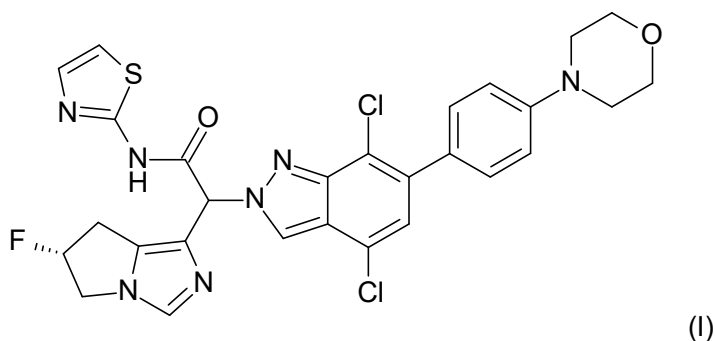


INHIBIDOR DE EGFR PARA EL TRATAMIENTO DE CÁNCER

La presente invención proporciona un compuesto que es un inhibidor alostérico selectivo de T790M/L858R, T790M/L858R/C797S, L858R, L858R/C797S que contiene mutantes de EGFR, su fabricación, composiciones farmacéuticas que lo contienen y su uso como una sustancia terapéuticamente activa.

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) novedoso



o sales farmacéuticamente aceptables.

Los receptores tirosina quinasa de la familia HER son mediadores del crecimiento, la diferenciación y la supervivencia celulares. La familia de receptores incluye cuatro miembros distintos, a saber, el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, ErbB1 o HER1), HER2 (ErbB2), HER3 (ErbB3) y HER4 (ErbB4). Después de la unión a ligandos, los receptores forman homodímeros y heterodímeros, y la posterior activación de la actividad intrínseca de la tirosina quinasa produce la autofosforilación de receptores y la activación de moléculas de señalización corriente abajo (Yarden, Y., Sliwkowski, MX. Untangling the ErbB signalling network. Nature Review Mol Cell Biol. 2001 feb;2(2): 127-37). La desregulación de EGFR por sobreexpresión o mutación se vio implicada en muchos tipos de cáncer humano, que incluyen cáncer colorrectal, cáncer pancreático, gliomas, cáncer de cabeza y cuello y cáncer de pulmón, en particular, cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), y con el correr de los años se han desarrollado varios agentes que actúan sobre EGFR (Ciardiello, F., and Tortora, G. (2008). EGFR antagonists in cancer treatment. The New England journal of medicine 358, 1160-1174). Erlotinib (Tarceva®), un inhibidor reversible de tirosina quinasa EGFR, fue aprobado en numerosos países para el tratamiento de NSCLC recidivante.

Se observa una actividad impresionante de un solo agente de inhibidores de tirosina quinasa EGFR en un subconjunto de pacientes con NSCLC cuyos tumores tienen mutaciones somáticas de dominio quinasa, mientras que el beneficio clínico en los pacientes con EGFR de tipo silvestre disminuye considerablemente (Paez, J. *et al.* (2004). EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* (Nueva York, NY 304, 1497-1500). Las mutaciones somáticas más comunes de EGFR son eliminaciones del exón 19, en donde delta 746- 750 es la mutación más prevalente, y las sustituciones de aminoácidos en el exón 21, en donde L858R es la mutación más frecuente (Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer*. 2007 Mar;7(3): 169-81).

La resistencia al tratamiento surge con frecuencia, en muchos casos debido a la mutación secundaria de T790M dentro del sitio de ATP del receptor. Algunos inhibidores irreversibles selectivos de mutante desarrollados son altamente activos contra el mutante de T790M, pero su eficacia puede verse perjudicada por mutación adquirida de C797S, que es el residuo de cisteína con el que forman un enlace covalente clave (Thress, K. S. *et al.* Acquired EGFR C797S mutation mediates resistance to AZD9291 in non-small cell lung cancer harboring EGFR T790M. *Nat. Med.* 21, 560–562 (2015)). Además, según Wang, la mutación de C797S es un mecanismo principal para resistencia a inhibidores de EGFR que actúan sobre T790M (Wang *et al.* **EGFR** C797S mutation mediates resistance to third-generation inhibitors in T790M-positive non-small cell lung cancer, *J Hematol Oncol.* 2016; 9: 59). Yang describe las mutaciones adicionales que causan resistencia a Osimertinib, por ejemplo, en L718Q. (Yang *et al.*, Investigating Novel Resistance Mechanisms to Third-Generation EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor Osimertinib in Non-Small Cell Lung Cancer Patients, *Clinical Cancer Research*, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2310) informe de Lu *et al.* (Targeting EGFR^{L858R/T790M} and EGFR^{L858R/T790M/C797S} resistance mutations in NSCLC: Current developments in medicinal chemistry, *Med Res Rev* 2018; 1-32) en un artículo de revisión sobre mutaciones de resistencia EGFR^{L858R/T790M} y EGFR^{L858R/T790M/C797S} diana en tratamiento de NSCLC.

Debido a que la mayor parte de los inhibidores de tirosina quinasa EGFR disponibles actúa sobre el sitio ATP de la quinasa, existe una necesidad de nuevos agentes terapéuticos que funcionen de manera diferente, por ejemplo, que actúen sobre mutantes de EGFR resistentes al fármaco.

Estudios recientes sugieren que actuar deliberadamente sobre sitios alostéricos puede dar lugar a inhibidores selectivos de mutante (Jia *et al.* Overcoming EGFR(T790M) and

EGFR(C797S) resistance with mutant-selective allosteric inhibitors, junio 2016, Nature 534, 129-132).

Es necesaria la generación de moléculas selectivas que inhiban específicamente T790M/L858R, T790M/L858R/C797S, L858R, L858R/C797S que contienen mutantes de EGFR útiles para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de cáncer, en particular mutantes de EGFR que contengan T790M y C797S.

WO2009158369 describe algunos agentes antibacteriales heterocíclicos. WO2016183534 describe algunos compuestos heterocíclicos adecuados como inhibidores de EBNA1. WO2011128279 describe algunos compuestos heterocíclicos adecuados como moduladores de mGluR5.

La expresión “sales farmacéuticamente aceptables” se refiere a aquellas sales que conservan la eficacia y las propiedades biológicas de las bases libres o los ácidos libres, que no son biológicamente o de otro modo convenientes. Las sales se forman con ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, en particular, ácido clorhídrico, y ácidos orgánicos, tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido salicílico, N-acetilcisteína y similares. Además, estas sales se pueden preparar agregando una base inorgánica o una base orgánica al ácido libre. Las sales derivadas de una base inorgánica incluyen, entre otras, las sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio y similares. Las sales derivadas de bases orgánicas incluyen, entre otras, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básico, tales como resinas de isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, lisina, arginina, N-etilpiperidina, piperidina, resinas de poliimina y similares. Sales farmacéuticamente aceptables particulares de compuesto de fórmula (I) son las sales de clorhidrato, sales de ácido metansulfónico y sales de ácido cítrico.

La abreviatura uM significa micromolar y es equivalente al símbolo μM .

La abreviatura μl significa microlitro y es equivalente al símbolo μl .

La abreviatura μg significa microgramo y es equivalente al símbolo μg .

El compuesto de fórmula (I) puede contener diversos centros asimétricos y se puede presentar en forma de enantiómeros ópticamente puros, mezclas de enantiómeros, tales como racematos, diastereoisómeros ópticamente puros, mezclas de diastereoisómeros, racematos diastereoisoméricos o mezclas de racematos diastereoisoméricos.

De acuerdo con la convención Cahn-Ingold-Prelog, el átomo de carbono asimétrico puede ser de la configuración "R" o "S".

Además, una forma de realización de la presente invención es un compuesto de acuerdo con fórmula (I), como se describe en la presente, y sales farmacéuticamente aceptables de este, más en particular, un compuesto de acuerdo con fórmula (I) como se describe en la presente.

Los procesos para la fabricación de un compuesto de fórmula (I), como se describe en la presente, son también un objeto de la invención.

Se comprenderá que el compuesto de fórmula I en la presente invención se puede derivatizar en grupos funcionales para obtener derivados que son capaces de volver a convertirse en el compuesto de origen *in vivo*.

Una forma de realización determinada de la invención se refiere al compuesto de fórmula I, como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para su uso como sustancia terapéuticamente activa.

Una forma de realización de la invención se refiere al compuesto de fórmula I como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para su uso en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico del cáncer, en particular, cáncer de pulmón no microcítico.

Una forma de realización de la invención se refiere al compuesto de fórmula I como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para su uso en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de cáncer de pulmón no microcítico.

Una forma de realización de la invención se refiere al compuesto de fórmula I como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico del cáncer, en particular, cáncer de pulmón no microcítico.

Una forma de realización de la invención se refiere a una composición farmacéutica que

comprende el compuesto de fórmula I como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y una sustancia auxiliar farmacéuticamente aceptable.

Una forma de realización de la invención se refiere a un método para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico del cáncer, en particular, cáncer de pulmón no microcítico, mediante administración a un paciente del compuesto de fórmula I como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Una forma de realización de la invención se refiere al compuesto de fórmula I como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para su uso como medicamento en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de un paciente con mutaciones activadoras de EGFR que tiene cáncer, en particular, cáncer de pulmón no microcítico, que comprende determinar el estado de las mutaciones activadoras de EGFR en dicho paciente, y luego administrar a dicho paciente el compuesto de fórmula I como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Una forma de realización de la invención se refiere al compuesto de fórmula I como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para su uso como medicamento en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de un paciente con mutaciones activadoras de EGFR T790M/L858R, T790M/L858R/C797S, L858R y/o L858R/C797S, que tiene cáncer, en particular cáncer de pulmón no microcítico, que comprende determinar el estado de las mutaciones activadoras de EGFR en dicho paciente y luego administrar a dicho paciente el compuesto de fórmula I como se describe en la presente o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Una forma de realización de la invención se refiere al compuesto de fórmula I, como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para su uso como medicamento en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de un paciente con mutaciones activadoras de EGFR, según se determina mediante una prueba v2 de mutación en EGFR cobas®, que tiene cáncer, en particular, cáncer de pulmón no microcítico, que comprende determinar el estado de las mutaciones activadoras de EGFR en dicho paciente, y luego administrar a dicho paciente el compuesto de fórmula I, como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Además, la invención incluye todos los sustituyentes en su forma deuterada correspondiente, cuando corresponda, del compuesto de la fórmula I.

Los compuestos de fórmula I pueden contener uno o más centros asimétricos y, por lo tanto, se pueden presentar como racematos, mezclas racémicas, enantiómeros simples, mezclas diastereoméricas y diastereómeros individuales. Se pueden presentar centros asimétricos adicionales según la naturaleza de los diversos sustituyentes en la molécula. Cada centro asimétrico producirá, independientemente, dos isómeros ópticos, y se prevé que todos los isómeros ópticos y diastereómeros posibles en las mezclas y compuestos puros o parcialmente purificados se incluyan dentro de la presente invención. La presente invención abarca todas las formas isoméricas del compuesto. Las síntesis independientes de estos diastereómeros o sus separaciones cromatográficas se puede lograr como se conoce en el estado de la técnica mediante la modificación adecuada de la metodología divulgada en la presente. Su estereoquímica absoluta se puede determinar mediante cristalografía de rayos x de productos cristalinos o intermediarios cristalinos que se derivatizan, de ser necesario, con un reactivo que contiene un centro asimétrico de configuración absoluta conocida. Si se desea, las mezclas racémicas del compuesto se pueden separar de manera que se aíslen los enantiómeros individuales. La separación se puede llevar a cabo mediante métodos conocidos en el estado de la técnica, tales como acoplamiento de una mezcla racémica de compuestos a un compuesto enantioméricamente puro para formar una mezcla diastereomérica y luego separación de los diastereómeros individuales mediante métodos estándares, tales como cristalización fraccionaria o cromatografía.

En las formas de realización, en donde se proporcionan enantiómeros ópticamente puros, "enantiómero ópticamente puro" significa que el compuesto contiene > 90 % en peso del isómero deseado, en particular, > 95 % en peso del isómero deseado, o más en particular, > 99 % en peso del isómero deseado, en donde el porcentaje en peso es en función del peso total de los isómeros del compuesto. El compuesto quiralmente puro o quiralmente enriquecido se puede preparar mediante síntesis quiralmente selectiva o mediante separación de enantiómeros. La separación de enantiómeros se puede llevar a cabo en el producto final o, de manera alternativa, en un intermediario adecuado.

Además, una forma de realización de la presente invención es un compuesto de fórmula (I) como se describe en la presente, cuando se fabrica de acuerdo con cualquiera de los procesos descritos.

Procedimientos de ensayo

Ensayo HTRF de fosfo EGFR TMLRCS (celular)

Línea celular y medio

La línea celular BaF3-TMLRCS se obtuvo de Crownbio (San Diego, CA, Estados Unidos). Las células se mantuvieron a 37 °C, 5 % de CO₂ en RPMI ATCC (Gibco 31870) + 2mM de glutamina + 0,5µg/ml de puomicina enriquecida con 10 % de suero fetal bovino (FBS) (Gibco).

Protocolo

Las células se transfirieron como se mencionó anteriormente en Greiner Bio-One, placa de microtítulo N.º 784-08 en 20000 células/cavidades en 12,5 µL de medio de crecimiento/cavidad después de haber precargado las placas con 12,5 nL de soluciones de DMSO de los compuestos a evaluar (en respuesta de dosis) o solo DMSO. Después de centrifugar las placas a 300 x g durante 30 segundos, las células se incubaron durante 4 horas a 37 °C, 5 % de CO₂, 95 % de humedad. Las células se lisaron al agregar a la mezcla de compuesto 4 µL/cavidad del amortiguador de lisis enriquecido (Cis-bio, kit HTRF de fosfo-EGFR, 64EG1PEH) y luego se incubaron durante 30 min a temperatura ambiente con agitación (400 rpm). Las placas se congelaron luego y se almacenaron durante la noche a -80 °C. Al siguiente día y después de descongelar las placas, se agregaron a cada cavidad 4 µL de una mezcla de soluciones de criptato anti-fosfo-EGFR y de anticuerpo anti-fosfo-EGFR-d2 preparadas en el amortiguador de detección suministrado. Luego, las placas con tapa se incubaron durante 4 h a temperatura ambiente antes de leer la emisión de fluorescencia a 616 y 665 nm con el uso de un lector Envision (Perkin Elmer). Los datos se analizaron de manera similar como se describió anteriormente con el uso de la relación normalizada de las señales 665 con respecto a 616 multiplicadas por 10000.

Los resultados se muestran en la tabla 1

Ejemplo	IC₅₀ (-baF3) µM
1	0,005

El compuesto de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables pueden usarse como medicamentos (por ejemplo, en forma de preparaciones farmacéuticas). Las preparaciones farmacéuticas pueden administrarse internamente, tal como por vía oral (por ejemplo, en forma de comprimidos, comprimidos recubiertos, grajeas, cápsulas de gelatina dura y blanda, soluciones, emulsiones o suspensiones), nasal (por ejemplo, en forma de atomizadores nasales), rectal (por ejemplo, en forma de supositorios) u ocular tópica (por ejemplo, en forma de soluciones, pomadas, geles o insertos poliméricos solubles en agua). Sin embargo, la administración también puede efectuarse por vía parenteral, tal como intramuscular, intravenosa o intraocular (por ejemplo, en forma de soluciones inyectables estériles).

El compuesto de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables pueden procesarse con adyuvantes farmacéuticamente inertes, inorgánicos u orgánicos para la producción de comprimidos, comprimidos recubiertos, grajeas, cápsulas de gelatina dura, soluciones inyectables o formulaciones tópicas. La lactosa, el almidón de maíz o los derivados de este, talco, ácido esteárico o las sales, etc., pueden usarse, por ejemplo, como tales adyuvantes para comprimidos, grajeas y cápsulas de gelatina dura.

Los adyuvantes adecuados para cápsulas de gelatina blanda son, por ejemplo, aceites vegetales, ceras, grasas, sustancias semisólidas y polioles líquidos, etc.

Los adyuvantes adecuados para la producción de soluciones y jarabes son, por ejemplo, agua, polioles, sacarosa, azúcar invertido, glucosa, etc.

Los adyuvantes adecuados para soluciones inyectables son, por ejemplo, agua, alcoholes, polioles, glicerol, aceites vegetales, etc.

Los adyuvantes adecuados para supositorios son, por ejemplo, aceites naturales o solidificados, ceras, grasas, polioles líquidos o semisólidos, etc.

Los adyuvantes adecuados para formulaciones oculares tópicas son, por ejemplo, ciclodextrinas, manitol o muchos otros portadores y excipientes conocidos en el estado de la técnica.

Asimismo, las preparaciones farmacéuticas pueden contener conservantes, solubilizantes, sustancias que aumentan la viscosidad, estabilizantes, agentes humectantes, emulgentes, endulzantes, colorantes, saborizantes, sales para variar la presión osmótica, amortiguadores, agentes enmascarantes o antioxidantes. También pueden contener otras

sustancias terapéuticamente valiosas.

La dosis puede variar dentro de límites amplios y, sin duda, se ajustará a las necesidades individuales de cada caso en particular. En general, en el caso de administración oral, una dosis diaria de alrededor de 0,1 mg a 20 mg por kg de peso corporal, preferentemente alrededor de 0,5 mg a 4 mg por kg de peso corporal (por ejemplo, alrededor de 300 mg por persona), dividida preferentemente en 1-3 dosis individuales, que pueden consistir, por ejemplo, de cantidades iguales, debe resultar adecuada. En el caso de la administración tópica, la formulación puede contener 0,001 % a 15 % en peso de medicamento y la dosis necesaria, que puede ser entre 0,1 y 25 mg puede administrarse mediante una dosis única por día o por semana, o mediante dosis múltiples (2 a 4) por día, o por medio de múltiples dosis por semana. Sin embargo, cabe destacar que los límites mínimos o máximos estipulados en la presente pueden excederse cuando se indica.

Preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto de la invención:

Los comprimidos con la siguiente composición se fabrican de manera habitual:

Ingrediente	mg/comprimido			
	5	25	100	500
Compuesto de fórmula I	5	25	100	500
Lactosa Anhidra DTG	125	105	30	150
Sta-Rx 1500	6	6	6	60
Celulosa microcristalina	30	30	30	450
Estearato de magnesio	1	1	1	1
Total	167	167	167	831

Procedimiento de fabricación

1. Mezclar los ingredientes 1, 2, 3 y 4 y granular con agua purificada.
2. Secar los gránulos a 50 °C.
3. Pasar los gránulos a través de un equipo de molienda adecuado.
4. Agregar el ingrediente 5 y mezclar durante tres minutos; comprimir en una prensa adecuada.

Se fabrican cápsulas con la siguiente composición:

Ingrediente	mg/cápsula			
	5	25	100	500
Compuesto de fórmula I	5	25	100	500
Lactosa hidratada	159	123	148	-
Almidón de maíz	25	35	40	70
Talco	10	15	10	25
Estearato de magnesio	1	2	2	5
Total	200	200	300	600

Procedimiento de fabricación

1. Mezclar los ingredientes 1, 2 y 3 en una mezcladora adecuada durante 30 minutos.
2. Agregar los ingredientes 4 y 5 y mezclar durante 3 minutos.
3. Cargar en una cápsula adecuada.

Un compuesto de fórmula I, lactosa y almidón de maíz se mezclan, en primer lugar, en una mezcladora y luego en una máquina de desmenuzamiento. La mezcla regresa a la mezcladora; el talco se agrega a esta y se mezcla aproximadamente de manera exhaustiva. La mezcla se carga con una máquina en las cápsulas adecuadas, por ejemplo, cápsulas de gelatina dura.

Se fabrican soluciones de inyección con la siguiente composición:

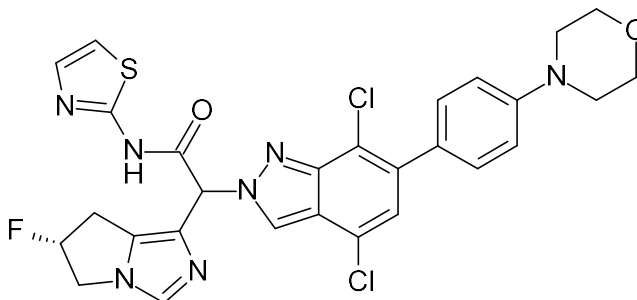
Ingrediente	mg/solución para inyección.
Compuesto de fórmula I	3
Polietilenglicol 400	150
ácido acético	cantidad adecuada para ajustar a pH 5,0
agua para soluciones de inyección	ad 1,0 ml

La invención se ilustra a continuación mediante los ejemplos, que no tienen carácter limitativo.

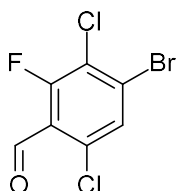
En caso de que los ejemplos preparativos se obtengan como una mezcla de enantiómeros, los enantiómeros puros pueden obtenerse mediante los métodos descritos en la presente o por medio de métodos conocidos por una persona del oficio de nivel medio, por ejemplo, cromatografía quiral o cristalización.

Ejemplo 1

2-[4,7-dicloro-6-(4-morfolinofenil)indazol-2-il]-2-[(6R)-6-fluoro-6,7-dihidro-5H-pirrol[1,2-c]imidazol-1-il]-N-tiazol-2-il-acetamida

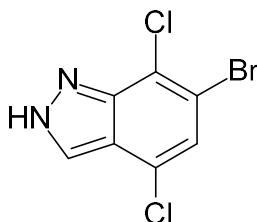


Etapas 1: 4-bromo-3,6-dicloro-2-fluorobenzaldehído



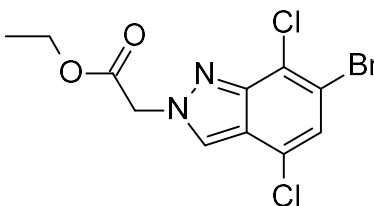
Un solución de 1-bromo-2,5-dicloro-3-fluorobenceno (9,41 g, 38,6 mmol) en tetrahidrofurano (70 ml) se enfrió en un baño de hielo seco/acetona. LDA, 2mol/l en THF (21,2 ml, 42,5 mmol, 1,1 equiv.) se agregó y la mezcla se agitó a -75 °C durante 20 minutos. N,N-dimetilformamida (2,82 g, 3,0 ml, 38,6 mmol, 1 equiv.) se agregó por goteo y se agitó durante 1 hora. Se agregó una solución de ácido acético en éter (1:1, 10 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con agua, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para obtener el compuesto del título crudo (rendimiento cuantitativo) como un sólido amarillo claro. El compuesto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapas 2: 6-bromo-4,7-dicloro-1H-indazol



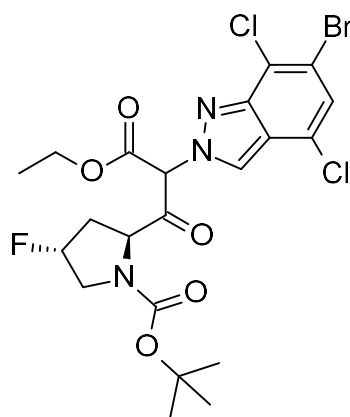
A una solución de 4-bromo-3,6-dicloro-2-fluorobenzaldehído (*ejemplo 1, etapa 1*) (10,5 g, 38,6 mmol) en dioxano (50 ml) se agregó hidrato de hidrazina (3,86 g, 3,78 ml, 77,2 mmol, 2,0 equiv.). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Se agregó hidrato de hidrazina (386 mg, 0,38 ml, 7,72 mmol, 0,2 equiv.) y la mezcla se calentó hasta 70 °C durante 7 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se agregó agua y el sólido precipitado se recolectó mediante filtración. Se agregó al sólido una pequeña cantidad de acetonitrilo y se agitó durante 2 horas. El sólido se recolectó mediante filtración, se lavó con una pequeña cantidad de acetonitrilo y se secó para obtener el compuesto del título (7,8 g, 76 % de rendimiento) como un sólido blancuzco. *m/z* 267,0/269,0, [M+H]⁺, ESI pos, isótopos de Br.

Etapas 3: Etil 2-(6-bromo-4,7-dicloro-indazol-2-il)acetato



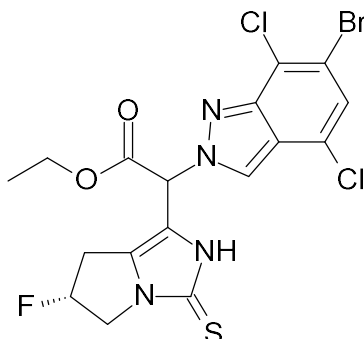
A una solución de 6-bromo-4,7-dicloro-1H-indazol (*ejemplo 1, etapa 2*) (7,84 g, 29,5 mmol, Eq: 1) en N,N-dimetilacetamida (11,5 ml) se agregó etil 2-bromoacetato (9,85 g, 6,53 ml, 59 mmol, 2,0 equiv.). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 100 °C. Se agregó hielo y se recolectó el sólido precipitado mediante filtración y se lavó con agua. El compuesto se cristalizó de etanol en ebullición. El sólido se recolectó mediante filtración, se lavó con una pequeña cantidad de etanol y se secó para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (7,5 g, 70 % de rendimiento). m/z 353,0, 355,0, $[M+H]^+$, ESI pos, isótopos de Br.

Etapa 4: ter-Butil (2S,4R)-2-[2-(6-bromo-4,7-dicloro-indazol-2-il)-3-etoxi-3-oxo-propanoil]-4-fluoro-pirrolidin-1-carboxilato



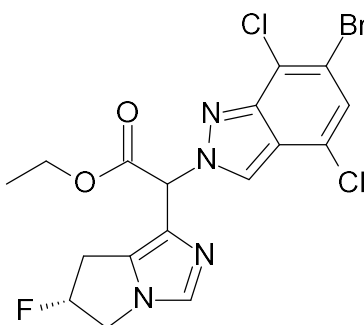
Una solución de ácido (2S,4R)-1-(ter-butoxicarbonil)-4-fluoropirrolidin-2-carboxílico (2,34 g, 10 mmol, 1,55 equiv.) en tetrahydrofurano (11 ml) se enfrió en un baño de hielo. Se agregó carbonildiimidazol (1,63 g, 10 mmol, 1,55 equiv.). El baño de enfriamiento se removió y la mezcla se agitó durante 3 horas para obtener solución A. Una solución de etil 2-(6-bromo-4,7-dicloro-indazol-2-il)acetato (*ejemplo 1, etapa 3*) (2,28 g, 6,5 mmol) en tetrahydrofurano (11 ml) se enfrió hasta -70 °C. LDA, 2mol/l en tetrahydrofurano (5,0 ml, 10 mmol, 1,55 equiv.) se agregó por goteo dentro de 5 min. La mezcla se agitó durante 30 minutos a -70 °C. Se agregó solución A por goteo dentro de los 5 minutos. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente en el baño de enfriamiento durante la noche. Después de la adición de solución acuosa saturada NH_4Cl , la mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con agua, se combinaron, se secaron en sulfato de sodio y se concentraron hasta secarse para obtener el compuesto del título crudo (rendimiento cuantitativo) que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. m/z 566,1/568,1, $[M+H]^+$, ESI pos, isótopos de Br.

Etapa 5: Etil 2-(6-bromo-4,7-dicloro-indazol-2-il)-2-[(6R)-6-fluoro-3-tioxo-2,5,6,7-tetrahidropirrolol[1,2-c]imidazol-1-il]acetato



Una solución de ter-butil (2S,4R)-2-[2-(6-bromo-4,7-dicloro-indazol-2-il)-3-etoxi-3-oxo-propanoil]-4-fluoro-pirrolidin-1-carboxilato (*ejemplo 1, etapa 4*) (4,23 g, 6,41 mmol) en HCl, 4M en dioxano (11 ml) se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla se concentró hasta secarse. El residuo se disolvió en etanol (37 ml), se agregaron tiocianato de potasio (829 mg, 8,53 mmol, 1,33 equiv.) y HCl, 1 M en etanol (12,8 ml) y se agitaron durante 40 horas a temperatura ambiente. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con agua, se secaron en MgSO₄, se filtraron, se concentraron y se secaron para obtener el compuesto del título crudo (2,5 g, 76 % de rendimiento) que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. *m/z* 509,0/511,0, [M+H]⁺, ESI pos, isótopos de Br.

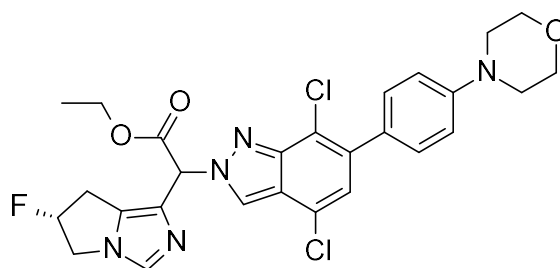
Etapa 6: Etil 2-(6-bromo-4,7-dicloro-indazol-2-il)-2-[(6R)-6-fluoro-6,7-dihidro-5H-pirrolol[1,2-c]imidazol-1-il]acetato



Una solución de etil 2-(6-bromo-4,7-dicloro-indazol-2-il)-2-[(6R)-6-fluoro-3-tioxo-2,5,6,7-tetrahidropirrolol[1,2-c]imidazol-1-il]acetato (*ejemplo 1, etapa 5*) (1,46 g, 2,88 mmol) en ácido acético (10 ml) se enfrió hasta 10 °C. Se agregó peróxido de hidrógeno, 35 % (1,12

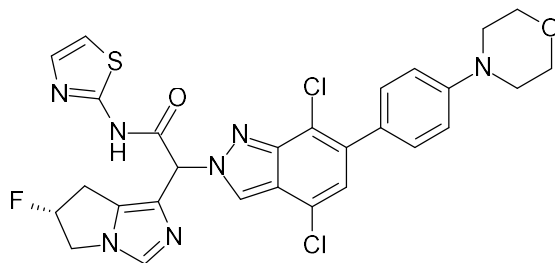
g, 1,01 ml, 11,5 mmol, 4 equiv.) por goteo. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. El exceso de peróxido de hidrógeno se destruyó mediante la adición de solución de sulfito de sodio saturado. Después de la adición de un poco de agua (solo lo suficiente para disolver todas las sales) y acetato de etilo la mezcla se llevó hasta pH 9 mediante la adición cuidadosa de carbonato de sodio sólido. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con agua, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron. El producto se purificó mediante cromatografía (SiO_2 , 0-100 % de acetato de etilo en heptano) para obtener el compuesto del título (0,81 g, 58 % de rendimiento) como un sólido marrón claro. m/z 475,0/477,0, $[\text{M}+\text{H}]^+$, ESI pos, isótopos de Br.

Etapas 7: Etil 2-[4,7-dicloro-6-(4-morfolinofenil)indazol-2-il]-2-[(6R)-6-fluoro-6,7-dihidro-5H-pirrol[1,2-c]imidazol-1-il]acetato



Etil 2-(6-bromo-4,7-dicloro-indazol-2-il)-2-[(6R)-6-fluoro-6,7-dihidro-5H-pirrol[1,2-c]imidazol-1-il]acetato (*ejemplo 1, etapa 6*) (100 mg, 0,21 mmol), ácido (4-morfolinofenil)borónico (130 mg, 0,63 mmol, 3 equiv.) y carbonato de cesio (205 mg, 0,63 mmol, 3 equiv.) se mezclaron con tolueno (3,0 ml), se desgasificaron mediante burbujeo de argón a través de la mezcla en tratamiento ultrasónico. Se agregó [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocen]dicloropaladio(II) (15 mg, 0,02 mmol, 0,1 equiv.) y la mezcla se agitó durante 30 minutos a 110 °C en un tubo sellado. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución de carbonato de sodio semiconcentrada, se secó en sulfato de sodio y se concentró. El material crudo se purificó mediante cromatografía flash (SiO_2 , 0 % a 40 % de metanol en acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (82 mg, 69 % de rendimiento) como un sólido amorfo marrón claro. m/z 558,4, $[\text{M}+\text{H}]^+$, ESI pos.

Etapa 8: 2-[4,7-dicloro-6-(4-morfolinofenil)indazol-2-il]-2-[(6R)-6-fluoro-6,7-dihidro-5H-pirrolo[1,2-c]imidazol-1-il]-N-tiazol-2-il-acetamida



A una solución de etil 2-[4,7-dicloro-6-(4-morfolinofenil)indazol-2-il]-2-[(6R)-6-fluoro-6,7-dihidro-5H-pirrolo[1,2-c]imidazol-1-il]acetato (*ejemplo 1, etapa 7*) (40 mg, 0,071 mmol) en tetrahidrofurano (1,1 ml) se agregaron LiOH 1M (101 μ l, 0,10 mmol, 1,5 equiv.) y agua (400 μ l). La mezcla se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. La mezcla se concentró y se secó. El residuo se disolvió en N,N-dimetilformamida (1,1 ml). Después de la adición de tiazol-2-amina (9 mg, 0,086 mmol, 1,2 equiv.), HATU (33 mg, 0,086 mmol, 1,2 equiv.) y base de Hunig (28 mg, 0,037 ml, 0,21 mmol, 3 equiv.) la mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El material crudo se purificó mediante cromatografía flash (SiO_2 , 0 % a 40 % de metanol en acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (22 mg, 50 % de rendimiento) como un sólido marrón claro. m/z 612,4, $[\text{M}+\text{H}]^+$, ESI pos.