

(11) Número de Publicação: **PT 2315756 E**

(51) Classificação Internacional:

C07D 271/08 (2014.01) **A61K 31/4245**
(2014.01)

A61P 1/00 (2014.01) **A61P 11/00** (2014.01)

A61P 17/00 (2014.01) **A61P 19/00** (2014.01)

A61P 25/00 (2014.01) **A61P 27/00** (2014.01)

A61P 29/00 (2014.01) **A61P 31/00** (2014.01)

A61P 35/00 (2014.01) **A61P 37/00** (2014.01)

A61P 43/00 (2014.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2009.07.07**

(30) Prioridade(s): **2008.07.08 US 78876 P**
2009.02.09 US 150873 P

(43) Data de publicação do pedido: **2011.05.04**

(45) Data e BPI da concessão: **2014.09.03**
240/2014

(73) Titular(es):

INCYTE CORPORATION
EXPERIMENTAL STATION E336/205ROUTE
141&HENRY CLAY ROAD WILMINGTON, DE
19880 **US**

(72) Inventor(es):

ANDREW P. COMBS **US**
EDDY W. YUE **US**
RICHARD B. SPARKS **US**
WENYU ZHU **US**
JIACHENG ZHOU **US**

(74) Mandatário:

LUISA MARIA FERREIRA GUERREIRO
RUA RAUL PROENÇA, 3 2820-478 CHARNECA DA
CAPARICA **PT**

(54) Epígrafe: **1,2,5-OXADIAZOLES COMO INIBIDORES DA INDOLEAMINA 2,3-DIOXIGENASE**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO É DIRIGIDA A DERIVADOS DE 1,2,5-OXADIAZOLE, E COMPOSIÇÕES DOS MESMOS, QUE SÃO INIBIDORES DA INDOLEAMINA 2,3-DIOXIGENASE E SÃO ÚTEIS NO TRATAMENTO DO CANCRO E OUTRAS DESORDENS, E AOS PROCESSOS E INTERMEDIÁRIOS PARA FAZER TAIS DERIVADOS DE 1,2,5-OXADIAZOLE.

RESUMO

1,2,5-OXADIAZOLES COMO INIBIDORES DA INDOLEAMINA 2,3-DIOXIGENASE

A presente invenção é dirigida a derivados de 1,2,5-oxadiazole, e composições dos mesmos, que são inibidores da indoleamina 2,3-dioxigenase e são úteis no tratamento do cancro e outras desordens, e aos processos e intermediários para fazer tais derivados de 1,2,5-oxadiazole.

DESCRIÇÃO

1,2,5-OXADIAZOLES COMO INIBIDORES DA INDOLEAMINA 2,3-DIOXIGENASE

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção é dirigida a derivados de 1,2,5-oxadiazole, que são inibidores da indoleamina 2,3-dioxigenase e são úteis no tratamento do cancro e outras desordens, Também são descritos processos e intermediários para fazer o mesmo.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Triptofano (Trp) é um aminoácido essencial necessário para a biossíntese de proteínas, niacina e do neurotransmissor 5-hidroxitriptamina (serotonina). A enzima indoleamina 2,3-dioxigenase (também conhecido como INDO ou IDO) catalisa o primeiro e é um passo limitador da velocidade da degradação de L-triptofano para a N-formil-quinurenina. Em células humanas, um empobrecimento de Trp resultante da atividade IDO é um interferência gama proeminente (IFN- γ) induzível dum mecanismo efetor antimicrobiano. A estimulação de IFN- γ induz a ativação de ido, o que leva a uma diminuição de Trp, arrastando deste modo o crescimento de agentes patogénicos intracelulares dependentes de Trp, tais como *Toxoplasma gondii* e *Chlamydia trachomatis*. A atividade IDO tem também um efeito anti-proliferativo em muitas células tumorais, e a indução de IDO tem sido observada *in vivo*, durante a rejeição de tumores alogénicos, indicando um possível papel para esta enzima no processo de rejeição de tumores (Daubener, et al, 1999, Adv Exp Med Biol, 467:517-24; Taylor, et al, 1991, FASEB J., 5:2516-22).

Tem-se observado que as células HeLa co-cultivadas com linfócitos de sangue periférico (PBL) adquirem um fenótipo imuno-inibidor através da sobre-regulação da atividade de ido. Uma redução na proliferação de PBL por tratamento com interleucina-2 (IL2), acredita-se resultar da ido libertada pelas células tumorais em resposta à secreção de IFNG pelos PBL. Este efeito foi revertido pelo tratamento com 1-metil-triptofano (1MT), um inibidor específico de IDO. Propôs-se que a atividade de ido em células tumorais pode servir para diminuir as respostas anti-tumor (Logan et al, 2002, *Immunology*, 105:478-87).

Recentemente, um papel imunoregulador da depleção de Trp tem recebido muita atenção. Várias linhas de evidência sugerem que a IDO está envolvida na indução da tolerância imunológica. Estudos da gravidez de mamíferos, resistência de tumores, infecções crônicas e doenças autoimunes têm mostrado que as células que expressam IDO podem suprimir as respostas de células T e promover a tolerância. O catabolismo acelerado de Trp foi observado nas doenças e desordens associadas com a ativação imunitária celular, tais como infecção, malignidade, doenças autoimunes e SIDA, bem como durante a gravidez. Por exemplo, o aumento dos níveis de IFN e os níveis elevados de metabolitos urinários de Trp foram observados em doenças autoimunes; tem sido postulado que a depleção sistêmica ou local de Trp que ocorre em doenças autoimunes pode estar relacionada com a degeneração e sintomas de desperdício destas doenças. Em apoio a esta hipótese, os níveis elevados de IDO foram observados em células isoladas da sinóvia de articulações artríticas. IFNs também são elevados em vírus da imunodeficiência humana (VIH) pacientes e o aumento dos níveis de IFN está associado a uma pioria do prognóstico. Assim, foi proposto que a IDO é induzida

cronicamente pela infecção por HIV, e é ainda maior por infecções oportunistas, e que a perda crónica de Trp inicia mecanismos responsáveis pela caquexia, demência e diarreia e, possivelmente, a imunossupressão dos pacientes com SIDA (Brown, et al., 1991, Adv Exp Med Biol, 294:425-35). Para este fim, foi recentemente mostrado que a inibição de IDO pode aumentar os níveis de células T específicos do vírus, e, concomitantemente, reduzir o número de macrófagos infectados viralmente, num modelo de rato com HIV (Portula et al., 2005, Blood, 106: 2382-90).

IDO acredita-se desempenhar um papel nos processos imunossupressores que previnem a rejeição do feto no útero. Mais de 40 anos atrás, observou-se que, durante a gravidez, o concepturo de mamíferos geneticamente díspares sobrevive apesar do que seria previsto pela imunologia do transplante de tecido (Medawar, 1953, Symp Soc Exp Biol. 7: 320-38). A separação anatômica da mãe e do feto e imaturidade antigénica do feto não pode explicar totalmente a sobrevivência do enxerto fetal. Recente atenção tem-se centrado sobre a tolerância imunológica da mãe. Porque a IDO é expressa por células do sinciciotrofoblasto humanas e a concentração sistémica de triptofano cai durante a gravidez normal, foi levantada a hipótese de que a expressão de IDO na interface materno-fetal é necessária para evitar a rejeição imunológica dos enxertos fetais. Para testar esta hipótese, ratinhas grávidas (com fetos singeneicos ou alogeneicos) foram expostos a 1MT, e foi observada uma rápida rejeição induzida por células T de todos concepturos alogénicos. Assim, pela catabolização do triptofano, o concepturo dos mamíferos parece suprimir a atividade das células T e defender-se contra a rejeição, e o bloqueio do catabolismo do triptofano durante a gravidez murina permite que as células T maternas provoquem a

rejeição de aloenxertos fetais (Munn et al., 1998, Science, 281:1191-3).

Evidência adicional para um mecanismo de resistência imunitária tumoral baseada na degradação do triptofano por IDO vem da observação de que a maioria dos tumores humanos expressa constitutivamente IDO, e que a expressão de IDO por células tumorais imunogênicas do rato impede a sua rejeição por ratinhos pré-imunizados. Este efeito é acompanhado por uma falta de acumulação de células T específicas para o local do tumor e pode ser parcialmente revertido por tratamento sistêmico de ratos com um inibidor de IDO, na ausência de toxicidade notável. Assim, sugeriu-se que a eficácia da vacinação terapêutica de doentes com cancro poderia ser melhorada pela administração concomitante de um inibidor de IDO (Uyttenhove et al, 2003, Nature Med, 9:1269-1274). Também tem sido mostrado que o inibidor da IDO, 1-MT, pode sinergizar com agentes quimioterapêuticos para reduzir o crescimento de tumores em ratinhos, sugerindo que a inibição da IDO também pode aumentar a atividade anti-tumoral de terapias citotóxicas convencionais (Muller et al. de 2005, Nature Med, 11:312-9).

Um mecanismo que contribui para a falta de responsividade imunológica para tumores pode ser a apresentação de antígenos tumorais por APCs hospedeiras tolerogênicas. Um subconjunto de células humanas apresentadoras de antígenos (APCs) que expressam IDO que co-expressam CD123 (IL3RA) e CCR6 e inibem a proliferação de células T também têm sido descritos. Ambas as células dendríticas positivas CD123 maduras e imaturas suprimiram a atividade de células T, e essa atividade supressora da IDO foi bloqueada por 1MT (Munn et al, 2002, Science, 297:1867-1870). Também tem sido demonstrado que a drenagem dos nódulos linfáticos do tumor

do rato (TDLNs) contém um subconjunto de células dendríticas plasmocitoides (PDCs) que expressam constitutivamente níveis imunossupressores da IDO. Apesar de compreender apenas 0,5% de células de nódulos linfáticos, *in vitro*, estes pDCs potencialmente suprimiram as respostas das células T contra antígenos apresentados pelos pDCs em si e também, de uma forma dominante, suprimiram as respostas das células T aos antígenos terceiros apresentados por APCs não-supressores. Dentro da população de pDCs, a maioria da atividade supressora mediada por IDO funcional segregada com um novo subconjunto de pDCs que co-expressa a linhagem B do marcador CD19. Assim, foi levantada a hipótese de que a supressão mediada por IDO de pDCs em TDLNs cria um microambiente local que é potentemente supressor de células T hospedeiras de respostas anti-tumor (Munn, et al, 2004, J. Clin Invest, 114 (2):280-90).

A IDO degrada a porção indole do triptofano, serotonina e melatonina, e inicia a produção de metabolitos neuroativos e imunorreguladores, coletivamente conhecidos como quinureninas. Ao esgotar localmente o triptofano e aumentando as quinureninas proapoptóticas, a IDO expressa por células dendríticas (DC) pode afetar significativamente a proliferação e sobrevivência de células T. A indução de IDO em DCs pode ser um mecanismo comum de tolerância de deleção dirigida por células T reguladoras. Uma vez que tais respostas tolerogénicas podem ser capazes de funcionar numa grande variedade de condições fisiopatológicas, o metabolismo do triptofano e a produção de quinurenina pode representar uma interface crucial entre os sistemas imune e nervoso (Grohmann, et al, 2003, Trends Immunol, 24:242-8). Nos estados de ativação imune persistente, a disponibilidade de soro livre Trp é diminuída e, como

consequência da produção reduzida de serotonina, as funções serotoninérgicas podem também ser afetadas (Wirleitner, et al, 2003, Curr Med Chem, 10:1581-91).

Curiosamente, a administração do interferão- α foi observada induzir efeitos colaterais neuropsiquiátricos tais como, sintomas depressivos e alterações na função cognitiva. A influência direta sobre a neurotransmissão da serotonina pode contribuir para estes efeitos secundários. Além disso, porque a ativação da IDO conduz a níveis reduzidos de triptofano, o precursor da serotonina (5-HT), IDO pode desempenhar um papel nesses efeitos colaterais neuropsiquiátricos reduzindo a síntese de 5-HT central. Além disso, os metabolitos de quinurenina, tais como 3-hidroxi-quinurenina (3-OH-KYN) e ácido quinolínico (QUIN) têm efeitos tóxicos sobre as funções cerebrais. 3-OH-KYN é capaz de produzir o stress oxidativo, aumentando a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS), e QUIN pode produzir estimulação de N-metil-D-aspartato (NMDA) do hipocampo, o que conduz à apoptose e atrofia do hipocampo. Tanto a superprodução de ROS como a atrofia do hipocampo causada pela sobrestimulação de NMDA têm sido associadas com a depressão (Wichers e Maes, 2004, J. Psychiatry Neurosci, 29: 11-17). Assim, a atividade de IDO pode desempenhar um papel importante na depressão.

Inibidores de moléculas pequenas de IDO estão a ser desenvolvidos para tratar ou prevenir doenças relacionadas com a IDO tais como as descritas acima. Por exemplo, oxadiazole e outros inibidores heterocíclicos da IDO são referidos na US 2006/0258719 e US 2007/0185165. A publicação PCT WO 99/29310 relata métodos para alterar a imunidade mediada por células T compreendendo a alteração das concentrações extracelulares locais de triptofano e metabolitos de triptofano, usando um inibidor de IDO tal

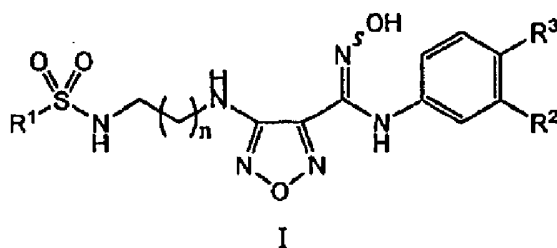
como 1-metil-DL-triptofano, p-(3-benzofuranil)-DL- alanina, p-[3-benzo (b) tienil]-DL-alanina, e 6-nitro-L-triptofano) (Munn, 1999). Relatado em WO 03/087347, também publicado como a patente europeia 1501918, são métodos de preparação de células apresentadoras de antígeno para melhorar ou reduzir a tolerância da célula T (Munn, 2003). Compostos tendo atividade inibitória de indoleamina-2,3-dioxigenase (IDO) são ainda relatados em WO 2004/094409; e a Publicação do Pedido de Patente US 2004/0234623 é dirigida a métodos para tratar um indivíduo com um cancro ou uma infecção por administração de um inibidor da indoleamina-2,3-dioxigenase, em combinação com outras terapêuticas morais. A WO 2008/058178 e WO 2007/075598 descrevem moduladores da indoleamina-2,3-dioxigenase (IDO), bem como composições farmacêuticas contendo a mesma e métodos de utilização da mesma relacionada com o tratamento do cancro e outras doenças.

À luz dos dados experimentais indicando um papel para a IDO em imunossupressão, resistência ao tumor e/ou rejeição, infecções crônicas, infecção por HIV, SIDA (incluindo as suas manifestações, tais como caquexia, demência e diarreia), doenças autoimunes ou doenças (tais como a artrite reumatoide), e a tolerância imunológica e prevenção da rejeição do feto *in utero*, os agentes terapêuticos que visam a supressão da degradação do triptofano pela inibição da atividade da IDO são desejáveis. Os inibidores da IDO pode ser utilizado para ativar as células T e, por conseguinte, aumentar a ativação das células T, quando as células T são suprimidas por gravidez, malignidade ou um vírus como o HIV. A inibição da IDO também pode ser uma estratégia de tratamento importante para pacientes com doenças ou distúrbios neurológicos ou psiquiátricos, como a depressão. Os compostos, composições e métodos aqui

descritos ajudam a atender a necessidade atual para moduladores da IDO.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção fornece, *inter alia*, inibidores da IDO de Fórmula I:



ou os seus sais farmacologicamente aceitáveis, em que as variáveis constituintes são como aqui definido.

A presente invenção proporciona ainda uma composição farmacêutica compreendendo um composto de Fórmula I, e pelo menos um transportador farmacologicamente aceitável.

A presente invenção proporciona ainda um método de inibir a atividade da indoleamina 2,3-dioxigenase, compreendendo o contacto da indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO) *in vitro* com um composto de Fórmula I, ou um sal farmacologicamente aceitável.

A presente invenção proporciona ainda um composto de Fórmula I, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, para utilização num método de inibição da imunossupressão num paciente.

A presente invenção proporciona ainda um composto de Fórmula I, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, para utilização num método de tratamento do cancro, infeções virais, depressão, uma desordem neurodegenerativa, trauma,

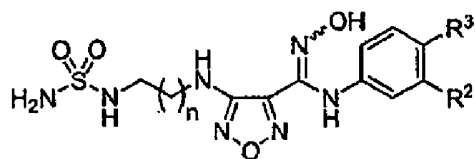
cataratas relacionadas com a idade, rejeição de transplantes de órgãos, ou uma doença autoimune num paciente.

A presente invenção proporciona ainda um composto de Fórmula I, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, para utilização num método de tratamento de melanoma num paciente.

A presente invenção proporciona ainda um composto de Fórmula I, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, para utilização em terapia.

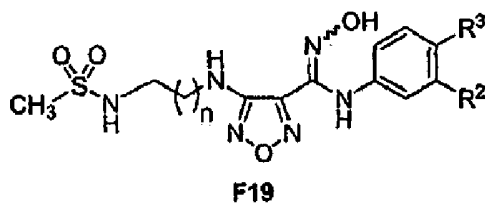
A presente invenção proporciona ainda a utilização de um composto de Fórmula I, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, para a preparação de um medicamento para utilização em terapia.

Igualmente divulgados são intermediários, processos de preparação dos mesmos e as composições que contêm os mesmos, que são úteis para a preparação de um composto de Fórmula A15:

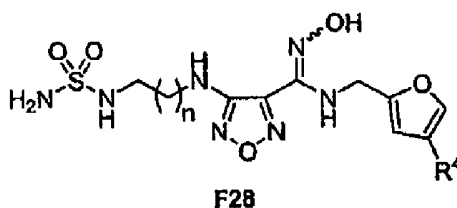


F15

Igualmente divulgados são intermediários, processos de preparação dos mesmos e as composições que contêm os mesmos, que são úteis para a preparação de um composto de Fórmula F19:



Igualmente divulgados são intermediários, processos de preparação dos mesmos e as composições que contêm os mesmos, que são úteis para a preparação de um composto de Fórmula F28:



BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

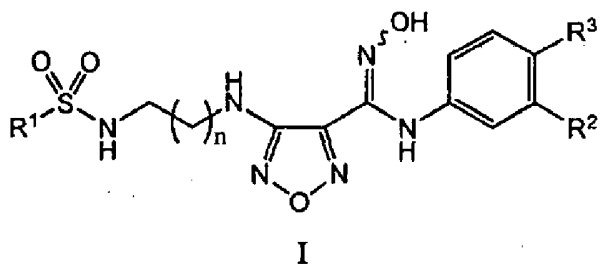
A Figura 1 mostra um padrão de XRPD característico do composto da invenção preparado no Exemplo 1.

A Figura 2 mostra um termograma de DSC característico do composto da presente invenção preparado no Exemplo 1.

A Figura 3 mostra dados TGA característicos do composto da invenção preparado no Exemplo 1.

DESCRIÇÃO DETALHADA

A presente invenção fornece, *inter alia*, inibidores de IDO de Fórmula I:



ou os seus sais farmacêuticamente aceitáveis, em que:

R^1 é NH_2 ou CH_3 ;

R^2 é Cl , Br , CF_3 , CH_3 , ou CN ;

R^3 é H ou F ; e

n é 1 ou 2.

Em algumas formas de realização, R^1 é NH_2 .

Em algumas formas de realização, R^1 é CH_3 .

Em algumas formas de realização, R^2 é Cl .

Em algumas formas de realização, R^2 é Br .

Em algumas formas de realização, R^2 é CF_3 .

Em algumas formas de realização, R^2 é CH_3 .

Em algumas formas de realização, R^2 é CN .

Em algumas formas de realização, R^3 é H .

Em algumas formas de realização, R^3 é F .

Em algumas formas de realização, n é 1.

Em algumas formas de realização, n é 2.

Os compostos da presente invenção podem existir em várias formas sólidas. Tal como aqui utilizado "forma sólida" pretende referir-se a um sólido caracterizado por uma ou mais propriedades, tais como, por exemplo, ponto de fusão, solubilidade, estabilidade, higroscopicidade, cristalinidade, conteúdo de água, características TGA, características DSC, características DVS, características XRPD, etc. Formas sólidas, por exemplo, podem ser amorfas, cristalinas, ou suas misturas.

Diferentes formas cristalinas sólidas normalmente têm diferentes redes cristalinas (por exemplo, células unitárias) e, geralmente, como resultado, têm propriedades físicas diferentes. Em alguns casos, diferentes formas sólidas cristalinas têm diferentes conteúdos de água ou de solvente. As diferentes redes cristalinas podem ser identificadas por meio de métodos de caracterização do estado sólido tal como por difração de raios X em pó (XRPD). Outros métodos de caracterização, tais como calorimetria de varrimento diferencial (DSC), análise termogravimétrica (TGA), absorção de vapor dinâmico (DVS), e semelhantes ajuda a identificar a forma sólida, bem como a determinar a estabilidade e o conteúdo de solvente/ água.

Num aspeto, a presente invenção proporciona várias formas sólidas de 4-({2-[(aminosulfonil)amino]etil)amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida (Ver Exemplo 1). Em algumas formas de realização, a forma sólida é um sólido cristalino. Em algumas formas de realização, a forma sólida é substancialmente anidro (por exemplo, contém menos do que cerca de 1% de água, inferior a cerca de 0,5% de água, inferior a cerca de 1,5% de água, inferior a cerca de 2% de água). Em algumas formas de realização, a forma sólida, é caracterizado por um ponto de fusão de, ou um DSC

endotérmico centrado em, cerca de 162 a cerca de 166°C. Em algumas formas de realização, a forma sólida é caracterizada por um ponto de fusão de, ou um DSC endotérmico centrado em, cerca de 164°C. Em algumas formas de realização, a forma sólida tem um termograma DSC essencialmente como representado na Figura 2. Em outras formas de realização, a forma sólida tem pelo menos um, dois ou três picos de XRPD, em termos de 2-teta, selecionados a partir de cerca de 18,4°, cerca de 18,9°, cerca de 21,8°, cerca de 23,9°, cerca de 29,2° e cerca de 38,7°. Em outras formas de realização, a forma sólida tem um padrão de XRPD substancialmente como mostrado na Figura 1.

A presente invenção proporciona ainda uma composição compreendendo uma forma sólida de 4-({2-[(aminosulfonil)amino]etil)amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida (Ver Exemplo 1). A composição pode compreender, pelo menos, cerca de 50%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95%, ou, pelo menos, cerca de 99% por peso da forma sólida. A composição também pode conter um excipiente farmacêuticamente aceitável. Em algumas formas de realização, a forma sólida é substancialmente purificada.

Um padrão de reflexões de XRPD (picos) é normalmente considerado uma impressão digital de uma forma cristalina particular. É bem conhecido que as intensidades relativas dos picos de XRPD podem variar amplamente, dependendo, *inter alia*, da técnica de preparação da amostra, da distribuição do tamanho dos cristais, dos vários filtros usados, do procedimento de montagem da amostra e do instrumento particular empregue. Em alguns casos, novos picos podem ser observados ou picos existentes

podem desaparecer, de acordo com o tipo de instrumento ou das configurações. Tal como aqui utilizado, o termo "pico" refere-se a uma reflexão com uma relação altura/intensidade de pelo menos cerca de 4% do valor máximo do pico altura/intensidade. Além disso, a variação de instrumentos e outros fatores pode afetar os valores de 2θ . Assim, a alocação do pico, tal como as aqui relatadas, pode variar em mais ou menos cerca de $0,2^\circ$ (2θ), e o termo "substancialmente" tal como utilizado aqui no contexto de XRPD pretende englobar as variações acima mencionadas.


Do mesmo modo, as leituras de temperatura em conexão com o DSC, TGA, ou outras experiências térmicas podem variar cerca de $\pm 3^\circ\text{C}$, dependendo do instrumento, das configurações particulares, da preparação da amostra, etc. Assim, uma forma cristalina aqui relatada tendo um termograma DSC "substancialmente", como mostrado em qualquer das Figuras é entendida acomodar tais variações.

Em vários locais da presente descrição, os substituintes dos compostos da invenção podem ser descritos em grupos ou em intervalos. Pretende-se especificamente que a invenção inclua todos e cada subcombinação individual dos membros desses grupos e intervalos.

Pretende-se que os compostos da invenção sejam estáveis. Tal como aqui utilizado "estável" refere-se a um composto que é suficientemente robusto para sobreviver ao isolamento num grau útil de pureza a partir de uma mistura de reação, e de preferência, capaz de formulação num agente terapêutico eficaz.

É ainda notado que certas características da invenção, que são, para clareza, descritas no contexto de concretizações separadas, podem também ser fornecidas em combinação numa

única concretização. Por outro lado, várias características da invenção que são, para brevidade, descritas no contexto de uma única concretização, podem também ser fornecidas separadamente ou em qualquer subcombinação adequada.

Os compostos da invenção destinam-se, ainda, a incluir todos os isômeros geométricos possíveis. Os isômeros geométricos Cis e trans dos compostos da presente invenção são descritos e podem ser isolados como uma mistura de isômeros ou como formas isoméricas separadas. Uma ligação de um diagrama a estrutura representada por uma linha ondulada "" destina-se a indicar que a estrutura representa o isômero cis ou trans ou uma mistura dos isômeros cis e trans em qualquer proporção.

Os compostos da invenção também incluem as formas tautoméricas. As formas tautoméricas resultam da permuta de uma ligação simples, com uma ligação dupla adjacente, juntamente com a migração concomitante de um próton.

Os compostos da invenção podem também incluir todos os isótopos de átomos que ocorrem nos compostos intermediários ou finais. Os isótopos incluem os átomos tendo o mesmo número atômico mas diferentes números de massa. Por exemplo, os isótopos de hidrogénio incluem o trítio e o deutério.

Em algumas formas de realização, os compostos da invenção, e os seus sais, são substancialmente isolados. Por "substancialmente isolado" entende-se que o composto seja, pelo menos, parcial ou substancialmente separado do meio ambiente no qual ele foi formado, ou detetado. A separação parcial pode incluir, por exemplo, uma composição enriquecida no composto da invenção. A separação substancial pode incluir as composições que contêm, pelo

menos, cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 97%, ou pelo menos cerca de 99% em peso do composto da invenção, ou um seu sal. Os métodos para o isolamento de compostos e os seus sais são de rotina na técnica.

A presente invenção também inclui sais dos compostos aqui descritos. Tal como aqui utilizado, "sais" refere-se a derivados dos compostos descritos em que o composto parental é modificado através da conversão de uma porção de ácido ou de base existente para a sua forma de sal. Exemplos de sais incluem, mas não estão limitados a, ácido mineral (tal como HCl, HBr, H₂SO₄) ou ácido orgânico (tal como ácido acético, ácido benzóico, ácido trifluoroacético) sais de resíduos básicos, tais como aminas; alcalinos (tais como Li, Na, K, Mg, Ca) ou sais orgânicos de resíduos de ácidos (tais como de trialkilamônio), tais como ácidos carboxílicos; e semelhantes. Os sais da presente invenção podem ser sintetizados a partir do composto parental que contém uma unidade básica ou ácida por métodos químicos convencionais. Geralmente, esses sais podem ser preparados fazendo reagir as formas de ácido ou base livres destes compostos com uma quantidade estequiométrica da base ou ácido apropriado em água ou num solvente orgânico, ou numa mistura dos dois; geralmente, meios não aquosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol, ou acetonitrilo (ACN) são preferidos.

Os "sais farmacologicamente aceitáveis" da presente invenção incluem um subconjunto de "sais" descritos acima, que são, sais não-tóxicos convencionais do composto parental formado, por exemplo, a partir de ácidos inorgânicos ou orgânicos não tóxicos. Listas de sais adequados são

encontradas em Remington's Pharmaceutical Sciences, 17a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 e Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977). A frase "farmaceuticamente aceitável" é aqui empregue para se referir aos compostos, as formas de materiais, composições, e/ou de dosagem que são, dentro do âmbito do bom julgamento médico, adequados para utilização em contacto com os tecidos de seres humanos e animais sem excessiva toxicidade, irritação, resposta alérgica, ou outro problema ou complicação, comensurável com uma relação benefício/risco razoável.

Métodos de Síntese

Os compostos da presente invenção podem ser preparados numa variedade de modos conhecidos de um perito na técnica de síntese orgânica. Os compostos da presente invenção podem ser sintetizados utilizando os métodos como a seguir descrito abaixo, juntamente com métodos sintéticos conhecidos na técnica da química orgânica de síntese ou as suas variações como entendido pelos especialistas na técnica.

Os compostos desta invenção podem ser preparados a partir de materiais de partida prontamente disponíveis utilizando os seguintes métodos e procedimentos gerais. Será apreciado que, quando condições de processo típicas ou preferidas (ou seja, temperaturas de reação, tempos, proporções molares dos reagentes, solventes, pressões, etc,) são dadas; outras condições de processo também podem ser usadas, a menos que indicado de outra forma. As condições reacionais ótimas podem variar com os reagentes particulares ou solventes utilizados, mas essas condições podem ser determinadas por

um perito na técnica através de procedimentos de otimização de rotina.

Os processos aqui descritos podem ser monitorizados de acordo com qualquer método adequado conhecido na técnica. Por exemplo, a formação do produto pode ser monitorizada por meios espectroscópicos tais como espectroscopia de ressonância magnética nuclear (por exemplo, ^1H ou ^{13}C), espectroscopia de infravermelho, espectrofotometria (por exemplo, UV-visível), ou espectrometria de massa; ou por cromatografia, tal como cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) ou cromatografia em camada fina. Os compostos obtidos pelas reações podem ser purificados por qualquer método adequado conhecido na técnica. Por exemplo, cromatografia (média pressão) sobre um adsorvente adequado (por exemplo, gel de sílica, alumina e outros semelhantes), HPLC, ou cromatografia de camada fina preparativa; destilação; sublimação, trituração, ou recristalização.

A preparação de compostos pode envolver a proteção e desproteção de vários grupos químicos. A necessidade de proteção e desproteção, e a seleção de grupos protetores apropriados podem ser facilmente determinados por um perito na técnica. A química de grupos protetores pode ser encontrada, por exemplo, em Greene e Wuts, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed, John Wiley & Sons: Nova Iorque, 2006.

As reações dos processos aqui descritas podem ser realizadas em solventes adequados os quais podem ser facilmente selecionados por um perito na técnica de síntese orgânica. Os solventes adequados podem ser substancialmente não reativos com os materiais de partida (reagentes), os

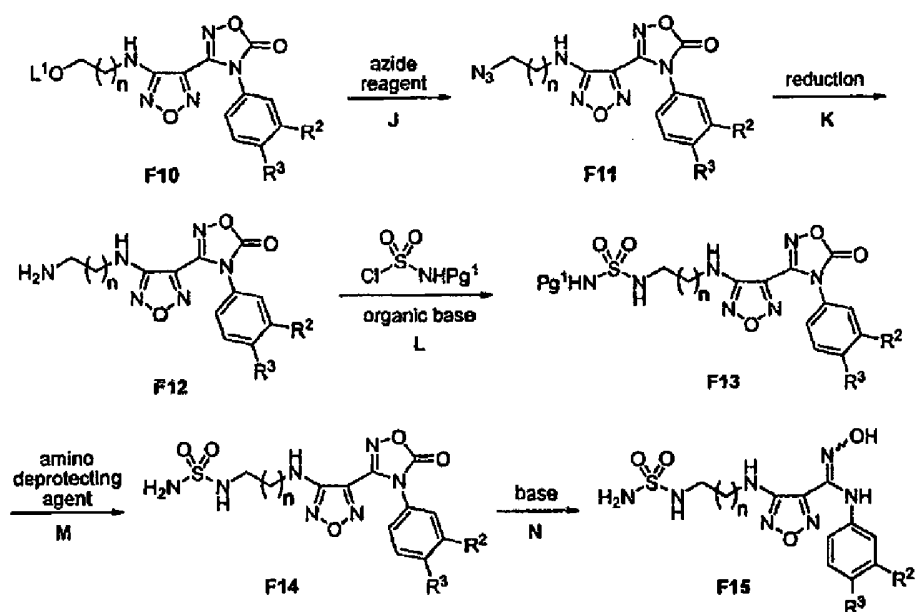
intermediários ou produtos a temperaturas às quais as reações são efetuadas, isto é, temperaturas que podem variar desde a temperatura de congelação do solvente até à temperatura de ebulição do solvente. Uma dada reação pode ser realizada num solvente ou numa mistura de mais do que um solvente. Dependendo da fase de reação, um solvente adequado para o passo de reação particular pode ser selecionado. Os solventes apropriados incluem água, alcanos (tais como pentanos, hexanos, heptanos, ciclo-hexano, etc., ou uma mistura dos mesmos), solventes aromáticos (tais como benzeno, tolueno, xileno, etc.), álcoois (tais como metanol, etanol, isopropanol, etc.), éteres (tais como éteres dialquílicos, éter metil terc-butílico (MTBE), tetrahidrofurano (THF), dioxano, etc.), ésteres (tais como acetato de etilo, acetato de butilo, etc.), solventes halogenados (tais como o diclorometano (DCM), clorofórmio, dicloroetano, tetracloroetano), dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), acetona, acetonitrilo (ACN), hexametilfosforamida (HMPA) e N-metil pirrolidona (NMP). Tais solventes podem ser utilizados tanto nas suas formas líquidas ou anidras.

A resolução de misturas racémicas de compostos pode ser efetuada por qualquer um dos numerosos métodos conhecidos na técnica. Um exemplo inclui método de recristalização fracionada utilizando um "ácido de resolução quiral", que é, um ácido orgânico que forma um sal opticamente ativo. Os agentes de resolução adequados para os métodos de recristalização fracionada são, por exemplo, ácidos opticamente ativos, como as formas D e L do ácido tartárico, ácido diacetiltartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido mandélico, ácido málico, ácido láctico ou os diferentes ácidos canforsulfónicos opticamente ativos. A resolução de misturas racémicas pode

também ser levada a cabo por eluição sobre uma coluna cheia com um agente de resolução opticamente ativo (por exemplo, dinitrobenzoilfenilglicina). A composição de solvente de eluição adequada pode ser determinada por um perito na técnica.

Os compostos da invenção podem ser preparados, por exemplo, utilizando as vias reacionais e técnicas, como descrito abaixo.

Os processos e intermediários aqui descritos são úteis na preparação de inibidores de IDO. Um esquema geral para a preparação dos compostos F15 da invenção é descrito no Esquema 1.



Scheme 1

Fazendo agora referência ao Esquema 1, é descrito um processo para a preparação de um composto de Fórmula A15, ou um seu sal, em que R^2 é Cl, Br, CF_3 , CH_3 , ou CN; R^3 é H ou F; e n é 1 ou 2, por reação de um composto de Fórmula A13, ou um sal do mesmo, em que Pg^1 é um grupo protetor amino, com um agente de desproteção amino (passo M) para se obter um composto de Fórmula A14, ou um seu sal; e fazer

reagir o composto de Fórmula A14 com uma base (Passo N) para produzir o composto de Fórmula A15. O composto de Fórmula A15 pode ser purificado por meio de trituração ou recristalização, utilizando solventes tais como água, etanol, MTBE ou uma combinação dos mesmos.

Em algumas formas de realização, R^2 é Br, R^3 é F, e n é 1.

Em algumas formas de realização, R^2 é Br, R^3 é F, e n é 2.

Em algumas formas de realização, R^2 é Cl, R^3 é F, e n é 1.

Em algumas formas de realização, R^2 é Cl, R^3 é F, e n é 2.

Em algumas formas de realização, R^2 é CF_3 , R^3 é F, e n é 1.

Em algumas formas de realização, R^2 é CF_3 , R^3 é F, e n é 2.

Em algumas formas de realização, R^2 é CF_3 , R^3 é H, e n é 1.

Em algumas formas de realização, R^2 é CF_3 , R^3 é H, e n é 2.

Em algumas formas de realização, R^2 é CN, R^3 é F, e n é 1.

Grupos de proteção amino são regularmente usados em síntese orgânica para evitar reações indesejadas de um grupo amino durante a execução de uma transformação desejada. Grupos de proteção amino permitem a fixação covalente fácil de um átomo de azoto, bem como a clivagem seletiva do átomo de azoto. Vários grupos de proteção amino, classificados amplamente como alcóxicarbonilo (tal como etóxicarbonilo, terc-butoxicarbonilo (Boc), benzilóxicarbonilo (Cbz), 9-fluorenilmetilóxicarbonilo (Fmoc), e semelhantes), acilo (tal como acetilo (Ac), benzoílo (Bz), e semelhantes), sulfonilo (por exemplo, metanossulfonilo, trifluorometanossulfonilo, e semelhantes), arilalquilo (tal como benzilo, difenilmetilo, trifenilmetilo (tritilo), e

semelhantes), alquenilalquilo (tal como alilo, prenilo, e semelhantes), diarilmetileneil (tal como $(C_6H_5)_2$, $C = N$, e semelhantes), e sililo (tal como terc-butildimetilsililo, triisopropilsililo, e semelhantes), são conhecidos por um perito na técnica. A química de grupos de proteção amino pode ser encontrada em Greene e Wuts, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed, pp 696-926, John Wiley & Sons: Nova Iorque, 2006. Em alguns aspetos, Pg^1 pode ser alcóxicarbonilo (tal como terc-butoxicarbonilo).

Os grupos de proteção amino descritos acima podem ser convenientemente removidos utilizando diversos agentes de desproteção amino disponíveis, que são específicos para os vários grupos mencionados acima, sem afetar outras porções desejadas do composto. O grupo terc-butoxicarbonilo pode ser removido (por exemplo, hidrólise) a partir do átomo de azoto, por exemplo, por tratamento com um ácido (tal como o ácido trifluoroacético, ácido toluenossulfónico, ácido clorídrico, e outros semelhantes); uma combinação de reagentes (por exemplo, mistura de cloreto de acetilo e metanol) conhecidas para gerar um ácido; ou um ácido de Lewis (por exemplo, $BF_3 \cdot Et_2O$). O grupo benziloxycarbonilo pode ser removido (por exemplo, hidrogenólise) a partir do átomo de azoto, por exemplo, por tratamento com hidrogénio e um catalisador (tal como o paládio sobre carvão). Em alguns aspetos, o agente de desproteção amino pode ser o ácido trifluoroacético. Em alguns aspectos, o agente de desproteção amino contém ácido trifluoroacético e > 0,5% em volume de água, por exemplo, > 1,0% em volume de água, > 1,5% em volume de água, > 2,0% em volume de água, a partir de cerca de 2% a cerca de 10% em volume de água, a partir de cerca de 10% a cerca de 20% em volume de água, ou entre cerca de 20% a cerca de 50% em volume de água. Em alguns aspetos, o agente de desproteção amino pode ser uma mistura

de ácido trifluoroacético e água numa razão volumétrica de cerca de 98:2. Em alguns aspetos, o agente de desproteção amino pode ser o ácido clorídrico, opcionalmente num solvente (tal como água, THF, ou dioxano). Nestes aspetos, o ácido clorídrico pode estar presente numa concentração de cerca de 4 N, por exemplo, cerca de 1 N, cerca de 2 N, cerca de 3 N, cerca de 5 N, cerca de 6 N, cerca de 7 N, N a cerca de 8, cerca de 9 N, ou cerca de 10 N. Em alguns aspetos, a desproteção pode ser realizada num álcool (tal como isopropanol). Em alguns aspetos, o Passo M (Esquema 1) pode ser realizado a uma temperatura de cerca de -10°C até cerca de 60°C, por exemplo, a partir de cerca de -10°C a cerca de 0°C, a partir de cerca de 0°C até cerca de 25°C, a partir de cerca de 25°C até cerca de 45°C, ou entre cerca de 45°C até cerca de 60°C.

A base pode ser utilizada para a conversão (por exemplo, hidrólise) do anel de oxadiazolona em F14 para revelar a amidoxima em F15, opcionalmente num solvente (Passo N do Esquema 1). A proteção da amidoxima como a oxadiazolona pode ser útil para evitar as reações adversas do grupo hidroxilo ou da amidoxima como um todo. A base pode ser tanto uma base orgânica tal como uma amina acíclica (por exemplo, trietilamina, diisopropiletilamina (DIPEA), etc.) ou uma amina cíclica (por exemplo, pirrolidina, piperidina, etc.); ou uma base inorgânica, tais como sais alcalinos (por exemplo, NaOH, LiOH, KOH, Mg (OH)₂, etc.). A base pode ser disponibilizada sob a forma de uma resina (por exemplo, Amberlite® e outras semelhantes). Em alguns outros aspetos, a base pode ser fornecida sob a forma de uma solução em água, tal como cerca de 2N de solução (por exemplo, cerca de 0,5 N solução, cerca de 1 N de solução, cerca de 1,5 N solução, cerca de 2,5 N solução, desde cerca de a cerca de 3N solução 5 N, a partir de cerca de 5 N e cerca de 10N

solução). Em alguns aspetos, a base é um hidróxido de metal alcalino (tal como, hidróxido de sódio). Em alguns aspetos, a base pode ser uma solução 2N de NaOH em água. Em alguns aspetos, o solvente pode ser metanol ou tetra-hidrofurano (THF). Em alguns aspetos, o Passo N (Esquema 1) pode ser realizado a uma temperatura de cerca de -10°C até cerca de 60°C , por exemplo, a partir de cerca de -10°C a cerca de 0°C , a partir de cerca de 0°C até cerca de 25°C , a partir de cerca de 25°C até cerca de 45°C , ou entre cerca de 45°C a cerca de 60°C .

No Passo L (Esquema 1), o composto de Fórmula A13 pode ser obtido por tratamento de um composto de Fórmula A12, ou um seu sal, com cloreto de sulfonilo $\text{Pg}^1\text{-NH-}$, opcionalmente num solvente, seguido de tratamento da mistura resultante com uma base orgânica, para se obter o composto de Fórmula A13. Este Passo L (Esquema 1) transforma uma amina primária F12 a numa sulfonyl ureia F13 usando um cloreto de amino-sulfonyl protegido ($\text{Pg}^1\text{-NH-SO}_2\text{Cl}$). O cloreto de sulfonyl-amino protegido pode ser preparado e utilizado imediatamente na reação com F12. O grupo protetor pode ser selecionado a partir de qualquer dos grupos protetores conhecidos na técnica para a proteção de aminas ou sulfonamidas (*supra*). Em alguns aspetos, Pg^1 pode ser um grupo alcóxicarbonilo (tal como *tert*-butoxicarbonilo). Nestes aspetos, o cloreto de alcóxicarbonilo NH-sulfonyl pode ser obtido pela reação de um álcool (tal como, etanol, *tert*-butil álcool e semelhantes) com o isocianato de clorossulfonyl (ClSO_2NCO). Os solventes apropriados para esta reação incluem, mas não estão limitados a, solventes halogenados tais como o diclorometano e semelhantes. A base orgânica pode ser qualquer base que serve para neutralizar o HCl gerado durante a reação da amina primária tal como F12 e o

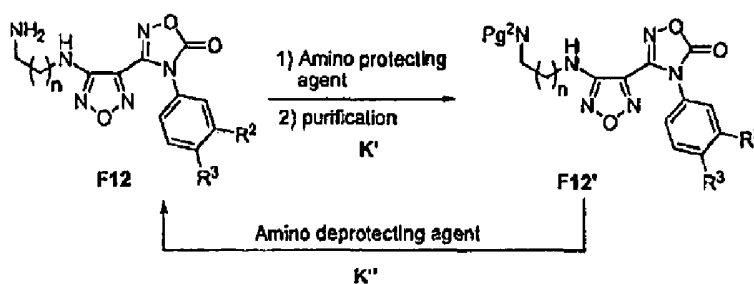
cloreto de amino-sulfonil protegido. A base orgânica pode incluir aminas terciárias acíclicas, tais como tri(C₁₋₆) alquilamina (por exemplo, trietilamina, diisopropiletilamina (DIPEA) e semelhantes), aminas terciárias cíclicas (por exemplo, N-metil-piperidina, 1,4-diazabicyclo [2.2.2] octano (DABCO) e outros semelhantes). Em alguns aspetos, a base orgânica pode ser trietilamina. Em alguns aspetos, este passo pode ser realizado a uma temperatura de cerca de -10°C até cerca de 60°C, por exemplo, a partir de cerca de -10°C a cerca de 0°C, a partir de cerca de 0°C até cerca de 25°C, a partir de cerca de 25°C até cerca de 45°C, ou entre cerca de 45°C até cerca de 60°C.

Os compostos orgânicos que podem ser reduzidos a um estado inferior de oxidação por meio de agentes redutores. A redução geralmente envolve a adição de átomos de hidrogénio ou a remoção de átomos de oxigénio a partir de um grupo. Azidas orgânicas tais como F11 podem ser reduzidas a aminas, tais como F12 (Passo K, Esquema 1) pela adição de hidrogénio, quer sob a forma de hidrogénio elementar ou utilizando um reagente hidreto (tal como o NaBH₄, LiAlH₄ e afins); usando trifenilfosfina; ou usando uma combinação de iodeto de sódio, clorotrimetilsilano, e metanol. Em alguns aspetos, o composto de Fórmula A12 pode ser obtido por redução de um composto de Fórmula F11, ou um seu sal. Em alguns aspetos, a redução pode ser levada a cabo na presença de iodeto de sódio, clorotrimetilsilano, e metanol. Em alguns aspetos, a razão molar do iodeto de sódio e clorotrimetilsilano pode ser de cerca de 1,0, por exemplo, cerca de 0,9, cerca de 0,95, cerca de 1,0, cerca de 1,05, ou cerca de 1,1. Em alguns aspetos, pode ser adicionado clorotrimetilsilano à mistura de F11, iodeto de sódio e metanol como uma solução em metanol. Em alguns

aspectos, o Passo K (Esquema 1) pode ser realizado a cerca da temperatura ambiente, por exemplo, a partir de cerca de 10°C até cerca de 50°C, a partir de cerca de 15°C até cerca de 40°C, a partir de cerca de 20°C a cerca de 30°C, ou entre cerca de 25°C até cerca de 30°C.

Os compostos aminados F12, em alguns casos, podem ser um desafio para se obterem na forma substancialmente pura, tal como determinado por HPLC ou espectroscopia de RMN e semelhantes. Embora não pretendendo ser limitado pela teoria, acredita-se que algumas destas amins podem ser difíceis de purificar por cromatografia em gel de sílica, devido ao aumento da alta afinidade do gel de sílica, ou devido a uma degradação indesejável durante a purificação. Nestes aspectos, referindo agora o Esquema 2, o composto de Fórmula A12 pode ser purificado por meio de reação do composto de Fórmula A12 com um agente protetor amino para proporcionar um composto de Fórmula A12', ou um sal do mesmo, em que Pg^2N é uma amina protegida. Esta proteção (Passo K') pode ser seguida por purificação do composto de Fórmula A12' para se obter um composto purificado de Fórmula F12' e fazendo reagir o composto purificado de fórmula F12' com um agente de desproteção amino (Passo K'') para fornecer um composto de Fórmula A12 purificado. Agentes de proteção amino e agentes de desproteção amino são conhecidos por um perito na técnica, tais como aqueles em Wuts e Greene (*ibid*). Em alguns aspectos, o agente protetor amino é dicarbonato de di-*t*-butilo (Boc_2O). Nestes aspectos, Pg^2N é terc-butoxi-carbonil-NH. Em tais formas de realização, o agente de desproteção amino é um reagente capaz de remover o grupo protetor Boc (*supra*). Em tais formas de realização, o agente de desproteção amino é um ácido (por exemplo, ácido clorídrico, ácido trifluoroacético e similares),

opcionalmente num solvente (tal como água, THF, ou dioxano). Em alguns aspetos, o ácido clorídrico pode estar presente numa concentração de cerca de 4N, por exemplo, cerca de 1N, cerca de 2 N, cerca de 3 N, cerca de 5 N, cerca de 6N, sobre 7N, cerca de 8N, cerca de 9N, ou cerca de 10N. Em algumas formas de realização, a desproteção pode ser realizada num álcool (tal como isopropanol). Em alguns aspetos, passo K' ou K'' pode ser realizado a uma temperatura de cerca de -10°C até cerca de 60°C, por exemplo, a partir de cerca de -10°C a cerca de 0°C, a partir de cerca de 0°C a cerca de 25°C, a partir de cerca de 25°C até cerca de 45°C, ou entre cerca de 45°C até cerca de 60°C. Métodos de purificação adequados são conhecidos dos peritos na técnica e podem incluir cromatografia, cristalização, sublimação e outros semelhantes. Em alguns aspetos, a purificação pode ser realizada por cromatografia em gel de sílica. A pureza dos compostos, em geral, é determinada por meio de métodos físicos, tais como a medição do ponto de fusão (em caso dum sólido), obtenção de um espectro de RMN, ou realizando uma separação HPLC. Se o ponto de fusão diminui, se os sinais não desejados no espectro de RMN são diminuídos, ou se picos estranhos num traço de HPLC são removidos, o composto pode ser referido como tendo sido purificado. Em alguns aspetos, os compostos são substancialmente purificados.



Scheme 2

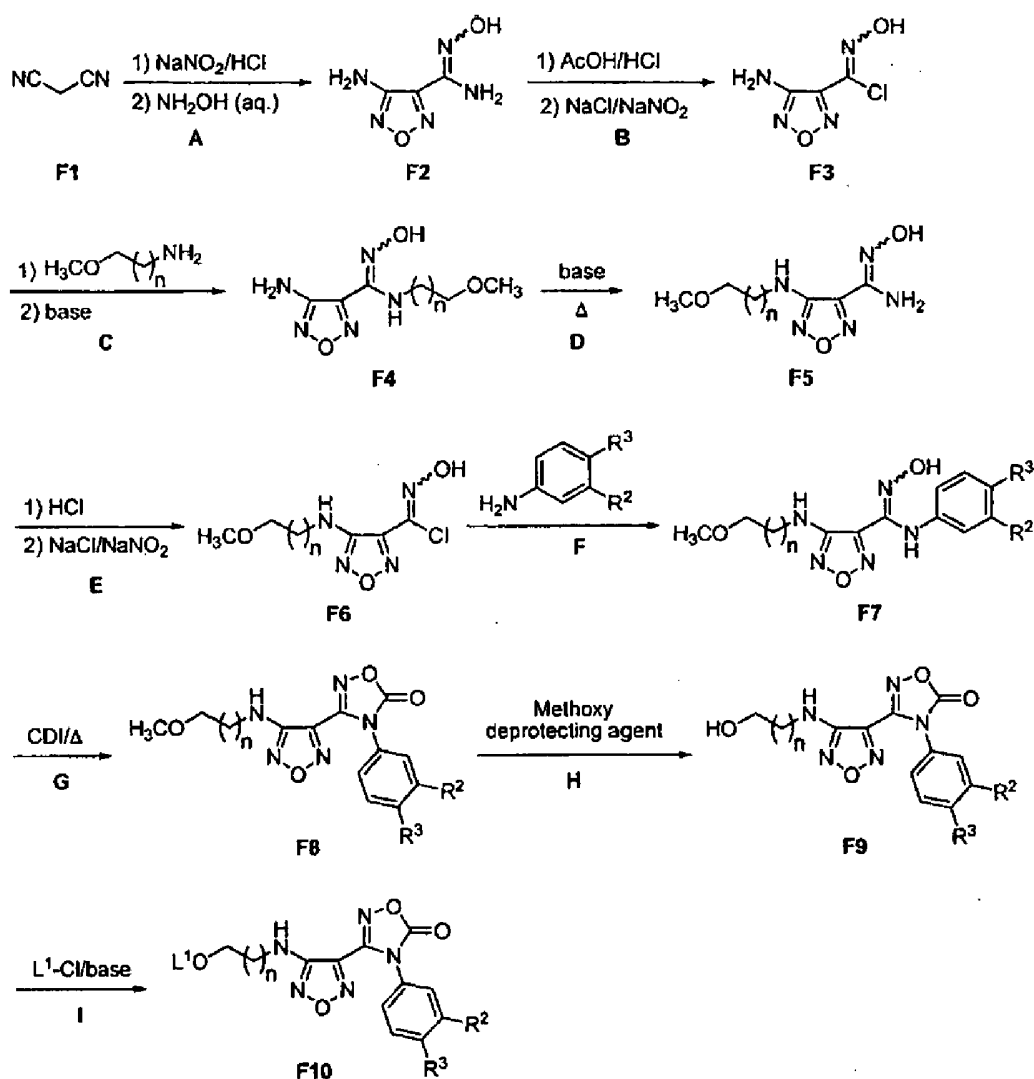
Em alguns aspetos, o composto de Fórmula F11 (Esquema 1) pode ser obtido por tratamento de um composto de Fórmula A10, ou um seu sal, em que L¹ pode ser selecionado a partir de alquilsulfonilo (por exemplo, metanossulfonilo), haloalquilsulfonilo (tais como trifluorometanossulfonil), arilsulfonilo (por exemplo, toluenossulfonilo) e semelhantes; com um reagente azido para dar o composto de Fórmula F11 (Passo J). Em alguns aspectos, L¹ é alquilsulfonilo. Os reagentes azida incluem qualquer reagente capaz de produzir um ião azeto nucleófila. Exemplos de reagentes azida incluem azidas de metais alcalinos (tais como azida de sódio, azida de potássio, etc.). Em alguns aspetos opcionais, o reagente de azida tal como a azida de sódio pode ser usado em combinação com iodeto de sódio. Os solventes adequados para esta transformação são solventes polares, incluindo DMF, DMSO, NMP e afins. Em alguns aspetos, o Passo J pode ser realizado em DMF. O Passo J pode ser realizado a uma temperatura elevada por exemplo, entre cerca de 40°C a cerca de 100°C, a partir de cerca de 50°C até cerca de 90°C, ou entre cerca de 60°C até cerca de 80°C. Em alguns aspetos, o Passo J pode ser realizado a cerca de 50°C. Em alguns aspetos, o Passo J pode ser realizado a cerca de 85°C.

O composto de Fórmula A10, ou um seu sal, pode ser obtido numa sequência de passos representados no Esquema 3. A preparação do intermediário, 4-amino-*N'*-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida F2, foi descrita em J. Heterocycl. Chem. (1965), 2, 253, e a sua conversão para cloro oxima F3 foi descrita em Synth. Commun. (1988), 18, 1427. Aminas (tais como aminas primárias ou secundárias incluindo aminas que contêm funcionalidades protegidas, por exemplo, etilamina, 2-metoxietilamina ou dimetilamina)

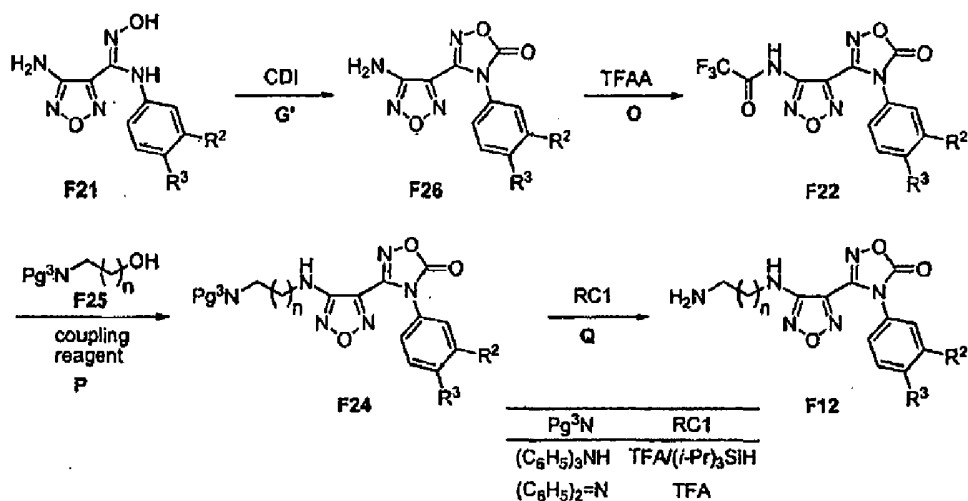
podem ser acopladas ao cloro oxima F3, opcionalmente num solvente (tal como o acetato de etilo), seguido por adição de uma base orgânica (tal como a trietilamina ou a DIPEA para extinguir o HCl gerado na reação), para proporcionar os compostos de amidoxima F4. O rearranjo dos compostos, tais como F4, para transpor o grupo amino no átomo de carbono do anel e o grupo amino no carbono oxima, para fornecer compostos F5 pode ser conseguido pelo tratamento de F4 com uma base (tal como KOH, NaOH, LiOH, Mg (OH)₂, Al (OH)₃ e semelhantes), opcionalmente num solvente (tal como água, etanol, etileno-glicol e similares), e o refluxo da mistura de reação a temperatura elevada, por exemplo, cerca de 70°C, cerca 80°C, cerca de 90°C, cerca de 100°C, cerca de 110°C, a cerca de 120°C, a cerca de 130°C, a cerca de 140°C, a cerca de 150°C, a cerca de 160°C, a cerca de 170°C, cerca 180°C, a cerca de 190°C, ou cerca de 200°C. A amidoxima F5 pode ser novamente ativada como uma cloro oxima F6 por adição de F5 a uma mistura acídica aquosa contendo ácido clorídrico, incluindo, opcionalmente, ácido acético. Neste processo para a conversão de F5 para F6, a mistura ácida de F5 pode ser aquecida a uma temperatura de cerca de 45°C, tal como cerca de 30°C, cerca de 40°C, cerca de 50°C, ou cerca de 60°C para se conseguir a dissolução. O cloreto de sódio pode ser adicionado a esta solução e, em seguida, tratado com um reagente de nitrito, que podem, opcionalmente, ser fornecido como uma solução aquosa, a uma temperatura abaixo de cerca de 0°C, tal como abaixo de cerca de -10°C, abaixo de cerca de -5°C, abaixo de cerca de 5°C, ou abaixo de cerca de 10°C. O reagente de nitrito é um capaz de proporcionar um anião nitrato. Reagentes nitrito incluem nitrito de metal alcalino (por exemplo, nitrito de sódio, nitrito de potássio e outros semelhantes) e nitritos orgânicos (por exemplo, nitrito de tetraetilamónio), que inclui um catião orgânico. Em alguns aspetos, o acetato de

etilo, THF ou dioxano podem ser utilizados como um co-solvente. A cloro-oxima F6 pode ser acoplada com as aminas aromáticas, tais como anilinas, opcionalmente num solvente polar (tal como metanol, água, etanol e semelhantes) a temperaturas elevadas tais como cerca de 50°C, cerca de 60°C, cerca de 70°C, cerca de 80°C, cerca de 90°C, cerca de 100°C, cerca de 110°C, ou cerca de 120°C, opcionalmente na presença de uma base inorgânica (tal como KHCO_3 , NaHCO_3) para fornecer arilamidoxima F7. Em alguns aspetos, a base inorgânica pode ser fornecida sob a forma de uma solução aquosa. Em alguns aspetos, a base inorgânica pode ser adicionada à mistura de reação a uma temperatura elevada. A funcionalidade de amidoxima F7 pode então ser protegida como uma oxadiazolona com 1,1-carbonil diimidazole (CDI), num solvente (tal como acetato de etilo, dioxano, THF e semelhantes) a temperaturas elevadas tais como cerca de 50°C, cerca 60°C, cerca de 70°C, cerca de 80°C, cerca de 90°C, ou cerca de 100°C. O grupo metoxi de F8 pode então ser convertido num grupo hidroxilo em F9 utilizando um agente de desproteção metoxi conhecido para um perito na técnica, tais como aqueles em Wuts e Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed, pp. 24-30, John Wiley & Sons: Nova Iorque, 2006. Por exemplo, por adição de tribrometo de boro a uma solução fria (tal como de cerca de -78°C a cerca de 25 ° C, por exemplo, a partir de cerca de -78°C até cerca de 10°C, a partir de cerca de -78°C a cerca de 0°C, a partir de cerca de -78°C a cerca de -10°C, a partir de cerca de 0°C até cerca de 25°C, ou a partir de cerca de 0°C até cerca de 10°C) de F8, opcionalmente num solvente tal como um solvente halogenado (por exemplo, DCM, clorofórmio e similares) ou acetato de etilo. O grupo hidroxilo primário em F9 pode subsequentemente ser ativado como grupo de saída $\text{L}'\text{O}-$ (ver F10) mediante tratamento sequencial com L^1Cl , opcionalmente

num solvente (tal como acetato de etilo ou DCM), e uma base orgânica para enxugar o HCl gerado (tal como a trietilamina ou DIPEA). L¹, por exemplo, pode ser selecionado a partir de alquilsulfonilo (por exemplo, metanossulfonilo), halogenoalquilsulfonilo (por exemplo, trifluorometano), arilsulfonilo (por exemplo, toluenossulfonilo) e semelhantes. O composto F10 pode então ser tratado com qualquer nucleófilo para deslocamento (tal como por mecanismo S_N2) do grupo de saída L¹O.



Alternativamente, o composto de Fórmula A12 pode ser obtido através de uma sequência de passos descritos no Esquema 4.



Scheme 4

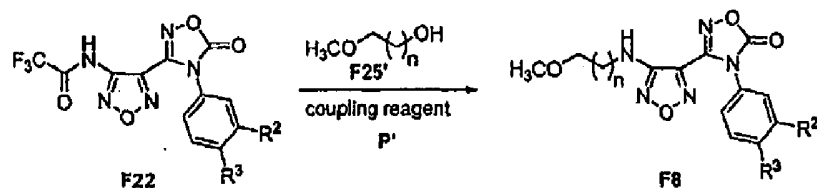
Referindo-nos agora ao Esquema 4, em alguns aspetos, o composto de Fórmula A12 pode ser obtido por reação de um composto de Fórmula F24, ou um sal do mesmo, em que Pg³N é uma amina protegida (por exemplo, (C₆H₅)₃C-NH, (C₆H₅)₂C=N e semelhantes); com um agente de desproteção amino para se obter o composto de Fórmula A12. O tratamento de um composto F24 para substituir Pg³N com NH₂ (Passo Q) pode ser realizado por métodos de desproteção de determinados grupos protetores amino conhecidos dos peritos na técnica, tais como aqueles em Wuts e Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed, pp 696-926, John Wiley & Sons: Nova Iorque, 2006. Em alguns aspetos, quando o Pg³N é (C₆H₅)₂C=N, o agente de desproteção pode ser: um ácido tal como um ácido orgânico (por exemplo, ácido trifluoroacético, ácido metanossulfónico e semelhantes) ou um ácido inorgânico (por exemplo, ácido clorídrico); hidrogénio e paládio; ou hidroxilamina acídica (NH₂OH). Em alguns aspetos, quando o Pg³N é (C₆H₅)₃C-NH, o agente de desproteção pode incluir um ácido orgânico (tal como ácido metanossulfónico ácido trifluoroacético e similares) e, opcionalmente, um organo-silano; hidrogénio e paládio; ou sódio em amoníaco líquido. Organosilanos são compostos que contêm pelo menos uma ligação Si-H e o resto

dos grupos ligados ao silício são alquilo, arilo ou uma sua combinação. Exemplos de organosilanos incluem trialquilsilano (por exemplo, tri (isopropil) silano)), triarilsilano (por exemplo, trifenilsilano) ou difenilmetilsilano. O passo Q pode ser realizado a uma temperatura de cerca de -10°C até cerca de 60°C, por exemplo, a partir de cerca de -10°C a cerca de 0°C, a partir de cerca de 0°C até cerca de 25°C, a partir de cerca de 25°C a cerca de 45°C, ou entre cerca de 45°C até cerca de 60°C.

Os compostos F24 que são aminas secundárias protegidas podem ser preparados pela reação de Mitsunobu de álcoois F25 com aminas primárias protegidas F22 na presença de um reagente de acoplamento (Passo P). O reagente de acoplamento pode ser uma combinação de uma fosfina terciária tal como triarilfosfina (por exemplo, trifenilfosfina) ou trialquilfosfina (por exemplo, tributilfosfina) e um azodicarboxilato de dialquilo. Azodicarboxilatos de dialquilo possuem uma estrutura geral: ROOC-N=N-COOR , onde R pode ser um grupo alquilo (por exemplo, azodicarboxilato de diisopropilo, azodicarboxilato de dietilo, azodicarboxilato de di- ou p-clorobenzilo). Embora não pretendendo ser limitado pela teoria, acredita-se que a proteção de amina com uma porção de trifluoroacetilo (tal como em F22) impede as reações colaterais e melhora o rendimento da amina secundária F24. O grupo hidroxilo de álcoois, tais como F25 pode ser ativado na presença do reagente de acoplamento. O nucleófilo amina pode deslocar o grupo hidroxilo ativado para formar a amina secundária. A reação de Mitsunobu pode ser realizada num solvente tal como um éter, por exemplo, THF, dioxano, éter de dialquilo e semelhantes; solventes halogenados, por exemplo diclorometano, clorofórmio e

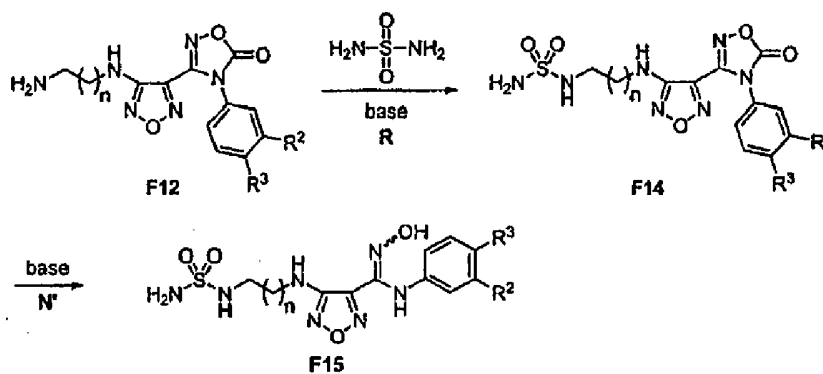
semelhantes; solventes não-polares, por exemplo, benzeno, tolueno e semelhantes; solventes polares apróticos, tais como DMF, HMPA e semelhantes. Em alguns aspectos, o composto de Fórmula F24 pode ser obtido por tratamento de um composto de Fórmula F22, ou um seu sal, com um composto de Fórmula F25, ou um seu sal, e um reagente de acoplamento para proporcionar o composto de Fórmula F24. Em alguns aspectos, este passo pode ser realizado a uma temperatura de cerca de -10°C até cerca de 60°C, por exemplo, a partir de cerca de -10°C a cerca de 0°C, a partir de cerca de 0°C até cerca de 25°C, a partir de cerca de 25°C até cerca de 45°C, ou entre cerca de 45°C até cerca de 60°C.

Os compostos F22 podem ser feitos por um processo de dois passos (Passos G' e O) a partir de compostos F21. Os compostos F21 podem ser tratados com 1,1'-carbonildiimidazole (CDI), opcionalmente num solvente (tal como acetato de etilo ou THF), a uma temperatura elevada tal como cerca de 50°C, por exemplo, cerca de 60°C, cerca de 65°C, cerca de 70°C, cerca de 80°C, ou cerca de 90°C, para converter a amidoxima em compostos F21 para a oxadiazolona presente nos compostos F26. Estes compostos, F26 por sua vez podem ser tratados com anidrido trifluoroacético, opcionalmente num solvente (tal como, o DCM, THF, dioxano, ou acetato de etilo), na presença de uma base orgânica (tal como piridina, trietilamina, DIPEA e semelhantes) para fornecer compostos F22. Em alguns aspectos, o composto de Fórmula F22 pode ser obtido por tratamento de um composto de Fórmula F21, ou um seu sal, com carbonildiimidazolo (CDI), para se obter um composto de Fórmula F26, ou um seu sal, e o tratamento do composto de Fórmula F26 com anidrido trifluoroacético, para se obter o composto de Fórmula F22.



Scheme 5

Referindo-nos agora ao Esquema 5 (Passo P') e com base na descrição acima da reação de Mitsunobu, outro aspeto proporciona um processo para a preparação de um composto de Fórmula F8, ou um seu sal, em que R^2 , R^3 , e n são aqui definidos; incluindo a reação de um composto de Fórmula F22, ou um seu sal, e um composto de Fórmula F25', ou um seu sal, com um reagente de acoplamento, opcionalmente num solvente (tal como THF, éter dialquílico, ou diclorometano), para proporcionar o composto de Fórmula F8. Em alguns aspetos, este passo pode ser realizado a uma temperatura de cerca de -10°C até cerca de 60°C , por exemplo, a partir de cerca de -10°C a cerca de 0°C , a partir de cerca de 0°C até cerca de 25°C , a partir de cerca de 25°C até cerca de 45°C , ou entre cerca de 45°C até cerca de 60°C .



Scheme 6

O Esquema 6 delinea uma via alternativa para a introdução do grupo sulfonamida para o composto F12 amino. O tratamento de F12 com sulfamida na presença de uma base (Passo R), tal como uma base orgânica que pode ser uma base heterocíclica (por exemplo, piridina), ou uma

trialquilamina (por exemplo, trietilamina, DIPEA e semelhantes), cada uma das quais pode, opcionalmente, ser utilizada como um solvente para esta transformação, pode proporcionar sulfonilureias tais como F14. Esta reação pode ser realizada a temperaturas elevadas, tais como cerca de 130°C, por exemplo, cerca de 100°C, cerca de 110°C, a cerca de 120°C, a cerca de 130°C, ou cerca de 140°C. Tal aquecimento pode ser aplicado favoravelmente utilizando a irradiação de micro-ondas. A irradiação de micro-ondas pode ser realizada num forno de micro-ondas comercial (por exemplo, o Initiator™, disponível a partir de Biotage) operando num modo simples. Os compostos F14 contendo o anel de oxadiazolona podem ser desprotegidos (por exemplo, hidrolisados) para as amidoximas F15 desejadas na presença de uma base (Passo N'). A base pode ser tanto uma base orgânica tal como uma amina acíclica (por exemplo, trietilamina, diisopropiletilamina (DIPEA), etc.) ou uma amina cíclica (por exemplo, pirrolidina, piperidina, etc.); ou uma base inorgânica, tais como sais alcalinos (por exemplo, NaOH, LiOH, KOH, Mg (OH)₂, etc.). A base pode ser disponibilizada sob a forma de uma resina (por exemplo, Amberlite® e outras semelhantes). Em alguns outros aspetos, a base pode ser fornecida sob a forma de uma solução em água, tal como cerca de 2N de solução (por exemplo, cerca de 0,5 N solução, cerca de 1 N de solução, cerca de 1,5 N solução, cerca de 2,5 N solução, desde cerca de a cerca de 3N solução 5 N, a partir de cerca de 5 N e cerca de 10N solução). Em alguns aspetos, a base pode ser um hidróxido de metal alcalino (tal como, hidróxido de sódio). Em alguns aspetos, a base pode ser uma solução de 2N de NaOH em água. Em alguns aspetos, o solvente pode ser metanol ou tetra-hidrofurano (THF). Em alguns aspetos, a desprotecção pode ser realizada a uma temperatura de cerca de -10°C até cerca de 60°C, por exemplo, a partir de cerca de -10°C a

cerca de 0°C, a partir de cerca de 0°C até cerca de 25°C, a partir de cerca de 25°C até cerca de 45°C, ou entre cerca de 45°C até cerca de 60°C. Assim, este aspeto proporciona um processo para a preparação de um composto de Fórmula A15, ou um seu sal, em que R^2 , R^3 , e n são como aqui definido; incluindo fazer reagir um composto de Fórmula A12, ou um seu sal, com sulfamida e uma base orgânica, para se obter um composto de Fórmula A14, ou um seu sal, e fazer reagir o composto de Fórmula A14, ou um seu sal, com uma base para se obter o composto de Fórmula A15.

Também descrito é um composto de Fórmula F9, F12, e F14, ou um seu sal, em que R^2 é Cl, Br, CF_3 , CH_3 , ou CN; R^3 é H ou F; e n é 1 ou 2.

Em alguns aspetos, R^2 é Br, R^3 é F, e n é 1.

Em alguns aspetos, R^2 é Br, R^3 é F, e n é 2.

Em alguns aspetos, R^2 é Cl, R^3 é F, e n é 1.

Em alguns aspetos, R^2 é Cl, R^3 é F, e n é 2.

Em alguns aspetos, R^2 é CF_3 , R^3 é F, e n é 1.

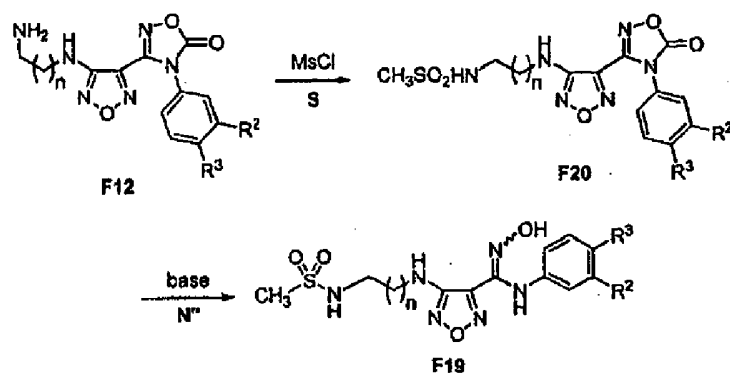
Em alguns aspetos, R^2 é CF_3 , R^3 é F, e n é 2.

Em alguns aspetos, R^2 é CF_3 , R^3 é H, e n é 1.

Em alguns aspetos, R^2 é CF_3 , R^3 é H, e n é 2.

Em alguns aspetos, R^2 é CH_3 , R^3 é F, e n é 1.

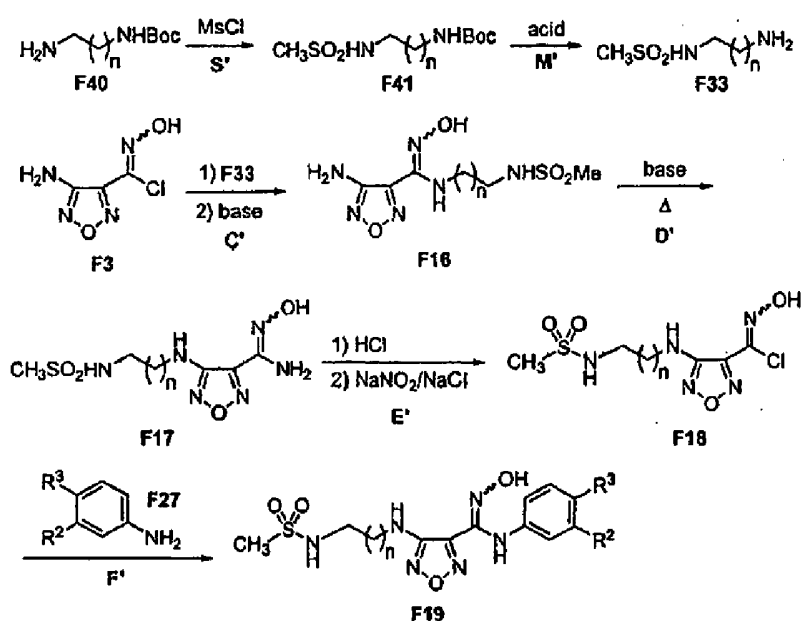
Em alguns aspetos, R^2 é CN, R^3 é F, e n é 1.



Scheme 7

Fazendo agora referência ao Esquema 7, os compostos F19 podem ser obtidos a partir de compostos de amino primário F12 por tratamento com cloreto de metanossulfonilo (Passo S), opcionalmente num solvente tal como acetato de etilo, solventes halogenados (por exemplo, diclorometano, clorofórmio e similares) ou solventes etéreos (THF, éter dietílico, dioxano e semelhantes), na presença de uma base orgânica (para enxugar o HCl gerado), tal como tri(C₁₋₆) alquilamina (por exemplo, trietilamina, DIPEA e similares), ou piridina para se obter sulfonamidas F20. O grupo metanossulfonilo pode ser substituído com outro alquilsulfonilo (por exemplo, etilsulfonilo), halogenoalquilsulfonilo (por exemplo, trifluorometano), arilsulfonilo (por exemplo, toluenossulfonilo) e semelhantes, sem alterar os procedimentos. Em alguns aspetos, este passo pode ser realizado a uma temperatura de cerca de -10°C até cerca de 60°C, por exemplo, a partir de cerca de -10°C a cerca de 0°C, a partir de cerca de 0°C até cerca de 25°C, a partir de cerca de 25°C até cerca de 45°C, ou entre cerca de 45°C até cerca de 60°C. Os compostos de sulfonamida F20 contendo o anel de oxadiazolona podem ser desprotegidos (por exemplo, hidrolisados) para as amidoximas F19 desejadas na presença de uma base (Passo N''). A base pode ser tanto uma base orgânica tal como uma amina acíclica (por exemplo, trietilamina, diisopropiletilamina (DIPEA), etc.) ou uma amina cíclica

(por exemplo, pirrolidina, piperidina, etc.), ou uma base inorgânica tal como hidróxido de metal alcalino ou hidróxido de metal alcalino-terroso (por exemplo, NaOH, LiOH, KOH, Mg (OH)₂, etc.). A base pode ser disponibilizada sob a forma de uma resina (por exemplo, Amberlite® e outras semelhantes). Em alguns outros aspetos, a base pode ser fornecida sob a forma de uma solução em água, tal como uma solução de cerca de 2N (por exemplo, cerca de 0,5 N solução, cerca de 1 N de solução, cerca de 1,5 N de solução, cerca de 2,5 N de solução, a partir de cerca de 3N para cerca de 5N de solução, desde cerca de 5 N e cerca de 10N de solução). Em alguns aspetos, a base é um hidróxido de metal alcalino (por exemplo, hidróxido de sódio). Em alguns aspetos, a base pode ser uma solução de 2N de NaOH em água. Em algumas formas de realização, o solvente pode ser metanol ou tetra-hidrofurano (THF). Em algumas formas de realização, a desproteção pode ser realizada a uma temperatura de cerca de -10°C até cerca de 60°C, por exemplo, a partir de cerca de -10°C a cerca de 0°C, a partir de cerca de 0°C até cerca de 25°C, a partir de cerca de 25°C até cerca de 45°C, ou entre cerca de 45°C até cerca de 60°C. Por conseguinte, um outro aspeto é um processo para a preparação de um composto de Fórmula F19, ou um seu sal, em que R², R³, e n, são como aqui definido; incluindo a reação de um composto de Fórmula A12, ou um seu sal, com cloreto de metanossulfonilo na presença de uma base orgânica, para se obter um composto de Fórmula F20, ou um seu sal, e fazer reagir o composto de Fórmula F20 com uma base para se obter o composto de Fórmula F19. Em alguns aspetos, a base pode ser um hidróxido de metal alcalino, tal como hidróxido de sódio (por exemplo, 2N de NaOH).



Arilo ou alquilsulfonamidas (por exemplo, metanesulfonamidas F19) podem ser obtidos pela sequência dos passos apresentados no Esquema 8. 1,n-diaminas mono-protegidas tais como F40 (por exemplo, N-(aminoalquil)(t-butoxi) carboxamida comercialmente disponível) podem ser tratadas com cloretos de sulfonilo, tais como cloretos de arilsulfonilo ou cloretos de alquilsulfonilo (por exemplo, cloreto de metanossulfonilo), opcionalmente num solvente tal como acetato de etilo, solventes halogenados (por exemplo, diclorometano, clorofórmio e similares), ou solventes etéreos (THF, éter dietílico, dioxano e semelhantes), na presença de uma base orgânica (para enxugar o HCl gerado) tais como trietilamina, piridina, DIPEA e semelhantes, para proporcionar sulfonamidas F41 (Passo S'). O grupo protetor em 1,n-diaminas F40 mono-protegidas pode ser selecionado a partir dos vários grupos de proteção amino e condições de desproteção adequadas podem ser selecionadas de forma adequada (*supra*) para se obter amina F33 (Passo M'). Em alguns aspetos, o grupo protetor pode ser alcóxicarbonilo (tal como terc-butoxicarbonilo, Boc). Nestes aspetos, o agente de

desproteção amino pode ser um ácido, por exemplo, ácido clorídrico ou ácido trifluoroacético, opcionalmente num solvente (tal como dioxano).

A preparação de cloro oxima F3 tem sido descrita em Synth. Commun. (1988), 18, 1427. Aminas (tais como aminas primárias ou secundárias incluindo aminas que contêm funcionalidades protegidas, por exemplo, etilamina, 2-metoxietilamina, dimetilamina ou F33) podem ser acopladas à cloro-oxima F3, opcionalmente num solvente (tais como acetato de etilo ou etanol), seguido pela adição de uma base orgânica (tal como a trietilamina ou a DIPEA para extinguir o HCl gerado na reação), para proporcionar compostos de amidoxima F16 (Passo C). Em alguns aspetos, este passo pode ser realizado a uma temperatura de cerca de -10°C até cerca de 60°C, por exemplo, a partir de cerca de -10°C a cerca de 0°C, a partir de cerca de 0°C até cerca de 25°C, a partir de cerca de 25°C até cerca de 45°C, ou entre cerca de 45°C até cerca de 60°C. O rearranjo dos compostos, tais como F16 para transpor o grupo amino no átomo de carbono do anel e o grupo amino no carbono oxima para fornecer compostos, tais como F17 (Passo D') pode ser conseguido pelo tratamento de F16, com uma base (tal como KOH, NaOH, LiOH, Mg(OH)₂, Al(OH)₃ e semelhantes), opcionalmente num solvente (tal como água, etanol, etileno-glicol e similares), e o refluxo da mistura de reação a temperatura elevada, por exemplo, cerca 70°C, cerca de 80°C, cerca de 90°C, cerca de 100°C, cerca de 110°C, a cerca de 120°C, a cerca de 130°C, a cerca de 140°C, a cerca de 150°C, a cerca de 160°C, cerca 170°C, a cerca de 180°C, a cerca de 190°C, ou cerca de 200°C. A amidoxima F17 pode ser novamente ativada como cloro oxima F18 por adição de F17 a uma mistura aquosa ácida contendo ácido clorídrico, opcionalmente, incluindo ácido acético (Passo E'). Neste

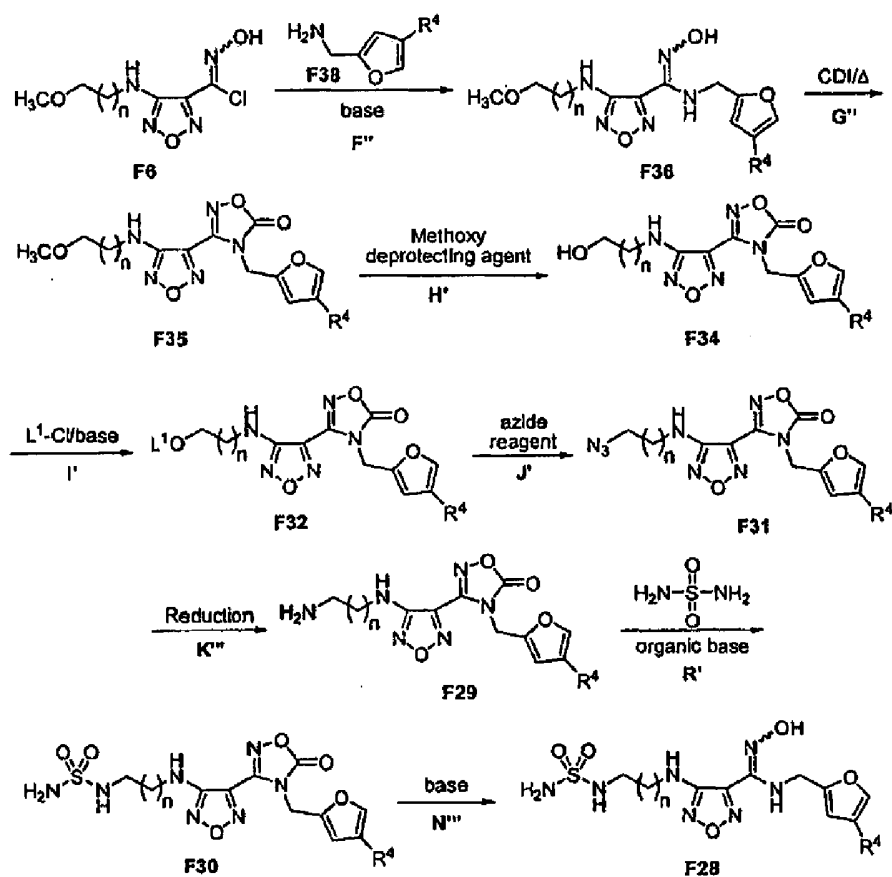
processo para a conversão de F17 para a F18, a mistura ácida de F17 pode ser aquecida até à temperatura de cerca de 45°C, tal como cerca de 30°C, cerca de 40°C, cerca de 50°C, ou cerca de 60°C para se obter a dissolução. O cloreto de sódio pode ser adicionado a esta solução e tratado com um reagente de nitrito, que pode, opcionalmente, ser fornecido como uma solução aquosa, a uma temperatura abaixo de cerca de 0°C, tal como abaixo de cerca de -10°C, abaixo de cerca de -5°C, abaixo cerca de 5°C, ou abaixo de cerca de 10°C. O reagente de nitrito é um capaz de proporcionar um anião nitrato. Reagentes nitrito incluem nitrito de metal alcalino (por exemplo, nitrito de sódio, nitrito de potássio e outros semelhantes) e nitritos orgânicos (por exemplo, nitrito de tetraetilamónio), que inclui um catião orgânico. Em algumas formas de realização, acetato de etilo, THF ou dioxano podem ser utilizados como um co-solvente. A substituição do cloreto em F18 com as aminas aromáticas, tais como anilinas F27, opcionalmente num solvente polar (tal como metanol, água, etanol e similares), a temperatura ambiente pode proporcionar metanesulfonamidas F19 (Passo F'). Em alguns aspetos, podem ser empregues temperaturas tais como cerca de 10°C, cerca de 20°C, cerca de 30°C, cerca de 40°C, ou cerca de 50°C. Esta reação pode ser opcionalmente levada a cabo na presença de uma base inorgânica (tal como KHCO_3 , NaHCO_3), que pode ser fornecida na forma de uma solução aquosa.

Deste modo, noutro aspeto, um processo para a preparação de um composto de Fórmula F19, ou um seu sal, em que R^2 , R^3 , e n , são como aqui definido; incluindo a reação de um composto de Fórmula F17, ou um seu sal, com o ácido clorídrico, opcionalmente num solvente (tal como dioxano), seguido por tratamento com um reagente de nitrito (tais como, nitrito de sódio), opcionalmente na forma de uma

solução aquosa, para se obter um composto de Fórmula F18, ou um seu sal, e fazer reagir o composto de Fórmula F18 com um composto de Fórmula F27, ou um seu sal, para se obter o composto de Fórmula F19.

Em alguns aspetos, o composto de Fórmula F17 pode ser obtido por tratamento de um composto de Fórmula A16, ou um seu sal, com uma base (tal como hidróxido de potássio) num solvente (tal como etileno-glicol) a uma temperatura suficiente para o refluxo do solvente (tal como 130°C), para proporcionar um composto de Fórmula F17.

Também é descrito um composto de Fórmula F18, ou um seu sal, em que n é 1 ou 2 Em alguns aspetos, n é 1 Em alguns aspetos, n é 2.



Scheme 9

Os compostos F28 podem ser obtidos como descrito no Esquema 9. A cloro-oxima F6 (supra, Esquema 1) pode ser acoplada com as aminas heterocíclicas (tais como o composto de Fórmula F38), opcionalmente num solvente polar (tal como metanol, água, etanol e semelhantes), na presença de uma base tal como uma base inorgânica ou uma base orgânica (por exemplo, Et₃N, piridina ou DIPEA), para proporcionar arilamidoxima F36 (Passo F''). Em alguns aspetos, a conversão de F6 para a F36 pode ser levada a cabo a temperaturas, tal como cerca de 10°C, cerca de 20°C, cerca de 30°C, cerca de 40°C, cerca de 50°C, cerca de 60°C, ou cerca de 90°C. Em alguns aspetos, a base inorgânico pode ser fornecida sob a forma de uma solução aquosa. Em alguns aspetos, a base inorgânica pode ser adicionada à mistura de reação a uma temperatura elevada. A funcionalidade da amidoxima F36 pode então ser protegida como uma oxadiazolona usando 1,1-carbonil diimidazole (CDI), num solvente (tal como acetato de etilo, dioxano, THF e semelhantes) a temperaturas elevadas tais como cerca de 50°C, cerca de 60°C, cerca de 70°C, cerca de 80°C, cerca de 90°C, ou cerca de 100°C (Passo G''). O grupo metoxi do F35 pode, então, ser convertido a um grupo hidroxilo em F34 por métodos conhecidos de um perito na técnica para a desproteção do grupo metoxi (Passo H'), tais como aqueles em Wuts e Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed, pp 24-30, John Wiley & Sons: Nova Iorque, 2006. Por exemplo, por adição de tribrometo de boro a uma solução fria (tal como de cerca de -78°C a cerca de 25°C, por exemplo, desde cerca -78°C até cerca de 10°C, a partir de cerca de -78°C a cerca de 0°C, a partir de cerca de -78°C a cerca de -10°C, a partir de cerca de 0°C até cerca de 25°C, ou a partir de cerca de 0°C até cerca de 10°C) de F35, opcionalmente num solvente tal como um solvente halogenado (por exemplo, DCM, clorofórmio e similares) ou

acetato de etilo. O grupo hidroxilo primário em F34 pode então ser posteriormente ativado como um grupo de saída L^1O- (ver Passo I', F32), por tratamento sequencial com L^1Cl , opcionalmente num solvente (tal como acetato de etilo ou DCM), e uma base orgânica para enxugar o HCl gerado (como trietilamina ou DIPEA). Em compostos F32, L^1 pode ser selecionado a partir de alquilsulfonilo (por exemplo, metanossulfonilo), halogenoalquilsulfonilo (por exemplo, trifluorometano), arilsulfonilo (por exemplo, toluenossulfonilo) e semelhantes. O composto F32 pode então ser tratado com qualquer nucleófilo para o deslocamento S_N2 do grupo de saída L^1O . Em algumas formas de realização, este passo pode ser realizado a uma temperatura de cerca de $-10^\circ C$ até cerca de $60^\circ C$, por exemplo, a partir de cerca de $-10^\circ C$ a cerca de $0^\circ C$, a partir de cerca de $0^\circ C$ até cerca de $25^\circ C$, a partir de cerca de $25^\circ C$ até cerca de $45^\circ C$, ou entre cerca de $45^\circ C$ até cerca de $60^\circ C$.

Quando o nucleófilo é um ião azida, F32 proporciona F31 (Passo J'). Os reagentes azida incluem qualquer reagente capaz de produzir um ião azida nucleófilo. Exemplos de reagentes azida incluem azidas de metais alcalinos (tais como azida de sódio, azida de potássio). Em alguns aspetos opcionais, o reagente de azida tal como a azida de sódio pode ser usado em combinação com iodeto de sódio. Os solventes adequados para esta transformação são solventes polares, incluindo DMF, DMSO, NMP e semelhantes. Em alguns aspetos, este passo pode ser realizado em DMF. Em algumas formas de realização, este passo pode ser realizado a uma temperatura elevada, por exemplo, desde cerca de $40^\circ C$ a cerca de $100^\circ C$, a partir de cerca de $50^\circ C$ até cerca de $90^\circ C$, ou entre cerca de $60^\circ C$ até cerca de $80^\circ C$. Em algumas formas de realização, este passo pode ser levada a cabo a $50^\circ C$. Em alguns aspetos, este passo pode ser levado a cabo

a 85°C. Azidas orgânicas tais como F31 podem ser reduzidas a aminas orgânicas, tais como F29 pela adição de hidrogénio, quer sob a forma de hidrogénio elementar; utilizando um reagente hidreto (tal como o NaBH_4 , LiAlH_4 e semelhantes); usando trifenilfosfina; ou usando uma combinação de iodeto de sódio, clorotrimetilsilano, e metanol (Passo K''). Em alguns aspetos, a redução pode ser levada a cabo na presença de iodeto de sódio, clorotrimetilsilano, e metanol. Em alguns aspetos, a redução pode ser realizada cerca da temperatura ambiente, por exemplo, a partir de cerca de 10°C até cerca de 50°C, a partir de cerca de 15°C até cerca de 40°C, a partir de cerca de 20°C até cerca de 30°C, ou entre cerca de 25°C até cerca de 30°C. Em algumas formas de realização, a razão molar do iodeto de sódio e clorotrimetilsilano pode ser de cerca de 1,0, por exemplo, cerca de 0,9, cerca de 0,95, cerca de 1,0, cerca de 1,05, ou cerca de 1,1. Em alguns aspetos, clorotrimetilsilano pode ser adicionado à mistura de F31, iodeto de sódio e metanol como uma solução em metanol.

O tratamento de F29 com sulfamida na presença de uma base tal como uma base orgânica que pode ser uma base heterocíclica (por exemplo, piridina), ou uma trialkilamina (por exemplo, trietilamina, DIPEA e semelhantes), cada um dos quais pode opcionalmente ser usado como um solvente para esta transformação para fornecer as ureias tais como F30 (Passo R'). Esta reação pode ser realizada a temperaturas elevadas, tais como cerca de 130°C, por exemplo, cerca de 100°C, cerca de 110°C, a cerca de 120°C, a cerca de 130°C, ou cerca de 140°C. Tal aquecimento pode ser aplicado favoravelmente utilizando a irradiação de micro-ondas. A irradiação de micro-ondas pode ser realizada num forno de micro-ondas comercial (por

exemplo, o Initiator™, disponível a partir de Biotage) operando num modo simples. Os compostos F30 contendo o anel de oxadiazolona podem ser desprotegidos (por exemplo, hidrolisados) para as amidoximas F28 desejada na presença de uma base (Passo N'''). A base pode ser tanto uma base orgânica, tais como as aminas acíclicas (por exemplo, trietilamina, diisopropiletilamina (DIPEA), etc.), ou aminas cíclicas (por exemplo, pirrolidina, piperidina, etc.), ou uma base inorgânica, tais como sais alcalinos (por exemplo, NaOH, LiOH, KOH, Mg(OH)₂, etc.). A base pode ser disponibilizada sob a forma de uma resina (por exemplo, Amberlite® e outras semelhantes). Em alguns aspetos adicionais, a base pode ser fornecida sob a forma de uma solução em água (uma base aquosa) tal como cerca de solução 2N (por exemplo, cerca de 0,5 N de solução, cerca de 1 N de solução, cerca de 1,5 N de solução, cerca de 2,5 N de solução, a partir de cerca de 3N para cerca de 5N de solução, desde cerca de 5 N e cerca de 10N de solução). Em alguns aspetos, a base pode ser um hidróxido de metal alcalino (por exemplo, hidróxido de sódio) Em alguns aspetos, a base pode ser uma solução de 2N de NaOH em água. Em alguns aspetos, o solvente pode ser metanol ou tetra-hidrofurano (THF) Em alguns aspetos, a desproteção pode ser realizada a uma temperatura de cerca de - 10°C a cerca de 60°C, por exemplo, a partir de cerca de -10°C a cerca de 0°C, a partir de cerca de 0°C até cerca de 25°C, a partir de cerca de 25°C até cerca de 45°C, ou entre cerca de 45°C a cerca de 60°C.

Deste modo, é também revelado um processo para a preparação de um composto de Fórmula F28, ou um seu sal, em que R⁴ é F, Cl, Br, ou I; e n é 1 ou 2; incluindo fazer reagir um composto de Fórmula F29, ou um seu sal, com sulfamida e uma base orgânica, para se obter um composto de Fórmula F30, ou

um seu sal, e fazer reagir o composto de Fórmula F30 com uma base para se obter o composto de Fórmula F28.

Em algumas formas de realização, R^4 é Cl e n é 1,

Em algumas formas de realização, R^4 é Br e n é 1.

Em alguns aspetos, a reação de um composto de Fórmula F29 inclui ainda aquecer a reação (tal como a utilização de irradiação de micro-ondas).

Noutro aspeto, é um processo de obtenção do composto de Fórmula F29 por redução de um composto de Fórmula F31, ou um seu sal. Em alguns aspetos, a redução pode ser efetuada com uma combinação de iodeto de sódio, clorotrimetilsilano, e metanol.

Num outro aspeto, o composto de Fórmula F31 pode ser obtido por tratamento de um composto de Fórmula F32, ou um seu sal, em que L^1 é selecionado a partir de alquilsulfonilo, haloalquilsulfonilo, e arilsulfonilo; com um reagente azida para dar o composto de Fórmula F31.

Tal como aqui utilizado, o termo "alquilo" quando utilizado isoladamente ou em conjunto com termos adicionais, refere-se a um grupo hidrocarboneto saturado de cadeia linear ou ramificada, tendo de 1 a 6 átomos de carbono, 1 a 4 átomos de carbono, ou de 1 a 3 carbono átomos. Os grupos alquilo exemplificativos incluem metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, e semelhantes.

Tal como aqui utilizado, "alquenilo" refere-se a um grupo alquilo possuindo uma ou mais ligações duplas carbono-carbono. Exemplos de grupos alquenilo incluem etenilo (vinilo), propenilo, e semelhantes.

Tal como aqui utilizado, o termo "arilo" refere-se a um grupo hidrocarboneto aromático o qual pode ser mono ou policíclico com 6 a 14 átomos de carbono. Os grupos arilo exemplificativos incluem fenilo, naftilo, antracenilo, fenantrenilo, indanilo, indenilo, e semelhantes.

Tal como aqui utilizado, o termo "haloalquilo", quando utilizado isoladamente ou em conjunto com uma porção adicional, refere-se a um grupo alquilo substituído por um ou mais átomos de halogéneo independentemente selecionados de entre F, Cl, Br e I. Exemplos de grupos haloalquilo incluem CF_3 , CHF_2 , CH_2CF_3 , e assim por diante.

Tal como aqui utilizado, o termo "alcoxi" refere-se a um grupo -O-alquilo. Exemplos de grupos alcoxi incluem metoxi, etoxi, propoxi (por exemplo, n-propoxi e isopropoxi), t-butoxi, e semelhantes.

Tal como aqui utilizado, "alquilamina" refere-se a um grupo amino (NH_2) substituído por um grupo alquilo. Exemplos de grupos alquilamina incluem metilamina, hexilamina e semelhantes.

Tal como aqui utilizado, "trialquilamina" designa um átomo de azoto substituído por três grupos alquilo. Exemplos de grupos trialquilamina incluem trimetilamina, trietilamina, e semelhantes.

Tal como aqui utilizado, o termo "alcoxicarbonilo" refere-se a CO substituído por um grupo alcoxi: $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{alquilo}$. Grupos alcoxicarbonilo exemplificativos incluem etoxycarbonilo, terc-butoxicarbonilo (Boc), benzyloxycarbonilo (Cbz), 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc), e semelhantes.

Tal como aqui utilizado, o termo "alquilsulfonilo" refere-se a um grupo sulfonilo substituído por um grupo alquilo: alquilo-S(O)₂-. Exemplos de grupos alquilsulfonilo incluem, metanossulfonilo, etanossulfonilo, e outros semelhantes.

Tal como aqui utilizado, o termo "haloalquilsulfonilo" refere-se a um grupo sulfonilo substituído por um grupo halogenoalquilo. Exemplos de grupos haloalquilsulfonilo incluem trifluorometanossulfonilo, 1,1,1-trifluoroetanossulfonilo, e outros semelhantes.

Tal como aqui utilizado, o termo "arilsulfonilo" refere-se a um grupo sulfonilo substituído por um grupo arilo ou um grupo arilo substituído, em que os substituintes no grupo arilo são selecionados a partir de halo, nitro, C₁₋₄ alquilo, e C₁₋₄ halogenoalquilo.

Tal como aqui utilizado, o termo "base heterocíclica" refere-se a um heterociclo de 4 a 14 membros, opcionalmente substituído, em que pelo menos um membro de formação de anel é um átomo de azoto. A base heterocíclica pode ser aromática ou não-aromática. Exemplos de bases heterocíclicas incluem piridina, pirrolidina, piperidina, morfolina, etc. Exemplos de substituintes no heterociclo incluem F, Cl, Br, C₁₋₄ alquilo, e C₁₋₄ haloalquilo.

Métodos de Utilização

Os compostos da invenção podem inibir a atividade da enzima indolamina-2,3-dioxigenase (IDO). Por exemplo, os compostos da invenção podem ser utilizados para inibir a atividade da IDO na célula ou num indivíduo com necessidade de modulação do enzima por administração de uma quantidade inibidora de um composto da invenção.

A presente invenção proporciona ainda compostos da invenção para utilização em métodos para inibir a degradação do triptofano num sistema que contém células que expressam IDO, tal como um tecido, organismo vivo, ou cultura de células. Em algumas formas de realização, a presente invenção proporciona um composto ou uma composição aqui proporcionada para utilização em métodos de alteração (por exemplo, aumentando) dos níveis de triptofano extracelulares num mamífero

Métodos para a medição do teor de triptofano e de degradação do triptofano são de rotina na técnica.

A presente invenção proporciona ainda um composto ou uma composição aqui descrita para uso em métodos de inibição da imunossupressão, tais como a imunossupressão mediada por IDO num doente

A imunossupressão mediada por IDO tem sido associada com, por exemplo, cancros, crescimento do tumor, metástase, infecção viral, replicação viral, etc.

A presente invenção proporciona ainda um composto da presente invenção ou uma sua composição farmacêutica para utilização em métodos de tratamento de doenças associadas com a atividade ou a expressão anormal, incluindo a atividade e/ou a sobre-expressão, de IDO num indivíduo (por exemplo, paciente).

Exemplos de doenças podem incluir qualquer doença, distúrbio ou condição que está diretamente ou indiretamente ligada a expressão ou a atividade da enzima IDO, tais como sobre-expressão ou atividade anormal. Uma doença associada a IDO também pode incluir qualquer doença, distúrbio ou condição que pode ser prevenida, melhorada, ou curada por modulação da atividade da enzima. Exemplos de doenças

associadas à IDO incluem o cancro, infeções virais, tais como a infeção pelo HIV, infeção por HCV, depressão, distúrbios neurodegenerativos tais como a doença de Alzheimer e doença de Huntington, trauma, cataratas relacionadas com a idade, transplante de órgãos (por exemplo, rejeição de transplantes de órgãos), e doenças autoimunes, incluindo asma, artrite reumatoide, esclerose múltipla, inflamação alérgica, doença inflamatória do intestino, psoríase e lúpus sistémico eritematosus. Exemplos de cancros tratáveis pelos métodos aqui descritos incluem o cancro do cólon, pâncreas, mama, próstata, pulmão, cérebro, ovário, útero, testículos, renal, cabeça e pescoço, linfoma, leucemia, melanoma, e outros semelhantes. Os compostos da invenção também podem ser úteis no tratamento da obesidade e de isquemia.

Tal como aqui utilizado, o termo "célula" destina-se a referir a uma célula que está, *in vitro*, *ex vivo* ou *in vivo*. Em algumas formas de realização, as células *ex vivo* podem ser parte de uma amostra de tecido excisada a partir de um organismo tal como um mamífero. Em algumas formas de realização, células *in vitro* pode ser uma célula de uma cultura de células. Em algumas formas de realização, células *in vivo* é uma célula viva num organismo, tal como um mamífero.

Tal como aqui utilizado, o termo "contactar" refere-se à união de porções indicadas num sistema *in vitro* ou num sistema *in vivo*. Por exemplo, "contactar" a enzima IDO com um composto da invenção inclui a administração de um composto da presente invenção a um indivíduo ou paciente, tal como um ser humano, tendo IDO, bem como, por exemplo, introdução de um composto da invenção numa amostra contendo uma preparação celular ou purificada contendo a enzima IDO.

Tal como aqui utilizado, o termo "indivíduo" ou "paciente", utilizado indiferentemente, refere-se a quaisquer animais, incluindo mamíferos, de preferência ratinhos, ratos, outros roedores, coelhos, cães, gatos, suínos, bovinos, ovinos, cavalos, ou primatas, e mais preferencialmente seres humanos.

Tal como aqui utilizada, a frase "quantidade terapeuticamente eficaz" refere-se à quantidade de composto ativo ou agente farmacêutico que provoca a resposta biológica ou medicinal do tecido, sistema, animal, indivíduo ou ser humano que está a ser procurada por um investigador, veterinário, um médico ou outro clínico.

Tal como aqui utilizado, o termo "tratar" ou "tratamento" refere-se a 1) prevenção da doença; por exemplo, prevenção de uma doença, condição ou desordem num indivíduo que pode estar predisposto à doença, condição ou desordem mas ainda não experimenta ou mostra a patologia ou sintomatologia da doença; 2) inibição da doença; por exemplo, inibição de uma doença, condição ou desordem num indivíduo que sofre ou apresenta a patologia ou sintomatologia da doença, condição ou desordem (ou seja, deter o desenvolvimento adicional da patologia e/ou sintomatologia), ou 3) melhorar a doença; por exemplo, melhoria de uma doença, condição ou desordem num indivíduo que sofre ou apresenta a patologia ou sintomatologia da doença, condição ou desordem (isto é, inversão da patologia e/ou sintomatologia).

Terapia combinada

Um ou mais agentes farmacêuticos adicionais ou métodos de tratamento tais como, por exemplo, agentes antivirais, agentes quimioterapêuticos ou outros agentes anti-cancro,

potenciadores do sistema imunológico, imunossupressores, radiação, anti-tumorais e antivirais, vacinas, terapia de citocina (por exemplo, IL2, GM-CSF, etc.) e/ou inibidores da quinase da tirosina, podem ser usados em combinação com os compostos da presente invenção para o tratamento de doenças associadas a IDO, distúrbios ou condições. Os agentes podem ser combinados com os presentes compostos numa forma de dosagem única, ou os agentes podem ser administrados simultaneamente ou sequencialmente como formas de dosagem separadas.

Os agentes antivirais adequados contemplados para utilização em combinação com os compostos da presente invenção podem compreender nucleosídeos e inibidores da transcriptase reversa (NRTIs), inibidores não nucleósidos da transcriptase reversa (NNRTIs), inibidores de protease e outros fármacos antivirais.

Exemplos de NRTIs apropriados incluem zidovudina (AZT); didanosina (ddl); zalcitabina (ddC); estavudina (d4T); lamivudina (3TC); abacavir (1592U89); adefovir dipivoxil [bis (POM)-PMEA]; lobucavir (BMS-180194); BCH-10652; emitricitabine [(-)-FTC]; beta-L-FD4 (também chamado beta-L-D4C e chamado beta-L-2',3'-dicleoxi-5-fluorocitidene); DAPD, ((-)-beta-D-2,6,dioxolano-diaminopurina); e lodenosina (FddA). NNRTIs apropriados típicos incluem nevirapina (BI-RG-587); delaviradine (BHAP, U-90152); efavirenz (DMP-266); PNU-142721; AG-1549; MKC-442 (1 (etoxi-metil)-5-(1-metiletil)-6 (fenilmetil)- (2,4 (1H, 3H) pirimidinodiona), e (+)-calanolida A (NSC-675451) e B. Inibidores da protease adequados típicos incluem saquinavir (31-8959); ritonavir (ABT-538); indinavir (MK-639); nelfinavir (AG-1343); amprenavir (141 W94); lasinavir (BMS-234475) ; DMP-450; BMS-2322623; ABT-378, AG-1 549. Outros

agentes antivirais incluem hidroxiureia, ribavirina, IL-2, IL-12, pentafusida e Projeto Yisum N°1 1607.

Quimioterápicos adequados ou outros agentes anti-câncer incluem, por exemplo, os agentes de alquilação (incluindo, sem limitação, mostardas de azoto, derivados de etilenimina, alquilsulfonatos, nitrosoureas e triazenos) como a mostarda uracila, clormetina, ciclofosfamida (CytosanTM), ifosfamida, melfalano, clorambucil, pipobromano, trietileno-melamina, trietilenetiofosforamina, bussulfano, carmustina, lomustina, estreptozocina, dacarbazina, e temozolomida.

No tratamento do melanoma, os agentes adequados para uso em combinação com os compostos da presente invenção incluem: a dacarbazina (DTIC), opcionalmente, em conjunto com outros fármacos de quimioterapia tais como carmustina (BCNU) e cisplatina; o "regime de Dartmouth", que consiste de DTIC, BCNU, cisplatina e tamoxifeno; uma combinação de cisplatina, vinblastina, e DTIC; ou temozolomida. Compostos de acordo com a invenção também podem ser combinados com fármacos de imunoterapia, incluindo citocinas, tais como interferon alfa, interleucina 2, e o fator de necrose tumoral (FNT), no tratamento do melanoma.

Os compostos da invenção também podem ser utilizados em combinação com a terapia de vacina para o tratamento de melanoma. Vacinas antimelanoma são, em alguns aspectos, semelhantes às vacinas antivírus, que são utilizados para a prevenção de doenças causadas por vírus, tais como poliomielite, sarampo, e papeira. Células de melanoma ou de partes de células de melanoma enfraquecidas chamadas antigénios podem ser injetadas num paciente para estimular o sistema imunitário do corpo para destruir as células do melanoma.

Melanomas que estão confinados aos braços ou pernas também podem ser tratados com uma combinação de agentes, incluindo um ou mais compostos da invenção, usando uma técnica de perfusão isolada do membro hipertérmico. Este protocolo de tratamento separa temporariamente a circulação do membro envolvido a partir do resto do corpo e injeta altas doses de quimioterapia na artéria que alimenta o membro, proporcionando, assim, altas doses para a área do tumor, sem expor os órgãos internos para estas doses, que pode de outro modo causar efeitos colaterais graves. Normalmente, o líquido é aquecido até 102° a 104° F. O melfalano é o fármaco mais frequentemente utilizado neste processo de quimioterapia. Isso pode ser administrado com outro agente chamado de fator de necrose tumoral (TNF) (ver secção sobre as citocinas).

Quimioterapêuticos adequados ou outros agentes anti-câncer incluem, por exemplo, antimetabolitos (incluindo, sem limitação, antagonistas de ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inibidores de adenosina desaminase), tais como metotrexato, 5-fluorouracilo, floxuridina, citarabina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, fosfato de fludarabina, pentostatina, e gemcitabina.

Quimioterapêuticos adequados ou outros agentes anti-câncer incluem ainda, por exemplo, certos produtos naturais e seus derivados (por exemplo, alcalóides da vinca, antibióticos anti tumorais, enzimas, linfocinas e epipodofilotoxinas), tais como vinblastina, vincristina, vindesina, bleomicina, dactinomicina, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, ara-C, paclitaxel (Taxol[™]), mitramicina, desoxicoformicina, mitomicina-C, L-asparaginase, os interferões (especialmente IFN-α), etoposido, e teniposido.

Outros agentes citotóxicos incluem navelbene, CPT-11, anastrozole, letrozole, capecitabina, reloxafine, ciclofosfamida, ifosamida, e droloxafme.

Também adequados são os agentes citotóxicos, tais como epidofilotoxina; uma enzima antineoplásica; um inibidor de topoisomerase; procarbazona; mitoxantrona; complexos de coordenação de platina, tais como cisplatina e carboplatina; modificadores da resposta biológica; inibidores de crescimento; agentes terapêuticos anti-hormonais; leucovorina; tegafur; e fatores de crescimento hematopoiéticos.

Outros agentes anti-câncer incluem anticorpos terapêuticos tais como trastuzumab (Herceptin), anticorpos para moléculas co-estimuladoras, tais como o CTLA-4, 4-1 BB e DP-1, ou anticorpos para as citocinas (IL-10, TGF- β , etc.).

Outros agentes anticancerígenos também incluem aqueles que bloqueiam a migração de células imunitárias, tais como antagonistas de receptores de quimiocinas, incluindo CCR2 e CCR4.

Outros agentes anticancerígenos também incluem aquelas que aumentam o sistema imunológico, tais como adjuvantes ou transferência adotiva de células T.

Vacinas anti-câncer incluem as células dendríticas, os peptídeos sintéticos, as vacinas de ADN e vírus recombinantes.

Os métodos para a administração segura e eficaz da maioria destes agentes quimioterapêuticos são conhecidos dos peritos na técnica. Além disso, a administração é descrita na literatura padrão. Por exemplo, a administração de

muitos dos agentes quimioterapêuticos são descritos no "Physicians 'Desk Reference"(PDR, por exemplo, edição de 1996, Medical Economics Company, Montvale, NJ).

Formulações farmacêuticas e formas de dosagem

Quando empregues como produtos farmacêuticos, os compostos da invenção podem ser administrados na forma de composições farmacêuticas que é uma combinação de um composto da invenção e um veículo farmacêuticamente aceitável. Estas composições podem ser preparadas de um modo bem conhecido na especialidade farmacêutica, e podem ser administrados por uma variedade de vias, dependendo se o tratamento desejado é local ou sistémico e sobre a área a ser tratada. A administração pode ser tópica (incluindo oftálmica e para as membranas mucosas, incluindo intranasal, vaginal e rectal), pulmonar (por exemplo, por inalação ou insuflação de pós ou aerossóis, incluindo por nebulizador; intratraqueal, intranasal, epidérmica e transdérmica), ocular, oral ou parentérica. Métodos de entrega ocular pode incluir a administração tópica (colírios), subconjuntival, injeção periocular ou intravítrea ou introdução de cateter de balão ou inserções oftálmicas colocadas cirurgicamente no saco conjuntival. A administração parenteral inclui a administração intravenosa, intra-arterial, subcutânea, intraperitoneal, ou por injeção ou infusão intramuscular; ou intracraniana, por exemplo, administração intratecal ou intraventricular. A administração parentérica pode estar na forma de uma única dose de bolus, ou pode ser, por exemplo, por uma bomba de perfusão contínua. As composições farmacêuticas e as formulações para administração tópica podem incluir emplastros transdérmicos, unguentos, loções, cremes, géis, gotas, supositórios, sprays, líquidos e

pós. Os veículos farmacêuticos convencionais, bases aquosas, em pó ou oleosas, espessantes e semelhantes podem ser necessários ou desejáveis.

Esta invenção também inclui composições farmacêuticas que contêm, como ingrediente ativo, um ou mais dos compostos da invenção acima, em combinação com um ou mais veículos farmacêuticamente aceitáveis. No fabrico das composições da invenção, o ingrediente ativo é normalmente misturado com um excipiente, diluído por um excipiente ou encerrado dentro de um tal transportador, na forma de, por exemplo, uma cápsula, saqueta, papel ou outro recipiente. Quando o excipiente serve como um diluente, ele pode ser um material sólido, semissólido, ou líquido, que atua como um veículo, transportador ou meio para o ingrediente ativo. Assim, as composições podem ser na forma de comprimidos, pílulas, pós, pastilhas, saquetas, hóstias, elixires, suspensões, emulsões, soluções, xaropes, aerossóis (como um sólido ou num meio líquido), pomadas contendo, por exemplo, até 10% por peso do composto ativo, cápsulas de gelatina mole e dura, supositórios, soluções injetáveis estéreis, e pós embalados estéreis.

Ao preparar uma formulação, o composto ativo pode ser moído para se obter o tamanho de partícula apropriado antes de combinar com os outros ingredientes. Se o composto ativo for substancialmente insolúvel, ele pode ser moído para um tamanho de partícula inferior a 200 mesh. Se o composto ativo é substancialmente solúvel em água, o tamanho de partícula pode ser ajustado por moagem para proporcionar uma distribuição substancialmente uniforme na formulação, por exemplo, cerca de 40 mesh.

Alguns exemplos de excipientes adequados incluem lactose, dextrose, sacarose, sorbitol, manitol, amidos, goma de

acácia, fosfato de cálcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de cálcio, celulose microcristalina, polivinilpirrolidona, celulose, água, xarope, e metil celulose. As formulações podem adicionalmente incluir: agentes lubrificantes tais como talco, estearato de magnésio, e óleo mineral; agentes de molhagem; emulsionantes e agentes de suspensão; agentes de conservação tais como metil e propilhidroxi-benzoatos; agentes edulcorantes; e agentes aromatizantes. As composições da invenção podem ser formuladas de modo a proporcionar uma libertação rápida, sustentada ou retardada do ingrediente ativo após administração ao paciente empregando procedimentos conhecidos na técnica.

As composições podem ser formuladas numa forma de dosagem unitária, contendo cada dose de cerca de 5 a cerca de 100 mg, mais usualmente cerca de 10 a cerca de 30 mg, do ingrediente ativo. O termo "formas de dosagem unitária" refere-se a unidades fisicamente discretas adequadas como dosagens unitárias para sujeitos humanos e outros mamíferos, cada unidade contendo uma quantidade pré-determinada de material ativo calculada para produzir o efeito terapêutico desejado, em associação com um excipiente farmacêutico adequado.

O composto ativo pode ser eficaz numa larga gama de dosagem e é geralmente administrado numa quantidade farmacêuticamente eficaz. Será entendido, no entanto, que a quantidade do composto realmente administrada irá geralmente ser determinada por um médico, em função das circunstâncias relevantes, incluindo a condição a ser tratada, a via de administração escolhida, o composto real administrado, a idade, peso, e resposta do paciente

individual, a gravidade dos sintomas do paciente, e semelhantes.

Para a preparação de composições sólidas tais como comprimidos, o ingrediente ativo principal é misturado com um excipiente farmacêutico para formar uma composição de pré-formulação sólida contendo uma mistura homogênea de um composto da presente invenção. Quando nos referimos a estas composições de pré-formulação como homogênea, o ingrediente ativo é tipicamente disperso uniformemente por toda a composição de modo que a composição pode ser facilmente subdividida em formas de dosagem unitárias igualmente eficazes, tais como comprimidos, pílulas e cápsulas. Esta pré-formulação sólida é então subdividida em formas de dosagem unitária do tipo descrito acima contendo desde, por exemplo, de 0,1 a cerca de 500 mg do ingrediente ativo da presente invenção.

Os comprimidos ou pílulas da presente invenção podem ser revestidos ou compostos de outro modo para proporcionar uma forma de dosagem que proporcione a vantagem de ação prolongada. Por exemplo, o comprimido ou pílula pode compreender uma dosagem interna e um componente de dosagem externa, estando o último na forma de um envelope sobre o primeiro. Os dois componentes podem ser separados por uma camada entérica que serve para resistir à desintegração no estômago e permitir que o componente interno passe intacto para o duodeno ou seja retardado na libertação. Uma variedade de materiais pode ser usada para tais camadas entéricas ou revestimentos, incluindo esses materiais um número de ácidos poliméricos e misturas de ácidos poliméricos com materiais tais como goma-laca, álcool cetílico e acetato de celulose.

As formas líquidas em que os compostos e as composições da presente invenção podem ser incorporados para administração por via oral ou por injeção incluem soluções aquosas, xaropes adequadamente aromatizados, suspensões aquosas ou oleosas e emulsões aromatizadas com óleos comestíveis tais como óleo de semente de algodão, óleo de sésamo, óleo de coco, ou óleo de amendoim, bem como elixires e veículos farmacêuticos semelhantes.

As composições para inalação ou insuflação incluem soluções e suspensões em solventes farmacêuticamente aceitáveis, aquosos ou orgânicos, ou suas misturas, e pós. As composições líquidas ou sólidas podem conter excipientes adequados farmacêuticamente aceitáveis tal como foi acima descrito. Em algumas formas de realização, as composições são administradas pela via respiratória oral ou nasal para efeito local ou sistêmico. Composições podem ser nebulizadas por uso de gases inertes. As soluções nebulizadas podem ser respiradas diretamente do dispositivo nebulizador ou o dispositivo nebulizador pode ser ligado a uma máscara facial, ou máquina de respiração de pressão positiva intermitente. Solução, suspensão, ou pó composições podem ser administradas por via oral ou nasal a partir de dispositivos que libertam a formulação de um modo adequado.

A quantidade de composto ou composição administrada a um paciente variará dependendo do que está a ser administrado, da finalidade da administração, tal como profilaxia ou terapia, do estado do paciente, do modo de administração, e outros semelhantes. Em aplicações terapêuticas, as composições podem ser administradas a um paciente que já sofre de uma doença numa quantidade suficiente para curar ou pelo menos parar parcialmente os sintomas da doença e suas complicações. As doses eficazes irão depender da

condição da doença a ser tratada, bem como pelo julgamento do médico assistente dependendo de fatores tais como a gravidade da doença, a idade, peso e estado geral do paciente, e semelhantes.

As composições administradas a um doente podem ser na forma de composições farmacêuticas descritas acima. Estas composições podem ser esterilizadas por técnicas de esterilização convencionais, ou podem ser esterilizadas por filtração. As soluções aquosas podem ser embaladas para utilização tal qual, ou liofilizadas, sendo a preparação liofilizada combinada com um veículo aquoso estéril antes da administração. O pH das preparações compostas tipicamente será entre 3 e 11, mais preferencialmente de 5 a 9 e mais preferivelmente de 7 a 8. Deve entender-se que a utilização de certos dos anteriores excipientes, transportadores ou estabilizantes resultará na formação de sais farmacêuticos.

A dose terapêutica dos compostos da presente invenção pode variar de acordo com, por exemplo, a utilização particular para a qual o tratamento é feito, o modo de administração do composto, a saúde e condição do paciente, e o julgamento do médico. A proporção ou a concentração de um composto da invenção numa composição farmacêutica pode variar dependendo de um número de fatores, incluindo a dosagem, as características químicas (por exemplo, hidrofobicidade) e a via de administração. Por exemplo, os compostos da invenção podem ser proporcionados numa solução tampão fisiológica aquosa contendo cerca de 0,1 a cerca de 10% p/v do composto para administração parentérica. Algumas gamas de dosagem típicas são de cerca de 1 µg/kg a cerca de 1 g/kg de peso corporal por dia. Em algumas formas de realização, o intervalo de doses varia entre cerca de 0,01 mg/kg a cerca de 100 mg/kg de peso corporal por dia. A dosagem é

provavelmente dependente de tais variáveis como o tipo e extensão da progressão da doença ou desordem, o estado de saúde global do paciente particular, a eficácia biológica relativa do composto selecionado, a formulação do excipiente, e sua via de administração. As doses eficazes podem ser extrapoladas a partir de curvas de dose-resposta derivadas de sistemas *in vitro* ou modelo de ensaio com animais.

Os compostos da invenção também podem ser formulados em combinação com um ou mais ingredientes ativos adicionais, que podem incluir qualquer agente farmacêutico, tais como agentes antivirais, vacinas, anticorpos, potenciadores do sistema imunológico, imunossuppressores, agentes anti-inflamatórios e outros semelhantes.

Compostos marcados e métodos de ensaio

Um outro aspeto da presente invenção relaciona-se com corante fluorescente, marcador de spin, metais pesados ou compostos radiomarcados da presente invenção que seriam úteis não apenas em imagem mas também em ensaios, tanto *in vitro* e *in vivo*, para localização e quantificação da enzima IDO em amostras de tecido, incluindo humano, e para identificar ligandos da enzima IDO por inibição da ligação de um composto radiomarcado. Assim, são descritos ensaios da enzima IDO que contêm tais compostos marcados.

A presente invenção ainda inclui compostos isotopicamente marcados da Fórmula I. Um composto "isotopicamente" ou "radiomarcado" é um composto da invenção em que um ou mais átomos são substituídos por um átomo tendo uma massa atômica ou número de massa diferente do número de massa ou de massa atômica tipicamente encontrada na natureza (isto

é, que ocorrem naturalmente). Os radionuclídeos adequados que podem ser incorporados em compostos da presente invenção incluem, mas não estão limitados a ^2H (também escrito como D para deutério), ^3H (também escrito como T para (trítio)

^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I e ^{131}I . O radionuclídeo que é incorporado nos compostos radiomarcados instantâneos dependerá da aplicação específica do composto radiomarcado. Por exemplo, para a marcação da enzima IDO *in vitro* e ensaios de competição, os compostos que incorporam ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I , ou ^{35}S geralmente serão mais úteis. Para aplicações de radio-imagem ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br ou ^{77}Br serão geralmente mais úteis.

Entende-se que um "composto marcado" ou "radio-marcado" é um composto que tem incorporado pelo menos um radionuclídeo. Em algumas concretizações o radionuclídeo é selecionado do grupo consistindo de ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S e ^{82}Br .

Os métodos sintéticos para a incorporação de radioisótopos em compostos orgânicos são aplicáveis a compostos da invenção e são bem conhecidos na técnica.

Um composto marcado radioactivamente da invenção pode ser utilizado num ensaio de rastreio para identificar/avaliar compostos. Em termos gerais, um composto recentemente sintetizado ou identificado (isto é, composto de teste) pode ser avaliado quanto à sua capacidade de reduzir a ligação do composto radiomarcado da invenção para a enzima IDO. Por conseguinte, a capacidade de um composto de teste para competir com o composto radiomarcado para a ligação à

enzima IDO correlaciona-se diretamente com a sua afinidade de ligação.

Kits

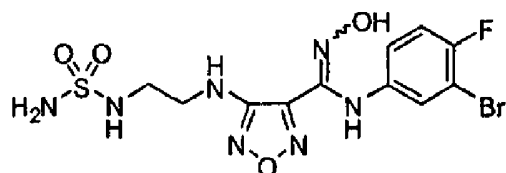
A presente invenção também inclui kits farmacêuticos úteis, por exemplo, no tratamento ou prevenção de doenças associadas à IDO ou distúrbios alimentares, obesidade, diabetes e outras doenças aqui referidas que incluem um ou mais recipientes que contêm uma composição farmacêutica compreendendo uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto da invenção. Tais kits podem incluir ainda, se desejado, um ou mais dos vários componentes do kit farmacêutico convencionais, tais como, por exemplo, recipientes com mais veículos farmacêuticamente aceitáveis, ou recipientes adicionais, etc., como será prontamente evidente para os peritos na técnica. Instruções, quer como insertos ou como rótulos, indicando as quantidades dos componentes a serem administrados, guias para a administração, e/ou diretrizes para misturar os componentes, podem também ser incluídas no kit.

A invenção será descrita em maior detalhe por meio de exemplos específicos. Os exemplos seguintes são oferecidos para fins ilustrativos, e não se destinam a limitar a invenção de qualquer maneira. Os peritos na técnica reconhecerão facilmente uma variedade de parâmetros não críticos que podem ser alterados ou modificados para produzir essencialmente os mesmos resultados. Os compostos dos exemplos foram considerados inibidores de IDO, de acordo com um ou mais dos ensaios aqui proporcionados.

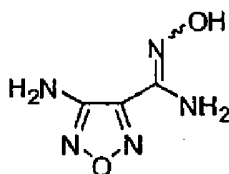
EXEMPLOS

Exemplo 1

4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



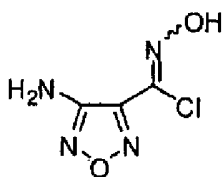
Passo A: 4-Amino-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



Malononitrilo [Aldrich, produto # M1407] (320,5 g, 5 mol) foi adicionada a água (7 L), pré-aquecida a 45°C e agitada durante 5 min. A solução resultante foi arrefecida num banho de gelo e foi adicionado nitrito de sódio (380 g, 5,5 mol). Quando a temperatura atingiu 10°C, foi adicionado 6 N de ácido clorídrico (55 mL). Uma reação moderadamente exotérmica seguiu com a temperatura a atingir 16°C. Após 15 min o banho frio foi removido e a mistura de reação foi agitada durante 1,5 horas a 16-18 °C. A mistura de reação foi arrefecida até 13°C e foi adicionada 50% de hidroxilamina aquosa (990 g, 15 mol) toda de uma vez. A temperatura subiu para 26°C. Quando a reação exotérmica subsistiu o banho frio foi removido e a agitação foi continuada durante 1 hora a 26-27°C, em seguida foi lentamente levada ao refluxo. O refluxo foi mantido durante 2 horas e, em seguida, a mistura de reação foi deixada a arrefecer durante a noite. A mistura de reação foi agitada num banho de gelo e foi adicionado 6 N de ácido clorídrico

(800 mL) em porções ao longo de 40 min a pH 7,0. A agitação continuou no banho de gelo a 5°C. O precipitado foi recolhido por filtração, bem lavado com água e seco num forno de vácuo (50°C) para dar o produto desejado (644 g, 90%). LCMS para $C_3H_6N_5O_2$ (M + H)⁺: m/z = 144,0 ¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD): δ 156,0, 145,9, 141,3.

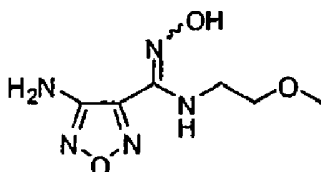
Passo B: Cloreto de 4-Amino-N-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo



4-Amino- N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida (422 g, 2,95 mol) foi adicionado a uma mistura de água (5,9 L), ácido acético (3 L) e 6 N de ácido clorídrico (1,475 L, 3 eq.) e esta suspensão foi agitada a 42-45°C, até se obter uma solução completa. O cloreto de sódio (518 g, 3 eq.) foi adicionado e esta solução foi agitada num banho de gelo/água/banho de metanol. Uma solução de nitrito de sódio (199,5 g, 0,98 eq.) em água (700 ml) foi adicionada durante 3,5 horas, mantendo a temperatura abaixo de 0°C. Depois de se completar a adição a agitação foi continuada no banho de gelo durante 1,5 horas e, em seguida, a mistura de reação foi deixada aquecer até 15°C. O precipitado foi recolhido por filtração, bem lavado com água, tomado em acetato de etilo (3,4 L), tratado com sulfato de sódio anidro (500 g) e agitado durante 1 hora. Esta suspensão foi filtrada através de sulfato de sódio (200 g) e o filtrado foi concentrado num evaporador rotativo. O resíduo foi dissolvido em éter metil-t-butílico (5,5 L), tratado com carvão vegetal (40 g), agitado durante 40 min e filtrado através de Celite. O solvente foi removido num evaporador rotativo e o produto resultante foi seco num forno de vácuo

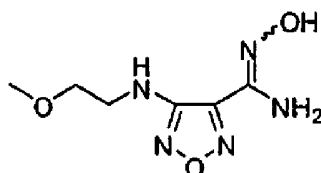
(45°C) para dar o produto desejado (256 g, 53,4%). LCMS para $C_3H_4ClN_4O_2$ $(M + H)^+$: $m/z = 162,9$ ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 155,8, 143,4, 129,7.

Passo C: 4-Amino- *N'*-hidroxi- *N* - (2-metoxietil)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



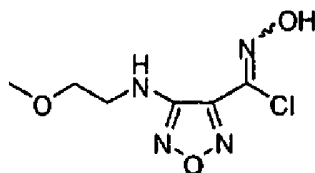
Cloreto de 4-Amino-*N* -hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo (200,0 g, 1,23 mol) foi misturado com acetato de etilo (1,2 L). A 0-5°C foi adicionada 2-metoxietilamina [Aldrich, produto # 143693] (119,0 mL, 1,35 mol) numa porção enquanto se agitava. A temperatura da reação subiu para 41°C. A reação foi arrefecida até 0-5°C. Adicionou-se trietilamina (258 mL, 1,84 mol). Após agitação durante 5 minutos, LCMS indicou a conclusão da reação. A solução de reação foi lavada com água (500 ml) e salmoura (500 mL), seca sobre sulfato de sódio, e concentrada para dar o produto desejado (294 g, 119%) como um óleo escuro em bruto. LCMS para $C_6H_{12}N_5O_3$ $(M + H)^+$: $m/z = 202,3$. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 10,65 (s, 1 H), 6,27 (s, 2 H), 6,10 (t, $J = 6,5$ Hz, 1 H), 3,50 (m, 2 H), 3,35 (d, $J = 5,8$ Hz, 2 H), 3,08 (s, 3 H).

Passo D: *N* -hidroxi-4'-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



4-Amino-*N*-hidroxi- *N'* -(2-metoxietil) -1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida (248,0 g, 1,23 mol) foi misturada com água (1 L). O hidróxido de potássio (210 g, 3,7 mol) foi adicionado. A reação foi submetida a refluxo a 100°C durante a noite (15 horas). TLC com 50% de acetato de etilo (contendo hidróxido de amônio a 1%) em hexano indicou a reação completa (o produto, $R_f = 0,6$, material de partida $R_f = 0,5$). LCMS também indicou a conclusão da reação. A reação foi arrefecida até à temperatura ambiente e extraída com acetato de etilo (3 x 1 L). A solução de acetato de etilo combinada foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada para dar o produto desejado (201 g, 81%) como um produto bruto sólido esbranquiçado. LCMS para $C_6H_{12}N_5O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 202,3$ 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,54 (s, 1 H), 6,22 (s, 2 H), 6,15 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 3,45 (t, $J = 5,3$ Hz, 2 H), 3,35 (m, 2 H), 3,22 (s, 3 H).

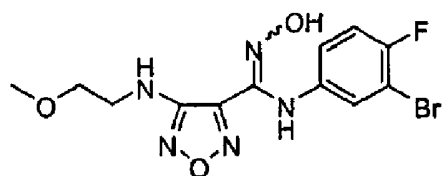
Passo E: cloreto de *N*-Hidroxi-4 - [(2-metoxietil) amino] - 1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo



À temperatura ambiente *N'*-hidroxi-4-[(2-metoxietil) amino] -1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (50,0 g, 0,226 mol) foi dissolvido em solução aquosa de 6,0 M de ácido clorídrico (250 mL, 1,5 mol). Cloreto de sódio (39,5 g, 0,676 mol) foi adicionado seguido de água (250 ml) e acetato de etilo (250 mL). A 3-5°C, uma solução aquosa previamente preparada (100 mL) de nitrito de sódio (15,0 g, 0,217 mol) foi adicionada lentamente ao longo de 1 hora. A reação foi agitada a 3-8°C durante 2 horas e depois à temperatura ambiente durante o fim de semana. LCMS indicou que a reacção esta completa. A solução de reação foi extraída com acetato de etilo (2 x

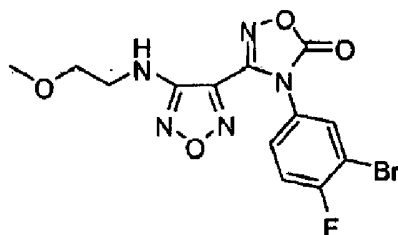
200 mL). A solução de acetato de etilo combinada foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada para dar o produto desejado (49,9 g, 126%) como um sólido branco em bruto. LCMS para $C_6H_{10}ClN_4O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 221,0$ 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 13,43 (s, 1 H), 5,85 (t, $J = 5,6$ Hz, 1 H), 3,50 (t, $J = 5,6$ Hz, 2 H), 3,37 (dd, $J = 10,8, 5,6$ Hz, 2 H), 3,25 (s, 3 H).

Passo F: N - (3-Bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-4 - [(2-metoxietil) amino] -1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida



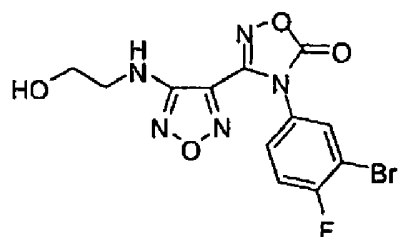
Cloreto de N-Hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo (46,0 g, 0,208 mol) foi misturado com água (300 ml). A mistura foi aquecida a 60°C. 3-bromo-4-fluoroanilina [produtos Oakwood, produto # 013091] (43,6 g, 0,229 mol) foi adicionada e agitada durante 10 min. Uma solução de bicarbonato de sódio morna (26,3 g, 0,313 mol) (300 ml de água) foi adicionada ao longo de 15 min. A reação foi agitada a 60°C durante 20 min. LCMS indicou a conclusão da reação. A solução de reação foi arrefecida até à temperatura ambiente e extraída com acetato de etilo (2 x 300 mL). A solução de acetato de etilo combinada foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada para dar o produto desejado (76,7 g, 98%) como um sólido castanho em bruto. LCMS para $C_{12}H_{14}BrFN_5O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 374,0, 376,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,55 (s, 1 H), 8,85 (s, 1 H), 7,16 (t, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 7,08 (dd, $J = 6,1, 2,7$ Hz, 1 H), 6,75 (m, 1 H), 6,14 (t, $J = 5,8$ Hz, 1 H), 3,48 (t, $J = 5,2$ Hz, 2 H), 3,35 (dd, $J = 10,8, 5,6$ Hz, 2 H), 3,22 (s, 3 H).

Passo G: 4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4 H)-ona



Uma mistura de *N*-(3-bromo-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-4 - [(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida (76,5 g, 0,204 mol), 1,1'-carbonildiimidazole (49,7 g, 0,307 mol), e acetato de etilo (720 mL) foi aquecida a 60°C e agitada durante 20 min. LCMS indicou que a reação se completou. A reação foi arrefecida até à temperatura ambiente, lavada com 1 N de HCl (2 x 750 mL), seca sobre sulfato de sódio, e concentrada para dar o produto desejado (80,4 g, 98%) como um sólido castanho em bruto. LCMS para $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 400,0, 402,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,94 (t, $J = 8,2$ Hz, 1 H), 7,72 (dd, $J = 9,1, 2,3$ Hz, 1 H), 7,42 (m, 1 H), 6,42 (t, $J = 5,7$ Hz, 1 H), 3,46 (t, $J = 5,4$ Hz, 2 H), 3,36 (t, $J = 5,8$ Hz, 2 H), 3,26 (s, 3 H).

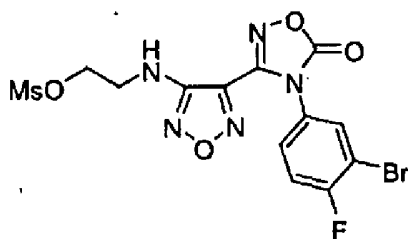
Passo H: 4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4 H)-ona



4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(2-metoxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4 H)-ona (78,4 g, 0,196 mol) foi dissolvido em diclorometano (600 mL). A -

67°C, foi adicionado tribrometo de boro (37 mL, 0,392 mol) ao longo de 15 min. A reação foi aquecida até -10°C em 30 min. LCMS indicou que a reação se completou. A reação foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora. A 0-5°C, a reação foi temperada lentamente com uma solução de bicarbonato de sódio saturado (1,5 L) ao longo de 30 min. A temperatura da reação subiu para 25°C. A reação foi extraída com acetato de etilo (2 x 500 ml, primeira extração da camada orgânica está em baixo e a segunda extração da camada orgânica está em cima). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio e concentradas para dar o produto desejado (75 g, 99%) como um sólido castanho em bruto. LCMS para C₁₂H₁₀BrFN₅O₄ (M + H)⁺: m/z = 386,0, 388,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,08 (dd, *J* = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,70 (m, 1 H), 7,68 (t, *J* = 8,7 Hz, 1 H), 6,33 (t, *J* = 5,6 Hz, 1 H), 4,85 (t, *J* = 5,0 Hz, 1 H), 3,56 (dd, *J* = 10,6, 5,6 Hz, 2 H), 3,29 (dd, *J* = 11,5, 5,9 Hz, 2 H).

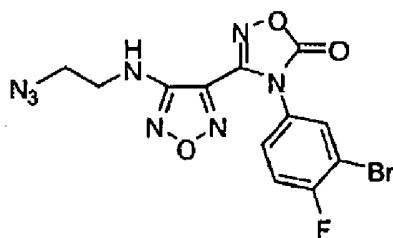
Etapa I: Metanosulfonato de 2-({4-[4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil



A uma solução de 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (1,5 kg, 3,9 mol, contendo também alguns dos composto de bromo correspondentes) em acetato de etilo (12 L) foi adicionado cloreto de metanossulfonilo (185 mL, 2,4 mol) gota a gota durante 1 h à temperatura

ambiente. Adicionou-se trietilamina (325 mL, 2,3 mol) gota a gota durante 45 min, tempo durante o qual a temperatura da reação aumentou para 35°C. Após 2 h, a mistura de reação foi lavada com água (5 L), salmoura (1 L), seca sobre sulfato de sódio, combinada com mais três reações do mesmo tamanho, e os solventes foram removidos em vácuo para se obter o produto desejado (7600 g, rendimento quantitativo) como um sólido castanho-amarelado. LCMS para $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$ ($M + Na$)⁺: $m/z = 485.9, 487.9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,08 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,72 (m, 1 H), 7,58 (t, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 6,75 (t, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 4,36 (t, $J = 5,3$ Hz, 2 H), 3,58 (dd, $J = 11,2, 5,6$ Hz, 2 H), 3,18 (s, 3 H).

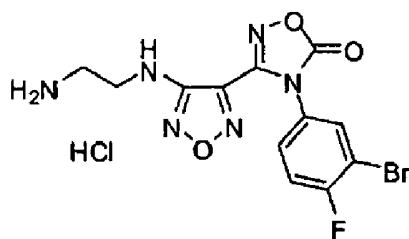
Passo J: 3-{4-[(2-Azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



A uma solução de metanossulfonato de 2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil (2,13 kg, 4,6 mol, contendo também alguns dos composto de bromo correspondentes) em dimetilformamida (4 L) com agitação num balão de 22 L adicionou-se azida de sódio (380 g, 5,84 mol). A reação foi aquecida a 50°C durante 6 h, vertida em gelo/água (8 L), e extraiu-se com 1:1 acetato de etilo: heptano (20 L). A camada orgânica foi lavada com água (5 L) e salmoura (5 L), e os solventes foram removidos em vácuo para se obter o produto desejado (1,464 g, 77%) como um sólido castanho-amarelado. LCMS para $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$ ($M +$

Na)⁺: m / z = 433.0, 435.0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,08 (dd, *J* = 6.2, 2.5 Hz, 1 H), 7,72 (m, 1 H), 7,58 (t, *J* = 8,7 Hz, 1 H), 6,75 (t, *J* = 5,7 Hz, 1 H), 3,54 (t, *J* = 5,3 Hz, 2 H), 3,45 (dd, *J* = 11.1, 5.2 Hz, 2 H).

Passo K: cloridrato de 3-{4-[(2-Aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona

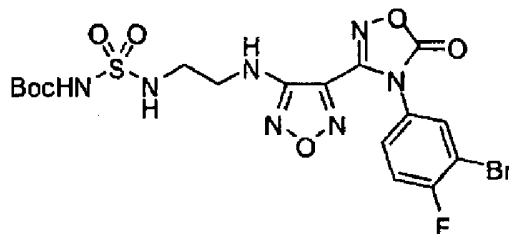


Iodeto de sódio (1,080 g, 7,2 mol) foi adicionado a 3-{4-[(2-azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona (500 g, 1,22 mol) em metanol (6 L). A mistura foi deixada a agitar durante 30 min tempo durante o qual se observou uma exotermia ligeira. Clorotrimetilsilano (930 mL, 7,33 mol) foi adicionado como uma solução em metanol (1 L) gota a gota a uma velocidade tal que a temperatura não exceda 35°C, e a reação foi deixada a agitar durante 3,5 h à temperatura ambiente. A reação foi neutralizada com solução a 33% em peso de tiossulfato de sódio penta-hidratado em água (~1.5 L), diluída com água (4 L), e o pH ajustado para 9 cuidadosamente com carbonato de potássio sólido (250 g - em pequenas porções: formação de espuma). Di-*terc*-butil dicarbonato (318 g, 1,45 mol) foi adicionado e a reação foi deixada a agitar à temperatura ambiente. Carbonato de potássio adicional (200 g) foi adicionado em porções de 50 g ao longo de 4 h para assegurar que o pH era ainda igual ou superior a 9. Depois de se agitar à temperatura ambiente durante a noite, o sólido foi filtrado, triturado com água

(2 L), e depois MTBE (1,5 L). Um total de 11 ensaios foi realizado (5,5 kg, 13,38 mol). Os sólidos combinados foram triturados com 1:1 THF:diclorometano (24 L, 4 executado num balão de evaporador rotativo de 20 L, 50°C, 1 h), filtrados, e lavados com diclorometano (3 L cada volta) para proporcionar um sólido esbranquiçado. O material bruto foi dissolvido em 55°C. tetra-hidrofurano (5 mL/g), tratado com carvão descorante (2% em peso) e sílica gel (2% em peso), e filtrado a quente através de celite para se obter o produto como um sólido (5,122 g) esbranquiçado. O MTBE combinado, THF, diclorometano e os filtrados foram concentrados em vácuo e cromatografado (2 kg de gel de sílica, heptano, com um gradiente de acetato de etilo 0-100%, 30 L) para dar mais produto (262 g). Os sólidos combinados foram secos a um peso constante num forno de convecção (5385 g, 83%).

Num balão de 22 L foi carregado de cloreto de hidrogénio (solução de 4 N em 1,4-dioxano, 4 L, 16 mol). *tert*-Butil(2,315 g, 4,77 mol) foi adicionado como um sólido em porções ao longo de 10 min. A suspensão foi agitada à temperatura ambiente e tornou-se gradualmente uma pasta espessa que não pode ser agitada. Depois de assentar durante a noite à temperatura ambiente, a pasta foi transformada em acetato de etilo (10 L), filtrada, re-suspensa em acetato de etilo (5 L), filtrada, e seca até peso constante para se obter o produto desejado como um sólido branco (combinados com outras execuções, 5 kg de material de partida carregadas, 4113 g, 95%). LCMS para $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 384,9, 386,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,12 (m, 4 H), 7,76 (m, 1 H), 7,58 (t, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 6,78 (t, $J = 6,1$ Hz, 1 H), 3,51 (dd, $J = 11,8, 6,1$ Hz, 2 H), 3,02 (m, 2 H).

Passo L: Carbamato de *terc*-Butil ([2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-yl]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil]amino)sulfonil)

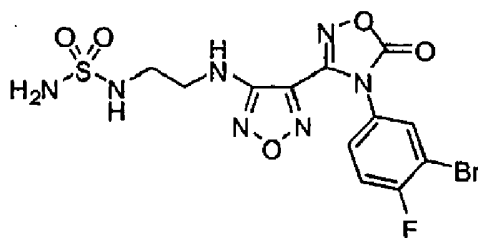


Um balão de fundo redondo de 5 L foi carregado com o isocianato de clorossulfonilo [Aldrich, produto # 142662] (149 mL, 1,72 mol) e diclorometano (1,5 L) e arrefecido utilizando um banho de gelo para 2°C. *terc*-butanol (162 mL, 1,73 mol) em diclorometano (200 mL) foi adicionado gota a gota a uma velocidade tal que a temperatura não exceda 10°C. A solução resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 30-60 minutos para proporcionar carbamato de *terc*-butil [clorossulfonil].

Um frasco de 22 L foi carregado com cloridrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona (661 g, 1,57 mol) e 8,5 L de diclorometano. Após o arrefecimento para -15°C com um banho de gelo/sal, a solução de carbamato de *terc*-butil [clorossulfonil] (preparado como acima) foi adicionada a uma velocidade tal que a temperatura não excedeu -10°C (tempo de adição de 7 min). Depois de se agitar durante 10 minutos, trietilamina (1,085 mL, 7,78 mol) foi adicionada a uma velocidade tal que a temperatura não ultrapassou -5°C (tempo de adição 10 min). O banho frio foi removido, a reação foi deixada aquecer até 10°C, dividiu-se em duas porções, e neutralizou-se com 10% de ácido clorídrico concentrado (4,5 L de cada porção). Cada porção foi transferida para um funil de separação de 50 L e diluída

com acetato de etilo para dissolver completamente o sólido branco (~ 25 L). As camadas foram separadas, e a camada orgânica foi lavada com água (5 L), salmoura (5 L), e os solventes foram removidos em vácuo para se obter um sólido esbranquiçado. O sólido foi triturado com MTBE (2 x 1,5 L) e seco até peso constante para se obter um sólido branco. Um total de 4113 g de material de partida foi processado utilizando este processo (5,409 g, 98%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,90 (s, 1 H), 8,08 (dd, J = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,72 (m, 1 H), 7,59 (t, J = 8,6 Hz, 1 H), 6,58 (t, J = 5,7 Hz, 1 H), 3,38 (dd, J = 12,7, 6,2 Hz, 2 H), 3,10 (dd, J = 12,1, 5,9 Hz, 2 H), 1,41 (s, 9 H).

Passo M: N -[2-({4-[4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino) etil]sulfamida



Para um frasco de 22 L contendo 98:2 de ácido trifluoroacético:água (8,9 L) foi adicionado *terc*-butil (1931 g, 3,42 mol) em porções ao longo de 10 minutos. A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 1,5 h, os solventes foram removidos sob vácuo, e triturados com diclorometano (2 L). O sólido resultante foi tratado uma segunda vez com 98:2 de ácido trifluoroacético:água fresco (8,9 L), aqueceu-se durante 1 h a 40-50°C, os solventes foram removidos sob vácuo, e triturados com diclorometano (3 x 2 L). O sólido branco resultante foi seco num forno de secagem a vácuo a 50°C durante a noite. Um total de 5409 g foi processado

utilizando este processo (4,990 g, quant. de rendimento). LCMS para $C_{12}H_{12}BrFN_7O_5S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 463,9, 465,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,08 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1H), 7,72 (m, 1 H), 7,59 (t, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 6,67 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 6,52 (t, $J = 6,0$ Hz, 1 H), 3,38 (dd, $J = 12,7, 6,3$ Hz, 2 H), 3,11 (dd, $J = 12,3, 6,3$ Hz).

Passo N: 4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

A uma mistura em bruto de N-[2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil]sulfamida (2,4 mol) contendo quantidades residuais de ácido trifluoroacético sob agitação num balão de 22 L foi adicionado THF (5 L). A solução resultante foi arrefecida a 0°C usando um banho de gelo e NaOH a 2 N (4 L) foi adicionado a uma velocidade tal que a temperatura não exceda 10°C. Depois de se agitar à temperatura ambiente durante 3 horas (LCMS indicou que nenhum material de partida permaneceu), o pH foi ajustado a 3-4 com HCl concentrado (-500 mL). O THF foi removido sob vácuo, e a mistura resultante foi extraída com acetato de etilo (15 L). A camada orgânica foi lavada com água (5 L), salmoura (5 L), e os solventes foram removidos em vácuo para se obter um sólido. O sólido foi triturado com MTBE (2 x 2 L), combinado com três outras reações do mesmo tamanho, e seco durante a noite num forno de convecção para se obter um sólido branco (3,535 g). O sólido foi recristalizado (3 x 22 frascos G, 2: 1 de água:etanol, 14,1 L de cada frasco) e seco num forno de convecção a 50°C a um peso constante para fornecer o composto do título como um sólido esbranquiçado (3,290 g, 78%). LCMS para $C_{11}H_{14}BrFN_7O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 437,9, 439,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,51 (s, 1 H), 8,90 (s, 1 H), 7,17 (t, $J = 8,8$ Hz, 1 H),

7,11 (dd, $J = 6,1, 2,7$ Hz, 1 H), 6,76 (m, 1 H), 6,71 (t, $J = 6,0$ Hz, 1 H), 6,59 (s, 2 H), 6,23 (t, $J = 6,1$ Hz, 1 H), 3,35 (dd, $J = 10,9, 7,0$ Hz, 2 H), 3,10 (dd, $J = 12,1, 6,2$ Hz, 2 H).

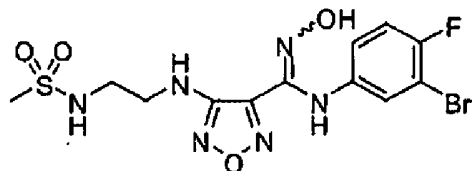
O produto final era um sólido cristalino anidro. O teor de água foi determinado como sendo inferior a 0,1% por titulação de Karl Fischer. A difração de raios X em pó (XRPD) foi determinada (difractómetro Rigaku MiniFlex; Cu α 1.054056Å com filtro K β ; iniciar ângulo = 3, parar ângulo = 45, amostragem = 0,02, velocidade de varrimento = 2) e é mostrada na Figura 1. A lista de picos 2-teta é fornecida na Tabela 1 abaixo. A gama de fusão do sólido foi determinada num instrumento Mettler Toledo Differential Scanning Calometry (DSC) 822. A amostra foi aquecida de 40°C a 240°C a uma taxa de aquecimento de 10°C por min. O termograma de DSC (Figura 2) mostrou um $t_{\text{início}}$ em 162,7°C e T_{pico} em 163,8°C. A análise termogravimétrica (TGA) (Figura 3) mostrou perda de peso de 0,3%, o aquecimento a partir de 20°C a 150°C a uma taxa de aquecimento de 10°C/min, utilizando um instrumento TA Q500.

Tabela 1

2-Theta	Height	H%
3.9	74	1.1
7.2	119	1.8
13.4	180	2.8
14.0	150	2.3
15.9	85	1.3
18.4	903	13.9
18.9	1469	22.7
21.3	519	8
21.8	6472	100
22.7	516	8
23.9	2515	38.9
24.8	804	12.4
25.3	182	2.8
27.4	476	7.4
28.6	354	5.5
29.2	1767	27.3
29.9	266	4.1
30.6	773	11.9
31.2	379	5.8
31.6	291	4.5
32.7	144	2.2
33.5	221	3.4
36.4	469	7.2
37.6	152	2.3
38.7	1381	21.3
41.0	153	2.4
42.1	382	5.9
43.6	527	8.1
44.4	1080	16.7

Exemplo 2

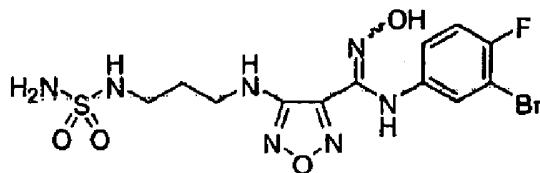
***N*-(3-Bromo-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonil) amino]etil} amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida**



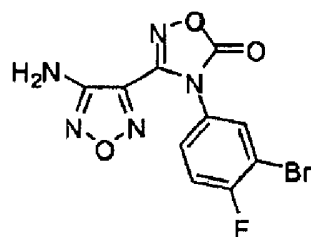
O composto do título foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 17, Passo E**, usando *N*-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonil) amino] etil} amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida e 3-bromo-4-fluoroanilina [Oakwood Products, Inc., produto # 013091], como os materiais de partida. LCMS para $C_{12}H_{15}BrFN_6O_4S$ ($M + H$)⁺: m/z = 437,0, 439,0. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,49 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 7,17 (m, 2H), 7,09 (dd, J = 6,3, 2,5 Hz, 1H), 6,26 (t, J = 6,1 Hz, 1H), 3,33 (m, 2H), 3,13 (q, J = 6,0 Hz, 2H), 2.8.9 (s, 3H).

Exemplo 3

4-({3-[(Aminosulfonil) amino]propil} amino)-*N*-(3-bromo-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

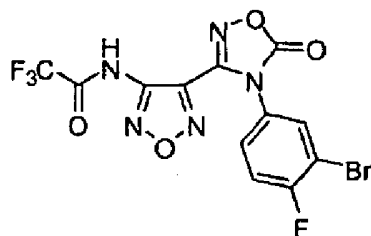


Passo A: 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazole-3-il)-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4 *H*)-ona



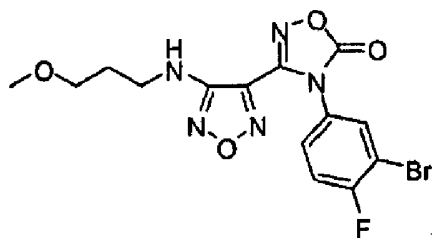
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 5, passo A**, utilizando 4-amino-*N*-(3-bromo-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida [ver a Patente US 2006/0258719] como material de partida em 98% de rendimento. LCMS para $C_{10}H_6BrFN_5O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 342,0, 344,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,06 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,72-7,67 (m, 1H), 7,58 (dd, $J = 8,7, 8,7$ Hz, 1H), 6,60 (s, 2 H).

Passo B: *N* -{4-[4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-2,2,2-trifluoroacetamida



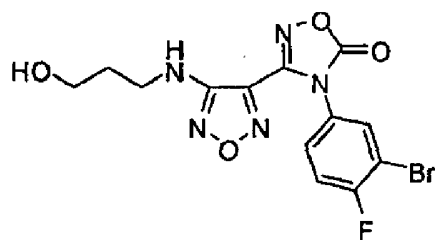
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 5, passo B**, utilizando 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazole-3-il)-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4 *H*)-ona como o material de partida em 81% de rendimento. LCMS para $C_{12}H_5BrF_4N_5O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 437,9, 439,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,92-7,89 (m, 1 H) , 7,54-7,52 (m, 2 H).

Passo C: 4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(3-metoxipropil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4 H)-ona



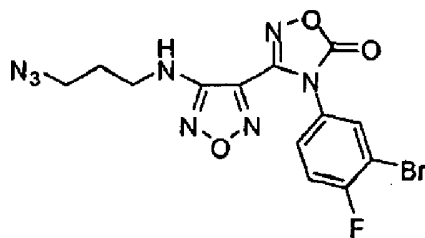
Uma solução de 3-metoxipropano-1-ol [produto Fluka # 38457] (3,1 mL, 32 mmol) e trifenilfosfina (8,4 g, 32 mmol) em tetrahidrofurano (93 mL) a 0°C foi tratada com azodicarboxilato de diisopropilo (6,7 mL, 34 mmol) gota a gota. A mistura de reação foi agitada a 0°C durante 15 min, tratada com uma solução de *N*-{4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-2,2,2-trifluoroacetamida (10 g, 23 mmol) em tetrahidrofurano (47 mL), e agitou-se a 25°C durante 72 h. A mistura de reação foi concentrada, diluída com acetato de etilo (200 mL), tratada com ácido trifluoroacético (20 mL) e água (20 mL), e aquecida a 50°C durante 6 h. A mistura de reação foi concentrada, re-diluída com acetato de etilo (200 mL) e lavada com água (3 x 80 mL), bicarbonato de sódio saturado (2 x 80 mL) e salmoura (80 mL), seca sobre sulfato de sódio anidro, filtrada, e concentrada até um resíduo bruto. Este material foi purificado sobre gel de sílica para se obter o produto desejado (6,4 g, 54%) como um sólido branco. LCMS para $C_{14}H_{14}BrFN_5O_4$ (M + H)⁺: m/z = 414.0, 416.0.

Passo D: 4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(3-hidroxiopropil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4 H)-ona



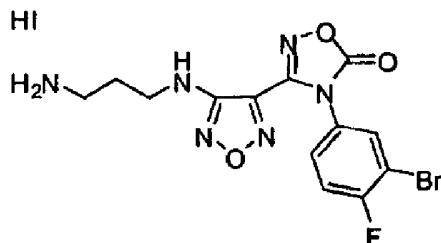
Uma solução de 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(3-metoxipropil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (6,3 g, 14 mmol) em diclorometano (60 mL) a -78°C foi tratada com 1 M de tribrometo de boro em diclorometano (28 mL, 28 mmol) e agitada a 25°C, durante 2 h. A mistura de reação foi arrefecida a 0°C e extinguiu-se com bicarbonato de sódio saturado (100 mL). A camada aquosa foi separada e extraída com diclorometano (2 x 150 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura (100 mL), secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas, e concentradas até um produto bruto sólido esbranquiçado. Este material foi purificado sobre gel de sílica para se obter o produto desejado (4,0 g, 73%) como um sólido branco. LCMS para $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$ ($M + H$)⁺: m/z = 400,0, 402,0. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,07 (dd, J = 6,2, 2,5 Hz, 1 H), 7,72-7,68 (m, 1H), 7,59 (dd, J = 8,8, 8,6 Hz, 1 H), 6,54 (t, J = 5,7 Hz, 1 H), 4,60 (t, J = 5,1 Hz, 1 H), 3,48-3,43 (m, 2 H), 3,32-3,26 (m, 2 H), 1,74-1,67 (m, 2 H).

Passo E: 3-{4-[(3-Azidopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



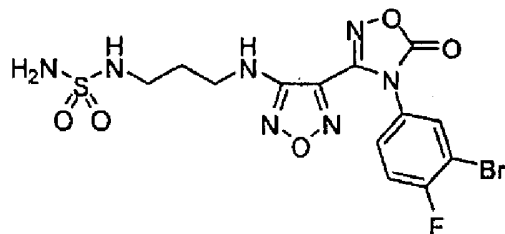
Uma solução de 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(3-hidroxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (3,0 g, 7,5 mmol) em diclorometano (27 mL) foi tratada com cloreto de metanossulfonilo (0,75 mL, 9,7 mmol) e *N,N*-diisopropiletilamina (2,6 mL, 15 mmol) e agitou-se a 25°C durante 2 h. A mistura de reação foi diluída com água (20 mL) e extraiu-se com diclorometano (20 mL). A camada orgânica foi separada, seca sobre sulfato de sódio anidro, filtrada, e concentrada para dar o mesilato, que foi usado sem purificação adicional. Uma solução do mesilato em bruto em *N,N*-dimetilformamida (24 mL) foi tratada com azida de sódio (0,73 g, 11 mmol) e aquecida a 85°C durante 2 h. A mistura de reação foi diluída com acetato de etilo (300 mL) e lavada com água (100 mL), bicarbonato de sódio saturado (100 mL), e salmoura (100 mL), seca sobre sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada para dar o desejado do produto (3,2 g, 99%). Este material foi utilizado sem purificação adicional. LCMS para $C_{13}H_{10}BrFN_8O_3Na$ ($M + Na$)⁺: m/z = 446,9, 448,9.

Passo F: Iodidrato de 3-{4-[(3-Aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



Uma solução de 3-{4-[(3-azidopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (2,0 g, 4,7 mmol) em metanol (36 mL) foi tratada com iodeto de sódio (4,2 g, 28 mmol) e agitada a 25°C durante 5 min. A mistura de reação foi tratada com uma solução de clorotrimetilsilano (3,6 mL, 28 mmol) em metanol (7 mL) gota a gota e agitada a 25°C durante 40 min. A mistura de reação foi lentamente vertida para uma solução de tiosulfato de sódio (5,0 g, 32 mmol) em água (200 mL) que foi arrefecida a 0°C. O sólido que precipitou foi filtrado, lavado com água, e seco para dar o produto desejado (2,3 g, 93%) como um sólido. LCMS para $C_{13}H_{13}BrFN_6O_3$ ($M + H$)⁺: m/z = 399.0, 401.0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,08 (dd, J = 6,1, 2,3 Hz, 1H), 7,74-7,70 (m, 1H), 7,60 (dd, J = 8,8, 8,6 Hz, 1H), 7,22 (s largo, 2H), 6,69 (s largo, 1H), 2,81-2,77 (m, 2H), 1,86-1,79 (m, 2H).

Passo G: *N* -[3-({4-[4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)propil] sulfamida



Uma solução de iodidrato de 3-{4-[(3-azidopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-onea (150 mg, 0,28 mmol) e sulfamida (160 mg, 1,7 mmol) em piridina (2,5 mL) foi aquecida num micro-ondas a 130°C durante 10 min. A mistura de reação foi concentrada para dar um resíduo bruto. Este material foi purificado por LCMS preparativa para dar o produto desejado (96 mg, 71%) como um sólido. LCMS para C₁₃H₁₄BrFN₇O₅S (M + H)⁺: m/z = 478,0, 480,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,07 (dd, *J* = 6,2, 2,5 Hz, 1 H), 7,73-7,69 (m, 1 H), 7,59 (dd, *J* = 8,8, 8,6 Hz, 1 H), 6,57-6,51 (m, 4 H), 3,31-3,26 (m, 2H), 2,92-2,87 (m, 2 H), 1,79-1,72 (m, 2 H).

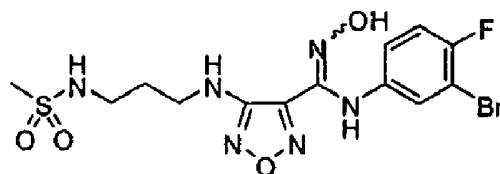
Passo H: 4-({3-[(Aminosulfonil)amino]propil}amino)- *N* -(3-bromo-4-fluorofenil)- *N'*-hidroxy-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

Uma solução de *N*-[3-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)propil]sulfamida (35 mg, 73 μmol) em metanol (1 mL) foi tratada com 2 M de NaOH (0,3 mL, 0,6 mmol) e agitou-se a 25°C durante 30 min. A mistura de reação foi tratada com ácido acético (50 μl, 0,9 mmol), filtrada, e purificada por LCMS preparativa para dar o produto desejado (14 mg, 42%) como um sólido. LCMS para C₁₂H₁₆BrFN₇O₄S (M + H)⁺: m/z = 451,8, 453,9. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,5 (s, 1 H),

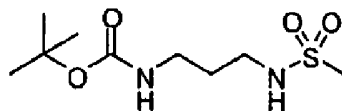
8,89 (s, 1 H), 7,17 (dd, $J = 8,8, 8,6$ Hz, 1 H), 7,09 (dd, $J = 6,1, 2,7$ Hz, 1 H), 6,76-6,72 (m, 1 H), 6,56 (dd, $J = 6,1, 6,1$ Hz, 1H), 6,51 (s, 2 H), 6,17 (dd, $J = 5,9, 5,9$ Hz, 1 H), 3,27-3,21 (m, 2 H), 2,94-2,88 (m, 2 H), 1,78-1,71 (m, 2 H).

Exemplo 4

***N*-(3-Bromo-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-4-({3-[(metilsulfonil) amino]propil}amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida**

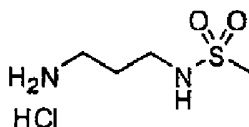


Passo A: Carbamato de *terc*-butil {3-[(metilsulfonil) amino] propil}



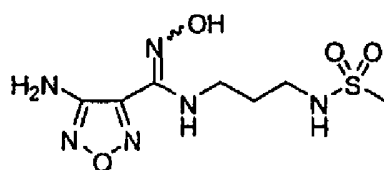
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 17, passo A**, utilizando *N*-(3-aminopropil)(*terc*-butoxi) carboxamida [Aldrich produto # 436992], como o material de partida em 70% de rendimento. LCMS para $C_4H_{13}N_2O_2S$ ($[M-Boc + H] + H$)⁺: $m/z = 153,1$.

Passo B: Hidrocloreto de *N*-(3-aminopropil) metanosulfonamida



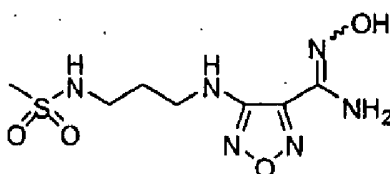
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 17, passo B**, utilizando carbamato de *terc*-butil {3-[(metilsulfonil)amino]propil} como o material de partida. LCMS para $C_4H_{13}N_2O_2S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 153,1$.

Passo C: 4-Amino- *N'*-hidroxi- *N* - {3 - [(metilsulfonil) amino] propil}-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 17, Passo C**, utilizando cloridrato de *N*-(3-aminopropil) metanossulfonamida e cloreto de 4-amino- *N* -hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo [feito de acordo com o **Exemplo 1, passos A e B**] como materiais de partida em 19% de rendimento.

Passo D: *N'*-hidroxi-4-({3-[(metilsulfonil) amino] propil} amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



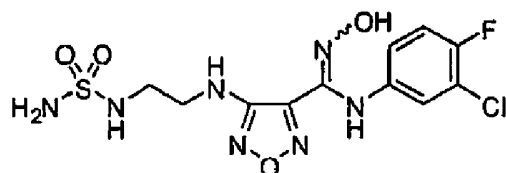
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 17, Passo D**, utilizando 4-amino-*N'*-hidroxi-*N* -{3-[(metilsulfonil) amino] propil}-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida como o material de partida. LCMS para $C_7H_{15}N_6O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 279,0$.

Passo E: *N*-(3-Bromo-4-fluorofenil)- *N'*-hidroxi-4-({3-[(metilsulfonil) amino] propil} amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

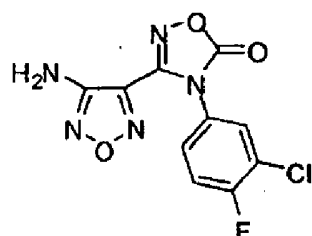
O composto do título foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 17, Passo E**, usando *N'*-hidroxi-4-({3-[(metilsulfonil) amino]propil} amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida e 3-bromo-4-fluoroanilina [Oakwood Products, Inc., produto # 013091], como os materiais de partida em 12% de rendimento. LCMS para C₁₃H₁₇BrFN₆O₄S (M + H)⁺: m/z = 451,0, 453,0. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,12 (dd, *J* = 5,9, 2,4 Hz, 1H), 7,05 (t, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,83 (m, 1H), 3,39 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 3,14 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 2,94 (s, 3H), 1,87 (m, 2H).

Exemplo 5

4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)- *N*-(3-cloro-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



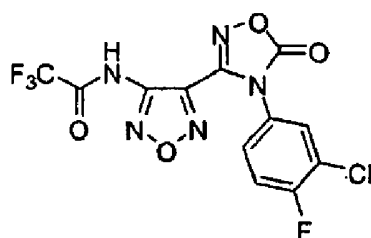
Passo A: 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazole-3-il)-4-(3-cloro-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5 (4 H)-ona



Uma solução de 4-amino- *N*-(3-cloro-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida (80 g, 0,29 mol) [ver Patente US 2006/0258719] em tetra-hidrofurano (500 mL)

foi tratada com uma solução de 1,1'-carbonildiimidazole (53 g, 0,32 mol) em tetrahydrofurano (200 mL) e aquecida a refluxo durante 1 h. A mistura de reação foi arrefecida até 25°C e concentrou-se até ao ponto em que uma grande quantidade de sólido se precipitou. A mistura heterogênea foi diluída com acetato de etilo (1,5 L) e lavada com 1 N de HCl (2 x 300 mL), água (300 mL), e salmoura (200 mL). A camada orgânica foi separada, seca sobre sulfato de sódio anidro, filtrada, e concentrada para dar o produto desejado (88 g, quantitativo) como um sólido esbranquiçado. Este material foi utilizado sem purificação adicional. LCMS para $C_{10}H_6ClFN_5O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 298,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,96 (dd, $J = 6,6, 2,3$ Hz, 1 H), 7,69-7,60 (m, 2 H), 6,60 (s, 2 H).

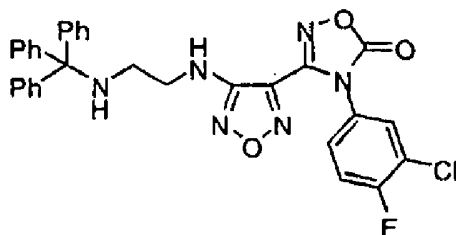
Passo B: N -{4-[4-(3-Cloro-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-2,2,2-trifluoroacetamida



Uma solução de 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazole-3-il)-4-(3-cloro-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5 (4 H)-ona (15 g, 50 mmol) em diclorometano (120 mL) foi tratada com anidrido trifluoroacético (14 mL, 100 mmol), arrefecida a 0°C, e tratada com piridina (8,2 mL, 100 mmol). A mistura de reação foi agitada a 25°C durante 10 min, arrefecida a 0°C, e extinta com água (10 mL). A mistura de reação foi diluída com acetato de etilo (500 mL) e lavou-se com 1 N de HCl (300 mL), água (2 x 200 mL), e salmoura (200 mL). A camada orgânica foi separada, seca sobre sulfato de sódio anidro,

filtrada, e concentrada para dar ~50 mL de volume. Esta solução foi aquecida (~ 40-50 ° C) e tratada com hexano (600 ml), sob agitação vigorosa, seguido de éter de petróleo (200 ml). A mistura foi agitada a 0°C durante 30 minutos e o sólido foi recolhido por filtração, lavado com hexanos, e seco para dar o produto desejado (19,7 g, 99%) como um sólido branco. LCMS para C₁₂H₅ClF₄N₅O₄ (M + H)⁺: m/z = 394,0 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 8 7,82 (dd, J = 6,6,2.5 Hz, 1 H), 7,59 (dd, J = 9,0, 9,0 Hz, 1 H), 7,52-7,47 (m, 1 H).

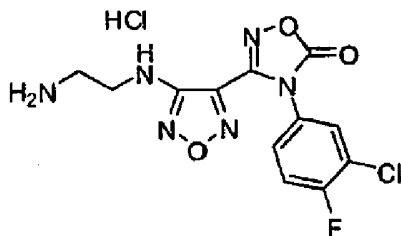
Passo C: 4-(3-Cloro-4-fluorofenil)-3-(4-{[2-(tritolamino) etil]amino}-1,2,5-oxadiazole-3-il)-1,2,4-oxadiazole-5(4 H)-ona



Uma solução de 2 (tritolamino) etanol (10 g, 33 mmol) [EP599220 e J. Org. Chem. (2001), 66, 7615] e trifetilfosfina (8,7 g, 33 mmol) em tetrahidrofurano (65 mL) a 0°C foi tratada com azodicarboxilato de diisopropilo (7,0 mL, 35 mmol) gota a gota. A mistura de reação foi agitada a 0°C durante 15 min, tratada com uma solução de N-{4-[4-(3-cloro-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-2,2,2-trifluoroacetamida (9,3 g, 24 mmol) em tetrahidrofurano (28 mL), e agitado a 25°C durante 16 h. A mistura de reação foi concentrada, diluída com acetato de etilo (350 mL), arrefecida a 0°C, tratada com 1 N de HCl (200 mL), e agitou-se a 25°C durante 1 h. A mistura de reação foi tratada com 1 N de HCl adicional (150 ml) e agitou-se a

25°C durante 3 h. A camada orgânica foi separada, lavada com bicarbonato de sódio saturado (200 mL) e salmoura (100 mL), seco sobre sulfato de sódio anidro, filtrada, e concentrada até uma espuma amarela que foi reconcentrada a partir de hexanos para dar um sólido oleoso. O sólido oleoso foi tratado com metil-*terc*-butil-éter (50 mL) e agitou-se para dar uma mistura heterogênea. O sólido foi filtrado, lavado com metil-*terc*-butílico (30 mL), e seco para dar o produto desejado (10 g, 74%) como um sólido branco. LCMS para $C_{31}H_{24}ClFN_6O_3Na$ ($M + Na$)⁺: $m/z = 605,2$. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,97 (dd, $J = 6,7, 2,6$ Hz, 1 H), 7,71-7,66 (m, 1 H), 7,60 (dd, $J = 9,1, 8,8$ Hz, 1 H), 7,40-7,37 (m, 6 H), 7,28-7,23 (m, 6 H), 7,18 - 7,12 (m, 3 H), 6,59 (dd, $J = 5,9, 5,6$ Hz, 1 H), 3,37-3,31 (m, 2 H), 2,96 (dd, $J = 7,6, 7,6$ Hz, 1 H), 2,27 - 2,19 (m, 2 H).

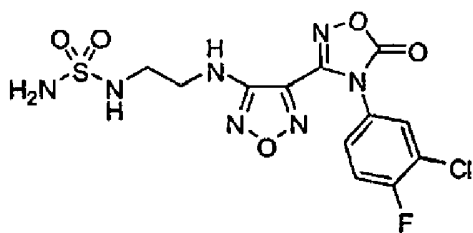
Passo D: cloridrato de 3-{4-[(2-Aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-cloro-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



Uma solução pré-misturada de triisopropilsilano (3,4 mL, 17 mmol) e ácido trifluoroacético (44 mL, 570 mmol) foi adicionado a 4-(3-cloro-4-fluorofenil)-3-(4-{[2-(tritolamino)etil]amino}-1,2,5-oxadiazole-3-il)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (6,5 g, 11 mmol) e a suspensão resultante foi agitada a 25°C durante 30 min. A mistura de reação foi filtrada e lavada com ácido trifluoroacético. O filtrado foi concentrado até um óleo o qual foi diluído com metanol (25 mL), arrefecido a 0°C, tratado com 4 M de HCl

em 1,4-dioxano (14 mL), e agitou-se a 25°C durante 15 min. A mistura foi concentrada até um sólido que foi tratado com éter dietílico (50 mL) e filtrado. O sólido foi lavado com éter dietílico (50 mL) e seco para dar o produto desejado (4,1 g, 98%) como um sólido branco. LCMS para $C_{12}H_{11}ClFN_6O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 341,1$. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): 8,05-8,00 (m, 4 H), 7,75-7,69 (m, 1 H), 7,64 (dd, $J = 9,1, 8,8$ Hz, 1 H), 6,77 (dd, $J = 5,9, 5,9$ Hz, 1 H), 3,54-3,47 (m, 2 H), 3,04-2,99 (m, 2 H).

Passo E: N-[2-({4-[4-(3-Cloro-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil]sulfamida



Uma solução de isocianato de clorossulfonilo (2,0 mL, 23 mmol) em diclorometano (70 mL) foi tratada com *t*-butil álcool (2,2 mL, 23 mmol) a 0°C e agitada a 25°C durante 1 h. Esta mistura foi adicionada a uma suspensão de cloridrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-cloro-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona (4,3 g, 11 mmol) em diclorometano (70 mL). A mistura de reação foi tratada com uma solução de trietilamina (6,3 mL, 45 mmol) em diclorometano (20 mL) a 0°C e agitada a 25°C durante 3 h. A mistura de reação foi diluída com 0,1 N de HCl e extraiu-se com acetato de etilo (2 x 100 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura (100 mL), secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas, e concentradas até um sólido branco. O sólido branco foi diluído com diclorometano (100 mL), tratado com ácido trifluoroacético (20 mL), e agitou-se a 25°C durante 3 h. A

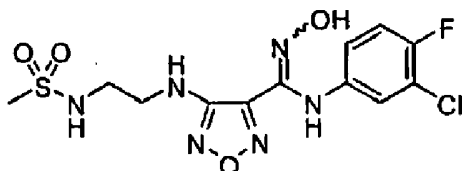
mistura de reação foi concentrada até se obter um resíduo bruto que foi purificado por cromatografia em gel de sílica para se obter o produto desejado (3,7 g, 78%) como um sólido branco. LCMS para $C_{12}H_{12}ClFN_7O_5S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 420,0$. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 7,98 (dd, $J = 6.4, 2.1$ Hz, 1 H), 7,70-7,60 (m, 2 H), 6,66 (t, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 6,57 (s, 2 H), 6,52 (t, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 3,42-3,35 (m, 2H), 3,13-3,06 (m, 2 H).

Passo F: 4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-(3-cloro-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

Uma solução de N-[2-({4-[4-(3-cloro-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil]sulfamida (3,7 g, 8,8 mmol) em metanol (70 mL) foi tratada com 2 M de NaOH (18 mL, 35 mmol) e agitou-se a 25°C durante 2 h. A mistura de reação foi neutralizada com 6 N de ácido clorídrico até pH ~ 7 e o metanol foi removido sob pressão reduzida. O sólido que precipitou foi filtrado e lavado com água para dar o produto desejado (3,2 g, 92%) como um sólido branco. LCMS para $C_{11}H_{14}ClFN_7O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 394,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,96 (dd, $J = 6,8, 2,1$ Hz, 0,05 H), 7,32-7,29 (m, 0,1 H), 7,18 (dd, $J = 9,1, 9,1$ Hz, 0,95 H), 6,93 (dd, $J = 6,4, 2,7$ Hz, 0,95 H), 6,71-6,66 (m, 0,95 H), 6,33 (s largo, 1H), 3,35-3,27 (m, 2 H), 3,10-3,06 (m, 2 H).

Exemplo 6

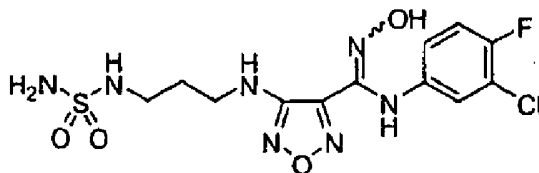
***N* - (3-Cloro-4-fluorofenil) - *N'*-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonil) amino]etil} amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida**



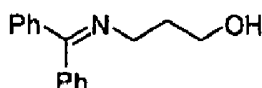
O composto do título foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 17, Passo E**, usando *N'*-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonil) amino] etil} amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida e 3-cloro-4-fluoroanilina [Aldrich, produto # 228583], como os materiais de partida. LCMS para $C_{12}H_{15}ClFN_6O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 393,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,50 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 7,19 (m, 2H), 6,96 (dd, $J = 6,7, 2,5$ Hz, 1H), 6,71 (m, 1H), 6,26 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 3,32 (m, 2H), 3,13 (q, $J = 5,8$ Hz, 2H), 2,89 (s, 3H).

Exemplo 7

4-({3-[(Aminosulfonil) amino]propil} amino) - *N* - (3-cloro-4-fluorofenil) - *N'*-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



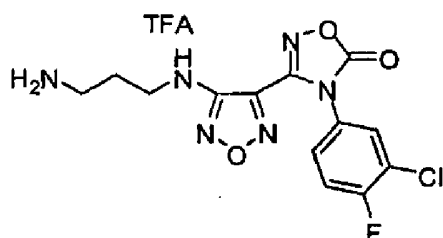
Passo A: 3 - [(difenilmetileno) amino] propano-1-ol



Uma solução de 3-amino-1-propanol [Aldrich produto # A76400] (2,0 mL, 26 mmol) em diclorometano (79 mL) foi

tratado com benzofenona-imina (4,4 ml, 26 mmol) e agitado a 25°C durante 16 h. A mistura de reação foi filtrada e o filtrado foi concentrado para dar o produto desejado (6,3 g, quantitativo) como um óleo. Este material foi utilizado sem purificação adicional. LCMS para $C_{16}H_{18}NO$ ($M + H$)⁺: m/z = 240,2.

Passo B: trifluoracetato de 3-{4-[(3-Aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-cloro-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



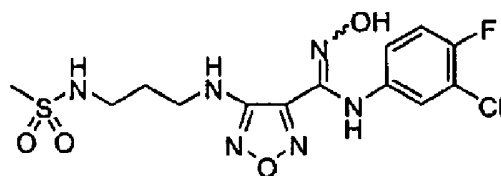
Uma solução de 3 - [(difenilmetileno) amino] propano-1-ol (80 mg, 0,33 mmol) e trifenilfosfina (93 mg, 0,36 mmol) em tetrahidrofurano (1 mL) a 0°C foi tratada com azodicarboxilato de diisopropilo (75 uL, 0,38 mmol) gota a gota. A mistura de reação foi agitada a 0°C durante 15 min, tratada com uma solução de *N* -{4 [4 (3-cloro-4-fluorofenil) -5-oxo-4,5-di-hidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole -3-il}-2,2,2-trifluoroacetamida (100 mg, 0,25 mmol) em tetrahidrofurano (0,5 mL), e agitou-se a 25°C durante 16 h. A mistura de reação foi tratada com ácido trifluoroacético (1 ml), agitada a 25°C. durante 3 h, e concentrou-se até um resíduo bruto. Este material foi purificado por LCMS preparativa para dar o produto desejado (18 mg, 15%). LCMS para $C_{13}H_{13}ClFN_6O_3$ ($M + H$)⁺: m/z = 355,1

Passo C: 4-({3-[(Aminosulfonil)amino]propil}amino)- N- (3-cloro-4-fluorofenil)- N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 15, Passo G**, usando trifluoroacetato de 3-{4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-cloro-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona como o material de partida em 34% de rendimento. LCMS para $C_{12}H_{16}ClFN_7O_4S$ ($M + H$)⁺: m/z = 408,1. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,90 (s, 1 H), 7,20 (dd, J = 9,2, 9,0 Hz, 1 H), 6,96 (dd, J = 6,4, 2,7 Hz, 1 H), 6,72-6,69 (m, 1 H), 6,55 (t, J = 6,0 Hz, 1 H), 6,51 (s, 2H), 6,16 (t, J = 5,9 Hz, 1 H), 3,28-3,21 (m, 2 H), 2,93-2,87 (m, 2 H), 1,76-1,72 (m, 2 H).

Exemplo 8

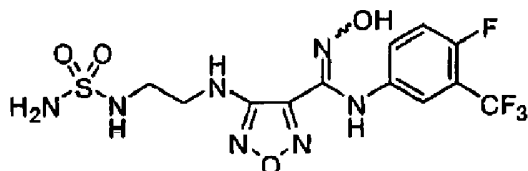
N - (3-Cloro-4-fluorofenil)- N'-hidroxi-4-({3-[(metilsulfonil)amino]propil}amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



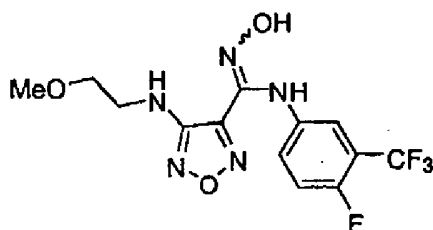
O composto do título foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 4, Passo E**, usando N'-hidroxi-4 - ({3-[(metilsulfonil) amino] propil} amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida [feito de acordo com o **Exemplo 4, Passos A a D**] e 3-cloro-4-fluoroanilina [Aldrich, produto # 228583], como os materiais de partida em 10% de rendimento. LCMS para $C_{13}H_{17}ClFN_6O_4S$ ($M + H$)⁺: m/z = 407,1 1H NMR (400 MHz, CD $_3$ OD): δ 7,06 (t, J = 8,9 Hz, 1H), 6,98 (m, 1H), 6,80 (m, 1H), 3,73 (m, 2H), 3,28 (m, 2H), 2,94 (s, 3H), 1,28 (m, 2H).

Exemplo 9

4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)- N -[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]- N '-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

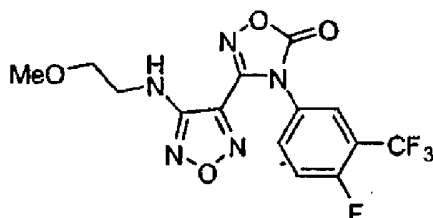


Passo A: N -[4-Fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



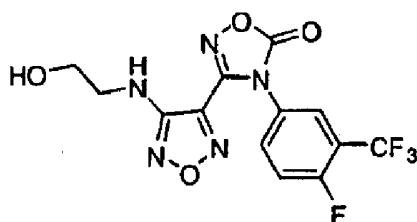
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 13, Passo A**, utilizando cloreto de N -hidroxi-4 - [(2-metoxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo [feito de acordo com o **Exemplo 1, Passos A a E**] e 3-trifluorometil-4-fluoroanilina [Aldrich, produto # 217778], como os materiais de partida com rendimento quantitativo. LCMS para $C_{13}H_{14}F_4N_5O_3$ $(M + H)^+$: $m/z = 364,0$ 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,15 (m, 2 H), 7,08 (m, 1H), 3,60 (t, $J = 5,3$ Hz, 2 H), 3,46 (t, $J = 5,3$ Hz, 2 H), 3,38 (s, 3 H).

Passo B: 4-[4-Fluoro-3-(trifluorometil) fenil]-3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 13, Passo B**, usando N-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida como material de partida em 79% de rendimento. LCMS para $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4$ $(M + H)^+$: $m/z = 390,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,20 (dd, $J = 6,3, 2,4$ Hz, 1 H), 8,03 (m, 1 H), 7,76 (t, $J = 9,5$ Hz, 1 H), 6,41 (t, $J = 5,7$ Hz, 1 H), 3,49 (t, $J = 5,5$ Hz, 2 H), 3,39 (q, $J = 5,7$ Hz, 2 H), 3,25 (s, 3 H).

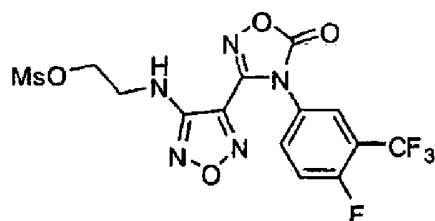
Passo C: 4-[4-Fluoro-3-(trifluorometil) fenil]-3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 13, Passo C**, utilizando 4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona como material de partida em 99% de rendimento. LCMS para

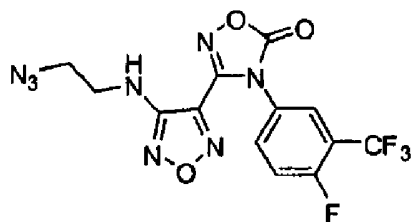
$C_{13}H_{10}F_4N_5O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 376,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,22 (m, 1 H), 8,05 (m, 1 H), 7,76 (t, $J = 9,9$ Hz, 1H), 6,34 (t, $J = 5,7$ Hz, 1 H), 4,87 (t, $J = 5,2$ Hz, 1 H), 3,56 (q, $J = 5,5$ Hz, 2 H), 3,29 (q, $J = 5,7$ Hz, 2 H).

Passo D: metanossulfonato de 2 - [(4 {4 [4-Fluoro-3-(trifluorometil) fenil] -5-oxo-4,5-di-hidro-1,2,4-oxadiazole-3, il}-1,2,5-oxadiazole-3-il) amino] etil



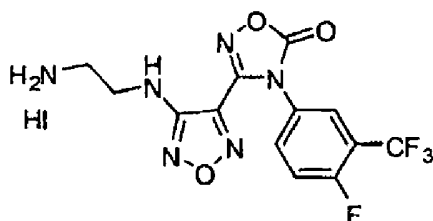
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 13, passo D**, utilizando 4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-3-{4-[(2-hidroxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona como material de partida em 95% de rendimento. LCMS para $C_{14}H_{12}F_4N_5O_6S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 454,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,23 (dd, $J = 6,5, 2,5$ Hz, 1 H), 8,06 (m, 1 H), 7,76 (t, $J = 9,6$ Hz, 1 H), 6,76 (t, $J = 5,8$ Hz, 1 H), 4,37 (t, $J = 5,4$ Hz, 2 H), 3,60 (q, $J = 5,5$ Hz, 2 H), 3,17 (s, 3 H).

Passo E: 3-{4-[(2-Azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4 H)-ona



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 13, Passo E**, usando metanossulfonato de 2-[(4-{4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il}-1,2,5-oxadiazole-3-il)amino]etil como o material de partida em 100% de rendimento. LCMS para $C_{13}H_9F_4N_6O_3$ ($MN_2 + H$)⁺: $m/z = 372,8$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,22 (dd, $J = 6,2, 2,4$ Hz, 1 H), 8,05 (m, 1 H), 7,76 (t, $J = 9,6$ Hz, 1 H), 6,75 (t, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 3,53 (t, $J = 5,9$ Hz, 2 H), 3,45 (q, $J = 5,6$ Hz, 2 H).

Passo F: iodato de 3-{4-[(2-Aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



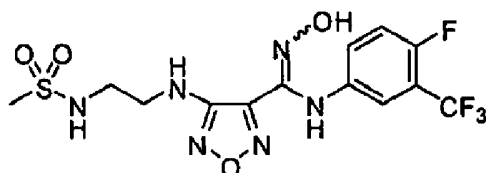
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 13, Passo F**, usando 3-{4-[(2-azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona como material de partida em 80% de rendimento. LCMS para $C_{13}H_{11}F_4N_6O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 375,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,20 (dd, $J = 6,2, 2,4$ Hz, 1 H), 8,03 (m, 1 H), 7,74 (t, $J = 9,8$ Hz, 1 H), 7,10 (s largo, 0,4 H), 6,68 (t, $J = 5,5$ Hz, 1 H), 3,42 (q, $J = 5,8$ Hz, 2 H), 2,95 (t, $J = 6,5$ Hz, 2 H).

Passo G: 4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)- N -[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]- N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

O composto do título foi preparado de acordo com o procedimento **do Exemplo 13, Passo G**, usando iodidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona como o material de partida em 55% de rendimento. LCMS para $C_{12}H_{14}F_4N_7O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 428,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,60 (s, 1 H), 9,06 (s, 1 H), 7,30 (t, $J = 10,1$ Hz, 1 H), 7,14 (dd, $J = 6,1, 2,7$ Hz, 1 H), 7,03 (m, 1 H), 6,71 (t, $J = 5,3$ Hz, 1 H), 6,58 (s, 2 H), 6,23 (t, $J = 6,2$ Hz, 1 H), 3,36 (q, $J = 6,5$ Hz, 2 H), 3,08 (m, 2 H).

Exemplo 10

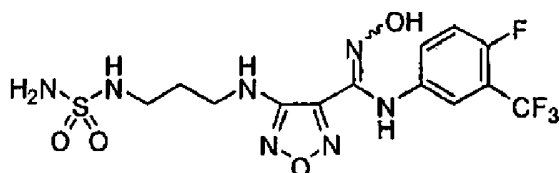
N -[4-Fluoro-3-(trifluorometil)fenil]- N'-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonil)amino]etil}amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



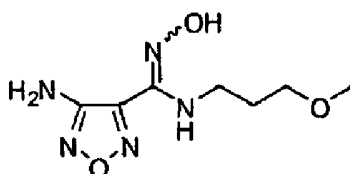
O composto do título foi preparado de acordo com o procedimento **do Exemplo 17, Passo E**, usando N -hidroxi-4'-({2 - [(metilsulfonil) amino] etil} amino) -1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida e 3-trifluorometil-4-fluoroanilina [Aldrich, produto # 217778], como os materiais de partida. LCMS para $C_{13}H_{15}F_4N_6O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 427,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,60 (s, 1H), 9,07 (s, 1H), 7,30 (t, $J = 10,1$ Hz, 1H), 7,18 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 7,13 (dd, $J = 6,0, 2,7$ Hz, 1H), 7,03 (m, 1H), 6,27 (t, $J = 6,3$ Hz, 1H), 3,32 (m, 2H), 3,13 (q, $J = 6,0$ Hz, 2H), 2,89 (s, 3H).

Exemplo 11

4-({3-[(Aminosulfonil)amino]propil}amino)-N-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

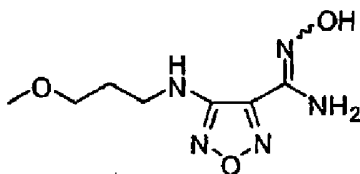


Passo A: 4-Amino-N'-hidroxi-N-(3-metoxipropil)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento **do Exemplo 1, Passo C**, utilizando 3-metoxi-1-propanamina, como o material de partida em 93% de rendimento. LCMS para $C_7H_{14}N_5O_3$ $(M + H)^+$: $m/z = 216,1$.

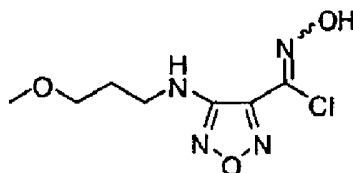
Passo B: N'-Hidroxi-4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento **do Exemplo 1, Passo D**, utilizando 4-amino-N'-hidroxi-N-(3-metoxipropil)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida, como o material de partida em 72% de rendimento. LCMS para $C_7H_{14}N_5O_3$ $(M + H)^+$: $m/z = 216,1$. 1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$): δ 10,4 (s, 1 H), 6,21-6,13 (m, 3

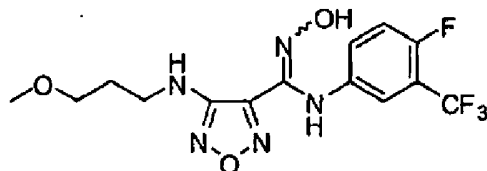
H), 3,37 (t, $J = 6,1$ Hz, 2 H), 3,28-3,21 (m, 5 H), 1,82-1,74 (m, 2 H).

Passo C: Cloreto de *N*-Hidroxi-4 - [(3-metoxipropil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo



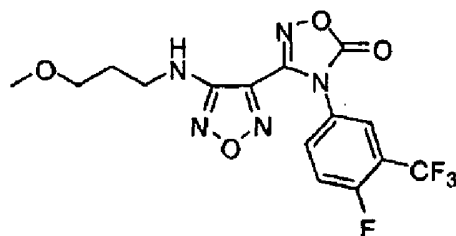
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 1, Passo E**, usando *N'*-hidroxi-4 - [(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida, como o material de partida no quantitativo de rendimento. LCMS para $C_7H_{12}ClN_4O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 235,1$.

Passo D: *N*-[4-Fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-*N*-hidroxi-4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



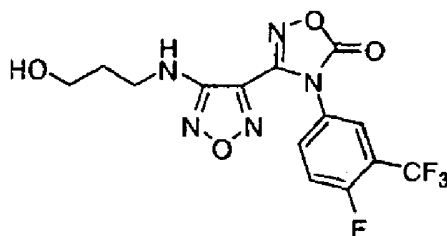
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 1, Passo F**, usando cloreto de *N*-hidroxi-4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo e 4-fluoro-3-(trifluorometil) benzenoamina, como os materiais de partida em 87% de rendimento. LCMS para $C_{14}H_{16}F_4N_5O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 378,1$. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 11,5 (s, 1 H), 9,05 (s, 1 H), 7,30 (dd, $J = 10.0, 9.6$ Hz, 1 H), 7,13-7,11 (m, 1 H), 7,05-7,00 (m, 1 H), 6,22 (t, $J = 5,7$ Hz, 1 H), 3,35-3,32 (m, 2 H), 3,25-3,19 (m, 5 H), 1,79-1,72 (m, 2 H).

Passo E: 4-[4-Fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-3-{4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 1, Passo G**, usando *N*-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-*N'*-hidroxi-4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida como o material de partida com um rendimento quantitativo. LCMS para $C_{15}H_{14}F_4N_5O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 404,0$.

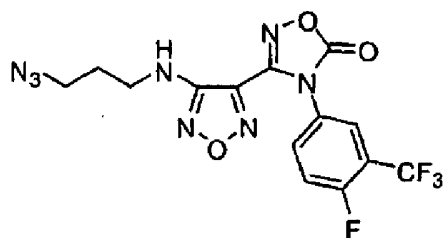
Passo F: 4-[4-Fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-3-{4-[(3-hidroxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 3, Passo D**, utilizando 4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-3-{4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona como material de partida em 97% de rendimento. LCMS para $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 390,0$. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8,20 (dd, $J = 6.4, 2.6$ Hz, 1 H), 8,06-8,01 (m, 1 H), 7,75 (dd, $J = 10,0, 9,4$ Hz, 1 H), 6,53 (t, $J = 5,7$ Hz, 1

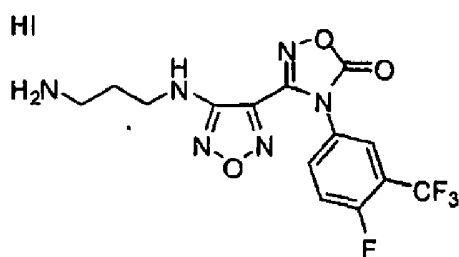
H), 4,59 (t, $J = 5,0$ Hz, 1 H), 3,51-3,42 (m, 2 H), 3,32-3,26 (m, 2 H), 1,73-1,68 (m, 2 H).

Passo G: 3-{4-[(3-Azidopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 3, Passo E**, usando 4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-3-{4-[(3-hidroxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona como o material de partida com um rendimento quantitativo. LCMS para $C_{14}H_{10}F_4N_8O_3Na$ ($M + Na$)⁺: $m/z = 437,0$.

Passo H: iodato de 3-{4-[(3-Aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 3, Passo F**, utilizando 3-{4-[(3-azidopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona como material de partida em 81% de rendimento. LCMS para $C_{14}H_{13}F_4N_6O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 389,1$. 1H NMR (300 MHz, DMSO-

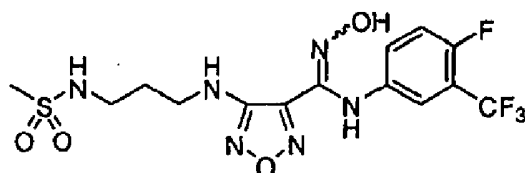
d_6): δ 8,18 (dd, $J = 6,4, 2,3$ Hz, 1 H), 8,06-8,01 (m, 1 H), 7,72 (dd, $J = 9,7, 9,4$ Hz, 1 H), 7,34 (s largo, 2 H), 6,71 (s largo, 1H), 2,78-2,73 (m, 2H), 1,85-1,75 (m, 2 H).

Etapa I: 4-({3-[(Aminosulfonil)amino]propil}amino)- *N* -[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-*N'*-hidroxy-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento **do Exemplo 15, Passo G**, usando iodidrato de 3-{4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona como o material de partida em 60% de rendimento. LCMS para $C_{13}H_{16}F_4N_7O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 442,0$. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11,6 (s, 1 H), 9,08 (s, 1 H), 7,31 (dd, $J = 10,0, 9,4$ Hz, 1 H), 7,13 (dd, $J = 6,4, 2,9$ Hz, 1 H), 7,05-6,99 (m, 1 H), 6,58 (t, $J = 6,0$ Hz, 1 H), 6,52 (s, 2 H), 6,17 (t, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 3,28-3,21 (m, 2 H), 2,94-2,87 (m, 2H), 1,79-1,72 (m, 2 H).

Exemplo 12

***N* -[4-Fluoro-3-(trifluorometil)fenil]- *N'*-hidroxi-4-({3-[(metilsulfonil)amino]propil}amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida**

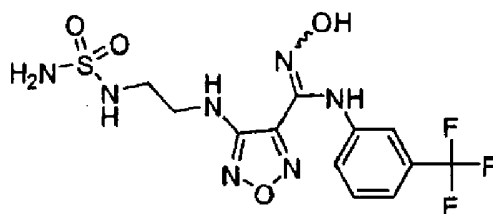


O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento **do Exemplo 16** usando iodidrato de 3-{4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona como o material de partida em 70% de rendimento. LCMS para $C_{14}H_{17}F_4N_6O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 441,1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO-

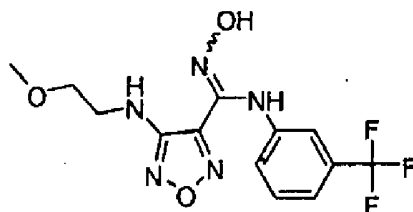
d_6): δ 11,6 (s, 1 H), 9,07 (s, 1 H), 7,30 (dd, J = 10,0, 9,6 Hz, 1 H), 7,13 (dd, J = 6.2, 2.5 Hz, 1H), 7,05-7,02 (m, 2 H), 6,19 (t, J = 5,8 Hz, 1 H), 3,27-3,21 (m, 2 H), 2,99-2,94 (m, 2 H), 2,87 (s, 3 H), 1,76-1,72 (m, 2 H).

Exemplo 13

4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)- *N'*-hidroxi- *N* -[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



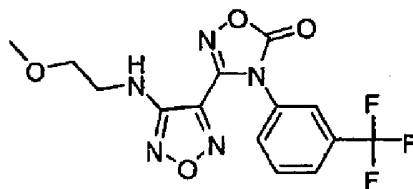
Passo A: *N'*-hydroxy-4-[(2-metoxietil)amino]- *N* -[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



Cloreto de *N* -hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo (1,3 g, 5,0 mmol) [feito de acordo com o **Exemplo 1, Passos A a E**] foi agitado em água (10 mL) e aquecido a 60°C durante 5 minutos. 3-(trifluorometil) anilina [Aldrich, produto # A41801] (880 mg, 5,5 mmol) foi adicionada numa porção e a recção foi agitada durante 15 minutos. Enquanto permanece a 60°C, uma solução de bicarbonato de sódio (630 mg, 7,5 mmol) em água (10 mL) foi adicionado gota a gota ao longo de 5 minutos. A recção foi agitada a 60°C durante um adicional de 50 minutos, e depois deixou-se arrefecer até à temperatura ambiente. Acetato de etilo (20 mL) e salmoura (30 mL) foram adicionados ao balão e a camada orgânica foi recolhida. A

camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 20 mL) e as fases orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio. O solvente foi removido sob vácuo para dar o produto desejado como um sólido cor de laranja (1,4 g, 80%). LCMS calculada para $C_{13}H_{15}F_3N_5O_3$ ($M + H$)⁺: m/z = 346,1. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,36 (t, J = 8,2 Hz, 1H), 7,23 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,09 (s, 1H), 7,02 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 3,60 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 3,46 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 3,38 (s, 3H).

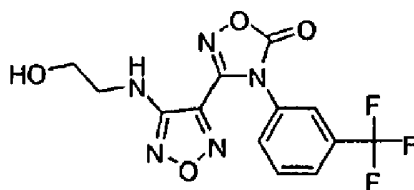
Passo B: 3-{4-[(2-Metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4 H)-ona



N'-Hydroxy-4-[(2-metoxietil)amino]-*N*-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida (1,4 g, 3,80 mmol) e 1,1'-carbonildiimidazole (1,16 g, 7,16 mmol) foram dissolvidos em acetato de etilo (20 mL). A mistura de reação foi aquecida a 70°C durante 40 minutos. 1,1'-carbonildiimidazole adicional (0,26 g, 1,16 mmol) foi adicionado. Depois de se agitar a 70°C durante mais 50 minutos, a reação foi deixada a arrefecer até à temperatura ambiente. Acetato de etilo (20 mL) foi adicionado e a reação em bruto foi lavada com 1 N de HCl em água (2 x 20 mL). Foi adicionada salmoura para ajudar na separação da primeira lavagem. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e concentrou-se em vácuo. A purificação por cromatografia flash em gel de sílica com um eluente de acetato de etilo em hexano deu o produto desejado (1,3 g, 90%). LCMS calculada para $C_{14}H_{13}F_3N_5O_4$ ($M + H$)⁺: m/z = 372,0. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 8,07 (s, 1H), 7,92 (m,

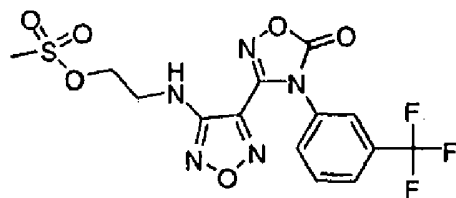
2H), 7,79 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H), 6,42 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,47 (t, $J = 5,8$ Hz, 2H), 3,38 (q, $J = 5,0$ Hz, 2H), 3,24 (s, 3H).

Passo C: 3-{4-[(2-Hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



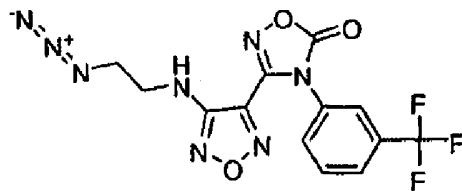
Num balão de fundo redondo sob atmosfera de azoto, 3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (1,3 g, 3,6 mmol) foi agitada em diclorometano (11 mL). A temperatura foi levada até -78°C e uma solução de 1,0 M de tribrometo de boro em diclorometano (7,9 mL, 7,9 mmol) foi adicionado gota a gota ao longo de 15 minutos. A reação foi aquecida até à temperatura ambiente ao longo de 45 minutos e continuou a agitar à temperatura ambiente durante mais 45 minutos. A reação foi arrefecida a 0°C e uma solução saturada de bicarbonato de sódio em água (25 mL) foi adicionado gota a gota ao longo de 15 minutos. Após aquecimento até à temperatura ambiente, acetato de etilo (10 mL) e água (10 mL) foram adicionados ao frasco. A camada orgânica foi recolhida e a camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 20 mL). Após a secagem das camadas orgânicas combinadas sobre sulfato de sódio, o solvente foi removido sob vácuo para dar o produto desejado (1,0 g, 81%). LCMS calculada para $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_4$ ($\text{M} + \text{H}^+$): $m/z = 358,0$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 8,08 (s, 1H), 7,93 (t, $J = 8,2$ Hz, 2H), 7,79 (t, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,35 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,86 (s largo, 1H), 3,55 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 3,28 (m, 2H).

Passo D: Metanossulfonato de 2 - [(4-{5-Oxo-4-[3-(trifluorometil) fenil]-4,5-di-hidro-1,2,4-oxadiazole-3-il}-1,2,5-oxadiazole-3-il) amino] etil



A uma solução de 3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (1,0 g, 2,9 mmol) em acetato de etilo (8,5 mL) foi adicionado cloreto de metanossulfonilo (0,29 mL, 3,7 mmol) numa porção. A reacção foi agitada durante 5 minutos e trietilamina (0,52 mL, 3,7 mmol) foi adicionado, também numa só porção. Depois de se agitar durante 10 minutos adicionais, a reacção foi extinta com a adição de água (5 mL). O produto foi extraído com acetato de etilo (2 x 5 mL), seco sobre sulfato de sódio e concentrado em vácuo para dar o produto desejado (1,2 g, 99%). LCMS, calculado para $C_{14}H_{13}F_3N_5O_6S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 436,0$. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8,10 (s, 1H), 7,92 (m, 2H), 7,80 (t, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,77 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 4,36 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H), 3,58 (m, 2H), 3,17 (s, 3H).

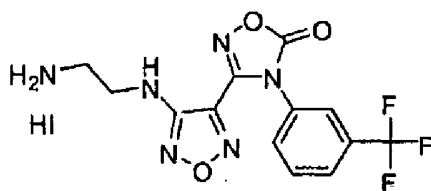
Passo E: 3-{4-[(2-Azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



Metanossulfonato de 2-[(4-{5-Oxo-4-[3-(trifluorometil) fenil]-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il}-1,2,5-oxadiazole-3-il)amino]etil (1,2 g, 2,9 mmol) foi dissolvido em *N, N*-

dimetilformamida (2,7 mL). Depois azida de sódio (280 mg, 4,3 mmol) foi adicionada numa porção, a temperatura foi aumentada para 65°C e a reacção foi agitada durante 6 horas. Após arrefecimento de novo até à temperatura ambiente, água (10 mL) foi adicionada para extinguir a reacção. O produto foi extraído com acetato de etilo (3x10 mL) e as camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio. O solvente foi removido sob vácuo para dar o produto desejado (1,05 g, 96%). LCMS calculada para $C_{13}H_{10}F_3N_6O_3$ ($MN_2 + H$)⁺: $m/z = 355,0$. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,09 (s, 1H), 7,93 (m, 2H), 7,79 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,75 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 3,52 (t, *J* = 5,7 Hz, 2H), 3,44 (q, *J* = 5,5 Hz, 2H).

Passo F: iodato de 3-{4-[(2-Aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona



A uma solução de 3-{4-[(2-azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona (1,05 g, 2,8 mmol) em metanol (12 mL) foi adicionado iodeto de sódio (2,5 g, 17 mmol). Depois de se agitar durante 10 minutos, uma solução de clorotrimetilsilano (2,1 mL, 17 mmol) em metanol (1,41 mL) foi adicionado gota a gota ao longo de 15 minutos. A reacção continuou a ser agitada durante 40 minutos e depois uma solução de tiosulfato de sódio (2,7 g, 17 mmol) em água (12,5 mL) foi adicionado numa porção. Um sólido bege precipitou após a adição da solução de tiosulfato de sódio e foi recolhido por filtração a vácuo. O sólido foi lavado

com água (2 x 10 mL) e foi seco sob vácuo durante a noite para dar o produto desejado. Um sólido também tinha sido precipitado a partir do filtrado e foi recolhido por filtração a vácuo. Depois de se lavar com água (3x10 mL) no funil, o produto foi seco durante a noite sob vácuo. O sólido foi lavado com acetato de etilo (3,8 mL) durante 1 hora e recolhido por filtração. Após lavagem com acetato de etilo (2 x 2 mL) e seco durante a noite, foi obtido o produto adicional. No total, 760 mg do produto desejado (57%) foi obtido como o sal de iodidrato. LCMS calculada para $C_{13}H_{12}F_3N_6O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 357,1$. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,10 (s, 1H), 7,95 (m, 2H), 7,81 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,68 (s largo, 2H), 6,74 (t, $J = 6,7$ Hz, 1H), 3,49 (m, 2H), 3,03 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H).

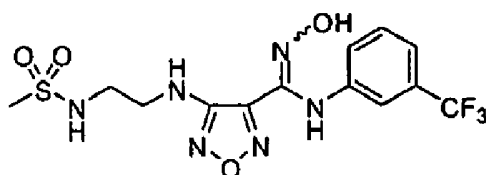
Passo G: 4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)- *N'* -hidroxi- *N* -[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

A uma solução de isocianato de clorossulfonilo (9,2 mL, 0,11 mmol) em diclorometano (0,24 mL), a 0°C e sob uma atmosfera de azoto, foi adicionado *terc*-butil-álcool (10 uL, 0,11 mmol) gota a gota. A solução foi deixada a agitar à temperatura ambiente durante 1 hora para se obter uma solução de carbamato de *terc*-butil [clorossulfonil]. Num frasco separado, iodidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona (26 mg, 0,053 mmol) foi suspenso em diclorometano (0,5 mL). A atmosfera de azoto foi estabelecida e a temperatura levada a 0°C. A solução de carbamato de *terc*-butil [clorossulfonil] (preparado como acima) foi adicionada ao longo de 5 minutos, à suspensão agitada do sal de amina. Após 10 minutos, trietilamina (37 mL, 0,27 mmol) foi adicionado gota a gota. A mistura de recção foi agitada à temperatura ambiente durante 1,5

horas. Depois de se concentrar em vácuo, o resíduo foi tratado com ácido trifluoroacético (0,5 mL, 6 mmol). Este foi agitado durante 1 hora e a mistura foi de novo concentrada até à secura em vácuo. Os sólidos secos foram suspensos em metanol (0,5 mL) e 2,0 N de NaOH em água (0,53 mL, 1,1 mmol) foi adicionado numa porção. A reacção foi aquecida a 45°C e agitada durante 30 minutos. Após neutralização com ácido acético (60 µl, 1,1 mmol), o produto foi purificado por LCMS preparativa para dar o produto desejado (8,5 mg, 39%). LCMS calculado para $C_{12}H_{15}F_3N_7O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 410,0$. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,36 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,23 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,10 (s, 1H), 7,03 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 3,48 (m, 2H), 3,29 (m, 2H).

Exemplo 14

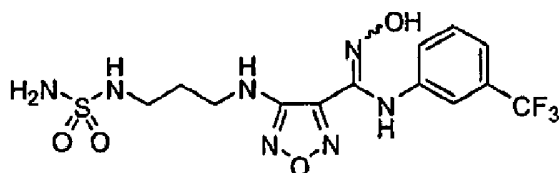
***N'*-Hidroxi-4-({2-[(metilsulfonil)amino]etil}amino)-*N*-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida**



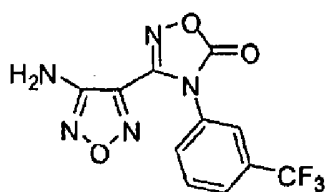
O composto do título foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 17, Passo E**, usando *N'*-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonil) amino] etil} amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida e 3-trifluorometilalanilina [Aldrich, produto # A41801] como os materiais de partida. LCMS para $C_{13}H_{16}F_3N_6O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 409,1$. 1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$): δ 11,63 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,39 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,21 (m, 2H), 7,10 (s, 1H), 6,99 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 6,28 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 3,36 (q, $J = 5,8$ Hz, 2H), 3,17 (q, $J = 5,8$ Hz, 2H), 2,91 (s, 3H).

Exemplo 15

4-({3-[(Aminosulfonil)amino]propil}amino)-N'-hidroxi-N-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

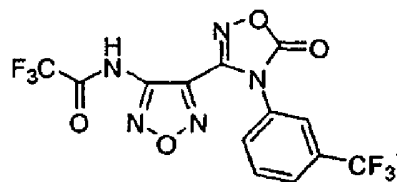


Passo A: 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazole-3-il)-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 5, passo A**, utilizando 4-amino-N'-hidroxi-N-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida [ver Patente US 2006/0258719] como material de partida em 97% de rendimento. LCMS para $C_{11}H_7F_3N_5O_3$ ($M + H$)⁺: m/z = 314,1.

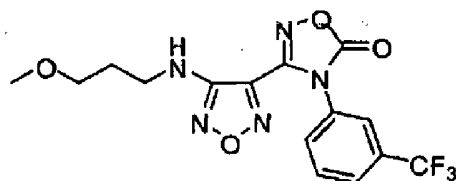
Passo B: 2,2,2-Trifluoro-N-(4-{5-oxo-4-[3-(trifluorometil)fenil]-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il}-1,2,5-oxadiazole-3-il)acetamida



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 5, passo B**, utilizando 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazole-3-il)-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-

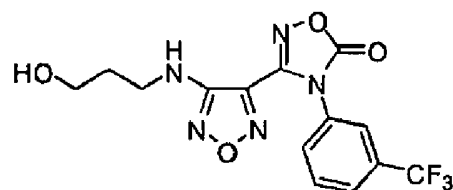
oxadiazole-5 (4 *H*)-ona como o material de partida em 90% de rendimento. LCMS para C₁₃H₆F₆N₅O₄ (M + H)⁺: m/z = 410,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,91-7,88 (m, 2 H), 7,76 - 7,69 (m, 2 H).

Passo C: 3-{4-[(3-Metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4 *H*)-ona



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 3, Passo C**, usando 2,2,2-trifluoro-*N*-(4-{5-oxo-4-[3-(trifluorometil)fenil]-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il}-1,2,5-oxadiazole-3-il)acetamide como material de partida em 49% de rendimento. LCMS para C₁₅H₁₅F₃N₅O₄ (M + H)⁺: m/z = 386,1. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,83 (d, *J* = 8,1 Hz, 1 H), 7,72 - 7,67 (m, 2 H), 7,59 (d, *J* = 7,5 Hz, 1 H), 6,08-6,04 (m, 1 H), 3,57 (t, *J* = 5,6 Hz, 2 H), 3,54-3,47 (m, 2 H), 3,40 (s, 3 H), 2,01-1,93 (m, 2 H).

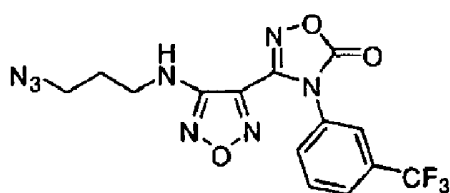
Passo D: 3-{4-[(3-Hidroxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4 *H*)-ona



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 3, Passo D**, utilizando 3-{4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona como

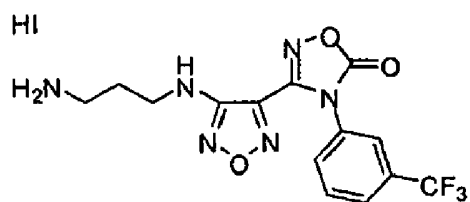
material de partida em 69% de rendimento. LCMS para $C_{14}H_{13}F_3N_5O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 372,1$. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,07 (s, 1 H), 7,95-7,90 (m, 2 H), 7,79 (dd, $J = 7,9, 7,9$ Hz, 1 H), 6,55 (t, $J = 5,6$ Hz, 1 H), 4,59 (t, $J = 5,1$ Hz, 1 H), 3,47 - 3,42 (m, 2 H), 3,30-3,25 (m, 2 H), 1,72-1,65 (m, 2 H).

Passo E: 3-{4-[(3-Azidopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 3, Passo E**, utilizando 3-{4-[(3-hidroxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona como material de partida em 92% de rendimento. LCMS para $C_{14}H_{11}F_3N_8O_3Na$ ($M + Na$)⁺: $m/z = 419,0$.

Passo F: iodato de 3-{4-[(3-Aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 3, Passo F**, usando 3-{4-[(3-azidopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona como material de partida em 92% de rendimento. LCMS para

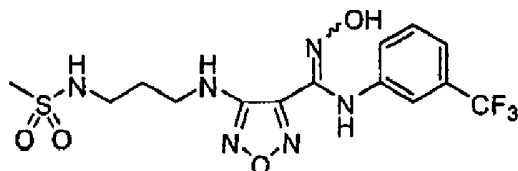
$C_{14}H_{14}F_3N_6O_3$ (M + H)⁺: m/z = 371,1. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,09 (s, 1 H), 7,96-7,92 (m, 2 H), 7,80 (dd, *J* = 8,0, 7,8 Hz, 1 H), 7,53 (s largo, 2 H), 6,70-6,65 (m, 1 H), 4,10 (s largo, 1 H), 3,32-3,31 (m, 2 H), 2,81-2,78 (m, 2 H), 1,85-1,82 (m, 2 H).

Passo G: 4-({3-[(Aminosulfonil)amino]propil}amino)- *N'*-hidroxi- *N* -[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

Uma solução de iodidrato de 3-{4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona (1,5 g, 3,0 mmol) e sulfamida (1,7 g, 18 mmol) em piridina (60 mL) foi aquecida num micro-ondas a 130°C durante 10 min. A mistura de reacção foi concentrada para dar o intermediário em bruto de *N* - {3 - [(4-{5-oxo-4-[3 (trifluorometil) fenil]-4,5-di-hidro-1,2,4-oxadiazole-3 il} -1,2,5-oxadiazol-3-il) amino] propil} sulfamida. Uma solução do intermediário bruto em metanol (90 mL) foi tratada com 2 N de NaOH (12 mL, 24 mmol) e agitou-se a 25°C durante 30 min. A mistura de reacção foi tratada com 6 M de HCl até a solução se tornar ácida e extraiu-se com acetato de etilo (250 mL). A camada orgânica foi lavada com água (100 mL) e salmoura (100 mL), seca sobre sulfato de sódio anidro, filtrada, e concentrada para dar um resíduo bruto. Este material foi purificado por LCMS preparativa para dar o produto desejado (1,1 g, 82%) como um sólido gomoso. LCMS para $C_{13}H_{17}F_3N_7O_4S$ (M + H)⁺: m/z = 424,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,6 (s, 1 H), 9,12 (s, 1 H), 7,37 (dd, *J* = 8,0, 8,0 Hz, 1 H), 7,21-7,18 (m, 1 H), 7,07 (s, 1 H), 6,95 (d, *J* = 10,0 Hz, 1 H), 6,52 (s largo, 3 H), 6,17 (t, *J* = 6,0 Hz, 1 H), 3,28-3,22 (m, 2 H), 2,93-2,89 (m, 2 H), 1,77-1,73 (m, 2 H).

Exemplo 16

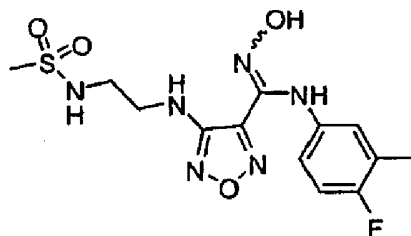
N'- Hidroxi-4-({3-[(metilsulfonil)amino]propil}amino)-N-[3- (trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



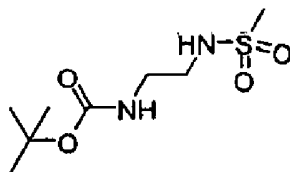
Uma solução de iodidrato de 3-{4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (a partir do Exemplo 15, Passo F, 25 mg, 50 μ mol) em diclorometano (1 mL) foi tratada com trietilamina (17 μ l, 0,12 mmol) e cloreto de metanossulfonilo (6 μ l, 70 μ mol) e agitou-se a 25°C durante 2 h. A mistura de reação foi concentrada para dar o como um resíduo em bruto que foi utilizado sem purificação adicional. Uma solução do intermediário bruto em metanol (1 mL) foi tratada com 2 N de NaOH (0,25 mL, 0,5 mmol) e agitou-se a 25°C durante 30 min. A mistura de reação foi tratada com ácido acético (50 μ l, 0,9 mmol), filtrada e purificada por LCMS preparativa para dar o produto desejado (13 mg, 65%) como um sólido. LCMS para $C_{14}H_{18}F_3N_6O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 423,1$. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): 8,11,6 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 7,37 (dd, $J = 8,0, 8,0$ Hz, 1 H), 7,20 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 7,07-7,01 (m, 2 H), 6,96 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 6,20 (t, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 3,27-3,22 (m, 2 H), 2,99-2,94 (m, 2 H), 2,87 (s, 3 H), 1,78-1,71 (m, 2 H).

Exemplo 17

N - (4-Fluoro-3-metilfenil) -*N'* -hidroxi-4- ({2- [(metilsulfonil) amino] etil} amino) -1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

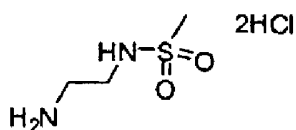


Passo A: carbamato de *terc*-butil {2 - [(metilsulfonil) amino] etil}



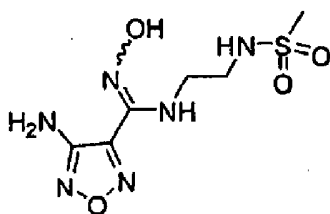
N - (2-amino-etil) (*terc* -butoxi) carboxamida (17,5 mL, 0,11 mol) [Alfa # L19947] foi agitado em diclorometano (320 mL) e foi adicionado trietilamina (33 mL, 0,24 mol). Adicionou-se uma solução de cloreto de metanossulfonilo (8,5 mL, 0,11 mol) em diclorometano (10 mL). A mistura resultante foi agitada durante 1 hora, e foi adicionado água (30 mL). O produto foi extraído com diclorometano (3 x 30 mL), seco sobre sulfato de sódio e concentrado em vácuo para dar o produto desejado (21 g, 81%). LCMS calculada para C₃H₁₁NO₂S (M-Boc + H)⁺: m/z = 139,1.

Passo B: dicloridrato de *N*-(2-aminoetil) metanossulfonamida



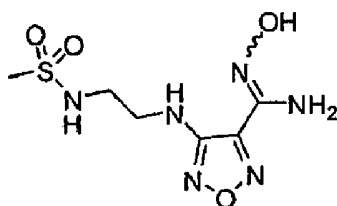
Carbamato de *terc* -butil {2 - [(metilsulfonil) amino] etil} (21 g, 88 mmol) foi agitado numa solução de 4 N de cloreto de hidrogénio em 1,4-dioxano (97 mL, 388 mmol) durante 30 minutos. A trituração com acetato de etilo e hexano, seguido de éter dietílico e hexanos deu o composto desejado como uma goma (19 g, 100%). LCMS calculada para C₃H₁₁N₂O₂S (M + H)⁺: m/z = 139,0.

Passo C: 4-Amino- *N'* -hidroxi-*N*-(2-[(metilsulfonil) amino] etil)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



Cloreto de 4-Amino- *N* -hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo (9,7 g, 60 mmol) foi agitada em etanol (460 mL) e dicloridrato de *N* - (2-aminoetil) metanossulfonamida (19 g, 109 mmol) foi lentamente adicionado, em porções, e a temperatura subiu para 25°C. Depois de arrefecer de novo até 0°C, trietilamina (53 mL, 380 mmol) foi adicionado gota a gota ao longo de 15 minutos e a reação foi agitada durante 15 minutos adicionais. A solução foi lavada com água (300 ml) e salmoura (300 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada em vácuo para dar o produto desejado (16 g, 100%). LCMS calculada para C₆H₁₃N₆O₄S (M + H)⁺: m/z = 265,1 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,16 (s, 1H), 9,07 (m, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,37 (s, 2H), 3,36 (m, 2H), 3,15 (m, 2H), 2,87 (s, 3H).

Passo D: *N'*-hidroxi-4 - ({2 - [(metilsulfonil) amino] etil} amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



4-Amino- *N'*-hidroxi- *N* - {2 - [(metilsulfonil) amino] etil}-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (0,47 g, 1,8 mmol) foi agitada em 1,2-etanodiol (38 mL). Foi adicionado hidróxido de potássio (600 g, 11 mmol) numa porção. A reação foi aquecida a 130°C durante 4 horas e deixada a arrefecer até à temperatura ambiente. Uma solução de 1N de HCl (60 mL) foi adicionado e o produto foi extraído com acetato de etilo (4 x 40 mL). As fases orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio e concentradas em vácuo para dar o produto desejado (0,45 g, 96%). LCMS calculado para C₆H₁₂N₆O₄S (M + H)⁺: m/z = 265,1. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,49 (s, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,20 (m, 3H), 3,36 (m, 2H), 3,15 (m, 2H), 2,87 (s, 3H).

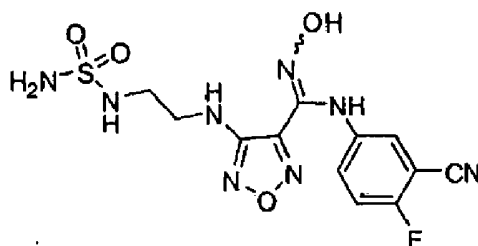
Passo E: *N* - (4-Fluoro-3-metilfenil) - *N'*-hidroxi-4 - ({2 - [(metilsulfonil) amino] etil} amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

N'-Hidroxi-4 - ({2 - [(metilsulfonil) amino] etil} amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida (35 mg, 0,13 mmol) foi agitada em 1,4-dioxano (2 mL) e foi adicionado uma solução de 6 N de cloreto de hidrogénio (4 mL). A solução foi arrefecida a 0°C e uma solução de nitrito de sódio (11 mg, 0,16 mmol) em água (3 mL) foi adicionado lentamente. A mistura foi agitada durante 1 hora a 0°C e evaporou-se. 1,4-dioxano seco (2 mL) foi adicionado e a mistura foi evaporada duas vezes mais. Uma solução de 4-fluoro-3-

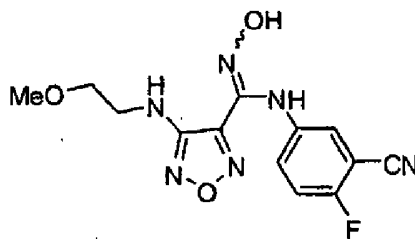
metilanilina [Aldrich, produto # 559415] (25 mg, 0,20 mmol) em etanol (2 mL) foi adicionado e a mistura foi agitada durante 1 hora. A purificação através de LCMS preparativa (pH 2) deu o composto desejado (17 mg, 27%). LCMS calculada para $C_{13}H_{18}FN_6O_4S$ $(M + H)^+$: $m/z = 373,1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,25 (s, 1H), 8,61 (s, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,91 (m, 1H), 6,72 (m, 1H), 6,58 (m, 1H), 6,24 (s, 1H), 3,32 (m, 2H), 3,11 (m, 2H), 2,89 (s, 3H), 2,05 (s, 3H).

Exemplo 18

4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-(3-ciano-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

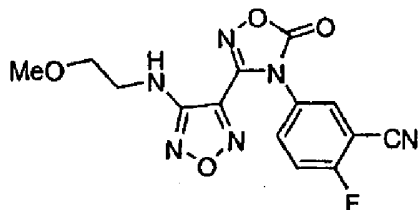


Passo A: N-(3-ciano-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



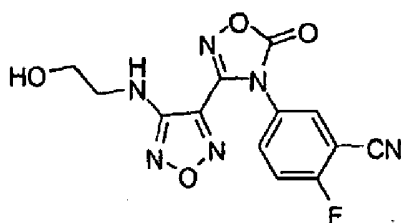
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 13, Passo A**, utilizando cloreto de N-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo [feito de acordo com o Exemplo 1, Passos A a E] e 5-amino-2-fluorobenzonitrilo [Aldrich, produto # 639877], como os materiais de partida em 100% de rendimento. LCMS para $C_{13}H_{14}FN_6O_3$ $(M + H)^+$: $m/z = 321,0$.

Passo B: 2-Fluoro-5-[3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-5-oxo-1,2,4-oxadiazole-4(5B)-il]benzonitrilo



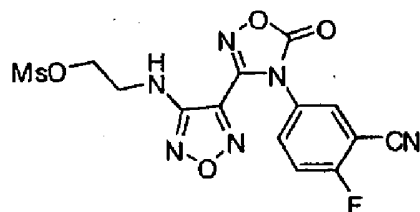
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 13, Passo B**, usando *N*-(3-ciano-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida como material de partida em 91% de rendimento. LCMS para $C_{14}H_{12}FN_6O_4$ ($M + H$)⁺: m/z = 347,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,25 (dd, J = 5,7, 2,6 Hz, 1 H), 8,06 (m, 1 H), 7,77 (t, J = 9,2 Hz, 1 H), 6,41 (t, J = 5,7 Hz, 1 H), 3,48 (m, 2 H), 3,40 (q, J = 5,4 Hz, 2 H), 3,25 (s, 3 H).

Passo C: 2-Fluoro-5-[3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-5-oxo-1,2,4-oxadiazole-4(5H)-il]benzonitrilo



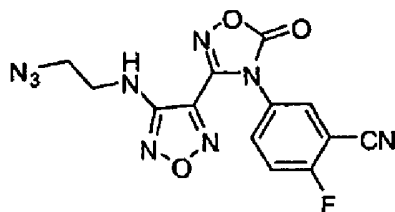
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 13, Passo C**, usando 2-fluoro-5-[3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-5-oxo-1,2,4-oxadiazole-4(5H)-il]benzonitrilo como o material de partida com um rendimento quantitativo. LCMS para $C_{13}H_{10}FN_6O_4$ ($M + H$)⁺: m/z = 333,0.

Passo D: metanossulfonato de 2-({4-[4-(3-Ciano-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil



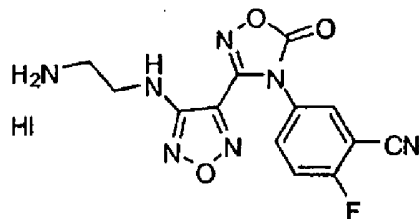
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 13, Passo D**, utilizando 2-fluoro-5-[3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-5-oxo-1,2,4-oxadiazole-4(5H)-il]benzonitrilo como material de partida em 88% de rendimento. LCMS para $C_{14}H_{12}FN_6O_6S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 411,0$.

Passo E: 5-[3-{4-[(2-Azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-5-oxo-1,2,4-oxadiazole-4(5H)-il]-2-fluorobenzonitrilo



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 13, Passo E**, usando metanossulfonato de 2-({4-[4-(3-ciano-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil como o material de partida em 95% de rendimento.

Passo F: iodato de 5-[3-{4-[(2-Aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-5-oxo-1,2,4-oxadiazole-4(5H)-il]-2-fluorobenzonitrilo



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 13, Passo F**, usando 5-[3-{4-[(2-azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-5-oxo-1,2,4-oxadiazole-4(5H)-il]-2-fluorobenzonitrilo como material de partida em 57% de rendimento. LCMS para $C_{13}H_{11}FN_7O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 332,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,29 (dd, $J = 5,8, 2,7$ Hz, 1H), 8,09 (m, 1 H), 7,83 (s largo, 3 H), 7,79 (t, $J = 9,0$ Hz, 1 H), 6,77 (t, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 3,50 (q, $J = 6,4$ Hz, 2 H), 3,04 (m, 2 H).

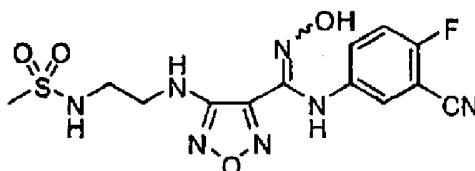
Passo G: 4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-(3-ciano-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

Num frasco de micro-ondas, iodidrato de 5-[3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-5-oxo-1,2,4-oxadiazole-4(5H)-il]-2-fluorobenzonitrilo (20,0 mg, 0,044 mmol) e sulfamida (25 mg, 0,26 mmol) foram suspensos em piridina (0,5 mL). A reação foi aquecida a 120°C durante 10 minutos num reator de micro-ondas. O solvente foi removido e o resíduo dissolvido em metanol (0,17 mL). Uma solução de 2,0 N de NaOH em água (0,22 mL, 0,44 mmol) foi adicionada numa porção. A reação foi agitada à temperatura ambiente durante a noite. Após neutralização com ácido acético (50 mL), o produto foi purificado usando LCMS preparativa para dar origem ao composto do título (4,9 mg, 29%). LCMS para

$C_{12}H_{14}FN_8O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 385,0$. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 11,65 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,34 (t, $J = 9,1$ Hz, 1H), 7,22 (dd, $J = 5,4, 2,8$ Hz, 1H), 7,13 (m, 1H), 6,70 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 6,59 (s, 2H), 6,20 (t, $J = 6,1$ Hz, 1H), 3,34 (m, 2H), 3,09 (m, 2H).

Exemplo 19

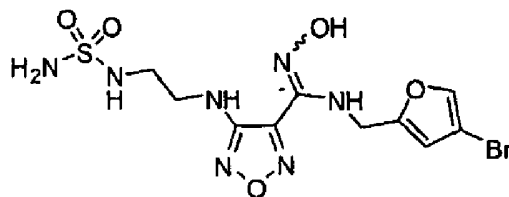
***N* - (3-Ciano-4-fluorofenil)- *N'*-hidroxi-4-({2- [(metilsulfonil) amino]etil} amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida**



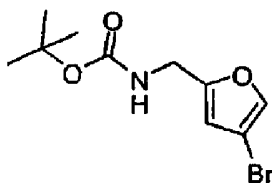
O composto do título foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 17, Passo E**, usando *N*-hidroxi-4 - ({2- [(metilsulfonil) amino] etil} amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida e 3-ciano- 4 -fluoroaniline [Aldrich, produto # 639877], como os materiais de partida. LCMS para $C_{13}H_{14}FN_7NaO_4S$ ($M + Na$)⁺: $m/z = 406,0$. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 11,65 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,35 (m, 1H), 7,18 (m, 3H), 6,56 (m, 1H), 6,23 (m, 1H), 6,24 (s, 2H), 3,32 (m, 2H), 3,14 (m, 2H) , 2,89 (s, 3H).

Exemplo 20

4-({2-[(Aminosulfonil) amino]etil} amino)- *N* -[(4-bromo-2-furil)metil]- *N'*-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



Passo A: carbamato de terc-butil [(4-bromo-2-furil) metil]

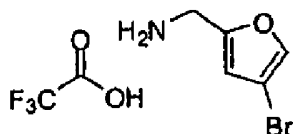


4-Bromo-2-furaldeído [Aldrich, produto # 666599] (10,0 g, 57,1 mmol) foi dissolvido em etanol (50 mL) e água (50 mL). Cloridrato de *N*-Hydroxiamina (7,15 g, 103 mmol) e acetato de sódio (8,44 g, 103 mmol) foram adicionados sequencialmente e a mistura de reação foi levada a refluxo a 100°C durante 1 hora. A solução foi parcialmente concentrada e o precipitado foi recolhido e lavado com água fria (2 x 10 mL). O filtrado foi extraído com acetato de etilo (3 x 25 mL) e as camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura (50 mL). Após secagem sobre sulfato de sódio, a solução foi concentrada em vácuo. O resíduo foi combinado com o precipitado e dissolveu-se em ácido acético (70 mL). Após a colocação num banho de gelo, foi adicionado zinco (14,7 g, 225 mmol) em porções ao longo de 25 minutos. A reação foi aquecida até à temperatura ambiente ao longo de 1,5 horas e foi filtrada através de Celite. O solvente foi removido em vácuo.

O resíduo foi agitado em tetra-hidrofurano (72 mL). Uma solução de 2,0 N de NaOH em água (179 mL, 358 mmol) foi adicionada gota a gota ao longo de 45 minutos. Após 5 minutos, di- *terc*- butildicarbonato (16,9 g, 77,4 mmol) foi adicionado gota a gota. A reação foi agitada durante 2 horas e o tetra-hidrofurano foi removido sob vácuo. O acetato de etilo (100 mL) foi adicionado e a suspensão foi filtrada. A camada orgânica foi recolhida e o produto foi extraído com acetato de etilo (2 x 50 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura (100 mL) e

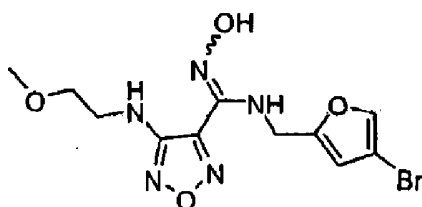
água (100 mL), secas sobre sulfato de sódio e concentradas em vácuo para dar o produto desejado (15,3 g, 79%). LCMS, calculado para $C_{10}H_{14}BrNNaO_3$ ($M + Na$)⁺: $m/z = 298,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,79 (s, 1 H), 7,37 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 6,33 (s, 1 H), 4,06 (d, $J = 6,1$ Hz, 2 H), 1,36 (s, 9 H).

Passo B: trifluoroacetato de 1-(4-Bromo-2-furil) metanamina



Sob uma atmosfera de azoto, uma solução de carbamato de terc -butil-[(4-bromo-2-furil) metil] (15,3 g, 55,4 mmol) em diclorometano (86 mL) a 0°C foi tratada com ácido trifluoroacético (43 mL) ao longo de 15 minutos. A mistura de reação foi aquecida até à temperatura ambiente ao longo de 30 minutos. O solvente foi removido em vácuo e trituroou-se com tolueno (3 x 50 mL). O produto foi liofilizado durante 18 horas para dar o produto desejado como um sólido castanho (13,0 g, 81%). LCMS calculado para C_5H_4BrO ($M = NH_2$)⁺: $m/z = 158,9$, 160,9. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,34 (s largo, 3 H), 8,01 (s, 1 H), 6,70 (s, 1 H), 4,08 (s, 1 H).

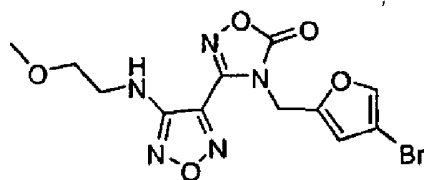
Passo C: N -[(4-Bromo-2-furil)metil]- N'-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



Cloreto de N -Hidroxi-4-(2-metoxietilamino)-1,2,5-oxadiazole-3-carbimidoil [preparado de acordo com o

procedimento do **Exemplo 1, Passos A a E]** (4,5 g, 20,3 mmol) foi agitada em etanol (20 mL) à temperatura ambiente. Para isso, uma solução de trifluoroacetato de 1-(4-bromo-2-furil) metanamina (6,5 g, 22,4 mmol) em etanol (24 mL) foi adicionado e a mistura foi agitada durante 15 minutos. Adicionou-se trietilamina (6,3 mL, 44,8 mmol) gota a gota ao longo de 10 minutos e a reação foi agitada durante 15 minutos adicionais. O solvente foi removido sob vácuo e após adição de água (50 mL), o produto foi extraído com acetato de etilo (3 x 50 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura (50 mL), secas sobre sulfato de sódio e concentradas para dar o produto desejado (7,5 g, 100%). LCMS calculado para $C_{11}H_{15}BrN_5O_4$ $(M + H)^+$: $m/z = 359,9, 361,9$.

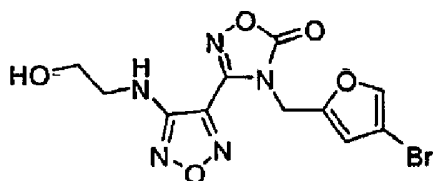
Passo D: 4-[(4-Bromo-2-furil)metil]-3-{4-[(2-metoxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



N -[(4-Bromo-2-furil) metil]- *N'*-hidroxi-4-[(2-metoxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida (7,3 g, 20,4 mmol) e 1,1'-carbonildiimidazole (5,0 g, 30,5 mmol) foram dissolvidos em acetato de etilo (72 mL). A mistura de reação foi aquecida a 65°C durante 15 minutos. Acetato de etilo (70 mL) foi adicionado e a reação em bruto foi lavada com 0,1 N de cloreto de hidrogénio em água (2 x 70 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada em vácuo. A purificação por cromatografia flash em gel de sílica com um eluente de acetato de etilo em hexano deu o produto desejado (4,1 g, 90%). LCMS calculado para $C_{12}H_{13}BrN_5O_5$ $(M + H)^+$: $m/z = 386,0, 388,0$. 1H NMR (400

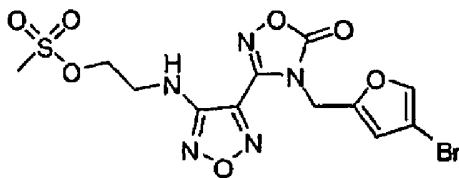
MHz, CD₃OD): δ 7,88 (s, 1 H), 6,67 (s, 1 H), 6,39 (t, J = 5,7 Hz, 1 H), 5,07 (s, 2 H), 3,50 (m, 2 H), 3,41 (q, J = 5,7 Hz, 2 H), 3,25 (s, 3 H).

Passo E: 4-[(4-Bromo-2-furil)metil]-3-{4-[(2-hidroxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



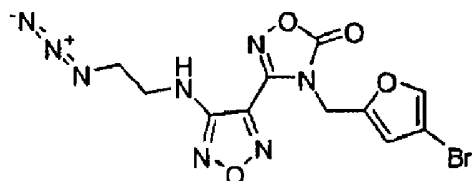
Num balão de fundo redondo sob atmosfera de azoto, 4 - [(4-bromo-2-furil)metil] -3 {4 - [(2-metoxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5 (4H)-ona (8,2 g, 21 mmol) foi agitada em diclorometano (68 mL). A temperatura foi levada até -78°C e uma solução de 1,0 M de tribrometo de boro em diclorometano (43 mL, 43 mmol) foi adicionado gota a gota ao longo de 45 minutos. A reação foi agitada a -78°C durante 45 minutos e continuou a agitar a 0°C durante 30 minutos adicionais. Enquanto permaneceu a 0°C, uma solução saturada de bicarbonato de sódio em água (120 ml) foi adicionado gota a gota ao longo de 25 minutos. Após aquecimento até à temperatura ambiente, a camada orgânica foi recolhida e a camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 50 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura (100 mL), secas sobre sulfato de sódio e concentradas em vácuo para dar o produto desejado (7,7 g, 97%), juntamente com uma pequena quantidade de 3-{4-[(2-bromoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[(4-bromo-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona. LCMS calculado para C₁₁H₁₁BrN₅O₅ (M + H)⁺: m/z = 371,7, 374,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,89 (s, 1 H), 6,68 (s, 1 H), 6,31 (t, J = 5,8 Hz, 1 H), 5,08 (s, 2 H), 4,85 (s largo, 1H), 3,56 (m, 2 H), 3,30 (q, J = 5,6 Hz, 2 H).

Passo F: metanossulfonato de 2-[(4-{4-[(4-Bromo-2-furil)metil]-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il}-1,2,5-oxadiazole-3-il)amino]etil



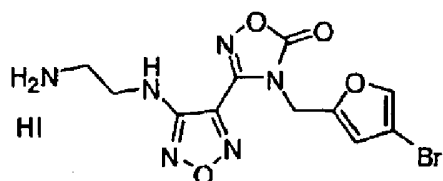
A uma solução de 4-[(4-bromo-2-furil)metil]-3-{4-[(2-hidroxi)etil]amino}-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (7,7 g, 21 mmol, contendo também alguns dos composto de bromo correspondentes) em acetato de etilo (100 mL) foi adicionado cloreto de metanossulfonilo (0,96 mL, 12 mmol) numa porção. A reação foi agitada durante 5 minutos e trietilamina (1,6 mL, 11 mmol) foi adicionado, também numa só porção. Depois de se agitar durante 30 minutos, cloreto de metanossulfonilo adicional (0,4 mL, 5 mmol) foi adicionado, seguido 5 minutos mais tarde por trietilamina (0,58 mL, 4,2 mmol). Após 15 minutos, a reação foi extinta com a adição de água (100 ml). O produto foi extraído com acetato de etilo (3 x 50 mL) e as camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura (100 mL). Após secagem sobre sulfato de sódio, o solvente foi removido sob vácuo para dar o produto desejado (9,3 g, 100%). LCMS calculada para $C_{12}H_{13}BrN_5O_7S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 449,8, 451,8$. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 7,88 (s, 1 H), 6,73 (t, $J = 6,2$ Hz, 1 H), 6,68 (s, 1 H), 5,08 (s, 2 H), 4,37 (m, 2 H), 3,59 (q, $J = 5,8$ Hz, 2 H), 3,16 (s, 3 H).

Passo G: 3-{4-[(2-Azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[(4-bromo-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



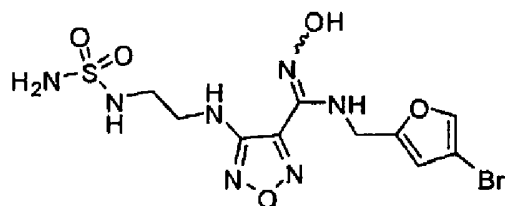
Metanossulfonato de 2-[(4-{4-[(4-Bromo-2-furil)metil]-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il}-1,2,5-oxadiazole-3-il)amino]etil (9,1 g, 20 mmol, contendo também alguns dos composto de bromo correspondentes) foi dissolvido em dimetilformamida (90 mL). A azida de sódio (1,97 g, 30,3 mmol) foi adicionada numa porção e, depois de 5 minutos, a temperatura foi levada a 65°C. A reação foi agitada durante 2 horas e foi deixada arrefecer até à temperatura ambiente. Água (200 mL) foi adicionada para extinguir a reação. O produto foi extraído com acetato de etilo (3 x 100 mL) e as camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura (2 x 150 ml) e água (150 ml). Após secagem sobre sulfato de sódio, o solvente foi removido sob vácuo para dar o produto desejado (7,7 g, 96%). LCMS calculado para $C_{11}H_9BrN_8NaO_4$ ($M + Na$)⁺: $m/z = 418,7, 421,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,88 (s, 1 H), 6,71 (t, $J = 5,7$ Hz, 1 H), 6,68 (s, 1 H), 5,08 (s, 2 H), 3,54 (t, $J = 5,7$ Hz, 2 H), 3,47 (q, $J = 5,7$ Hz, 2 H).

Passo H: iodato de 3-{4-[(2-Aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[(4-bromo-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



A uma solução de 3-{4-[(2-azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[(4-bromo-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (7,7 g, 19 mmol) em metanol (80 mL) foi adicionado iodeto de sódio (17,4 g, 116 mmol). Depois de se agitar durante 10 minutos, uma solução de clorotrimetilsilano (14,8 mL, 116 mmol) foi adicionado gota a gota ao longo de 5 minutos. A reação continuou a agitar durante 1 hora, altura em que foi adicionado lentamente a uma solução de tiossulfato de sódio (23,0 g, 145 mmol) em água (800 mL) a 0°C, resultando num precipitado. O balão foi enxaguado com metanol (10 mL) e o precipitado foi recolhido por meio de filtração a vácuo. O sólido foi lavado com água fria (2 x 25 mL) e foi seco sob vácuo para dar o produto desejado (5,8 g, 60%) como o sal de iodidrato. LCMS calculada para $C_{11}H_{12}BrN_6O_4$ $(M + H)^+$; $m/z = 370,9, 372,8$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,86 (s, 1 H), 7,36 (s largo, 3 H), 6,68 (t, $J = 5,8$ Hz, 1 H), 6,65 (s, 1 H), 5,07 (s, 2 H), 3,45 (q, $J = 5,8$ Hz, 2 H), 2,98 (t, $J = 5,8$ Hz, 2 H).

Passo I: 4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-[(4-bromo-2-furil)metil]-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

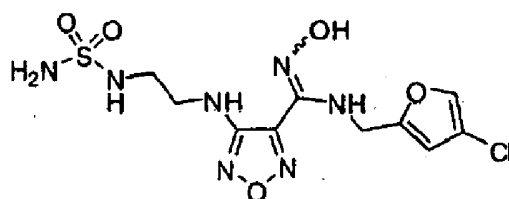


Num frasco de micro-ondas, iodidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[(4-bromo-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (30 mg, 0,060 mmol) e sulfamida (29 mg, 0,30 mmol) foram suspensos em piridina (1 mL). A mistura de reação foi purgada com azoto e aquecida a 130°C durante 3 minutos num reator de micro-

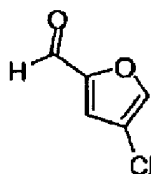
ondas. O solvente foi removido e o intermediário em bruto foi suspenso em metanol (1 mL). Uma solução de 2,0 N de NaOH em água (0,30 mL, 0,60 mmol) foi adicionado numa porção e a reação foi aquecida a 45°C durante 30 minutos. Após neutralização com ácido acético (68 µl, 1,2 mmol), o produto foi purificado por LCMS preparativa para dar o produto desejado (10,4 mg, 41%). LCMS calculada para $C_{10}H_{15}BrN_7O_5S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 423,9, 426,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,87 (s, 1 H), 7,75 (s, 1 H), 6,83 (t, $J = 7,3$ Hz, 1 H), 6,68 (t, $J = 6,0$ Hz, 1 H), 6,56 (s, 2 H), 6,30 (t, $J = 6,0$ Hz, 1 H), 6,23 (s, 1 H), 4,56 (d, $J = 7,0$ Hz, 2 H), 3,32 (q, $J = 6,3$ Hz, 2 H), 3,07 (q, $J = 6,3$ Hz, 2H).

Exemplo 21

4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)- N -[(4-cloro-2-furil)metil]- N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



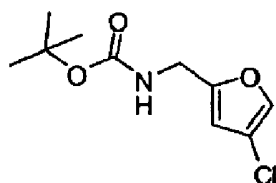
Passo A: 4-Cloro-2-furaldeído



A uma suspensão agitada de tricloreto de alumínio (29,8 g, 0,223 mol) em diclorometano (200 mL) sob atmosfera de azoto, foi adicionado 2-furancarboxaldeído (8,44 mL, 0,102 mol) ao longo de 15 minutos. Depois de se agitar durante 30 minutos, fez-se borbulhar cloro através da suspensão usando uma pipeta ao longo de um período de tempo de 50 minutos. O frasco foi selado e deixado a agitar à temperatura ambiente

durante 90 horas. A mistura de reação foi lentamente adicionada a uma mistura de gelo (500 ml) numa solução de 1,0 N de cloreto de hidrogénio em água (300 ml). A mistura foi deixada a aquecer até à temperatura ambiente durante a hora seguinte. As camadas foram separadas e a camada orgânica recolhida. Adicional do produto foi extraída com diclorometano (2 x 200 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água (250 mL) e secas sobre sulfato de sódio. O solvente foi removido em vácuo para dar uma mistura em bruto contendo o produto desejado (14,0 g, 100%, 60% de pureza). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 9,56 (s, 1 H), 8,36 (s, 1 H), 7,71 (s, 1 H).

Passo B: carbamato de terc-butil [(4-cloro-2-furil) metil]

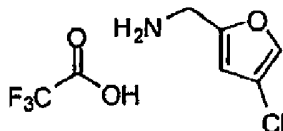


4-Cloro-2-furaldeído (14,0 g, 60% de pureza, 64 mmol) foi dissolvido em etanol (50 mL) e água (50 ml). Cloridrato de *N*-Hidroxiamina (12,6 g, 182 mmol) e acetato de sódio (14,9 g, 182 mmol) foram adicionados sequencialmente e a mistura de reação foi levada a refluxo a 100°C durante 1 hora. A solução foi parcialmente concentrada, em seguida, água (25 mL) e acetato de etilo (50 mL) foram adicionados. A camada orgânica foi recolhida e a fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 25 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura (50 mL) e água (50 ml). Após secagem sobre sulfato de sódio, a solução foi concentrada em vácuo. O intermediário foi suspenso em ácido acético (115 mL). A solução foi arrefecida num banho de gelo e zinco (33,1 g, 506 mmol) foi adicionado em porções ao longo de 20 minutos. A reação foi aquecida até à

temperatura ambiente ao longo de 2 horas e foi filtrada através de Celite. O solvente foi removido in vácuo.

O resíduo foi agitado em tetra-hidrofurano (100 mL). Uma solução de 2,0 M de NaOH em água (152 ml, 304 mmol) foi adicionada gota a gota ao longo de 30 minutos. A mistura de reação foi colocada num banho de gelo e após 5 minutos, di-*terc*-butildicarbonato (24,3 g, 111 mmol) foi adicionado gota a gota ao longo de 15 minutos. A reação foi deixada aquecer até à temperatura ambiente durante as 2 horas seguintes e o tetra-hidrofurano foi, em seguida, removido em vácuo. O acetato de etilo (100 mL) foi adicionado e a suspensão foi filtrada. A camada orgânica foi recolhida e a camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 100 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com uma mistura 1:1 de água/salmoura (100 mL), secas sobre sulfato de sódio e concentradas em vácuo. A purificação por cromatografia flash em gel de sílica com um eluente de acetato de etilo em hexano deu o produto desejado (3,05 g, 22%). LCMS calculado para $C_{10}H_{14}ClNNaO_3$ ($M + Na$)⁺: m/z = 253,9. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,81 (s, 1 H), 7,37 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 6,32 (s, 1 H), 4,05 (d, J = 6,0 Hz, 2 H), 1,36 (s, 9 H).

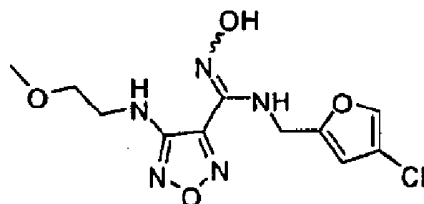
Passo C: Trifluoroacetato de 1-(4-Cloro-2-furil) metanamina



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento **do Exemplo 20, Passo B**, utilizando carbamato de *terc*-butil-[(4-cloro-2-furil) metil] como o material de partida com um rendimento quantitativo. LCMS calculado para C_5H_4ClO ($M-NH_2$)⁺: m/z = 115,0. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 8

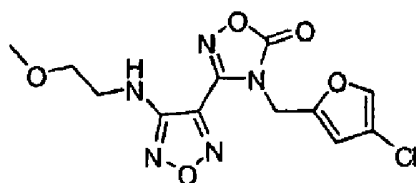
8,29 (s largo, 3 H), 8,04 (s, 1H), 6,69 (s, 1 H), 4,07 (s, 2 H).

Passo D: N - [(4-Cloro-2-furil) metil]-N'-hidroxi-4 - [(2-metoxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



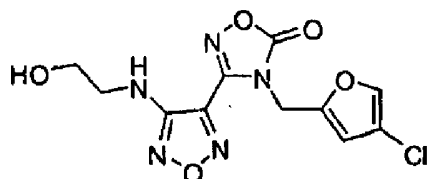
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 20, Passo C**, usando cloreto de N - hidroxi-4-(2-metoxietilamino)-1,2,5-oxadiazole-3-carbimidoil e trifluoroacetato de 1-(4-cloro-2 furil) metanamina como o material de partida com um rendimento quantitativo. LCMS calculado para $C_{11}H_{15}ClN_5O_4$ ($M + H$)⁺: m/z = 316,0.

Passo E: 4-[(4-Cloro-2-furil)metil]-3-{4-[(2-metoxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



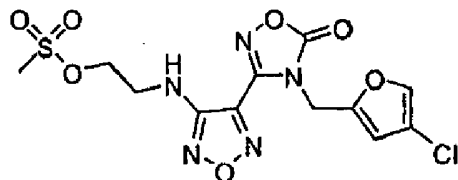
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 20, Passo D**, usando N-[(4-cloro-2-furil)metil]-N'-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida como material de partida em 51% de rendimento. LCMS calculado para $C_{12}H_{13}ClN_5O_5$ ($M + H$)⁺: m/z = 342,0.

Passo F: 4-[(4-Cloro-2-furil)metil]-3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



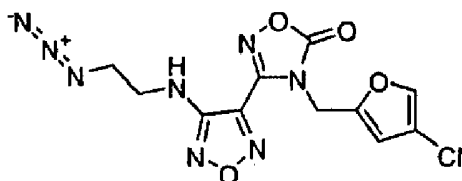
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 20, Passo E**, usando 4-[(4-cloro-2-furil)metil]-3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona como o material de partida com um rendimento quantitativo. LCMS calculado para $C_{11}H_{10}ClN_5NaO_5$ ($M + Na$)⁺: $m/z = 349,9$.

Passo G: metanossulfonato de 2-[(4-{4-[(4-Cloro-2-furil)metil]-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il}-1,2,5-oxadiazole-3-il)amino]etil



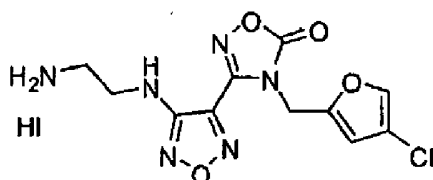
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 20, Passo F**, usando 4-[(4-cloro-2-furil)metil]-3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona como material de partida em 69% de rendimento. LCMS calculado para $C_{12}H_{13}ClN_5O_7S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 405,8$.

Passo H: 3-{4-[(2-Azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[(4-cloro-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



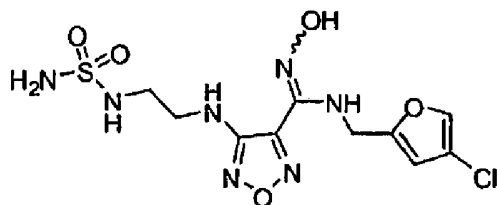
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 20, Passo G**, usando metanossulfonato de 2-[(4-{4-[(4-cloro-2-furil)metil]-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il}-1,2,5-oxadiazole-3-il)amino]etil como o material de partida com um rendimento quantitativo. LCMS calculado para $C_{11}H_9ClN_8NaO_4$ ($M + Na$)⁺: $m/z = 374,9$.

Etapa I: iodato de 3-{4-[(2-Aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[(4-cloro-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 20, Passo H**, usando 3-{4-[(2-azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[(4-cloro-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona como material de partida em 57% de rendimento. LCMS calculado para $C_{11}H_{12}ClN_6O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 326,9$.

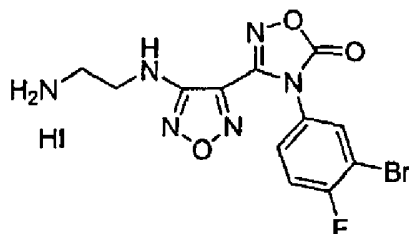
Passo J: 4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-[(4-cloro-2-furil)metil]-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



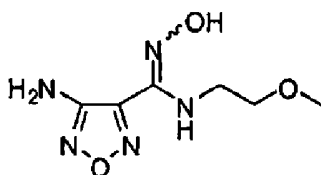
O composto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do **Exemplo 20, passo I**, usando iodidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-[(4-cloro-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona como o material de partida em 53% de rendimento. LCMS calculada para $C_{10}H_{15}ClN_7O_5S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 379,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,88 (s, 1 H), 7,77 (s, 1 H), 6,83 (t, $J = 6,8$ Hz, 1 H), 6,68 (t, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 6,56 (s, 2 H), 6,30 (t, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 6,22 (s, 1 H), 4,55 (d, 2 H), 3,32 (q, $J = 6,3$ Hz, 2 H), 3,06 (q, $J = 6,3$ Hz, 2 H).

Exemplo 22

Preparação Alternativa do Intermediário iodidrato de 3-(4-(2-aminoetilamino)-1,2,5-oxadiazole-3-il)-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5 (4H) ona

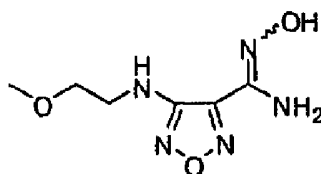


Passo A: 4-Amino- *N'*-hidroxi-*N*-(2-metoxietil)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



Cloreto de 4-Amino- *N*-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo (pode ser preparado de acordo com o **Exemplo 1, Passos A-B**, 200,0 g, 1,23 mol) foi misturado com acetato de etilo (1,2 L). A 0-5°C foi adicionada 2-metoxietilamina [Aldrich, produto # 143693] (119,0 mL, 1,35 mol) numa porção enquanto se agitava. A temperatura da reação subiu para 41°C. A reação foi arrefecida até 0-5°C. Adicionou-se trietilamina (258 mL, 1,84 mol). Após agitação durante 5 minutos, LCMS indicou a conclusão da reação. A solução de reação foi lavada com água (500 ml) e salmoura (500 mL), seca sobre sulfato de sódio, e concentrada para dar o produto desejado (294 g, 119%) como um óleo escuro em bruto. LCMS para C₆H₁₂N₅O₃ (M + H)⁺: m/z = 202,3. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,65 (s, 1 H), 6,27 (s, 2 H), 6,10 (t, *J* = 6,5 Hz, 1 H), 3,50 (m, 2 H), 3,35 (d, *J* = 5,8 Hz, 2 H), 3,08 (s, 3 H).

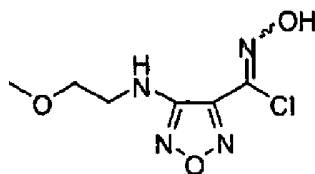
Passo B: *N'*-Hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



4-Amino- *N'*-hidroxi-*N*-(2-metoxietil)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida (248,0 g, 1,23 mol) foi misturada com água (1 L). O hidróxido de potássio (210 g, 3,7 mol) foi adicionado. A reação foi submetida a refluxo a 100°C

durante a noite (15 horas). TLC com 50% de acetato de etilo (contendo hidróxido de amônio a 1%) em hexano indicou reação completa (o produto, $R_f = 0,6$, material de partida $R_f = 0,5$). LCMS também indicou a conclusão da reação. A reação foi arrefecida até à temperatura ambiente e extraiu-se com acetato de etilo (3 x 1 L). A solução de acetato de etilo combinada foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada para dar o produto desejado (201 g, 81%) como um produto bruto sólido esbranquiçado. LCMS para $C_6H_{12}N_5O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 202,3$ 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,54 (s, 1 H), 6,22 (s, 2 H), 6,15 (t, $J = 5,8$ Hz, 1 H), 3,45 (t, $J = 5,3$ Hz, 2 H), 3,35 (m, 2 H), 3,22 (s, 3 H).

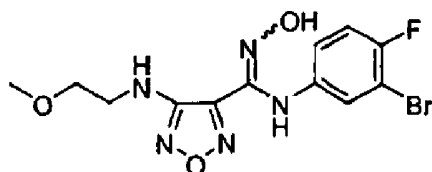
Passo C: Cloreto de N-Hidroxi-4 - [(2-metoxietil) amino] - 1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo



À temperatura ambiente *N'*-hidroxi-4-[(2-metoxietil) amino] -1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida (50,0 g, 0,226 mol) foi dissolvido em solução aquosa de 6,0 M de ácido clorídrico (250 mL, 1,5 mol). Cloreto de sódio (39,5 g, 0,676 mol) foi adicionado seguido de água (250 ml) e acetato de etilo (250 mL). A 3-5°C, uma solução aquosa previamente preparada (100 mL) de nitrito de sódio (15,0 g, 0,217 mol) foi adicionada lentamente ao longo de 1 hora. A reação foi agitada a 3-8°C durante 2 horas e depois à temperatura ambiente durante o fim de semana. LCMS indicou que a reação se completou. A solução de reação foi extraída com acetato de etilo (2 x 200 mL). A solução de acetato de etilo combinada foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada para dar o produto desejado (49,9 g, 126%) como um sólido branco em bruto. LCMS para $C_6H_{10}ClN_4O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 221,0$. 1H NMR

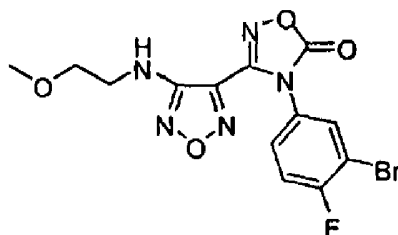
(400 MHz, DMSO- d_6): δ 13,43 (s, 1 H), 5,85 (t, J = 5,6 Hz, 1 H), 3,50 (t, J = 5,6 Hz, 2 H), 3,37 (dd, J = 10,8, 5,6 Hz, 2 H), 3,25 (s, 3 H).

Passo D: *N* - (3-Bromo-4-fluorofenil) - *N'* -hidroxi-4 - [(2-metoxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



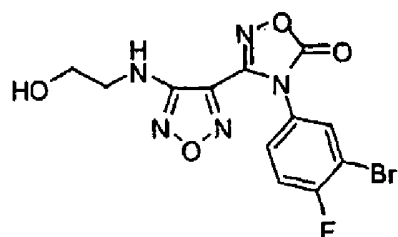
Cloreto de *N* -hidroxi-4 - [(2-metoxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidoilo (46,0 g, 0,208 mol) foi misturado com água (300 ml). A mistura foi aquecida a 60°C. 3-bromo-4-fluoroanilina [Oakwood Products, produto # 013091] (43,6 g, 0,229 mol) foi adicionada e agitada durante 10 min. Uma solução de bicarbonato de sódio morna (26,3 g, 0,313 mol) (300 ml de água) foi adicionada ao longo de 15 min. A reação foi agitada a 60°C durante 20 min. LCMS indicou a conclusão da reação. A solução de reação foi arrefecida até à temperatura ambiente e extraiu-se com acetato de etilo (2 x 300 mL). A solução de acetato de etilo combinada foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada para dar o produto desejado (76,7 g, 98%) como um sólido castanho em bruto. LCMS para $C_{12}H_{14}BrFN_5O_3$ ($M + H$)⁺: m/z = 374,0, 376,0. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,55 (s, 1 H), 8,85 (s, 1 H), 7,16 (t, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,08 (dd, J = 6,1, 2,7 Hz, 1 H), 6,75 (m, 1 H), 6,14 (t, J = 5,8 Hz, 1 H), 3,48 (t, J = 5,2 Hz, 2 H), 3,35 (dd, J = 10,8, 5,6 Hz, 2 H), 3,22 (s, 3 H).

Passo E: 4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(2-metoxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4 H)-ona



Uma mistura de *N* - (3-bromo-4-fluorofenil) - *N'*-hidroxi-4 - [(2-metoxietil) amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (76,5 g, 0,204 mol), 1,1'-carbonildiimidazole (49,7 g, 0,307 mol), e acetato de etilo (720 mL) foi aquecida a 60°C e agitada durante 20 min. LCMS indicou que a reação se completou. A reação foi arrefecida até à temperatura ambiente, lavada com 1 N de HCl (2 x 750 mL), seca sobre sulfato de sódio, e concentrada para dar o produto desejado (80,4 g, 98%) como um sólido castanho em bruto. LCMS para $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$ ($M + H$)⁺: m/z = 400,0, 402,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,94 (t, J = 8,2 Hz, 1 H), 7,72 (dd, J = 9,1, 2,3 Hz, 1 H), 7,42 (m, 1 H), 6,42 (t, J = 5,7 Hz, 1 H), 3,46 (t, J = 5,4 Hz, 2 H), 3,36 (t, J = 5,8 Hz, 2 H), 3,26 (s, 3 H).

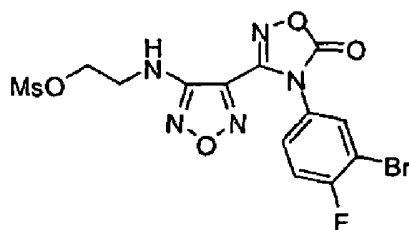
Passo F: 4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(2-hidroxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4 H)-ona



4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(2-metoxietil) amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (78,4 g, 0,196 mol) foi dissolvido em diclorometano (600 mL). A -67°C, foi

adicionado tribrometo de boro (37 mL, 0,392 mol) ao longo de 15 min. A reação foi aquecida até -10°C em 30 min. LCMS indicou que a reação se completou. A reação foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora. A 0-5°C, a reação foi temperada lentamente com uma solução de bicarbonato de sódio saturado (1,5 L) ao longo de 30 min. A temperatura da reação subiu para 25°C. A reação foi extraída com acetato de etilo (2 x 500 mL, a primeira extração da camada orgânica é na parte inferior e a segunda extração da camada orgânica é na parte superior). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio e concentradas para dar o produto desejado (75 g, 99%) como um sólido castanho em bruto. LCMS para C₁₂H₁₀BrFN₅O₄ (M + H)⁺: m/z = 386,0, 388,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8,08 (dd, J = 6,2, 2,5 Hz, 1 H), 7,70 (m, 1 H), 7,68 (t, J = 8,7 Hz, 1 H), 6,33 (t, J = 5,6 Hz, 1 H), 4,85 (t, J = 5,0 Hz, 1 H), 3,56 (dd, J = 10,6, 5,6 Hz, 2 H), 3,29 (dd, J = 11,5, 5,9 Hz, 2 H).

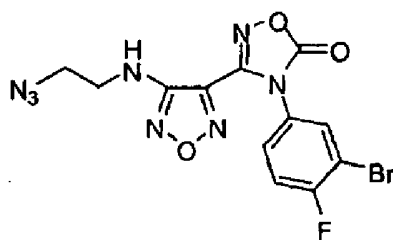
Passo G: metanossulfonato de 2-({4-[4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil



4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-(4-(2-hidroxietilamino)-1,2,5-oxadiazole-3-il)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (72,2 g, 0,188 mol) foi misturado com acetato de etilo (600 mL). Cloreto de metanossulfonilo (19,2 mL, 0,248 mol) foi adicionado seguido por trietilamina (34,9 mL, 0,250 mol). A reação foi agitada à temperatura ambiente durante 5 min. Quando LCMS indicou a conclusão da reação (M + H = 442), foi adicionado

500 mL de água à reação. A reação foi extraída com acetato de etilo (2 x 500 mL). A solução de acetato de etilo combinada foi lavada com salmoura (500 mL), seca sobre sulfato de sódio e concentrada para dar 85,1 g de um sólido castanho em bruto. $^1\text{H-NMR}$ verificou-se a estrutura. O rendimento bruto foi de 97%. LCMS para $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{BrFN}_5\text{O}_6\text{SNa}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$: $m/z = 485,9, 487,9$. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,08 (dd, $J = 6,2, 2, 5$ Hz, 1H), 7,72 (m, 1 H), 7,58 (t, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 6,75 (t, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 4,36 (t, $J = 5,3$ Hz, 2 H), 3,58 (dd, $J = 11,2, 5,6$ Hz, 2 H), 3,18 (s, 3 H).

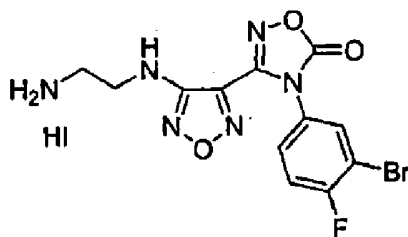
Passo H: 3-{4-[(2-Azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4 H)-ona



Metanossulfonato de 2-(4-(4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il)-1,2,5-oxadiazole-3-ilamino)etil (50,0 g, 0,108 mol) foi dissolvido em *N, N*-dimetilformamida (83 mL). Foi adicionada azida de sódio (10,5 g, 0,162 mol). A reação foi agitada a 65°C durante 5-6 horas. LCMS indicou reação completa ($\text{M} + \text{Na} = 435$). A reação foi temperada com água (250 mL) e extraiu-se com acetato de etilo (2 x 250 mL). A solução de acetato de etilo combinada foi lavada com água (250 mL, a separação de camadas foi lento, com 100 ml de solução salina a ser adicionado para melhorar a separação), secou-se sobre sulfato de sódio, e concentrou-se para dar 49,7 g de sólido bruto branco. O rendimento bruto é de 112%. LCMS para $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{BrFN}_8\text{O}_3\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$: $m/z = 433,0, 435,0$. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,08 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,72 (m,

1 H), 7,58 (t, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 6,75 (t, $J = 5,7$ Hz, 1 H), 3,54 (t, $J = 5,3$ Hz, 2 H), 3,45 (dd, $J = 11,1, 5,2$ Hz, 2 H).

Passo I: Iodidrato de 3-(4-(2-aminoetilamino)-1,2,5-oxadiazole-3-il)-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5 (4H)-ona

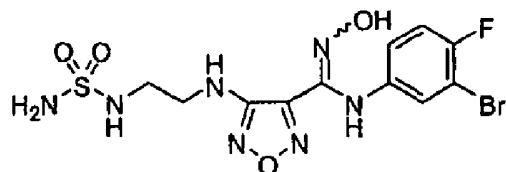


3-(4-(2-azidoetilamino)-1,2,5-oxadiazole-3-il)-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5 (4H)-ona (80,0 g, 0,194 mol) foi misturado com metanol (800 mL). Iodeto de sódio (175,0 g, 1,17 mol) foi adicionado. A reação foi agitada à temperatura ambiente durante 10 min. Adicionou-se clorotrimetilsilano (148 mL, 1,17 mol) dissolvido em metanol (100 mL) e adicionou-se à reação durante 30 min. A temperatura da reação subiu de 42°C. A reação foi agitada à temperatura ambiente durante 30 min. LCMS indicou reação completa ($M + H = 386$). A reação foi extinta com tiosulfato de sódio (190,0 g, 1,20 mol) em água (900 ml). Uma grande quantidade de sólido precipitou-se. O produto foi recolhido por filtração (velocidade de filtração foi lenta), lavado com água (200 ml), e seco em vácuo durante a noite. O bolo do filtro foi transformado em pasta com acetato de etilo (500 mL) durante 30 min. O produto foi filtrado (velocidade de filtração é lenta) e seco sob vácuo no fim de semana para dar 95 g de um sólido esbranquiçado. LCMS para $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 384,9, 386,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,12 (m, 4 H),

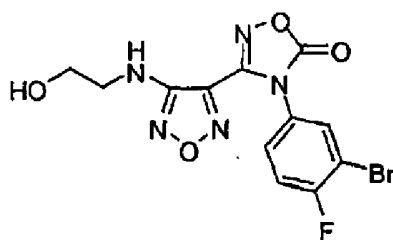
7,76 (m, 1H), 7,58 (t, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 6,78 (t, $J = 6,1$ Hz, 1 H), 3,51 (dd, $J = 11,8, 6,1$ Hz, 2 H), 3,02 (m, 2 H).

Exemplo 23

Preparação alternativa de 4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida



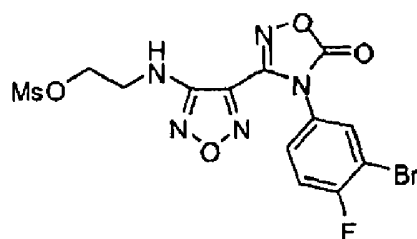
Passo A: 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-(4-(2-hidroxietilamino)-1,2,5-oxadiazole-3-il)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



A uma solução de 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-(4-(2-metoxietilamino)-1,2,5-oxadiazole-3-il)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (pode ser preparada de acordo com o **Exemplo 1, passos A-G** ; 1,232 g, 3,08 mol) em diclorometano (12 L) com agitação num balão de 22 L, a 0°C, foi adicionado tribrometo de boro (354 mL, 3,67 mL) gota a gota a uma velocidade tal que a temperatura não exceda 10°C. Depois de se agitar em gelo durante 1 h, uma solução de bicarbonato de sódio aquoso saturado (2 L) foi adicionado cuidadosamente a uma velocidade tal que a temperatura não exceda 20°C (tempo de adição 10 min). A mistura resultante foi transferida para um funil de separação de 50 L, diluiu-se com água (10 L), e o pH da camada aquosa ajustado de 1 a

8 usando bicarbonato de sódio sólido. As camadas foram separadas, e a camada orgânica foi lavada com água (10 L), e os solventes foram removidos em vácuo para se obter um sólido acastanhado (24 mol processados em várias execuções, 9,54 kg, quant. de rendimento). O material foi transformado em pasta em 4 volumes de 7:1 de heptano:acetato de etilo (4 x 22 L), filtrou-se, e secou-se para fornecer o composto do título como um sólido castanho-amarelado (8,679 g, 94%). O produto era uma mistura do hidroxil- e as espécies de bromo correspondentes.

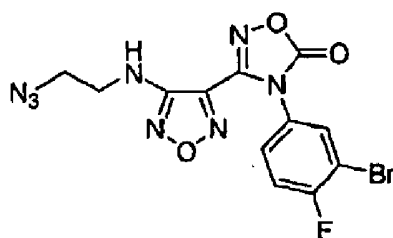
Passo B: metanossulfonato de 2-(4-(4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il)-1,2,5-oxadiazole-3-ilamino)etil



A uma solução de 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (1,5 kg, 3,9 mol, contendo também alguns dos compostos de bromo correspondentes) em acetato de etilo (12 L) foi adicionado cloreto de metanossulfonilo (185 mL, 2,4 mol) gota a gota durante 1 h à temperatura ambiente. Adicionou-se trietilamina (325 mL, 2,3 mol) gota a gota durante 45 min, tempo durante o qual a temperatura da reação aumentou para 35°C. Após 2 h, a mistura de reação foi lavada com água (5 L), salmoura (1 L), secou-se sobre sulfato de sódio, combinadas com mais três reações do mesmo tamanho, e os solventes foram removidos em vácuo para se obter o produto desejado (7600 g, rendimento quantitativo, contendo também alguns dos composto de bromo

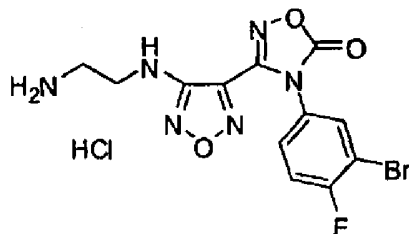
correspondentes, cuidado: pó irritante) como um sólido cor de bronze. LCMS para $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$ ($M + Na$)⁺: $m/z = 485,9, 487,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,08 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,72 (m, 1H), 7,58 (t, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 6,75 (t, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 4,36 (t, 5,3 Hz, 2 H), 3,58 (dd, $J = 11,2, 5,6$ Hz, 2 H), 3,18 (s, 3 H).

Passo C: 3-(4-(2-azidoetilamino)-1,2,5-oxadiazole-3-il) -4 (3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5 (4H)-ona

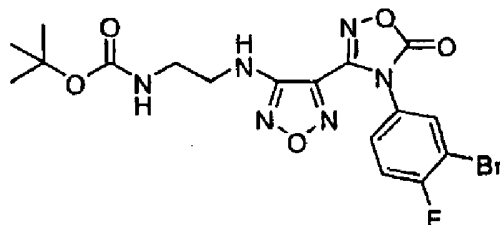


A uma solução de metanossulfonato de 2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil (2,13 kg, 4,6 mol, contendo também alguns dos composto de bromo correspondentes) em dimetilformamida (4 L) com agitação num balão de 22 L adicionou-se azida de sódio (380 g, 5,84 mol). A reação foi aquecida a 50°C durante 6 h, vertida em gelo/água (8 L), e extraiu-se com 1:1 de acetato de etilo:heptano (20 L). A camada orgânica foi lavada com água (5 L) e salmoura (5 L), e os solventes foram removidos em vácuo para se obter o produto desejado (1,464 g, 77%) como um sólido castanho-amarelado. LCMS para $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$ ($M + Na$)⁺: $m/z = 433.0, 435.0$. 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 8,08 (dd, $J = 6.2, 2.5$ Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,58 (t, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,75 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,54 (t, $J = 5,3$ Hz, 2H), 3,45 (dd, $J = 11,1, 5,2$ Hz, 2H).

Passo D: cloridrato de 3-{4-[(2-Aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona



Passo D, Parte 1: Carbamato de terc-butil 2-(4-(4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il)-1,2,5-oxadiazole-3-ilamino)etil



Iodeto de sódio (1,080 g, 7,2 mol) foi adicionado a 3-{4-[(2-azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona (500 g, 1,22 mol) em metanol (6 L). A mistura foi deixada a agitar durante 30 min tempo durante o qual observou-se uma exotermia ligeira. Adicionou-se clorotrimetilsilano (930 mL, 7,33 mol) como uma solução em metanol (1 L) gota a gota a uma velocidade tal que a temperatura não exceda 35°C, e a reação foi deixada a agitar durante 3,5 h à temperatura ambiente. A reação foi neutralizada com solução a 33% em peso de tiosulfato de sódio penta-hidratado em água (~1.5 L), diluída com água (4 L), e o pH ajustado para 9 cuidadosamente com carbonato de potássio sólido (250 g - em pequenas porções: formação de espuma). Dicarbonato de dDiterc-butil (318 g, 1,45 mol) foi adicionado e a reação foi deixada a agitar à temperatura ambiente. Carbonato de

potássio adicional (200 g) foi adicionado em porções de 50 g ao longo de 4 h para assegurar que o pH era ainda igual ou superior a 9. Depois de se agitar à temperatura ambiente durante a noite, o sólido foi filtrado, triturado com água (2 L), e depois MTBE (1,5 L). Um total de 11 ensaios foi realizado (5,5 kg, 13,38 mol). Os sólidos combinados foram triturados com 1:1 de THF:diclorometano (24 L, 4 execuções num balão de evaporador rotativo de 20 L, 50°C, 1 h), filtrada, e lavados com diclorometano (3 L cada volta) para proporcionando um sólido esbranquiçado. O material em bruto foi dissolvido a 55°C em tetra-hidrofurano (5 mL/g), tratado com carbono para descoloração (2% em peso) e sílica gel (2% em peso), e filtrou-se a quente através de celite para se obter o produto como um sólido esbranquiçado (5122 g). O MTBE combinado, THF, diclorometano e os filtrados foram concentrados em vácuo e cromatografado (2 kg de gel de sílica, heptano, com um gradiente de acetato de etilo 0-100%, 30 L) para dar mais produto (262 g). Os sólidos combinados de terc-butil foram secos a um peso constante num forno de convecção (5385 g, 83%).

Passo D, Parte 2: cloridrato de 3-{4-[(2-Aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4H)-ona

Método A:

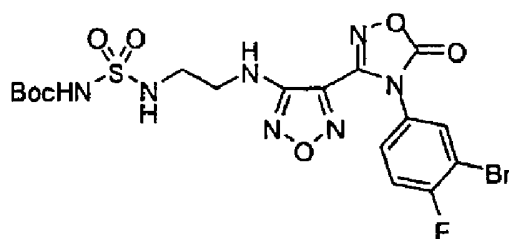
Num balão de 22 L foi carregado cloreto de hidrogénio (4 N de solução em 1,4-dioxano, 4 L, 16 mol). *terc*-Butil(2,315 g, 4,77 mol) foi adicionado como um sólido em porções ao longo de 10 min. A suspensão foi agitada à temperatura ambiente e tornou-se gradualmente uma pasta espessa que não pode ser agitada. Depois de assentar durante a noite à temperatura ambiente, a pasta foi transformada em pasta com acetato de etilo (10 L), filtrada, re-suspensa em acetato de etilo (5 L), filtrada, e seca até peso um constante para

se obter o produto desejado como um sólido branco (combinados com outras execuções, 5 kg de material de partida carregado, 4113 g, 95%). LCMS para $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 384,9, 386,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,12 (m, 4 H), 7,76 (m, 1 H), 7,58 (t, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 6,78 (t, $J = 6,1$ Hz, 1 H), 3,51 (dd, $J = 11,8, 6,1$ Hz, 2 H), 3,02 (m, 2 H).

Método B:

Carbamato de *tert*-Butil [2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil] (5000g) foi adicionado a uma mistura de isopropanol (20 L) e 4 N de HCl em 1,4-dioxano (10 L) à temperatura ambiente. O lote foi aquecido a 40-45°C e mantido durante 1 h. Acetato de etilo foi adicionado ao lote a 40-45°C e mantido durante 2,5 h. Após a conclusão da reação, como indicado por HPLC, heptano (10 L) foi adicionado ao lote. O lote foi arrefecido até 25°C. O produto foi isolado por filtração e o bolo húmido foi lavado com acetato de etilo (3 x 5,0 L). O produto foi seco no vácuo, num forno a 20°C para dar 4344 g (93,4% de rendimento) do composto do título. LC-MS, 1H e ^{13}C NMR, e HPLC de dados deste lote foram idênticos às do produto preparado pelo Método A.

Passo E: Carbamato de *tert*-Butil ([2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil]amino)sulfonil)

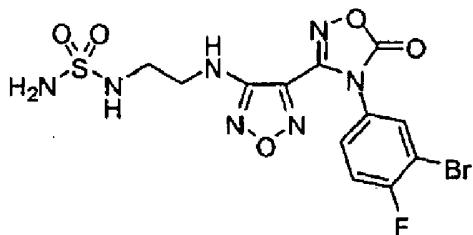


Um balão de fundo redondo de 5 L foi carregado com o isocianato de clorossulfonilo [Aldrich, produto # 142662] (149 mL, 1,72 mol) e diclorometano (1,5 L) e arrefeceu-se utilizando um banho de gelo para 2°C. *terc*-butanol (162 mL, 1,73 mol) em diclorometano (200 mL) foi adicionado gota a gota a uma velocidade tal que a temperatura não exceda 10°C. A solução resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 30-60 minutos para proporcionar carbamato de *terc*-butil [clorossulfonil].

Um frasco de 22 L foi carregado de cloridrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazole-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazole-5(4*H*)-ona (661 g, 1,57 mol) e 8,5 L de diclorometano. Após o arrefecimento para -15°C com um banho de gelo/sal, a solução carbamato de *terc*-butil [clorossulfonil] (preparado como acima) foi adicionada a uma velocidade tal que a temperatura não excedeu -10°C (tempo de adição de 7 min). Depois de se agitar durante 10 minutos, trietilamina (1,085 mL, 7,78 mol) foi adicionado a uma velocidade tal que a temperatura não ultrapassou -5°C (tempo de adição 10 min). O banho frio foi removido, a reação foi deixada aquecer até 10°C, dividiu-se em duas porções, e neutralizou-se com 10% de HCl concentrado (4,5 L de cada porção). Cada porção foi transferida para um funil de separação de 50 L e diluiu-se com acetato de etilo para dissolver completamente o sólido branco (~ 25 L). As camadas foram separadas, e a camada orgânica foi lavada com água (5 L), salmoura (5 L), e os solventes foram removidos em vácuo para se obter um sólido esbranquiçado. O sólido foi triturado com MTBE (2 x 1,5 L) e secou-se até peso constante para se obter um sólido branco. Um total de 4113 g de material de partida foi processado utilizando este processo (5,409 g, 98%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,90 (s, 1 H), 8,08 (dd, *J* = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,72 (m, 1

H), 7,59 (t, $J = 8,6$ Hz, 1 H), 6,58 (t, $J = 5,7$ Hz, 1 H), 3,38 (dd, $J = 12,7, 6,2$ Hz, 2 H), 3,10 (dd, $J = 12,1, 5,9$ Hz, 2 H), 1,41 (s, 9 H).

Passo F: N-[2-({4-[4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil]sulfamida



Método A: utilizando ácido trifluoroacético

Para um frasco de 22 L contendo 98:2 de ácido trifluoroacético:água (8,9 L) foi adicionado carbamato de terc-butil ([2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil]amino)sulfonil) (1931 g, 3,42 mol) em porções ao longo de 10 minutos. A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 1,5 h, os solventes foram removidos sob vácuo, e triturou-se com diclorometano (2 L). O sólido resultante foi tratado uma segunda vez com 98:2 de ácido trifluoroacético fresco:água (8,9 L), aqueceu-se durante 1 h a 40-50°C, os solventes foram removidos sob vácuo, e triturou-se com diclorometano (3 x 2 L). O sólido branco resultante foi seco num forno de secagem a vácuo a 50°C durante a noite. Um total de 5409 g foi processado utilizando este processo (4,990 g, quant. de rendimento). LCMS para $C_{12}H_{12}BrFN_7O_5S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 463,9, 465,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,08 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,72 (m, 1 H), 7,59 (t, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 6,67 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 6,52 (t, $J = 6,0$ Hz, 1 H), 3,38 (dd, $J = 12,7, 6,3$ Hz, 2 H), 3,11 (dd, $J = 12,3, 6,3$ Hz).

Método B: utilizando ácido clorídrico

- [0422]

A uma solução de carbamato de *terc*-butil ($\{[2-(\{4-[4-(3\text{-bromo-4-fluorofenil})-5\text{-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il}]-1,2,5\text{-oxadiazole-3-il}\}\text{amino})\text{etil}\}\text{amino}\}\text{sulfonil})$ (4500 g) em isopropanol (9 L) foi adicionado 4 N de HCl em dioxano (8,0 L). A mistura de reação foi aquecida a 40-45°C e foi mantida a esta temperatura durante cerca de 5 h. Após a conclusão da reação (como indicado por análise de HPLC), heptano (72 L) foi adicionada à mistura de reação. A mistura resultante foi aquecida a 68°C e mantida a esta temperatura durante 1 h. O lote foi deixado a arrefecer até cerca de 23°C. O produto sólido foi recolhido por filtração. O bolo molhado foi lavado com uma mistura de heptano (16 L) e isopropanol (1,2 L) e secou-se sob sucção num funil de filtração. O produto bruto foi dissolvido em acetato de etilo (10,8 L) a cerca de 43°C. Heptano (32,4 L) foi adicionado à solução de acetato de etilo ao longo de 15 min. O lote foi aquecido a 70°C e mantido a esta temperatura durante 1 h. O lote foi arrefecido até 21°C e o produto sólido foi recolhido por filtração. O bolo molhado foi lavado com heptano (14,4 L) e seco sob sucção no funil de filtração. Rendimento do produto foi de 3034g. LC-MS, ^1H e ^{13}C NMR, e HPLC de dados deste lote foram idênticos às do produto preparado pelo Método A.

Passo G: (Z) -4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)- N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida

Método A:

A uma mistura em bruto de N-[2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil]sulfamida (2,4 mol) contendo quantidades residuais de ácido trifluoroacético sob agitação num balão de 22 L foi adicionado THF (5 L). A solução resultante foi arrefecida a 0°C usando um banho de gelo e 2 N de NaOH (4 L) foi adicionado a uma velocidade tal que a temperatura não exceda 10°C. Depois de se agitar à temperatura ambiente durante 3 horas (LCMS indicou que nenhum material de partida permaneceu), o pH foi ajustado a 3-4 com HCl concentrado (-500 mL). O THF foi removido sob vácuo, e a mistura resultante foi extraída com acetato de etilo (15 L). A camada orgânica foi lavada com água (5 L), salmoura (5 L), e os solventes foram removidos em vácuo para se obter um sólido. O sólido foi triturado com MTBE (2 x 2 L), combinado com três outras de reações do mesmo tamanho, e secou-se durante a noite num forno de convecção para se obter um sólido branco (3,535 g). O sólido foi recristalizado (3 x frascos de 22 L, 2:1 água desionizada ultra-filtrada:etanol, 14,1 L de cada frasco) e secou-se num forno de convecção a 50°C a um peso constante para fornecer o composto do título como um sólido branco (3,290 g, 78%). LCMS para $C_{11}H_{14}BrFN_7O_4S$ ($M + H$)⁺: m/z = 437,9, 439,9. ¹NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 11,51 (s, 1 H), 8,90 (s, 1H), 7,17 (t, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,11 (dd, J = 6,1, 2,7 Hz, 1 H), 6,76 (m, 1 H), 6,71 (t, J = 6,0 Hz, 1 H), 6,59 (s, 2 H), 6,23 (t, J = 6,1 Hz, 1 H), 3,35 (dd, J = 10,9, 7,0 Hz, 2 H), 3,10 (dd, J = 12,1, 6,2 Hz, 2 H). A

análise de raios-X cristalográficos determinou que o composto do título adota uma configuração em Z (isômero Z) no que diz respeito à ligação dupla carbono-azoto ($C = N$) da funcionalidade de oxima.

Método B:

N-[2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazole-3-il]-1,2,5-oxadiazole-3-il}amino)etil] sulfamida (1,500 g) foi adicionado a THF (6,0 L) e o lote foi arrefecido a 2°C. Ácido trifluoroacético (0,006 L) foi adicionado ao lote a 2°C, seguido pela adição de solução de hidróxido de sódio aquoso (384 g de NaOH sólido em 4,8 L de água) a 0-2°C. O lote foi aquecido a cerca de 16°C e mantido durante 5 h. Após a conclusão da reação, como indicado por HPLC, ácido clorídrico concentrado (0,7 L) foi adicionado para ajustar o pH do lote a 3-4. Cerca de 4 L de solvente foi removido a partir do lote por destilação sob pressão reduzida. O lote foi adicionado a acetato de etilo (18,0 L) e a mistura bifásica foi agitada durante 15 min. A camada orgânica foi lavada com água (6,0 L) e salmoura (6,0 L) sequencialmente. A solução orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio anidro. O sulfato de magnésio foi filtrado e o filtrado foi evaporado até à secura sob pressão reduzida. Para o sólido resultante, MTBE (3,0 L) foi adicionado e a pasta foi agitada durante 15 min. O produto sólido foi isolado por filtração. O bolo do filtro foi lavado com MTBE (1,2 L) e heptano (1,2 L), sequencialmente. O sólido foi seco no funil de filtração por sucção para se obter 1,416 g (87,9%) do produto. O produto (2440g, obtida em dois lotes) foi ainda purificado por re-suspensão em MTBE (9,6 L) a 17°C durante 2 h. O lote foi arrefecido a 6°C durante 30 min. O produto sólido foi recolhido por filtração e o bolo húmido foi lavado com MTBE (3,6 L) e heptano (1,2 L), sequencialmente. O produto foi

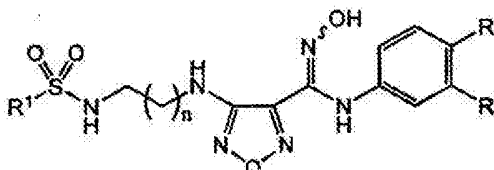
seco numa estufa de vácuo a 20°C para dar 1,962 g do composto do título em 81,7% de rendimento. LC-MS, ¹H e ¹³C NMR, e HPLC de dados deste lote foram idênticos às do produto preparado pelo Método A.

Exemplo 24

Dados dos compostos

Dados selecionados das atividades físicas e biológicas dos compostos dos Exemplos 1-19 estão resumidos no Quadro 2 abaixo. Os dados IC₅₀ são do ensaio e estão indicados no Exemplo A.

Tabela 2

						
Ex. No.	R ₁	R ₂	R ₃	n	IDO IC ₅₀ (nM)	MS [M+H]
1	NH ₂	Br	F	1	<200	437.9, 439.9
2	Me	Br	F	1	<200	437.0, 439.0
3	NH ₂	Br	F	2	<100	451.8, 453.9
4	Me	Br	F	2	<100	451.0, 453.0
5	NH ₂	Cl	F	1	<200	394.0
6	Me	Cl	F	1	<200	393.0
7	NH ₂	Cl	F	2	<200	408.1
8	Me	Cl	F	2	<200	407.1
9	NH ₂	CF ₃	F	1	<100	428.0
10	Me	CF ₃	F	1	<100	427.0
11	NH ₂	CF ₃	F	2	<100	442.0
12	Me	CF ₃	F	2	<100	441.1
13	NH ₂	CF ₃	H	1	<500	410.0
14	Me	CF ₃	H	1	<200	409.1
15	NH ₂	CF ₃	H	2	<200	424.0
16	Me	CF ₃	H	2	<200	423.1
17	Me	CH ₃	F	1	<500	373.1
18	NH ₂	CN	F	1	<750	385.0
19	Me	CN	F	1	<500	406.0*
*[M + Na]						

Exemplo 25**Dados dos compostos**

Os dados IDO IC₅₀ (ver Exemplo A) para os compostos dos Exemplos 20 e 21 são fornecidos abaixo na Tabela 3.

Tabela 3

Ex. No.	IDO IC ₅₀ (nM)
20	<500
21	<750

Exemplo 26

Dados de NMR

Os dados de ^1H NMR (espectrômetro Varian Inova 500, um espectrômetro Mercury 400 ou um espectrômetro Varian (ou Mercury) 300) para os compostos dos Exemplos 1-21 são fornecidos abaixo na Tabela 4.

Tabela 4

Ex. No.	Solvent	MHz	^1H NMR Spectra
1	DMSO- d_6	400	δ 11.5 (s, 1 H), 8.89 (s, 1 H), 7.17 (dd, $J = 8.8, 8.6$ Hz, 1 H), 7.09 (dd, $J = 6.1, 2.7$ Hz, 1 H), 6.76 - 6.72 (m, 1 H), 6.56 (dd, $J = 6.1, 6.1$ Hz, 1 H), 6.51 (s, 2 H), 6.17 (dd, $J = 5.9, 5.9$ Hz, 1 H), 3.27 - 3.21 (m, 2 H), 2.94 - 2.88 (m, 2 H), 1.78 - 1.71 (m, 2 H)
2	DMSO- d_6	400	δ 11.49 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 7.17 (m, 2H), 7.09 (dd, $J = 6.3, 2.5$ Hz, 1H), 6.26 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 3.33 (m, 2H), 3.13 (q, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.89 (s, 3H)
3	DMSO- d_6	400	δ 11.5 (s, 1 H), 8.89 (s, 1 H), 7.17 (dd, $J = 8.8, 8.6$ Hz, 1 H), 7.09 (dd, $J = 6.1, 2.7$ Hz, 1 H), 6.76 - 6.72 (m, 1 H), 6.56 (dd, $J = 6.1, 6.1$ Hz, 1 H), 6.51 (s, 2 H), 6.17 (dd, $J = 5.9, 5.9$ Hz, 1 H), 3.27 - 3.21 (m, 2 H), 2.94 - 2.88 (m, 2 H), 1.78 - 1.71 (m, 2 H)
4	CD ₃ OD	400	δ 7.12 (dd, $J = 5.9, 2.4$ Hz, 1H), 7.05 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.83 (m, 1 H), 3.39 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.14 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.94 (s, 3H), 1.87 (m, 2H)
5	DMSO- d_6	400	δ 7.96 (dd, $J = 6.8, 2.1$ Hz, 0.05 H), 7.32 - 7.29 (m, 0.1 H), 7.18 (dd, $J = 9.1, 9.1$ Hz, 0.95 H), 6.93 (dd, $J = 6.4, 2.7$ Hz, 0.95 H), 6.71 - 6.66 (m, 0.95 H), 6.33 (br s, 1 H), 3.35 - 3.27 (m, 2 H), 3.10 - 3.06 (m, 2 H)
6	DMSO- d_6	400	δ 11.50 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 7.19 (m, 2H), 6.96 (dd, $J = 6.7, 2.5$ Hz, 1H), 6.71 (m, 1 H), 6.26 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H), 3.32 (m, 2H), 3.13 (q, $J = 5.8$ Hz, 2H), 2.89 (s, 3H)
7	DMSO- d_6	400	δ 8.90 (s, 1 H), 7.20 (dd, $J = 9.2, 9.0$ Hz, 1 H), 6.96 (dd, $J = 6.4, 2.7$ Hz, 1 H), 6.72 - 6.69 (m, 1 H), 6.55 (t, $J = 6.0$ Hz, 1 H), 6.51 (s, 2 H), 6.16 (t, $J = 5.9$ Hz, 1 H), 3.28 - 3.21 (m, 2 H), 2.93 - 2.87 (m, 2 H), 1.76 - 1.72 (m, 2 H)
8	CD ₃ OD	300	δ 7.06 (t, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.98 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 3.73 (m, 2H), 3.28 (m, 2H), 2.94 (s, 3H), 1.28 (m, 2H)
9	DMSO- d_6	400	δ 11.60 (s, 1 H), 9.06 (s, 1 H), 7.30 (t, $J = 10.1$ Hz, 1 H), 7.14 (dd, $J = 6.1, 2.7$ Hz, 1H), 7.03 (m, 1H), 6.71 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 6.58 (s, 2H), 6.23 (t, $J = 6.2$ Hz, 1 H), 3.36 (q, $J = 6.5$ Hz, 2H), 3.08 (m, 2H)
10	DMSO- d_6	400	δ 11.60 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 7.30 (t, $J = 10.1$ Hz, 1H), 7.18 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.13 (dd, $J = 6.0, 2.7$ Hz, 1H), 7.03 (m, 1H), 6.27 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 3.32 (m, 2H), 3.13 (q, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.89 (s, 3H)
11	DMSO- d_6	300	δ 11.6 (s, 1 H), 9.08 (s, 1 H), 7.31 (dd, $J = 10.0, 9.4$ Hz, 1 H), 7.13 (dd, $J = 6.4, 2.9$ Hz, 1 H), 7.05 - 6.99 (m, 1 H), 6.58 (t, $J = 6.0$ Hz, 1 H), 6.52 (s, 2 H), 6.17 (t, $J = 5.9$ Hz, 1 H), 3.28 - 3.21 (m, 2 H), 2.94 - 2.87 (m, 2 H), 1.79 - 1.72 (m, 2 H)
12	DMSO- d_6	400	δ 11.6 (s, 1 H), 9.07 (s, 1 H), 7.30 (dd, $J = 10.0, 9.6$ Hz, 1 H), 7.13 (dd, $J = 6.2, 2.5$ Hz, 1 H), 7.05 - 7.02 (m, 2 H), 6.19 (t, $J = 5.8$ Hz, 1 H), 3.27 - 3.21 (m, 2 H), 2.99 - 2.94 (m, 2 H), 2.87 (s, 3 H), 1.76 - 1.72 (m, 2 H)
13	CD ₃ OD	400	δ 7.36 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.10 (s, 1H), 7.03 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 3.48 (m, 2H), 3.29 (m, 2H)
14	DMSO- d_6	500	δ 11.63 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.39 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.21 (m, 2H), 7.10 (s, 1H), 6.99 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.28 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 3.36 (q, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.17 (q, $J = 5.8$ Hz, 2H), 2.91 (s, 3H)
15	DMSO- d_6	400	δ 11.6 (s, 1 H), 9.12 (s, 1 H), 7.37 (dd, $J = 8.0, 8.0$ Hz, 1 H), 7.21 - 7.18 (m, 1 H), 7.07 (s, 1 H), 6.95 (d, $J = 10.0$ Hz, 1 H), 6.52 (br s, 3 H), 6.17 (t, $J = 6.0$ Hz, 1 H), 3.28 - 3.22 (m, 2 H), 2.93 - 2.89 (m, 2 H), 1.77 - 1.73 (m, 2 H)

Ex. No.	Solvent	MHz	¹ H NMR Spectra
16	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 11.6 (s, 1 H), 9.11 (s, 1 H), 7.37 (dd, <i>J</i> = 8.0, 8.0 Hz, 1 H), 7.20 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1 H), 7.07 - 7.01 (m, 2 H), 6.96 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1 H), 6.20 (t, <i>J</i> = 5.9 Hz, 1 H), 3.27 - 3.22 (m, 2 H), 2.99 - 2.94 (m, 2 H), 2.87 (s, 3 H), 1.78 - 1.71 (m, 2 H)
17	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 11.25 (s, 1H), 8.61 (s, 1H), 7.18 (m, 1H), 6.91 (m, 1H), 6.72 (m, 1H), 6.58 (m, 1H), 6.24 (s, 2H), 3.32 (m, 2H), 3.11 (m, 2H), 2.89 (s, 3H), 2.05 (s, 3H).
18	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 11.65 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.34 (t, <i>J</i> = 9.1 Hz, 1H), 7.22 (dd, <i>J</i> = 5.4, 2.8 Hz, 1H), 7.13 (m, 1H), 6.70 (t, <i>J</i> = 5.9 Hz, 1H), 6.59 (s, 2H), 6.20 (t, <i>J</i> = 6.1 Hz, 1H), 3.34 (m, 2H), 3.09 (m, 2H)
19	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 11.65 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.35 (m, 1H), 7.18 (m, 3H), 6.56 (m, 1H), 6.23 (m, 1H), 6.24 (s, 2H), 3.32 (m, 2H), 3.14 (m, 2H), 2.89 (s, 3H).
20	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 10.87 (s, 1 H), 7.75 (s, 1H), 6.83 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 1H), 6.68 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 1 H), 6.56 (s, 2 H), 6.30 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 1H), 6.23 (s, 1 H), 4.56 (d, <i>J</i> = 7.0 Hz, 2 H), 3.32 (q, <i>J</i> = 6.3 Hz, 2 H), 3.07 (q, <i>J</i> = 6.3 Hz, 2 H)
21	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 10.88 (s, 1 H), 7.77 (s, 1 H), 6.83 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 1 H), 6.68 (t, <i>J</i> = 5.9 Hz, 1 H), 6.56 (s, 2 H), 6.30 (t, <i>J</i> = 5.9 Hz, 1 H), 6.22 (s, 1 H), 4.55 (d, 2 H), 3.32 (q, <i>J</i> = 6.3 Hz, 2 H), 3.05 (q, <i>J</i> = 6.3 Hz, 2 H)

Exemplo A: Ensaio de enzima indoleamina 2,3-dioxigenasae humana (IDO)

Indoleamina 2,3-dioxigenasae humana (IDO) com um terminal N His foi expressa em *E. coli* e purificada até à homogeneidade. IDO catalisa a clivagem oxidativa do anel de pirrole do núcleo indole do triptofano para se obter *N'*-formilquinurenina. Os ensaios foram realizados à temperatura ambiente, tal como descrito na literatura utilizando 95 nM de IDO e 2 mM de D-Trp, na presença de 20 mM de ascorbato, 5 µM de azul de metileno e 0,2 mg/mL de catalase em 50 mM de tampão de fosfato de potássio (pH 6,5). As taxas de reação inicial foram registadas continuamente após o aumento de absorvância a 321 nm devido à formação de *N'*-formilquinurenina (Ver: Sono, M., et al., 1980, J. Biol Chem. 255, 1339-1345).

Exemplo B: Determinação da atividade do inibidor de células HeLa baseada em ensaio de indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO)/quinurenina

Células HeLa (# CCL-2) foram obtidas da American Type Culture Tissue Collection (ATCC, Manassas, VA) e mantidas rotineiramente em meio essencial mínimo (Eagle) com 2 mM de L-glutamina e BSS de Earle ajustado para conter 1,5 g/L de bicarbonato de sódio, 0,1 mM de aminoácidos não essenciais, 1 mM de piruvato de sódio e 10% de soro fetal bovino (todos da Invitrogen). As células foram mantidas a 37°C numa incubadora humidificada fornecida com 5% de CO₂. O ensaio foi realizado como segue: Células HeLa foram semeadas numa placa de cultura de 96 poços a uma densidade de 5×10^3 por poço e cultivadas durante a noite. No dia seguinte, o IFN- γ (50 ng/mL de concentração final) e diluições em série de compostos (volume total de 200 μ L de meio de cultura) foram adicionados às células. Após 48 horas de incubação, 140 μ L do sobrenadante por poço foi transferido para uma nova placa de 96 poços. 10 μ L de 6,1 N de ácido tricloroacético (# T0699, Sigma) foi misturado a cada poço e incubou-se a 50°C durante 30 minutos para hidrolisar N-formilquinurenina produzida por indoleamina 2,3-dioxigenase para a quinurenina. A mistura de reação foi, em seguida, centrifugada durante 10 min a 2500 rpm para remover sedimentos. 100 μ L do sobrenadante por poço foi transferido para outra placa de 96 poços e misturou-se com 100 μ L de 2% (p/v) de p-dimetilaminobenzaldeído (# 15647-7, Sigma-Aldrich) em ácido acético. A cor amarela derivado da quinurenina foi medida a 480 nm utilizando um leitor de microplacas SPECTRAMax 250 (Molecular Devices). L-quinurenina (# K8625, Sigma) foi utilizada como padrão. Os padrões (240, 120, 60, 30, 15, 7,5, 3,75, 1,87 μ M) foram preparados em meio de cultura de 100 μ L e misturados com um

volume igual de 2% (p/v) de *p*-dimetilaminobenzaldeído. A percentagem de inibição a concentrações individuais foi determinada e os valores médios de duplicados foram obtidos. Os dados foram analisados por meio de regressão não-linear para gerar valores de IC₅₀ (Prism GraphPad). Ver: Takikawa S, et al, 1988, J. Biol. Chem, 263 (4):2041-8.

Exemplo C: Determinação do efeito de inibidores de IDO sobre a proliferação de células T, que é suprimida por IDO expressando células dendríticas

Os monócitos foram recolhidos a partir de células mononucleares periféricas humanas por leucoforese. Os monócitos foram então semeados a uma densidade de 1×10^6 células/poço numa placa de 96 poços, utilizando meio RPMI 1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino e 2 mM de L-glutamina (todos da Invitrogen). As células aderentes foram mantidas na placa após cultura durante a noite a 37°C. Os monócitos aderentes foram em seguida estimulados durante 5-7 dias, com 100 ng/ml de GM-CSF (# 300-03, PeproTech) e 250 ng/ml de IL-4 (# 200-04, Pepro Tech), seguido por ativação com 5 µg/mL LPS de *Salmonella typhimurium* (# 437650, Sigma) e 50 ng/mL de IFN-γ (Systems R & D # 285-SE,) por mais 2 dias para induzir a maturação de células dendríticas.

Depois da ativação de células dendríticas, o meio foi substituído com RPMI 1640 completo suplementado com 100-200 U/mL de IL-2 (# CYT-209, ProSpec-Tany TechnoGene) e 100 ng/mL de anticorpo anti-CD3 (# 555336, PharMingen), células T ($2-3 \times 10^5$ células/poço), e diluições em série de compostos IDO. Após a incubação durante mais 2 dias, a proliferação de células T foi medida por um ensaio de incorporação de BrdU, utilizando um kit colorimétrico de ELISA de

proliferação celular por instruções do fabricante (# 1647229, Roche Molecular Biochemicals). As células foram cultivadas continuamente durante 16-18 horas na presença de solução de 10 μ M de BrdU. Em seguida, o meio de marcação foi removido, e 200 μ L de FixDenat por poço foi adicionado às células e incubado durante 30 minutos à temperatura ambiente. A solução de FixDenat foi removida e 100 μ L/poço de conjugado de anticorpo de anti-BrdU-POD foi adicionado à solução de trabalho. A reação foi realizada durante 90 minutos à temperatura ambiente. O conjugado de anticorpo foi então removido, e as células foram lavadas três vezes com 200 μ L/poço de solução de lavagem. Finalmente, 100 μ L/poço de solução de substrato foi adicionado e os resultados foram obtidos usando um leitor de microplacas (Spectra Max PLUS, Molecular Devices) durante o desenvolvimento da cor. Várias leituras a vários pontos de tempo foram obtidas para garantir que os dados estavam na gama linear. Os dados foram obtidos rotineiramente a partir de experiências replicadas e foram incluídos controles apropriados. Ver: Terness P, et al. 2002, J. Exp. Med, 196 (4):447-57; e Hwu, P, et al. 2000, J. Immunol, 164 (7): 3596-9.

Exemplo D: Ensaio *in vivo* de inibidores IDO para a atividade anti-tumoral

A sua eficácia anti-tumoral *in vivo* pode ser testada utilizando os protocolos modificados de aloenxerto/xenoenxerto de tumor. Por exemplo, tem sido descrito na literatura que a inibição de IDO pode sinergizar com quimioterapia citotóxica em ratinhos imunocompetentes (Muller, AJ, et al 2005, Nat Med 11:312-319). Esta sinergia foi demonstrada ser dependente de células T através da comparação dos efeitos sinérgicos de um inibidor de IDO experimental em modelos de

xenotransplante de tumor de murino (por exemplo, B16 e variantes relacionadas, CT-26, LLC) crescidos em ratinhos imunocompetentes singénicos ao observado em ratinhos singénicos tratados com anticorpos anti-CD4, ou neutralizando os mesmos tumores cultivados em ratinhos imuno-comprometidos (por exemplo, nu/nu).

O conceito de efeitos anti-tumorais diferenciais em ratinhos imunocompetentes, face a ratinhos imunocomprometidos pode também permitir o teste de inibidores de IDO experimentais, tal como agentes individuais. Por exemplo, os tumores LLC crescem bem na sua estirpe hospedeira singénica, C57B1/6. No entanto, se estes ratos são tratados com o inibidor da IDO 1-MT (versus placebo) a formação de tumores é significativamente retardada, o que implica que a inibição da IDO foi inibitória do crescimento (Friberg, M., et al. 2002, *Int. J. Cancer* 101:151-155). Seguindo esta lógica, pode-se examinar a eficácia de inibição da IDO no modelo de xenoenxerto de tumor LLC cultivado em ratinhos C57B1/6 imunocompetentes e comparar com os efeitos de inibidores de IDO no crescimento do tumor LLC em ratinhos nus ou SCID (ou machos C57B1/6 tratados com os anticorpos que neutralizam a atividade de células T). À medida que os efeitos de alívio da atividade supressora imune mediada por IDO de tumor provavelmente diferem dependendo do potencial imunogénico de diferentes modelos de tumor, as modificações genéticas podem ser feitas para as células tumorais para aumentar o seu potencial imunogénico. Por exemplo, a expressão de GM-CSF em células B16.F10 aumenta o seu potencial imunogénico (Dranoff, G., et al 1993, *Proc Natl Acad Sci, USA*, 90: 3539-3543). Como tal, em alguns modelos de tumor (por exemplo, B16.F10) pode-se gerar [poli] clones que expressam proteínas estimuladoras imunitárias, tais como GM-CSF e

testar o efeito inibitório de crescimento de inibidores de IDO contra tumores estabelecidos a partir destas células de tumor em ambos os ratinhos imunocompetentes e comprometidos.

Uma terceira via para avaliar a eficácia dos inibidores de IDO *in vivo* emprega modelos de "pré-imunização" de aloenxerto/xenotransplante de tumor murino. Nestes modelos, os ratos imunocompetentes, são sensibilizados para um antigénio ou antigénios específicos de tumor para imitar uma vacina anti-tumor terapêutica. Isto prepara a ratinhos para uma resposta anti-tumoral mediada pelo sistema imune, quando os ratinhos foram subsequentemente desafiados com linhas de células tumorais de murino (que possuam antigénios tumorais semelhantes às utilizadas para a imunização) em experiências de xenoenxerto. Expressão da IDO foi demonstrada diminuir a resposta anti-tumoral e permitir a xenoenxertos de crescer mais rapidamente. É importante notar que o crescimento de tumores neste modelo é inibido pelo inibidor da IDO 1-MT (Uyttenhove, C., et al 2003, Nat Med 9:1269-1274). Este modelo é particularmente atraente como a atividade IDO é permissiva para o crescimento do tumor P815 e inibição específica da IDO, deve, portanto, inibir o crescimento.

Por último, a imunização terapêutica pode ser utilizada para avaliar o impacto de inibidores de IDO *in vivo*. Por exemplo, foi demonstrado que usando células B16-BL6 se pode desafiar ratos Blk/6 com uma injeção intravenosa de células tumorais, seguida por tratamento bem caracterizado com um péptido imunogénico (por exemplo, TRP-2) expresso pelas células do tumor (Ji, et al, 2005, J. Immunol, 175:1456-1463). Importante, os modificadores do sistema imunológico, tais como o anticorpo anti-4-CTL, pode melhorar as respostas a essas vacinas terapêuticas. O impacto de

inibidores de IDO pode ser avaliado de um modo semelhante - imunização com péptido do tumor com ou sem inibidor de IDO. A eficácia é avaliada pela sobrevivência dos animais (hora de morbidade) ou pela medida de metástases tumorais nos pulmões e/ou em outros órgãos, nos momentos definidos.

Em qualquer dos/todos os modelos acima mencionados, pode também ser possível diretamente e/ou indiretamente, medir a quantidade e/ou a atividade das células imunes reativas tumorais. Os métodos para medir o número e/ou a atividade das células imunes reativas tumorais estão bem estabelecidas e podem ser realizadas usando técnicas familiares daqueles treinados na especialidade (Current Protocols in Immunology, vol. 4, Coligan, JE, et al.; Immunotherapy of Cancer, Human Press, 2006, Disis, ML e suas referências). Conceitualmente, a redução dos efeitos imunossupressores de IDO pode resultar no aumento do número ou reatividade das células tumorais imunológicas específicas. Além disso, a inibição de IDO podem aumentar ainda mais o número ou a reatividade de células tumorais imuno-reativas quando combinada com outros agentes terapêuticos, por exemplo, agentes quimioterapêuticos e/ou imunomoduladores (por exemplo, anticorpos anti-CTLA4).

Todas as experiências de aloenxerto/xenotransplante podem ser realizadas utilizando técnicas padrão de tumor (revisado por Corbett, et al, In Cancer Drug Discovery e Development: Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials and Approval, 2ª Ed Teicher, BA e Andrews, PA, Humana Press Inc.: Totowa, NJ, 2004). A clonagem e a introdução de genes (por exemplo, IDO, GM-CSF) em linhas de células de tumor, pode ser realizada usando técnicas familiares daqueles peritos na técnica (revisto em Sambrook, J. e Russel, D., Molecular Cloning: A

Laboratory Manual (3ª edição), Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, NY, 2001).

Exemplo E: Ensaio *in vivo* de inibidores IDO em vírus da imunodeficiência-1 humanas (HIV-1) o modelo de encefalite humana

1. Isolamento de células e a infecção viral

Os monócitos e PBL podem ser obtidos por elutriação por centrifugação em contracorrente de pacotes de dadores seronegativos de leucofereses de HIV-1, 2 e da hepatite B. Os monócitos são cultivados em cultura em suspensão, utilizando frascos de teflon em meio Dulbecco modificado (DMEM, Sigma-Aldrich) de Eagle suplementado com 10% soro humano inativado por calor, 1% de glutamina, 50 µg/mL de gentamicina, 10 µg/mL de ciprofloxacina (Sigma), e 1000 U/mL de fator estimulante de colônias de macrófagos de recombinante humana altamente purificada. Após sete dias em cultura, MDM estão infectados com o VIH-1_{ADA} na multiplicidade de infecção de 0,01.

2. Ratos Hu-PBL-NOD/SCID HIVE

Ratos de quatro semanas de idade do sexo masculino NOD/CB-17 SCID podem ser comprados (Jackson Laboratory). Os animais são mantidos em gaiolas microisoladas estéreis sob condições isentas de agentes patogénicos. Todos os animais são injetados por via intraperitoneal com o anticorpo de rato anti-CD122 (0,25 mg/rato) três dias antes da transplantação de LSP e duas vezes com os anticorpos de coelho-asialo GM1 (0,2 mg/rato) (Wako) um dia antes e três dias após a injeção de PBL (20 × 10⁶ células/rato). Infetados com HIV-1_{ADA} MDM (3 × 10⁵ células em 10 mL) são injetados por via intracraniana (ie) oito dias após a reconstituição PBL gerando hu-PBL-

SCID/NOD HIVE. Imediatamente após isto a injeção de HIV-1 os ratos infetados com MDM hu-PBL-NOD/SCID HIVE são implantados por via subcutânea (sc) com controle (veículo) ou pastilhas de compostos (14 ou 28 dias de libertação lenta, Innovative Research). As experiências iniciais foram concebidas para confirmar a indução de CTL específica de vírus no hu PBL-NOD / SCID COLMEIA animais tratados com compostos IDO. Isto é confirmado por coloração de tetrâmero e análises neuropatológicas de MDM de eliminação a partir do tecido cerebral. Em seguida, o ensaio é concebido para analisar a reconstituição de linfócitos humanos, as respostas imunitárias humorais, e alterações neuropatológicas. Nestas experiências, os animais foram sangrados no dia 7 e sacrificados aos 14 e 21 dias após a injeção de MDM humano. O sangue recolhido em tubos contendo EDTA é utilizado para citometria de fluxo e o plasma é utilizado para a detecção de HIV-1 p24 utilizando o método ELISA (Beckman Coulter™). Os anticorpos específicos para o HIV-1 são detetados por ensaios de transferência de Western de acordo com as instruções do fabricante (Cambridge Biotech HIV-1 kit de Western blot, Calypte Biomedical). Quantidade semelhante de anticorpos específicos do vírus é detetada no controlo e animais tratados com composto. Um total de três experiências independentes, pode ser realizado por meio de três doadores de leucócitos humanos diferentes.

3. FACSscan de sangue periférico e do baço em ratos hu PBL-NOD/SCID HIVE

A análise FACS bicolor pode ser realizada em sangue periférico em 1-3 semanas e os esplenócitos na semana 2 e 3 após a injeção de MDM humano. As células são incubadas com Abs monoclonais conjugado com fluorocromo (mAb) para CD4 humano, CD8, CD56, CD3, IFN- γ (eBioscience) durante 30 min

a 4°C. Para avaliar a resposta imune celular, a coloração intracelular de IFN- γ é realizada em combinação com CD8 anti-humano conjugado com FITC e anti-ratinho CD45 para excluir células de murino. Para determinar a CTL específica de Ag-, coloração de tetrâmero conjugado com alofococianina para o HIV-1^{gag} (p17 (aa77-85) SLYNTVATL, SL-9) e de HIV-1^{pol} [(aa476-485) ILKEPVHGV, IL-9] é efetuada em esplenócitos estimulados com fito-hemaglutinina/interleucina-2 (PHA/IL-2). As células são coradas seguindo a recomendação do NIH/National Institute of Allergy and Infections Disease, National Tetramer Core Facilities. Os dados foram analisados com um FACS Calibur[™] usando software CellQuest (Becton Dickinson Immunocytometry System).

4. Histopatologia e análise de imagem

O tecido cerebral é recolhido nos dias 14 e 21 após a injeção de MDM, fixado em paraformaldeído a 4% tamponado com fosfato e embebido em parafina ou congelado a -80°C para uso posterior. Secções coronais de blocos embebidos são cortadas de modo a identificar o local da injeção. Para cada rato, 30-100 (5- μ m de espessura) de secções seriadas são cortadas a partir do local da injeção de MDM humano e 3-7 slides (10 secções de intervalo) são analisados. Secções cerebrais são desparafinizadas com xilol e hidratadas em gradiente de álcoois. A coloração imuno-histoquímica segue um protocolo indireto de base, utilizando a recuperação de antígeno por aquecimento a 95°C em tampão de citrato de 0,01 mol/L, durante 30 min para a recuperação de antígeno. Para identificar as células humanas no cérebro de rato, o mAb para vimentina (1:50, clone 3B4, DAKO Corporation), que identifica todos os leucócitos humanos é usado. MDM humano e linfócitos CD8⁺ são detetados com anticorpos CD68 (diluição 1:50, clone KP 1) e CD8 (diluição 1:50, clone 144B), respetivamente. As células infetadas por

vírus são marcadas com mAb anti-HIV-1 p24 (1:10, clone Kal-1, todos da Dako). Micróglia de murino reativas são detetadas com anticorpo Iba-1 (1: 500, Wako). Expressão daIDO humana (huIDO) é visualizada com Abs obtidos junto ao Department of Cell Pharmacology, Central Research Institute, Faculdade de Medicina da Universidade de Hokkaido, Sapporo, Japão. Os anticorpos primários são detetados com anticorpos secundários biotinilados apropriados e visualizada com complexos de avidina-biotina (kit Vectastain Elite ABC, Vector Laboratories) e peroxidase de rábano (HRP) conjugada com polímero de dextrano (EnVision, Dako Corporation). Imunoistoquímica, são contrastadas com hematoxilina de Mayer. Seções do qual o anticorpo primário é excluído ou isótipo IgG irrelevante é incorporado para servir como controlo. Dois observadores independentes de forma cega contam o número de linfócitos CD8⁺, células CD68⁺,MDM e HIV-1 p24⁺ em cada seção de cada rato. O exame microscópico é realizada com um microscópio Nikon Eclipse 800 (Nikon Instruments Inc). Análise semi-quantitativa para Iba1 (percentagem da área ocupada pela imunocoloração) é levada a cabo por análise de imagem assistida por computador (imagem-Pro®Plus, Media Cybernetics) como descrito anteriormente.

5. Análise estatística

Os dados podem ser analisados usando Prism (Graph Pad) com teste t de Student para comparações e ANOVA. Valores $P < 0,05$ foram considerados significativos.

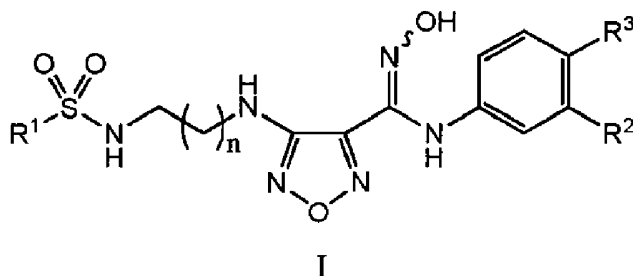
6. Referência

Poluektova LY, Munn DH, Persidsky Y, e Gendelman HE (2002). Geração de células T citotóxicas contra os

macrófagos do cérebro humano infectados com vírus num modelo murino de encefalite HTV-1. J. Immunol. 168 (8):3941-9.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de Fórmula I:



ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que:

R¹ é NH₂ ou CH₃;

R² é Cl, Br, CF₃, CH₃ ou CN;

R³ é H ou F; e

n é 1 ou 2.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que R¹ é NH₂.
3. Composto de acordo com a reivindicação 1, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que, R¹ é CH₃.
4. Composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 3, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que R² é Cl.
5. Composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 3, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que R² é Br.
6. Composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 3, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que R² é CF₃.
7. Composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 3, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que R² é CH₃.
8. Composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 3, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que R² é CN.
9. Composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 8, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que R³ é H.

10. Composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 8, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que R³ é F.
11. Composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 10, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que n é 1.
12. Composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 10, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que n é 2.
13. Composto da reivindicação 1 selecionado a partir de:

4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]ethyl}amino)-N-(3-bromo-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 N-(3-Bromo-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-4-({2-[(methylsulfonyl)amino]ethyl}amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N-(3-bromo-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 N-(3-Bromo-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-4-({3-[(methylsulfonyl)amino]propyl}amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]ethyl}amino)-N-(3-chloro-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 N-(3-Chloro-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-4-({2-[(methylsulfonyl)amino]ethyl}amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N-(3-chloro-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 N-(3-Chloro-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-4-({3-[(methylsulfonyl)amino]propyl}amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]ethyl}amino)-N-[4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 N-[4-Fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-N'-hydroxy-4-({2-[(methylsulfonyl)amino]ethyl}amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N-[4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 N-[4-Fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-N'-hydroxy-4-({3-[(methylsulfonyl)amino]propyl}amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]ethyl}amino)-N'-hydroxy-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 N'-Hydroxy-4-({2-[(methylsulfonyl)amino]ethyl}amino)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N'-hydroxy-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 N'-Hydroxy-4-({3-[(methylsulfonyl)amino]propyl}amino)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 N-[4-Fluoro-3-methylphenyl]-N'-hydroxy-4-({2-[(methylsulfonyl)amino]ethyl}amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;
 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]ethyl}amino)-N-(3-cyano-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide; and
 N-(3-Cyano-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-4-({2-[(methylsulfonyl)amino]ethyl}amino)-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide;

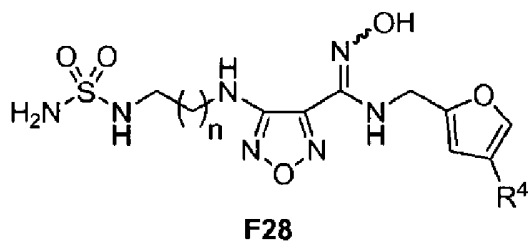
ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

14. Composto de acordo com a reivindicação 1, que é 4-({2-[(aminosulfonil)amino]ethyl}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-

carboximidamida ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

15. Composto de acordo com a reivindicação 1, que é 4-({2-[(aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida.
16. Forma sólida de um composto de acordo com a reivindicação 15, que é cristalina.
17. Forma sólida de um composto de acordo com a reivindicação 15, que contém menos do que 2% de água.
18. Forma sólida de um composto de acordo com a reivindicação 15, que tem um ponto de fusão de 162-166°C.
19. Forma sólida de um composto de acordo com a reivindicação 15 que tem um termograma de DSC, como mostrado na Figura 2, +/- 3°C.
20. Forma sólida de um composto de acordo com a reivindicação 15 tendo pelo menos um pico de XRPD, em termos de 2-teta de 0,2° +/-, seleccionado a partir de 18,4°, 18,9°, 21,8°, 23,9°, 29,2°, e 38,7°.
21. Forma sólida de um composto de acordo com a reivindicação 15 tendo pelo menos dois picos de XRPD, em termos de 2-teta de 0,2° +/-, seleccionado a partir de 18,4°, 18,9°, 21,8°, 23,9°, 29,2°, e 38,7°.
22. Forma sólida de um composto de acordo com a reivindicação 15 que tem, pelo menos, três picos de XRPD, em termos de 2-teta de 0,2° +/-, seleccionado a partir de 18,4°, 18,9°, 21,8°, 23,9°, 29,2°, e 38,7°.
23. Forma sólida de um composto de acordo com a reivindicação 15 que tem um padrão de XRPD como se mostra na Figura 1, em que os picos com uma relação altura/intensidade de pelo menos 4% da altura máxima/intensidade estão presentes e valores de 2-teta podem variar +/- 0,2°.

24. Composto de Fórmula F28:



ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que:

R⁴ é F, Cl, Br, ou I; e

n é 1 ou 2.

25. Composto de acordo com a reivindicação 24, que é 4-({2-[(aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-[(4-bromo-2-furil)metil]-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

26. Composto de acordo com a reivindicação 24, que é 4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-[(4-cloro-2-furil)metil]-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamida ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

27. Composição compreendendo um composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 15 e 24 a 26, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ou uma forma sólida de qualquer uma das reivindicações 16 a 23, e pelo menos um transportador farmaceuticamente aceitável.

28. Método de inibição da atividade da indoleamina 2,3-dioxigenase, compreendendo o contacto da referida indoleamina 2,3-dioxigenase in vitro com um composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 15 e 24 a 26, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ou uma forma sólida de qualquer uma das reivindicações 16 a 23.

29. Composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 15 e 24 a 26, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ou uma forma sólida de qualquer uma das reivindicações 16 a

- 23, para utilização na inibição da imunossupressão num paciente.
30. Composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 15 e 24 a 26, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, ou uma forma sólida de qualquer uma das reivindicações 16 a 23, para utilização no tratamento do cancro, infeções virais, depressão, desordem neurodegenerativa, trauma, cataratas relacionadas com a idade, rejeição de transplantes de órgãos, ou a uma doença autoimune num paciente.
31. Composto, sal ou forma sólida para uso de acordo com a reivindicação 30, em que o referido cancro é selecionado a partir de cancro do cólon, cancro pancreático, cancro da mama, cancro da próstata, cancro do pulmão, cancro cerebral, cancro do ovário, cancro do colo uterino, cancro testicular, cancro renal, cancro da cabeça e pescoço, linfoma e leucemia.
32. Utilização de um composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 15 e 24 a 26, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, ou uma forma sólida de qualquer uma das reivindicações 16 a 23, no fabrico de um medicamento para inibir a imunossupressão num paciente.
33. Utilização de um composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 15 e 24 a 26, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, ou uma forma sólida de qualquer uma das reivindicações 16 a 23, no fabrico de um medicamento para o tratamento de cancro, infeções virais, depressão, desordem neurodegenerativa, trauma, cataratas relacionadas com a idade, rejeição de transplantes de órgãos, ou uma doença autoimune num paciente.
34. Utilização da reivindicação 33, em que o referido cancro é selecionado de cancro do cólon, cancro

pancreático, cancro da mama, cancro da próstata, cancro do pulmão, cancro do cérebro, cancro do ovário, cancro do colo do útero, cancro testicular, cancro renal, cancro da cabeça e pescoço, linfoma e leucemia.

35. Composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 15 e 24 a 26, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ou uma forma sólida de qualquer uma das reivindicações 16 a 23, para a administração ao referido doente com um agente anti-viral, uma vacina contra o cancro, uma anticorpo anti-CTLA-4, um agente quimioterapêutico, um imunossupressor, radiação, uma vacina anti-tumoral, uma vacina anti-viral, terapia de citocina, ou um inibidor da tirosina-quinase numa forma de dosagem individual ou em simultâneo ou sequencialmente em formas de dosagem separadas.
36. Composto, sal, ou forma sólida, para a administração de acordo com a reivindicação 35, em que a referida terapia compreende citocina IL-2.
37. Composto, sal, ou forma sólida, para a administração de acordo com a reivindicação 35, em que o referido quimioterapêutico é um agente citotóxico.
38. Composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 15 e 24 a 26, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ou uma forma sólida de qualquer uma das reivindicações 16 a 23, para utilização no tratamento de melanoma num paciente.
39. Utilização de um composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 15 e 24 a 26, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ou uma forma sólida de qualquer uma das reivindicações 16 a 23, no fabrico de um medicamento para tratar o melanoma num paciente.

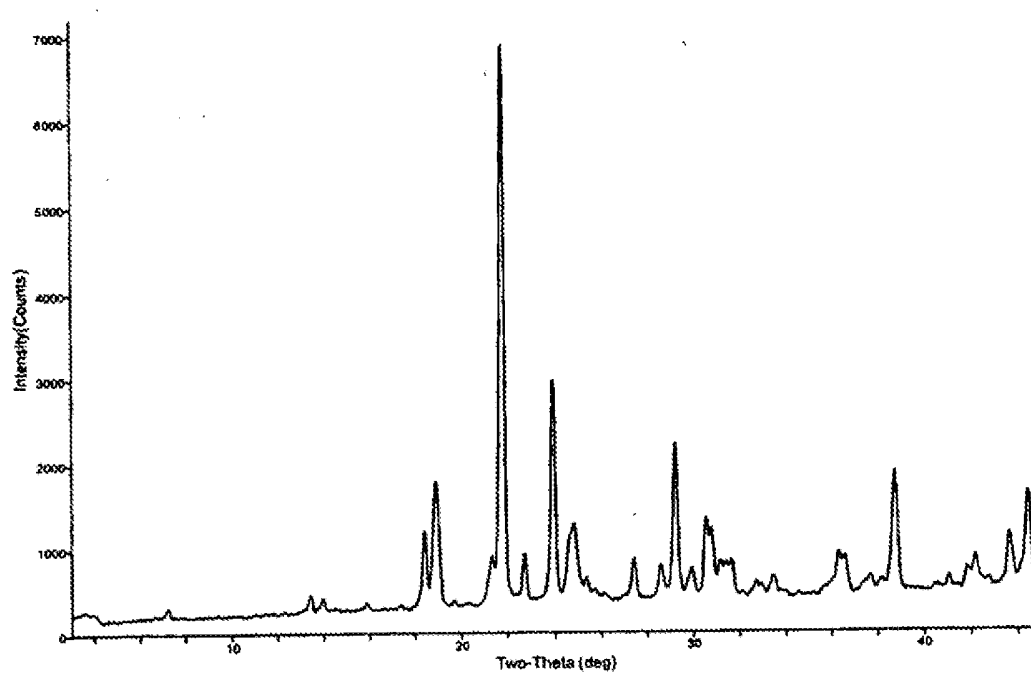


Figura 1

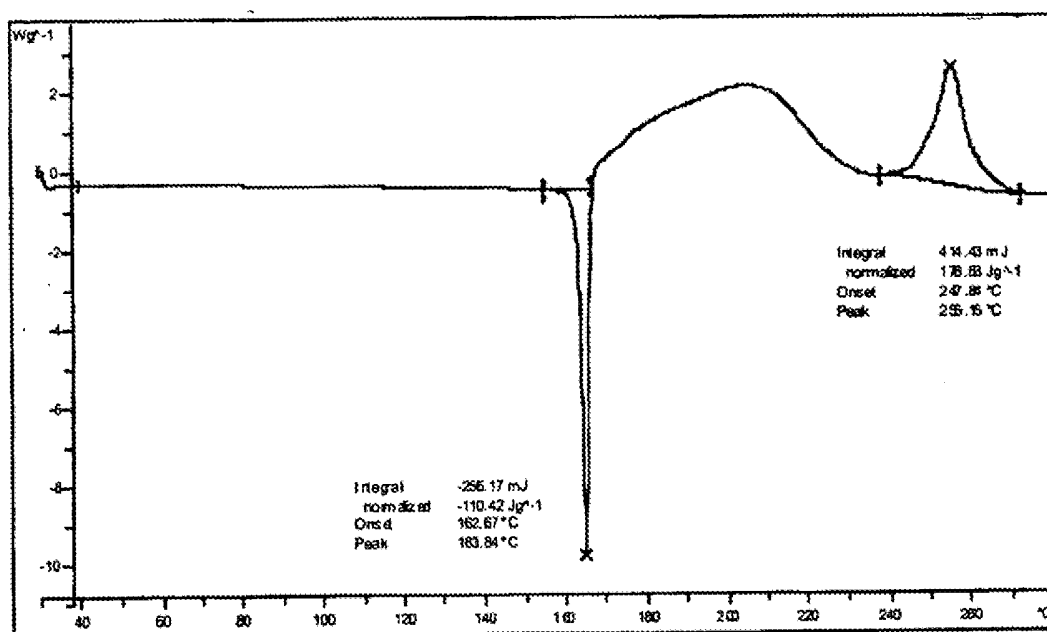


Figura 2

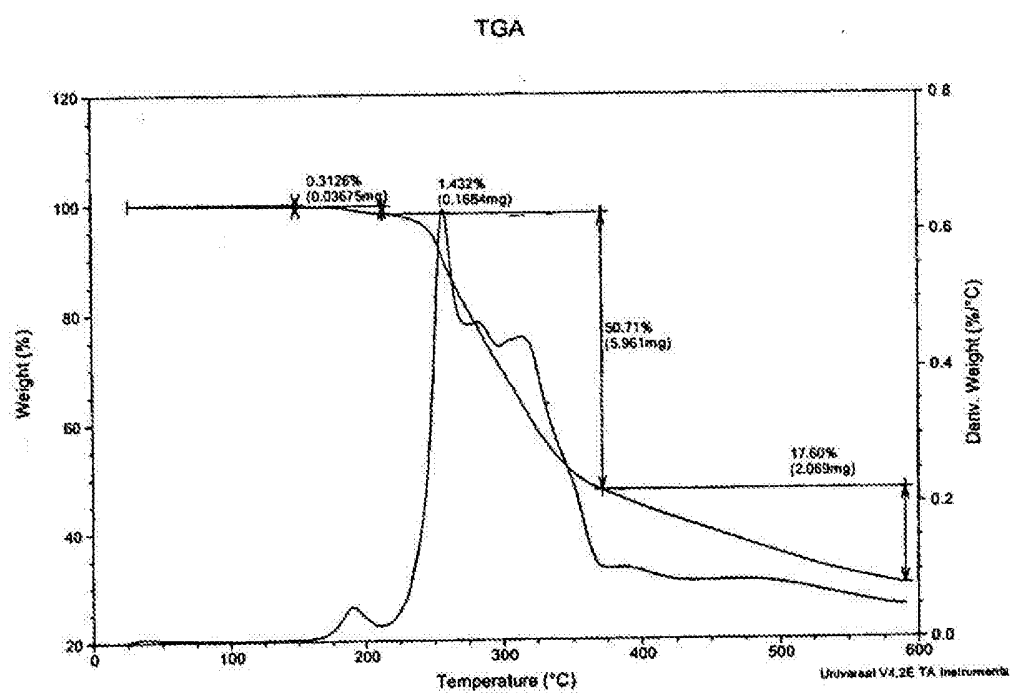


Figura 3