *equiv*) a 0 °C durante 0,5 horas. Luego, la solución se agregó a una mezcla de 8-hidroxi-2-azaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (214 mg, 886 µmol, 2,0 *equiv*) y 4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenol (150 mg, 443 µmol, 1,0 *equiv*) en THF (0,6 mL). Después de la adición, la mezcla se desgasificó, se purgó con N_2 tres veces, y se agitó a 50 °C durante 12 horas en atmósfera de N_2. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 3:1 a 0:1) para proporcionar 8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-2-azaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (270 mg, 433 µmol, 97 % rendimiento) como un sólido amarillo.

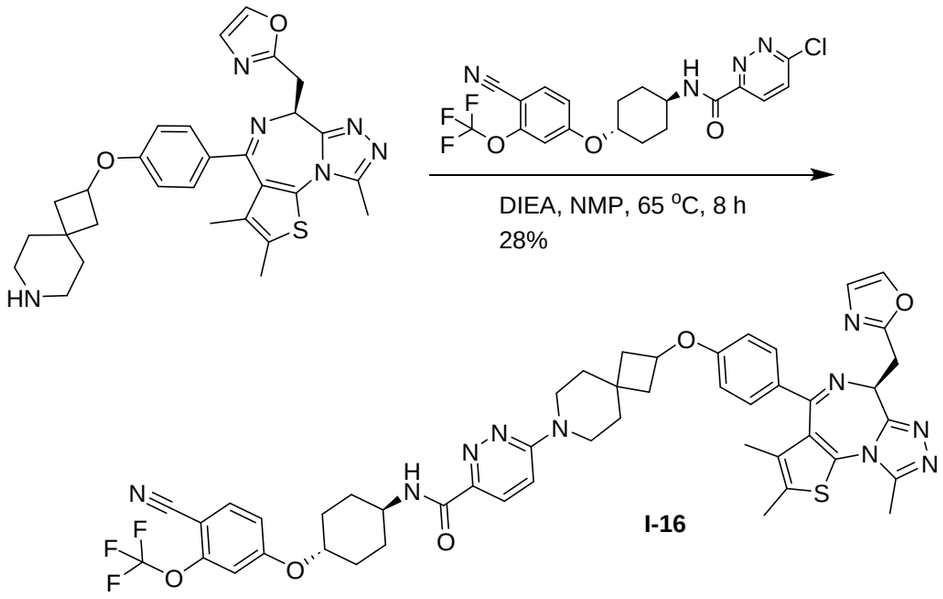
[0615] Etapa 5: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,4]nonan-8-iloxi)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. Una mezcla de 8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-2-azaspiro[4,4]nonano-2-carboxilato de *terc*-butilo (270 mg, 481 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (3 mL) y TFA (1 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El producto bruto, (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro [4,4]nonan-8-iloxi)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (220 mg, 476 µmol, 99 % rendimiento), se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0616] Etapa 6: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-2-azaspiro[4,4]nonan-2-il]piridazina-3-carboxamida. Una mezcla de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,4]nonan-8-iloxi)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (95 mg, 206 µmol, 1,0 *equiv*), 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (80 mg, 206 µmol, 1,0 *equiv*), DIEA (27 mg, 206 µmol, 36 µL, 1,0 *equiv*), y K_2CO_3 (142 mg, 1,1 mmol, 5,0 *equiv*) en NMP (2 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas en atmósfera de N_2. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (SiO_2, diclorometano:metanol = 15:1) para obtener el producto como un sólido blanco.

[0617] Etapa 7: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-2-azaspiro[4,4]nonan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-49). El residuo se separó mediante SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AS (250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-MeOH/ACN]; B %: 50 %, modo de elución isocrático) para proporcionar *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-2-azaspiro[4,4]nonan-2-il]piridazina-3-carboxamida (14 mg, 16 µmol, 7 % rendimiento) obtenido como un sólido blancuzco. ^{1}H NMR: (400 MHz, MeOD-*d4*) δ = 8,00 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,54 - 7,42 (m, 3H), 7,18 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,01 (d, *J* = 9,2 Hz, 2H), 6,71 - 6,61 (m, 2H), 5,07 - 5,01 (m, 1H), 4,52 - 4,42 (m, 2H), 4,03 - 3,93 (m, 1H), 3,74 - 3,51 (m, 4H), 2,73 (s, 3H), 2,46 (s, 3H), 2,32 - 2,20 (m, 4H), 2,20 - 2,05 (m, 5H), 2,05 - 1,91 (m, 6H), 1,88 - 1,77 (m, 1H), 1,71 (s, 3H), 1,64 (d, *J* = 9,6 Hz, 4H), 1,36 - 1,26 (m, 2H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 1,792 min, *m/z* = 812,5 [M+H]$^+$.

<u>EJEMPLO 38</u> – Síntesis de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]piridazina-3-carboxamida (I-16)





I-16

[0618] Etapa **1: Preparación de ácido 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético**. A una solución de 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de *terc*-butilo (1,0 g, 2,1 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (10 mL) se agregó TFA (7,7 g, 67 mmol, 5,0 mL, 30 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar ácido 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,0^{2,6}] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (877 mg, 99 % rendimiento) como un residuo, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0619] **Etapa 2: Preparación de 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetamida**. A una solución de ácido 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (877 mg, 2,19 mmol, 1,0 *equiv*) y NH_4Cl (351 mg, 6,56 mmol, 3,0 *equiv*) en DMF (8 mL) se agregó HATU (915 mg, 2,41 mmol, 1,1 *equiv*) y DIEA (848 mg, 6,56 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Waters Xbridge C18 150 mm x 50mm x 10 µm; fase móvil: [agua(NH_4HCO_3)-ACN]; B %: 24 %-54 %, 10 min) para proporcionar 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il] acetamida (740 mg, 84 % rendimiento).

[0620] **Etapa 3: Preparación de 2-[[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol**. Una solución de 1,3-dioxol-2-ona (103 mg, 1,20 mmol, 1,2 *equiv*) y 2-[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il] acetamida (400 mg, 1,00 mmol, 1,0 *equiv*) en PPA (4 mL) se agitó a 160 °C durante 3 horas. La mezcla se inactivó con H_2O (50 mL) a 0 °C y luego se diluyó con acetato de etilo (200 mL). La mezcla se lavó con H_2O (15 mL x 2) y luego se lavó nuevamente con H_2O (10 mL x3) para eliminar el PPA. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (10 mL x 3), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 2:1 a 0:1) para proporcionar 2-[[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (260

mg, 61 % rendimiento).

[0621] Etapa 4: Preparación de 4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenol. Una mezcla de 2-[[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (5,8 g, 13,7 mmol, 1,0 *equiv*), BrettPhos Pd G3 (1,2 g, 1,4 mmol, 0,1 *equiv*), y KOH (3,8 g, 68,4 mmol, 5,0 *equiv*) en dioxano (58 mL) y H_2O (11,6 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. La mezcla se agitó a 90 °C durante 3 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (2000 ml) y agua (500 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (500 mL x 2), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, diclorometano:metanol = 40:1) para proporcionar 4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenol (3,5 g, 8,6 mmol, 63 % rendimiento) como un sólido amarillo.

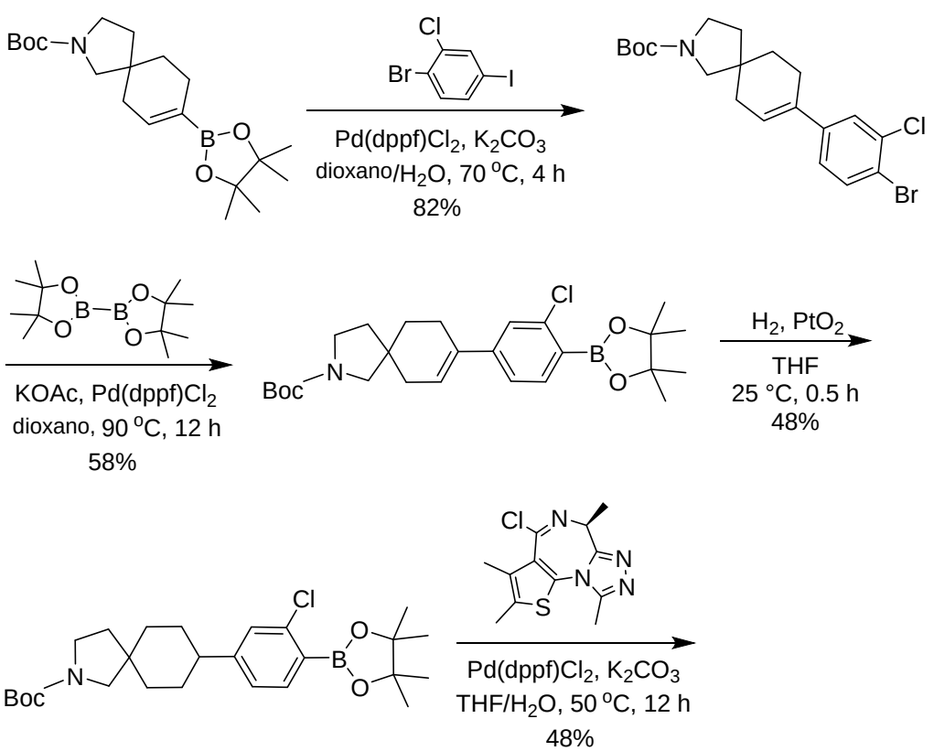
[0622] Etapa 5: Preparación de 2-[4-[(9***S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo.** A una solución de PPh_3 (485 mg, 1,85 mmol, 2,5 *equiv*) en THF (3 mL) se agregó DIAD (300 mg, 1,48 mmol, 0,3 mL, 2,0 *equiv*) a 0 °C durante 30 minutos. A continuación, 4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenol (300 mg, 740 µmol, 1,0 *equiv*) y 2-hidroxi-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (357 mg, 1,48 mmol, 2,0 *equiv*) en THF (3 mL) se agregó. La mezcla se agitó a 0-50 °C durante 8 horas. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo a diclorometano:metanol = 1:1 a 10:1) para proporcionar 2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (300 mg, 477 µmol, 65 % rendimiento) como un aceite incoloro.

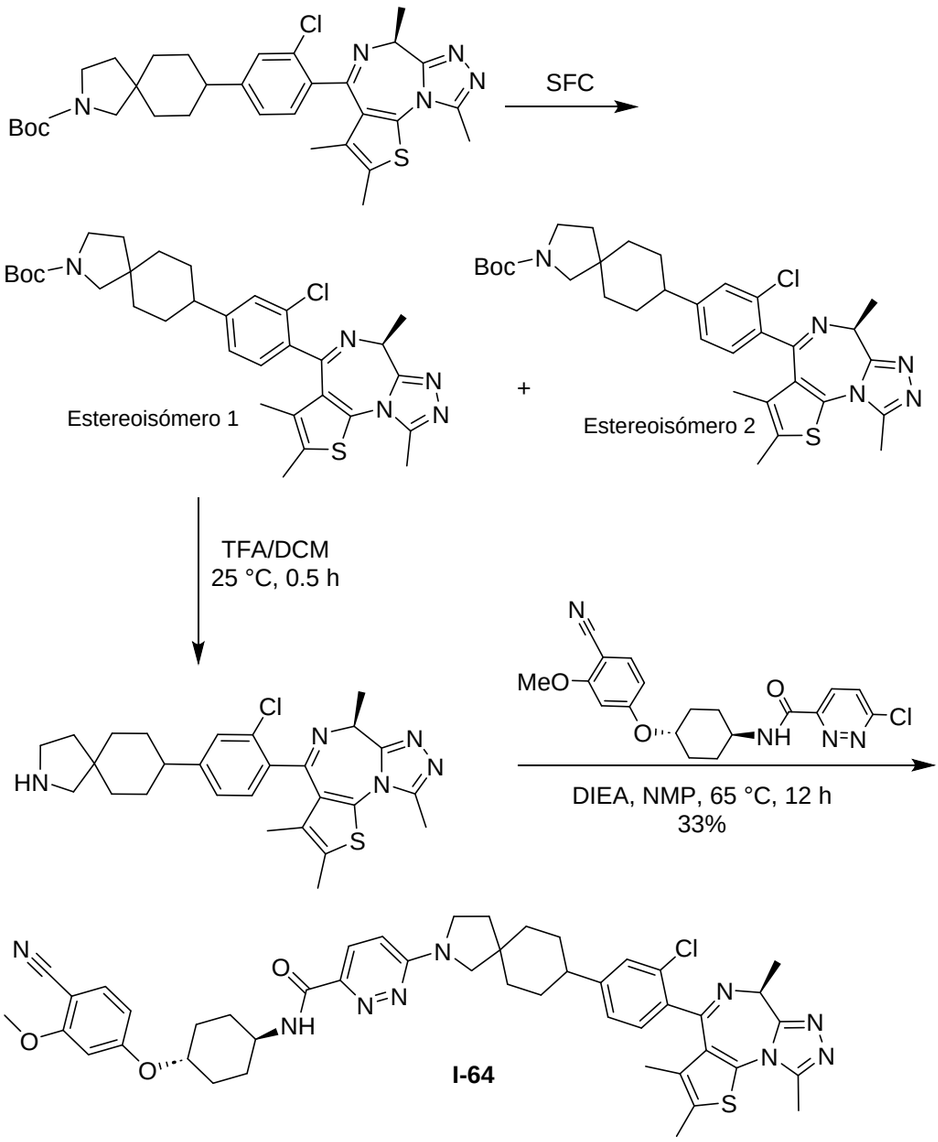
[0623] Etapa 6: Preparación de 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. A una solución de 2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (200 mg, 318 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se le añadió TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró y se inactivó con $NaHCO_3$ (30 mL) acuoso saturado a 0 °C. La capa orgánica combinada se lavó con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi) fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil] oxazol (160 mg, 302 µmol) como un sólido amarillo.

[0624] Etapa 7: Preparación de *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]piridazina-3-carboxamida (I-16). A una solución de 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-

pentaen-9-il]metil]oxazol (100 mg, 190 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (100 mg, 227 µmol, 1,2 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (75 mg, 567 µmol, 0,1 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 8 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 70 %-100 % B durante 10 min) para proporcionar *N*-[4-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]ciclohexil]-6-[2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]piridazina-3-carboxamida (49,7 mg, 52,5 µmol, 28 % rendimiento, 98 % pureza) como un sólido blancuzco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,95 - 7,88 (m, 2H), 7,78 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,39 - 7,30 (m, 3H), 7,19 - 7,12 (m, 2H), 7,08 (s, 1H), 6,86 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 4,75 (dd, *J* = 6,4, 8,4 Hz, 2H), 4,61 - 4,51 (m, 1H), 4,04 - 3,93 (m, 3H), 3,84 - 3,77 (m, 2H), 3,76 - 3,69 (m, 2H), 2,72 (s, 3H), 2,56 (br dd, *J* = 7,3, 12,8 Hz, 2H), 2,48 (s, 3H), 2,23 (br d, *J* = 2,8 Hz, 2H), 2,16 - 2,08 (m, 2H), 2,04 - 1,97 (m, 2H), 1,78 (td, *J* = 5,3, 16,0 Hz, 4H), 1,72 (s, 3H), 1,67 (br t, *J* = 10,2 Hz, 4H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,533 min, *m/z* = 933,6 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 39</u> – Síntesis de 6-[8-[3-cloro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (I-64)





[0625] **Etapa 1: Preparación de** 8-(4-bromo-3-cloro-fenil)-2-azaspiro [4,5] dec-7-eno-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo comercialmente disponible (CAS Registry No. 2411223-24-8; 440 mg, 1,21 mmol, 1,1 *equiv*) y 1-bromo-2-cloro-4-yodo-benceno (350 mg, 1,10 mmol, 1,0 *equiv*) en dioxano (1 mL) y H_2O (0,2 mL) se agregó $Pd(dppf)Cl_2$ (161 mg, 220 µmol, 0,2 *equiv*) y K_2CO_3 (457 mg, 3,31 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 100:1 a 10:1) para producir el compuesto 8-(4-bromo-3-cloro-fenil)-2-azaspiro [4,5] dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (385 mg, 1,21 mmol, 82 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0626] **Etapa 2: Preparación de** 8-[3-cloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. Una mezcla de 8-(4-bromo-3-cloro-fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (385 mg, 902 µmol, 1,0 *equiv*), 4,4,5,5-tetrametil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (343 mg, 1,35 mmol, 1,5 *equiv*), $Pd(dppf)Cl_2$ (66,0 mg, 90,2 µmol, 0,1 *equiv*), y KOAc (265 mg, 2,71 mmol, 3,0 *equiv*) en dioxano (4 mL) se agitó a 90 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 60:1 a 10:1) para producir 8-[3-cloro-4-(4, 4, 5, 5-tetrametil-1, 3, 2-dioxaborolan-2-il) fenil]-2-

azaspiro [4,5] dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (250 mg, 902 µmol, 58 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0627] Etapa 3: Preparación de 8-[3-cloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-[3-cloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (250 mg, 527 µmol, 1,0 *equiv*) en THF (4 mL) se agregó PtO_2 (62,5 mg). La suspensión se desgasificó al vacío y se purgó con H_2 varias veces, y luego la mezcla de reacción se agitó en H_2 (15 PSI) a 25 °C durante 0,5 horas. A continuación, la mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-TLC (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10:1) para producir 8-[3-cloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (120 mg, 527 µmol, 48 % rendimiento) como un sólido blanco.

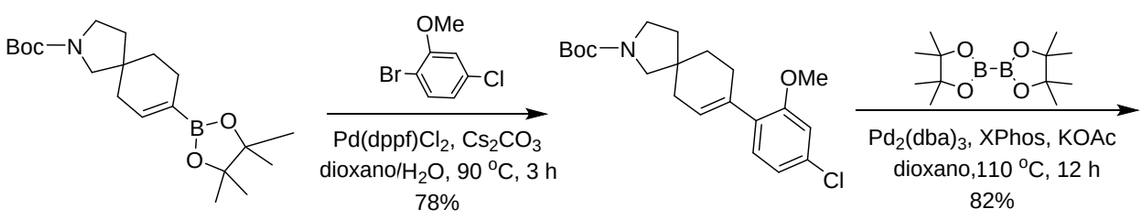
[0628] Etapa 4: Preparación de 8-[3-cloro-4-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo**. A una solución de 8-[3-cloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (100 mg, 210 µmol, 1,0 *equiv*) y (9*S*)-7-cloro-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (88,5 mg, 315 µmol, 1,5 *equiv*) en THF (2 mL) y H_2O (0,4 mL) se agregó Pd(dppf)Cl_2 (30,7 mg, 42,0 µmol, 0,2 *equiv*) y K_2CO_3 (87,1 mg, 630 µmol, 3,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 67 %-97 % B durante 10 min) para producir 8-[3-cloro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (60 mg, 48 % rendimiento) como un sólido blanco.

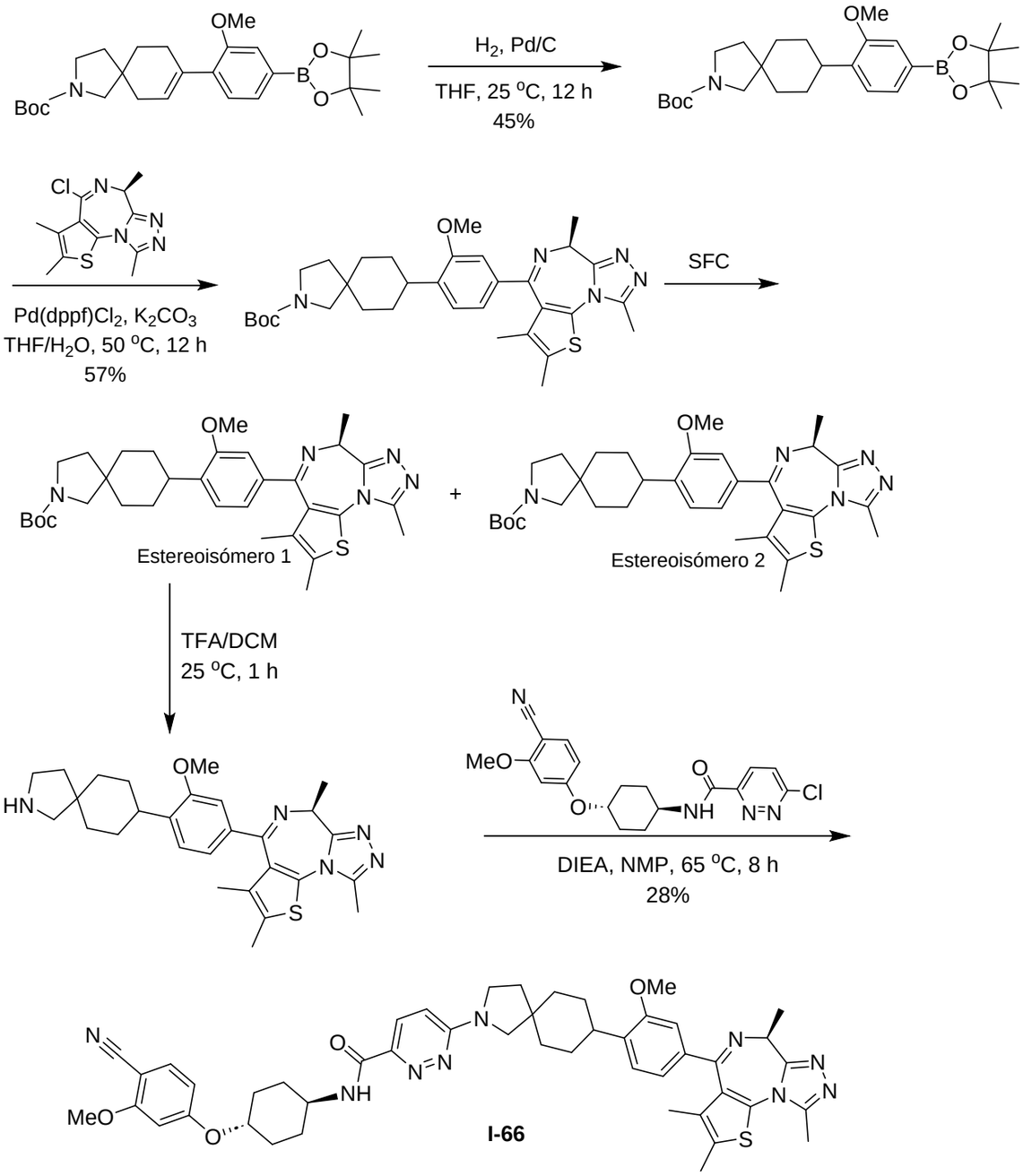
[0629] Etapa 5: Preparación del estereoisómero 1 de 8-[3-cloro-4-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo y estereoisómero 2 de** 8-[3-cloro-4-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo.** El compuesto 8-[3-cloro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (60 mg, 1,0 *equiv*) se purificó mediante *prep*-SFC (columna: DAICEL CHIRALCEL OD-H (250 mm x 30 mm, 5 µm); fase móvil: [CO_2-MeOH (0,1 %$NH_3.H_2O$)]; B%: 30 %, modo de elución isocrático) para producir estereoisómero 1 de 8-[3-cloro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (30 mg, 50 % rendimiento) como un sólido blanco y estereoisómero 2 de 8-[3-cloro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (11 mg, 18 % rendimiento) como un sólido blanco. Los dos estereoisómeros se diferencian por la estereoquímica en el centro espiro adyacente a la pirrolidina.

[0630] Etapa 6: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-2-cloro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[3-cloro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (30,0 mg, 50,5 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,5 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$ acuoso saturado a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x 2), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para producir (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-2-cloro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (24,5 mg) como un aceite amarillo.

[0631] Etapa 7: **Preparación de 6-[8-[3-cloro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro [4,5]decan-2-il]-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (I-64).** A una solución de (9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-2-cloro-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (24,0 mg, 48,5 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (28,2 mg, 72,8 µmol, 1,5 *equiv*; preparado como se describe anteriormente en el Ejemplo 7) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (71,4 mg, 552 µmol, 100 µL, 11,3 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 58 %-88 % B durante 10 min) para producir 6-[8-[3-cloro-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (13,5 mg, 48,5 µmol, 33 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) *δ* 7,92 (d, *J* = 9,54 Hz, 1 H), 7,44 - 7,54 (m, 2 H), 7,31 - 7,37 (m, 2 H), 7,06 (d, *J* = 10,27 Hz, 1 H), 6,61 - 6,71 (m, 2 H), 4,58 (s, 2 H), 4,47 - 4,53 (m, 1 H), 4,35 - 4,40 (m, 1 H), 3,91 - 4,01 (m, 4 H), 3,53 - 3,70 (m, 4 H), 2,69 (s, 4 H), 2,39 (s, 3 H), 2,22 (d, *J* = 3,42 Hz, 2 H), 2,07 - 2,16 (m, 2 H), 2,01 (d, *J* = 6,72 Hz, 3 H), 1,94 - 1,97 (m, 2 H), 1,82 - 1,91 (m, 4 H), 1,61 - 1,67 (m, 7 H), 1,59 (s, 2 H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,244 min, *m/z* = 884,5 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 40</u> – Síntesis de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(8-(2-metoxi-4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (I-66)





[0632] **Etapa 1: Preparación de** 8-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-azaspiro[4,5] dec-7-eno-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo comercialmente disponible (500 mg, 1,38 mmol, 1,1 *equiv*) y 1-bromo-4-cloro-2-metoxibenceno (277 mg, 1,25 mmol, 1,0 *equiv*) en dioxano (5 mL) se agregó Pd(dppf)Cl_2 (183 mg, 250 µmol, 0,2 *equiv*) y Cs_2CO_3 (1,22 g, 3,75 mmol, 3,0 *equiv*) en H_2O (1 mL). La mezcla se agitó a 90 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (10 mL) y se extrajo con acetato de etilo (10 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 20:1 a 5:1) para proporcionar 8-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-azaspiro [4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (370 mg, 980 µmol, 78 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0633] **Etapa 2: Preparación de** 8-(2-metoxi-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (370 mg, 980 µmol, 1,0 *equiv*) y 4,4,5,5-tetrametil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (372 mg, 1,47 mmol, 1,5 *equiv*) en dioxano (5 mL) se agregó $Pd_2(dba)_3$ (45 mg, 50 µmol, 0,05

equiv), XPhos (70,0 mg, 146 µmol, 0,15 *equiv*), y KOAc(288 mg, 2,94 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 110 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:etilacetate = 30:1 a 3:1) para proporcionar 8-(2-metoxi-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (380 mg, 810 µmol, 82 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0634] Etapa 3: Preparación de 8-(2-metoxi-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-(2-metoxi-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (350 mg, 745 µmol, 1,0 *equiv*) en THF (5 mL) se agregó Pd/C (200 mg, 10 % pureza) en atmósfera de N_2. La mezcla se agitó en H_2 (15 psi) a 25 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-TLC (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 5:1) para proporcionar 8-(2-metoxi-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)-2-azaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (160 mg, 340 µmol, 45 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0635] Etapa 4: Preparación de (*S*)-8-(2-metoxi-4-(2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 8-(2-metoxi-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (140 mg, 300 µmol, 1,0 *equiv*) y (*S*)-4-cloro-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (100 mg, 356 µmol, 1,2 *equiv*) en THF (2 mL) se agregó Pd(dppf)Cl_2 (22 mg, 30 µmol, 0,1 *equiv*) y K_2CO_3 (123 mg, 890 µmol, 3,0 *equiv*) en H_2O (0,4 mL). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (10 mL) y se extrajo con acetato de etilo (15 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 65 %-95 % B durante 10 min) para proporcionar (*S*)-8-(2-metoxi-4-(2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno [3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (100 mg, 170 µmol, 57 % rendimiento) como un sólido blancuzco.

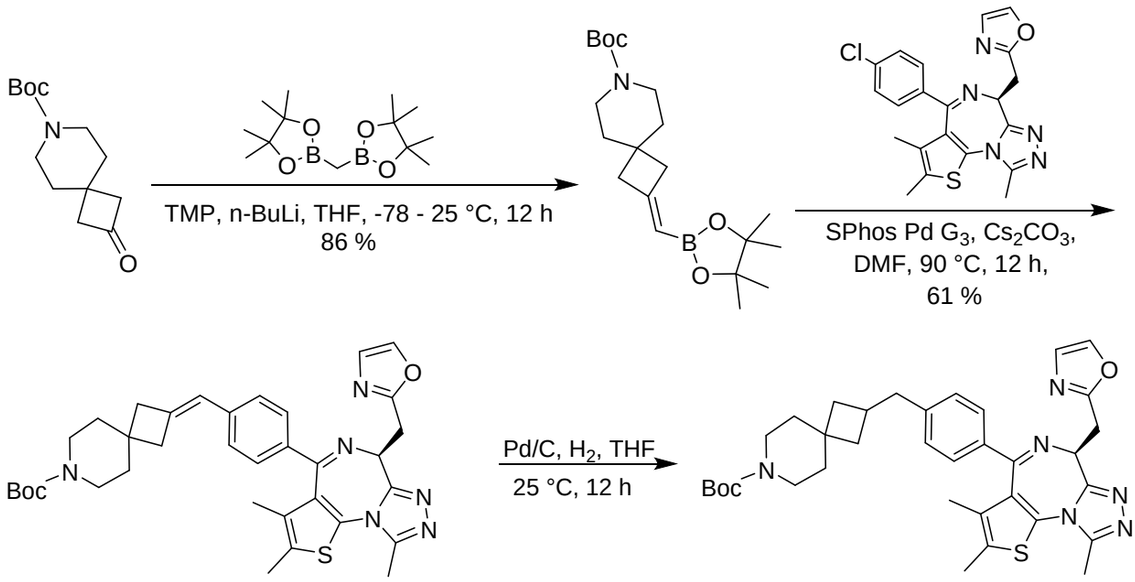
[0636] Etapa 5: Preparación de (*S*)-8-(2-metoxi-4-(2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo.Se separó (*S*)-8-(2-metoxi-4-(2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4] triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo mediante *prep*-SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AS (250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-ACN/*i*-PrOH (0,1 % $NH_3.H_2O$)]; B%: 50 %, modo de elución isocrático) para proporcionar estereoisómero 1 de (*S*)-8-(2-metoxi-4-(2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4] diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (60 mg, 101 µmol, 60 % rendimiento) como un sólido amarillo y estereoisómero 2 de (*S*)-8-(2-metoxi-4-(2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno [3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (30 mg, 50 µmol, 30 % rendimiento) como un sólido amarillo.

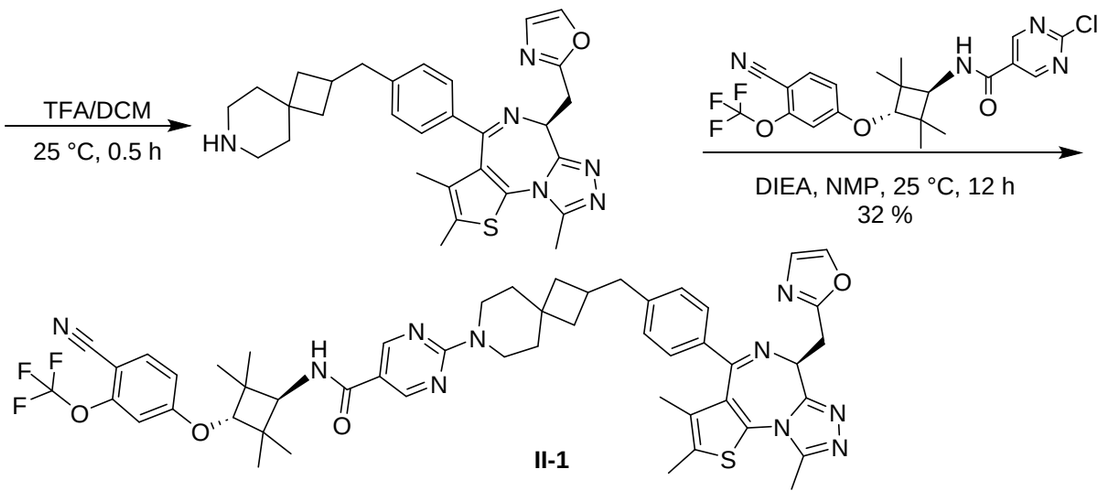
[0637] Etapa 6: Preparación de (*S*)-4-(3-metoxi-4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina. A una solución de (*S*)-8-(2-metoxi-4-(2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4] diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (60 mg, 101 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,5mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se

concentró y se basificó con $NaHCO_3$ acuoso saturado a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x 2), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró para proporcionar (*S*)-4-(3-metoxi-4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (49 mg, 100 µmol, bruto) como un sólido amarillo.

[0638] Etapa 7: Preparación de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(8-(2-metoxi-4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (I-66). A una solución de (*S*)-4-(3-metoxi-4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4] triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (49 mg, 100 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)piridazina-3-carboxamida (46 mg, 120 µmol, 1,2 *equiv*; preparado como se describió anteriormente en el Ejemplo 7) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (40 mg, 300 µmol, 0,1 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 8 horas. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 58 %-88 % B durante 10 min) para proporcionar *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(8-(2-metoxi-4-((*S*)-2,3,6,9-tetrametil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5] decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (25,62 mg, 28,62 µmol, 28 % rendimiento, 93,84 % pureza) como un sólido blancuzco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,94 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 7,52 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,26 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,20 (s, 1H), 7,08 (br d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 6,90 (br d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 6,73 - 6,63 (m, 2H), 4,31 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 3,98 (br d, *J* = 3,8 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,88 (s, 3H), 3,74 - 3,53 (m, 4H), 3,12 - 3,00 (m, 1H), 2,73 (s, 3H), 2,47 - 2,47 (m, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,22 (br d, *J* = 3,9 Hz, 2H), 2,11 (br s, 2H), 2,02 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,96 (br t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 1,84 (br d, *J* = 8,6 Hz, 4H), 1,74 - 1,53 (m, 12H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,081 min, *m/z* = 840,6 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 41</u> – Síntesis de *N*-[3-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (II-1)





II-1

[0639] **Etapa 1: Preparación de** 2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) metileno]-7-azaspiro [3,5]nonano-7-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de TMP (885 mg, 6,2 mmol, 1,0 mL, 1,5 *equiv*) en THF (4 mL) se agregó *n*-BuLi (2,5 M, 2,5mL, 1,5 *equiv*) a -30 °C en atmósfera de N_2. Después de la adición, la mezcla se agitó a -30 °C durante 30 minutos. A continuación, se agregó 4,4,5,5-tetrametil-2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)metil]-1,3,2-dioxaborolano (1,4 g, 5,0 mmol, 1,2 *equiv*) en THF (3 mL) gota a gota a -78 °C. Después de la adición, la mezcla se agitó a -78 °C durante 30 minutos, y luego se agregó 2-oxo-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (1,0 g, 4,18 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (3 mL) gota a gota a -78 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 ºC durante 12 horas. Luego, la mezcla resultante se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota NH_4Cl (15 mL) acuosa saturada. Tras agitar durante 1 hora adicional, la mezcla resultante se filtró y el filtrado se concentró *al vacío*. Se añadió agua (20 mL) al residuo resultante y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (20 mL x 3). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (20 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, y se concentró al vacío para proporcionar 2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) metileno]-7-azaspiro [3,5] nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (1,3 g, 86 % rendimiento) como un aceite incoloro.

[0640] **Etapa 2: Preparación de** 2-[[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 2-[[7-(4-clorofenil)-4, 5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02, 6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (400 mg, 943,8 µmol, 1,0 *equiv*) y 2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (530 mg, 1,6 mmol, 1,5 *equiv*) en DMF (6 mL) se agregó SPhos Pd G_3 (73 mg, 94 µmol, 0,1 *equiv*) y Cs_2CO_3 (307 mg, 943 µmol, 1,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex Luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; B%: 62 %-92 %, 10 min) para proporcionar 2-[[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (400 mg, 61 %rendimiento) como un sólido amarillo.

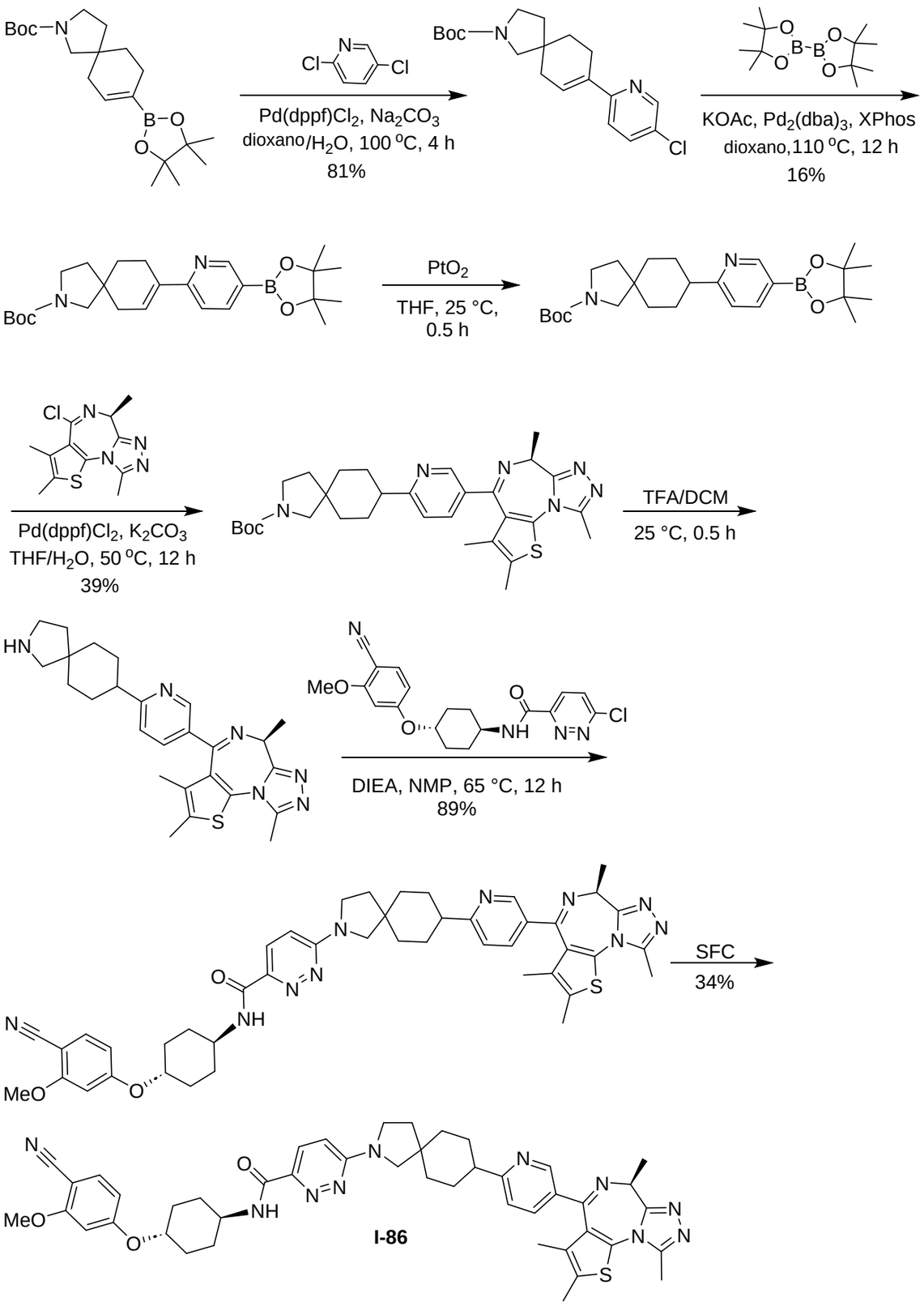
[0641] **Etapa 3: Preparación de** 2-[[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 2-[[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-

1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (0,4 g, 642 µmol, 1,0 *equiv*) en THF (8 mL) se agregó Pd/C (0,45 g, 10 % pureza) en H_2 (15 psi). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas en H_2 (15 psi). La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 2-[[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] metil]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (0,4 g, 99 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0642] Etapa 4: Preparación de 2-[[7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-ilmetil)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. A una solución de 2-[[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (0,4 g, 638 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (1,2 g, 10,7 mmol, 800 µL, 16,8 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 2-[[7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-ilmetil)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (0,407 g, 99 % rendimiento) como un aceite incoloro.

[0643] Etapa 5: Preparación de *N*-[3-(4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (II-1). A una solución de 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-ilmetil)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (100 mg, 189 µmol, 1,0 *equiv*) y 2-cloro-*N*-[3-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil] pirimidina-5-carboxamida (115 mg, 246 µmol, 1,3 *equiv*; preparado como se describió anteriormente en el Ejemplo 30) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (24,5 mg, 189 µmol, 33,0 µL, 1,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters Xbridge 150 mm x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 76 %-100 % B durante 10 min) para producir *N*-[3-[4-ciano-3-(trifluorometoxi)fenoxi]-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (60 mg, 60 µmol 32 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,70 (s, 2 H), 7,90 (s, 1 H), 7,78 (d, *J* = 8,80 Hz, 1 H), 7,29 (d, *J* = 8,07 Hz, 2 H), 7,20 (d, *J* = 8,19 Hz, 2 H), 7,13 (s, 1 H), 7,04 (dd, *J* = 8,80, 2,20 Hz, 1 H), 6,99 (s, 1 H), 4,27 (s, 1 H), 4,13 (s, 1 H), 3,90 - 4,02 (m, 2 H), 3,82 - 3,87 (m, 2 H), 3,75 - 3,80 (m, 2 H), 2,78 (d, *J* = 7,34 Hz, 2 H), 2,71 (s, 3 H), 2,60 (d, *J* = 7,09 Hz, 1 H), 2,45 (s, 3 H), 1,93 - 2,04 (m, 2 H), 1,50 - 1,69 (m, 10 H), 1,27 (s, 6 H), 1,21 (s, 6 H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 3,093 min, *m/z* = 959,6 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 42</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[5-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]-2-piridil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-86)



[0644] **Etapa 1: Preparación de** 8-(5-cloro-2-piridil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 8-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (567 mg, 1,56 mmol, 1,1 *equiv*) y 2,5-dicloropiridina (210 mg, 1,42 mmol, 1,0 *equiv*) en dioxano (3 mL) y H_2O (0,6 mL) se agregó $Pd(dppf)Cl_2$ (207 mg, 283 µmol, 0,2 *equiv*) y Na_2CO_3 (451 mg, 4,26 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 100 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 60:1 a 35:1) para producir 8-(5-cloro-2-piridil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (400 mg, 1,26 mmol, 81 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0645] **Etapa 2: Preparación de** 8-[5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-piridil]-2-

azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** Una mezcla de 8-(5-cloro-2-piridil)-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (400 mg, 1,15 mmol, 1,0 *equiv*), 4,4,5,5-tetrametil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (436 mg, 1,72 mmol, 1,5 *equiv*), $Pd_2(dba)_3$ (42,0 mg, 45,8 µmol, 0,1 *equiv*), Xphos (87,4 mg, 183 µmol, 0,4 *equiv*), y KOAc (337 mg, 3,44 mmol, 3,0 *equiv*) en dioxano (5 mL) se agitó a 110 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters Xbridge 150 mm x 25 mm x 5 µm; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 32 %-62 % B durante 10 min) para producir 8-[5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-piridil]-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (80 mg, 0,18 mmol, 16 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0646] Etapa 3: Preparación de 8-[5-(4,4,5,5-tetrametil-1, 3, 2-dioxaborolan-2-il)-2-piridil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-[5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-piridil]-2-azaspiro[4,5]dec-7-eno-2-carboxilato de *terc*-butilo (80,0 mg, 181 mol, 1,0 *equiv*) en THF (2 mL) se agregó PtO_2 (21,8 mg). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para producir 8-[5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-piridil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (80 mg) como un sólido blanco.

[0647] Etapa 4: Preparación de 8-[5-[(9***S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]-2-piridil]-2-azaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 8-[5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-piridil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (80,0 mg, 180 µmol, 1,0 *equiv*) y (9*S*)-7-cloro-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (76,1 mg, 271 µmol, 1,5 *equiv*) en THF (2 mL) y H_2O (0,4 mL) se agregó $Pd(dppf)Cl_2$ (26,5 mg, 36,2 µmol, 0,2 *equiv*) y K_2CO_3 (74,9 mg, 542 µmol, 3,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-TLC (SiO_2, DCM:MeOH = 10:1) para producir 8-[5-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]-2-piridil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (40 mg, 70 mmol, 39 % rendimiento) como un sólido blanco.

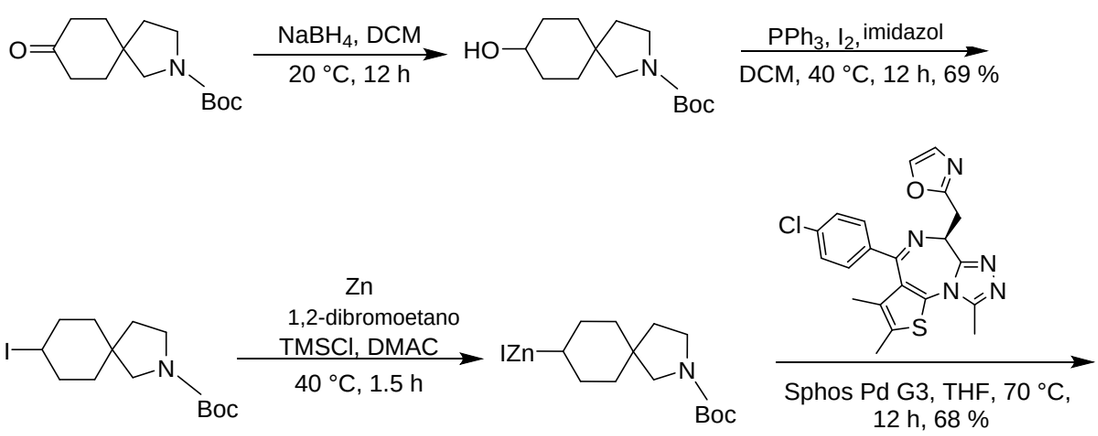
[0648] Etapa 5: Preparación de (9*S*)-7-[6-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-3-piridil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12 tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[5-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]-2-piridil]-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (40,0 mg, 71,3 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (0,5 ml). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con $NaHCO_3$ acuoso saturado a 0 °C. La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x 2), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró para producir (9*S*)-7-[6-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-3-piridil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12 tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (32 mg, bruto) como un sólido amarillo.

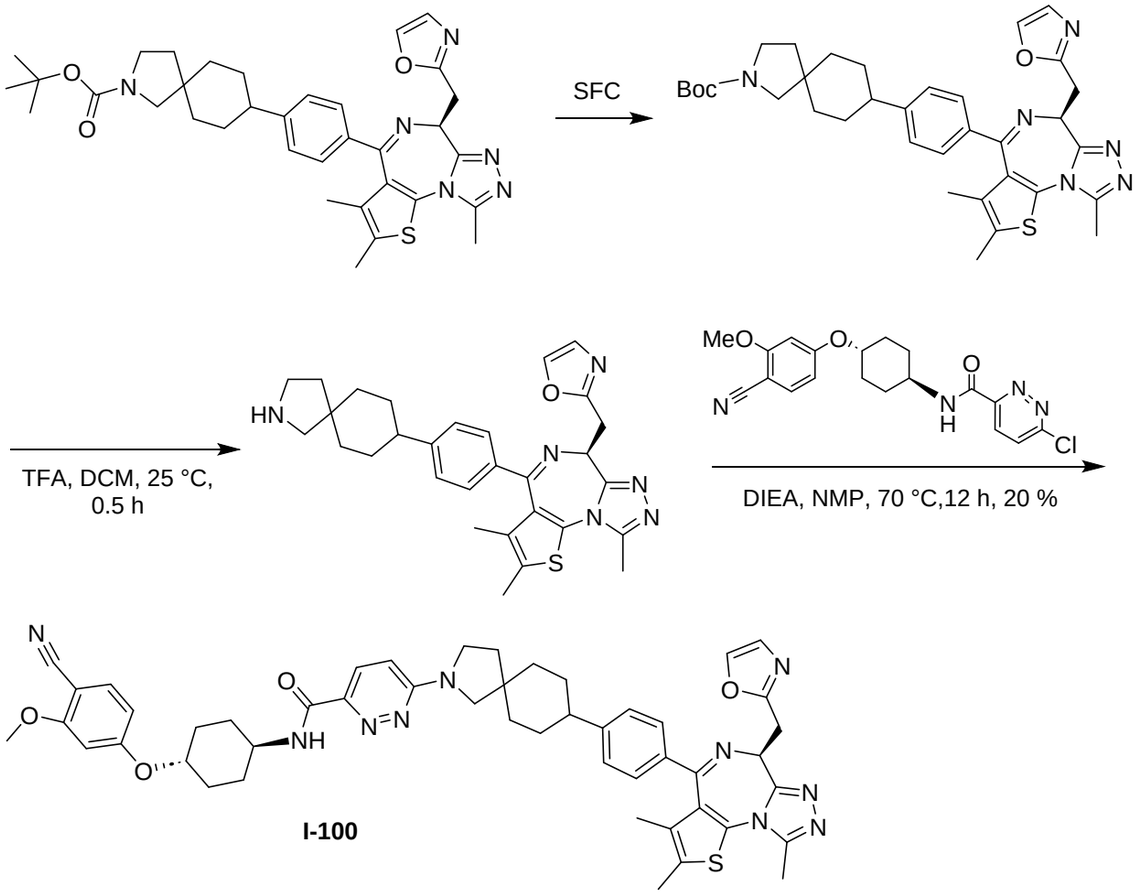
[0649] Etapa 6: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[5-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-

pentaen-7-il]-2-piridil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida. A una solución de(9*S*)-7-[6-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-3-piridil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (32,0 mg, 69,4 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (34,9 mg, 90,3 µmol, 1,3 *equiv*; preparado como se describió anteriormente en el Ejemplo 7) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (72,3 mg, 560 µmol, 97,5 µL, 8,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 65 °C durante 12 horas. El residuo se diluyó con H_2O (20 mL) y se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1 a 0:1) para producir *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[5-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]-2-piridil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (50 mg, 61,7 µmol, 89 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0650] Etapa 7: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[5-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]-2-piridil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-86). El compuesto *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[5-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]-2-piridil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (50 mg, 1,0 *equiv*) se purificó mediante *prep*-SFC (columna: DAICEL CHIRALCEL OD (250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-ACN/EtOH(0,1 % $NH_3.H_2O$)]; B%: 50 %, modo de elución isocrático) para producir *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[5-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]-2-piridil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (17,5 mg, 34 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8,55 (d, *J* = 1,96 Hz, 1 H), 7,91 - 7,98 (m, 1 H), 7,80 - 7,91 (m, 1 H), 7,51 (d, *J* = 9,05 Hz, 1 H), 7,42 (d, *J* = 8,19 Hz, 1 H), 7,04 (d, *J* = 9,41 Hz, 1 H), 6,60 - 6,70 (m, 2 H), 4,46 - 4,54 (m, 1 H), 4,30 - 4,35 (m, 1 H), 3,90 - 4,01 (m, 4 H), 3,58 - 3,69 (m, 3 H), 2,80 - 2,89 (m, 1 H), 2,71 (s, 3 H), 2,45 (s, 3 H), 2,18 - 2,27 (m, 2 H), 2,06 - 2,14 (m, 2 H), 1,85 - 2,03 (m, 10 H), 1,76 (s, 1 H), 1,61 - 1,71 (m, 10 H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 1,804 min, *m/z* = 811,6 $[M+H]^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 43</u> – Síntesis de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(8-(4-((*S*)-2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4] diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (I-100)





I-100

[0651] Etapa 1: Preparación de 8-hidroxi-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 8-oxo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 7,8 mmol, 1 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó $NaBH_4$ (400 mg, 10 mmol, 1,3 *equiv*). La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo.

[0652] Etapa 2: Preparación de 8-yodo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 8-hidroxi-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 7,8 mmol, 1 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó PPh_3 (2,8 g, 10 mmol, 1,4 *equiv*), imidazol (1,6 g, 23 mmol, 3 *equiv*), e I_2 (2,9 g, 11 mmol, 2 mL, 1,5 *equiv*). La mezcla se agitó a 40 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y concentró a presión reducida para proporcionar un residuo, que se purificó mediante prep-TLC (SiO_2, acetato de etilo:éter de petróleo = 5:1) para producir 8-yodo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 69 % rendimiento) como un aceite blanco.

[0653] Etapa 3: Preparación de (2-*terc*-butoxicarbonil-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)-yodo-zinc. A una solución agitada de Zn (830 mg, 12 mmol, 5,8 *equiv*) en DMAC (2 mL) se agregó TMSCl (88 mg, 810 µmol, 102 µL, 0,37 *equiv*) y 1,2-dibromoehano (152 mg, 810 µmol, 61 µL, 0,37 *equiv*) en DMAC (1 mL) a 40 °C. Después de agitar durante 30 minutos, se agregó 8-yodo-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (800 mg, 2 mmol, 1 *equiv*). La mezcla se agitó a 40 °C durante 1 hora adicional y se filtró. El filtrado se concentró para obtener el producto bruto.

[0654] Etapa 4: Preparación de (*S*)-8-(4-(2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de (2-(*terc*-butoxicarbonil)-2-azaspiro[4,5]decan-8-il)zinc(II) yoduro (3,50 g, 8 mmol, 3,5 *equiv*) y (*S*)-2-((4-(4-clorofenil)-3,9-dimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4] triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol (984 mg, 2 mmol, 1 *equiv*) en THF (10 mL)

se agregó diciclohexil-[2-(2,6-dimetoxifenil)fenil]fosfano;metanosulfonato;(2-fenilanilino)paladio(1+) (362 mg, 464 µmol, 0,2 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se repartió con acetato de etilo (20 mL). La fase orgánica se separó, se lavó con H_2O (5 mL x 3), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (condición de FA; columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 63 %-93 % B durante 10 min) para proporcionar (*S*)-8-(4-(2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5] decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (1 g, 68,70 % rendimiento).

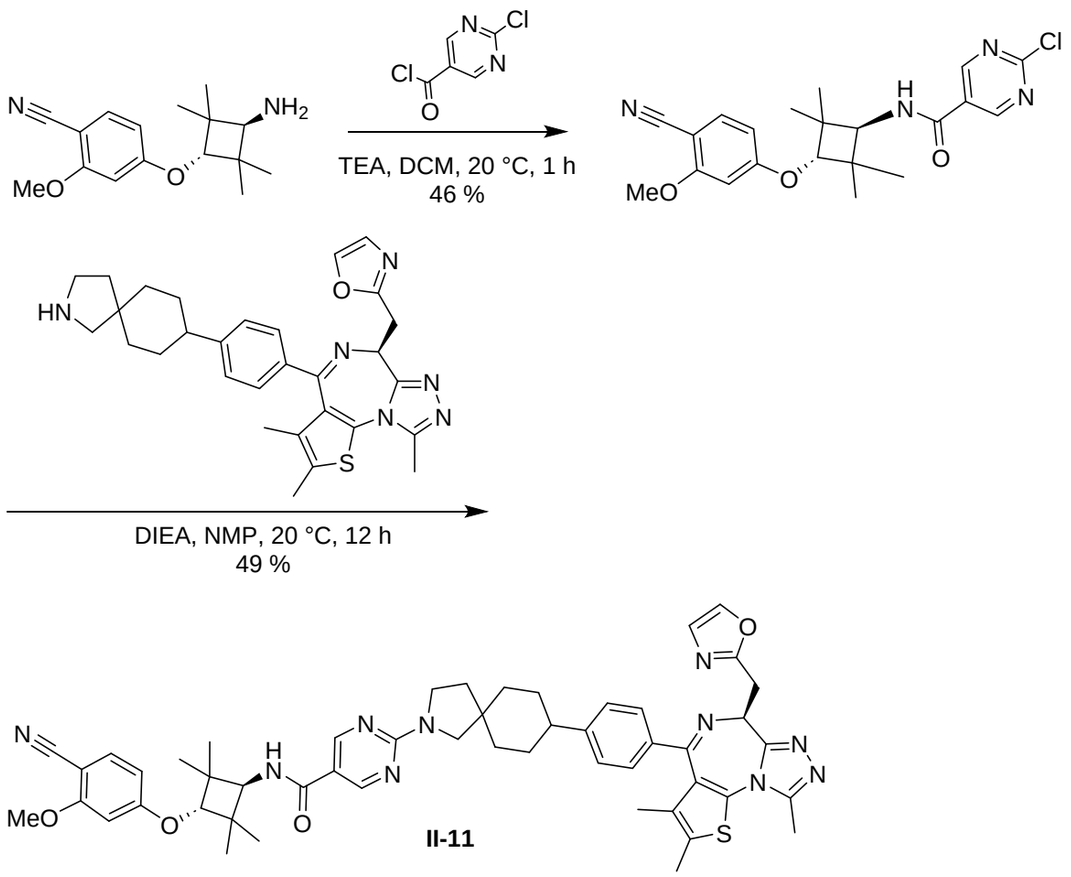
[0655] Etapa 5: Preparación de (*S*)-8-(4-(2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. Se purificó (*S*)-8-(4-(2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4] triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo mediante SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK IK (250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-ACN/EtOH (0,1 % $NH_3.H_2O$)]; B %: 55 %, modo de elución isocrático) y purificado adicionalmente mediante SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AD (250 mm x 30 mm, 10 µm); fase móvil: [CO_2-ACN/*i*-PrOH (0,1 % $NH_3.H_2O$)]; B %: 60 %, modo de elución isocrático) para proporcionar (*S*)-8-(4-(2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il) fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (400 mg, 36 % rendimiento).

[0656] Etapa 6: Preparación de (*S*)-2-((4-(4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol. A una solución de (*S*)-8-(4-(2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4] triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (180 mg, 287 µmol, 1 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (98 mg, 861 µmol, 63 µL, 3 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El (*S*)-2-((4-(4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)metil) oxazol bruto (150 mg) se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0657] Etapa 7: Preparación de *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(8-(4-((*S*)-2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4] diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5]decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (I-100). A una solución de (*S*)-2-((4-(4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*] [1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol (60 mg, 113 µmol, 1 *equiv*) y 6-cloro-*N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)piridazina-3-carboxamida (46 mg, 119 µmol, 1,05 *equiv*; preparado como se describió anteriormente en el Ejemplo 7) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (44 mg, 341 µmol, 59 µL, 3 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (condición de FA; columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 60 %-90 % B durante 10 min) para proporcionar *N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)-6-(8-(4-((*S*)-2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4] diazepin-4-il)fenil)-2-azaspiro[4,5] decan-2-il)piridazina-3-carboxamida (21 mg, 20 % rendimiento). ^{1}H NMR: (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 1,68 - 1,60

(m, 9 H) 1,82 (m, *J*=9,72 Hz, 4 H) 1,94 (m, 2 H) 2,10 (m, 2 H) 2,22 (m, 2 H) 2,46 (s, 3 H) 2,62 (m, 1 H) 2,72 (s, 3 H) 3,34 - 3,32 (m, 2 H) 3,76 - 3,49 (m, 4 H) 3,92 (s, 3 H) 4,09 – 3,94 (m, 3 H) 4,54 - 4,45 (m, 1 H) 4,77 (m, 1 H) 6,71 - 6,60 (m, 2 H) 7,05 (m, 1 H) 7,15 (s, 1 H) 7,39 - 7,25 (m, 4 H) 7,51 (d, *J*=9,12 Hz, 1 H) 7,99 - 7,88 (m, 2 H). QC-LCMS: MS (ES^+): RT =2,184 min, *m/z* =877,6 $[M+H]^+$, método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 44</u> – Síntesis de *N*-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[8-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il] pirimidina-5-carboxamida (II-11)



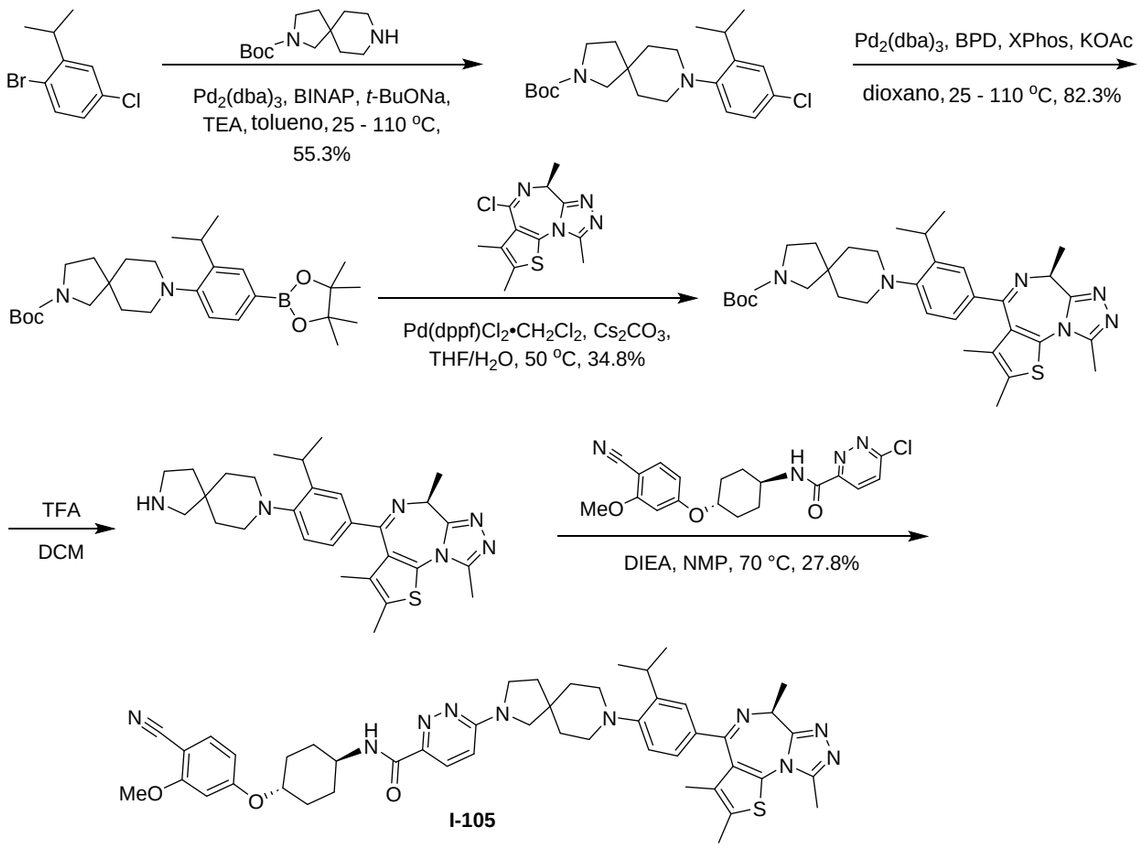
II-11

[0658] Etapa 1: Preparación de 2-cloro-*N*-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3- metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida. A una solución de cloruro de 2-cloropirimidina-5-carbonilo (273 mg, 1,54 mmol, 2 *equiv*) en DCM (3 mL) se agregó TEA (390 mg, 3,86 mmol, 537 µL, 5 *equiv*) y 4-((1*r*,3*r*)-3-amino-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutoxi)-2-metoxi-benzonitrilo (300 mg, 772 µmol, 1 *equiv*, TFA). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se repartió entre diclorometano (100 mL) y agua (50 mL). La capa orgánicas se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna en gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo de 1:0 a 1:1) para proporcionar 2-cloro-*N*-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3- metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida (150 mg, 46 % rendimiento) como un sólido blanco.

Etapa 2: Preparación de *N*-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[8-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il] pirimidina-5-carboxamida. A una solución de 2-cloro-*N*-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida (60 mg, 146 µmol, 1,1 *equiv*) en

NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (51 mg, 398 µmol, 69 µL, 3 *equiv*) y 2-[[(9*S*)-7-[4-(2-azaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (70 mg, 132 µmol, 1 *equiv*; preparado como se describió anteriormente en el Ejemplo 43). La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 68 %-98 % B durante 10 min) para proporcionar *N*-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[8-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2-azaspiro[4,5]decan-2-il] pirimidina-5-carboxamida (59 mg, 49 % rendimiento) como un sólido amarillo. ^{1}H NMR (400 MHz, MeOD) δ = 8,78 (s, 2H), 7,92 (s, 1H), 7,81 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,38-7,27 (m, 4H), 7,15 (s, 1H), 6,65 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,57 (dd, *J* = 2,2, 8,8 Hz, 1H), 4,78 (s, 1H), 4,27 (s, 1H), 4,18-4,13 (m, 1H), 4,08-3,97 (m, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,71 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 3,66 (s, 2H), 2,73 (s, 3H), 2,68-2,59 (m, 1H), 2,47 (s, 3H), 1,97-1,78 (m, 6H), 1,68 (s, 3H), 1,66-1,53 (m, 4H), 1,31 (s, 6H), 1,25 (s, 6H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,772 min, *m/z* = 905,7 [M+H]$^+$; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 45</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-isopropil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-105)



[0659] **Etapa 1: Preparación de** 8-(4-cloro-2-isopropil-fenil)-2,8-diazaspiro [4,5]decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** A una solución de 1-bromo-4-cloro-2-isopropil-benceno (1,0 g, 4,28 mmol, 1 *eq*) y 2,8- diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (1,03 g, 4,28 mmol, 1 *eq*) en tolueno (40 mL) se agregó $Pd_2(dba)_3$ (117,63 mg, 128,46 µmol, 0,03 *eq*), BINAP (266,63 mg, 428,21 µmol, 0,1 *eq*), TEA (476,63 mg, 4,71 mmol, 655,61 µL, 1,1 *eq*), y *terc*-butóxido de sodio (1,36 g, 14,13 mmol, 3,3 *eq*) a 25 °C en atmósfera de N_2. La mezcla se agitó a 110 °C durante 12 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró

a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 1:0 a 5:1). El compuesto *terc*-butilo 8-(4-cloro-2-isopropil-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato (1,02 g, 2,37 mmol, 55,28 % rendimiento, 91,2 % pureza) se obtuvo como un aceite amarillo.

[0660] Etapa 2: Preparación de 8-[2-isopropil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8- diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de ***terc*-butilo**. A una solución de 8-(4-cloro-2-isopropil-fenil)-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (350 mg, 812,29 µmol, 1 *eq*) y BPD (309,41 mg, 1,22 mmol, 1,5 *eq*) en dioxano (7 mL) se agregó $Pd_2(dba)_3$ (22,32 mg, 24,37 µmol, 0,03 *eq*), XPhos (46,47 mg, 97,48 µmol, 0,12 *eq*), y KOAc (239,16 mg, 2,44 mmol, 3 *eq*) a 25 °C en atmósfera de N_2. La mezcla se agitó a 110 °C durante 12 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo = 1:0 a 4:1). El compuesto 8-[2-isopropil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (365 mg, 668,26 µmol, 82,27 % rendimiento, 88,7 % pureza) se obtuvo como un sólido amarillo.

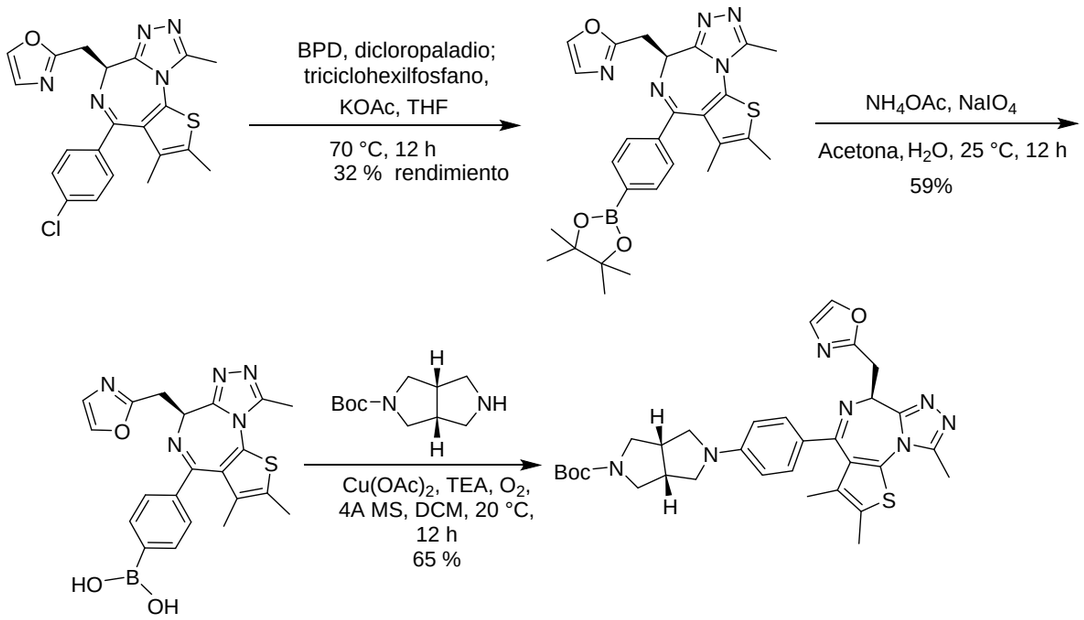
[0661] Etapa 3: Preparación de 8-[2-isopropil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de 8-[2-isopropil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-2,8- diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (200 mg, 366,17 µmol, 1 *eq*) y (9*S*)-7-cloro-4,5,9,13-tetrametil-3-tia1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (102,81 mg, 366,17 µmol, 1 *eq*) en THF (6 mL) y H_2O (2 mL) se agregó Cs_2CO_3 (357,91 mg, 1,10 mmol, 3 *eq*) y $Pd(dppf)Cl_2•CH_2Cl_2$ (59,81 mg, 73,23 µmol, 0,2 *eq*). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante TLC preparativa (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 1:2). El compuesto 8-[2-isopropil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca2(6),4, 7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (80 mg, 127,40 µmol, 34,79 % rendimiento, 96,0 % pureza) se obtuvo como un aceite amarillo.

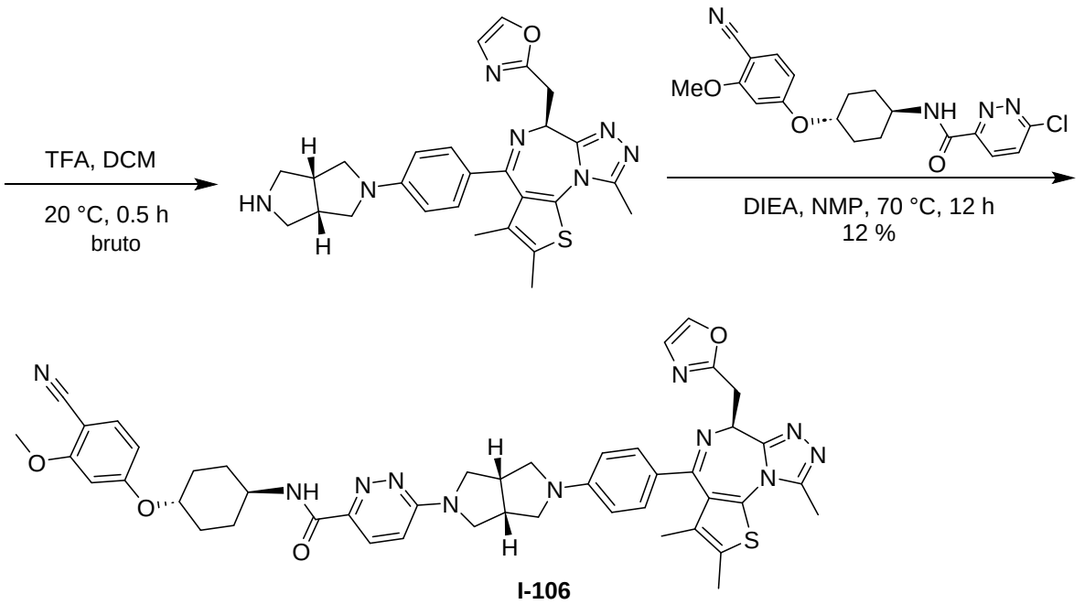
[0662] Etapa 4: Preparación de (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)-3-isopropil-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12- tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno. A una solución de 8-[2-isopropil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (78 mg, 124,21 µmol, 1 *eq*) en DCM (1 mL) se agregó TFA (1,92 g, 16,80 mmol, 1,25 mL, 135,26 *eq*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El compuesto (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)-3-isopropil-fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (62 mg, bruto) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0663] Etapa 5: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-isopropil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida. A una solución de (9*S*)-7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)-3-isopropil-fenil]-4,5,9,13-

tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (62 mg, 123,33 µmol, 1 *eq*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3- metoxi-fenoxi)ciclohexil] piridazina-3-carboxamida (47,71 mg, 123,33 µmol, 1 *eq*) en NMP (2 mL) se agregó DIEA (318,78 mg, 2,47 mmol, 429,63 µL, 20 *eq*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Welch Xtimate C18 150 mm x 25 mm x 5µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 60 %-80 % B durante 40 min). El compuesto *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-isopropil-4-[(9*S*)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (30,19 mg, 34,30 µmol, 27,81 % rendimiento, 96,92 % pureza) se obtuvo como un sólido amarillo. ^{1}H NMR (400 MHz, CDCl3): δ 8,00 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,90 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,47 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,36 - 7,28 (m, 2H), 7,05 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,73 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 6,54 - 6,50 (m, 1H), 6,47 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 4,42 - 4,27 (m, 1H), 4,22 - 4,11 (m, 1H), 4,10 - 4,02 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,86 - 3,45 (m, 4H), 3,45 - 3,37 (m, 1H), 2,98 - 2,80 (m, 4H), 2,69 (s, 3H), 2,42 (s, 3H), 2,23 - 2,15 (m, 4H), 2,10 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 2,07 - 2,03 (m, 2H), 1,82 (s, 4H), 1,71 (s, 3H), 1,69 - 1,67 (m, 2H), 1,51 - 1,44 (m, 2H), 1,24 - 1,16 (m, 6H). LC-MS: MS (ES$^+$): R_t = 0530 min, *m/z* = 853,5 $[M+H]^+$; método LCMS: 5-95.

<u>EJEMPLO 46</u> – Síntesis de 6-[(3*aR*,6*aS*)-2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-1,3,3*a*,4,6,6*a*-hexahidropirrolo[3,4-*c*]pirrol-5-il]-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (I-106)





I-106

[0664] Etapa 1: Preparación de 2-[[(9*S*)-4,5,13-trimetil-7-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. Una mezcla de 2-[[(9*S*)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (3,0 g, 7,0 mmol, 1,0 *equiv*), BPD (5,4 g, 21,2 mmol, 3,0 *equiv*), dicloropaladio; triciclohexil-fosfano (1,0 g, 1,4 mmol, 0,2 *equiv*), y KOAc (1,5 g, 15,6 mmol, 2,2 *equiv*) en THF (60 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se vertió en EtOAc (100 mL). La mezcla bruta se filtró a través de una almohadilla de Celatom® y se vertió en H_2O (100 mL). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (100 mL x 3), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante prep-TLC (dióxido de silicio, diclorometano:metanol = 20:1) para proporcionar 2-[[(9*S*)-4,5,13-trimetil-7-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (1,2 g, 2,3 mmol, 33 % rendimiento) como un aceite marrón.

[0665] Etapa 2: Preparación de ácido [4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]borónico. A una solución de 2-[[(9*S*)-4,5,13-trimetil-7-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) fenil]-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil] oxazol (1 g, 1,94 mmol, 1,0 *equiv*) en acetona (12 mL) y H_2O (12 mL) se agregó NH_4OAc (748 mg, 9,70 mmol, 5,0 *equiv*) y $NaIO_4$ (2,07 g, 9,70 mmol, 5,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se inactivó con Na_2SO_3 (30 mL) acuosa saturada a 0 °C. A la mezcla de reacción se le añadió agua (50 mL) y la mezcla se extrajo con EtOAc (50 mL). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (50 mL x 3), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y se concentró para proporcionar ácido [4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]borónico (500 mg, 59 % rendimiento) como un sólido amarillo.

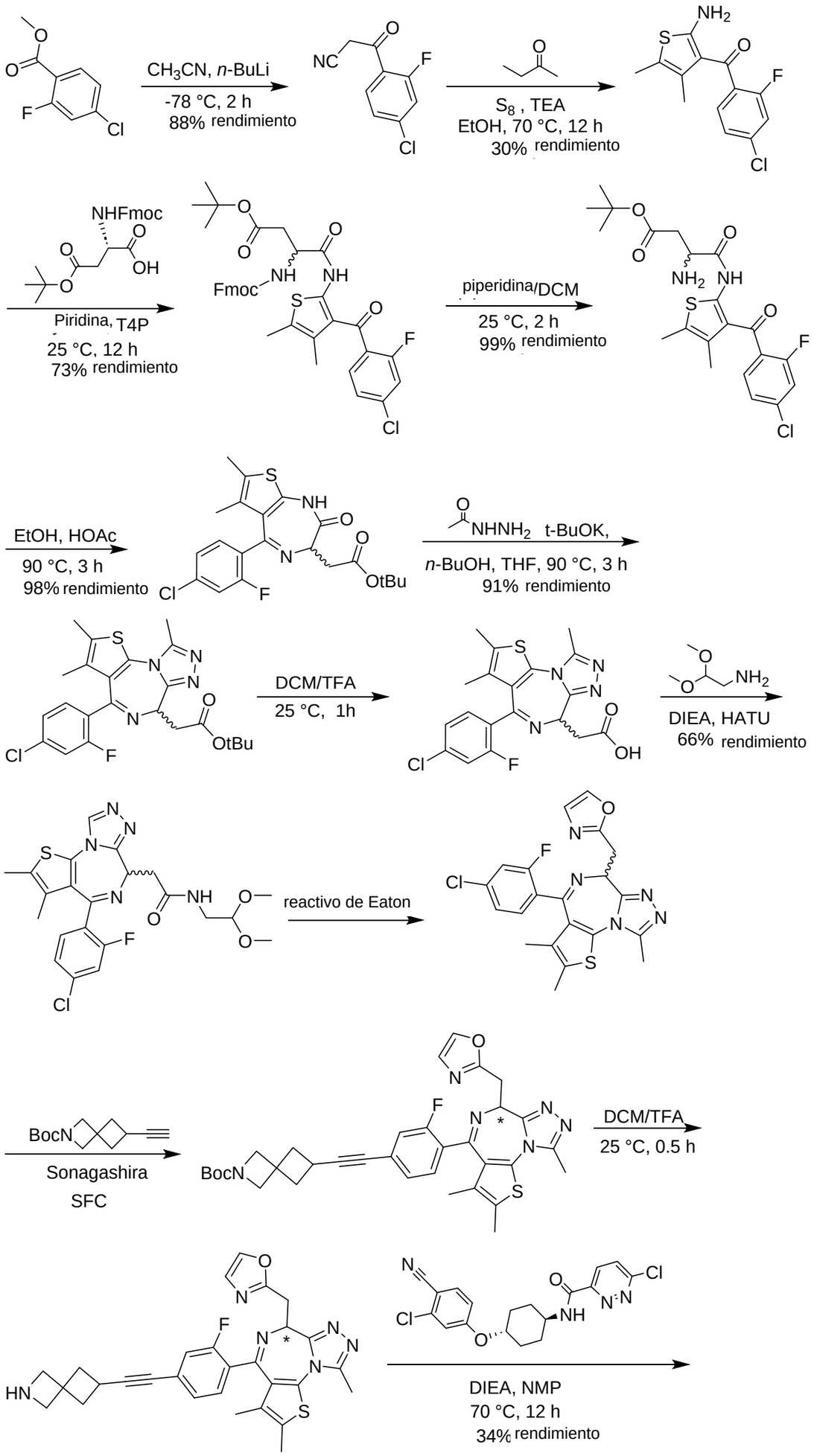
[0666] Etapa 3: Preparación de (3*aR*,6*aS*)**-2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]-1,3,3*a*,4,6,6*a*-hexahidropirrolo[3,4-*c*]pirrole-5-carboxilato de *terc*-butilo**. A una solución de ácido [4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-

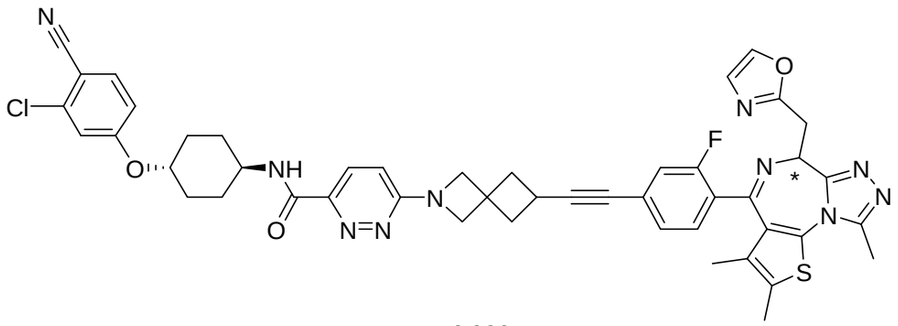
tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]borónico (300 mg, 692 µmol, 1 *equiv*) en DCM (8 mL) se agregó TEA (350 mg, 3,46 mmol, 5 *equiv*), $Cu(OAc)_2$ (252 mg, 1,38 mmol, 2 *eq*), (3*aR*,6*aS*)-2,3,3*a*,4,6,6*a*-hexahidro-1*H*-pirrolo[3,4-*c*]pirrole-5-carboxilato de *terc*-butilo (441 mg, 2,08 mmol, 3 *equiv*), y 4Å tamices moleculares La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante prep-TLC (SiO_2, DCM:MeOH = 10:1) para proporcionar (3*aR*,6*aS*)-2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-1,3,3*a*,4,6,6*a*-hexahidropirrolo[3,4-*c*]pirrolo-5-carboxilato de *terc*-butilo (270 mg, 65 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0667] Etapa 4: Preparación de 2-[[(9*S*)-7-[4-[(3*aR*,6*aS*)-2,3,3*a*,4,6,6*a*-hexahidro-1*H*-pirrolo[3,4-*c*]pirrol-5-il]fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. A una solución de (3*aR*,6*aS*)-2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-1,3,3*a*,4,6,6*a*-hexahidropirrolo[3,4-*c*] pirrolo-5-carboxilato de *terc*-butilo (100 mg, 167 µmol, 1 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1mL). La mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 2-[[(9*S*)-7-[4-[(3*aR*,6*aS*)-2,3,3*a*,4,6,6*a*-hexahidro-1*H*-pirrolo[3,4-*c*]pirrol-5-il]fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol bruto (166 mg) como un aceite amarillo.

[0668] Etapa 5: Preparación de 6-[(3*aR*,6*aS*)-2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]-1,3,3*a*,4,6,6*a*-hexahidropirrolo[3,4-*c*]pirrol-5-il]-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida. A una solución de 2-[[(9*S*)-7-[4-[(3*aR*,6*aS*)-2,3,3*a*,4,6,6*a*-hexahidro-1*H*-pirrolo[3,4-*c*]pirrol-5-il]fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (83 mg, 166 µmol, 1 *equiv*) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (64 mg, 498 µmol, 3 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (71 mg, 183 µmol, 1,1 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Waters xbridge 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua(NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 47 %-67 % B durante 8 min) para proporcionar 6-[(3*aR*,6*aS*)-2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]-1,3,3*a*,4,6,6*a*-hexahidropirrolo[3,4-*c*]pirrol-5-il]-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi) ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (18 mg, 12 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CDCl3) δ ppm 8,01 (d, J=9,28 Hz, 1 HOURS), 7,87 (d, J=8,20 Hz, 1 H), 7,58 - 7,66 (m, 1 H), 7,47 (d, J=8,56 Hz, 1 H), 7,31 (d, J=8,20 Hz, 2 H), 7,04 (s, 1 H), 6,72 (d, J=9,40 Hz, 1 H), 6,42 - 6,58 (m, 4 H), 4,66 - 4,74 (m, 1 H), 4,27 - 4,39 (m, 1 H), 3,98 - 4,13 (m, 3 H), 3,83 - 3,97 (m, 5 H), 3,54 - 3,74 (m, 4 H), 3,21 - 3,43 (m, 4 H), 2,66 (s, 3 H), 2,35 - 2,45 (m, 3 H), 2,13 - 2,24 (m, 4 H), 1,75 (s, 3 H), 1,44 - 1,52 (m, 2 H), 1,15 - 1,37 (m, 2 H). LC-MS: MS (ES+): RT = 2,013 min, *m/z* = 850,4 $[M+H]^+$; método LCMS: 10.

<u>EJEMPLO 47</u> – Síntesis de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[3-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-111).


CH3CN, n-BuLi
-78 °C, 2 h
88% rendimiento
S8 , TEA
EtOH, 70 °C, 12 h
30% rendimiento
Piridina, T4P
25 °C, 12 h
73% rendimiento
piperidina/DCM
25 °C, 2 h
99% rendimiento
EtOH, HOAc
90 °C, 3 h
98% rendimiento
t-BuOK,
n-BuOH, THF, 90 °C, 3 h
91% rendimiento
DCM/TFA
25 °C, 1h
DIEA, HATU
66% rendimiento
reactivo de Eaton
Sonagashira
SFC
DCM/TFA
25 °C, 0.5 h
DIEA, NMP
70 °C, 12 h
34% rendimiento



I-111
Único estereoisómero de configuración absoluta indeterminada

[0669] Etapa 1: Preparación de 3-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo. Una solución de acetonitrilo (9,3 g, 225,3 mmol, 11,9 mL, 1,7 *equiv*) en THF (200 mL) se agitó a -78 °C en atmósfera de N_2. A la mezcla se agregó *n*-BuLi (2,5 M, 106,0 mL, 2,0 *equiv*), y la mezcla se agitó for 0,5 horas. A continuación, se agregó 4-cloro-2-fluoro-benzoate (25,0 g, 132,5 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (20 mL) de metilo gota a gota, y la mezcla se agitó durante 1,5 horas en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl acuosa saturada (200 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 4). Las fases orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El producto bruto se trituró con éter de petróleo:acetato de etilo = 20:1 a 25 °C durante 30 minutos para proporcionar 3-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo (23,0 g, 116,4 mmol, 87,80 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0670] Etapa 2: Preparación de (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-2-fluoro-fenil)metanona. A una solución de 3-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo (23,0 g, 116,4 mmol, 1,0 *equiv*) y butan-2-ona (8,4 g, 116,4 mmol, 10,4 mL, 1,0 *equiv*) en etanol (200 mL) se agregó TEA (23,6 g, 232,8 mmol, 32,4 mL, 2,0 *equiv*) y flores de azufre S_8 (4,4 g, 17,3 mmol, 0,15 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (500 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (500 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 35:1 a 30:1) para proporcionar (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-2-fluoro-fenil) metanona (10,0 g, 35,2 mmol, 30 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0671] Etapa 3: Preparación de (3***S***)**-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-3-(9*H*-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoato de *terc*-butilo** . A una solución de (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-2-fluoro-fenil)metanona (8,8 g, 31,0 mmol, 1,0 *equiv*) y ácido (2*S*)-4-*terc*-butoxi-2-(9*H*-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoico (19,1 g, 46,5 mmol, 1,5 *equiv*) en EtOAc (40 mL) se agregó piridina (9,8 g, 124,0 mmol, 10,0 mL, 4,0 *equiv*) y T4P (44,7 g, 62,0 mmol, 50 % pureza, 2,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. A la mezcla de reacción se le añadió agua (300 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (80 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 8:1 a 6:1) para proporcionar (3*S*)-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-3-(9*H*-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoato de *terc*-butilo (15,5 g, 22,9 mmol, 73 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0672] Etapa 4: Preparación de (3*S*)-3-amino-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-4-oxo-butanoato de *terc*-butilo. A una solución de (3*S*)-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoyl)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-3-(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi-carbonilamino)-4-oxo-butanoato de *terc*-butilo (14,0 g, 20,7 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (280 mL) se agregó piperidina (5,3 g, 62,0 mmol, 6,1 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 horas. A la mezcla de reacción se le añadió agua (300 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (350 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10:1 a 8:1) para proporcionar (3*S*)-3-amino-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-4-oxo-butanoato de *terc*-butilo (9,4 g, 20,7 mmol, 99 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0673] Etapa 5: Preparación de 2-(5-(4-cloro-2-fluorofenil)-6,7-dimetil-2-oxo-2,3-dihidro-1***H*-tieno[2,3-*e*][1,4]diazepin-3-il)acetato de *terc*-butilo racémico**. A una solución de (3*S*)-3-amino-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-4-oxo-butanoato de *terc*-butilo (9,4 g, 20,6 mmol, 1,0 *equiv*) en EtOH (90 mL) se agregó AcOH (31,5 g, 524,0 mmol, 30,0 mL, 25,4 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 3 horas. A la mezcla de reacción se le añadió agua (100 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (150 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (150 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 8:1 a 6:1) para proporcionar 2-(5-(4-cloro-2-fluorofenil)-6,7-dimetil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il)acetato de terc-butilo racémico (8,9 g, 20,4 mmol, 98 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0674] Etapa 6: Preparación de 2-[(9***S*)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de *terc*-butilo**. Se agregó *terc*-butóxido de potasio (1,0 M, 22,4 mL, 1,1 *equiv*) 2-(5-(4-cloro-2-fluorofenil)-6,7-dimetil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-tieno[2,3-*e*][1,4]diazepin-3-il) de *terc*-butilo racémico (8,9 g, 20,4 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (90 mL) a -78 °C, y la mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se enfrió a -78 °C. Se añadió fosforocloridato de difenilo (6,6 g, 24,4 mmol, 5,1 mL, 1,2 *equiv*) a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se calentó a 25 °C durante 45 minutos. A continuación, se añadió acetohidrazida (2,3 g, 30,6 mmol, 1,5 *equiv*) a la mezcla de reacción. Tras añadir la acetohidrazida, se añadieron inmediatamente *n*-butanol (90 mL) mediante agitación. Luego la mezcla se agitó a 90 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactivó con adición gota a gota de NH_4Cl acuosa saturada (100 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 2). Las fases orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 8:1 a 6:1) para proporcionar 2-(4-(4-cloro-2-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)acetato de *terc*-butilo racémico (8,9 g, 18,74 mmol, 91 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0675] Etapa 7: Preparación de ácido 2-(4-(4-cloro-2-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)acético racémico. A una solución de 2-(4-(4-cloro-2-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)acetato de *terc*-butilo racémico (8,9 g, 18,7 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (40 mL) se agregó TFA

(20,0 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar ácido 2-(4-(4-cloro-2-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)acético racémico (7,8 g, 18,6 mmol) como un aceite amarillo, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0676] Etapa 8: Preparación de 2-(4-(4-cloro-2-fluorofenil)-2,3-dimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)-N-(2,2-dimetoxietil)acetamida racémica. A una solución de ácido 2-(4-(4-cloro-2-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4] triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)acético racémico (7,8 g, 18,6 mmol, 1,0 *equiv*) y 2,2-dimetoxietanamina (5,8 g, 55,8 mmol, 6,09 mL, 3,0 *equiv*) en DMF (70 mL) se agregó HATU (7,8 g, 20,5 mmol, 1,1 *equiv*) y DIEA (7,2 g, 55,8 mmol, 9,73 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. A la mezcla de reacción se le añadió agua (20 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, DCM:MeOH = 40:1 a 20:1) para proporcionar 2-(4-(4-cloro-2-fluorofenil)-2,3-dimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)-*N*-(2,2-dimetoxietil)acetamida racémica (6,3 g, 12,5 mmol, 66 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0677] Etapa 9: Preparación de 2-((4-(4-cloro-2-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol racémico. A una solución de 2-(4-(4-cloro-2-fluorofenil)-2,3-dimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)-*N*-(2,2-dimetoxietil)acetamida racémica (2,0 g, 3,9 mmol, 1,0 *equiv*) en P_2O_5; ácido metanosulfónico (20 mL) .La mezcla se agitó a 100 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se inactivó con adición gota a gota de $NaHCO_3$ (200 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, DCM:MeOH = 30:1 a 20:1). El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 (250 mm x 70 mm x 10 µm); fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 40 %-70 % B durante 20 min) para proporcionar 2-((4-(4-cloro-2-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol racémico (3,0 g, 6,79 mmol, 57 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0678] Etapa 10: Preparación de 6-[2-[3-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de ***terc*-butilo.** Una mezcla de 6-etinil-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato (500 mg, 2,3 mmol, 2,5 *equiv*), 2-((4-(4-cloro-2-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)metil) oxazol de *terc*-butilo racémico (400 mg, 905 µmol, 1,0 *equiv*), [2-(2-aminofenil)fenil]-metil-sulfoniloxi-paladio;2-(2-diciclohexilfosfanilfenil)-*N*,*N*-dimetil-anilina (69 mg, 90 µmol, 0,1 *equiv*), y Cs_2CO_3 (589 mg, 1,8 mmol, 2,0 *equiv*) en MeCN (10 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. La mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 2 horas en atmósfera de N_2. A la mezcla de reacción se le añadió agua (20 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (30 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 40 mm x 15 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 55 %-85 % B durante 15 min). El residuo se purificó mediante prep-SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AS (250

mm x 30 mm x 10 µm); fase móvil: [CO_2-MeOH]; B%: 50 %, modo de elución isocrático) para proporcionar 6-[2-[3-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (140 mg, 223,38 µmol, 24,68 % rendimiento) como un aceite amarillo. El producto es enantiopuro de estereoquímica absoluta desconocida.

[0679] Etapa 11: Preparación de 2-[[7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]-2-fluoro-fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. A una solución de 6-[2-[3-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (140 mg, 223 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (3 mL) se agregó TFA (1,0 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se inactivó con adición gota a gota de $NaHCO_3$ (10 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (10 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron, y se concentraron *al vacío* para proporcionar 2-[[7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]-2-fluoro-fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (120 mg, bruto) como un aceite amarillo, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

[0680] Etapa 12: Preparación de *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[3-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-111). A una solución de 2-[[7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]-2-fluoro-fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (60 mg, 113 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (44 mg, 113 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (1,0 mL) se agregó DIEA (29 mg, 227 µmol, 39 µL, 2,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 mm x 25 mm x 10 µm; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 54 %-84 % B durante 10 min) para proporcionar *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[3-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il] piridazina-3-carboxamida (56 mg, 55 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR: (400 MHz, DMSO-*d6*) δ = 8,52 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,83 - 7,81 (m, 1H), 7,61 - 7,59 (m, 1H), 7,36 - 7,20 (m, 3H), 7,13 (s, 1H), 6,85 - 6,83 (m, 1H), 6,76 - 6,58 (m, 2H), 4,78 - 4,68 (m, 1H), 4,54 - 4,45 (m, 1H), 4,18 (s, 2H), 4,12 (s, 2H), 3,89 (s, 4H), 3,86 - 3,77 (m, 2H), 2,66 - 2,64 (m, 2H), 2,60 (s, 3H), 2,44 - 2,42 (m, 2H), 2,39 (s, 3H), 2,14 - 2,07 (m, 2H), 1,91 - 1,88 (m, 2H), 1,65 - 1,64 (m, 2H), 1,60 (s, 3H), 1,56 - 1,47 (m, 2H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,522 min, *m/z* = 877,4 $[M+H]^+$.

<u>EJEMPLO 48</u> – Síntesis de compuestos adicionales

[0681] Los siguientes compuestos se sintetizaron usando procedimientos análogos a los descritos anteriormente: I-18, II-3, I-20, I-21, I-22, I-1, I-23, I-24, II-6, II-7, II-8, II-9, II-2, I-26, I-3, I-5, I-10, I-11, I-28, I-30, I-35, I-36, I-38, I-14, I-15, I-42, I-43, I-47, I-48, I-50, I-51, I-52, I-53, I-55, I-57, I-59, I-60, I-61, I-63, I-65, I-67, I-68, I-69, I-70, I-71, I-72, I-74, I-75, I-76, I-77, I-78, I-80, I-84, I-85, I-87, I-88, I-89, I-90, I-91, I-92, I-93, I-94, I-95, I-96, I-97, I-98, I-99, I-101, II-12,

I-102, I-103, I-104, I-107, I-108, I-109, I-110, I-112, I-113, I-114, I-115, I-116, I-117, I-118, I-119, I-120, I-121, I-122, I-123, I-124, I-125, I-126, I-127, I-128, I-129, I-130, I-131, I-132, I-133, I-134, I-135, I-136, I-137, II-13 y II-14. En la Tabla 4 se proporcionan datos de caracterización física para compuestos ilustrativos.

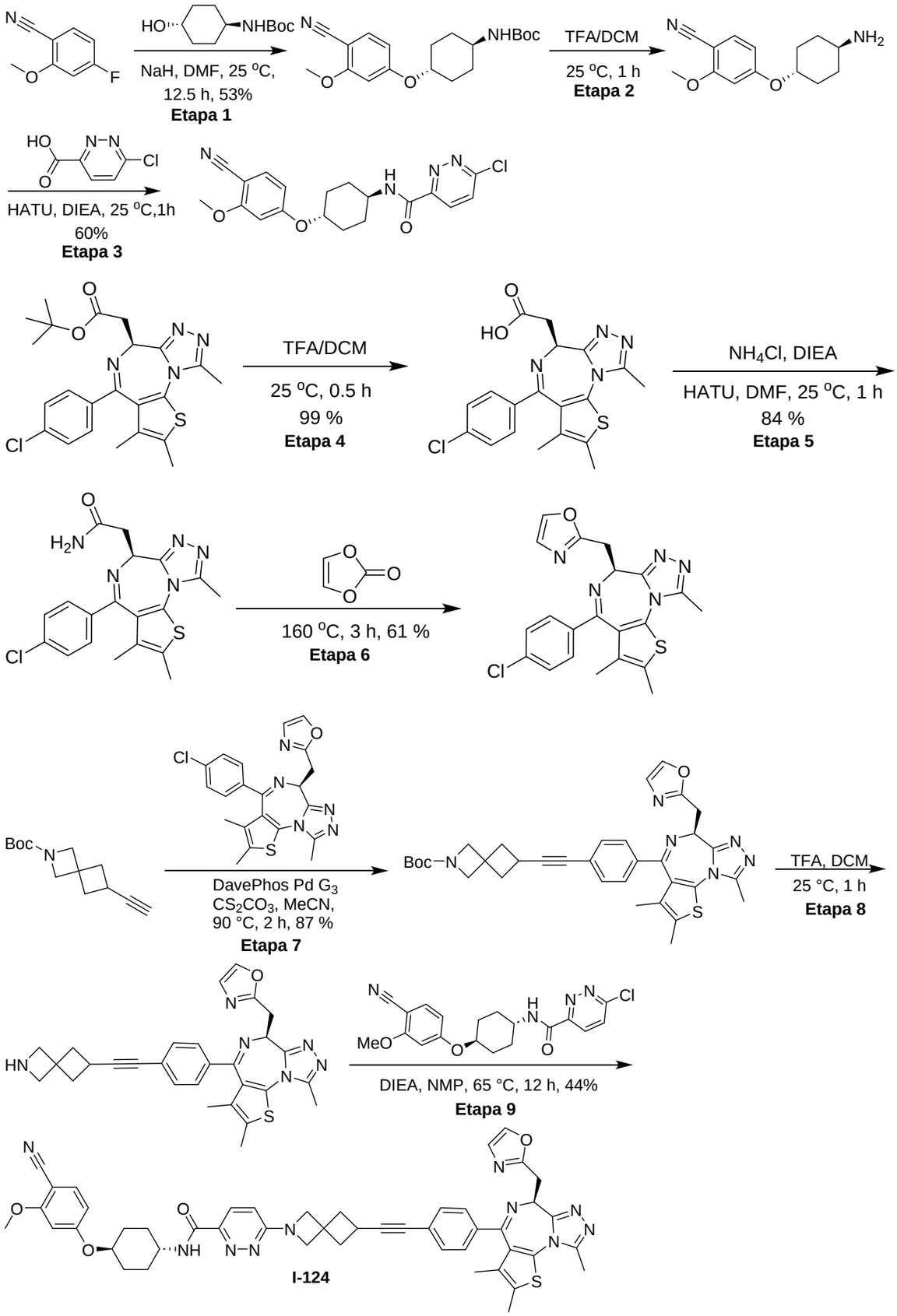
TABLA 4.

Compuesto n.°	**MW Exacto**	**Masa observada**	**Pureza LCMS (UV 220)**
I-18	824,39447	825,4	99,88
II-3	852,42578	853,4	97,7
I-20	809,38355	810,4	98,81
I-21	809,38355	810,4	100
I-22	809,38355	810,4	100
I-1	930,36108	931,4	99,5
I-23	810,37878	811,4	95,51
I-24	823,39923	824,4	99,57
II-6	836,41962	837,4	98,63
II-7	837,41486	838,4	100
II-8	837,41486	838,4	100
II-9	946,43121	947,6	94,3
II-2	960,37164	961,4	99,61
I-26	823,39923	824,4	96,83
I-3	893,36585	894,6	99,37
I-5	907,38153	908,6	98,26
I-10	863,35529	864,6	95,6
I-11	864,35053	865,6	97,22
I-28	839,3941	840,6	98,44
I-30	853,40979	854,6	98,63
I-35	809,38355	810,5	98,11
I-36	808,38831	809,5	96,96
I-38	809,38355	810,6	95,4
I-14	877,37097	878,6	99,25
I-15	878,36621	879,6	95,91
I-42	823,39923	824,7	98,26
I-43	810,37878	811,6	95,99
I-47	782,34753	783,4	92,83
I-48	810,37878	811,6	96,56
I-50	811,36279	812,6	95,25
I-51	811,36279	812,6	96,27
I-52	811,36279	812,5	95,74
I-53	808,38831	809,6	90,46
I-55	807,39307	808,6	96,53
I-57	827,37415	828,6	96,11

Compuesto n.°	**MW Exacto**	**Masa observada**	**Pureza LCMS (UV 220)**
I-59	827,37415	828,5	96,36
I-60	823,39923	824,6	95,97
I-61	823,39923	824,6	94,44
I-63	823,39923	824,6	94,47
I-65	843,3446	844,6	94,26
I-67	839,3941	840,6	96,68
I-68	839,3941	840,6	96,08
I-69	839,3941	840,6	96,24
I-70	809,38355	810,5	96,69
I-71	808,38831	809,6	97,24
I-72	824,39447	825,6	93,93
I-74	844,33984	845,6	89,77
I-75	840,38934	841,4	97,98
I-76	800,33807	801,4	96,29
I-77	800,33807	801,4	93,54
I-78	836,39447	837,6	97,4
I-80	814,35376	815,5	95,14
I-84	843,3446	844,6	99,37
I-85	843,3446	844,6	96,43
I-87	810,37878	811,6	94,24
I-88	810,37878	811,6	96,33
I-89	810,37878	811,6	93,67
I-90	840,38934	841,6	98
I-91	818,32867	819,5	92,81
I-92	814,35376	815,4	94,65
I-93	814,35376	815,4	97,83
I-94	795,36792	796,5	96,23
I-95	795,36792	796,5	95,18
I-96	795,36792	796,5	94,48
I-97	795,36792	796,5	93,94
I-98	810,37878	811,6	93,28
I-99	810,37878	811,6	94,11
I-101	876,38934	877,6	97,09
II-12	904,42065	905,6	96,62
I-102	809,38355	810,6	96,47
I-103	832,3443	833,5	96,57
I-104	832,3443	833,6	95,61
I-107	846,35999	847,4	97,91
I-108	778,31622	779,4	95,42
I-109	826,37372	827,4	98,23

Compuesto n.°	MW Exacto	Masa observada	Pureza LCMS (UV 220)
I-110	812,35809	813,4	96,32
I-112	876,33301	877,4	96,79
I-113	846,35999	847,4	98,94
I-114	850,4101	851,4	96,59
I-115	812,35809	813,4	96,59
I-116	846,35999	847,4	96,19
I-117	832,3443	833,6	95,19
I-118	877,38464	878,4	94,57
I-119	885,33447	886,4	92,18
I-120	838,4101	839,6	97,33
I-121	851,43048	852,7	95,98
I-122	851,43048	852,7	99,83
I-123	876,33301	877,4	99,46
I-124	858,34241	859,4	99,22
I-125	894,38	895,6	100
I-126	945,372	946,6	100
I-127	876,333	877,4	98,26
I-128	896,359	897,4	98,83
I-129	945,372	946,6	99,7
I-130	850,41	851,6	97,42
I-131	895,375	896,4	95,28
I-132	850,41	851,6	98,75
I-133	896,359	897,6	100
I-134	895,375	896,2	100
I-135	895,375	896,8	100
I-136	945,372	946,4	98,77
I-137	945,372	946,4	99,42
II-13	922,411	923,6	99,71
II-14	906,4	907,6	100

<u>EJEMPLO 49</u> – Síntesis de N-[(1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-124)



[0682] **Etapa 1: Preparación de** ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)carbamato de ***terc*-butilo.** A una solución de NaH (1,25 g, 31,21 mmol, 60 % pureza, 1,2 *equiv*) en DMF (60 mL) en atmósfera de N_2 a 0 °C se agregó ((1r,4r)-4-hidroxi-ciclohexil) carbamato de terc-butilo (5,6 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Después de 30 minutos, se añadió 4-fluoro-2-metoxi-benzonitrilo (3,93 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Se dejó que la mezcla de reacción se calentara lentamente hasta alcanzar 25 °C y se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución saturada de NH_4Cl acuoso (100 mL) a 0 °C, y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía

de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=0/1 a 3/1) para producir el compuesto ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (4,8 g, 13,86 mmol, 53 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0683] Etapa 2: Preparación de 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxi-benzo nitrilo. A una solución de ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (0,5 g, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para producir 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 99,99 % rendimiento, sal de TFA) como un aceite amarillo.

[0684] Etapa 3: Preparación de 6-cloro-N-((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)piridazina-3-carboxamida. A una solución de 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA) y ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico (229 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DMF (2 mL) se agregó HATU (823 mg, 2,16 mmol, 1,5 *equiv*) y DIEA (560 mg, 4,33 mmol, 754 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 x 25mm 10µm; fase móvil: [agua(NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 49 %-69 % B durante 8 min) para producir 6-cloro-N-((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)piridazina-3-carboxamida (337 mg, 871 µmol, 60 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0685] Etapa 4: Preparación de ácido 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético. A una solución de 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraza triciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de *terc*-butilo (1,0 g, 2,1 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (10 mL) se agregó TFA (7,7 g, 67 mmol, 5,0 mL, 30 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 0,5 h. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar ácido 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (877 mg, 99 % rendimiento) como un residuo, que se usó directamente en la siguiente etapa.

[0686] Etapa 5: Preparación de 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetamida. A una solución de ácido 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0. $0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (877 mg, 2,19 mmol, 1,0 *equiv*) y NH_4Cl (351 mg, 6,56 mmol, 3,0 *equiv*) en DMF (8 mL) se agregó HATU (915 mg, 2,41 mmol, 1,1 *equiv*) y DIEA (848 mg, 6,56 mmol, 3,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Waters Xbridge C18 150 x 50mm x 10µm; fase móvil: [agua(NH_4HCO_3)-ACN]; B %: 24 %-54 %, 10 min) para proporcionar 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetamida (740 mg, 84 % rendimiento).

[0687] Etapa 6: Preparación de 2-[[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. Una solución de 1,3-dioxol-2-ona (103 mg, 1,20 mmol, 1,2 *equiv*) y 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetamida (400 mg, 1,00 mmol, 1,0 *equiv*) en PPA (4 mL) se agitó a 160 °C durante 3 h. La mezcla se inactivó mediante

la adición de H_2O (50 mL) a 0 °C, y luego se diluyó con EA **(**200 mL). La mezcla se extrajo con EtOAc (15 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (10 mL x 3), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo***/***acetato de etilo **=** 2***/***1 a 0***/***1) para proporcionar 2-[[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (260 mg, 61 % rendimiento).

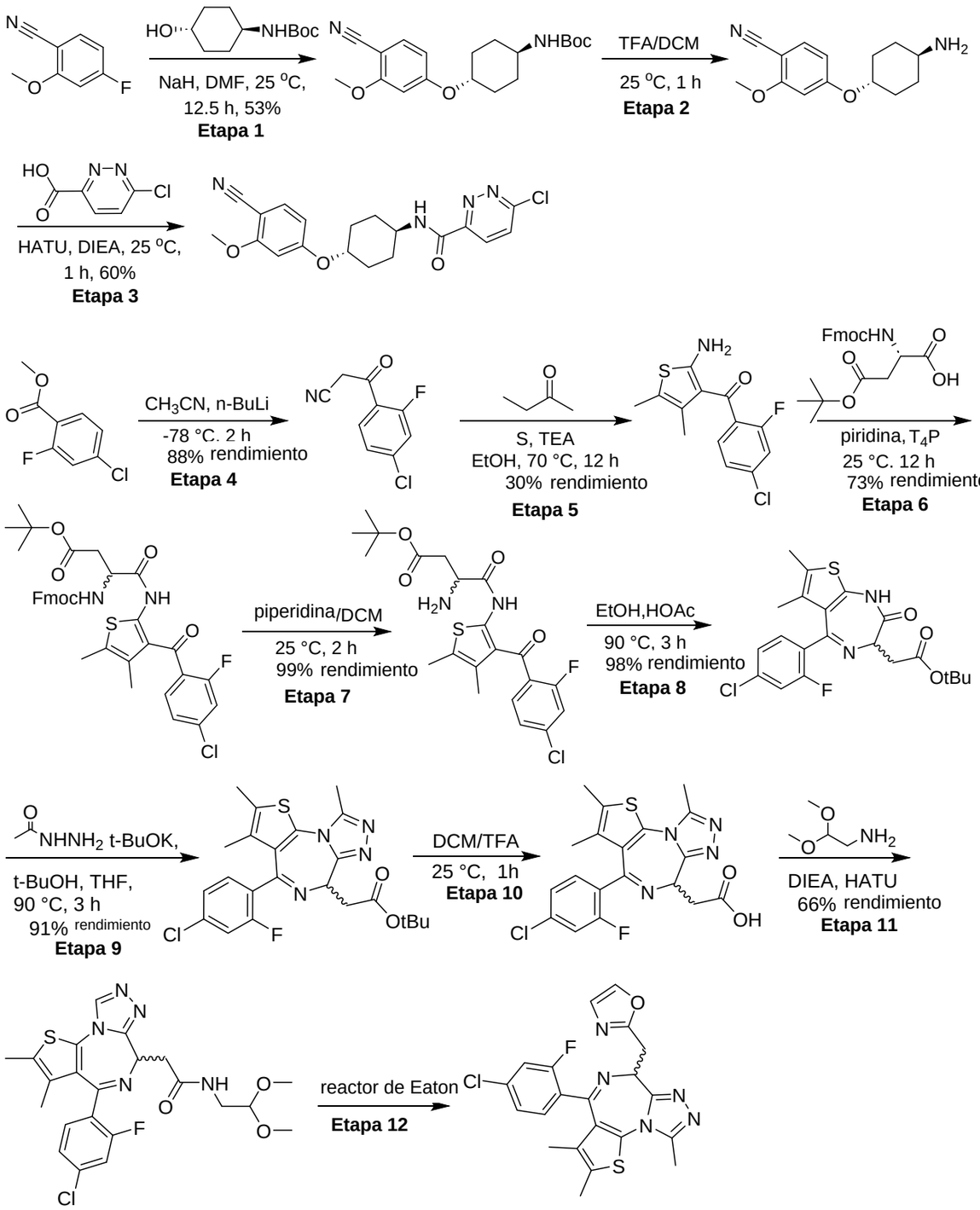
[0688] Etapa 7: Preparación de 6-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-il metil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]**trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo.** Una mezcla de 2-[[(9S)-7-(4-cloro fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-penta en-9-il]metil]oxazol (600 mg, 1 mmol, 1,0 *equiv*), 6-etinil-2-azaspiro[3,3] heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (783 mg, 3 mmol, 2,5 *equiv*), Cs_2CO_3 (922 mg, 2 mmol, 2,0 *equiv*), y [2-(2-aminofenil)fenil]-metilsulfoniloxi-paladio; 2-(2-diciclohexil-fosfanil fenil)-N,N-dimetil-anilina (108 mg, 141 µmol, 0,1 *equiv*) en MeCN (12 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces, luego la mezcla se agitó a 90 °C durante 2 h en atmósfera N_2. La mezcla se concentró para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, acetato de etilo : metanol = 100/1 a 15/1) para proporcionar 6-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6), 4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (750 mg, 87 % rendimiento).

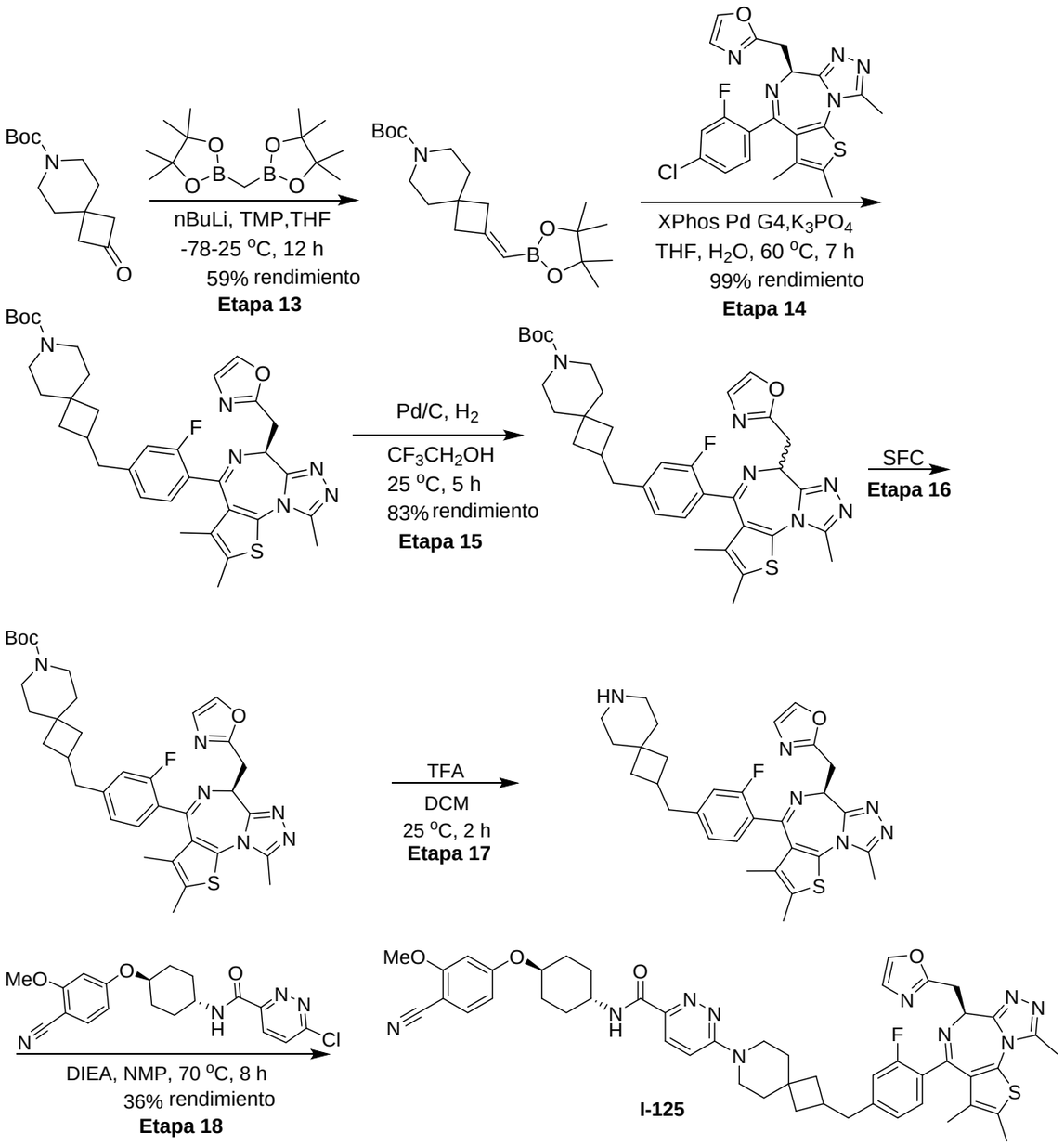
[0689] Etapa 8: Preparación de 2-[[(9S)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil] fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. A una solución de 6-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (750 mg, 1 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (6 mL) se agregó TFA (3,07 g, 26 mmol, 2 mL, 21,8 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó gota a gota con una solución acuosa saturada de $NaHCO_3$.El residuo se diluyó con agua (20 mL) y se extrajo con DCM (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un producto bruto. El producto bruto 2-[[(9S)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3] heptan-6-il)etinil]fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (625 mg, bruto) se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

[0690] Etapa 9: Preparación de N-[(1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il] piridazina-3-carboxamida (I-124). A una solución de 2-[[(9S)-7-[4-[2-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil]fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (358 mg, 704 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-N-[(1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (300 mg, 774 µmol, 1,1 *equiv*) en NMP (1 mL) se agregó DIEA (273 mg, 2,11 mmol, 368 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 65 °C durante 12 h. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm x 10mm; fase móvil: [agua(FA)-ACN]; gradiente: 54 %-84 % B durante 10 min) para producir N-[(1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[4-[(9S)-4,5,13-

trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il] piridazina-3-carboxamida (**I-124**, 267 mg, 308 µmol, 44 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,97 - 7,85 (m, 2H), 7,50 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,43 - 7,29 (m, 4H), 7,13 (s, 1H), 6,86 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 6,73 - 6,60 (m, 2H), 4,80 - 4,74 (m, 1H), 4,52 - 4,44 (m, 1H), 4,24 (d, *J* = 6,7 Hz, 4H), 4,05 - 3,93 (m, 3H), 3,91 (s, 3H), 3,26 - 3,18 (m, 1H), 2,77 - 2,65 (m, 5H), 2,51 - 2,40 (m, 5H), 2,20 (d, *J* = 3,5 Hz, 2H), 2,09 (d, *J* = 4,6 Hz, 2H), 1,69 (s, 3H), 1,67 - 1,56 (m, 4H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,508 min, m/z = 859,4 [M + H$^+$]; método LCMS: 10.

<u>EJEMPLO 50</u> – Síntesis de N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[2-[[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]piridazina-3-carboxamida (I-125)





[0691] Etapa 1: Preparación de ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)carbamato de terc-butilo. A una solución de NaH (1,25 g, 31,21 mmol, 60 % pureza, 1,2 *equiv*) en DMF (60 mL) en atmósfera de N_2 a 0 °C se agregó((1r,4r)-4-hidroxiciclohexil) carbamato de terc-butilo (5,6 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Después de 30 minutos, se añadió 4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo (3,93 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Se dejó que la mezcla de reacción se calentara lentamente hasta llegar a 25 °C y se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (100 mL) a 0 °C. Y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=0/1 a 3/1) para producir ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil)carbamato de terc-butilo (4,8 g, 13,86 mmol, 53 % rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco.

[0692] Etapa 2: Preparación de 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxi-benzonitrilo. A una solución de ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil) carbamato de terc-butilo (0,5 g, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para producir 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 99,99 % rendimiento, sal de TFA) como un aceite amarillo.

[0693] Etapa 3: Preparación de 6-cloro-N-((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi) ciclohexil)piridazina-3-carboxamida. A una solución de 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA) y ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico (229 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DMF (2 mL) se agregó HATU (823 mg, 2,16 mmol, 1,5 *equiv*) y DIEA (560 mg, 4,33 mmol, 754 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150x25mm 10um; fase móvil: [agua(NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente:49 %-69 % B durante 8 min) para producir 6-cloro-N-((1r,4r) -4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)piridazina-3-carboxamida (337 mg, 871 µmol, 60 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0694] Etapa 4: Preparación de 3-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo. Una solución de acetonitrilo (9,3 g, 225,3 mmol, 11,9 mL, 1,7 *equiv*) en THF (200 mL) se agitó a -78 °C bajo protección de N_2. Luego se añadió n-BuLi (2,5 M, 106,0 mL, 2,0 *equiv*) a la mezcla y se agitó durante 0,5 h. Luego, 4-cloro-2-fluoro-benzoato de metilo (25,0 g, 132,5 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (20 mL) fue gota a gota y la mezcla se agitó durante 1,5 h bajo protección N_2. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (200 mL) a 0 °C. Y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 4). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El producto bruto se trituró con éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 25 ^oC durante 30 min para proporcionar 3-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo (23,0 g, 116,4 mmol, 87,80 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0695] Etapa 5: Preparación de (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-2-fluoro-fenil)metanona. A una solución de 3-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo (23,0 g, 116,4 mmol, 1,0 *equiv*) y butan-2-ona (8,4 g, 116,4 mmol, 10,4 mL, 1,0 *equiv*) en EtOH (200 mL) se agregó TEA (23,6 g, 232,8 mmol, 32,4 mL, 2,0 *equiv*) y S (4,4 g, 138,5 mmol, 1,2 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (500 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (500 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=35/1 a 30/1) para proporcionar (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-2-fluoro-fenil) metanona (10,0 g, 35,2 mmol, 30 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0696] Etapa 6: Preparación de (3S)-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-3-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoato de terc-butilo. A una solución de (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-2-fluoro-fenil)metanona (8,8 g, 31,0 mmol, 1,0 *equiv*) y ácido (2S)-4-terc-butoxi-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoico (19,1 g, 46,5 mmol, 1,5 *equiv*) en EtOAc (40 mL) se agregó piridina (9,8 g, 124,0 mmol, 10,0 mL, 4,0 *equiv*) y T_4P (44,7 g, 62,0 mmol, 50 % pureza, 2,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (300 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (80 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=8/1 a 6/1) para proporcionar (3S)-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-3-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoato de terc-butilo (15,5 g,

22,9 mmol, 73 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0697] Etapa 7: Preparación de (3S)-3-amino-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-4-oxo-butanoato de terc-butilo. A una solución de (3S)-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-3-(9H-fluoren-9-ilmetoxi-carbonil amino)-4-oxo-butanoato de terc-butilo (14,0 g, 20,7 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (280 mL) se agregó piperidina (5,3 g, 62,0 mmol, 6,1 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (300 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (350 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=10/1 a 8/1) para proporcionar el compuesto (3S)-3-amino-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-4-oxo-butanoato de terc-butilo (9,4 g, 20,7 mmol, 99 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0698] Etapa 8: Preparación de 2-[(3S)-5-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-6,7-dimetil-2-oxo-1,3-dihidrotieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il]acetato de terc-butilo. A una solución de (3S)-3-amino-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-4-oxo-butanoato de terc-butilo (9,4 g, 20,6 mmol, 1,0 *equiv*) en EtOH (90 mL) se agregó AcOH (31,5 g, 524,0 mmol, 30,0 mL, 25,4 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 3 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (100 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (150 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (150 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=8/1 a 6/1) para proporcionar 2-[(3S)-5-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-6,7-dimetil-2-oxo-1,3-dihidrotieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il]acetato de terc-butilo (8,9 g, 20,4 mmol, 98 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0699] Etapa 9: Preparación de 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de terc-butilo. t-BuOK (1,0 M, 22,4 mL, 1,1 *equiv*) se agregó a 2-[(3S)-5-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-6,7-dimetil-2-oxo-1,3-dihidrotieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il]acetato de terc-butilo (8,9 g, 20,4 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (90 mL) a -78 °C, y se agitó a 25 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió a -78 °C. Se agregó [cloro(fenoxi)fosforil]oxibenceno (6,6 g, 24,4 mmol, 5,1 mL, 1,2 *equiv*) la mezcla de reacción. La mezcla resultante se calentó a 25 °C durante 45 minutos. Luego se añadió acetohidrazida (2,3 g, 30,6 mmol, 1,5 *equiv*) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C, se añadió n-BuOH (90 mL) a la mezcla de reacción y se calentó a 90 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (100 mL) a 0 °C gota a gota. Y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 2). Las fases orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=8/1 a 6/1) para proporcionar 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de terc-butilo (8,9 g, 18,74 mmol, 91 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0700] Etapa 10: Preparación de ácido 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético. A una

solución de 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de terc-butilo (8,9 g, 18,7 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (40 mL) se agregó TFA (20,0 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se usó directamente para la siguiente etapa. El compuesto ácido 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (7,8 g, 18,6 mmol) se obtuvo como un aceite amarillo.

[0701] Etapa 11: Preparación de 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(2,2-dimetoxietil)acetamida. A una solución de ácido 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (7,8 g, 18,6 mmol, 1,0 *equiv*) y 2,2-dimetoxietanamina (5,8 g, 55,8 mmol, 6,09 mL, 3,0 *equiv*) en DMF (70 mL) se agregó HATU (7,8 g, 20,5 mmol, 1,1 *equiv*) y DIEA (7,2 g, 55,8 mmol, 9,73 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (20 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, DCM/MeOH=40/1 a 20/1) para proporcionar 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(2,2-dimetoxietil) acetamida (6,3 g, 12,5 mmol, 66 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0702] Etapa 12: Preparación de 2-[[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. Una solución de 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraza triciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(2,2-dimetoxietil)acetamida (2,0 g, 3,9 mmol, 1,0 *equiv*) en el reactor de Eaton (20 mL) se agitó a 100 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (200 mL) a 0 °C gota a gota. Y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, DCM: MeOH =30/1 a 20/1). El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 (250 x 70mm,10 um); fase móvil: [agua(FA)-ACN]; gradiente: 40 %-70 % B durante 20 min) para proporcionar el 2-[[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (3,0 g, 6,79 mmol, 57 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0703] Etapa 13: Preparación de 2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo. A la solución de TMP (2,4 g, 16,7 mmol, 2,8 mL, 2,0 *equiv*) en THF (20,0 mL) se agregó *n*-BuLi (2,5 M, 6,7 mL, 2,0 *equiv*) a -30 °C. A continuación, la solución se agitó a -30 °C durante 0,5 h. Una solución de 4,4,5,5-tetrametil-2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)metil]-1,3,2-dioxaborolano (3,36 g, 12,5 mmol, 1,5 *equiv*) en THF (5,0 mL) se agregó a -78 °C durante 0,5 h. Luego se agregó 2-oxo-7-azaspiro [3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (2,0 g, 8,4 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (5,0 mL) a la mezcla a -78 °C y la mezcla se agitó durante 2 h, y luego se agitó a 25 °C durante 9

h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (60 mL) a 0 °C mediante la adición gota a gota. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (40 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=8/1 a 5/1). El compuesto 2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (1,8 g, 5,0 mmol, 59 % rendimiento) se obtuvo como un aceite amarillo.

[0704] Etapa 14: Preparación de 2-[[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo. Una mezcla de 2-[(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (370 mg, 1,0 mmol, 1,8 *equiv*), 2-[[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (250 mg, 566 µmol, 1,0 *equiv*), Xphos Pd G4 (49 mg, 57 µmol, 0,1 *equiv*), y K_3PO_4 (360 mg, 1,7 mmol, 3,0 *equiv*) en THF (6,0 mL) y H_2O (1,0 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces, y luego la mezcla se agitó a 60 °C durante 7 h en atmósfera de N_2. A la mezcla de reacción se le añadió agua (30 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (10 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=0/1). El compuesto 2-[[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil] metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (360 mg, 560 µmol, 99 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0705] Etapa 15: Preparación de 2-(3-fluoro-4-(2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)bencil)-7-azaspiro[3,5] nonano-7-carboxilato de terc-butilo. Pd/C (500 mg, 470 µmol, 10 % pureza, 0,8 *equiv*) se agregó a un matraz de fondo redondo de cuello único de 100 mL en N_2, y luego CF_3CH_2OH (5,0 mL) se agregó a 25 °C en atmósfera N_2. Después de la adición, 2-[[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metileno]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (360 mg, 560 µmol, 1,0 *equiv*) se agregó en atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó al vacío y se purgó con H_2 varias veces. La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de H_2 a 25 °C durante 5 h. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró. El compuesto 2-(3-fluoro-4-(2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)bencil)-7-azaspiro [3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (300 mg, 489 µmol, 83 % rendimiento, 99 % pureza) se obtuvo como un aceite incoloro y se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

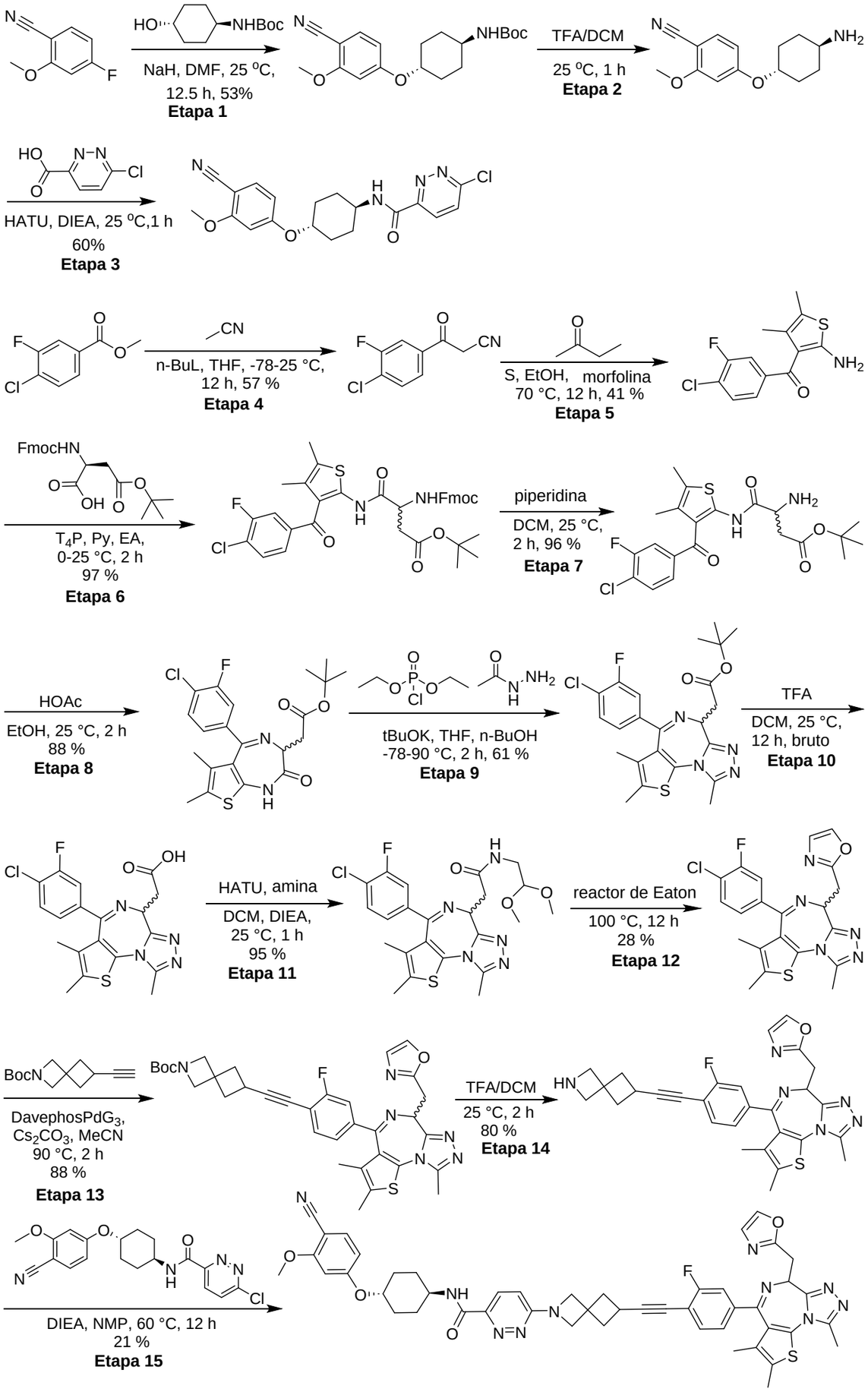
[0706] Etapa 16: Preparación de 2-[[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo. El compuesto 2-(3-fluoro-4-(2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il) bencil)-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (300 mg, 489 µmol, 83 % rendimiento, 99 % pureza) se separó mediante SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AS (250mm x 30mm,10um); fase móvil: [CO_2-ACN/i-PrOH(0,1 % NH_3H_2O)]; B %:50 %, modo de elución isocrático). El

compuesto 2-[[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (236 mg, 361 µmol, 64 % rendimiento, 99 % pureza) se obtuvo como un aceite incoloro.

[0707] Etapa 17: Preparación de 2-[[(9S)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-ilmetil)-2-fluoro-fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. A una solución de 2-[[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (230 mg, 357 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (3,0 mL) se agregó TFA (1,5 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El pH de la fase acuosa se ajustó 8-9 mediante adición de una solución de $NaHCO_3$ acuosa saturada, luego se diluyó con DCM (20 mL) y se extrajo con DCM 40 mL (20 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (10 mL), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un residuo. El compuesto 2-[[(9S)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-ilmetil)-2-fluoro-fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7, 10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (200 mg, bruto) se obtuvo como un aceite amarillo y se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional.

[0708] Etapa 18: Preparación de N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[2-[[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]piridazina-3-carboxamida (I-125). A una solución de 2-[[(9S)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-ilmetil)-2-fluoro-fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (50 mg, 92 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (1,0 mL) se agregó DIEA (24 mg, 184 µmol, 32 µL, 2,0 *equiv*) y 6-cloro-N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (43 mg, 110 µmol, 1,2 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 8 h. La mezcla se filtró y se concentró para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25mm x 10um; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente:60 %-90 % B durante 10 min). N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi) ciclohexil]-6-[2-[[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]metil]-7-azaspiro[3,5] nonan-7-il]piridazina-3-carboxamida (**I-125**, 29,8 mg, 33 µmol, 36 % rendimiento, 99 % pureza) se obtuvo como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ = 7,93 - 7,84 (m, 2H), 7,53 - 7,47 (m, 1H), 7,31 - 7,23 (m, 2H), 7,16 - 7,10 (m, 1H), 7,08 - 7,02 (m, 1H), 6,96 - 6,89 (m, 1H), 6,68 - 6,63 (m, 2H), 4,81 - 4,78 (m, 1H), 4,54 - 4,44 (m, 1H), 4,06 - 3,93 (m, 3H), 3,92 - 3,89 (m, 3H), 3,74 - 3,68 (m, 2H), 3,67 - 3,61 (m, 2H), 2,82 - 2,76 (m, 2H), 2,72 - 2,68 (m, 3H), 2,66 - 2,55 (m, 1H), 2,46 - 2,39 (m, 3H), 2,27 - 2,16 (m, 2H), 2,14 - 2,06 (m, 2H), 2,05 - 1,97 (m, 2H), 1,76 - 1,70 (m, 2H), 1,68 - 1,54 (m, 11H). LC-MS: MS (ES+): RT = 2,518 min, m/z = 895,6 [M+H] +; método LCMS: 25.

<u>EJEMPLO 51</u> – Síntesis de N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[2-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida



[0709] Etapa 1: Preparación de ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)carbamato de terc-butilo. A una solución de NaH (1,25 g, 31,21 mmol, 60 % pureza, 1,2 *equiv*) en DMF (60 mL) en atmósfera de N_2 a 0 °C se agregó((1r,4r)-4-hidroxiciclohexil) carbamato de terc-butilo (5,6 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Después de 30 minutos, se añadió 4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo (3,93 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Se dejó que la mezcla de reacción se calentara lentamente hasta alcanzar 25 °C y se agitó durante 12 h.

La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (100 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=0/1 a 3/1) para producir ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxi fenoxi)ciclohexil)carbamato de terc-butilo (4,8 g, 13,86 mmol, 53 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0710] Etapa 2: Preparación de 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxi-benzo nitrilo. A una solución de ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil) carbamato de terc-butilo (0,5 g, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para producir 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 99,99 % rendimiento, sal de TFA) como un aceite amarillo.

[0711] Etapa 3: Preparación de 6-cloro-N-((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)piridazina-3-carboxamida. A una solución de 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA) y ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico (229 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DMF (2 mL) se agregó HATU (823 mg, 2,16 mmol, 1,5 *equiv*) y DIEA (560 mg, 4,33 mmol, 754 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150x25mm 10 um; fase móvil: [agua(NH_4HCO_3)-CAN]; gradiente:49 %-69 % B durante 8 min) para producir 6-cloro-N-((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)piridazina-3-carboxamida (337 mg, 871 µmol, 60 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0712] Etapa 4: Preparación de 3-(4-cloro-3-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo. A una solución de acetonitrilo (11,9 g, 291 mmol, 15,3 mL, 2,2 *equiv*) en THF (200 mL) se agregó una solución de *n*-BuLi (2,5 M, 106 mL, 2,0 *equiv*) gota a gota a -78 °C en N_2 y se agitó a -78 °C durante 1 h. Luego se agregó 4-cloro-3-fluoro-benzoate (25,0 g, 132 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (100 mL) de metilo a -78 ºC gota a gota. La mezcla de reacción se calentó a 25 °C y se agitó a 25 °C durante 11 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (50 mL) a 0 °C gota a gota. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (200 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 1/1). El compuesto 3-(4-cloro-3-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo (15 g, 75 mmol, 57 % de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco.

[0713] Etapa 5: Preparación de (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-3-fluoro-fenil)metanona. A una solución de 3-(4-cloro-3-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo (15 g, 75 mmol, 1,0 *equiv*), butan-2-ona (5,47 g, 75,9 mmol, 6,79 mL, 1,0 *equiv*) en EtOH (200 mL) se agregó morfolina (6,61 g, 75,9 mmol, 6,68 mL, 1,0 *equiv*) y S (2,59 g, 80,7 mmol, 1,1 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 12 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (500 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (500 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 5/1). El producto bruto se purificó posteriormente mediante trituración (éter de petróleo/acetato de etilo = 3/1, 300 mL). El compuesto (2-amino-4,5-dimetil-

3-tienil)-(4-cloro-3-fluoro-fenil)metanona (9,0 g, 31 mmol, 41 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0714] Etapa 6: Preparación de 3-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil) amino)-4-((3-(4-cloro-3-fluorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-4-oxobutanoat de terc-butilo. A una solución de ácido (2S)-4-terc-butoxi-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoico (18,7 g, 45,4 mmol, 1,5 *equiv*) en EtOAc (86 mL) se agregó piridina (9,59 g, 121 mmol, 9,79 mL, 4,0 *equiv*) y T_4P (43,6 g, 60,6 mmol, 50 % pureza, 2,0 *equiv*) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h, luego (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-3-fluoro-fenil) metanona (8,6 g, 30 mmol, 1,0 *equiv*) se agregó a 0 °C, y luego se agitó a 25 °C durante otro 1 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (200 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10/1 a 5/1). El compuesto 3-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-((3-(4-cloro-3-fluorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-4-oxobutanoato de terc-butilo (20 g, 29 mmol, 97 % rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco.

[0715] Etapa 7: Preparación de 3-amino-4-((3-(4-cloro-3-fluorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-4-oxobutanoato de terc-butilo. A una solución de 3-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-((3-(4-cloro-3-fluorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-4-oxobutanoato de terc-butilo (20 g, 29 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (100 mL) se agregó piperidina (12,5 g, 147 mmol, 14,5 mL, 5,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (200 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10/1 a 3/1). El compuesto 3-amino-4-((3-(4-cloro-3-fluorobenzoil) -4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-4-oxobutanoato de terc-butilo (13 g, 28 mmol, 96 % rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco.

[0716] Etapa 8: Preparación de 2-(5-(4-cloro-3-fluorofenil)-6,7-dimetil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il)acetato de terc-butilo. A una solución de 3-amino-4-((3-(4-cloro-3-fluorobenzoyl)-4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-4-oxobutanoato de terc-butilo (13 g, 28 mmol, 1,0 *equiv*) en EtOH (130 mL) se agregó AcOH (8,58 g, 142 mmol, 8,18 mL, 5,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h. A la mezcla de reacción se le añadió una solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (200 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10/1 a 1/1). El compuesto 2-(5-(4-cloro-3-fluorofenil)-6,7-dimetil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il)acetato de terc-butilo (11 g, 25 mmol, 88 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0717] Etapa 9: Preparación de 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)acetato de terc-butilo. Se agregó terc-butóxido de potasio (1 M, 7,55 mL, 1,1 *equiv*) a una solución de 2-(5-(4-cloro-3-fluorofenil)-6,7-dimetil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il)acetato de terc-butilo (3,0 g, 6,8 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (30 mL) a -78 °C. La mezcla de reacción se calentó a 25 °C, y luego se agitó a

25 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió luego a -78 °C. Se agregó [cloro(fenoxi)fosforil] oxibenceno (2,21 g, 8,24 mmol, 1,71 mL, 1,2 *equiv*) se agregó a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se calentó a 25 °C durante 30 minutos. Luego se añadió acetohidrazida (762 mg, 10,3 mmol, 1,5 *equiv*) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C, se añadió *n*-BuOH (30 mL) a la mezcla de reacción y se calentó a 90 °C durante 1 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (200 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10/1 a 1/1). El compuesto 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)acetato de terc-butilo (2,0 g, 4,2 mmol, 61 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0718] Etapa 10: Preparación de ácido 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)acético. A una solución de 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)acetato de terc-butilo (2,0 g, 4,2 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó TFA (15,3 g, 134 mmol, 10 mL, 31,9 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar el producto bruto. Se obtuvo ácido 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)acético (2,2 g, bruto, sal de TFA) scomo un sólido marrón.

[0719] Etapa 11: Preparación de 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno [3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)-N-(2,2-dimetoxietil)acetamida. A una solución de ácido 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)acético (2,2 g, 4,1 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA), 2,2-dimetoxi etanamina (520 mg, 4,95 mmol, 539 µL, 1,2 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó DIEA (2,67 g, 20,6 mmol, 3,60 mL, 5,0 *equiv*) y HATU (2,35 g, 6,19 mmol, 1,5 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener el producto bruto. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10/1 a 1/1). El compuesto 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4] triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)-N-(2,2-dimetoxietil)acetamida (2,0 g, 3,9 mmol, 95 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0720] Etapa 12: Preparación de 2-((4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol. Una mezcla de 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)-N-(2,2-dimetoxietil)acetamida (2,0 g, 3,9 mmol, 1,0 *equiv*) en reactivo de Eaton (20 mL) se agitó a 100 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se le añadió una solución acuosa helada/saturada de $NaHCO_3$ (200 ml) gota a gota y la mezcla se extrajo con DCM (100 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10/1 a 0/1). El compuesto 2-((4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol (0,5 g, 1,1 mmol, 28 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0721] Etapa 13: Preparación de 6-((2-fluoro-4-(2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6H-

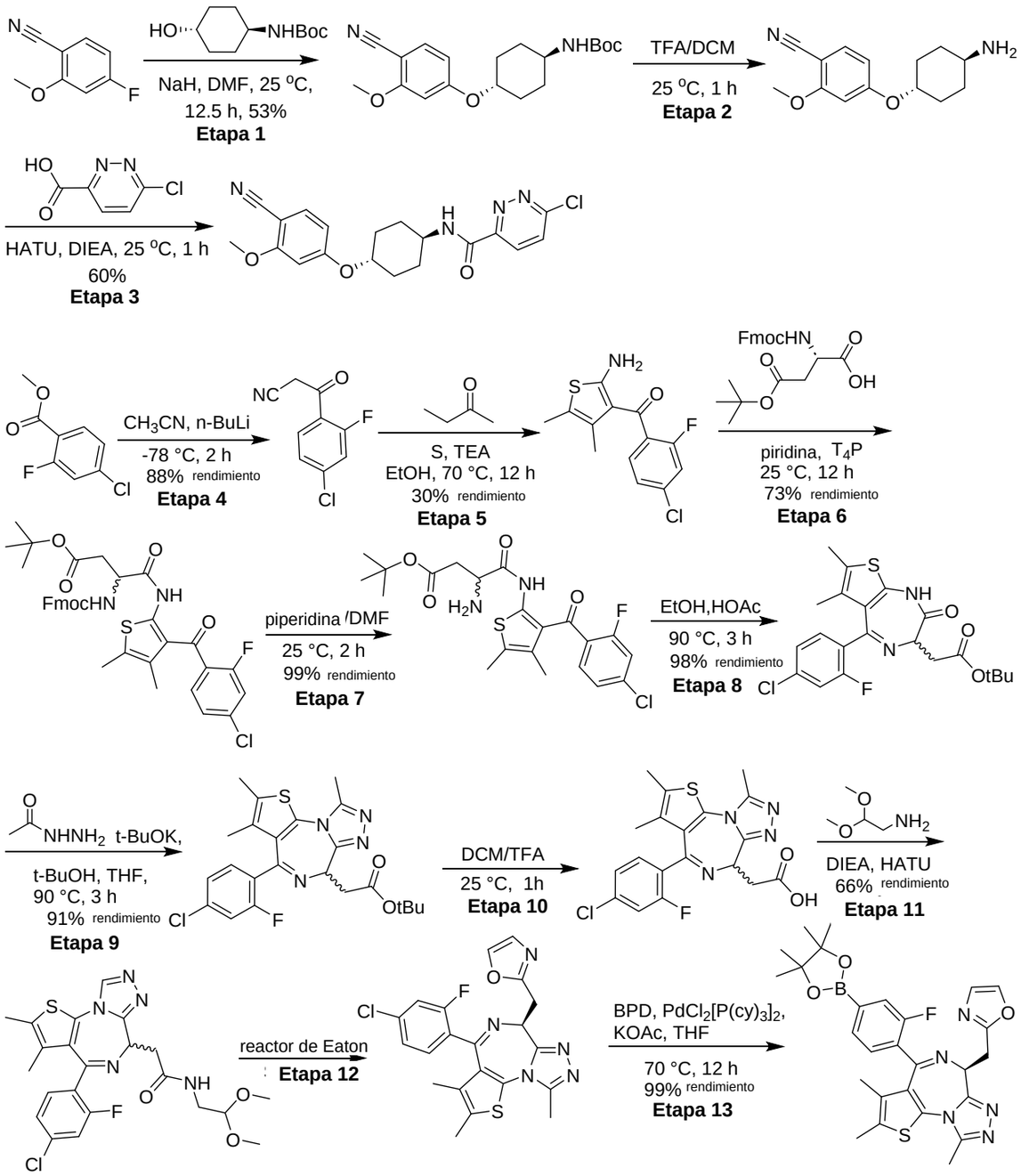
tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)fenil)etinil)-2-aza spiro[3,3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo. Una mezcla de 2-((4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-tri metil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol (400 mg, 905 µmol, 1,0 *equiv*), 6-etinil-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo (500 mg, 2,26 mmol, 2,5 *equiv*), [2-(2-aminofenil)fenil]-metilsulfoniloxi-paladio;2-(2-diciclohexil fosfanilfenil)-N,N-dimetil-anilina (69,0 mg, 90,5 µmol, 0,1 *equiv*), y Cs_2CO_3 (589 mg, 1,81 mmol, 2,0 *equiv*) en MeCN (16 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces, y luego la mezcla se agitó a 90 °C durante 2 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener el producto bruto. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10/1 a 0/1). El compuesto 6-((2-fluoro-4-(2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)fenil)etinil)-2-azaspiro[3,3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo (500 mg, 797 µmol, 88 % rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco.

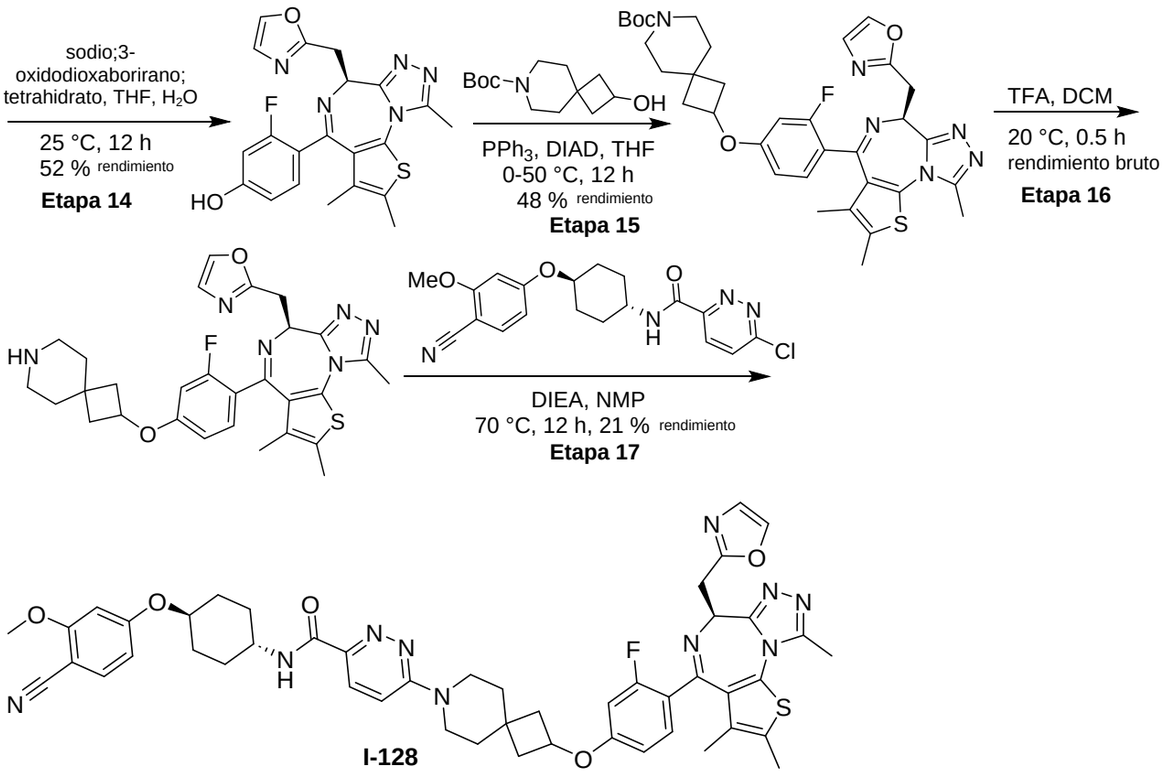
[0722] Etapa 14: Preparación de 2-((4-(4-((2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)etinil)-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol. A una solución de 6-((2-fluoro-4-(2,3,9-trimetil-6-(oxazol-2-ilmetil)-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)fenil)etinil)-2-aza spiro[3,3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo (500 mg, 797 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (5 mL) se agregó TFA (3,07 g, 26,9 mmol, 2 mL, 33,7 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (20 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: Phenomenex luna C18 150x25mm x 10um; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente:12 %-42 % B durante 10 min). El producto se purificó adicionalmente mediante SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AS (250mm x 30mm,10um); fase móvil: [CO_2-ACN/EtOH (0,1 % NH_3 en H_2O)]; B %:50 %, modo de elución isocrático). El producto se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa (columna: REGIS(S,S)WHELK-O1(250mm x 25mm,10um); fase móvil: [CO_2-CAN/EtOH (0,1 % NH_3 en H_2O)]; B %:55 %, modo de elución isocrático) para dar el compuesto 2-((4-(4-((2-azaspiro [3,3]heptan-6-il)etinil)-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4] triazolo [4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol (80 mg, 0,15 mmol, 40 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0723] Etapa 15: Preparación de N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[2-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0. 02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il] piridazina-3-carboxamida. A una solución de 2-((4-(4-((2-azaspiro[3,3]heptan-6-il) etinil)-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol (40 mg, 75 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (0,5 mL) se agregó DIEA (29 mg, 0,22 mmol, 39 µL, 3,0 *equiv*) y 6-cloro-N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil] piridazina-3-carboxamida (29 mg, 75 µmol, 1,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 12 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (10 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: Waters xbridge 150 x 25mm 10um; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3) -ACN]; gradiente:55 %-75 % B durante 8 min). N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[6-[2-[2-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-

(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02, 6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]etinil]-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il]piridazina-3-carboxamida (14 mg, 16 µmol, 21 % rendimiento, 98 % pureza) se obtuvo como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD-d_4) δ 7,96 – 7,91 (m, 2H), 7,52 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,44 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,24 – 7,14 (m, 3H), 6,87 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 6,72 – 6,65 (m, 2H), 4,83 – 4,79 (m, 2H), 4,26 (d, *J* = 4,8 Hz, 4H), 4,08 – 3,95 (m, 3H), 3,94 (s, 3H), 3,31 – 3,28 (m, 1H), 2,81 – 2,70 (m, 5H), 2,55 – 2,46 (m, 5H), 2,27 – 2,19 (m, 2H), 2,11 (d, *J* = 2,8 Hz, 2H), 1,75 (s, 3H), 1,65 (t, *J* = 10,0 Hz, 4H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,558 min, m/z = 877,4 [M + H$^+$]; método LCMS: 10.

<u>EJEMPLO 52</u> – Síntesis de N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[2-[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]piridazina-3-carboxamida (I-128)





I-128

[0724] Etapa 1: Preparación de ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)carbamato de terc-butilo. A una solución de NaH (1,25 g, 31,21 mmol, 60 % pureza, 1,2 *equiv*) en DMF (60 mL) en atmósfera de N_2 a 0 °C se agregó((1r,4r)-4-hidroxiciclohexil) carbamato de terc-butilo (5,6 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Después de 30 minutos, se añadió 4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo (3,93 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Se dejó que la mezcla de reacción se calentara lentamente hasta alcanzar 25 °C y la mezcla se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (100 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=0/1 a 3/1) para producir ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxi fenoxi)ciclohexil)carbamato de terc-butilo (4,8 g, 13,86 mmol, 53 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0725] Etapa 2: Preparación de 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxi-benzo nitrilo. A una solución de ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil) carbamato de terc-butilo (0,5 g, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para producir 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 99,99 % rendimiento, sal de TFA) como un aceite amarillo.

[0726] Etapa 3: Preparación de 6-cloro-N-((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclo hexil)piridazina-3-carboxamida. A una solución de 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA) y ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico (229 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DMF (2 mL) se agregó HATU (823 mg, 2,16 mmol, 1,5 *equiv*) y DIEA (560 mg, 4,33 mmol, 754 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 x 25mm 10um; fase móvil: [agua (NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente:49 %-69 % B durante 8 min) para producir 6-cloro-N-((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)piridazina-3-carboxamida (337 mg, 871 µmol, 60

% rendimiento) como un sólido blanco.

[0727] Etapa 4: Preparación de 3-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo. Una solución de acetonitrilo (9,3 g, 225,3 mmol, 11,9 mL, 1,7 *equiv*) en THF (200 mL) se agitó a -78 °C bajo protección de N_2. Luego se añadió n-BuLi (2,5 M, 106,0 mL, 2,0 *equiv*) a la mezcla y se agitó durante 0,5 h. Luego, se agregó 4-cloro-2-fluoro-benzoato de metilo (25,0 g, 132,5 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (20 mL) gota a gota y la mezcla se agitó durante 1,5 h bajo protección N_2. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (200 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 4). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El producto bruto se trituró con éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 25 ºC durante 30 min para proporcionar 3-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo (23,0 g, 116,4 mmol, 87,80 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0728] Etapa 5: Preparación de (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-2-fluoro-fenil)metanona. A una solución de 3-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo (23,0 g, 116,4 mmol, 1,0 *equiv*) y butan-2-ona (8,4 g, 116,4 mmol, 10,4 mL, 1,0 *equiv*) en EtOH (200 mL) se agregó TEA (23,6 g, 232,8 mmol, 32,4 mL, 2,0 *equiv*) y S (4,4 g, 138,5 mmol, 1,2 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (500 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (500 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=35/1 a 30/1) para proporcionar (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-2-fluoro-fenil) metanona (10,0 g, 35,2 mmol, 30 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0729] Etapa 6: Preparación de (3S)-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-3-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoato de terc-butilo. A una solución de (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-2-fluoro-fenil)metanona (8,8 g, 31,0 mmol, 1,0 *equiv*) y ácido (2S)-4-terc-butoxi-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoico (19,1 g, 46,5 mmol, 1,5 *equiv*) en EtOAc (40 mL) se agregó piridina (9,8 g, 124,0 mmol, 10,0 mL, 4,0 *equiv*) y T_4P (44,7 g, 62,0 mmol, 50 % pureza, 2,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (300 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (80 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=8/1 a 6/1) para proporcionar (3S)-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-3-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoato de terc-butilo (15,5 g, 22,9 mmol, 73 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0730] Etapa 7: Preparación de (3S)-3-amino-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-4-oxo-butanoato de terc-butilo. A una solución de (3S)-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-3-(9H-fluoren-9-ilmetoxi-carbonil amino)-4-oxo-butanoato de terc-butilo (14,0 g, 20,7 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (280 mL) se agregó piperidina (5,3 g, 62,0 mmol, 6,1 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (300 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (350 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante

cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=10/1 a 8/1) para proporcionar (3S)-3-amino-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-4-oxo-butanoato de terc-butilo (9,4 g, 20,7 mmol, 99 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0731] Etapa 8: Preparación de 2-[(3S)-5-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-6,7-dimetil-2-oxo-1,3-dihidrotieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il]acetato de terc-butilo. A una solución de (3S)-3-amino-4-[[3-(4-cloro-2-fluoro-benzoil)-4,5-dimetil-2-tienil]amino]-4-oxo-butanoato de terc-butilo (9,4 g, 20,6 mmol, 1,0 *equiv*) en EtOH (90 mL) se agregó AcOH (31,5 g, 524,0 mmol, 30,0 mL, 25,4 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 3 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (100 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (150 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (150 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=8/1 a 6/1) para proporcionar 2-[(3S)-5-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-6,7-dimetil-2-oxo-1,3-dihidrotieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il]acetato de terc-butilo (8,9 g, 20,4 mmol, 98 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0732] Etapa 9: Preparación de 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de terc-butilo. t-BuOK (1,0 M, 22,4 mL, 1,1 *equiv*) se agregó a 2-[(3S)-5-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-6,7-dimetil-2-oxo-1,3-dihidrotieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il]acetato de terc-butilo (8,9 g, 20,4 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (90 mL) a -78 °C, y se agitó a 25 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió a -78 °C. [cloro(fenoxi)fosforil]oxibenceno (6,6 g, 24,4 mmol, 5,1 mL, 1,2 *equiv*) se agregó a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se calentó a 25 °C durante 45 minutos. Luego se añadió acetohidrazida (2,3 g, 30,6 mmol, 1,5 *equiv*) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C, se añadió n-BuOH (90 mL) a la mezcla de reacción y se calentó a 90 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (100 mL) a 0 °C mediante la adición gota a gota. Y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 2). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=8/1 a 6/1) para proporcionar el 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de terc-butilo (8,9 g, 18,74 mmol, 91 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0733] Etapa 10: Preparación de ácido 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético. A una solución de 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de terc-butilo (8,9 g, 18,7 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (40 mL) se agregó TFA (20,0 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se usó directamente para la siguiente etapa. El compuesto ácido 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil -3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (7,8 g, 18,6 mmol) se obtuvo como un aceite amarillo.

[0734] Etapa 11: Preparación de 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(2,2-di

metoxietil)acetamida. A una solución de ácido 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (7,8 g, 18,6 mmol, 1,0 *equiv*) y 2,2-dimetoxietanamina (5,8 g, 55,8 mmol, 6,09 mL, 3,0 *equiv*) en DMF (70 mL) se agregó HATU (7,8 g, 20,5 mmol, 1,1 *equiv*) y DIEA (7,2 g, 55,8 mmol, 9,73 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (20 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, DCM/MeOH=40/1 a 20/1) para proporcionar 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(2,2-dimetoxietil) acetamida (6,3 g, 12,5 mmol, 66 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0735] Etapa 12: Preparación de 2-[[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. Una solución de 2-[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraza triciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(2,2-dimetoxietil) acetamida (2,0 g, 3,9 mmol, 1,0 *equiv*) en el reactivo de Eaton (20 mL) se agitó a 100 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (200 mL) a 0 °C mediante la adición gota a gota. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, DCM: MeOH =30/1 a 20/1). El producto se purificó adicionalmente mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 (250 x 70mm, 10 um); fase móvil: [agua(FA)-ACN]; gradiente: 40 %-70 % B durante 20 min). Para proporcionar 2-[[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (3,0 g, 6,79 mmol, 57 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0736] Etapa 13: Preparación de 2-[[(9S)-7-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. Una mezcla de 2-[[(9S)-7-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (550 mg, 1,2 mmol, 1,0 *equiv*), BPD (1,0 g, 3,9 mmol, 3,1*equiv*), dicloropaladio;triciclohexilfosfano (184 mg, 249 µmol, 0,2 *equiv*) y KOAc (269 mg, 2,7 mmol, 2,2 *equiv*) en THF (5 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces, y luego la mezcla se agitó a 70 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se agregó a H_2O (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 3). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (50 mL), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 2-[[(9S)-7-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (660 mg, 1,2 mmol, 99 % rendimiento) como un aceite amarillo.

[0737] Etapa 14: Preparación de 3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenol. Una mezcla de 2-[[(9S)-7-[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il] metil] oxazol (360 mg, 674 µmol, 1,0 *equiv*), y sodio;3-oxidodioxaborirano;tetrahidrato (200 mg, 1,3 mmol, 1,9

equiv) en THF (3 mL) y H_2O (1 mL) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces, y luego la mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se agregó a agua (20 mL) y se extrajo con acetato de etilo (20 mL x 3). La fase orgánica combinada se separó, se lavó con salmuera (20 mL), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25mm x 10um; fase móvil: [agua(FA)-ACN]; gradiente: 22 %-52 % B durante 10 min) para proporcionar el 3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenol (150 mg, 354 µmol, 52 % rendimiento) como un aceite amarillo.

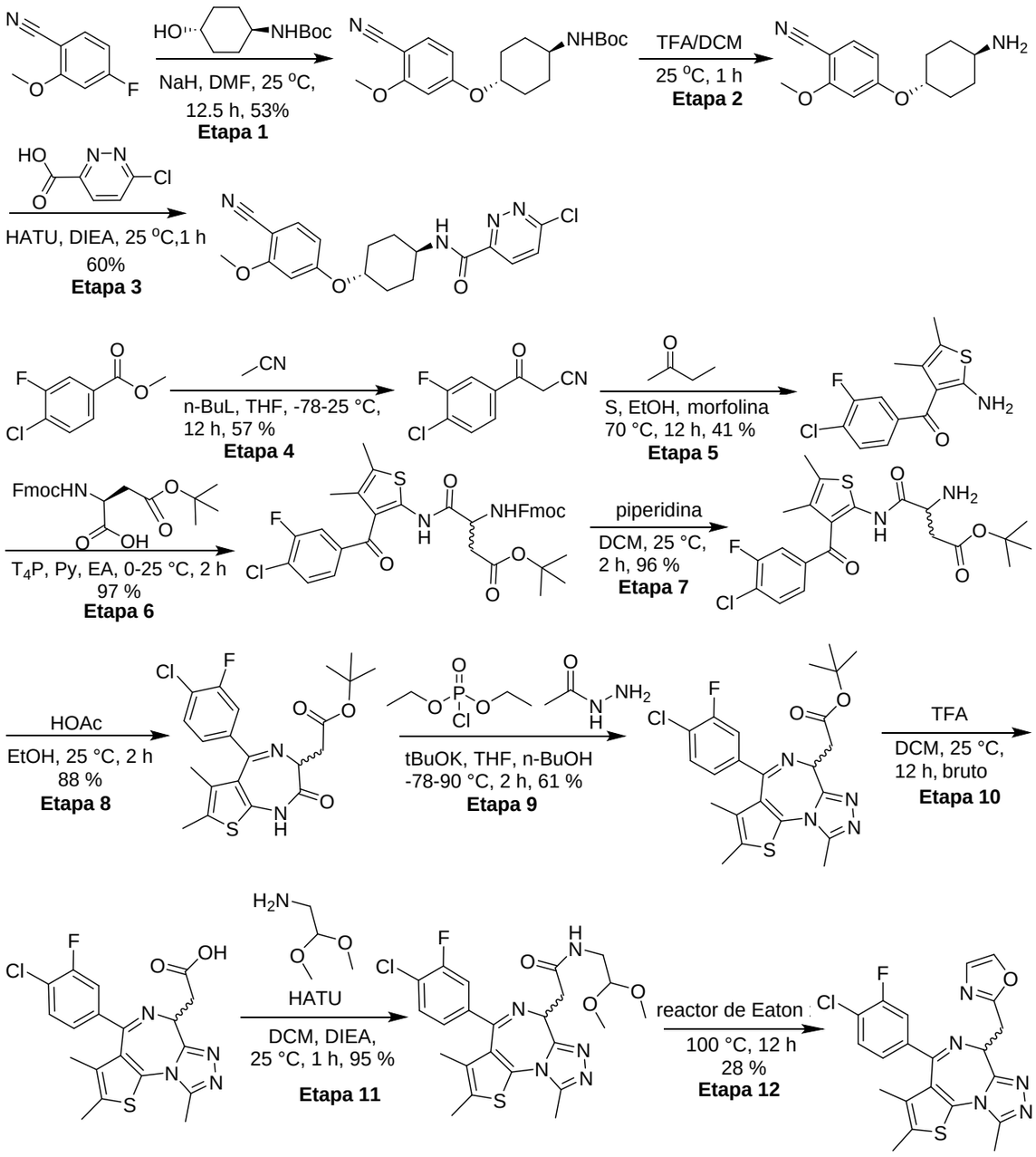
[0738] Etapa 15: Preparación de 2-[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo. A una solución de PPh_3 (0,35 M, 2,0 mL, 2,1 *equiv*) en THF (2,0 mL) bajo protección de N_2 se agregó DIAD (143 mg, 708 µmol, 2 *equiv*) fue a 0 °C. Después de la adición, la mezcla se agitó a esta temperatura durante 0,5 h. El 2-hidroxi-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (170 mg, 708 µmol, 2,0 *equiv*) y 3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenol (1 M, 354 µL, 1,0 *equiv*) en THF (2 mL) se agregó gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a 50 °C durante 11,5 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Phenomenex Luna C18 150 x 25mm x 10um; fase móvil: [agua (TFA)-ACN]; gradiente: 53 %-83 % B durante 10 min) para proporcionar 2-[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (110 mg, 170 µmol, 48 % rendimiento) como un sólido blanco.

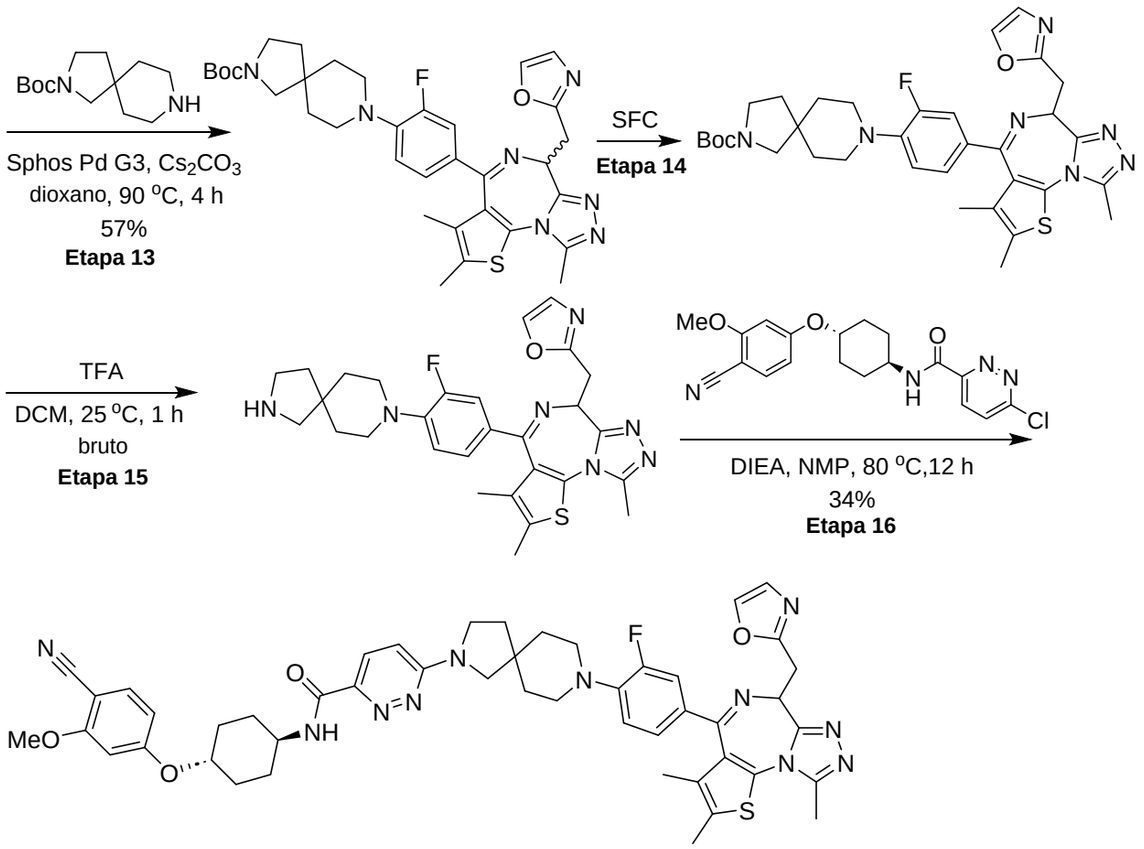
[0739] Etapa 16: Preparación de 2-[[(9S)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)-2-fluoro-fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. A una solución de 2-[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (110 mg, 170 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (3 mL) se agregó TFA (1,0 mL). La mezcla se agitó a 20 °C durante 0,5 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar el 2-[[(9S)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)-2-fluoro-fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6), 4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (100 mg, bruto) como un aceite amarillo.

[0740] Etapa 17: Preparación de N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[2-[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il] piridazina-3-carboxamida (I-128). A una solución de 2-[[(9S)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)-2-fluoro-fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (50 mg, 91 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (2 mL) se agregó DIEA (23 mg, 182 µmol, 2,0 *equiv*) y 6-cloro-N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi) ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (40 mg, 103 µmol, 1,1 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se purificó mediante HPLC de fase inversa (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25mm x 10um; fase móvil: [agua (FA)-CAN]; gradiente: 54 %-84 % B durante 10 min) para

proporcionar N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[2-[3-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]piridazina-3-carboxamida (**I-128**, 18 mg, 19 µmol, 21 % rendimiento, 98 % pureza) como un sólido blanco. ^{1}H NMR: (400 MHz, CD_3OD) δ = 7,95 – 7,86 (m, 2H), 7,53 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,38 – 7,25 (m, 2H), 7,15 (s, 1H), 6,81 – 6,56 (m, 4H), 4,02 – 3,93 (m, 6H), 3,82 – 3,70 (m, 4H), 2,72 (s, 3H), 2,63 – 2,52 (m, 2H), 2,45 (s, 3H), 2,27 – 2,20 (m, 2H), 2,17 – 2,08 (m, 2H), 2,06 – 1,97 (m, 2H), 1,85 – 1,61 (m, 12H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,692 min, m/z = 897,4[M +H$^+$].

<u>EJEMPLO 53</u> – Síntesis de N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida





[0741] Etapa 1: Preparación de ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)carbamato de terc-butilo. A una solución de NaH (1,25 g, 31,21 mmol, 60 % pureza, 1,2 *equiv*) en DMF (60 mL) en atmósfera de N_2 a 0 °C se agregó((1r,4r)-4-hidroxiciclohexil) carbamato de terc-butilo (5,6 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Después de 30 minutos, se añadió 4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo (3,93 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Se dejó que la mezcla de reacción se calentara lentamente hasta alcanzar 25 °C y se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (100 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=0/1 a 3/1) para producir ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil)carbamato de terc-butilo (4,8 g, 13,86 mmol, 53 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0742] Etapa 2: Preparación de 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxi-benzo nitrilo. A una solución de ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil) carbamato de terc-butilo (0,5 g, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para producir 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 99,99 % rendimiento, sal de TFA) como un aceite amarillo.

[0743] Etapa 3: Preparación de 6-cloro-N-((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)piridazina-3-carboxamida. A una solución de 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA) y ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico (229 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DMF (2 mL) se agregó HATU (823 mg, 2,16 mmol, 1,5 *equiv*) y DIEA (560 mg, 4,33 mmol, 754 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 x 25mm 10um; fase móvil: [agua(NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente:49 %-69 % B durante 8 min) para

producir 6-cloro-N-((1r,4r) -4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)piridazina-3-carboxamida (337 mg, 871 µmol, 60 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0744] Etapa 4: Preparación de 3-(4-cloro-3-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo. A una solución de acetonitrilo (11,9 g, 291 mmol, 15,3 mL, 2,2 *equiv*) en THF (200 mL) se agregó una solución de *n*-BuLi (2,5 M, 106 mL, 2,0 *equiv*) gota a gota a -78 °C en N_2 y se agitó a -78 °C durante 1 h. El 4-cloro-3-fluoro-benzoato de metilo (25,0 g, 132 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (100 mL) se agregó a -78 ºC mediante adición gota a gota. La mezcla de reacción se calentó a 25 °C y se agitó a 25 °C durante 11 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (50 mL) a 0 °C mediante la adición gota a gota. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (200 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 1/1). El compuesto 3-(4-cloro-3-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo (15 g, 75 mmol, 57 % de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco.

[0745] Etapa 5: Preparación de (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-3-fluoro-fenil)metanona. A una solución de 3-(4-cloro-3-fluoro-fenil)-3-oxo-propanonitrilo (15 g, 75 mmol, 1,0 *equiv*) y butan-2-ona (5,47 g, 75,9 mmol, 6,79 mL, 1,0 *equiv*) en EtOH (200 mL) se agregó morfolina (6,61 g, 75,9 mmol, 6,68 mL, 1,0 *equiv*) y S (2,59 g, 80,7 mmol, 1,1 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 12 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (500 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (500 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 5/1). El producto bruto se purificó posteriormente mediante trituración (éter de petróleo/acetato de etilo = 3/1, 300 mL). El compuesto (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-3-fluoro-fenil) metanona (9,0 g, 31 mmol, 41 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0746] Etapa 6: Preparación de 3-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil) amino)-4-((3-(4-cloro-3-fluorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-4-oxobutanoato de terc-butilo. A una solución de ácido (2S)-4-terc-butoxi-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoico (18,7 g, 45,4 mmol, 1,5 *equiv*) en EtOAc (86 mL) se agregó piridina (9,59 g, 121 mmol, 9,79 mL, 4,0 *equiv*) y T_4P (43,6 g, 60,6 mmol, 50 % pureza, 2,0 *equiv*) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h, luego (2-amino-4,5-dimetil-3-tienil)-(4-cloro-3-fluoro-fenil) metanona (8,6 g, 30 mmol, 1,0 *equiv*) se agregó a 0 °C, y luego la mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante otro 1 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (200 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10/1 a 5/1). El compuesto 3-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-((3-(4-cloro-3-fluoro benzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-4-oxobutanoato de terc-butilo (20 g, 29 mmol, 97 % rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco.

[0747] Etapa 7: Preparación de 3-amino-4-((3-(4-cloro-3-fluorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-4-oxobutanoato de terc-butilo. A una solución de 3-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-((3-(4-cloro-3-fluorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il) amino)-4-

oxobutanoato de terc-butilo (20 g, 29 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (100 mL) se agregó piperidina (12,5 g, 147 mmol, 14,5 mL, 5,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (200 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10/1 a 3/1). El compuesto 3-amino-4-((3-(4-cloro-3-fluorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-4-oxobutanoato de terc-butilo (13 g, 28 mmol, 96 % rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco.

[0748] Etapa 8: Preparación de 2-(5-(4-cloro-3-fluorofenil)-6,7-dimetil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il)acetato de terc-butilo. A una solución de 3-amino-4-((3-(4-cloro-3-fluorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)amino)-4-oxobutanoato de terc-butilo (13 g, 28 mmol, 1,0 *equiv*) en EtOH (130 mL) se agregó AcOH (8,58 g, 142 mmol, 8,18 mL, 5,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h. A la mezcla de reacción se le añadió $NaHCO_3$ (200 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10/1 a 1/1). El compuesto 2-(5-(4-cloro-3-fluorofenil)-6,7-dimetil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il)acetato de terc-butilo (11 g, 25 mmol, 88 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0749] Etapa 9: Preparación de 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)acetato de terc-butilo. Se agregó terc-butóxido de potasio (1 M, 7,55 mL, 1,1 *equiv*) a una solución de 2-(5-(4-cloro-3-fluorofenil)-6,7-dimetil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il)acetato de terc-butilo (3,0 g, 6,8 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (30 mL) a -78 °C. La mezcla de reacción se calentó a 25 °C, y se agitó a 25 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió a -78 °C. Se agregó [cloro(fenoxi)fosforil] oxibenceno (2,21 g, 8,24 mmol, 1,71 mL, 1,2 *equiv*) se agregó a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se calentó a 25 °C durante 30 minutos. Luego se añadió acetohidrazida (762 mg, 10,3 mmol, 1,5 *equiv*) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C, se añadió *n*-BuOH (30 mL) a la mezcla de reacción y se calentó a 90 °C durante 1 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (200 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10/1 a 1/1). El compuesto 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3, 9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)acetato de terc-butilo (2,0 g, 4,2 mmol, 61 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0750] Etapa 10: Preparación de ácido 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno [3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)acético. A una solución de 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il) acetato de terc-butilo (2,0 g, 4,2 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó TFA (15,3 g, 134 mmol, 10 mL, 31,9 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener el producto bruto. Se obtuvo el compuesto ácido 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)acético (2,2 g, bruto, sal de TFA) como un sólido marrón.

[0751] Etapa 11: Preparación de 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno [3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)-N-(2,2-dimetoxietil)acetamida. A una solución de ácido 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a] [1,4]diazepin-6-il)acético (2,2 g, 4,1 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA), y 2,2-dimetoxietan amina (520 mg, 4,95 mmol, 539 µL, 1,2 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó DIEA (2,67 g, 20,6 mmol, 3,60 mL, 5,0 *equiv*) y HATU (2,35 g, 6,19 mmol, 1,5 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener el producto bruto. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10/1 a 1/1). El compuesto 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a] [1,4]diazepin-6-il)-N-(2,2-dimetoxietil)acetamida (2,0 g, 3,9 mmol, 95 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0752] Etapa 12: Preparación de 2-((4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol. Una mezcla de 2-(4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)-N-(2,2-dimetoxietil)acetamida (2,0 g, 3,9 mmol, 1,0 *equiv*) en reactivo de Eaton (20 mL) se agitó a 100 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se le añadió un $NaHCO_3$ acuoso helado/saturado (200 ml) mediante adición gota a gota y la mezcla se extrajo con DCM (100 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo:acetato de etilo = 10/1 a 0/1). El compuesto 2-((4-(4-cloro-3-fluorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol (0,5 g, 1,1 mmol, 28 % rendimiento) se obtuvo como un sólido amarillo.

[0753] Etapa 13: Preparación de 8-[2-fluoro-4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de terc-butilo. Una solución de 2-((4-(4-cloro-3-fluoro fenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metil)oxazol (300 mg, 679 µmol, 1,0 *equiv*), 2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (245 mg, 1,02 mmol, 1,5 *equiv*), SPhos Pd G3 (106 mg, 136 µmol, 0,20 *equiv*), y Cs_2CO_3 (664 mg, 2,04 mmol, 3,0 *equiv*) en dioxano (5,0 mL) se agitó a 90 °C durante 4 h en N_2. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25mm x 10um; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 56 %-86 % B durante 10 min) para proporcionar 8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (250 mg, 387 µmol, 57 % rendimiento) como un sólido amarillo.

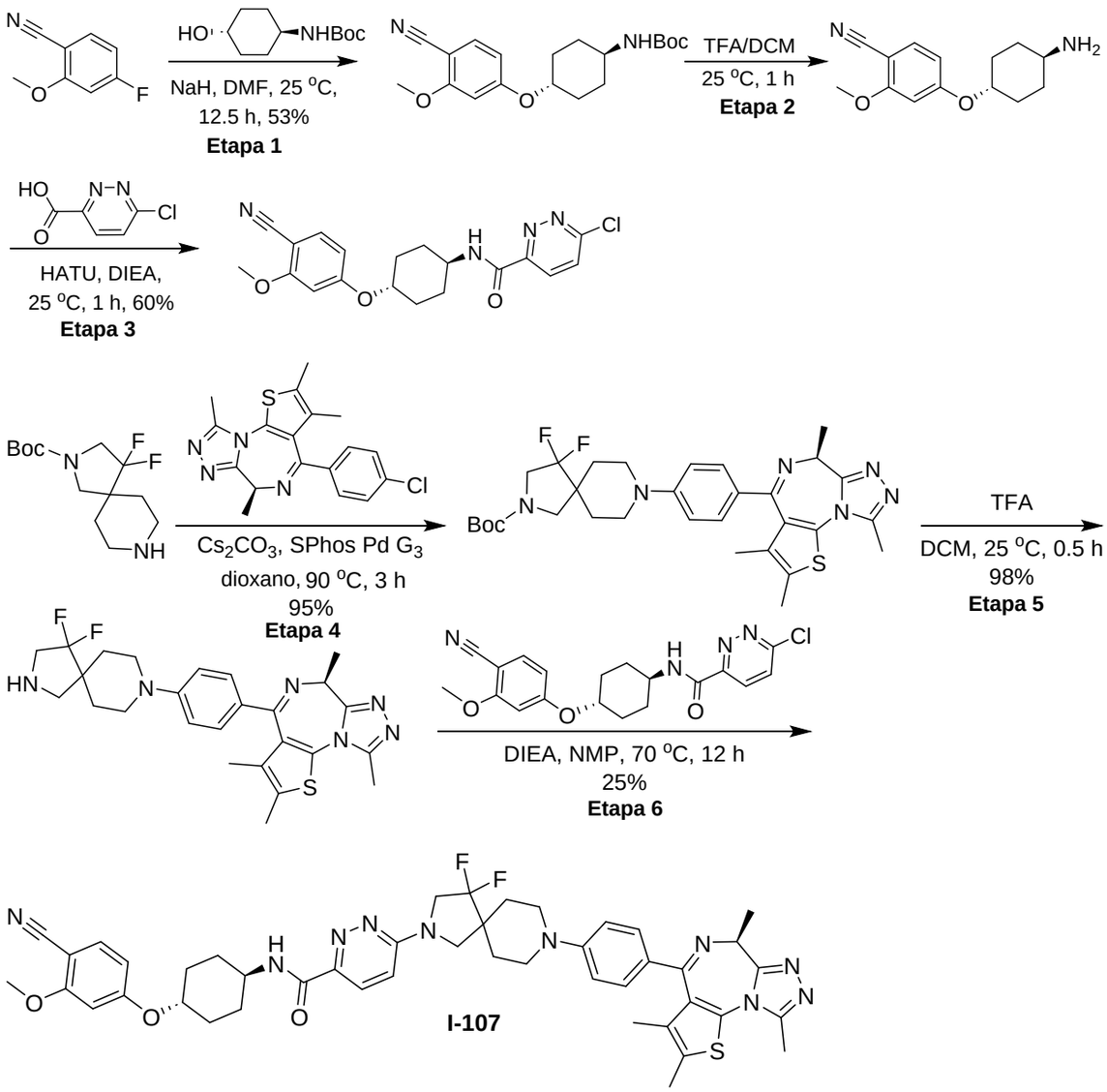
[0754] Etapa 14: Preparación de 8-[2-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de terc-butilo. Se purificó 8-[2-fluoro-4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (260 mg, 301 µmol) mediante SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AS (250mm x 30mm,10um); fase móvil: [CO_2-EtOH (0,1 %NH_3 en H_2O)]; B %: 45 %, modo de elución isocrático) para producir 8-[2-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-

2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (130 mg, 201 µmol, 52 % rendimiento) como una goma amarilla que era un único estereoisómero y 8-[2-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (100 mg, 155 µmol, 40 % rendimiento) como una goma amarilla que era un único estereoisómero.

[0755] Etapa 15: Preparación de 2-[[7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)-3-fluoro-fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. A una solución de 8-[2-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-il metil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de *terc*-butilo (100 mg, 155 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2,0 mL) se agregó TFA (768 mg, 6,73 mmol, 0,50 mL, 43,5 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h en N_2. El pH se ajustó a neutro con una solución acuosa saturada de $NaHCO_3$, y luego la mezcla se extrajo con metanol/diclorometano (1/10) (60 mL x 3). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró al vacío para producir 2-[[7-[4-(2,8-diaza spiro[4,5] decan-8-il)-3-fluoro-fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (85,0 mg, bruto) como una goma amarilla.

[0756] Etapa 16: Preparación de N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida. A una solución de 2-[[7-[4-(2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)-3-fluoro-fenil] -4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il] metil]oxazol (42,0 mg, 77,0 µmol, 1,0 *equiv*) y 6-cloro-*N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]piridazina-3-carboxamida (29,8 mg, 77,0 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (0,75 mL) se agregó DIEA (99,5 mg, 769 µmol, 134 µL, 10,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 12 h en N_2. El líquido de reacción se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25mm x 10um; fase móvil: [agua (FA)-ACN]; gradiente: 50 %-80 % B durante 10 min) para producir *N*-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[8-[2-fluoro-4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (23,1 mg, 25,8 µmol, 34 % rendimiento, 100 % pureza) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ = 8,50 (br d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,61 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,18 - 7,01 (m, 4H), 6,97 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 6,76 - 6,62 (m, 2H), 4,63 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,49 (br s, 1H), 3,94 - 3,77 (m, 6H), 3,61 (br s, 2H), 3,46 (br s, 2H), 3,21 - 3,11 (m, 2H), 3,11 - 3,02 (m, 2H), 2,60 (s, 3H), 2,42 (s, 3H), 2,11 (br d, *J* = 10,0 Hz, 2H), 2,00 - 1,86 (m, 4H), 1,72 (br s, 4H), 1,69 (s, 3H), 1,66 - 1,57 (m, 2H), 1,56 - 1,45 (m, 2H). LC-MS: MS (ES^+): RT =2,426 min, m/z = 896,8 $[M+H]^+$; método LCMS: 10.

<u>EJEMPLO 54</u> – Síntesis de N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[4,4-difluoro-8-[4-[(9S)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (I-107)



[0757] Etapa 1: Preparación de ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)carbamato de terc-butilo. A una solución de NaH (1,25 g, 31,21 mmol, 60 % pureza, 1,2 *equiv*) en DMF (60 mL) en atmósfera de N_2 a 0 °C se agregó((1r,4r)-4-hidroxiciclohexil) carbamato de terc-butilo (5,6 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Después de 30 minutos, se añadió 4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo (3,93 g, 26,01 mmol, 1,0 *equiv*). Se dejó que la mezcla de reacción se calentara lentamente hasta alcanzar 25 °C y luego se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (100 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo=0/1 a 3/1) para producir ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxi fenoxi)ciclohexil)carbamato de terc-butilo (4,8 g, 13,86 mmol, 53 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0758] Etapa 2: Preparación de 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxi-benzo nitrilo. A una solución de ((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil) carbamato de terc-butilo (0,5 g, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para producir 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 99,99 % rendimiento, sal de TFA) como un aceite amarillo.

[0759] Etapa 3: Preparación de 6-cloro-N-((1r,4r)-4-(4-ciano-3-metoxifenoxi) ciclohexil)piridazina-3-carboxamida. A una solución de 4-(((1r,4r)-4-aminociclohexil)oxi)-2-

metoxibenzonitrilo (520 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA) y ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico (229 mg, 1,44 mmol, 1,0 *equiv*) en DMF (2 mL) se agregó HATU (823 mg, 2,16 mmol, 1,5 *equiv*) y DIEA (560 mg, 4,33 mmol, 754 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters xbridge 150 x 25mm 10um; fase móvil: [agua(NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente:49 %-69 % B durante 8 min) para producir 6-cloro-N-((1r,4r) -4-(4-ciano-3-metoxifenoxi)ciclohexil)piridazina-3-carboxamida (337 mg, 871 µmol, 60 % rendimiento) como un sólido blanco.

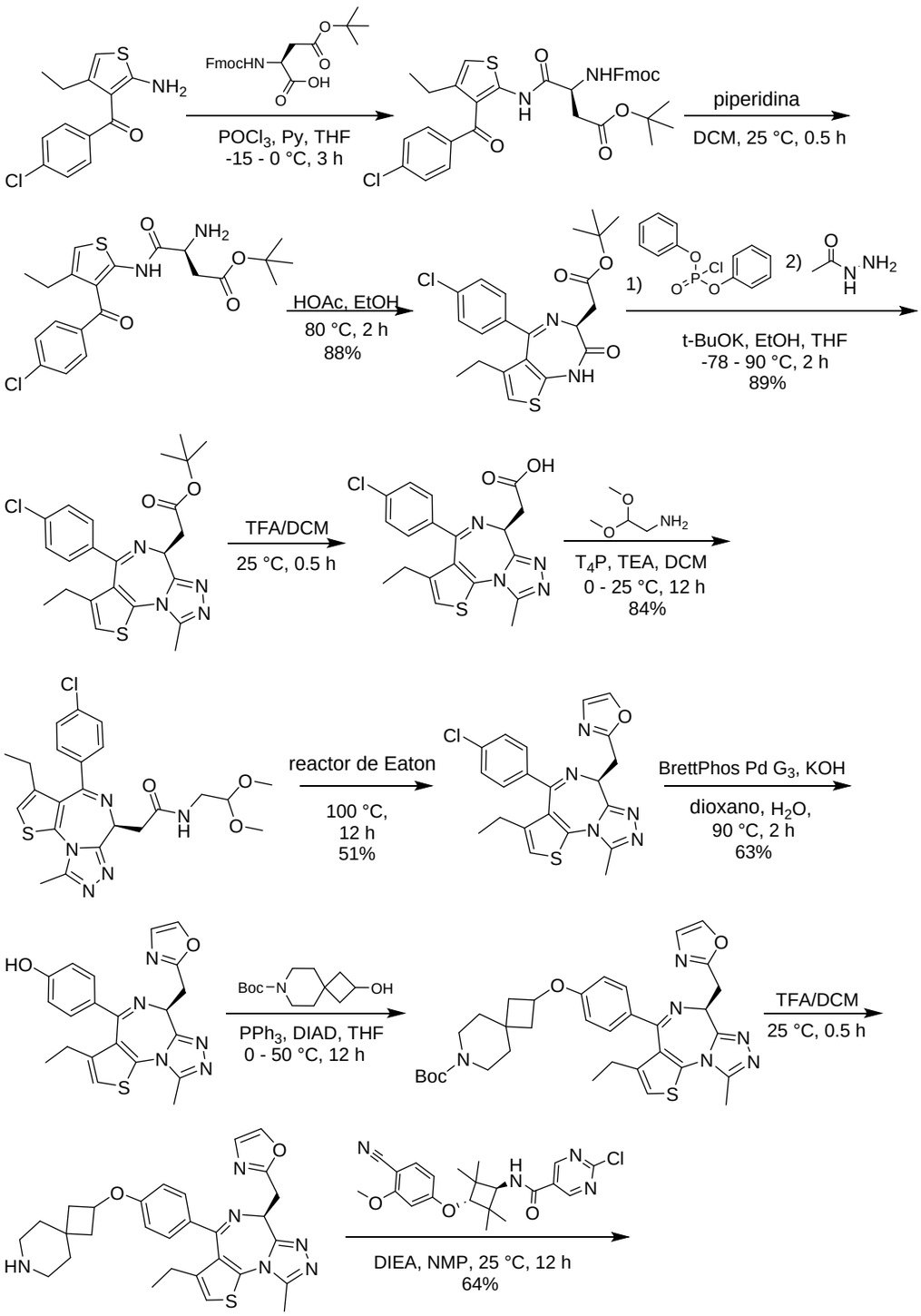
[0760] Etapa 4: Preparación de 4,4-difluoro-8-[4-[(9S)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de terc-butilo. A una solución de (9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,9,13-tetra metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (200 mg, 560 µmol, 1,0 *equiv*) y 4,4-difluoro-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de terc-butilo (263 mg, 952 µmol, 1,7 *equiv*) en dioxano (2 mL) se agregó Cs_2CO_3 (548 mg, 1,7 mmol, 3,0 *equiv*) y SPhos Pd G_3 (43 mg, 56 µmol, 0,1 *equiv*). La mezcla se agitó a 90 °C durante 3 h en atmósfera de N_2. La mezcla se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante *prep*-TLC (SiO_2, éter de petróleo: acetato de etilo = 0:1) para proporcionar 4,4-difluoro-8-[4-[(9S)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decano-2-carboxilato de terc-butilo (320 mg, 95 % rendimiento) como un aceite amarillo.

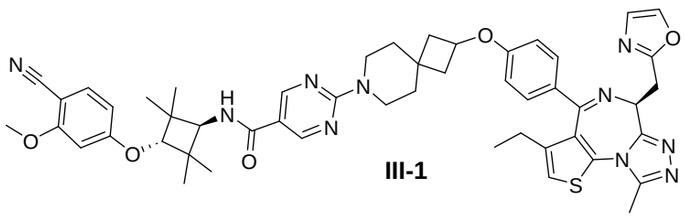
[0761] Etapa 5: Preparación de (9S)-7-[4-(4,4-difluoro-2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il) fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4, 7,10,12-pentaeno. A una solución de 4,4-difluoro-8-[4-[(9S)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diaza spiro[4,5]decano-2-carboxilato de terc-butilo (390 mg, 653 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (3 mL) se agregó TFA (1 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con una solución de $NaHCO_3$ acuoso saturado (5 mL) y se extrajo con DCM (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar (9S)-7-[4-(4,4-difluoro-2,8-diaza spiro [4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,02,6] tri deca-2(6),4,7,10,12-pentaeno (320 mg, 98 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0762] Etapa 6: Preparación de N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[4,4-difluoro-8-[4-[(9S)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diazaspiro[4,5]decan-2-il]piridazina-3-carbox amida (I-107). A una solución de (9S)-7-[4-(4,4-difluoro-2,8-diazaspiro[4,5]decan-8-il)fenil]-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7, 10,12-pentaeno (150 mg, 302 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (0,6 mL) se agregó DIEA (78 mg, 604 µmol, 105 µL, 2,0 *equiv*) y 6-cloro-N-[4-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)ciclohexil] piridazina-3-carboxamida (116 mg, 302 µmol, 1,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 h y se concentró. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm* 10um; fase móvil: [agua(FA)-ACN]; gradiente:39 %-69 % B durante 10 min) para proporcionar N-[4-(4-ciano-3-

metoxi-fenoxi)ciclohexil]-6-[4,4-difluoro-8-[4-[(9S)-4,5,9,13-tetrametil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenil]-2,8-diaza spiro [4,5]decan-2-il]piridazina-3-carboxamida (**I-107**, 66 mg, 25 % rendimiento) como un sólido amarillo. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,12-8,05 (m, 1H), 7,91-7,82 (m, 1H), 7,50-7,39 (m, 3H), 6,95-6,83 (m, 2H), 6,81-6,72 (m, 1H), 6,56-6,43 (m, 2H), 4,39-4,29 (m, 1H), 4,21-4,12 (m, 1H), 4,11-3,96 (m, 3H), 3,90 (s, 3H), 3,86-3,63 (m, 4H), 3,03-2,91 (m, 2H), 2,67 (s, 3H), 2,42 (s, 3H), 2,25-2,15 (m, 4H), 2,15-2,05 (m, 5H), 1,76 (s, 3H), 1,70-1,63 (m, 4H), 1,53-1,43 (m, 2H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,233 min, m/z = 847,4 [M + H$^+$]; método LCMS: 10.

<u>EJEMPLO 55</u> – Síntesis de N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-5-etil-13-metil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro [3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (III-1)





III-1

[0763] **Etapa 1: Preparación de** (3S)-4-[[3-(4-clorobenzoil)-4-etil-2-tienil]amino]-3-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoato de ***terc*-butilo**. A una solución de (2-amino-4-etil-3-tienil)-(4-clorofenil)metanona (4,72 g, 17,3 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (40 mL) se agregó ácido (2S)-4-*terc*-butoxi-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoico (7,28 g, 17,6 mmol, 1,0 *equiv*) y piridina (4,22 g, 53,1 mmol, 4,28 mL, 3,0 *equiv*), seguido de $POCl_3$ (2,71 g, 17,6 mmol, 1,65 mL, 1,0 *equiv*) a -15 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 3 h. La mezcla se concentró, el residuo se diluyó con HCl (1 M, 150 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de bicarbonato de sodio (200 mL), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para producir (3S)-4-[[3-(4-clorobenzoil)-4-etil-2-tienil]amino]-3-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoato de *terc*-butilo (11,6 g, 17,6 mmol, 100 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0764] **Etapa 2: Preparación de** (3S)-3-amino-4-[[3-(4-clorobenzoil)-4-etil-2-tienil]amino]-4-oxo-butanoato de ***terc*-butilo.** A una solución de (3S)-4-[[3-(4-clorobenzoil)-4-etil-2-tienil]amino]-3-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-4-oxo-butanoato de *terc*-butilo (11,6 g, 17,6 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (120 mL) se agregó piperidina (3,01 g, 35,8 mmol, 3,49 mL, 2,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para producir (3S)-3-amino-4-[[3-(4-clorobenzoil)-4-etil-2-tienil] amino]-4-oxo-butanoato de *terc*-butilo (7,73 g, 17,6 mmol, 100 % rendimiento) como un líquido incoloro.

[0765] **Etapa 3: Preparación de** 2-[(3S)-5-(4-clorofenil)-6-etil-2-oxo-1,3-dihidrotieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il]acetato de ***terc*-butilo.** A una solución de (3S)-3-amino-4-[[3-(4-clorobenzoil)-4-etil-2-tienil]amino]-4-oxo-butanoato de *terc*-butilo (7,73 g, 17,7 mmol, 1,0 *equiv*) en EtOH (50 mL) se agregó HOAc (5,25 g, 87,4 mmol, 5,55 mL, 4,9 *equiv*). La mezcla se agitó a 80 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se alcalinizó con una solución acuosa de bicarbonato de sodio (150 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (100 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo = 22/1 a 3/1) para producir 2-[(3S)-5-(4-clorofenil)-6-etil-2-oxo-1,3-dihidrotieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il]acetato de *terc*-butilo (6,54 g, 15,5 mmol, 88 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0766] **Etapa 4: Preparación de** 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,02,6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de ***terc*-butilo.** A una solución de 2-[(3S)-5-(4-clorofenil)-6-etil-2-oxo-1,3-dihidrotieno[2,3-e][1,4]diazepin-3-il]acetato de *terc*-butilo (7,21 g, 16,7 mmol, 1,0 *equiv*) en THF (70 mL) se agregó t-BuOK (1,0 M, 18 mL, 1,1 *equiv*) a -78 °C. La mezcla de reacción se calentó lentamente a 25 °C y se agitó durante 30 min. Después de enfriar la mezcla a -78 °C, se agregó [cloro(fenoxi)fosforil]oxibenceno (5,39 g, 20,5 mmol, 4,16 mL, 1,2 *equiv*) a la mezcla de reacción, y la mezcla se calentó lentamente a 25 °C durante 30 min. Se agregó acetohidrazida (1,97 g, 26,7 mmol, 1,6 *equiv*)

y EtOH (35 mL) a la mezcla de reacción, y se agitó a 90 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó añadiendo solución saturada de NH_4Cl (100 mL) a 0 °C, y la mezcla se diluyó con H_2O (200 mL) y se extrajo con acetato de etilo (250 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petroleo/acetato de etilo = 1/1 a 0/1) para producir 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de *terc*-butilo (6,82 g, 14,9 mmol, 89 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0767] Etapa 5: Preparación de ácido 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético. A una solución de 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acetato de terc-butilo (6,82 g, 14,8 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (40 mL) se agregó TFA (20 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para producir ácido 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (7,66 g, 14,8 mmol, bruto, sal de TFA) como un aceite amarillo.

[0768] Etapa 6: Preparación de 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(2,2-dimetoxietil)acetamida. A una solución de ácido 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]acético (7,66 g, 14,8 mmol, 1,0 *equiv*, sal de TFA), 2,2-dimetoxietanamina (1,88 g, 17,8 mmol, 1,94 mL, 1,2 *equiv*) en DCM (40 mL) se agregó TEA (9,03 g, 89,6 mmol, 12,2 mL, 6,0 *equiv*) y T_4P (16,1 g, 22,3 mmol, 50 % pureza, 1,5 *equiv*) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h. La mezcla se concentró, y el residuo se diluyó con H_2O (100 mL) y se extrajo con DCM (100 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo = 1/1 a 0/1) para producir 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(2,2-dimetoxietil) acetamida (6,12 g, 12,5 mmol, 84 % rendimiento) como un sólido amarillo.

[0769] Etapa 7: Preparación de 2-[[(9S)-7-(4-clorofenil)-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. Una solución de 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(2,2-dimetoxietil)acetamida (6,11 g, 12,3 mmol, 1,0 *equiv*) en reactor de Eaton (90,9 g, 381 mmol, 60 mL, 31,0 *equiv*) se agitó a 100 °C durante 12 h. La mezcla se vertió lentamente en una mezcla de H_2O (3,5 L) y NH_4OH (1 L) a 0 °C, y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo = 1/1 a 0/1) para producir 2-[[(9S)-7-(4-clorofenil)-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (2,65 g, 6,25 mmol, 51 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0770] Etapa 8: Preparación de 4-[(9S)-5-etil-13-metil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenol. A una solución

de 2-[[(9S)-7-(4-clorofenil)-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (2,55 g, 5,92 mmol, 1,0 *equiv*) en dioxano (20 mL) se agregó [2-(2-aminofenil)fenil]-metilsulfoniloxi-paladio;diciclohexil-[3,6-dimetoxi-2-(2,4,6-triisopropilfenil)fenil]fosfano (641 mg, 707 µmol, 0,1 *equiv*) y KOH (1,65 g, 29,4 mmol, 5,0 *equiv*) en H_2O (4 mL). La mezcla se agitó a 90 °C durante 2 h. A la mezcla de reacción se le añadió AcOH (4 mL), y la mezcla resultante se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex Synergi Max-RP 250*50mm*10µm; fase móvil: [agua(FA)-ACN]; gradiente: 1 %-30 % B durante 20 min) para producir 4-[(9S)-5-etil-13-metil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenol (1,5 g, 3,7 mmol, 63 % rendimiento) como un sólido amarillo.

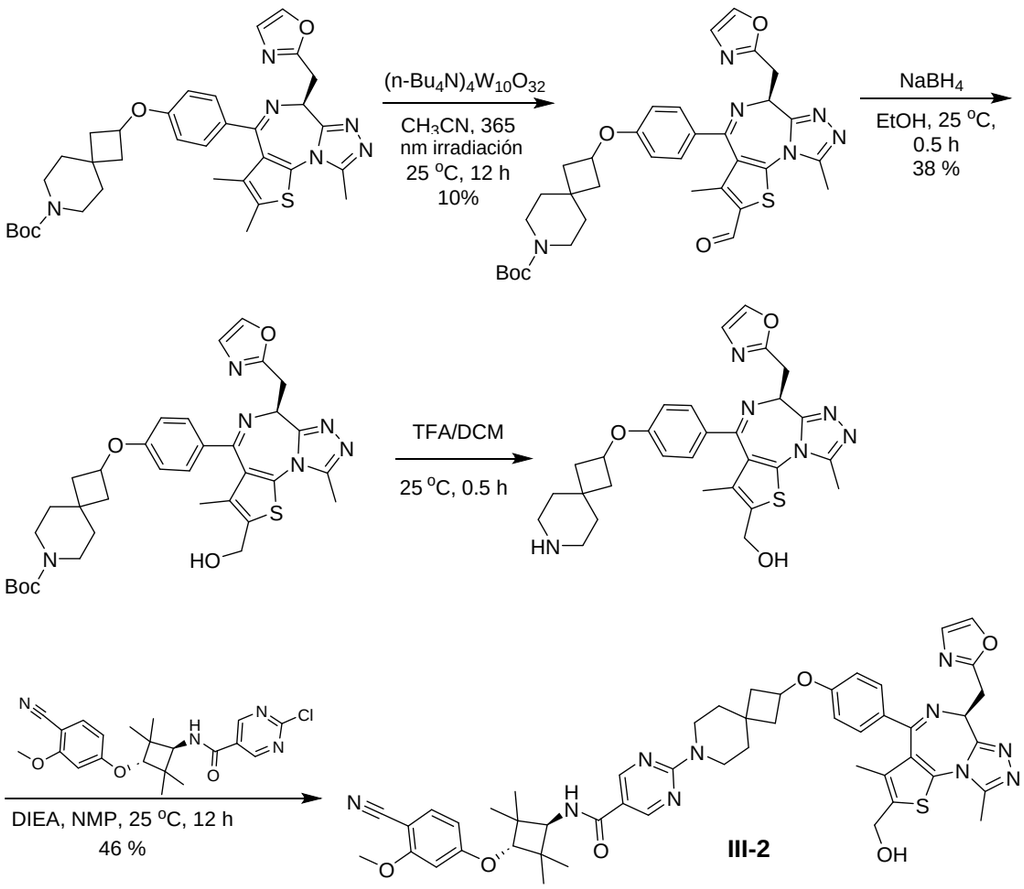
[0771] Etapa 9: Preparación de 2-[4-[(9S)-5-etil-13-metil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]**trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo.** A una solución de PPh_3 (1,94 g, 7,42 mmol, 3,0 *equiv*) en THF (10 mL) se agregó DIAD (997 mg, 4,93 mmol, 956 µL, 2,0 *equiv*) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 h. La mezcla se agregó a 4-[(9S)-5-etil-13-metil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenol (1,11 g, 2,47 mmol, 1,0 *equiv*) y 2-hidroxi-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo(1,19 g, 4,93 mmol, 2,0 *equiv*) en THF (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 11,5 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, éter de petróleo/acetato de etilo =1/1 a 0/1) para producir 2-[4-[(9S)-5-etil-13-metil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (1,55 g, 2,47 mmol, 100 % rendimiento) como un sólido blanco**.**

[0772] Etapa 10: Preparación de 2-[[(9S)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol. A una solución de 2-[4-[(9S)-5-etil-13-metil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il] fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (1,54 g, 2,45 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (20 mL) se agregó TFA (10 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se alcalinizó con una solución acuosa de bicarbonato de sodio y se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 300 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se filtraron y concentraron a presión reducida para producir 2-[[(9S)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (1,29 g, 2,44 mmol, bruto) como un sólido amarillo.

[0773] Etapa 11: Preparación de N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-5-etil-13-metil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (III-1). A una solución de 2-[[(9S)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-5-etil-13-metil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (1,28 g, 2,44 mmol, 1,0 *equiv*) y 2-cloro-N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida (1,21 g, 2,92 mmol, 1,2 *equiv*) en NMP (5 mL) se agregó DIEA (629 mg, 4,87 mmol, 848 µL, 2,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo

se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Waters Xbridge BEH C18 250*50mm*10µm; fase móvil: [agua(NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 60 %-90 % B durante 20 min) para producir N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-5-etil-13-metil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro [3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (1,44 g, 1,57 mmol, 64 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8,72 (s, 2 H), 7,89 (s, 1 H), 7,52 (d, *J* = 8,56 Hz, 1 H), 7,27 - 7,42 (m, 3 H), 7,12 (s, 1 H), 6,83 (d, *J* = 8,68 Hz, 2 H), 6,62 (s, 1 H), 6,55 (dd, *J* = 8,68, 1,83 Hz, 1 H), 4,77 - 4,84 (m, 1 H), 4,70 - 4,76 (m, 1 H), 4,24 (s, 1 H), 4,12 (s, 1 H), 3,88 - 4,02 (m, 7 H), 3,81 - 3,87 (m, 2 H), 2,73 (s, 3 H), 2,48 - 2,58 (m, 2 H), 2,21 - 2,32 (m, 1 H), 2,02 - 2,12 (m, 1 H), 1,97 (dd, *J* = 12,78, 6,17 Hz, 2 H), 1,66 - 1,71 (m, 4 H), 1,28 (s, 6 H), 1,22 (s, 6 H), 0,97 - 1,01 (m, 3 H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,750 min, m/z = 907,6 [M + H^+]; método LC-MS 25.

<u>EJEMPLO 56</u> – Síntesis de N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4-(hidroximetil)-5,13-dimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (III-2)



[0774] Etapa 1: Preparación de 2-[4-[(9S)-4-formil-5,13-dimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]**trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo.** A un vial de 15-mL equipado con una barra de agitación se agregó 2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (760 mg, 1,21 mmol, 1,0 *equiv*) en ACN (3 mL) y luego (n-$Bu_4N)_4W_{10}O_{32}$ (803 mg, 242 µmol, 0,2 *equiv*). La mezcla se agitó durante 4 horas y se irradió con una lámpara LED de 365 nm (a 7 cm de distancia) con un ventilador de refrigeración para mantener la temperatura de reacción a 25 °C. La mezcla se filtró y se concentró. Al residuo

se le añadió $(n\text{-}Bu_4N)_4W_{10}O_{32}$ (80,3 mg, 24,2 µmol, 0,02 *equiv*) y acetonitrilo (3 mL), y la mezcla se agitó durante 4 h y se irradió con una lámpara LED de 365 nm (a 7 cm de distancia) con un ventilador de refrigeración para mantener la temperatura de reacción en 25 °C. La mezcla se filtró, se concentró y se volvió a someter al mismo proceso una vez más. La mezcla se filtró y se concentró para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150x40mm x 15µm; fase móvil: [agua(FA)-ACN]; gradiente: 58 %-88 % B durante 10 min) para producir 2-[4-[(9S)-4-formil-5,13-dimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (75 mg, 117 µmol, 10 % rendimiento) como un sólido blanco.

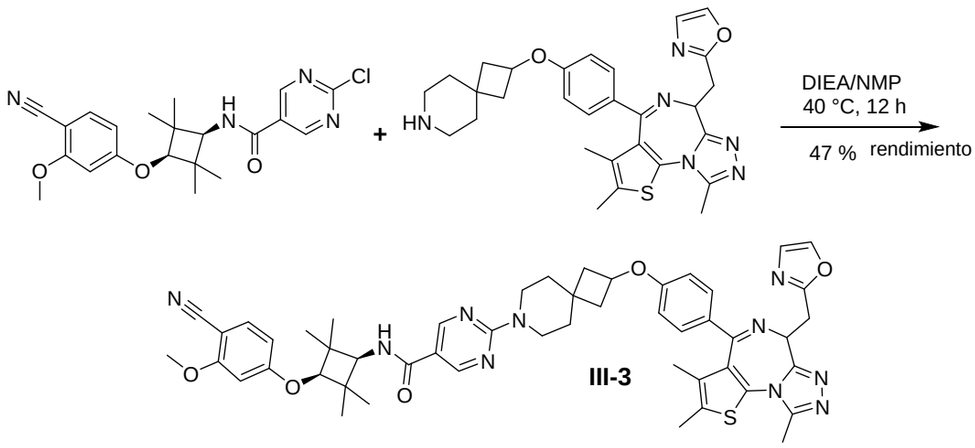
[0775] Etapa 2: Preparación de 2-[4-[(9S)-4-(hidroximetil)-5,13-dimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]**trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo.** A una solución de 2-[4-[(9S)-4-formyl-5,13-dimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (200 mg, 311 µmol, 1,0 *equiv*) en EtOH (1 mL) se agregó $NaBH_4$ (23,3 mg, 618 µmol, 2,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 h. La mezcla se inactivó con H_2O (20 mL). La mezcla se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 20 mL x 2) y las capas orgánicas combinadas se concentraron para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante prep-TLC (DCM:MeOH = 8:1) para producir 2-[4-[(9S)-4-(hidroximetil)-5,13-dimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5] nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (75,2 mg, 117 µmol, 38 % rendimiento) como una espuma amarilla.

[0776] Etapa 3: Preparación de [(9S)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-5,13-dimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetraza-triciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-4-il]metanol. A una solución de 2-[4-[(9S)-4-(hidroximetil)-5,13-dimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (75,2 mg, 117 µmol, 1,0 *equiv*) en DCM (2 mL) se agregó TFA (1,0 mL). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0,5 h. La mezcla se inactivó con $NaHCO_3$ acuoso (10 mL), y la mezcla resultante se extrajo con DCM/MeOH (10:1, 10 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron para producir [(9S)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-5,13-dimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetraza-triciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-4-il]metanol (63,6 mg, 116,70 µmol, 100 % rendimiento) como un sólido blanco.

[0777] Etapa 4: Preparación de N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4-(hidroximetil)-5,13-dimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (III-2). A una solución de [(9S)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-5,13-dimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-4-il]metanol (63,6 mg, 117 µmol, 1,0 *equiv*) y 2-cloro-N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida (48,4 mg, 116,7 µmol, 1,0 *equiv*) en NMP (2 mL) se agregó DIEA (45,3 mg, 350 µmol, 61,0 µL, 3,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 12 h. El residuo se purificó mediante *prep*-HPLC (columna: Phenomenex luna C18 150x25mm x 10 µm; fase

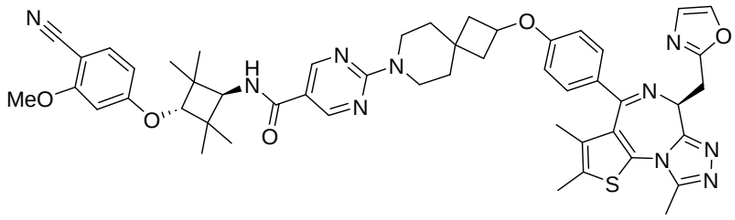
móvil: [agua(FA)-ACN]; gradiente: 53 %-83 % B durante 10 min) para producir N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4-(hidroximetil)-5,13-dimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (50 mg, 54,17 µmol, 46 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD δ 8,72 (s, 2H), 7,89 (s, 1H), 7,52 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,36 - 7,29 (m, 2H), 7,12 (s, 1H), 6,85 - 6,80 (m, 2H), 6,62 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,57 - 6,53 (m, 1H), 4,81 - 4,71 (m, 4H), 4,24 (s, 1H), 4,17 - 4,08 (m, 1H), 4,03 - 3,82 (m, 9H), 2,72 (s, 3H), 2,58 - 2,46 (m, 2H), 2,03 - 1,89 (m, 2H), 1,74 (s, 3H), 1,73 - 1,64 (m, 4H), 1,28 (s, 6H), 1,22 (s, 6H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,45 min, m/z = 923,6 [M + H$^+$]; método LC-MS 10.

<u>EJEMPLO 57</u> – Síntesis de N-[(1*r*,3*s*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (III-3)

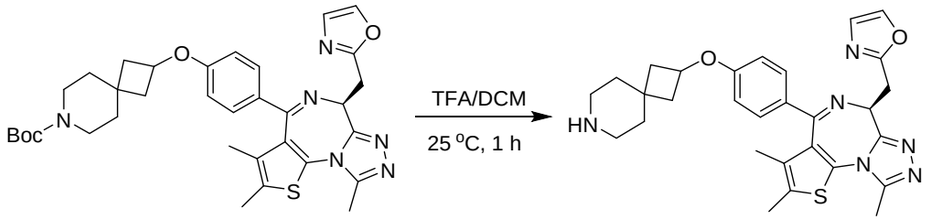


[0778] Las materias primas se prepararon por analogía con los procedimientos descritos en la presente. A una solución de 2-cloro-N-[(1*r*,3*s*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida (540 mg, 1,04 mmol, 1,0 *equiv*) y 2-[[7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (550 mg, 1,04 mmol, 1,0 *equiv*) en NMP (5,0 mL) se agregó DIEA (269 mg, 2,08 mmol, 362 µL, 2,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante 12 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (30 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante prep-HPLC (columna: Waters Xbridge C18 150*50mm* 10µm; fase móvil: [agua(NH_4HCO_3)-ACN]; gradiente: 57 %-87 % B durante 10 min) para producir N-[(1*r*,3*s*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5] nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (450 mg, 47 % rendimiento) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): *δ* = 8,70 (s, 2H), 7,64 (s, 1H), 7,47 - 7,45 (m, 1H), 7,36 - 7,34 (m, 2H), 7,05 (s, 1H), 6,76 - 6,74 (m, 2H), 6,54 - 6,38 (m, 2H), 5,94 - 5,92 (m, 1H), 4,82 - 4,63 (m, 2H), 4,16 - 4,04 (m, 3H), 4,00 - 3,98 (m, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,89 (s, 2H), 3,83 - 3,82 (m, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,53 - 2,44 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,05 - 1,98 (m, 2H), 1,95 - 1,78 (m, 3H), 1,71 (s, 4H), 1,41 (s, 6H), 1,09 (s, 6H). LC-MS: MS (ES$^+$): RT = 2,704 min, m/z = 907,0 [M + H$^+$]; Método LC-MS 5-95.

<u>EJEMPLO 58</u> – Síntesis de N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida Forma cristalina A (II-5 en Forma cristalina A)

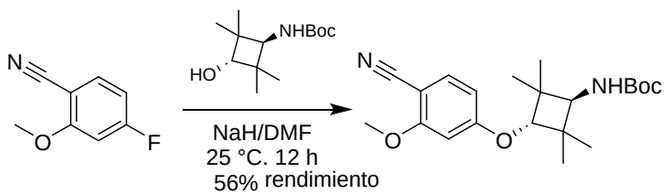


Parte 1 – Preparación de 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-Azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol



[0779] A una solución de 2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro [3,5]nonano-7-carboxilato de *terc*-butilo (22,5 g,35,78 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (50 mL) se agregó TFA (31 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de $NaHCO_3$ (300 mL) a 0 °C. La capa acuosa se lavó con (DCM/MeOH=10:1; 300 mL x 3), y luego las capas orgánicas combinadas se combinaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para producir 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi) fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (18,5 g, 35,0 mmol, 98 % rendimiento) como un sólido amarillo. LC-MS: MS (ES+): RT = 0,686 min, m/z = 529,3 [M + H^+].

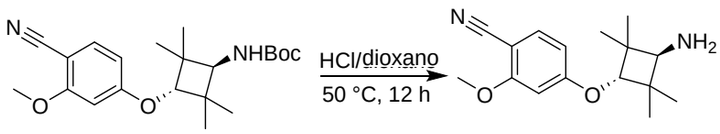
Parte 2 – Preparación de N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-Cyano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]carbamato de *terc*-butilo



[0780] A una solución de N-((1*r*,3*r*)-3-hidroxi-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil) carbamato de *terc*-butilo (65,0 g, 267 mmol, 1,0 *equiv*) en DMF (1 L) se agregó NaH (10,7 g, 267 mmol, 60 % pureza, 1,0 *equiv*) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 0,5 h. Luego se añadió 4-fluoro-2-metoxi-benzonitrilo (40,4 g, 267 mmol, 1,0 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl (20 mL) a 0 °C y se diluyó con agua (5 L). La mezcla se extrajo con acetato de etilo (1 L x 3). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera (1 L), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo resultante se recristalizó a partir de EtOH (1 L) y el sólido resultante se filtró. La torta de filtración se secó para obtener N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]carbamato de *terc*-butilo (56,5 g, 151 mmol, 56 % de rendimiento) como un sólido blanco. LC-MS: MS (ES+):

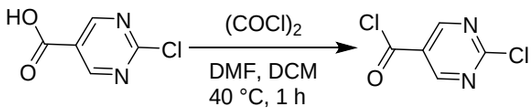
RT = 0,966 min, m/z = 375,3 [M + H^+].

Parte 3 – Preparación de 4-((1*r*,3*r*)-3-Amino-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutoxi)-2-metoxi-benzonitrilo



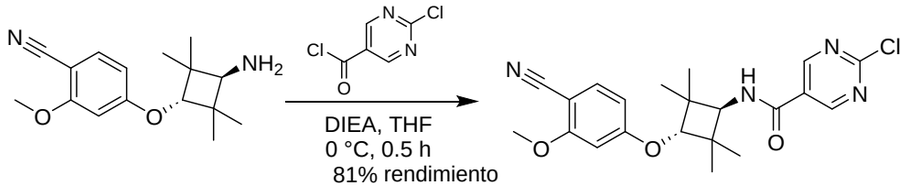
[0781] A una solución de N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]carbamato de *terc*-butilo (50 g, 133,52 mmol, 1 *equiv*) en dioxano (125 mL) se agregó HCl/dioxano (4 M, 125 mL, 3,74 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para producir el producto bruto 4-((1*r*,3*r*)-3-amino-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutoxi)-2-metoxi-benzonitrilo (41,5 g, 134 mmol, 100 % rendimiento, sal de HCl) como un sólido blanco y se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. LC-MS: MS (ES+): RT = 0,492 min, m/z = 275,2 [M + H^+].

Parte 4 – Preparación de cloruro de 2-cloropirimidina-5-carbonilo



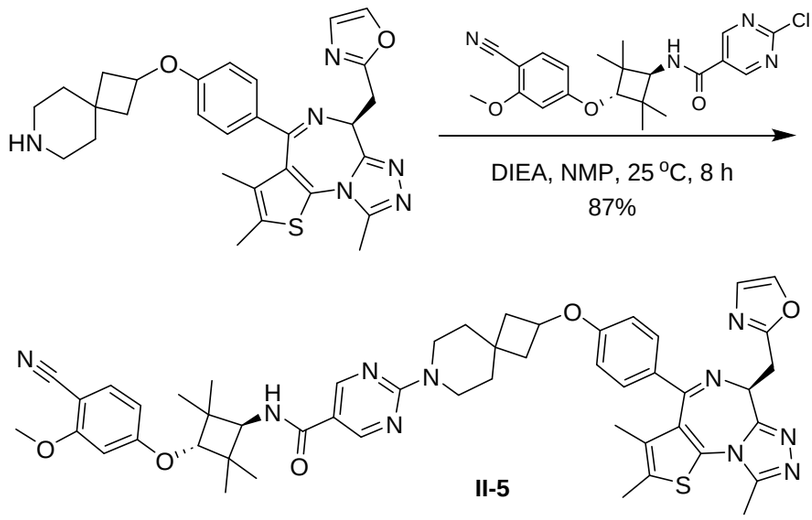
[0782] A una solución de ácido 2-cloropirimidina-5-carboxílico (32,0 g, 202 mmol, 1,0 *equiv*) en DCM (240 mL) se agregó dicloruro de oxalilo (76,9 g, 606 mmol, 53,0 mL, 3,0 *equiv*) y DMF (738 mg, 10,1 mmol, 776 µL, 0,1 *equiv*). La mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener cloruro de 2-cloropirimidina-5-carbonilo (35,7 g, 202 mmol, 99,94 % de rendimiento) como un aceite amarillo, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Parte 5 – Preparación de 2-cloro-N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida



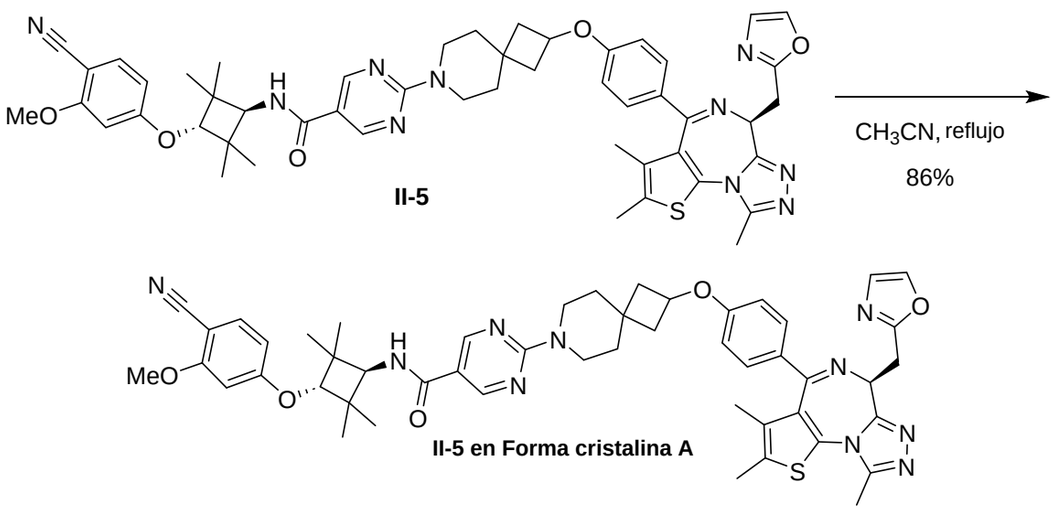
[0783] A una solución de 4-((1*r*,3*r*)-3-amino-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutoxi)-2-metoxi-benzonitrilo (41,5 g, 134 mmol, 1,0 *equiv*, sal de HCl) en THF (215 mL) se agregó DIEA (86,3 g, 668 mmol, 116 mL, 5,0 *equiv*), seguido de cloruro de 2-cloropirimidina-5-carbonilo (35,5 g, 200 mmol, 1,5 *equiv*) en THF (215 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 0,5 h. La mezcla se vertió en agua helada (2 L) y luego se extrajo con EA (2 L x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 L), se secaron, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. The producto bruto se trituró con EA (500 mL) a 25 ºC durante 12 min para producir 2-cloro-N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida (45,0 g, 108 mmol, 81 % rendimiento) como un sólido amarillo.

Parte 6 – Preparación de N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5] nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (II-5)



[0784] A una solución de 2-[[(9*S*)-7-[4-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-iloxi)fenil]-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]metil]oxazol (13,0 g, 24,6 mmol, 1,0 *equiv*) y 2-cloro-N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]pirimidina-5-carboxamida (10,7 g, 25,8 mmol,1,1 *equiv*) en NMP (30 mL) se agregó DIEA (9,53 g, 73,8 mmol, 12,9 mL, 3,0 *equiv*). La mezcla se agitó a 25 °C durante 8 h. La mezcla de reacción se diluyó con DCM/MeOH (10:1, 300 mL) y se lavó con H_2O (100 mL x 3). La fase orgánica se secó y se concentró. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de columna (SiO_2, R_f = 0,4, EA/MeOH = 10/1) para producir N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9*S*)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (19,5 g, 21,2 mmol, 87 % rendimiento, 98,5 % pureza) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8,74 (s, 2H), 7,91 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H), 7,54 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,34 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,14 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H), 6,85 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 6,64 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,57 (dd, *J* = 2,1, 8,6 Hz, 1H), 4,79 - 4,71 (m, 2H), 4,27 - 4,25 (m, 1H), 4,16 - 4,12 (m, 1H), 3,95 (s, 7H), 3,90 - 3,83 (m,2H), 2,72 (s, 3H), 2,61 - 2,50 (m, 2H), 2,48 (s, 3H), 2,03 - 1,92 (m, 2H), 1,72 (s, 7H), 1,30 (s, 6H), 1,24 (s, 6H). LC-MS: MS (ES^+): RT = 2,698 min, m/z = 907,4 [M +H^+].

Parte 7 – Preparación de la Forma cristalina A N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5] nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (II-5 en Forma cristalina A)



[0785] A N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-

4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$] trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (90,0 g, 99,2 mmol) se agregó CH_3CN (450 mL), y luego se sometió a reflujo durante 1 h hasta que la mezcla de reacción se aclaró. La mezcla se enfrió lentamente hasta 25 °C, y se formó un precipitado blanco. Después de filtrar, la torta de filtrado se lavó con CH_3CN (50 mL x 2) y se secó para producir la Forma cristalina A N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5] nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (77,0 g, 84,9 mmol, 86 % rendimiento, 99,7 % pureza) como un sólido cristalino blanco. El filtrado se concentró para obtener una espuma de color marrón claro (13,0 g, 13,5 mmol, 14 % de rendimiento, 94 % de pureza). LC-MS: MS (ES^+): RT = 0,667 min, m/z = 907,5 [M + H^+]. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8,75 - 8,70 (m, 2H), 7,92 - 7,89 (m, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,32 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 7,13 (s, 1H), 6,84 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,63 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 6,56 (dd, *J* = 2,1, 8,6 Hz, 1H), 4,84 - 4,81 (m, 1H), 4,77 - 4,71 (m, 1H), 4,25 (s, 1H), 4,13 (s, 1H), 3,99 - 3,89 (m, 7H), 3,88 - 3,82 (m, 2H), 2,71 (s, 3H), 2,58 - 2,50 (m, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,02 - 1,93 (m, 2H), 1,74 - 1,66 (m, 7H), 1,28 (s, 6H), 1,23 (s, 6H).

EJEMPLO 59 – La caracterización física de la Forma cristalina A N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro [3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (II-5 en la Forma cristalina A)

[0786] Se realizó un análisis de difracción de rayos X en polvo usando un detector LYNXEYE_XE_T operado en modo de reflexión. Las muestras se prepararon sobre soportes de superficie plana de silicio monocristalino. Los parámetros para XRPD fueron:

Parámetro	**Valor**
Ángulo abierto	2,5º (máx.)
Longitud de onda de rayos X	Cu Kα1, 1,5406 Å
Ajuste del tubo de rayos X	40 kV, 40 mA
Rendija del haz primario	10,0 mm de longitud de muestra + 2,5º soller
Rendija del haz secundario	2,5º soller
Modo de escaneo	Continuo
Tipo de escaneo	Acoplamiento bloqueado
Rango de escaneo (º2θ)	3-40
Tamaño de la etapa (º2θ)	0,02
Tiempo de	0,4

Parámetro	Valor
permanencia (s/etapa)	
Giro	Sí (15 rpm)

.

[0787] En la Figura 14 se muestra un difractograma de polvo de rayos X tomado del compuesto en cuestión. Las características tabuladas del difractograma de polvo de rayos X de la Figura 14 se proporcionan en la siguiente tabla, que enumera el ángulo de difracción 2θ, las distancias interplanares d y la intensidad relativa (expresada como un porcentaje con respecto al pico más intenso):

Datos de difractograma de polvo de rayos X

Ángulo [2θ]	**espaciado-d [Å]**	**Intensidad relativa (%)**
8,1	11,0	28
8,3	10,6	13
8,6	10,2	22
9,5	9,3	8
9,9	8,9	34
10,5	8,4	31
11,7	7,6	9
12,1	7,3	8
13,1	6,8	81
13,5	6,5	9
15,5	5,7	10
15,8	5,6	28
16,1	5,5	14
16,6	5,3	9
17,6	5,0	39
18,0	4,9	14
18,3	4,9	38
18,7	4,7	37
19,5	4,5	100
19,8	4,5	37
20,4	4,4	11
21,6	4,1	22
22,7	3,9	5
23,3	3,8	9
23,5	3,8	21
23,8	3,7	56
24,3	3,7	22
25,1	3,5	20

Ángulo [2θ]	**espaciado-d [Å]**	**Intensidad relativa (%)**
25,3	3,5	30
25,6	3,5	64
26,2	3,4	7
27,0	3,3	6
27,5	3,2	7
28,8	3,1	6
31,9	2,8	6
33,1	2,7	5
33,7	2,7	8

.

[0788] Se realizó un análisis de calorimetría diferencial de barrido en el compuesto en cuestión usando un instrumento TA Discovery 2500 con un flujo de gas nitrógeno de 50 mL/min. La muestra (1-2 mg) se pesó en una bandeja de muestra Tzero con una tapa hermética Tzero con un orificio (0,7 mm de diámetro) y se analizó de acuerdo con los siguientes parámetros: método de rampa, velocidad de calentamiento de 10 °C/min, rango de temperatura de 30 a 250 °C o antes de la descomposición. En la Figura 15 se proporciona una curva de calorimetría diferencial de barrido del compuesto en cuestión, obtenida de acuerdo con este procedimiento. Se observó un pico de fusión con una temperatura de inicio de 192,0 °C y 38 J/g.

[0789] El análisis termogravimétrico del compuesto en cuestión se realizó usando un instrumento TA Discovery 5500. El caudal de nitrógeno era de 10 mL/min en la balanza y de 25 mL/min en la cámara de muestras. La muestra (2-10 mg) se pesó directamente en una bandeja de aluminio abierta y se analizó de acuerdo los siguientes parámetros: método de rampa, velocidad de calentamiento de 10,0 °C/min y rango de temperatura desde la temperatura ambiente (por debajo de 35 °C) hasta 300 °C (o hasta que el peso sea <80 %). En la Figura 16 se muestra la curva de análisis termogravimétrico del compuesto en cuestión. Se observó una pérdida de peso del 0,2 % p/p a 180 °C.

[0790] Se determinó que el compuesto en cuestión tenía una pureza del 99,7 % mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

Estabilidad al almacenamiento

[0791] Para investigar la influencia de la humedad relativa sobre la estabilidad física del Compuesto II-5 en la Forma Cristalina A, se mantuvo una muestra del Compuesto II-5 en la Forma Cristalina A a una temperatura de 23-25 °C en un ambiente con niveles de humedad relativa (HR) que oscilaban entre 23 % HR a 53 % HR. Después de almacenar el Compuesto II-5 en la Forma Cristalina A bajo las condiciones anteriores durante un período de una semana, no se observó ningún cambio en la forma cristalina.

EJEMPLO 60 – Síntesis de la Forma cristalina B N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro [3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (II-5 en la Forma cristalina B)

[0792] Se equilibraron 50 mg de N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida amorfa en 0,15-0,35 mL de disolvente que fue EtOAc/MTBE (1/4, v/v) a 50 °C durante 24 días con una barra de agitación en un placo de agitación magnética a una velocidad de 600 rpm. Al sexto día, se añadió aproximadamente 1 mg de un agente nucleante a la mezcla para facilitar la cristalización. En el día veinte, se agregó a la mezcla aproximadamente 1 mg de la Forma cristalina A N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida. El día 24, la suspensión resultante se filtró a través de un filtro de membrana de 0,45 µm mediante centrifugación. El sólido aislado fue recogido y se determinó que era el compuesto en cuestión, el Compuesto II-5 en la Forma cristalina B.

<u>EJEMPLO 61</u> – La caracterización física de la Forma cristalina B N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida (II-5 en la Forma cristalina B)

[0793] El compuesto en cuestión se caracterizó usando los métodos instrumentales descritos en el Ejemplo 59.

[0794] En la Figura 17 se proporciona un difractograma de polvo de rayos X tomado del compuesto en cuestión. Las características tabuladas del difractograma de polvo de rayos X de la Figura 17 se proporcionan en la siguiente tabla, que enumera el ángulo de difracción 2θ, las distancias interplanares d y la intensidad relativa (expresada como un porcentaje con respecto al pico más intenso):

Datos de difractograma de polvo de rayos X

Ángulo [2θ]	**espaciado-d [Å]**	**Intensidad relativa (%)**
5,9	15,0	19
8,0	11,0	10
8,5	10,3	47
9,1	9,7	24
9,4	9,4	61
11,7	7,5	34
12,5	7,1	32
12,8	6,9	50
14,5	6,1	6
14,8	6,0	9
15,4	5,8	100
15,9	5,6	6
17,1	5,2	15
17,6	5,0	44

Ángulo [2θ]	**espaciado-d [Å]**	**Intensidad relativa (%)**
18,2	4,9	57
18,7	4,7	85
19,6	4,5	36
20,2	4,4	91
20,8	4,3	11
21,0	4,2	12
21,4	4,2	10
21,9	4,1	38
22,3	4,0	22
22,9	3,9	10
23,5	3,8	34
23,9	3,7	20
24,6	3,6	74
25,1	3,5	21
25,4	3,5	5
26,1	3,4	23
26,5	3,4	5
27,1	3,3	22
27,4	3,3	5
28,7	3,1	14
29,8	3,0	11
31,0	2,9	6
32,4	2,8	7

.

[0795] Se realizó un análisis de calorimetría diferencial de barrido en el compuesto en cuestión usando el método descrito en el Ejemplo 59. En la Figura 18A y la Figura 18-B se proporciona una curva de calorimetría diferencial de barrido del compuesto en cuestión, obtenida de acuerdo con este procedimiento. Se observó un pico de fusión, cuando se presentó con una paleta, con una temperatura de inicio de 191,7 °C y 37 J/g.

[0796] El análisis termogravimétrico del compuesto en cuestión se realizó usando el método descrito en el Ejemplo 59. En la Figura 19 se muestra la curva de análisis termogravimétrico del compuesto en cuestión. Se observó una pérdida de peso del 1,4 % p/p a 180 °C.

[0797] Se determinó que el compuesto en cuestión tenía una pureza del 99,6 % mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

EJEMPLO 62 – Análisis de estabilidad de la Forma cristalina A N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida y la Forma cristalina B N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-

pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida

[0798] Se agregaron aproximadamente 3 mg de la Forma cristalina A N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo [8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida y 3 mg de la Forma cristalina B N-[(1*r*,3*r*)-3-(4-ciano-3-metoxi-fenoxi)-2,2,4,4-tetrametil-ciclobutil]-2-[2-[4-[(9S)-4,5,13-trimetil-9-(oxazol-2-ilmetil)-3-tia-1,8,11,12-tetrazatriciclo[8,3,0,$0^{2,6}$]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-7-il]fenoxi]-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il]pirimidina-5-carboxamida a 0,18 mL soluciones saturadas de disolventes seleccionados. Las suspensiones obtenidas se agitaron a 25 °C y 50 °C durante una semana, respectivamente. Las partes sólidas (tortas húmedas) se aislaron mediante filtración por centrifugación a temperatura relativa y se analizaron mediante XRPD.

[0799] Los resultados se presentan en la siguiente tabla. Los resultados muestran que el Compuesto II-5 en la Forma cristalina B se convirtió en el Compuesto II-5 en la Forma cristalina A bajo las condiciones del estudio de estabilidad en cada sistema de disolventes que se enumeran en la siguiente tabla. Esto demuestra la estabilidad superior del Compuesto II-5 en la Forma cristalina A en relación con el Compuesto II-5 en la Forma cristalina B.

Disolvente	**XRPD**	
	25 °C durante 1 semana	**50 °C durante 1 semana**
EtOH	Forma cristalina A	Forma cristalina A
Acetona	Forma cristalina A	Forma cristalina A
Acetonitrilo	Forma cristalina A	Forma cristalina A
THF/Heptano (1/1, v/v)	Forma cristalina A	Forma cristalina A

<u>EJEMPLO 63</u> – Ensayo de inhibición del crecimiento celular usando células T-Rex 293

[0800] Se probaron compuestos ejemplares para determinar su capacidad de inhibir la proliferación de los siguientes tipos de células: (i) una línea celular T-Rex 293 con expresión aumentada de la proteína del receptor de andrógenos debido a la exposición a la doxiciclina y (ii) una línea celular T-Rex 293 que carece de expresión aumentada de la proteína del receptor de andrógenos. A continuación se detallan los procedimientos experimentales y los resultados obtenidos.

Parte I – Procedimiento experimental

[0801] Para este experimento se prepararon los siguientes tipos de células: (i) una línea celular T-Rex 293 con expresión aumentada de la proteína del receptor de andrógenos debido a la exposición a la doxiciclina y (ii) una línea celular T-Rex 293 que carece de expresión aumentada de la proteína del receptor de andrógenos. La capacidad de los compuestos de prueba para inhibir la proliferación de los tipos de células antes mencionados se evaluó de acuerdo con los procedimientos que se establecen a continuación.

[0802] La línea celular que expresa la proteína del receptor de andrógenos inducible por

doxiciclina se estableció usando el siguiente protocolo: las células T-Rex 293 se compraron a Invitrogen (Cat#R71007) y se transfectaron usando Lipofectamine 2000 con la secuencia de la proteína del receptor de andrógenos de tipo salvaje clonada en el vector pcDNA4/TO. Las células transfectadas se seleccionaron usando 400 µg/mL de Zeocina (Invitrogen Cat#R25001). Tras la selección, se cultivaron clones individuales y se mantuvieron en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) complementado con 10 % p/ p de suero fetal bovino (FBS) libre de tetraciclina y 250 µg/ml de Zeocina. Se analizó la expresión de la proteína del receptor de andrógenos en los clones en presencia y ausencia de 10 ng/ml de doxiciclina (Sigma Cat#D9891), y se seleccionó un único clon inducible por doxiciclina (en adelante, "SC3") para su uso en ensayos posteriores.

[0803] Las células SC3 se sembraron en placas de 384 pocillos negras con fondo transparente recubiertas de poli-D-lisina a una densidad de 2500 células por pocillo, en 25 µl de medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) libre de rojo de fenol complementado con 10 % p/p de suero fetal bovino (FBS) tratado con carbón y dextrano y 1 % p/p de pen-strep, con o sin 10 ng/ml de doxiciclina. Pen-Strep es una mezcla disponible comercialmente de penicilina G y estreptomicina, que se usa en medios de cultivo de células de mamíferos para prevenir la contaminación bacteriana. El medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) libre de rojo de fenol suplementado con 10 % p/p de suero fetal bovino (FBS) tratado con carbón y dextrano y 1 % p/p de pen-strep, con o sin 10 ng/ml de doxiciclina, se denomina en la presente medio de tratamiento. Tras sembrar las células en las placas, las placas se centrifugaron a 300 × g durante 30 segundos, luego se equilibraron a temperatura ambiente durante 30 minutos y, finalmente, se depositaron en una incubadora de cultivo de tejidos humidificada mantenida a 37 °C con 5 % de CO_2.

[0804] Veinticuatro horas después de la siembra de las células, se prepararon diluciones del compuesto de prueba en DMSO y se disolvieron en el medio de tratamiento para lograr una concentración final de DMSO del 0,5 % p/p, obteniendo así la solución del compuesto de prueba. Se añadió una alícuota de 25 µl de la solución del compuesto de prueba a las células en las placas de cultivo. Se usó un volumen igual de una solución que contenía DMSO y medio de tratamiento como control negativo. Tras el tratamiento de las células con la solución del compuesto de prueba o con un volumen igual de una solución que contenía DMSO y medio de tratamiento, las placas se centrifugaron a 300 × g durante 30 segundos y, a continuación, se dejaron en una incubadora durante 72 horas.

[0805] Al finalizar el período de tratamiento, se cuantificó la viabilidad celular con el reactivo CellTiter-Glo 2,0 (Promega Cat#G9243). Para ello, las placas se equilibraron a temperatura ambiente durante 30minutosy, a continuación, se añadieron 25 µL del reactivo CellTiter-Glo 2,0 a las células en los pocillos de la placa. A continuación, las placas se agitaron en un agitador durante dos minutos a 500 rpm y posteriormente se incubaron a temperatura ambiente durante 10 minutos. Tras la incubación, las placas se centrifugaron a 3000 xg durante 30 segundos, se sellaron con una cubierta adhesiva óptica y se midieron las lecturas de luminiscencia con un lector de placas EnVision.

[0806] Los datos se normalizaron usando una luminiscencia cero como valor inicial. Se aplicó un ajuste de curva de regresión no lineal de cuatro parámetros a los datos de dosis-respuesta en el software de análisis de datos GraphPad Prism para determinar la

concentración inhibitoria de crecimiento medio máximo (GI_{50}) para cada compuesto de prueba.

Parte II – Resultados

[0807] Los resultados de la concentración inhibitoria de crecimiento medio máximo (GI_{50}) se proporcionan en las Tablas 5 y 6 a continuación para compuestos ilustrativos. La Tabla 5 presenta los resultados del experimento que analiza la capacidad de los compuestos de prueba para inhibir la proliferación de la línea celular T-Rex 293, células SC3 que presentan una mayor expresión de la proteína del receptor de andrógenos debido a la exposición a la doxiciclina. El símbolo "++++" indica un GI_{50} menor que 0,5 µM. El símbolo "+++" indica un GI_{50} en el rango de 0,5 µMa 1,5 µM. El símbolo "++" indica un GI_{50} en el rango de mayor que 1,5 µMa 3 µM. El símbolo "+" indica un GI_{50} mayor que 3 µM.

TABLA 5.

Compuesto n.°	**GI_{50}**
I-17	++++
I-18	++++
II-4	++++
I-19	++++
I-20	++++
I-21	++++
I-22	++++
II-5	++++
I-1	+
I-23	+
I-24	++++
I-25	++++
II-7	++++
I-26	++++
I-2	++++
I-3	++++
I-4	++++
I-5	++++
I-6	++++
I-7	++++
I-8	++++
I-9	++++
I-10	++++
I-11	++++
I-12	++++
I-27	++++
I-28	++++
I-29	++++

Compuesto n.°	**GI_{50}**
I-38	++++
I-39	++++
I-40	++++
I-13	++++
I-14	++++
I-15	++++
I-41	++++
I-42	++++
I-43	++++
I-44	++++
I-45	++++
I-46	++++
I-47	++++
I-48	++++
I-49	++++
I-50	++++
I-51	++++
I-52	++++
I-16	++++
I-53	++++
I-54	++++
I-55	++++
I-56	++++
I-57	++++
I-58	++++
I-59	++++
I-60	++++
I-61	++++

Compuesto n.°	**GI_{50}**
I-30	++++
I-31	++++
I-32	++++
I-33	++++
I-34	++++
I-35	++++
I-36	++++
I-37	++++
I-70	++++
I-71	++++
I-72	++++
I-73	++++
I-74	++++
I-75	++++
I-76	++++
I-77	++++
I-78	++++
I-79	++++
I-80	++++
I-81	++++
I-82	++++
I-83	++++
II-1	++++
II-10	++++
I-84	++++
I-85	++++
I-86	++++
I-87	++++
I-88	++++
I-89	++++
I-90	++++
I-91	++++
I-92	++++
I-93	++++
I-94	++++
I-95	++++
I-96	++++
I-97	++++
I-98	++++
I-99	++++

Compuesto n.°	**GI_{50}**
I-62	++++
I-63	++++
I-64	++++
I-65	++++
I-66	++++
I-67	++++
I-68	++++
I-69	++++
I-104	++++
I-105	++++
I-106	++++
I-107	++++
I-108	++++
I-109	++++
I-110	++++
I-111	++++
I-112	++++
I-113	++++
I-114	++++
I-115	++++
I-116	++++
I-117	++++
I-118	++++
I-119	++++
I-120	++++
I-121	++++
I-122	++++
I-123	++++
I-124	++++
I-125	++++
I-126	++++
I-127	++++
II-13	++++
I-128	++++
I-129	++++
I-130	++++
I-131	++++
I-132	++++
II-14	++++
I-133	++++

Compuesto n.°	GI_{50}
I-100	++++
I-101	++++
II-11	++++
II-12	++++
I-102	++++
I-103	++++
III-1	++++

Compuesto n.°	GI_{50}
I-134	++++
I-135	++++
I-136	++++
I-137	++++
III-2	++++
III-3	++++

[0808] La Tabla 6 proporciona los resultados del experimento que analiza la capacidad de los compuestos de prueba para inhibir la proliferación de la línea celular T-Rex 293 SC3, que carece de una mayor expresión de la proteína del receptor de andrógenos, ya que dichas células no fueron expuestas a doxiciclina. El símbolo "++++" indica un GI_{50} menor que 0,5 µM. El símbolo "+++" indica un GI_{50} en el rango de 0,5 µMa 1,5 µM. El símbolo "++" indica un GI_{50} en el rango de mayor que 1,5 µMa 3 µM. El símbolo "+" indica un GI_{50} mayor que 3 µM.

TABLA 6.

Compuesto n.°	GI_{50}
I-17	++++
I-18	++++
II-4	++++
I-19	++++
I-20	++++
I-21	++++
I-22	++++
II-5	++++
I-1	++++
I-23	++++
I-24	++
I-25	++++
II-7	++++
I-26	++++
I-2	++++
I-3	+
I-4	++
I-5	+
I-6	++++
I-7	++++
I-8	++++
I-9	+++
I-10	++++

Compuesto n.°	GI_{50}
I-29	++++
I-30	++++
I-31	++++
I-32	++++
I-33	++++
I-34	++++
I-35	++++
I-36	++++
I-37	++++
I-38	++++
I-39	++++
I-40	++++
I-13	++++
I-14	+
I-15	+++
I-41	++++
I-42	++++
I-43	++++
I-44	++++
I-45	++++
I-46	++++
I-47	++++
I-48	++++

Compuesto n.°	GI_{50}
I-11	++++
I-12	++++
I-27	++++
I-28	++++
I-16	++++
I-53	++++
I-54	++++
I-55	++++
I-56	++++
I-57	++++
I-58	++++
I-59	++++
I-60	++++
I-61	++++
I-62	++
I-63	++++
I-64	++++
I-65	+
I-66	++++
I-67	++++
I-68	++++
I-69	++++
I-70	++++
I-71	++++
I-72	++++
I-73	++++
I-74	+
I-75	++++
I-76	++++
I-77	++++
I-78	++++
I-79	++++
I-80	++++
I-81	++++
I-82	++++
I-83	++++
II-1	++++
II-10	+++
I-84	++++
I-85	+

Compuesto n.°	GI_{50}
I-49	++++
I-50	++++
I-51	++++
I-52	++++
I-88	++++
I-89	++++
I-90	++++
I-91	++++
I-92	++++
I-93	++++
I-94	++++
I-95	++++
I-96	++++
I-97	++++
I-98	++++
I-99	++++
I-100	++++
I-101	++++
II-11	++++
II-12	++++
I-102	++++
I-103	++++
I-104	+++
I-105	+
I-106	++++
I-107	++++
I-108	++++
I-109	++++
I-110	++++
I-111	++++
I-112	+
I-113	++++
I-114	++++
I-115	+
I-116	++++
I-117	++++
I-118	++++
I-119	++++
I-120	++++
I-121	+

Compuesto n.°	GI_{50}
I-86	+
I-87	++++
I-124	++++
I-125	++++
I-126	+
I-127	++++
II-13	++++
I-128	++++
I-129	++++
I-130	++++
III-1	+++
III-2	++++

Compuesto n.°	GI_{50}
I-122	++
I-123	+
I-131	++++
I-132	++++
II-14	+
I-133	++++
I-134	+
I-135	++++
I-136	+
I-137	+
III-3	++++

EJEMPLO 64 – Ensayo de inhibición del crecimiento celular para células VCaP

[0809] Se probaron compuestos ilustrativos para determinar su capacidad de inhibir la proliferación de células VCaP. Las células VCap son una línea celular de cáncer de próstata humano disponible comercialmente. A continuación se proporcionan los procedimientos experimentales y los resultados.

Parte I – Procedimiento experimental

[0810] Las células VCaP se adquirieron de American Type Culture Collection (ATCC Cat#CRL2876) y luego se sembraron en placas de 384 pocillos negras con fondo transparente recubiertas de poli-D-lisina a una densidad de 5000 células por pocillo en 25 µl de medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) complementado con 10 % p/p de suero fetal bovino (FBS) y 1 % p/p de pen-strep. Pen-Strep es una mezcla disponible comercialmente de penicilina G y estreptomicina, que se usa en medios de cultivo de células de mamíferos para prevenir la contaminación bacteriana. El medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) complementado con 10 % p/p de suero fetal bovino (FBS) y 1 % p/p de pen-strep se denomina en adelante medio de Tratamiento. Tras sembrar las células en las placas, las placas se centrifugaron a 300 × g durante 30 segundos, luego se equilibraron a temperatura ambiente durante 30 minutos y, finalmente, se depositaron en una incubadora de cultivo de tejidos humidificada mantenida a 37 °C con 5 % de CO_2.

[0811] Veinticuatro horas después de la siembra de las células, se prepararon diluciones del compuesto de prueba en DMSO y se disolvieron en el medio de tratamiento para lograr una concentración final de DMSO del 0,5 % p/p, obteniendo así la solución del compuesto de prueba. Se añadió una alícuota de 25 µl de la solución del compuesto de prueba a las células en las placas de cultivo. Se usó un volumen igual de una solución que contenía DMSO y medio de tratamiento como control negativo. Tras el tratamiento de las células con la solución del compuesto de prueba o con un volumen igual de una solución que contenía DMSO y medio de tratamiento, las placas se centrifugaron a 300 × g durante 30 segundos y, a continuación, se dejaron en una incubadora durante 72 horas.

[0812] Al finalizar el período de tratamiento, se cuantificó la viabilidad celular con el reactivo

CellTiter-Glo 2,0 (Promega Cat#G9243). Para ello, las placas se equilibraron a temperatura ambiente durante 30minutosy, a continuación, se añadieron 25 µL del reactivo CellTiter-Glo 2,0 a las células en los pocillos de la placa. A continuación, las placas se agitaron en un agitador durante dos minutos a 500 rpm y posteriormente se incubaron a temperatura ambiente durante 10 minutos. Tras la incubación, las placas se centrifugaron a 3000 xg durante 30 segundos, se sellaron con una cubierta adhesiva óptica y se midieron las lecturas de luminiscencia con un lector de placas EnVision.

[0813] Los datos se normalizaron usando una luminiscencia cero como valor inicial. Se aplicó un ajuste de curva de regresión no lineal de cuatro parámetros a los datos de dosis-respuesta en el software de análisis de datos GraphPad Prism para determinar la concentración inhibitoria de crecimiento medio máximo (GI_{50}) para cada compuesto de prueba.

Parte II – Resultados

[0814] Los resultados de la concentración inhibitoria de crecimiento medio máximo (GI_{50}) se proporcionan en la Tabla 7 a continuación para compuestos ilustrativos. El símbolo “++++” indica un GI_{50} menor que 0,5 µM. El símbolo “+++” indica un GI_{50} en el rango de 0,5 µM a 1,5 µM. El símbolo “++” indica un GI_{50} en el rango de mayor que 1,5 µM a 3 µM. El símbolo “+” indica un GI_{50} mayor que 3 µM.

TABLA 7.

Compuesto n.°	**GI_{50}**
I-17	++++
I-18	++++
II-4	++++
I-19	++++
I-20	++++
I-21	+++
I-22	+++
II-5	++++
I-4	++++
I-5	++++
I-6	++++
I-7	++++
I-8	++++
I-9	++++
I-10	++++
I-11	++++
I-12	++++
I-27	++++
I-28	++++
I-29	++++
I-30	++++

Compuesto n.°	**GI_{50}**
I-1	++++
I-23	+
I-24	++++
I-25	++++
II-7	++
I-26	++++
I-2	++++
I-3	+++
I-16	++++
I-53	++++
I-54	++++
I-55	++++
I-56	++++
I-57	++++
I-58	++++
I-59	++++
I-60	++++
I-61	++++
I-62	++++
I-63	++++
I-64	+++

Compuesto n.°	**GI_{50}**
I-31	++++
I-32	++++
I-33	++++
I-34	++++
I-35	++++
I-36	++++
I-37	++++
I-38	++++
I-39	++++
I-40	++++
I-13	++++
I-14	++
I-15	++++
I-41	++++
I-42	++++
I-43	++++
I-44	++++
I-45	++++
I-46	++++
I-47	++++
I-48	++++
I-49	++++
I-50	++++
I-51	++++
I-52	++++
I-88	++++
I-89	+++
I-90	++++
I-91	++++
I-92	++++
I-93	++++
I-94	++++
I-95	++++
I-96	++++
I-97	++++
I-98	++++
I-99	++++
I-100	++++
I-101	++++
II-11	++++

Compuesto n.°	**GI_{50}**
I-65	+++
I-66	++++
I-67	++++
I-68	++++
I-69	++++
I-70	++++
I-71	++++
I-72	++++
I-73	++++
I-74	++++
I-75	++++
I-76	++++
I-77	++++
I-78	++++
I-79	++++
I-80	++++
I-81	++++
I-82	++++
I-83	++++
II-1	+
II-10	++++
I-84	++++
I-85	++++
I-86	++++
I-87	++++
I-113	++++
I-114	++++
I-115	++++
I-116	++++
I-117	++++
I-118	++++
I-119	++++
I-120	++++
I-121	++++
I-122	+++
I-123	++++
I-124	++++
I-125	++++
I-126	+
I-127	++++

Compuesto n.°	GI_{50}
II-12	++++
I-102	++++
I-103	+++
I-104	+++
I-105	+++
I-106	++++
I-107	++++
I-108	++++
I-109	++++
I-110	++++
I-111	++++
I-112	++++
III-1	++++
III-2	++++

Compuesto n.°	GI_{50}
II-13	++++
I-128	++++
I-129	++++
I-130	++++
I-131	++++
I-132	++++
II-14	+
I-133	++++
I-134	+
I-135	++++
I-136	+
I-137	++++
III-3	++++

EJEMPLO 65 – Ensayo de inhibición del crecimiento celular para células T47D

[0815] Se probaron compuestos ilustrativos para determinar su capacidad de inhibir la proliferación de células T47D. Las células T47D son una línea celular de cáncer de mama humano disponible comercialmente. A continuación se proporcionan los procedimientos experimentales y los resultados.

Parte I – Procedimiento experimental

[0816] Las células T47D se adquirieron de American Type Culture Collection (ATCC Cat# HTB-133) y luego se sembraron en placas de 384 pocillos negras con fondo transparente recubiertas de poli-D-lisina a una densidad de 3000 células por pocillo en 25 µl de medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) complementado con 10 % p/p de suero fetal bovino (FBS), 0,2 unidades/mL de insulina humana recombinante (Gibco Cat# 12585014) y 1 % p/p de pen-strep. Pen-Strep es una mezcla disponible comercialmente de penicilina G y estreptomicina, que se usa en medios de cultivo de células de mamíferos para prevenir la contaminación bacteriana. El medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) complementado con 10 % p/p de suero fetal bovino (FBS), 0,2 unidades/mL de insulina humana recombinante y 1 % p/p de pen-strep se denomina en adelante medio de Tratamiento. Tras sembrar las células en las placas, las placas se centrifugaron a 300 × g durante 30 segundos, luego se equilibraron a temperatura ambiente durante 30 minutos y, finalmente, se depositaron en una incubadora de cultivo de tejidos humidificada mantenida a 37 °C con 5 % de CO_2.

[0817] Veinticuatro horas después de la siembra de las células, se prepararon diluciones del compuesto de prueba en DMSO y se disolvieron en el medio de tratamiento para lograr una concentración final de DMSO del 0,5 % p/p, obteniendo así la solución del compuesto de prueba. Se añadió una alícuota de 25 µl de la solución del compuesto de prueba a las células en las placas de cultivo. Se usó un volumen igual de una solución que contenía DMSO y medio de tratamiento como control negativo. Tras el tratamiento de las células con la solución del

compuesto de prueba o con un volumen igual de una solución que contenía DMSO y medio de tratamiento, las placas se centrifugaron a 300 × g durante 30 segundos y, a continuación, se dejaron en una incubadora durante 72 horas.

[0818] Al finalizar el período de tratamiento, se cuantificó la viabilidad celular con el reactivo CellTiter-Glo 2,0 (Promega Cat#G9243). Para ello, las placas se equilibraron a temperatura ambiente durante 30minutosy, a continuación, se añadieron 25 µL del reactivo CellTiter-Glo 2,0 a las células en los pocillos de la placa. A continuación, las placas se agitaron en un agitador durante dos minutos a 500 rpm y posteriormente se incubaron a temperatura ambiente durante 10 minutos. Tras la incubación, las placas se centrifugaron a 3000 xg durante 30 segundos, se sellaron con una cubierta adhesiva óptica y se midieron las lecturas de luminiscencia con un lector de placas EnVision (Perkin Elmer).

[0819] Los datos se normalizaron usando una luminiscencia cero como valor inicial. Se aplicó un ajuste de curva de regresión no lineal de cuatro parámetros a los datos de dosis-respuesta en el software de análisis de datos GraphPad Prism para determinar la concentración inhibitoria de crecimiento medio máximo (GI_{50}) para cada compuesto de prueba.

Parte II – Resultados

[0820] Los resultados de la concentración inhibitoria de crecimiento medio máximo (GI_{50}) se proporcionan en la Tabla 8 a continuación para compuestos ilustrativos. El símbolo “++++” indica un GI_{50} menor que 0,5 µM. El símbolo “+++” indica un GI_{50} en el rango de 0,5 µM a 1,5 µM. El símbolo “++” indica un GI_{50} en el rango de mayor que 1,5 µM a 3 µM. El símbolo “+” indica un GI_{50} mayor que 3 µM.

TABLA 8.

Compuesto n.°	**GI_{50}**
II-3	++++
II-4	++++
II-5	++++
II-6	++++
II-7	++++
II-8	+++
II-9	++++
II-2	++++
II-1	++++
II-10	++++
II-11	++++
II-12	++++
I-102	++++
I-103	+++
I-104	++

EJEMPLO 66 – Ensayos de inhibición del crecimiento celular con compuestos adicionales

[0821] Se probaron compuestos ejemplares para determinar su capacidad de inhibir la proliferación de los siguientes tipos de células: (i) una línea celular T-Rex 293 con expresión aumentada de la proteína del receptor de andrógenos debido a la exposición a la doxiciclina y (ii) células VCap, una línea celular de cáncer de próstata humano disponible comercialmente. A continuación se detallan los procedimientos experimentales y los resultados obtenidos.

Parte I – Procedimiento experimental

[0822] Para este experimento se prepararon los siguientes tipos de células: (i) una línea celular T-Rex 293 con expresión aumentada de la proteína del receptor de andrógenos debido a la exposición a la doxiciclina y (ii) células VCap, una línea celular de cáncer de próstata humano disponible comercialmente. La capacidad de los compuestos de prueba para inhibir la proliferación de los tipos de células antes mencionados se evaluó de acuerdo con los procedimientos que se establecen en los Ejemplos 63 y 64, anteriormente.

Parte II – Resultados

[0823] La relación de los resultados de la concentración inhibitoria de crecimiento medio máxima (GI_{50}) para pares de compuestos ilustrativos se proporciona en las Tablas 9 y 10 a continuación. Las relaciones informadas son el GI_{50} del compuesto superior en el par (*por ejemplo*, Compuesto B, para el primer par de compuestos) dividido por el GI_{50} del compuesto inferior en el par (*por ejemplo*, Compuesto II-5, para el primer par de compuestos). Para ilustrarlo, la Tabla 9 – Parte I informa una relación de 5,3 : 1 del GI_{50} para el Compuesto B en relación con el GI_{50} para el compuesto II-5. Esto demuestra que el Compuesto II-5 es mucho más potente que el Compuesto B, ya que el valor GI_{50} del Compuesto B es 5,3 veces mayor que el valor GI_{50} del Compuesto II-5. La Tabla 9 presenta los resultados del experimento que analiza la capacidad de los compuestos de prueba para inhibir la proliferación de la línea celular T-Rex 293, células SC3 que presentan una mayor expresión de la proteína del receptor de andrógenos debido a la exposición a la doxiciclina. La Tabla 10 proporciona los resultados del experimento que analiza la capacidad de los compuestos de prueba para inhibir la proliferación de células VCap, una línea celular de cáncer de próstata humano disponible comercialmente.

TABLA 9 – PARTE I.

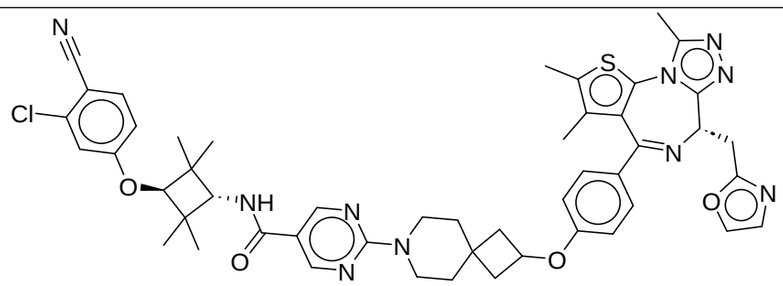
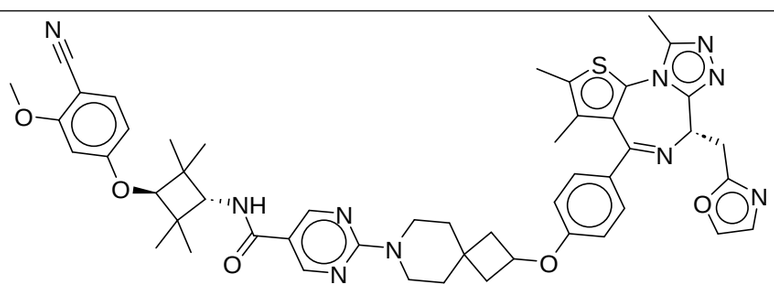
Compuesto n.°	**Estructura química**	**Relación de GI_{50}**
B		5,3
II-5		1

TABLA 9 – PARTE II.

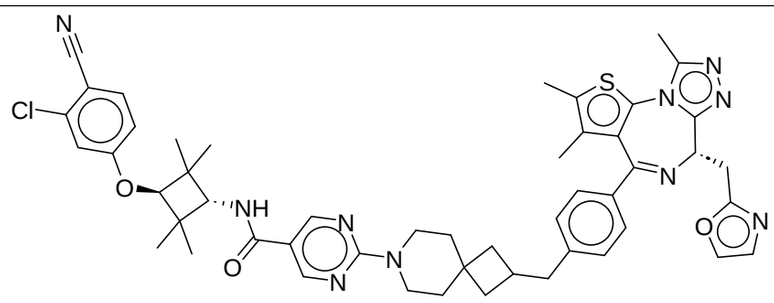
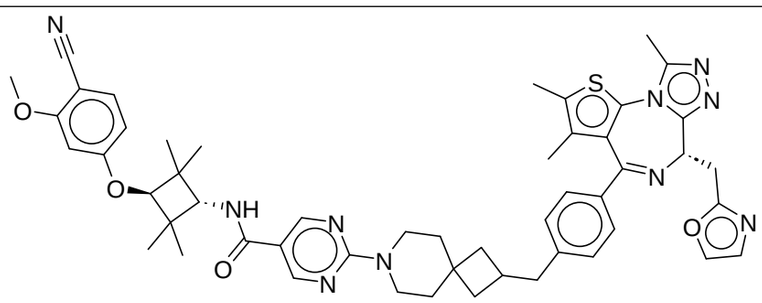
Compuesto n.°	**Estructura química**	**Relación de GI_{50}**
C		22,0
II-10		1

TABLA 9 – PARTE III.

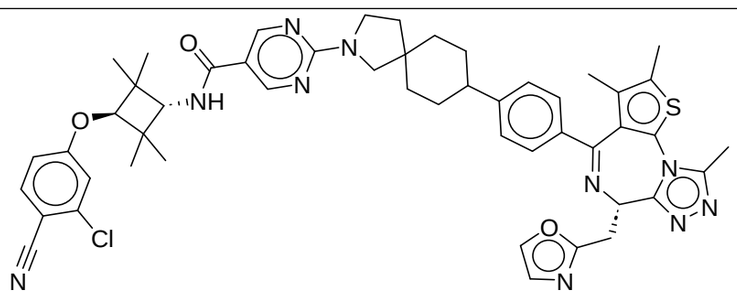
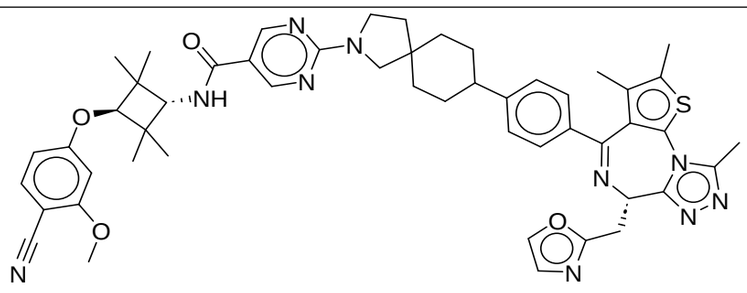
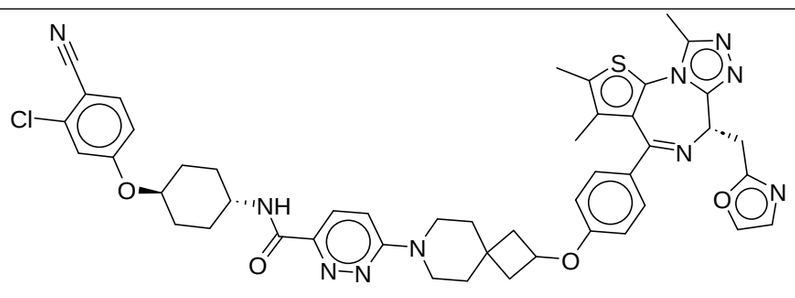
Compuesto n.°	**Estructura química**	**Relación de GI_{50}**
D		3,8
II-12		1

TABLA 9 – PARTE IV.

Compuesto n.°	**Estructura química**	**Relación de GI_{50}**
E		4,7

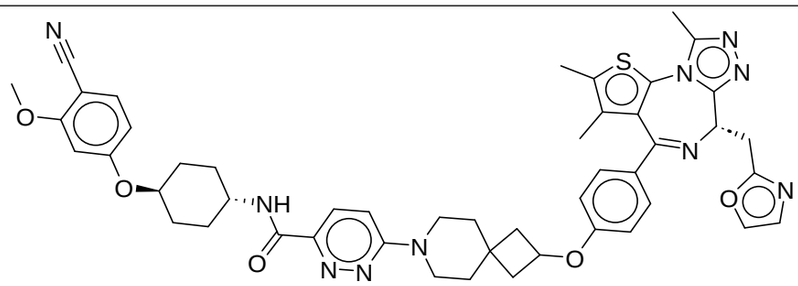
Compuesto n.°	Estructura química	Relación de GI_{50}
I-83		1

TABLA 9 – PARTE V.

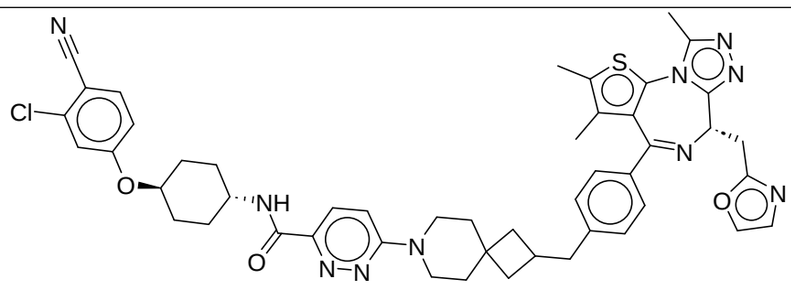
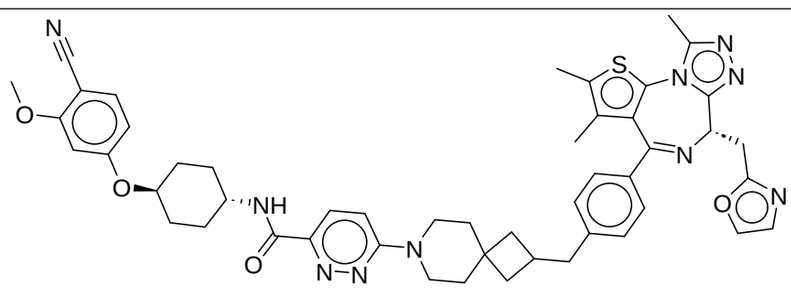
Compuesto n.°	Estructura química	Relación de GI_{50}
F		3,8
I-25		1

TABLA 9 – PARTE VI.

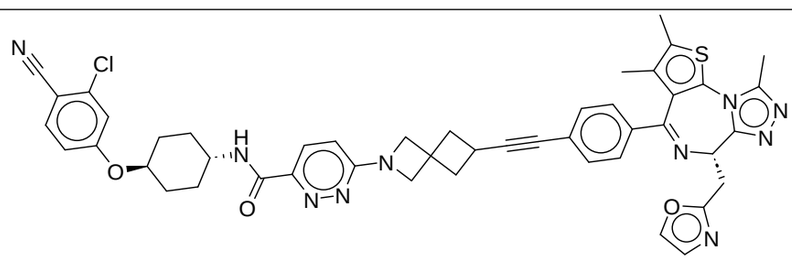
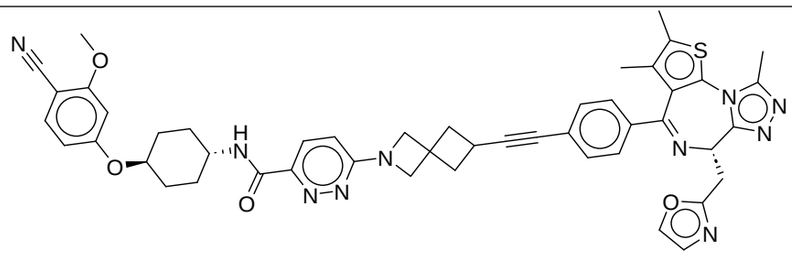
Compuesto n.°	Estructura química	Relación de GI_{50}
G		1,7
I-124		1

TABLA 9 – PARTE VII.

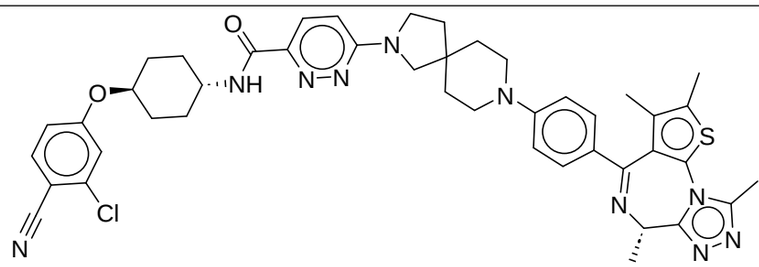
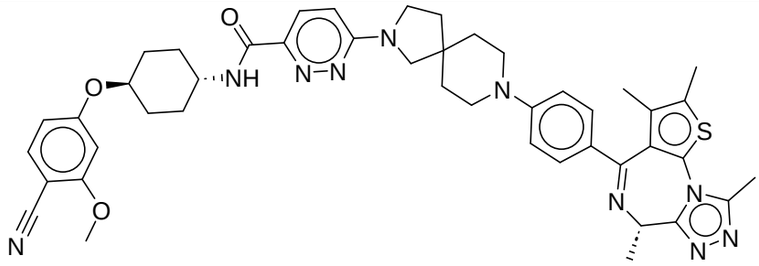
Compuesto n.°	Estructura química	Relación de GI_{50}
H		8,4
I-17		1

TABLA 9 – PARTE VIII.

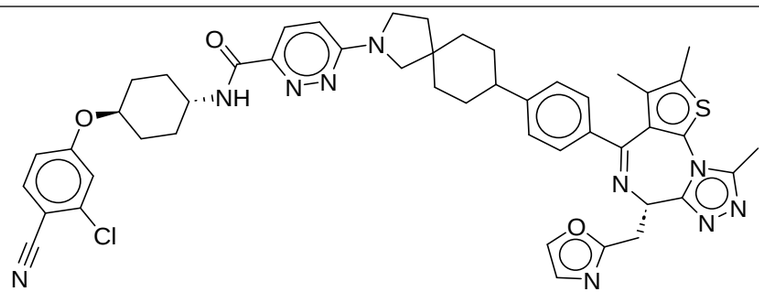
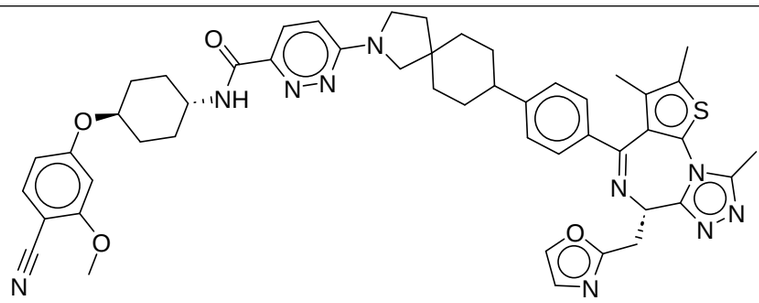
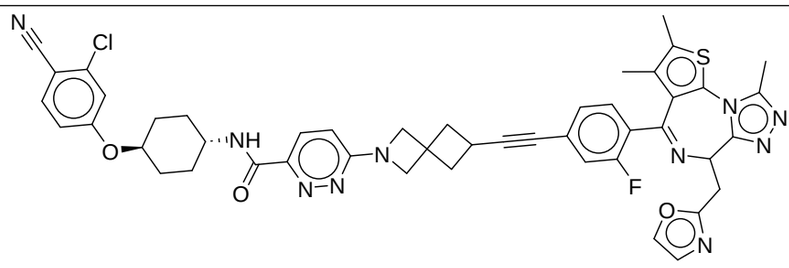
Compuesto n.°	Estructura química	Relación de GI_{50}
J		3,2
I-101		1

TABLA 9 – PARTE IX.

Compuesto n.°	Estructura química	Relación de GI_{50}
K		2,0

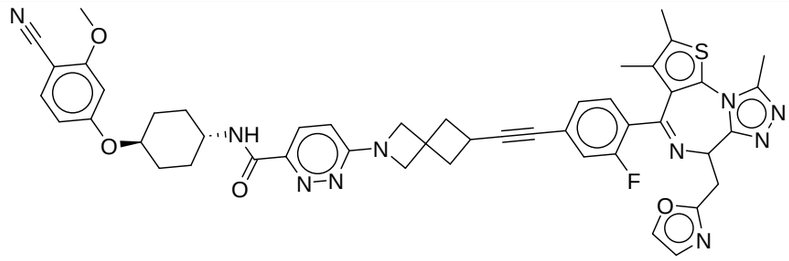
Compuesto n.°	Estructura química	Relación de GI_{50}
I-111		1

TABLA 10 – PARTE I.

Compuesto n.°	Relación de GI_{50}
B	1,3
II-5	1

TABLA 10 – PARTE II.

Compuesto n.°	Relación de GI_{50}
C	2,6
II-10	1

TABLA 10 – PARTE III.

Compuesto n.°	Relación de GI_{50}
D	6,5
II-12	1

TABLA 10 – PARTE IV.

Compuesto n.°	Relación de GI_{50}
E	4,4
I-83	1

TABLA 10 – PARTE V.

Compuesto n.°	Relación de GI_{50}
F	1,9
I-25	1

TABLA 10 – PARTE VI.

Compuesto n.°	Relación de GI_{50}
G	1,5

Compuesto n.°	Relación de GI_{50}
I-124	1

TABLA 10 – PARTE VII.

Compuesto n.°	Relación de GI_{50}
H	1,8
I-17	1

TABLA 10 – PARTE VIII.

Compuesto n.°	Relación de GI_{50}
J	3,0
I-101	1

TABLA 10 – PARTE IX.

Compuesto n.°	Relación de GI_{50}
K	1,5
I-111	1

EJEMPLO 67 – Análisis de la formación de complejos ternarios

[0824] Se probaron compuestos ilustrativos para determinar su capacidad de formar un complejo ternario que contuviera un compuesto de prueba, el receptor de andrógenos (AR) y la proteína 4 que contiene bromodominio (BRD4). A continuación se proporcionan los procedimientos experimentales y los resultados.

Parte I – Procedimiento experimental

[0825] Las células VCaP se cultivaron en medio DMEM de ATCC complementado con 10 % de suero fetal bovino de ATCC y 1 % de pen-strep (medio de cultivo). Se sembraron 5000 células en 100 µL de medio de cultivo por pocillo en una placa transparente de 96 pocillos recubierta con poli-D-lisina. Las placas se dejaron equilibrar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Tras el periodo de equilibrio, las placas se incubaron a 37 °C con 5 % de CO_2 en una incubadora de cultivo de tejidos humidificada. Se recubrieron placas MaxiSorp negras y opacas de 96 pocillos con 50 µL de una solución de anticuerpo contra el receptor de andrógenos diluida en solución salina amortiguada con fosfato (PBS). A continuación, las placas recubiertas se centrifugaron rápidamente durante 30 segundos antes de sellarlas y colocarlas en un frigorífico a 4 °C durante toda la noche. Los compuestos de prueba se titularon en DMSO al 100 % el día anterior a la realización del experimento y se dejaron sellados en el desecador durante la noche. El kit de sustrato quimiofluorescente mejorado QuantaRed™ para HRP se sacó de 4 °C para que alcanzara la temperatura ambiente. Las placas recubiertas con anticuerpos contra el receptor de andrógenos se lavaron tres veces con 200 µL de solución salina amortiguada con Tris 1x más 0,1 % de Tween20 (TBST), y luego se bloquearon con 200

µL de albúmina de suero bovino al 3 % en TBST durante aproximadamente 2 horas en un agitador de placas a temperatura ambiente a 500 rpm durante 1 hora. Las titulaciones de los compuestos de prueba se diluyeron en medio de cultivo. Se añadieron 100 µL de la mezcla de compuesto/medio a las células, lo que elevó el volumen total a 200 µL por pocillo. Se usó DMSO como un control negativo.

[0826] Los compuestos de prueba usados en este experimento fueron (i) el Compuesto II-5, (ii) el componente del Compuesto II-5 que se une al receptor de andrógenos y (iii) el componente del Compuesto II-5 que se une a la proteína BRD4.

Parte II – Resultados

[0827] La formación de un complejo ternario detectado entre el compuesto de prueba, el receptor de andrógenos y la proteína BRD4 se muestra en la Figura 1. Los resultados de la Figura 1 muestran que se detectó la formación de un complejo ternario entre el compuesto de prueba, el receptor de andrógenos y BRD4 cuando se usó el Compuesto II-5, mientras que no se detectó una formación significativa de un complejo ternario cuando el compuesto de prueba era (a) el componente del Compuesto II-5 que se une al receptor de andrógenos o (b) el componente del Compuesto II-5 que se une a la proteína BRD4.

<u>EJEMPLO 68</u> – Análisis de la formación de complejos ternarios en células TRex293

[0828] Se probó la capacidad del Compuesto II-5 para formar un complejo ternario que contuviera el Compuesto II-5, el receptor de andrógenos y la proteína 4 que contiene bromodominio (BRD4) usando células TRex293 inducidas a expresar niveles elevados del receptor de andrógenos. A continuación se proporcionan los procedimientos experimentales y los resultados.

Parte I – Procedimiento experimental

[0829] Se generaron células TRex293 que expresan el receptor de andrógenos inducible por doxiciclina WT, T878A, L702H y H875Y y se cultivaron en medio DMEM complementado con 10 % de suero fetal bovino inactivado por calor y 1 % de pen-strep (medio de cultivo). Se sembraron 25.000 células por pocillo en 100 µL de DMEM libre de rojo de fenol que contenía 10 % de CSS, 1 % de pen strep y 10 ng/mL de doxiciclina en una placa transparente de 96 pocillos recubierta con poli-D-lisina. Las placas se incubaron a 37 °C. Las placas MaxiSorp negras y opacas de 96 pocillos se recubrieron con 50 µL de anticuerpo contra el receptor de andrógenos diluido en solución salina amortiguada con fosfato (PBS). Las placas recubiertas se sellaron y se colocaron a 4 °C durante toda la noche. Las placas recubiertas con anticuerpos contra el receptor de andrógenos se lavaron tres veces con 200 µL de solución salina amortiguada con tris 1x más 0,1 % de Tween20 (TBST), y luego se bloquearon con 200 µL de albúmina de suero bovino al 3 % en TBST durante 1 hora a temperatura ambiente. Las titulaciones del compuesto de prueba se diluyeron en medio de cultivo. Se añadieron 100 µL de la mezcla de compuesto de prueba/medio a la placa de células. Tras el tratamiento, las placas se incubaron durante 1 hora. Luego, las células se lavaron una vez con 250 µL de PBS 1x. Se agregaron 50 µL de amortiguador de lisis de tecnología de señalización celular 1x, inhibidor de fosfatasa/proteasa y nucleasa a cada pocillo celular, luego se colocaron en un agitador de placas en un refrigerador a 4 °C a 400 rpm durante 20 minutos. Los lisados se transfirieron a la placa ELISA MaxiSorp negra. La placa se cubrió con papel de aluminio y se colocó en un agitador de placas a temperatura ambiente a 500 rpm durante 1 hora. Los lisados

se retiraron de la placa y se lavaron tres veces con TBST. Se añadieron 50 µL de anticuerpo HRP-BRD4 diluido en TBST a la placa MaxiSorp negra. La placa se cubrió con un papel de aluminio y se colocó en un agitador de placas a temperatura ambiente a 500 rpm durante 1 hora. La solución de anticuerpos HRP-BRD4 se agitó y se lavó tres veces con TBST. Luego se lavó tres veces con PBS. Se preparó la solución del kit de sustrato quimifluorescente HRP mejorado QuantaRed™ y se añadieron 100 µL a cada pocillo. La placa se cubrió con papel de aluminio y se incubó en un cajón durante 1 hora. La lectura del criterio de valoración por fluorescencia se realizó en un lector de placas SpectraMax.

Parte II – Resultados

[0830] La formación del complejo ternario detectado entre el Compuesto II-5, el receptor de andrógenos y la proteína BRD4 se muestra en la Figura 2. Los resultados de la Figura 2 muestran que la formación del complejo ternario entre el Compuesto II-5, el receptor de andrógenos y BRD4 se detectó usando células Trex293 modificadas genéticamente para expresar wtAR y los mutantes AR T878A, L702H y H875Y.

EJEMPLO 69 – Ensayo para la inhibición del crecimiento de células VCaP

[0831] Se probó el Compuesto II-5 para determinar su capacidad de inhibir el crecimiento de células VCaP. A continuación se proporcionan los procedimientos experimentales y los resultados.

Parte I – Procedimiento experimental

[0832] Las células VCaP se mantuvieron en medios de cultivo estándar (DMEM ATCC más 10 % de suero fetal bovino ATCC y 1 % de pen-strep). Las células se sembraron en 25 µl de medio de cultivo estándar en placas de 384 pocillos negras con fondo transparente recubiertas de poli-D-lisina a una densidad de 3000 células por pocillo para un tratamiento continuo. Se preparó una placa adicional en las mismas condiciones, que sirvió como placa del día 0. Tras la siembra, las placas se centrifugaron a 300 × g durante 30 segundos y se cultivaron a 37 °C con 5 % de CO_2 en una incubadora de cultivo de tejidos humidificada.

[0833] Veinticuatro horas después de la siembra, el Compuesto II-5 se tituló en DMSO al 100 % y se diluyó en medio de cultivo estándar. Se añadieron 25 µL de la mezcla de compuesto/medio a las células, alcanzando un volumen total de 50 µL en cada pocillo. Como control negativo, se utilizó DMSO sin el Compuesto II-5. La placa del día 0 fue tratada con el mismo porcentaje de DMSO que se usó en la mezcla de compuesto/medio, pero no contenía ningún compuesto. Después el tratamiento, las placas se centrifugaron a 300 × g durante 30 segundos, luego se cultivaron a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 7 días en una incubadora de cultivo de tejidos humidificada. La viabilidad celular en la placa del día 0 se cuantificó con el reactivo CellTiter-Glo 2,0 inmediatamente después del tratamiento, en las mismas condiciones que se usan a continuación para medir la viabilidad celular. En el día 7 del tratamiento, la viabilidad celular se cuantificó con el reactivo CellTiter-Glo 2,0 (Promega). Las placas se equilibraron a temperatura ambiente durante 30 minutos, luego se agregaron 25 µL de reactivo CellTiter-Glo 2,0 a las células, lo que llevó el volumen total en cada pocillo a 75 µL. Después de agregar el reactivo, las placas se centrifugaron a 3000 x g durante 30 segundos, luego se mezclaron en un agitador durante dos minutos a 500 rpm y luego se incubaron a temperatura ambiente durante 10 minutos. Tras la incubación, las placas se centrifugaron a 300 xg durante 30 segundos, se sellaron con una cubierta adhesiva óptica y se midió la luminiscencia con un

lector de placas EnVision.

[0834] Los datos se normalizaron con respecto a la señal de luminiscencia promedio del día 0 para establecer un valor inicial. Se aplicó un ajuste de curva de regresión no lineal de cuatro parámetros a los datos de dosis-respuesta en el software de análisis de datos GraphPad Prism para determinar la concentración inhibitoria de crecimiento medio máximo (GI_{50}) para el Compuesto II-5.

Parte II – Resultados

[0835] En la Figura 3 se proporciona una curva de dosis-respuesta de viabilidad celular obtenida para el Compuesto II-5 siguiendo los procedimientos anteriores.

EJEMPLO 70 – Análisis del rendimiento *in vivo* de un compuesto heterobifuncional ejemplar

[0836] El Compuesto II-5 se evaluó para determinar su rendimiento *en vivo* cuando se administró a ratones CB17.SCID portadores de tumores de células VCaP. A continuación se proporcionan los procedimientos experimentales y los resultados.

Parte I – Procedimiento experimental

A. Estudios de xenoinjertos de tumores VCaP

[0837] Se implantaron 5M células VCaP por vía subcutánea en ratones CB17.SCID en Matrigel al 50 % (Corning). Los ratones fueron castrados bajo anestesia una vez que el volumen de los tumores alcanzó los 100 mm^3. Posteriormente, se permitió que los tumores alcanzaran un tamaño promedio de aproximadamente 150 mm^3 antes de su asignación aleatoria a los grupos de eficacia. Los tumores se midieron dos veces por semana para el cálculo de la inhibición del crecimiento tumoral (TGI). Para el análisis PK/PD, se permitió que los tumores alcanzaran un promedio de 400 mm^3, antes de administrar a los ratones el compuesto de prueba mediante sonda oral (n=5) durante siete días. Los ratones fueron sacrificados 24 horas después de la última dosis y los tumores fueron extraídos para su posterior análisis. Se recogieron muestras de plasma de todos los ratones tratados 2 horas después de la última dosis para determinar la exposición al compuesto de prueba mediante LC-MS/MS. Los compuestos de prueba usados en el experimento fueron (i) el Compuesto II-5 y (ii) un medicamento antiandrógeno no esteroideo disponible comercialmente que ha sido aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos para el tratamiento del cáncer de próstata (en adelante, "Compuesto A").

B. Ensayo de trímero TR-FRET tumoral

[0838] Los tumores obtenidos del modelo VCaP de castración se lisaron en un amortiguador de lisis de Cell Signaling Technology complementado con inhibidores de proteasa/fosfatasa y nucleasa. Cada tumor se lisó en 10 µL de amortiguador de lisis por mg de tumor y se colocó en un TissueLyser durante 4 minutos a 20 Hz. Cada muestra se centrifugó a 16.000 x g durante 10 minutos, se retiró el sobrenadante y se realizó un ensayo BCA para cuantificar la concentración total de proteínas en cada muestra. En una placa blanca opaca de 384 pocillos, cada muestra se diluyó en amortiguador de lisis CST complementado a 48 y 24 µg de proteína en un volumen total de 16 µL. Se mezclaron 4 µL de una mezcla 1:1 de anticuerpos anti-receptor de andrógenos y anti-BRD4 con fluoróforos de donante y aceptores en cada pocillo que contenía muestras de tumores. La placa se centrifugó a 300 x g durante un minuto, se colocó en un agitador de placas a 400 RPM durante 10 minutos, se volvió a

centrifugar a 300 x g durante un minuto, luego se selló con una cinta adhesiva para placas y se almacenó durante la noche. Aproximadamente 16 horas después de añadir los anticuerpos, la placa se leyó en un lector de placas Envision. El valor ratiométrico de cada pocillo se calculó dividiendo la señal del aceptor entre la señal del donante y multiplicando por 10.000.

C. Determinación de la cantidad de ARN mediante qPCR en vivo

[0839] Los tumores se lisaron en 1,5 ml de amortiguador RLT del kit RNeasy Mini (#74104, Qiagen) y se granularon. El ARN total se aisló usando el kit RNeasy Mini siguiendo las instrucciones del fabricante. Tras la cuantificación, se usó 1 µg de ARN de cada muestra como plantilla para la síntesis de ADN-C de primera cadena con el kit de síntesis de ADNc Verso (#AB1453B, ThermoFisher) y la reacción de qRT-PCR se realizó usando TaqMan Fast Advanced Master Mix (#4444964, ThermoFisher) con el sistema de PCR en tiempo real QuantStudio 5 (#A28570, ThermoFisher) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las sondas TaqMan específicas para cada gen usadas en la qRT-PCR fueron adquiridas a Thermofisher y son HEXIM1 (#Hs00538918_s1), HPRT (#Hs99999909_m1), cMYC (#Hs00153408_m1) y TXNIP (#Hs00197750_m1). Todas las reacciones de PCR se realizaron por triplicado técnico.

D. Análisis de PSA en plasma

[0840] Todos los reactivos para el ensayo se proporcionaron en el kit ELISA de antígeno prostático específico humano (PSA) (ab113327, Abcam). Se recogieron muestras de plasma al final del modelo de xenoinjerto tumoral VCaP de castración descrito anteriormente y se diluyeron en el diluyente de ensayo A para que la señal de absorbancia estuviera dentro del rango lineal de la curva estándar de PSA humana recombinante. Las muestras diluidas y el estándar de PSA se cargaron en una placa de ensayo previamente recubierta y se incubaron durante 2,5 horas a temperatura ambiente. Se retiraron las muestras y los estándares, se lavó la placa y se añadió el anticuerpo de detección de PSA biotinilado, incubándose durante 1 hora. Se retiró el anticuerpo de detección, se lavó la placa y se añadió HRP-estreptavidina, incubándose durante 45 minutos. Se retiró la HRP-estreptavidina, se lavó la placa y se añadió el sustrato TMB, incubándose durante 30 minutos mientras se leía la absorbancia a 620 nm en el SpectraMax M5e, durante un máximo de 30 minutos. La solución de detención se añadió directamente sobre el sustrato de TMB. La lectura de criterio de valoración se obtuvo a una absorbancia de 450 nm. Durante el análisis, las absorbancias de las muestras se multiplicaron por el factor de dilución para calcular la concentración de PSA.

Parte II – Resultados

[0841] Se observó la formación de un complejo ternario entre el Compuesto II-5, el receptor de andrógenos y la proteína BRD4, y los resultados se proporcionan en la Figura 4. La Figura 4 es un gráfico que muestra la formación relativa del complejo ternario presente con el tratamiento del Compuesto II-5 en dosis variables en muestras recogidas al final del estudio del modelo de xenoinjerto tumoral VCaP de castración PK/PD. En la Figura 4, la dosis 2 es dos veces mayor que la dosis 1, y la dosis 3 es dos veces mayor que la dosis 2.

[0842] La cantidad total relativa de ARNm de cMYC presente en los tumores recolectados al final del modelo VcaP de castración $V7^{+}$, PK/PD Ar^{amp}, para cada una de las diferentes cantidades de dosis del Compuesto II-5, se proporciona en la Figura 5. En la Figura 5, la dosis 2 es dos veces mayor que la dosis 1, y la dosis 3 es dos veces mayor que la dosis 2.

[0843] La cantidad total relativa de ARNm de HEXIM1 presente en los tumores recogidos al final del modelo VcaP de castración $V7^+$, PK/PD Ar^{amp}, para cada una de las diferentes dosis del Compuesto II-5, se proporciona en la Figura 6. En la Figura 6, la dosis 2 es dos veces mayor que la dosis 1, y la dosis 3 es dos veces mayor que la dosis 2. En la Figura 7, la dosis 2 es dos veces mayor que la dosis 1, y la dosis 3 es dos veces mayor que la dosis 2.

[0844] La cantidad total relativa de ARNm de TXNIP presente en los tumores recogidos al final del modelo VcaP de castración $V7^+$, PK/PD Ar^{amp}, para cada una de las diferentes dosis del Compuesto II-5, se proporciona en la Figura 7.

[0845] La capacidad del Compuesto II-5 para inhibir el crecimiento tumoral queda demostrada por los resultados de la Figura 8, que es un gráfico que muestra el volumen tumoral en ratones a los que se les administró el Compuesto II-5, el Compuesto A o el vehículo. Los datos de la Figura 8 se recogieron en ratones en los que la cantidad de dosis en mg/kg del Compuesto II-5 usada en el experimento fue la misma cantidad de dosis usada para el Compuesto A, y la frecuencia de dosificación fue la misma para cada uno de los Compuestos II-5 y A. Los resultados de la Figura 8 muestran que el Compuesto II-5 fue más eficaz en la reducción del crecimiento tumoral en este experimento que el Compuesto A. En la Figura 9 se muestra un gráfico que muestra el cambio en el tamaño de los tumores al final del estudio en relación con el valor inicial. Los datos de la Figura 9 se recogieron en ratones en los que la cantidad de dosis en mg/kg del Compuesto II-5 usada en el experimento fue la misma cantidad de dosis usada para el Compuesto A, y la frecuencia de dosificación fue la misma para cada uno de los Compuestos II-5 y A.

[0846] En la Figura 10 se muestran los niveles plasmáticos de PSA determinados en ratones al final del estudio para los ratones tratados con el Compuesto II-5, el Compuesto A o el vehículo. Los datos de la Figura 10 se recopilaron en ratones en los que la dosis en mg/kg del Compuesto II-5 usada en el experimento fue la misma que la usada para el Compuesto A, y la frecuencia de administración fue la misma para cada uno de los Compuestos II-5 y A.

EJEMPLO 71 – Análisis del rendimiento *in vivo* de un compuesto heterobifuncional ilustrativo

[0847] El Compuesto II-5 se evaluó para determinar su rendimiento *en vivo* cuando se administró a ratones NSG portadores de tumores de células LNCaP95. A continuación se proporcionan los procedimientos experimentales y los resultados.

Parte I – Procedimiento experimental

A. Estudios de xenoinjertos de tumores LNCaP95

[0848] Se castraron ratones NSG machos bajo anestesia y, siete días después, se implantaron subcutáneamente en el flanco derecho de los ratones 5M células LNCaP95 en Matrigel al 50 % (Corning). Posteriormente, se permitió que los tumores alcanzaran un tamaño promedio de aproximadamente 150 mm^3 antes de su asignación aleatoria a los grupos de eficacia. Los tumores se midieron dos veces por semana para el cálculo de la inhibición del crecimiento tumoral (TGI). El compuesto de prueba fue administrado a ratones mediante sonda gástrica oral. Los compuestos de prueba usados en el experimento fueron (i) el Compuesto II-5 y (ii) un medicamento antiandrógeno no esteroideo disponible comercialmente que ha sido aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos para el tratamiento del cáncer de próstata (en adelante, "Compuesto A").

[0849] En una primera rama del experimento, el Compuesto II-5 se administró a ratones de acuerdo con un primer régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue la misma que la usada para el vehículo y para el Compuesto A. En una segunda rama del experimento, el Compuesto II-5 se administró a ratones de acuerdo con un segundo régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue el doble de frecuente que la usada para el vehículo y para el Compuesto A. Tanto en la primera como en la segunda rama del experimento, la cantidad del Compuesto II-5 administrada en cada evento de dosificación fue un 50 % mayor en mg/kg que la cantidad del Compuesto A administrada en cada evento de dosificación.

B. Análisis de PSA en plasma

[0850] Todos los reactivos para el ensayo se proporcionaron en el kit ELISA de antígeno prostático específico humano (PSA) (ab113327, Abcam). Se recogieron muestras de plasma al final del modelo de xenoinjerto tumoral descrito anteriormente y se diluyeron en el diluyente de ensayo A para que la señal de absorbancia estuviera dentro del rango lineal de la curva estándar de PSA humana recombinante. Las muestras diluidas y el estándar de PSA se cargaron en una placa de ensayo previamente recubierta y se incubaron durante 2,5 horas a temperatura ambiente. Se retiraron las muestras y los estándares, se lavó la placa y se añadió el anticuerpo de detección de PSA biotinilado, incubándose durante 1 hora. Se retiró el anticuerpo de detección, se lavó la placa y se añadió HRP-estreptavidina, incubándose durante 45 minutos. Se retiró la HRP-estreptavidina, se lavó la placa y se añadió el sustrato TMB, incubándose durante 30 minutos mientras se leía la absorbancia a 620 nm en el SpectraMax M5e, durante un máximo de 30 minutos. La solución de detención se añadió directamente sobre el sustrato de TMB. La lectura de criterio de valoración se obtuvo a una absorbancia de 450 nm. Durante el análisis, las absorbancias de las muestras se multiplicaron por el factor de dilución para calcular la concentración de PSA.

Parte II – Resultados

[0851] Los resultados se proporcionan en las Figuras 11, 12 y 13. La Figura 11 proporciona un gráfico que muestra el volumen del tumor en ratones tratados con (i) vehículo, (ii) Compuesto II-5 de acuerdo con un primer régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue la misma que la usada para el vehículo y para el Compuesto A, (iii) Compuesto II-5 de acuerdo con un segundo régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue el doble de frecuente que la usada para el vehículo y para el Compuesto A, o (iv) Compuesto A.

[0852] Un gráfico que muestra el cambio en el tamaño de tumores al final del estudio en relación con el valor inicial se muestra en la Figura 12 para ratones tratados con (i) vehículo, (ii) Compuesto II-5 de acuerdo con un primer régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue la misma que la usada para el vehículo y para el Compuesto A, (iii) Compuesto II-5 de acuerdo con un segundo régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue el doble de frecuente que la usada para el vehículo y para el Compuesto A, o (iv) Compuesto A.

[0853] En la Figura 13 se muestran niveles plasmáticos de PSA determinados en ratones al final del estudio para ratones tratados con (i) vehículo, (ii) Compuesto II-5 de acuerdo con un primer régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue la misma que la

usada para el vehículo y para el Compuesto A, (iii) Compuesto II-5 de acuerdo con un segundo régimen de dosificación en el que la frecuencia de dosificación fue el doble de frecuente que la usada para el vehículo y para el Compuesto A, o (iv) Compuesto A.

EJEMPLO 72 – Análisis del rendimiento *in vivo* relativo de compuestos heterobifuncionales ilustrativos

[0854] El Compuesto II-5 y el Compuesto B (representados en el Ejemplo 66, anteriormente) se evaluaron para determinar su rendimiento *en vivo* cuando se administraron a ratones CB17.SCID portadores de tumores de células VCaP. Los procedimientos experimentales se describen en el Ejemplo 70, anteriormente. El Compuesto II-5 y el Compuesto B se administraron a la misma dosis y con la misma frecuencia de dosificación. Los resultados se proporcionan a continuación.

[0855] Se observó la formación de un complejo ternario entre el Compuesto II-5 (o Compuesto B), el receptor de andrógenos y la proteína BRD4, y los resultados se proporcionan en la Figura 20. La Figura 20 es un gráfico que muestra la formación relativa del complejo ternario presente en muestras recogidas al final del estudio del modelo de xenoinjerto tumoral VCaP de castración PK/PD, para ratones tratados con el Compuesto II-5, Compuesto B o vehículo.

[0856] La cantidad total relativa de ARNm de cMYC presente en los tumores recogidos al final del modelo VcaP de castración $V7^{+}$, PK/PD Ar^{amp}, para cada uno del Compuesto II-5 y el Compuesto B, se proporciona en la Figura 21.

[0857] La cantidad total relativa de ARNm de HEXIM1 presente en los tumores recogidos al final del modelo VcaP de castración $V7^{+}$, PK/PD Ar^{amp}, para cada uno del Compuesto II-5 y el Compuesto B, se proporciona en la Figura 22.

EJEMPLO 73 – Análisis del rendimiento *in vivo* relativo de compuestos heterobifuncionales ilustrativos

[0858] El Compuesto II-5 y el Compuesto B (representados en el Ejemplo 66, anteriormente) se evaluaron para determinar su rendimiento *en vivo* cuando se administraron a ratones NSG portadores de tumores de células LNCaP95. Los procedimientos experimentales se describen en el Ejemplo 71, anteriormente. El Compuesto II-5 y el Compuesto B se administraron a la misma dosis y con la misma frecuencia de dosificación. Los resultados se proporcionan en la Figura 23, que proporciona un gráfico que muestra el volumen del tumor en ratones tratados con (i) vehículo, (ii) el Compuesto II-5 o (iii) el Compuesto B.

EJEMPLO 74 – Ensayo de TE celular BRD4 con receptor de andrógenos inducible

[0859] El Compuesto II-5 y el Compuesto B se probaron en un ensayo de TE celular BRD4 con receptor de andrógenos inducible (AR). A continuación se proporcionan los procedimientos experimentales y los resultados.

Parte I – Procedimiento experimental

[0860] Se adquirieron células HEK293 con NanoLuc insertado en loci BRD4 endógenos mediante CRISPR/Cas para crear una proteína de fusión BRD4nluc de Promega. Posteriormente, estas células fueron transfectadas de forma estable con el receptor de andrógenos (AR) inducible por doxiciclina. Las células se sembraron a una densidad de 10 millones de células, con o sin 100 ng/ml de doxiciclina, en matraces T175 cm^2 y se incubaron

a 37 °C con 5 % de CO_2 en una incubadora de cultivo de tejidos humidificada durante 16 horas. Las células se cultivaron en medio DMEM complementado con 10 % de suero fetal bovino libre de tetraciclina y 1 % de pen strep. Tras 16 horas de incubación, las células se recogieron y sembraron en Opti-MEM libre de rojo de fenol (Thermo 11058021) a una densidad de 24.000 células/pocillo en una placa Opti-plate LBS blanca de 384 pocillos (Revvity 6057480), luego se centrifugaron durante 30 segundos a 300 g. Posteriormente, las células fueron tratadas con el Compuesto II-5 o el Compuesto B titulados en DMSO al 100 % y diluidos aún más en Opti-MEM libre de rojo de fenol. La placa se centrifugó a 300 g durante 30 segundos, se colocó en un agitador durante 30 segundos a 700 rpm y se introdujo en la incubadora durante 4 horas. Después de 4 horas, el trazador Promega BRD4 se diluyó en amortiguador de dilución de trazadores y se añadió a la placa (Kit Nano BRET: N2131 Promega). La placa se centrifugó, luego se colocó a temperatura ambiente en un agitador de placas y se devolvió a la incubadora durante 2 horas. Posteriormente, la placa se enfrió a temperatura ambiente durante 15 minutos, luego se añadió el sustrato y el inhibidor extracelular diluidos en Opti-MEM siguiendo las instrucciones del fabricante. La placa se colocó en un agitador a 700 rpm durante 30 segundos, se incubó durante 3 minutos y se colocó en un lector de placas Envision para capturar la señal BRET. Se calculó una relación con los datos de acuerdo con la siguiente fórmula: (Señal del aceptor/Señal del donante) x 1000. Los datos se normalizaron con respecto al control del vehículo.

Parte II – Resultados

[0861] En la Figura 24 se muestran las curvas dosis-respuesta obtenidas para cada uno del Compuesto II-5 y Compuesto B, con y sin inducción del receptor de andrógenos (AR), siguiendo los procedimientos descritos anteriormente.

INCORPORACIÓN MEDIANTE REFERENCIA

[0862] La divulgación completa de cada uno de los documentos de patentes y artículos científicos a los que se hace referencia en la presente se incorpora por referencia para todos los efectos.

EQUIVALENTES

[0863] La invención se puede emplear en otras formas específicas sin apartarse de su espíritu o características esenciales. Por lo tanto, las modalidades antes mencionadas deben considerarse en todos los aspectos ilustrativos y no limitantes de la invención descrita en la presente. Por consiguiente, el alcance de la invención queda indicado por las reivindicaciones adjuntas, en lugar de por la descripción anterior, y se pretende que todos los cambios que se encuentren dentro del significado y el rango de equivalencia de las reivindicaciones estén comprendidos en ellas.