

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 665 419**

51 Int. Cl.:

C07D 271/08	(2006.01) A61P 29/00	(2006.01)
C07D 413/04	(2006.01) A61P 31/00	(2006.01)
C07D 413/12	(2006.01) A61P 35/00	(2006.01)
A61K 31/4245	(2006.01) A61P 37/00	(2006.01)
A61P 1/00	(2006.01) A61P 43/00	(2006.01)
A61P 11/00	(2006.01) A61K 39/395	(2006.01)
A61P 17/00	(2006.01) A61K 39/00	(2006.01)
A61P 19/00	(2006.01)	
A61P 25/00	(2006.01)	
A61P 27/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.07.2009 E 14175271 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.02.2018 EP 2824100**

54 Título: **1,2,5-Oxadiazoles como inhibidores de la indoleamina 2,3-dioxigenasa**

30 Prioridad:

08.07.2008 US 78876 P
09.02.2009 US 150873 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.04.2018

73 Titular/es:

INCYTE HOLDINGS CORPORATION (100.0%)
1801 Augustine Cut-Off
Wilmington, DE 19803, US

72 Inventor/es:

COMBS, ANDREW, P.;
YUE, EDDY, W.;
SPARKS, RICHARD, B.;
ZHU, WENYU;
ZHOU, JIACHENG;
LIN, QIYAN;
WENG, LINGKAI;
YUE, TAI-YUEN y
LIU, PINGLI

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 665 419 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

1,2,5-Oxadiazoles como inhibidores de la indoleamina 2,3-dioxigenasa**DESCRIPCIÓN****5 CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a derivados de 1,2,5-oxadiazol en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 para su uso en el tratamiento de cáncer. También se desvelan procedimientos y productos intermedios para prepararlos.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El triptófano (Trp) es un aminoácido esencial requerido para la biosíntesis de proteínas, niacina y el neurotransmisor 5-hidroxitriptamina (serotonina). La enzima indoleamina 2,3-dioxigenasa (también conocida como INDO o IDO) cataliza la primera etapa y limitante de la velocidad en la degradación de L-triptófano a N-formilquinurenina. En células humanas, una reducción de Trp resultante de la actividad de IDO es un mecanismo efector antimicrobiano inducible por interferón gamma (IFN- γ) importante. La estimulación de IFN- γ induce la activación de IDO, que conduce a una reducción de Trp, deteniendo así el crecimiento de patógenos intracelulares dependientes de Trp tales como *Toxoplasma gondii* y *Chlamydia trachomatis*. La actividad de IDO también tiene un efecto antiproliferativo sobre muchas células tumorales, y se ha observado inducción de IDO *in vivo* durante el rechazo de tumores alógenos, que indica una posible función para esta enzima en el proceso de rechazo de tumor (Daubener y col., 1999, Adv. Exp. Med. Biol., 467: 517-24; Taylor y col., 1991, FASEB J., 5: 2516-22).

Se ha observado que células HeLa co-cultivadas con linfocitos de sangre periférica (LSP) adquieren un fenotipo inmunoinhibidor mediante la regulación por incremento de la actividad de IDO. Se creyó que una reducción en la proliferación de LSP tras el tratamiento con interleucina-2 (IL-2) resultaba de la IDO liberada por las células tumorales en respuesta a la secreción de IFNG por los LSP. Este efecto se invirtió mediante el tratamiento con 1-metil-triptófano (1MT), un inhibidor de IDO específico. Se propuso que la actividad de IDO en células tumorales podía servir para alterar las respuestas antitumorales (Logan y col., 2002, Immunology, 105: 478-87).

Recientemente, una función inmunorreguladora de la reducción de Trp ha recibido mucha atención. Varias líneas de evidencia sugieren que la IDO participa en la inducción de tolerancia inmunitaria. Estudios de embarazo de mamífero, resistencia tumoral, infecciones crónicas y enfermedades autoinmunitarias han mostrado que las células que expresan IDO pueden suprimir las respuestas de linfocitos T y promover la tolerancia. Se ha observado catabolismo de Trp acelerado en enfermedades y trastornos asociados a activación inmunitaria celular, tales como infección, tumor maligno, enfermedades autoinmunitarias y SIDA, además de durante el embarazo. Por ejemplo, se han observado niveles elevados de IFN y elevados niveles de metabolitos de Trp urinario en enfermedades autoinmunitarias; se ha propuesto que la reducción sistémica o local de Trp que se produce en enfermedades autoinmunitarias puede relacionarse con los síntomas de degeneración y debilitamiento de estas enfermedades. En soporte de esta hipótesis, se observaron altos niveles de IDO en células aisladas del líquido sinovial de las articulaciones artríticas. Los IFN también son elevados en pacientes con virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y niveles de IFN crecientes están asociados con un pronóstico de empeoramiento. Así, se propuso que IDO se induce crónicamente por infección por el VIH, y se aumentó adicionalmente por infecciones oportunistas, y que la pérdida crónica de Trp inicia mecanismos responsables de caquexia, demencia y diarrea y posiblemente inmunosupresión de pacientes con SIDA (Brown y col., 1991, Adv. Exp. Med. Biol., 294: 425-35). Para este fin, se ha mostrado recientemente que la inhibición de IDO puede potenciar los niveles de linfocitos T específicos de virus y, concomitantemente, reducir el número de macrófagos viralmente infectados en un modelo de ratón de VIH (Portula y col., 2005, Blood, 106: 2382-90).

Se cree que la IDO desempeña una función en los procesos inmunosuprimidos que previenen el rechazo fetal en el útero. Hace más de 40 años se observó que, durante el embarazo, el producto de la concepción de mamífero genéticamente dispar sobrevive a pesar de lo que se predeciría por la inmunología del trasplante de tejido (Medawar, 1953, Symp. Soc. Exp. Biol. 7: 320-38). La separación anatómica de la madre y el feto y la inmadurez antigénica del feto no pueden explicar completamente la supervivencia del aloinjerto fetal. La atención reciente se ha centrado en la tolerancia inmunológica de la madre. Debido a que la IDO se expresa por células de sincitiotrofoblasto humanas y la concentración de triptófano sistémico disminuye durante el embarazo normal, se supuso que la expresión de IDO en la interfase materno-fetal es necesaria para prevenir el rechazo inmunológico de los aloinjertos fetales. Para probar esta hipótesis, ratones preñados (que llevan fetos singénicos o alógenos) se expusieron a 1MT, y se observó un rápido rechazo inducido por linfocitos T de todos los productos de la concepción alógenos. Así, catabolizando triptófano, el producto de la concepción de mamífero parece suprimir la actividad de linfocitos T y se defiende a sí mismo del rechazo, y el bloqueo del catabolismo del triptófano durante el embarazo murino permite que los linfocitos T maternos provoquen rechazo fetal del aloinjerto (Munn y col., 1998, Science, 281: 1191-3).

Pruebas adicionales de un mecanismo de resistencia inmunitaria tumoral basado en la degradación de triptófano por IDO proceden de la observación de que la mayoría de los tumores humanos expresan

constitutivamente IDO, y que la expresión de IDO por células tumorales de ratón inmunogénicas previene su rechazo por ratones preinmunizados. Este efecto va acompañado de una falta de acumulación de linfocitos T específicos en el sitio tumoral y puede invertirse parcialmente por el tratamiento sistémico de ratones con un inhibidor de IDO, en ausencia de toxicidad perceptible. Así, se sugirió que la eficacia de la vacunación terapéutica de pacientes con

5 cáncer podría mejorarse por la administración concomitante de un inhibidor de IDO (Uyttenhove y col., 2003, Nature Med., 9: 1269-74). También se ha mostrado que el inhibidor de IDO, 1-MT, puede sinergizar con agentes quimioterapéuticos para reducir el crecimiento tumoral en ratones, sugiriendo que la inhibición de IDO también puede potenciar la actividad antitumoral de terapias citotóxicas convencionales (Muller y col., 2005, Nature Med., 11: 312-9).

10 Un mecanismo que contribuye a la insensibilidad inmunológica hacia tumores puede ser la presentación de antígenos de tumor por las APC del huésped tolerogénicas. También se ha descrito un subconjunto de células presentadoras de antígeno (APC) que expresan IDO humana que co-expresaron CD123 (IL3RA) y CCR6 e inhibieron la proliferación de linfocitos T. Tanto las células dendríticas positivas para CD123 maduras como

15 inmaduras suprimieron la actividad de linfocitos T, y esta actividad supresora de IDO se bloqueó por 1MT (Munn y col., 2002, Science, 297: 1867-70). También se ha demostrado que los ganglios linfáticos drenantes de tumor de ratón (TDLN) contienen un subconjunto de células dendríticas plasmacitoides (pDC) que expresan constitutivamente niveles inmunosupresores de IDO. A pesar de que comprenden solo el 0,5 % de las células del ganglio linfático, *in vitro*, estas pDC suprimieron potentemente las respuestas de linfocitos T a antígenos presentados por las propias

20 pDC y, por tanto, de un modo dominante, suprimieron las respuestas de linfocitos T a antígenos de la tercera parte presentados por APC no supresoras. Dentro de la población de pDC, la mayoría de la actividad supresora mediada por IDO funcional se segregó con un subconjunto novedoso de pDC que co-expresan el marcador de linaje B CD19. Así, se supuso que la supresión mediada por IDO por pDC en TDLN crea un microentorno local que es posiblemente supresor de las respuestas de linfocitos T antitumorales del huésped (Munn y col., 2004, J. Clin. Invest., 114(2): 280-90).

25 IDO degrada el resto de indol del triptófano, la serotonina y la melatonina e inicia la producción de metabolitos neuroactivos e inmunorreguladores, conjuntamente conocidos como quinureninas. Reduciendo localmente el triptófano y aumentando las quinureninas proapoptóticas, la IDO expresada por células dendríticas (DC) puede afectar enormemente la proliferación y supervivencia de linfocitos T. La inducción de IDO en DC podría ser un mecanismo común de tolerancia de la delección accionada por los linfocitos T reguladores. Debido a que puede esperarse que tales respuestas tolerogénicas operen en una variedad de afecciones fisiopatológicas, el metabolismo del triptófano y la producción de quinurenina podría representar una superficie de separación crucial

30 entre los sistema inmunitario y nervioso (Grohmann y col., 2003, Trends Immunol., 24: 242-8). En estados de activación inmunitaria persistente, la disponibilidad de Trp en suero libre disminuye y, como consecuencia de la reducida producción de serotonina, también pueden afectarse funciones serotoninérgicas (Wirleitner y col., 2003, Curr. Med. Chem., 10: 1581-91).

40 De forma interesante, se ha observado que la administración de interferón- α induce efectos secundarios neuropsiquiátricos, tales como síntomas depresivos y cambios en la función cognitiva. La influencia directa sobre la neurotransmisión serotoninérgica puede contribuir a estos efectos secundarios. Además, debido a que la activación de IDO conduce a niveles de triptófano reducidos, el precursor de serotonina (5-HT) IDO puede desempeñar una función en estos efectos secundarios neuropsiquiátricos, reduciendo la síntesis de 5-HT central. Además, los metabolitos de quinurenina tales como 3-hidroxi-quinurenina (3-OH-KYN) y ácido quinolínico (QUIN) tienen efectos tóxicos sobre la función cerebral. La 3-OH-KYN puede producir estrés oxidativo, aumentando la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), y la QUIN puede producir hiperestimulación de los receptores hipocámpicos de N-metil-D-aspartato (NMDA), que conduce a apoptosis y atrofia hipocámpica. Tanto la producción en exceso de ROS como la atrofia hipocámpica producida por la hiperestimulación de NMDA se han asociado a depresión (Wichers y Maes, 2004, J. Psychiatry Neurosci., 29: 11-17). Así, la actividad de IDO puede desempeñar una función

50 en la depresión.

Están siendo desarrollados inhibidores de molécula pequeña de IDO para tratar o prevenir enfermedades relacionadas con IDO tales como aquellas descritas anteriormente. Por ejemplo, se informan oxadiazol y otros inhibidores de IDO heterocíclicos en los documentos US 2006/0258719 y US 2007/0185165. La publicación PCT

55 WO 99/29310 informa de procedimientos de alteración de la inmunidad mediada por linfocitos T que comprenden alterar concentraciones extracelulares locales de triptófano y metabolitos de triptófano, usando un inhibidor de IDO tal como 1-metil-DL-triptófano, p-(3-benzofuranil)-DL-alanina, p-[3-benzo(b)tienil]-DL-alanina y 6-nitro-L-triptófano (Munn, 1999). En el documento WO 03/087347, también publicado como la patente europea 1501918, están procedimientos de preparación de células presentadoras de antígeno para potenciar o reducir la tolerancia de linfocitos T (Munn, 2003). Compuestos que tienen actividad inhibidora de indoleamina-2,3-dioxigenasa (IDO) se informan adicionalmente en el documento WO 2004/094409; y la publicación de solicitud de patente de EE.UU. nº 2004/0234623 se refiere a procedimientos de tratamiento de un sujeto con un cáncer o una infección por la administración de un inhibidor de indoleamina-2,3-dioxigenasa en combinación con otras modalidades terapéuticas. Los documentos WO 2008/058178 y WO 2007/075598 describen moduladores de indoleamina 2,3-dioxigenasa (IDO), así como composiciones farmacéuticas que contienen los mismos, y procedimientos de uso de los mismos

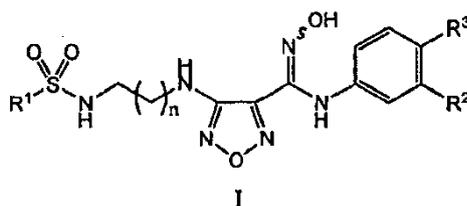
65

relacionados con el tratamiento de cáncer y otras enfermedades.

En vista de los datos experimentales que indican una función para IDO en la inmunosupresión, resistencia y/o rechazo tumoral, infecciones crónicas, infección por el VIH, SIDA (incluyendo sus manifestaciones tales como caquexia, demencia y diarrea), enfermedades o trastornos autoinmunitarios (tales como artritis reumatoide) y tolerancia y prevención inmunológica de rechazo fetal en el útero, son deseables agentes terapéuticos que tienen como objetivo la supresión de la degradación del triptófano inhibiendo la actividad de IDO. Pueden usarse inhibidores de IDO para activar linfocitos T y, por tanto, potenciar la activación de linfocitos T cuando los linfocitos T se suprimen por embarazo, tumor maligno o un virus tal como VIH. La inhibición de IDO también puede ser una estrategia de tratamiento importante para pacientes con enfermedades o trastornos neurológicos o neuropsiquiátricos tales como depresión. Los compuestos, composiciones y procedimientos en el presente documento ayudan a cumplir las necesidades actuales para moduladores de IDO.

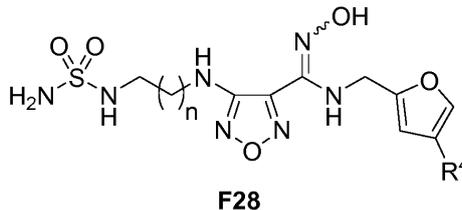
RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona, entre otras cosas, inhibidores de IDO de fórmula I:



o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde se definen en la presente variables constituyentes, en combinación con anticuerpo anti-PD-1 para su uso en el tratamiento del cáncer.

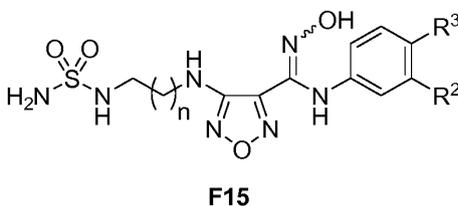
La presente invención proporciona además un compuesto de Fórmula F28



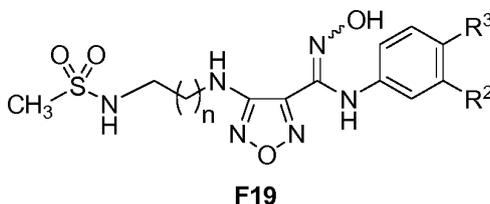
o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 para su uso en el tratamiento de un cáncer, en donde:

R⁴ es F, Cl, Br, o I; y
n es 1 ó 2.

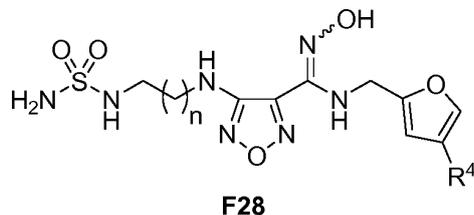
También se divulgan intermedios, procesos para preparar los mismos, y composiciones que contienen los mismos, que son útiles en la preparación de un compuesto de Fórmula F15:



También se divulgan intermedios, procesos para preparar los mismos, y composiciones que contienen los mismos, que son útiles en la preparación de un compuesto de Fórmula F19:



También se divulgan intermedios, procesos para preparar los mismos, y composiciones que contienen los mismos, que son útiles en la preparación de un compuesto de Fórmula F28:

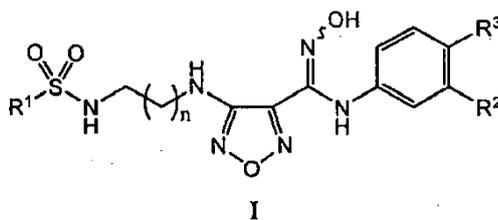


BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 15 La Figura 1 muestra un patrón de XRPD característico del compuesto de la invención preparado en el Ejemplo 1.
 La Figura 2 muestra un termograma de DSC característico del compuesto de la invención preparado en el Ejemplo 1.
 La Figura 3 muestra datos de TGA característicos del compuesto de la invención preparado en el Ejemplo 1.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención proporciona, entre otras cosas, inhibidores deIDO de fórmula I:



o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos (en el presente documentos referidos como "compuestos de la invención"), en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 para su uso en el tratamiento del cáncer, en la que:

- 40 R¹ es NH₂ o CH₃;
 R² es Cl, Br, CF₃, CH₃ o CN;
 R³ es H o F; y
 n es 1 ó 2.

En algunas realizaciones, R¹ es NH₂.

En algunas realizaciones, R¹ es CH₃.

En algunas realizaciones, R² es Cl.

En algunas realizaciones, R² es Br.

En algunas realizaciones, R² es CF₃.

En algunas realizaciones, R² es CH₃.

En algunas realizaciones, R² es CN.

En algunas realizaciones, R³ es H.

En algunas realizaciones, R³ es F.

En algunas realizaciones, n es 1.

En algunas realizaciones, n es 2.

Los compuestos de la presente invención pueden existir en diversas formas sólidas. Como se usa en el presente documento, "forma sólida" pretende referirse a un sólido caracterizado por una o más propiedades tales

como, por ejemplo, punto de fusión, solubilidad, estabilidad, cristalinidad, higroscopicidad, contenido de agua, características de TGA, características de DSC, características de DVS, características de XRPD, etc. Las formas sólidas, por ejemplo, pueden ser amorfas, cristalinas, o mezclas de las mismas.

5 Diferentes formas sólidas cristalinas normalmente tienen diferentes redes cristalinas (por ejemplo, celdillas unidad) y, normalmente como resultado, tienen diferentes propiedades físicas. En algunos casos, diferentes formas cristalinas sólidas tienen diferente contenido de agua o de disolvente. Las diferentes redes cristalinas pueden identificarse por procedimientos de caracterización en estado sólido tales como por difracción de rayos X de polvo (XRPD). Otros procedimientos de caracterización tales como calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA), sorción dinámica de vapor (DVS) y similares ayudan adicionalmente a identificar la forma sólida, además de ayudar a determinar la estabilidad y contenido de disolvente/agua.

15 Se proporcionan diversas formas sólidas de 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etil}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (ver Ejemplo 1). En algunas realizaciones, la forma sólida es un sólido cristalino. En algunas realizaciones, la forma sólida es sustancialmente anhidra (por ejemplo, contiene menos de aproximadamente el 1 % de agua, menos de aproximadamente el 0,5 % de agua, menos de aproximadamente el 1,5 % de agua, menos de aproximadamente el 2 % de agua). En algunas realizaciones, la forma sólida se caracteriza por un punto de fusión de, o una endoterma de DSC centrada en, aproximadamente 162 a aproximadamente 166 °C. En algunas realizaciones, la forma sólida se caracteriza por un punto de fusión de, o una endoterma de DSC centrada en, aproximadamente 164 °C. En algunas realizaciones, la forma sólida tiene un termograma de DSC sustancialmente como se muestra en la Figura 2. En realizaciones adicionales, la forma sólida tiene al menos uno, dos o tres picos de XRPD, en términos de 2-theta, seleccionados de aproximadamente 18,4°, aproximadamente 18,9°, aproximadamente 21,8°, aproximadamente 23,9°, aproximadamente 29,2° y aproximadamente 38,7°. En realizaciones adicionales, la forma sólida tiene un patrón de XRPD sustancialmente como se muestra en la Figura 1.

25 También se proporciona una composición que comprende una forma sólida de 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etil}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (ver Ejemplo 1). La composición puede comprender al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 75 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 % o al menos aproximadamente el 99 % en peso de la forma sólida. La composición también puede contener un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la forma sólida está sustancialmente purificada.

35 Un patrón de XRPD de reflexiones (picos) normalmente se considera una huella dactilar de una forma cristalina particular. Es muy conocido que las intensidades relativas de los picos de XRPD puedan variar ampliamente dependiendo de, entre otras cosas, la técnica de preparación de muestras, distribución de tamaño del cristal, diversos filtros usados, el procedimiento de montaje de muestras y el instrumento particular empleado. En algunos casos, pueden observarse nuevos picos o picos existentes pueden desaparecer, dependiendo del tipo de instrumento o los parámetros. Como se usa en el presente documento, el término "pico" se refiere a una reflexión que tiene una altura/intensidad relativa de al menos aproximadamente el 4 % de la altura/intensidad de pico máxima. Además, la variación instrumental y otros factores pueden afectar los valores de 2-theta. Así, asignaciones de picos tales como aquellas informadas en el presente documento pueden variar más o menos aproximadamente 0,2° (2-theta), y el término "sustancialmente" como se usa en el contexto de XRPD en el presente documento pretende englobar las variaciones anteriormente mencionadas.

45 De la misma forma, las lecturas de temperatura a propósito de DSC, TGA, u otros experimentos térmicos, pueden variar aproximadamente ± 3 °C dependiendo del instrumento, parámetros particulares, preparación de muestras, etc. Por consiguiente, se entiende que una forma cristalina informada en el presente documento que tiene un termograma de DSC "sustancialmente" como se muestra en cualquiera de las figuras admite tal variación.

50 En diversos sitios en la presente memoria descriptiva pueden desvelarse sustituyentes de compuestos de la invención en grupos o en intervalos. Se pretende específicamente que la invención incluya todas y cada una de la subcombinación individual de los miembros de tales grupos y intervalos.

55 Se pretende que los compuestos de la invención sean estables. Como se usa en el presente documento, "estable" se refiere a un compuesto que es suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento a un grado de pureza útil de una mezcla de reacción, y preferentemente que sea capaz de formularse en un agente terapéutico eficaz.

60 Se aprecia adicionalmente que ciertas características de la invención, que se describen, por claridad, en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una única realización. En cambio, diversas características de la invención que se describen, por brevedad, en el contexto de una única realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada.

65 Está adicionalmente previsto que los compuestos de la invención incluyan todos los posibles isómeros

geométricos. Se describen isómeros geométricos cis y trans de los compuestos de la presente invención y pueden aislarse como una mezcla de isómeros o como formas isoméricas separadas. Está previsto que un enlace en un diagrama de estructura representado por una línea ondulada “” indique que la estructura representa el isómero cis o trans, o una mezcla de los isómeros cis y trans en cualquier proporción.

5 Los compuestos de la invención también incluyen formas tautómeras. Las formas tautómeras resultan del intercambio de un enlace sencillo con un doble enlace adyacente junto con la migración concomitante de un protón.

10 Los compuestos de la invención también pueden incluir todos los isótopos de átomos que se producen en los productos intermedios o compuestos finales. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico, pero diferentes números másicos. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio.

15 En algunas realizaciones, los compuestos de la invención, y sales de los mismos, están sustancialmente aislados. Por “sustancialmente aislados” se indica que el compuesto está al menos parcialmente o sustancialmente separado del entorno en el que se formó o detectó. La separación parcial puede incluir, por ejemplo, una composición enriquecida en el compuesto de la invención. La separación sustancial puede incluir composiciones que contienen al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 %, al menos aproximadamente el 97 %, o al menos aproximadamente el 99 % en peso del compuesto de la invención, o sal del mismo. Procedimientos para aislar compuestos y sus sales son rutinarios en la materia.

25 La presente invención también incluye sales de los compuestos descritos en el presente documento. Como se usa en el presente documento, “sales” se refiere a derivados de los compuestos desvelados en los que el compuesto parental se modifica convirtiendo un resto de ácido o base existente en su forma de sal. Ejemplos de sales incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales (tales como HCl, HBr, H₂SO₄) o de ácidos orgánicos (tales como ácido acético, ácido benzoico, ácido trifluoroacético) de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas (tales como Li, Na, K, Mg, Ca) u orgánicas (tales como trialkilamonio) de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto parental que contiene un resto básico o ácido por procedimientos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo (ACN).

35 Las “sales farmacéuticamente aceptables” de la presente invención incluyen un subconjunto de las “sales” descritas anteriormente que son sales no tóxicas convencionales del compuesto parental formado, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Listas de sales adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, pág. 1418 y Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977). El término “farmacéuticamente aceptables” se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del criterio médico sensato, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable.

45 *Procedimientos de síntesis*

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse en una variedad de formas conocidas para un experto en la materia de la síntesis orgánica. Los compuestos de la presente invención pueden sintetizarse usando los procedimientos como se describen en el presente documento más adelante, junto con procedimientos sintéticos conocidos en la técnica de la química orgánica sintética o variaciones de los mismos como se aprecia por aquellos expertos en la materia.

55 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse a partir de materiales de partida fácilmente disponibles usando los siguientes métodos y procedimientos generales. Se apreciará que si se facilitan condiciones de procedimiento típicas o preferidas (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares de reactantes, disolventes, presiones, etc.), también pueden usarse otras condiciones de procedimiento, a menos que se establezca de otro modo. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reactantes particulares o disolvente usado, pero tales condiciones pueden determinarse por un experto en la materia por procedimientos de optimización rutinaria.

60 Los procedimientos descritos en el presente documento pueden monitorizarse según cualquier procedimiento adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, la formación de productos puede monitorizarse por medios espectroscópicos, tales como espectroscopía de resonancia magnética nuclear (por ejemplo, ¹H o ¹³C), espectroscopía infrarroja, espectrofotometría (por ejemplo, UV-visible) o espectrometría de masas; o por cromatografía tal como cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o cromatografía en capa fina. Los

compuestos obtenidos mediante las reacciones pueden purificarse por cualquier procedimiento adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, cromatografía (presión media) sobre un adsorbente adecuado (por ejemplo, gel de sílice, alúmina y similares), HPLC o cromatografía preparativa en capa fina; destilación; sublimación, trituración o recristalización.

5 La preparación de compuestos puede implicar la protección y desprotección de diversos grupos químicos. La necesidad de protección y desprotección, y la selección de grupos protectores apropiados, puede determinarse fácilmente por un experto en la materia. La química de los grupos protectores puede encontrarse, por ejemplo, en Wuts y Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4^a ed., John Wiley & Sons: New York, 2006.

10 Las reacciones de los procedimientos descritos en el presente documento pueden llevarse a cabo en disolventes adecuados que pueden seleccionarse fácilmente por un experto en la materia de la síntesis orgánica. Disolventes adecuados pueden ser sustancialmente no reactivos con los materiales de partida (reactantes), los productos intermedios, o productos, a las temperaturas a las que las reacciones se llevan a cabo, es decir, temperaturas que pueden oscilar de la temperatura de congelación del disolvente a la temperatura de ebullición del disolvente. Puede llevarse a cabo una reacción dada en un disolvente o una mezcla de más de un disolvente. Dependiendo de la etapa de reacción, pueden seleccionarse disolvente(s) adecuado(s) para esa etapa de reacción particular. Disolventes apropiados incluyen agua, alcanos (tales como pentanos, hexanos, heptanos, ciclohexano, etc., o una mezcla de los mismos), disolventes aromáticos (tales como benceno, tolueno, xileno, etc.), alcoholes (tales como metanol, etanol, isopropanol, etc.), éteres (tales como dialquileteres, metil *terc*-butil éter (MTBE), tetrahidrofurano (THF), dioxano, etc.), ésteres (tales como acetato de etilo, acetato de butilo, etc.), disolventes halogenados (tales como diclorometano (DCM), cloroformo, dicloroetano, tetracloroetano), dimetilformamida (DMF), sulfóxido de dimetilo (DMSO), acetona, acetonitrilo (ACN), hexametilfosforamida (HMPA) y N-metilpirrolidona (NMP). Tales disolventes pueden usarse en tanto sus formas húmedas como anhidras.

25 La resolución de mezclas racémicas de compuestos puede llevarse a cabo por cualquiera de los numerosos procedimientos conocidos en la técnica. Un procedimiento de ejemplo incluye la recristalización fraccionada usando un "ácido de resolución quiral", que es un ácido orgánico formador de sal ópticamente activo. Agentes de resolución adecuados para los procedimientos de recristalización fraccionada son, por ejemplo, ácidos ópticamente activos, tales como las formas D y L de ácido tartárico, ácido diacetiltartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido mandélico, ácido málico, ácido láctico, o los diversos ácidos canforsulfónicos ópticamente activos. La resolución de mezclas racémicas también puede llevarse a cabo por elución sobre una columna empaquetada con un agente de resolución ópticamente activo (por ejemplo, dinitrobenzoilfenilglicina). La composición de disolventes de elución adecuados puede determinarse por un experto en la materia.

30 35 Los compuestos de la invención pueden prepararse, por ejemplo, usando las rutas y técnicas de reacción que se describen a continuación.

40 Los procedimientos y productos intermedios descritos en el presente documento son útiles en la preparación de inhibidores de IDO. Un esquema general para la preparación de los compuestos F15 de la invención se describe en el Esquema 1.

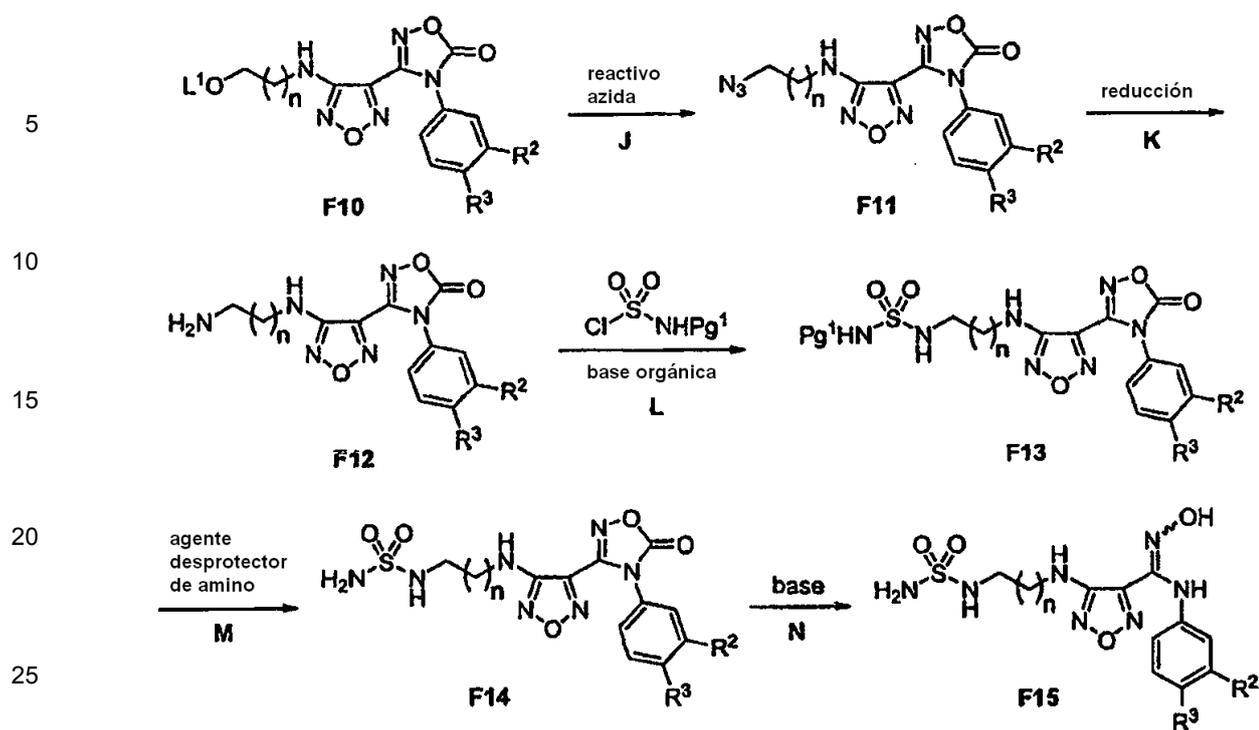
45

50

55

60

65



30 Refiriéndose ahora al Esquema 1, se describe un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula F15, o una sal del mismo, en la que R² es Cl, Br, CF₃, CH₃ o CN; R³ es H o F; y n es 1 ó 2, haciendo reaccionar un compuesto de fórmula F13, o una sal del mismo, en la que Pg¹ es un grupo protector de amino, con un agente desprotector de amino (Etapa M) proporcionando un compuesto de fórmula F14, o una sal del mismo; y haciendo reaccionar el compuesto de fórmula F14 con una base (Etapa N) proporcionando el compuesto de fórmula F15. El compuesto de fórmula F15 puede purificarse por trituración o recristalización usando disolventes tales como agua, etanol, MTBE o una combinación de los mismos.

35 En algunas realizaciones, R² es Br, R³ es F y n es 1.

40 En algunas realizaciones, R² es Br, R³ es F y n es 2.

En algunas realizaciones, R² es Cl, R³ es F y n es 1.

45 En algunas realizaciones, R² es Cl, R³ es F y n es 2.

En algunas realizaciones, R² es CF₃, R³ es F y n es 1.

En algunas realizaciones, R² es CF₃, R³ es F y n es 2.

50 En algunas realizaciones, R² es CF₃, R³ es H y n es 1.

En algunas realizaciones, R² es CF₃, R³ es H y n es 2.

55 En algunas realizaciones, R² es CN, R³ es F y n es 1.

Habitualmente se usan grupos protectores de amino en la síntesis orgánica para prevenir reacciones no deseadas de un grupo amino mientras que se realiza una transformación deseada. Los grupos protectores de amino permiten la fácil unión covalente con un átomo de nitrógeno, además de la escisión selectiva del átomo de nitrógeno. Diversos grupos protectores de amino, clasificados ampliamente como alcóxicarbonilo (tales como etoxicarbonilo, *tert*-butoxicarbonilo (Boc), benciloxycarbonilo (Cbz), 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc) y similares), acilo (tales como acetilo (Ac), benzoilo (Bz) y similares), sulfonilo (tales como metanosulfonilo, trifluorometanosulfonilo y similares), arilalquilo (tales como bencilo, difenilmetilo, trifenilmetilo (trilito) y similares), alquenilalquilo (tales como alilo, prenilo y similares), diarilmetileneilo (tales como (C₆H₅)₂C=N y similares) y sililo (tales como *tert*-butildimetilsililo, triisopropilsililo y similares), son conocidos para un experto en la materia. La química de los grupos protectores de amino puede encontrarse en Wuts y Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4^a ed., pág. 696-926,

John Wiley & Sons: New York, 2006. En algunos aspectos, Pg¹ puede ser alcoxicarbonilo (tal como *tert*-butoxicarbonilo).

5 Los grupos protectores de amino anteriormente descritos pueden eliminarse convenientemente usando muchos agentes desprotectores de amino disponibles que son específicos para los diversos grupos mencionados anteriormente sin afectar otras partes deseadas del compuesto. El grupo *tert*-butoxicarbonilo puede eliminarse (por ejemplo, hidrolizarse) del átomo de nitrógeno, por ejemplo, mediante tratamiento con un ácido (tal como ácido trifluoroacético, ácido toluenosulfónico, ácido clorhídrico y similares); una combinación de reactivos (por ejemplo, mezcla de cloruro de acetilo y metanol) conocida para generar un ácido; o un ácido de Lewis (por ejemplo, BF₃·Et₂O). El grupo benciloxicarbonilo puede eliminarse (por ejemplo, hidrogenolizarse) del átomo de nitrógeno, por ejemplo, mediante tratamiento con hidrógeno y un catalizador (tal como paladio sobre carbono). En algunos aspectos, el agente desprotector de amino puede ser ácido trifluoroacético. En algunos aspectos, el agente desprotector de amino contiene ácido trifluoroacético y >0,5 % en volumen de agua, por ejemplo, >1,0 % en volumen de agua, >1,5 % en volumen de agua, >2,0 % en volumen de agua, de aproximadamente el 2 % a aproximadamente el 10 % en volumen de agua, de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 20 % en volumen de agua, o de aproximadamente el 20 % a aproximadamente el 50 % en volumen de agua. En algunos aspectos, el agente desprotector de amino puede ser una mezcla de ácido trifluoroacético y agua en una relación volumétrica de aproximadamente 98:2. En algunos aspectos, el agente desprotector de amino puede ser ácido clorhídrico, opcionalmente en un disolvente (tal como agua, THF, o dioxano). En tales aspectos, el ácido clorhídrico puede estar presente en una concentración de aproximadamente 4 N, por ejemplo, aproximadamente 1 N, aproximadamente 2 N, aproximadamente 3 N, aproximadamente 5 N, aproximadamente 6 N, aproximadamente 7 N, aproximadamente 8 N, aproximadamente 9 N o aproximadamente 10 N. En algunos aspectos, la desprotección puede realizarse en un alcohol (tal como isopropanol). En algunos aspectos, la etapa M (Esquema 1) puede realizarse a una temperatura de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 60 °C, por ejemplo, de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 25 °C, de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 45 °C, o de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 60 °C.

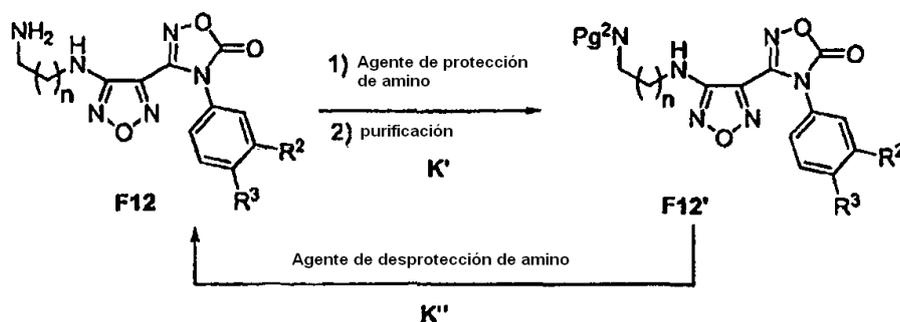
30 Puede usarse una base para la conversión (por ejemplo, hidrólisis) del anillo de oxadiazolona en F14 para revelar la amidoxima en F15, opcionalmente en un disolvente (Etapa N, Esquema 1). La protección de la amidoxima como la oxadiazolona puede ser útil para prevenir reacciones adversas del grupo hidroxilo o aquellas de la amidoxima en conjunto. La base puede ser tanto una base orgánica, tal como una amina acíclica (por ejemplo, trietilamina, diisopropiletilamina (DIPEA), etc.) como una amina cíclica (por ejemplo, pirrolidina, piperidina, etc.); o una base inorgánica tal como álcali (por ejemplo, NaOH, LiOH, KOH, Mg(OH)₂, etc.). La base puede ponerse a disposición en forma de una resina (tal como Amberlite® y similares). En algunos aspectos adicionales, la base puede proporcionarse en forma de una disolución en agua tal como disolución aproximadamente 2 N (por ejemplo, disolución aproximadamente 0,5 N, disolución aproximadamente 1 N, disolución aproximadamente 1,5 N, disolución aproximadamente 2,5 N, disolución de aproximadamente 3 N a aproximadamente 5 N, disolución de aproximadamente 5 N a aproximadamente 10 N). En algunos aspectos, la base es hidróxido de metal alcalino (tal como hidróxido sódico). En algunos aspectos, la base puede ser disolución de NaOH 2 N en agua. En algunos aspectos, el disolvente puede ser metanol o tetrahidrofurano (THF). En algunos aspectos, la etapa N (Esquema 1) puede realizarse a una temperatura de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 60 °C, por ejemplo, de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 25 °C, de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 45 °C, o de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 60 °C.

45 En la Etapa L (Esquema 1), el compuesto de fórmula F13 puede obtenerse tratando un compuesto de fórmula F12, o una sal del mismo, con Pg¹-NH-cloruro de sulfonilo, opcionalmente en un disolvente, seguido de tratamiento de la mezcla resultante con una base orgánica proporcionando el compuesto de fórmula F13. Esta etapa L (Esquema 1) transforma una amina primaria F12 en una sulfonilurea F13 usando un cloruro de amino-sulfonilo protegido (Pg¹-NH-SO₂Cl). El cloruro de amino-sulfonilo protegido puede prepararse y usarse inmediatamente en la reacción con F12. El grupo protector podría seleccionarse de cualquiera de los grupos protectores conocidos en la técnica para proteger aminas o sulfonamidas (arriba). En algunos aspectos, Pg¹ puede ser un grupo alcoxicarbonilo (tal como *tert*-butoxicarbonilo). En tales aspectos, el alcoxicarbonil-NH-cloruro de sulfonilo puede obtenerse mediante la reacción de un alcohol (tal como, etanol, alcohol *tert*-butílico y similares) con isocianato de clorosulfonilo (ClS(O)₂NCO). Disolventes apropiados para esta reacción incluyen, pero no se limitan a, disolventes halogenados tales como diclorometano y similares. La base orgánica puede ser cualquier base que sirva para neutralizar el HCl generado durante la reacción de la amina primaria tal como F12 y el cloruro de amino-sulfonilo protegido. La base orgánica puede incluir aminas terciarias acíclicas tales como trietilamina (C₁₋₆)-amina (por ejemplo, trietilamina, diisopropiletilamina (DIPEA) y similares), aminas terciarias cíclicas (por ejemplo, N-metilpiperidina, 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO) y similares). En algunos aspectos, la base orgánica puede ser trietilamina. En algunos aspectos, esta etapa puede realizarse a una temperatura de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 60 °C, por ejemplo, de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 25 °C, de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 45 °C, o de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 60 °C.

65 Los compuestos orgánicos pueden reducirse a un estado de menor oxidación usando agentes reductores.

La reducción normalmente implica la adición de átomos de hidrógeno o la eliminación de átomos de oxígeno de un grupo. Azidas orgánicas tales como F11 pueden reducirse a aminas tales como F12 (Etapa K, Esquema 1) mediante la adición de hidrógeno, tanto en forma de hidrógeno elemental como usando un hidruro reactivo (tal como NaBH_4 , LiAlH_4 y similares); usando trifenilfosfina; o usando una combinación de yoduro de sodio, clorotrimetilsilano y metanol. En algunos aspectos, el compuesto de fórmula F12 puede obtenerse reduciendo un compuesto de fórmula F11, o una sal del mismo. En algunos aspectos, la reducción puede llevarse a cabo en presencia de yoduro de sodio, clorotrimetilsilano y metanol. En algunos aspectos, la relación molar de yoduro de sodio y clorotrimetilsilano puede ser aproximadamente 1,0, por ejemplo, aproximadamente 0,9, aproximadamente 0,95, aproximadamente 1,0, aproximadamente 1,05, o aproximadamente 1,1. En algunos aspectos, puede añadirse clorotrimetilsilano a la mezcla de F11, yoduro de sodio y metanol como disolución en metanol. En algunos aspectos, la Etapa K (Esquema 1) puede realizarse a aproximadamente temperatura ambiente, por ejemplo, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 50 °C, de aproximadamente 15 °C a aproximadamente 40 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C, o de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 30 °C.

Los compuestos de amina F12, en algunos casos, pueden demostrar ser desafiantes de obtener en forma sustancialmente pura como se ha determinado por HPLC o espectroscopía de RMN y similares. Aunque no se pretende quedar ligado a teoría, se cree que algunas de estas aminas podrían ser difíciles de purificar por cromatografía en gel de sílice debido a la alta afinidad por el gel de sílice o debido a la degradación no deseada durante la purificación. En tales aspectos, refiriéndose ahora al Esquema 2, el compuesto de fórmula F12 puede purificarse haciendo reaccionar el compuesto de fórmula F12 con un agente protector de amina proporcionando un compuesto de fórmula F12', o una sal del mismo, en la que Pg^2N es una amina protegida. Esta protección (Etapa K') puede ir seguida de purificar el compuesto de fórmula F12' proporcionando un compuesto purificado de fórmula F12' y haciendo reaccionar el compuesto purificado de fórmula F12' con un agente desprotector de amina (Etapa K'') proporcionando un compuesto purificado de fórmula F12. Los agentes protectores de amina y los agentes desprotectores de amina son conocidos para un experto en la materia, tales como aquellos en Wuts y Greene (arriba). En algunos aspectos, el agente protector de amina es dicarbonato de di-*t*-butilo (Boc_2O). En tales aspectos, Pg^2N es *tert*-butoxi-carbonil-NH. En tales realizaciones, el agente desprotector de amina es un reactivo que puede eliminar el grupo protector de Boc (arriba). En tales realizaciones, el agente desprotector de amina es un ácido (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido trifluoroacético y similares), opcionalmente en un disolvente (tal como agua, THF o dioxano). En algunos aspectos, el ácido clorhídrico puede estar presente en una concentración de aproximadamente 4 N, por ejemplo, aproximadamente 1 N, aproximadamente 2 N, aproximadamente 3 N, aproximadamente 5 N, aproximadamente 6 N, aproximadamente 7 N, aproximadamente 8 N, aproximadamente 9 N, o aproximadamente 10 N. En algunas realizaciones, la desprotección puede realizarse en un alcohol (tal como isopropanol). En algunos aspectos, la etapa K' o K'' puede realizarse a una temperatura de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 60 °C, por ejemplo, de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 25 °C, de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 45 °C, o de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 60 °C. Procedimientos de purificación apropiados son conocidos para un experto en la materia y pueden incluir cromatografía, cristalización, sublimación y similares. En algunos aspectos, la purificación puede realizarse por cromatografía sobre gel de sílice. La pureza de los compuestos, en general, se determina por procedimientos físicos tales como medición del punto de fusión (en el caso de un sólido), obtención de un espectro de RMN o realización de una separación por HPLC. Si el punto de fusión disminuye, si disminuyen señales no deseadas en el espectro de RMN, o si se eliminan picos externos en una traza de HPLC, puede decirse que el compuesto se ha purificado. En algunos aspectos, los compuestos se purifican sustancialmente.

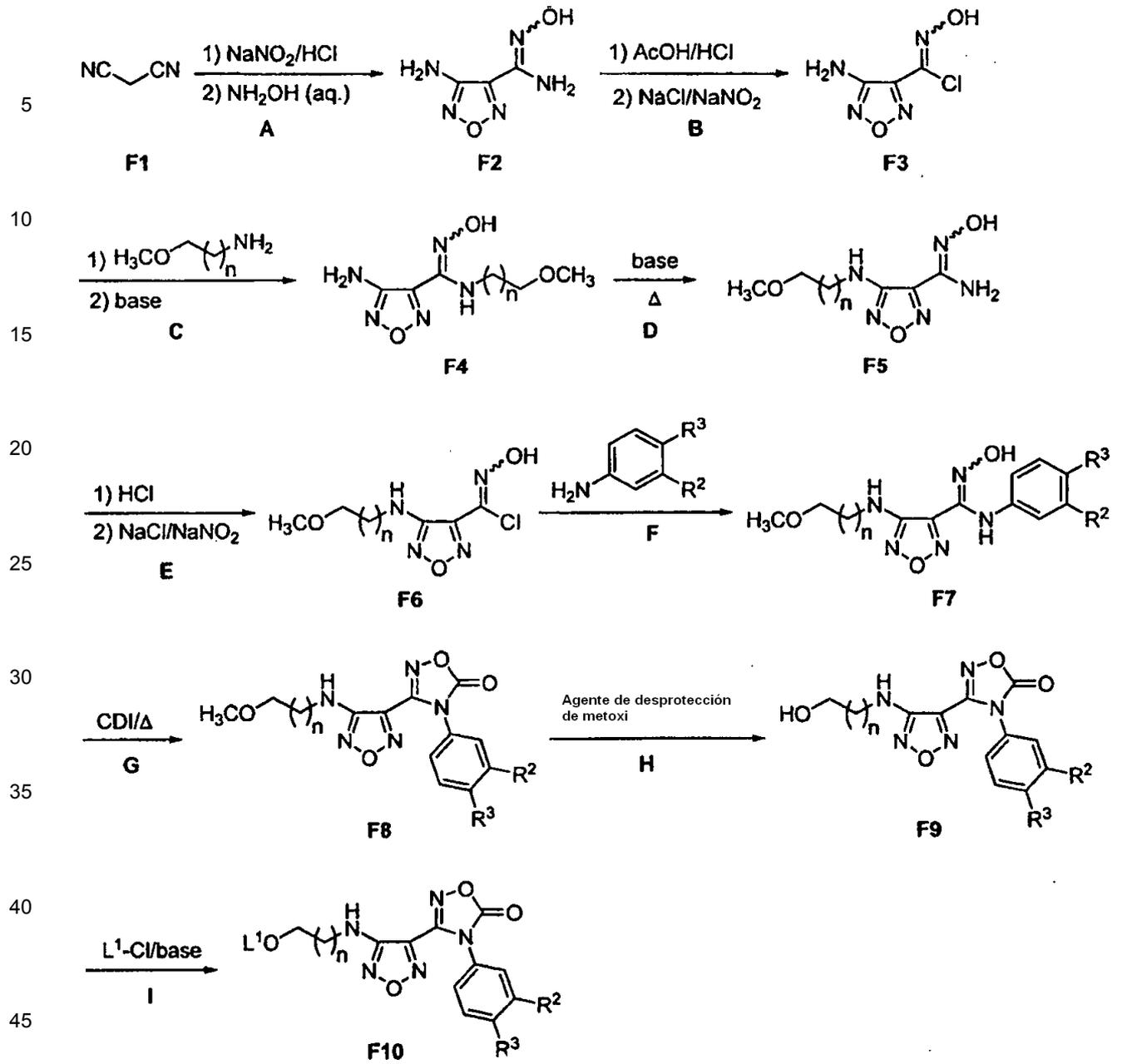


Esquema 2

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula F11 (Esquema 1) puede obtenerse tratando un compuesto de fórmula F10, o una sal del mismo, en la que L^1 puede seleccionarse de alquilsulfonilo (tal como metanosulfonilo), haloalquilsulfonilo (tal como trifluorometanosulfonilo), arilsulfonilo (tal como toluenosulfonilo) y similares; con un reactivo de azida proporcionando el compuesto de fórmula F11 (Etapa J). En algunos aspectos, L^1 es alquilsulfonilo. Los reactivos de azida incluyen cualquier reactivo que pueda producir un ión de azida nucleófilo. Ejemplos de reactivos de azida incluyen azidas de metal alcalino (tales como azida de sodio, azida de potasio, etc.). En algunos aspectos opcionales, el reactivo de azida tal como la azida de sodio puede usarse en combinación con

yoduro de sodio. Disolventes apropiados para esta transformación son disolventes polares que incluyen DMF, DMSO, NMP y similares. En algunos aspectos, la Etapa J puede llevarse a cabo en DMF. La Etapa J puede llevarse a cabo a una temperatura elevada, por ejemplo, de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 100 °C, de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 90 °C, o de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 80 °C. En algunos aspectos, la Etapa J puede llevarse a cabo a aproximadamente 50 °C. En algunos aspectos, la Etapa J puede llevarse a cabo a aproximadamente 85 °C.

El compuesto de fórmula F10, o una sal del mismo, puede obtenerse en una secuencia de etapas mostrada en el Esquema 3. La preparación del producto intermedio, 4-amino-*N*'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida F2, se ha descrito en J. Heterocycl. Chem. (1965), 2, 253, y su conversión en la oxima de cloro F3 se ha descrito en Synth. Commun. (1988), 18, 1427. Pueden acoplarse aminas (tales como aminas primarias o secundarias que incluyen aminas que contienen funcionalidades protegidas, por ejemplo, etilamina, 2-metoxietilamina o dimetilamina) a la oxima de cloro F3, opcionalmente en un disolvente (tal como acetato de etilo), seguido de la adición de una base orgánica (tal como trietilamina o DIPEA para extinguir el HCl generado en la reacción) proporcionando compuestos de amidoxima F4. La transposición de los compuestos tales como F4, para transponer el grupo amino sobre el carbono del anillo y el grupo amino sobre el carbono de oxima, proporcionando compuestos F5, puede lograrse por el tratamiento de F4 con una base (tal como KOH, NaOH, LiOH, Mg(OH)₂, Al(OH)₃ y similares), opcionalmente en un disolvente (tal como agua, etanol, etilenglicol y similares), y sometiendo a reflujo la mezcla de reacción a temperatura elevada, por ejemplo, aproximadamente 70 °C, aproximadamente 80 °C, aproximadamente 90 °C, aproximadamente 100 °C, aproximadamente 110 °C, aproximadamente 120 °C, aproximadamente 130 °C, aproximadamente 140 °C, aproximadamente 150 °C, aproximadamente 160 °C, aproximadamente 170 °C, aproximadamente 180 °C, aproximadamente 190 °C, o aproximadamente 200 °C. La amidoxima F5 puede activarse de nuevo como una oxima de cloro F6 mediante la adición de F5 a una mezcla ácida acuosa que contiene ácido clorhídrico, opcionalmente que incluye ácido acético. En este procedimiento para la conversión de F5 a F6, la mezcla ácida de F5 puede calentarse a una temperatura de aproximadamente 45 °C, tal como aproximadamente 30 °C, aproximadamente 40 °C, aproximadamente 50 °C, o aproximadamente 60 °C para lograr la disolución. Puede añadirse cloruro sódico a esta disolución y a continuación tratarse con un reactivo de nitrito, que opcionalmente puede proporcionarse como una disolución acuosa, a una temperatura por debajo de aproximadamente 0 °C, tal como por debajo de aproximadamente -10 °C, por debajo de aproximadamente -5 °C, por debajo de aproximadamente 5 °C, o por debajo de aproximadamente 10 °C. El reactivo de nitrito es uno que puede proporcionar un anión nitrito. Reactivos de nitrito incluyen nitrito de metal alcalino (por ejemplo, nitrito de sodio, nitrito de potasio y similares) y organonitritos (por ejemplo, nitrito de tetraetilamonio) que incluyen un catión orgánico. En algunos aspectos, puede usarse acetato de etilo, THF o dioxano como co-disolvente. La oxima de cloro F6 puede acoplarse con aminas aromáticas tales como anilinas, opcionalmente en un disolvente polar (tal como metanol, agua, etanol y similares) a temperaturas elevadas tales como aproximadamente 50 °C, aproximadamente 60 °C, aproximadamente 70 °C, aproximadamente 80 °C, aproximadamente 90 °C, aproximadamente 100 °C, aproximadamente 110 °C, o aproximadamente 120 °C, opcionalmente en presencia de una base inorgánica (tal como KHCO₃, NaHCO₃) proporcionando arilamidoxima F7. En algunos aspectos, la base inorgánica puede proporcionarse en forma de una disolución acuosa. En algunos aspectos, la base inorgánica puede añadirse a la mezcla de reacción a una temperatura elevada. La funcionalidad de amidoxima de F7 puede protegerse a continuación como una oxadiazolona usando 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI) en un disolvente (tal como acetato de etilo, dioxano, THF y similares) a temperaturas elevadas tales como aproximadamente 50 °C, aproximadamente 60 °C, aproximadamente 70 °C, aproximadamente 80 °C, aproximadamente 90 °C, o aproximadamente 100 °C. El grupo metoxi de F8 puede convertirse a continuación en un grupo hidroxilo en F9 usando un agente desprotector de metoxi conocido para un experto en la materia, tal como aquellos en Wuts y Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4^a ed., pág 24-30, John Wiley & Sons: New York, 2006. Por ejemplo, mediante la adición de tribromuro de boro a una disolución fría (tal como de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 25 °C, por ejemplo, de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 10 °C, de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente -78 °C a aproximadamente -10 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 25 °C, o de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 10 °C) de F8, opcionalmente en un disolvente tal como un disolvente halogenado (por ejemplo, DCM, cloroformo y similares) o acetato de etilo. El grupo hidroxilo primario en F9 puede activarse posteriormente como un grupo saliente L'O- (véase F10) por tratamiento secuencial con L¹Cl, opcionalmente en un disolvente (tal como acetato de etilo o DCM), y una base orgánica para limpiar el HCl generado (tal como trietilamina o DIPEA). L¹, por ejemplo, puede seleccionarse de alquilsulfonilo (por ejemplo, metanosulfonilo), haloalquilsulfonilo (por ejemplo, trifluorometanosulfonilo), arilsulfonilo (por ejemplo, toluenosulfonilo) y similares. El compuesto F10 puede tratarse a continuación con cualquier nucleófilo para el desplazamiento (tal como por el mecanismo S_N2) del grupo saliente L'O.



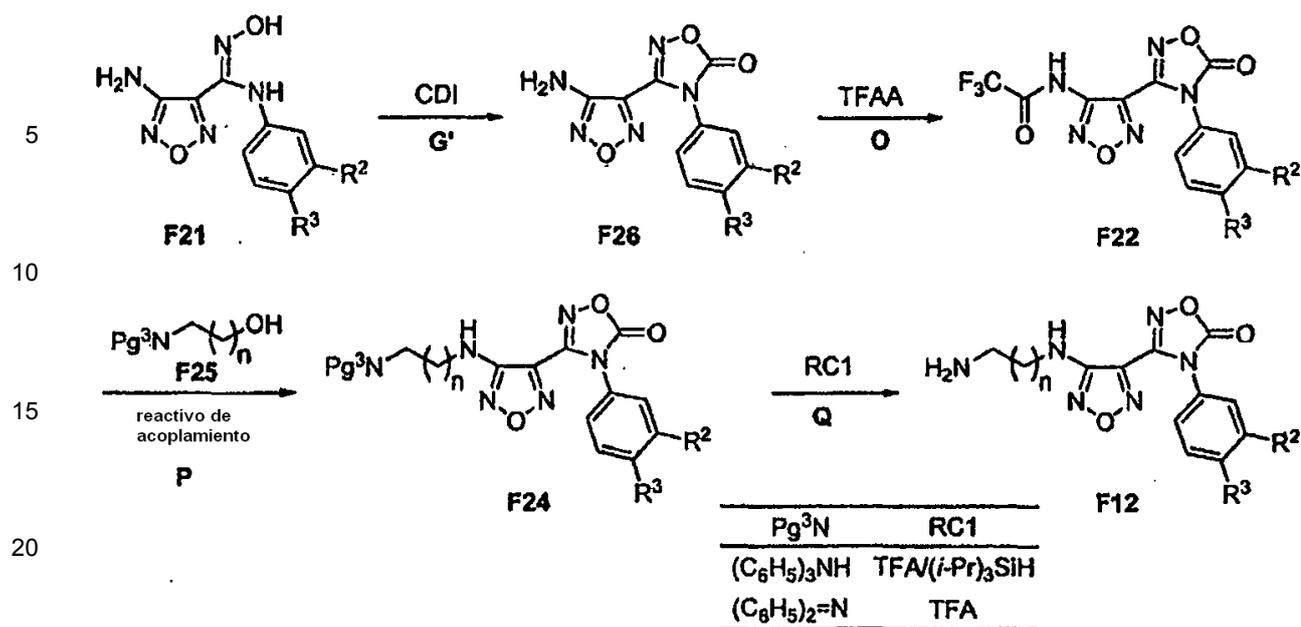
Esquema 3

50 Alternativamente, el compuesto de fórmula F12 puede obtenerse mediante una secuencia de etapas representada en el Esquema 4.

55

60

65



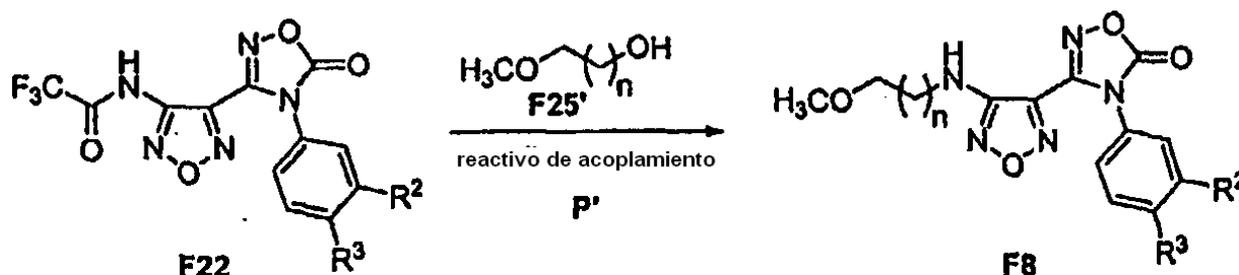
Esquema 4

Refiriéndose ahora al Esquema 4, en algunos aspectos, el compuesto de fórmula F12 puede obtenerse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula F24, o una sal del mismo, en la que Pg^3N es una amina protegida (por ejemplo, $(C_6H_5)_3C-NH$, $(C_6H_5)_2C=N$ y similares), con un agente desprotector de amino proporcionando el compuesto de fórmula F12. El tratamiento de un compuesto F24 para sustituir Pg^3N con NH_2 (Etapa Q) puede llevarse a cabo mediante procedimientos para la desprotección de grupos protectores de amina particulares conocidos para un experto en la materia, tales como aquellos en Wuts y Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4ª ed., pág 696-926, John Wiley & Sons: New York, 2006. En algunos aspectos, cuando Pg^3N es $(C_6H_5)_2C=N$, el agente desprotector puede ser: un ácido tal como un ácido orgánico (por ejemplo, ácido trifluoroacético, ácido metanosulfónico y similares) o un ácido inorgánico (por ejemplo, ácido clorhídrico); hidrógeno y paladio; o hidroxilamina ácida (NH_2OH). En algunos aspectos, cuando Pg^3N es $(C_6H_5)_3C-NH$, el agente desprotector puede incluir un ácido orgánico (tal como ácido trifluoroacético, ácido metanosulfónico y similares) y opcionalmente un organosilano; hidrógeno y paladio; o sodio en amoniaco líquido. Los organosilanos son compuestos que contienen al menos un enlace Si-H y el resto de los grupos unidos al silicio son alquilo, arilo o una combinación de los mismos. Ejemplos de organosilanos incluyen trialquilsilano (por ejemplo, tri(isopropil)silano), triarilsilano (por ejemplo, trifenilsilano) o difenilmetsilano. La etapa Q puede realizarse a una temperatura de aproximadamente $-10\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $60\text{ }^\circ\text{C}$, por ejemplo, de aproximadamente $-10\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $0\text{ }^\circ\text{C}$, de aproximadamente $0\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $25\text{ }^\circ\text{C}$, de aproximadamente $25\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $45\text{ }^\circ\text{C}$, o de aproximadamente $45\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $60\text{ }^\circ\text{C}$.

Los compuestos F24, que son aminas secundarias protegidas, pueden prepararse por la reacción de Mitsunobu de alcoholes F25 con aminas primarias protegidas F22 en presencia de un reactivo de acoplamiento (Etapa P). El reactivo de acoplamiento puede ser una combinación de una fosfina terciaria tal como triarilfosfina (por ejemplo, trifenilfosfina) o trialquilsfosfina (por ejemplo, tributilfosfina) y un azodicarboxilato de dialquilo. Los azodicarboxilatos de dialquilo poseen una estructura general: $ROOC-N=N-COOR$ en la que R puede ser un grupo alquilo (por ejemplo, azodicarboxilato de diisopropilo, azodicarboxilato de dietilo o azodicarboxilato de di-p-clorobencilo). Aunque no se pretende quedar ligado por teoría, se cree que la protección de aminas con el resto trifluoroacetilo (tal como en F22) previene reacciones secundarias y mejora el rendimiento de la amina secundaria F24. El grupo hidroxilo de alcoholes tales como F25 puede activarse en presencia del reactivo de acoplamiento. El nucleófilo de amina puede desplazar el grupo hidroxilo activado para formar la amina secundaria. La reacción de Mitsunobu puede realizarse en un disolvente tal como un éter, por ejemplo, THF, dioxano, éter dialquílico y similares; disolventes halogenados, por ejemplo, diclorometano, cloroformo y similares; disolventes no polares, por ejemplo, benceno, tolueno y similares; disolventes apróticos polares tales como DMF, HMPA y similares. En algunos aspectos, el compuesto de fórmula F24 puede obtenerse tratando un compuesto de fórmula F22, o una sal del mismo, con un compuesto de fórmula F25, o una sal del mismo, y un reactivo de acoplamiento proporcionando el compuesto de fórmula F24. En algunos aspectos, esta etapa puede realizarse a una temperatura de aproximadamente $-10\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $60\text{ }^\circ\text{C}$, por ejemplo, de aproximadamente $-10\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $0\text{ }^\circ\text{C}$, de aproximadamente $0\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $25\text{ }^\circ\text{C}$, de aproximadamente $25\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $45\text{ }^\circ\text{C}$, o de aproximadamente $45\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $60\text{ }^\circ\text{C}$.

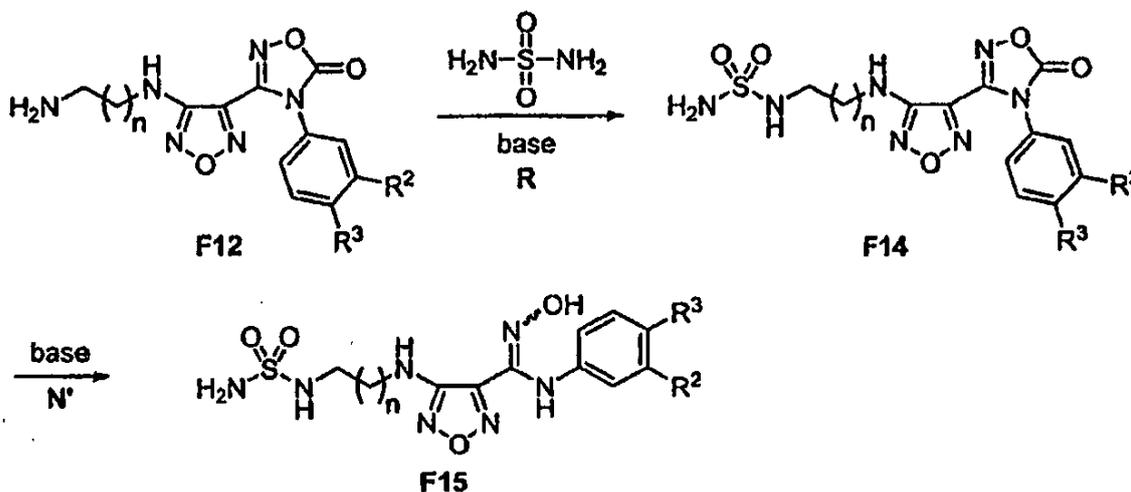
Los compuestos F22 pueden prepararse por un procedimiento de dos etapas (Etapas G' y O) a partir de

compuestos F21. Los compuestos F21 pueden tratarse con 1,1'-carbonildiimidazol (CDI), opcionalmente en un disolvente (tal como acetato de etilo o THF), a una temperatura elevada tal como aproximadamente 50 °C, por ejemplo, aproximadamente 60 °C, aproximadamente 65 °C, aproximadamente 70 °C, aproximadamente 80 °C, o aproximadamente 90 °C, para convertir la amidoxima en compuestos F21 en oxadiazolona presente en compuestos F26. Estos compuestos F26 pueden tratarse a su vez con anhídrido trifluoroacético, opcionalmente en un disolvente (tal como DCM, THF, dioxano o acetato de etilo) en presencia de una base orgánica (tal como piridina, trietilamina, DIPEA y similares) proporcionando los compuestos F22. En algunos aspectos, el compuesto de fórmula F22 puede obtenerse tratando un compuesto de fórmula F21, o una sal del mismo, con carbonildiimidazol (CDI) proporcionando un compuesto de fórmula F26, o una sal del mismo, y tratando el compuesto de fórmula F26 con anhídrido trifluoroacético proporcionando el compuesto de fórmula F22.



Esquema 5

Refiriéndose ahora al Esquema 5 (Etapa P') y basándose en la descripción anterior de la reacción de Mitsunobu, otro aspecto proporciona un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula F8, o una sal del mismo, en la que, R², R³ y n se definen en el presente documento; que incluye hacer reaccionar un compuesto de fórmula F22, o una sal del mismo, y un compuesto de fórmula F25', o una sal del mismo, con un reactivo de acoplamiento, opcionalmente en un disolvente (tal como THF, éter dialquílico o diclorometano), proporcionando el compuesto de fórmula F8. En algunos aspectos, esta etapa puede realizarse a una temperatura de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 60 °C, por ejemplo, de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 25 °C, de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 45 °C, o de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 60 °C.



Esquema 6

El Esquema 6 delinea una ruta alternativa para la introducción del grupo sulfonamida en el compuesto de amino F12. El tratamiento de F12 con sulfamida en presencia de una base (Etapa R), tal como una base orgánica que puede ser una base heterocíclica (por ejemplo, piridina), o una trialquilamina (por ejemplo, trietilamina, DIPEA y similares), pudiendo cada una usarse opcionalmente como disolvente para esta transformación, puede proporcionar sulfonilureas tales como F14. Esta reacción puede llevarse a cabo a temperaturas elevadas tales como aproximadamente 130 °C, por ejemplo, aproximadamente 100 °C, aproximadamente 110 °C, aproximadamente 120 °C, aproximadamente 130 °C o aproximadamente 140 °C. Tal calentamiento puede aplicarse favorablemente usando radiación microondas. La radiación microondas puede realizarse en un horno microondas comercial (por ejemplo, Initiator™, disponible de Biotage) que opera en una forma de modo único. Los compuestos F14 que contienen el anillo de oxadiazolona pueden desprotegerse (por ejemplo, hidrolizarse) a las amidoximas deseadas F15 en presencia de una base (Etapa N'). La base puede ser tanto una base orgánica, tal como una amina acíclica (por

ejemplo, trietilamina, diisopropiletilamina (DIPEA), etc.), como una amina cíclica (por ejemplo, pirrolidina, piperidina, etc.); o una base inorgánica tal como álcali (por ejemplo, NaOH, LiOH, KOH, Mg(OH)₂, etc.). La base puede ponerse a disposición en forma de una resina (tal como Amberlite® y similares). En algunas realizaciones adicionales, la base puede proporcionarse en forma de una disolución en agua tal como disolución aproximadamente 2 N (por ejemplo, disolución aproximadamente 0,5 N, disolución aproximadamente 1 N, disolución aproximadamente 1,5 N, disolución aproximadamente 2,5 N, disolución de aproximadamente 3 N a aproximadamente 5 N, disolución de aproximadamente 5 N a aproximadamente 10 N). En algunas realizaciones, la base puede ser hidróxido de metal alcalino (tal como, hidróxido sódico). En algunas realizaciones, la base puede ser una disolución de NaOH 2 N en agua. En algunas realizaciones, el disolvente puede ser metanol o tetrahidrofurano (THF). En algunas realizaciones, la desprotección puede realizarse a una temperatura de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 60 °C, por ejemplo, de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 25 °C, de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 45 °C, o de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 60 °C. Por tanto, este aspecto proporciona un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula F15, o una sal del mismo, en la que R², R³ y n son como se definen en el presente documento; que incluye hacer reaccionar un compuesto de fórmula F12, o una sal del mismo, con sulfamida y una base orgánica proporcionando un compuesto de fórmula F14, o una sal del mismo, y hacer reaccionar el compuesto de fórmula F14, o una sal del mismo, con una base proporcionando el compuesto de fórmula F15.

También se describe un compuesto de fórmula F9, F12 y F14, o una sal del mismo, en las que R² es Cl, Br, CF₃, CH₃ o CN; R³ es H o F; y n es 1 ó 2.

En algunas realizaciones, R² es Br, R³ es F y n es 1.

En algunas realizaciones, R² es Br, R³ es F y n es 2.

En algunas realizaciones, R² es Cl, R³ es F y n es 1.

En algunas realizaciones, R² es Cl, R³ es F y n es 2.

En algunas realizaciones, R² es CF₃, R³ es F y n es 1.

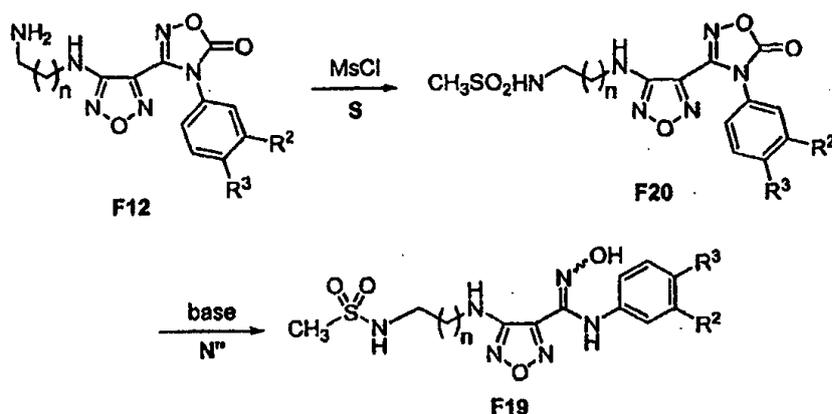
En algunas realizaciones, R² es CF₃, R³ es F y n es 2.

En algunas realizaciones, R² es CF₃, R³ es H y n es 1.

En algunas realizaciones, R² es CF₃, R³ es H y n es 2.

En algunas realizaciones, R² es CH₃, R³ es F y n es 1.

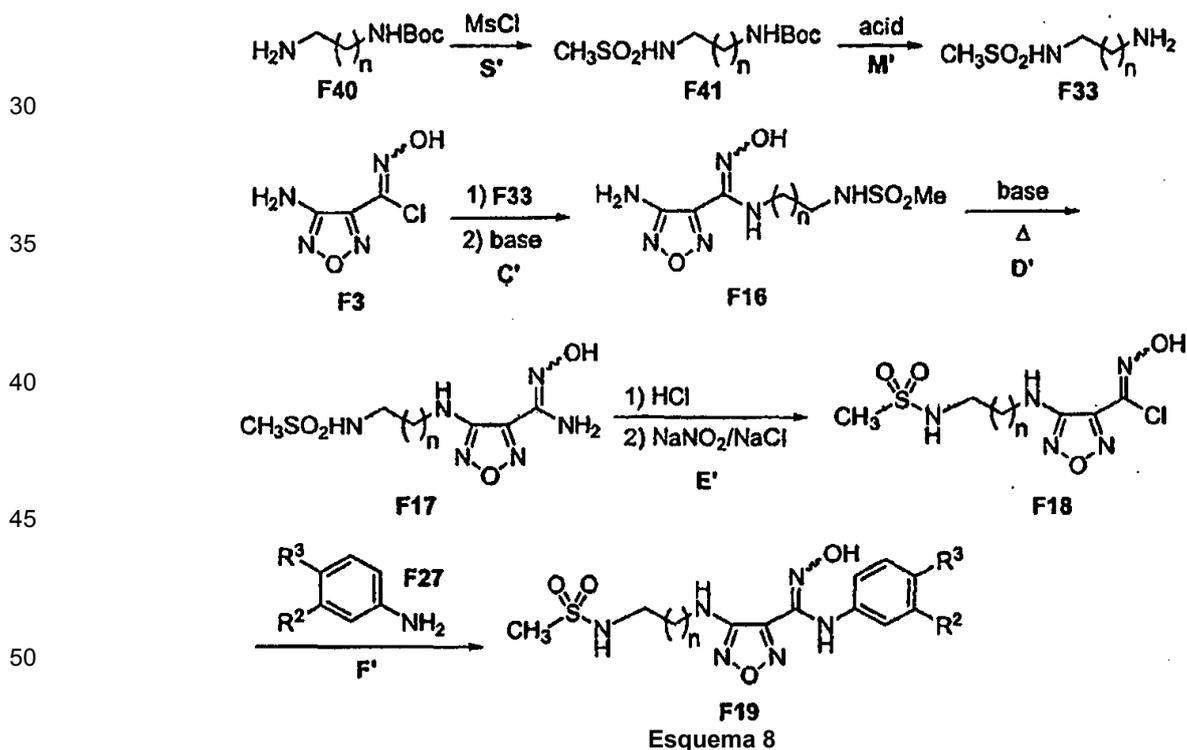
En algunas realizaciones, R² es CN, R³ es F y n es 1.



Esquema 7

Refiriéndose ahora al Esquema 7, los compuestos F19 pueden obtenerse a partir de compuestos de amino primario F12 mediante tratamiento con cloruro de metanosulfonilo (Etapa S), opcionalmente en un disolvente tal como acetato de etilo, disolventes halogenados (por ejemplo, diclorometano, cloroformo y similares) o disolventes etéreos (THF, éter dietílico, dioxano y similares), en presencia de una base orgánica (para limpiar el HCl generado) tal como trialkil (C₁₋₆)amina (por ejemplo, trietilamina, DIPEA y similares), o piridina proporcionando sulfonamidas F20. El grupo metanosulfonilo puede sustituirse con otro alquilsulfonilo (por ejemplo, etilsulfonilo), haloalquilsulfonilo

(por ejemplo, trifluorometanosulfonilo), arilsulfonilo (por ejemplo, toluenosulfonilo) y similares, sin alterar los procedimientos. En algunas realizaciones, esta etapa puede realizarse a una temperatura de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 60 °C, por ejemplo, de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 25 °C, de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 45 °C, o de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 60 °C. Los compuestos de sulfonamida F20 que contienen el anillo de oxadiazolona pueden desprotegerse (por ejemplo, hidrolizarse) a las amidoximas deseadas F19 en presencia de una base (Etapa N'). La base puede ser tanto una base orgánica, tal como una amina acíclica (por ejemplo, trietilamina, diisopropiletilamina (DIPEA), etc.), como una amina cíclica (por ejemplo, pirrolidina, piperidina, etc.); o una base inorgánica tal como hidróxido de metal alcalino o hidróxido de metal alcalinotérreo (por ejemplo, NaOH, LiOH, KOH, Mg(OH)₂, etc.). La base puede ponerse a disposición en forma de una resina (tal como Amberlite® y similares). En algunas realizaciones adicionales, la base puede proporcionarse en forma de una disolución en agua tal como disolución aproximadamente 2 N (por ejemplo, disolución aproximadamente 0,5 N, disolución aproximadamente 1 N, disolución aproximadamente 1,5 N, disolución aproximadamente 2,5 N, disolución de aproximadamente 3 N a aproximadamente 5 N, disolución de aproximadamente 5 N a aproximadamente 10 N). En algunas realizaciones, la base es hidróxido de metal alcalino (por ejemplo, hidróxido sódico). En algunas realizaciones, la base puede ser disolución de NaOH 2 N en agua. En algunas realizaciones, el disolvente puede ser metanol o tetrahidrofurano (THF). En algunas realizaciones, la desprotección puede realizarse a una temperatura de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 60 °C, por ejemplo, de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 25 °C, de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 45 °C, o de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 60 °C. Por consiguiente, otro aspecto es un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula F19, o una sal del mismo, en la que R², R³ y n son como se definen en el presente documento; que incluye hacer reaccionar un compuesto de fórmula F12, o una sal del mismo, con cloruro de metanosulfonilo en presencia de una base orgánica proporcionando un compuesto de fórmula F20, o una sal del mismo, y hacer reaccionar el compuesto de fórmula F20 con una base proporcionando el compuesto de fórmula F19. En algunas realizaciones, la base puede ser hidróxido de metal alcalino tal como hidróxido sódico (por ejemplo, NaOH 2 N).



55 Pueden obtenerse aril o alquilsulfonamidas (por ejemplo, metanosulfonamidas F19) por la secuencia de etapas mostrada en el Esquema 8. Pueden tratarse 1,n-diaminas mono-protégidas tales como F40 (por ejemplo, N-(aminoalquil)(t-butoxi)carboxamida comercialmente disponible) con cloruros de sulfonilo tales como cloruros de arilsulfonilo o cloruros de alquilsulfonilo (por ejemplo, cloruro de metanosulfonilo), opcionalmente en un disolvente tal como acetato de etilo, disolventes halogenados (por ejemplo, diclorometano, cloroformo y similares) o disolventes etéreos (THF, éter dietílico, dioxano y similares), en presencia de una base orgánica (para limpiar el HCl generado) tal como trietilamina, piperidina, DIPEA y similares, proporcionando sulfonamidas F41 (Etapa S'). El grupo protector sobre las 1,n-diaminas mono-protégidas F40 puede seleccionarse de los diversos grupos protectores de amino y pueden seleccionarse apropiadamente condiciones de desprotección adecuadas (arriba) proporcionando la amina F33 (Etapa M'). En algunas realizaciones, el grupo protector puede ser alcóxicarbonilo (tal como *terc*-butoxicarbonilo, Boc). En tales realizaciones, el agente desprotector de amino puede ser un ácido, por ejemplo, ácido clorhídrico o

60

65

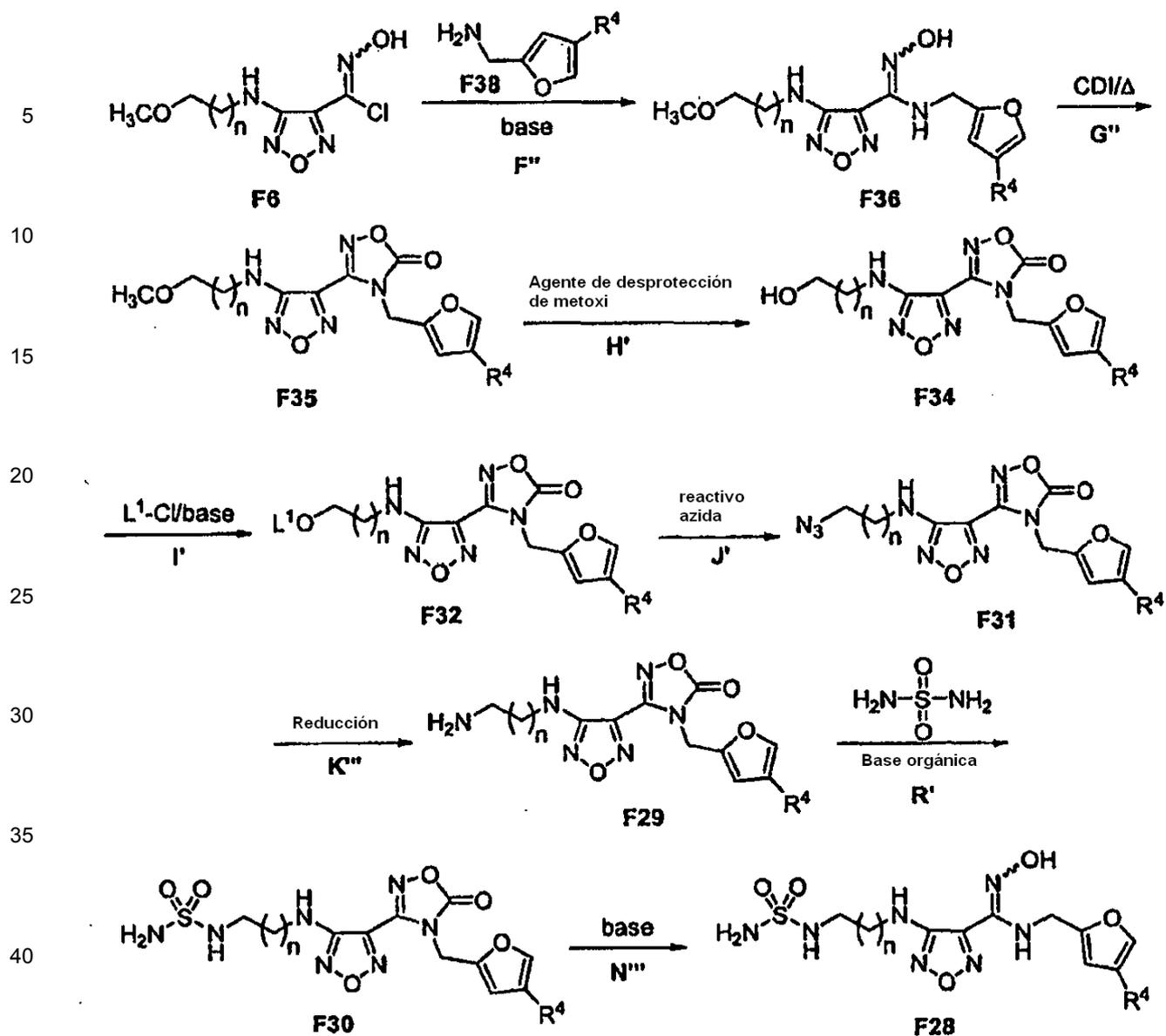
ácido trifluoroacético, opcionalmente en un disolvente (tal como dioxano).

La preparación de oxima de cloro F3 se ha descrito en Synth. Commun. (1988), 18, 1427. Pueden acoplarse aminas (tales como aminas primarias o secundarias que incluyen aminas que contienen funcionalidades protegidas, por ejemplo, etilamina, 2-metoxietilamina, dimetilamina o F33) a la oxima de cloro F3, opcionalmente en un disolvente (tal como acetato de etilo o etanol), seguido de la adición de una base orgánica (tal como trietilamina o DIPEA para extinguir el HCl generado en la reacción) proporcionando compuestos de amidoxima F16 (Etapa C'). En algunas realizaciones, esta etapa puede realizarse a una temperatura de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 60 °C, por ejemplo, de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 25 °C, de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 45 °C, o de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 60 °C. La transposición de los compuestos tales como F16 para transponer el grupo amino sobre el carbono de anillo y el grupo amino sobre el carbono de oxima proporcionando compuestos tales como F17 (Etapa D') puede lograrse por el tratamiento de F16 con una base (tal como KOH, NaOH, LiOH, Mg(OH)₂, Al(OH)₃ y similares), opcionalmente en un disolvente (tal como agua, etanol, etilenglicol y similares), y sometiendo a reflujo la mezcla de reacción a temperatura elevada, por ejemplo, aproximadamente 70 °C, aproximadamente 80 °C, aproximadamente 90 °C, aproximadamente 100 °C, aproximadamente 110 °C, aproximadamente 120 °C, aproximadamente 130 °C, aproximadamente 140 °C, aproximadamente 150 °C, aproximadamente 160 °C, aproximadamente 170 °C, aproximadamente 180 °C, aproximadamente 190 °C o aproximadamente 200 °C. La amidoxima F17 puede activarse de nuevo como una oxima de cloro F18 mediante la adición de F17 a una mezcla ácida acuosa que contiene ácido clorhídrico, opcionalmente que incluye ácido acético (Etapa E'). En este procedimiento para la conversión de F17 en F18, la mezcla ácida de F17 puede calentarse a temperatura de aproximadamente 45 °C, tal como aproximadamente 30 °C, aproximadamente 40 °C, aproximadamente 50 °C o aproximadamente 60 °C para lograr la disolución. Puede añadirse cloruro sódico a esta disolución y tratarse con un reactivo de nitrito, que puede proporcionarse opcionalmente como una disolución acuosa, a una temperatura por debajo de aproximadamente 0 °C tal como por debajo de aproximadamente -10 °C, por debajo de aproximadamente -5 °C, por debajo de aproximadamente 5 °C, o por debajo de aproximadamente 10 °C. El reactivo de nitrito es uno que puede proporcionar un anión nitrito. Los reactivos de nitrito incluyen nitrito de metal alcalino (por ejemplo, nitrito de sodio, nitrito de potasio y similares) y organonitritos (por ejemplo, nitrito de tetraetilamonio) que incluyen un catión orgánico. En algunas realizaciones, puede usarse acetato de etilo, THF o dioxano como co-disolvente. La sustitución del cloruro en F18 con aminas aromáticas tales como anilinas F27, opcionalmente en un disolvente polar (tal como metanol, agua, etanol y similares), a temperatura ambiente puede proporcionar metanosulfonamidas F19 (Etapa F'). En algunas realizaciones pueden emplearse temperaturas tales como aproximadamente 10 °C, aproximadamente 20 °C, aproximadamente 30 °C, aproximadamente 40 °C o aproximadamente 50 °C. Esta reacción puede llevarse opcionalmente a cabo en presencia de una base inorgánica (tal como KHCO₃, NaHCO₃) que puede proporcionarse en forma de una disolución acuosa.

Por consiguiente, en otro aspecto un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula F19, o una sal del mismo, en la que R², R³ y n son como se definen en el presente documento; que incluye hacer reaccionar un compuesto de fórmula F17, o una sal del mismo, con ácido clorhídrico, opcionalmente en un disolvente (tal como dioxano), seguido de tratamiento con un reactivo de nitrito (tal como, nitrito de sodio), opcionalmente en forma de una disolución acuosa, proporcionando un compuesto de fórmula F18, o una sal del mismo, y hacer reaccionar el compuesto de fórmula F18 con un compuesto de fórmula F27, o una sal del mismo, proporcionando el compuesto de fórmula F19.

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula F17 puede obtenerse tratando un compuesto de fórmula F16, o una sal del mismo, con una base (tal como hidróxido potásico) en un disolvente (tal como etilenglicol) a una temperatura suficiente para llevar a reflujo el disolvente (tal como 130 °C), proporcionando un compuesto de fórmula F17.

También se describe un compuesto de fórmula F18, o una sal del mismo, en la que n es 1 ó 2. En algunas realizaciones, n es 1. En algunas realizaciones, n es 2.



Esquema 9

Los compuestos F28 pueden obtenerse como se describe en el Esquema 9. La oxima de cloro F6 (arriba, Esquema 1) puede acoplarse con aminas heterocíclicas (tales como el compuesto de fórmula F38), opcionalmente en un disolvente polar (tal como metanol, agua, etanol y similares), en presencia de una base tal como una base inorgánica o una base orgánica (por ejemplo, Et₃N, piridina o DIPEA) proporcionando la arilamidoxima F36 (Etapa F''). En algunas realizaciones, la conversión de F6 en F36 puede llevarse a cabo a temperaturas tales como aproximadamente 10 °C, aproximadamente 20 °C, aproximadamente 30 °C, aproximadamente 40 °C, aproximadamente 50 °C, aproximadamente 60 °C o aproximadamente 90 °C. En algunas realizaciones, la base inorgánica puede proporcionarse en forma de una disolución acuosa. En algunas realizaciones, la base inorgánica puede añadirse a la mezcla de reacción a una temperatura elevada. La funcionalidad de amidoxima de F36 puede protegerse a continuación como una oxadiazolona usando 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) en un disolvente (tal como acetato de etilo, dioxano, THF y similares) a temperaturas elevadas, tales como aproximadamente 50 °C, aproximadamente 60 °C, aproximadamente 70 °C, aproximadamente 80 °C, aproximadamente 90 °C o aproximadamente 100 °C (Etapa G''). El grupo metoxi de F35 puede convertirse a continuación en un grupo hidroxilo en F34 mediante procedimientos conocidos para un experto en la materia para la desprotección del grupo metoxi (Etapa H'), tales como aquellos en Wuts y Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4^a ed., pág 24-30, John Wiley & Sons: New York, 2006. Por ejemplo, mediante adición de tribromuro de boro a una disolución fría (tal como de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 25 °C, por ejemplo, de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 10 °C, de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente -78 °C a aproximadamente -10 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 25 °C, o de aproximadamente 0 °C a

aproximadamente 10 °C) de F35, opcionalmente en un disolvente tal como un disolvente halogenado (por ejemplo, DCM, cloroformo y similares) o acetato de etilo. A continuación, el grupo hidroxilo primario en F34 puede activarse posteriormente como un grupo saliente L¹O⁻ (véase la Etapa I', F32) por tratamiento secuencial con L¹Cl, opcionalmente en un disolvente (tal como acetato de etilo o DCM) y una base orgánica para limpiar el HCl generado (tal como trietilamina o DIPEA). En los compuestos F32, L¹ puede seleccionarse de alquilsulfonilo (por ejemplo, metanosulfonilo), haloalquilsulfonilo (por ejemplo, trifluorometanosulfonilo), arilsulfonilo (por ejemplo, toluenosulfonilo) y similares. El compuesto F32 puede tratarse a continuación con cualquier nucleófilo para desplazamiento S_N2 del grupo saliente L¹O⁻. En algunas realizaciones, esta etapa puede realizarse a una temperatura de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 60 °C, por ejemplo, de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 25 °C, de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 45 °C, o de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 60 °C.

Cuando el nucleófilo es un ión de azida, F32 proporciona F31 (Etapa J'). Los reactivos de azida incluyen cualquier reactivo que pueda producir un ión de azida nucleófilo. Ejemplos de reactivos de azida incluyen azidas de metal alcalino (tales como azida de sodio, azida de potasio). En algunas realizaciones opcionales, el reactivo de azida tal como azida de sodio puede usarse en combinación con yoduro de sodio. Disolventes apropiados para esta transformación son disolventes polares que incluyen DMF, DMSO, NMP y similares. En algunas realizaciones, esta etapa puede llevarse a cabo en DMF. En algunas realizaciones, esta etapa puede llevarse a cabo a una temperatura elevada, por ejemplo, de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 100 °C, de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 90 °C, o de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 80 °C. En algunas realizaciones, esta etapa puede llevarse a cabo a 50 °C. En algunas realizaciones, esta etapa puede llevarse a cabo a 85 °C. Azidas orgánicas tales como F31 pueden reducirse a aminas orgánicas tales como F29 mediante la adición de hidrógeno, tanto en forma de hidrógeno elemental; usando un hidruro reactivo (tal como NaBH₄, LiAlH₄ y similares); usando trifenilfosfina; como usando una combinación de yoduro de sodio, clorotrimetilsilano y metanol (Etapa K'''). En algunas realizaciones, la reducción puede llevarse a cabo en presencia de yoduro de sodio, clorotrimetilsilano y metanol. En algunas realizaciones, la reducción puede realizarse a aproximadamente temperatura ambiente, por ejemplo, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 50 °C, de aproximadamente 15 °C a aproximadamente 40 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C, o de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 30 °C. En algunas realizaciones, la relación molar de yoduro de sodio y clorotrimetilsilano puede ser aproximadamente 1,0, por ejemplo, aproximadamente 0,9, aproximadamente 0,95, aproximadamente 1,0, aproximadamente 1,05 o aproximadamente 1,1. En algunas realizaciones, puede añadirse clorotrimetilsilano a la mezcla de F31, yoduro de sodio y metanol como disolución en metanol.

Tratamiento de F29 con sulfamida en presencia de una base tal como una base orgánica que puede ser una base heterocíclica (por ejemplo, piridina), o una trialquilamina (por ejemplo, trietilamina, DIPEA y similares), cada una de las cuales puede usarse opcionalmente como disolvente para esta transformación proporcionando las sulfonilureas tales como F30 (Etapa R'). Esta reacción puede llevarse a cabo a temperaturas elevadas tales como aproximadamente 130 °C, por ejemplo, aproximadamente 100 °C, aproximadamente 110 °C, aproximadamente 120 °C, aproximadamente 130 °C o aproximadamente 140 °C. Tal calentamiento puede aplicarse favorablemente usando radiación microondas. La radiación microondas puede realizarse en un horno microondas comercial (por ejemplo, Initiator™, disponible de Biotage) que opera en una forma de modo único. Los compuestos F30 que contienen el anillo de oxadiazolona pueden desprotegerse (por ejemplo, hidrolizarse) a las amidoximas deseadas F28 en presencia de una base (Etapa N'''). La base puede ser tanto una base orgánica tal como aminas acíclicas (por ejemplo, trietilamina, diisopropiletilamina (DIPEA), etc.) como aminas cíclicas (por ejemplo, pirrolidina, piperidina, etc.); o una base inorgánica tal como álcali (por ejemplo, NaOH, LiOH, KOH, Mg(OH)₂, etc.). La base puede ponerse a disposición en forma de una resina (tal como Amberlite® y similares). En algunas realizaciones adicional, la base puede proporcionarse en forma de una disolución en agua (una base acuosa) tal como disolución aproximadamente 2 N (por ejemplo, disolución aproximadamente 0,5 N, disolución aproximadamente 1 N, disolución aproximadamente 1,5 N, disolución aproximadamente 2,5 N, disolución de aproximadamente 3 N a aproximadamente 5 N, disolución de aproximadamente 5 N a aproximadamente 10 N). En algunas realizaciones, la base puede ser hidróxido de metal alcalino (por ejemplo, hidróxido sódico). En algunas realizaciones, la base puede ser una disolución de NaOH 2 N en agua. En algunas realizaciones, el disolvente puede ser metanol o tetrahidrofurano (THF). En algunas realizaciones, la desprotección puede realizarse a una temperatura de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 60 °C, por ejemplo, de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 25 °C, de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 45 °C, o de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 60 °C.

Por consiguiente, también se describe un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula F28, o una sal del mismo, en la que R⁴ es F, Cl, Br o I; y n es 1 ó 2; que incluye hacer reaccionar un compuesto de fórmula F29, o una sal del mismo, con sulfamida y una base orgánica proporcionando un compuesto de fórmula F30, o una sal del mismo, y hacer reaccionar el compuesto de fórmula F30 con una base proporcionando el compuesto de fórmula F28.

En algunas realizaciones, R⁴ es Cl y n es 1,

En algunas realizaciones, R⁴ es Br y n es 1.

En algunas realizaciones, hacer reaccionar un compuesto de fórmula F29 incluye adicionalmente calentar la reacción (tal como usando radiación microondas).

5 En otro aspecto, es un procedimiento de obtención del compuesto de fórmula F29 reduciendo un compuesto de fórmula F31, o una sal del mismo. En algunas realizaciones, la reducción puede llevarse a cabo con una combinación de yoduro de sodio, clorotrimetilsilano y metanol.

10 En otro aspecto, el compuesto de fórmula F31 puede obtenerse tratando un compuesto de fórmula F32, o una sal del mismo, en la que L¹ está seleccionado de alquilsulfonilo, haloalquilsulfonilo y arilsulfonilo; con un reactivo de azida proporcionando el compuesto de fórmula F31.

15 Como se usa en el presente documento, el término “alquilo”, cuando se usa solo o junto con términos de restos adicionales, se refiere a un grupo de hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada, que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, 1 a 4 átomos de carbono, o 1 a 3 átomos de carbono. Grupos alquilo de ejemplo incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo y similares.

20 Como se usa en el presente documento, “alquenilo” se refiere a un grupo alquilo que tiene uno o más dobles enlaces carbono-carbono. Grupos alquenilo de ejemplo incluyen etenilo (vinilo), propenilo y similares.

20 Como se usa en el presente documento, el término “arilo” se refiere a un grupo de hidrocarburo aromático que puede ser mono- o policíclico que tiene de 6 a 14 átomos de carbono. Grupos arilo de ejemplo incluyen fenilo, naftilo, antraceno, fenantreno, indano, indenilo y similares.

25 Como se usa en el presente documento, el término “haloalquilo”, cuando se usa solo o junto con un resto adicional, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno o más átomos de halógeno independientemente seleccionados de F, Cl, Br y I. Grupos haloalquilo de ejemplo incluyen CF₃, CHF₂, CH₂CF₃ y similares.

30 Como se usa en el presente documento, el término “alcoxi” se refiere a un grupo -O-alquilo. Grupos alcoxi de ejemplo incluyen metoxi, etoxi, propoxi (por ejemplo, n-propoxi e isopropoxi), t-butoxi y similares.

30 Como se usa en el presente documento, “alquilamina” se refiere a un grupo amino (NH₂) sustituido con un grupo alquilo. Grupos alquilamina de ejemplo incluyen metilamina, hexilamina y similares.

35 Como se usa en el presente documento, “trialquilamina” se refiere a un átomo de nitrógeno sustituido con tres grupos alquilo. Grupos trialquilamina de ejemplo incluyen trimetilamina, trietilamina y similares.

40 Como se usa en el presente documento, el término “alcoxycarbonilo” se refiere a CO sustituido con un grupo alcoxi: -C(O)-O-alquilo. Grupos alcoxycarbonilo de ejemplo incluyen etoxycarbonilo, *tert*-butoxycarbonilo (Boc), benziloxycarbonilo (Cbz), 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc) y similares.

40 Como se usa en el presente documento, el término “alquilsulfonilo” se refiere a un grupo sulfonilo sustituido con un grupo alquilo: alquil-S(O)₂-. Grupos alquilsulfonilo de ejemplo incluyen metanosulfonilo, etanosulfonilo y similares.

45 Como se usa en el presente documento, el término “haloalquilsulfonilo” se refiere a un grupo sulfonilo sustituido con un grupo haloalquilo. Grupos haloalquilsulfonilo de ejemplo incluyen trifluorometanosulfonilo, 1,1,1-trifluoroetanosulfonilo y similares.

50 Como se usa en el presente documento, el término “arilsulfonilo” se refiere a un grupo sulfonilo sustituido con un grupo arilo o un grupo arilo sustituido, en el que los sustituyentes sobre el grupo arilo están seleccionados de halógeno, nitro, alquilo C₁₋₄ y haloalquilo C₁₋₄.

55 Como se usa en el presente documento, el término “base heterocíclica” se refiere a un heterociclo de 4 a 14 miembros, opcionalmente sustituido, en el que al menos un miembro que forma el anillo es un átomo de nitrógeno. La base heterocíclica puede ser aromática o no aromática. Bases heterocíclicas de ejemplo incluyen piridina, pirrolidina, piperidina, morfolina, etc. Sustituyentes de ejemplo sobre el heterociclo incluyen F, Cl, Br, alquilo C₁₋₄ y haloalquilo C₁₋₄.

60 *Procedimientos de uso*

65 Los compuestos de la invención pueden inhibir la actividad de la enzima indoleamina-2,3-dioxigenasa (IDO). Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden usarse para inhibir la actividad de IDO en célula o en un individuo en necesidad de modulación de la enzima administrando una cantidad inhibidora de un compuesto de la invención.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse en procedimientos de inhibición de la degradación de triptófano en un sistema que contiene células que expresan IDO tal como un tejido, organismo vivo o cultivo celular. Los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse en procedimientos de alterar (por ejemplo, aumentar) los niveles de triptófano extracelular en un mamífero administrando una cantidad eficaz de un compuesto o composición proporcionado en el presente documento. Los procedimientos de medición de los niveles de triptófano y degradación de triptófano son rutinarios en la técnica.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse en procedimientos de inhibición de la inmunosupresión, tal como inmunosupresión mediada por IDO en un paciente administrando al paciente una cantidad eficaz de un compuesto o composición enumerado en el presente documento. La inmunosupresión mediada por IDO se ha asociado a, por ejemplo, cánceres, crecimiento tumoral, metástasis, infección viral, replicación viral, etc.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse en procedimientos de tratamiento de enfermedades asociadas con la actividad o expresión, incluyendo actividad y/o expresión anormal en exceso, de IDO en un individuo (por ejemplo, paciente) administrando al individuo con necesidad de dicho tratamiento una cantidad o dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo. Enfermedades de ejemplo pueden incluir cualquier enfermedad, trastorno o afección que esté directa o indirectamente ligada a la expresión o actividad de la enzima IDO, tal como expresión en exceso o actividad anormal. Una enfermedad asociada a IDO también puede incluir cualquier enfermedad, trastorno o afección que pueda ser prevenida, mejorada o curada modulando la actividad enzimática. Ejemplos de enfermedades asociadas a IDO incluyen cáncer, infección viral tal como infección por el VIH, infección por el VHC, depresión, trastornos neurodegenerativos tales como enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Huntington, traumatismo, cataratas seniles, trasplante de órganos (por ejemplo, rechazo de trasplante de órgano) y enfermedades autoinmunitarias que incluyen asma, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, inflamación alérgica, enfermedad inflamatoria del intestino, psoriasis y lupus eritematoso sistémico. Cánceres de ejemplo tratables mediante los procedimientos del presente documento incluyen cáncer del colon, páncreas, mama, próstata, pulmón, cerebro, ovario, cuello uterino, testículos, renal, cabeza y cuello, linfoma, leucemia, melanoma y similares. Los compuestos de la invención también pueden ser útiles en el tratamiento de obesidad e isquemia.

Como se usa en el presente documento, el término "célula" pretende referirse a una célula que está *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*. En algunas realizaciones, una célula *ex vivo* puede ser parte de una muestra de tejido extirpada de un organismo tal como un mamífero. En algunas realizaciones, una célula *in vitro* puede ser una célula en un cultivo celular. En algunas realizaciones, una célula *in vivo* es una célula que vive en un organismo tal como un mamífero.

Como se usa en el presente documento, el término "poner en contacto" se refiere a poner juntos restos indicados en un sistema *in vitro* o un sistema *in vivo*. Por ejemplo, "poner en contacto" la enzima IDO con un compuesto de la invención incluye la administración de un compuesto de la presente invención a un individuo o paciente, tal como un ser humano, que tiene IDO, además de, por ejemplo, introducir un compuesto de la invención en una muestra que contiene una preparación celular o purificada que contiene la enzima IDO.

Como se usa en el presente documento, el término "individuo" o "paciente", usados indistintamente, se refiere a cualquier animal, que incluye mamíferos, preferentemente ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, ganado vacuno, ovejas, caballos o primates, y lo más preferentemente seres humanos.

Como se usa en el presente documento, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que provoca la respuesta biológica o medicinal en un tejido, sistema, animal, individuo o ser humano que está siendo buscada por un investigador, veterinario, doctor médico u otro profesional clínico.

Como se usa en el presente documento, el término "tratar" o "tratamiento" se refiere a 1) prevenir la enfermedad; por ejemplo, prevenir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que puede tener predisposición a la enfermedad, afección o trastorno, pero que todavía no experimenta o muestra la patología o sintomatología de la enfermedad; 2) inhibir la enfermedad; por ejemplo, inhibir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o mostrando la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, detener adicionalmente el desarrollo de la patología y/o sintomatología), o 3) mejorar la enfermedad; por ejemplo, mejorar una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o mostrando la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, invertir la patología y/o sintomatología).

Terapia de combinación

Pueden usarse uno o más agentes farmacéuticos o procedimientos de tratamiento adicionales tales como, por ejemplo, agentes antivirales, quimioterapéuticos u otros agentes antineoplásicos, potenciadores inmunitarios, inmunosupresores, radiación, vacunas antitumorales y antivirales, terapia con citocinas (por ejemplo, IL2, GM-CSF,

etc.) y/o inhibidores de las tirosina cinasas en combinación con los compuestos de la presente invención para el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones asociadas a IDO. Los agentes pueden combinarse con los presentes compuestos en una única forma de dosificación, o los agentes pueden administrarse simultáneamente o secuencialmente como formas de dosificación separadas.

5 Agentes antivirales adecuados contemplados para su uso en combinación con los compuestos de la presente invención pueden comprender inhibidores de la transcriptasa inversa de nucleósidos y nucleótidos (NRTI), inhibidores de la transcriptasa inversa de no nucleósido (NNRTI), inhibidores de la proteasa y otros fármacos antivirales.

10 NRTI adecuados de ejemplo incluyen zidovudina (AZT); didanosina (ddI); zalcitabina (ddC); estavudina (d4T); lamivudina (3TC); abacavir (1592U89); adefovir dipivoxilo [bis(POM)-PMEA]; lobucavir (BMS-180194); BCH-10652; emitricitabina [(-)-FTC]; beta-L-FD4 (también llamado beta-L-D4C y llamado beta-L-2',3'-dicleoxi-5-fluorocitideno); DAPD, ((-)-beta-D-2,6-diamino-purina dioxolano); y lodenosina (FddA). NNRTI adecuados típicos incluyen nevirapina (BI-RG-587); delaviradina (BHAP, U-90152); efavirenz (DMP-266); PNU-142721; AG-1549; MKC-442(1-(etoxi-metil)-5-(1-metiletil)-6-(fenilmetil)-(2,4(1H,3H)-pirimidinadiona); y (+)-calanolida A (NSC-675451) y B. Inhibidores de la proteasa adecuados típicos incluyen saquinavir (Ro 31-8959); ritonavir (ABT-538); indinavir (MK-639); nelfinavir (AG-1343); amprenavir (141W94); lasinavir (BMS-234475); DMP-450; BMS-2322623; ABT-378; y AG-1549. Otros agentes antivirales incluyen hidroxiurea, ribavirina, IL-2, IL-12, pentafusida y Yissum Project No. 11607.

20 Agentes quimioterapéuticos adecuados u otros agentes antineoplásicos incluyen, por ejemplo, agentes alquilantes (incluyendo, sin limitación, mostazas de nitrógeno, derivados de etilenimina, sulfonatos de alquilo, nitrosoureas y triazenos) tales como mostaza de uracilo, clormetina, ciclofosfamida (Cytosan[™]), ifosfamida, melfalan, clorambucilo, pipobromano, trietilen-melamina, trietileno fosforamina, busulfano, carmustina, lomustina, estreptozocina, dacarbazina y temozolomida.

30 En el tratamiento del melanoma, agentes adecuados para su uso en combinación con los compuestos de la presente invención incluyen: dacarbazina (DTIC), opcionalmente junto con otros fármacos de quimioterapia tales como carmustina (BCNU) y cisplatino; la pauta de "Dartmouth", que consiste en DTIC, BCNU, cisplatino y tamoxifeno; una combinación de cisplatino, vinblastina y DTIC; o temozolomida. Los compuestos según la invención también pueden combinarse con fármacos de inmunoterapia, que incluyen citocinas tales como interferón alfa, interleucina 2 y factor de necrosis tumoral (TNF) en el tratamiento de melanoma.

35 Los compuestos de la invención también pueden usarse en combinación con terapia de vacunas en el tratamiento de melanoma. Las vacunas antimelanoma son, en algunas formas, similares a las vacunas antivirales que se usan para prevenir enfermedades producidas por virus tales como poliomielitis, sarampión y paperas. Células de melanoma debilitadas o partes de células de melanoma llamadas antígenos pueden inyectarse en un paciente para estimular el sistema inmunitario del cuerpo para destruir las células de melanoma.

40 Los melanomas que están confinados a los brazos y piernas también pueden tratarse con una combinación de agentes que incluyen uno o más compuestos de la invención, usando una técnica de perfusión hipertérmica del miembro aislado. Este protocolo de tratamiento separa temporalmente la circulación del miembro implicado del resto del cuerpo e inyecta altas dosis de quimioterapia en la arteria que alimenta el miembro, proporcionando así altas dosis al área del tumor sin exponer órganos internos a estas dosis que de otro modo podrían producir efectos secundarios graves. Normalmente, el fluido se calienta a 102° a 104° F. Melfalan es el fármaco casi siempre usado en este procedimiento de quimioterapia. Esto puede administrarse con otro agente llamado factor de necrosis tumoral (TNF) (véase la sección de citocinas).

50 Agentes quimioterapéuticos adecuados u otros agentes antineoplásicos incluyen, por ejemplo, antimetabolitos (que incluyen, sin limitación, antagonistas de ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inhibidores de adenosina desaminasa) tales como metotrexato, 5-fluorouracilo, floxuridina, citarabina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, fosfato de fludarabina, pentostatina y gemcitabina.

55 Agentes quimioterapéuticos adecuados u otros agentes antineoplásicos incluyen adicionalmente, por ejemplo, ciertos productos naturales y sus derivados (por ejemplo, alcaloides de la vinca, antibióticos antitumorales, enzimas, linfocinas y epipodofilotoxinas) tales como vinblastina, vincristina, vindesina, bleomicina, dactinomicina, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, ara-C, paclitaxel (TAXOL[™]), mitramicina, desoxicoformicina, mitomicina-C, L-asparaginasa, interferones (especialmente IFN-a), etopósido y tenipósido.

60 Otros agentes citotóxicos incluyen navelbino, CPT-11, anastrozol, letrozol, capecitabina, reloxafina, ciclofosfamida, ifosamida y droloxafina.

65 También son adecuados agentes citotóxicos tales como epidofilotoxina; una enzima antineoplásica; un inhibidor de la topoisomerasa; procarbazona; mitoxantrona; complejos de coordinación de platino tales como cisplatino y carboplatino; modificadores de la respuesta biológica; inhibidores del crecimiento; agentes terapéuticos

antihormonales; leucovorina; tegafur; y factores de crecimiento hematopoyéticos.

Otro(s) agente(s) antineoplásico(s) incluye(n) anticuerpos terapéuticos tales como trastuzumab (Herceptin), anticuerpos para moléculas co-estimulantes tales como CTLA-4, 4-1BB y PD-1, o anticuerpos para citocinas (IL-10, TGF- β , etc.).

Otros agentes antineoplásicos también incluyen aquellos que bloquean la migración de células inmunitarias tales como antagonistas para receptores de quimiocinas, que incluyen CCR2 y CCR4.

Otros agentes antineoplásicos también incluyen aquellos que aumentan el sistema inmunitario tales como adyuvantes o transferencia de linfocitos T adoptivos.

Las vacunas contra el cáncer incluyen células dendríticas, péptidos sintéticos, vacunas de ADN y virus recombinantes.

Los procedimientos para la administración segura y eficaz de la mayoría de estos agentes quimioterapéuticos son conocidos para aquellos expertos en la materia. Además, su administración se describe en la bibliografía estándar. Por ejemplo, la administración de muchos de los agentes quimioterapéuticos se describe en "Physicians' Desk Reference" (PDR, por ejemplo, edición de 1996, Medical Economics Company, Montvale, NJ).

Formulaciones farmacéuticas y formas de dosificación

Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los compuestos de la invención pueden administrarse en forma de composiciones farmacéuticas, que es una combinación de un compuesto de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones pueden prepararse de un modo muy conocido en las artes farmacéuticas, y pueden administrarse mediante una variedad de vías, que dependen de si se desea tratamiento local o sistémico y del área que vaya a tratarse. La administración puede ser tópica (que influye oftálmica y a membranas mucosas que incluyen administración intranasal, vaginal y rectal), pulmonar (por ejemplo, por inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, que incluye por nebulizador; intratraqueal, intranasal, epidérmica y transdérmica), ocular, oral o parenteral. Procedimientos para la administración ocular pueden incluir administración tópica (colirios), inyección subconjuntiva, periocular o intravítrea, o introducción por catéter con globo o insertos oftálmicos quirúrgicamente colocados en el saco conjuntivo. La administración parenteral incluye inyección o infusión intravenosa, intrarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular; o intracraneal, por ejemplo, administración intratecal o intraventricular. La administración parenteral puede estar en forma de una dosis de un único bolo, o puede ser, por ejemplo, por una bomba de perfusión continua. Las composiciones y formulaciones farmacéuticas para administración tópica pueden incluir parches transdérmicos, pomadas, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, esprays, líquidos y polvos. Puede ser necesarios o deseables vehículos farmacéuticos convencionales, bases acuosas, en polvo o aceitosas, espesantes y similares.

También se divulgan composiciones farmacéuticas que contienen, como principio activo, uno o más de los compuestos de la invención anteriores en combinación con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. En la preparación de las composiciones de la invención, el principio activo normalmente se mezcla con un excipiente, se diluye por un excipiente o se encierra dentro de un vehículo tal en forma de, por ejemplo, una cápsula, sobre, papel u otro recipiente. Cuando el excipiente sirve de diluyente, puede ser un material sólido, semi-sólido o líquido, que actúa de vehículo, portador o medio para el principio activo. Así, las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, pastillas para chupar, sobres, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, disoluciones, jarabes, aerosoles (como un sólido o en un líquido medio), pomadas que contienen, por ejemplo, hasta el 10 % en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, disoluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles.

En la preparación de una formulación, el compuesto activo puede molerse proporcionando el tamaño de partícula apropiado antes de combinarse con los otros componentes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, puede molerse a un tamaño de partícula inferior a 200 de malla. Si el compuesto activo es sustancialmente soluble en agua, el tamaño de partícula puede ajustarse moliendo proporcionando una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, por ejemplo, aproximadamente 40 de malla.

Algunos ejemplos de excipientes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábiga, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente: agentes lubricantes tales como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes humectantes; emulsionantes y agentes de suspensión; agentes conservantes tales como metil- y propilhidroxi-benzoatos; edulcorantes; y aromatizantes. Las composiciones de la invención pueden formularse de manera que se proporcione liberación rápida, sostenida o retardada del principio activo después de la administración al paciente empleando procedimientos conocidos en la técnica.

Las composiciones pueden formularse en una forma de dosificación unitaria, conteniendo cada dosificación de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 mg, más normalmente aproximadamente 10 a aproximadamente 30 mg, del principio activo. El término "formas de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculado para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

El compuesto activo puede ser eficaz durante un amplio intervalo de dosificación y generalmente se administra en una cantidad farmacéuticamente eficaz. Se entenderá, sin embargo, que la cantidad del compuesto en realidad administrada se determinará normalmente por un médico, según las circunstancias relevantes, que incluyen la afección que va a tratarse, la vía de administración elegida, el compuesto actual administrado, la edad, peso y respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

Para preparar composiciones sólidas tales como comprimidos, el principal principio activo se mezcla con un excipiente farmacéutico para formar una composición de pre-formulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención. Cuando se refiere a estas composiciones de pre-formulación como homogéneas, el principio activo normalmente está uniformemente disperso en toda la composición de manera que la composición pueda subdividirse fácilmente en formas de dosificación unitaria igual de eficaces tales como comprimidos, píldoras y cápsulas. Esta pre-formulación sólida se subdivide a continuación en formas de dosificación unitaria del tipo descrito anteriormente que contienen, por ejemplo, de 0,1 a aproximadamente 500 mg del principio activo de la presente invención.

Los comprimidos o píldoras de la presente invención pueden recubrirse o combinarse de otro modo proporcionando una forma de dosificación que proporciona la ventaja de acción prolongada. Por ejemplo, el comprimido o píldora puede comprender un componente de dosificación interna y uno de dosificación externa, estando el último en forma de una envoltura sobre el primero. Los dos componentes pueden separarse por una capa entérica que sirve para resistir la disgregación en el estómago y permitir que el componente interno pase intacto al duodeno o se retrase en la liberación. Puede usarse una variedad de materiales para tales capas o recubrimientos entéricos, incluyendo tales materiales varios ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como Shellac, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

Las formas líquidas en las que los compuestos y composiciones de la presente invención pueden incorporarse para administración por vía oral o por inyección incluyen disoluciones acuosas, jarabes adecuadamente aromatizados, suspensiones acuosas o en aceite, y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de cacahuete, además de elixires y vehículos farmacéuticos similares.

Las composiciones para inhalación o insuflación incluyen disoluciones y suspensiones en disolventes acuosos u orgánicos farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se describen arriba. En algunas realizaciones, las composiciones se administran por vía oral o respiratoria nasal para efecto local o sistémico. Las composiciones en lata pueden nebulizarse usando gases inertes. Las disoluciones nebulizadas pueden respirarse directamente del dispositivo nebulizador o el dispositivo nebulizador puede unirse a una tienda facial o respirador de presión positiva intermitente. Las composiciones en disolución, suspensión o polvo pueden administrarse por vía oral o nasalmente de dispositivos que administran la formulación de un modo apropiado.

La cantidad de compuesto o composición administrada a un paciente variará dependiendo de lo que se esté administrando, el fin de la administración, tal como profilaxis o terapia, el estado del paciente, el modo de administración y similares. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones pueden administrarse a un paciente que ya padece una enfermedad en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Dosis eficaces dependerán de la afección de enfermedad que esté tratándose, además del criterio del profesional clínico que atiende, dependiendo de factores tales como la gravedad de la enfermedad, la edad, peso y condición general del paciente, y similares.

Las composiciones administradas a un paciente pueden estar en forma de composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Estas composiciones pueden esterilizarse por técnicas de esterilización convencionales, o pueden esterilizarse por filtración. Las disoluciones acuosas pueden envasarse para su uso como tales, o liofilizarse, siendo la preparación liofilizada combinada con un vehículo acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones de compuestos normalmente estará entre 3 y 11, más preferentemente de 5 a 9, y lo más preferentemente de 7 a 8. Se entenderá que el uso de ciertos de los excipientes, vehículos o estabilizadores anteriores producirá la formación de sales farmacéuticas.

La dosificación terapéutica de los compuestos de la presente invención puede variar según, por ejemplo, el uso particular para el que se hace el tratamiento, el modo de administración del compuesto, la salud y condición del paciente y el criterio del médico que receta. La proporción o concentración de un compuesto de la invención en una

composición farmacéutica puede variar dependiendo de varios factores que incluyen dosificación, características químicas (por ejemplo, hidrofobia) y la vía de administración. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden proporcionarse en una disolución de tampón fisiológica acuosa que contiene de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 10 % en peso/volumen del compuesto para administración parenteral. Algunos intervalos de dosis típicos son de aproximadamente 1 µg/kg a aproximadamente 1 g/kg de peso corporal por día. En algunas realizaciones, el intervalo de dosis es de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día. Es probable que la dosificación dependa de variables tales como el tipo y grado de progresión de la enfermedad o trastorno, el estado de salud global del paciente particular, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del excipiente y su vía de administración. Dosis eficaces pueden extrapolarse de las curvas de dosis-respuesta derivadas de sistemas de prueba de animales *in vitro* o de modelo.

Los compuestos de la invención también pueden formularse en combinación con uno o más principios activos adicionales que pueden incluir cualquier agente farmacéutico tal como agentes antivirales, vacunas, anticuerpos, potenciadores inmunitarios, supresores inmunitarios, agentes antiinflamatorios y similares.

Compuestos marcados y procedimiento de ensayo

Otro aspecto se refiere a colorante fluorescente, marca de espín, metal pesado o compuestos radio-marcados de la invención que serían útiles no solo en la obtención de imágenes, sino también en ensayos, tanto *in vitro* como *in vivo*, para localizar y cuantificar la enzima IDO en muestras de tejido, que incluyen el ser humano, y para identificar ligandos de enzimas IDO que inhiben la unión de un compuesto marcado. Por consiguiente, se describen ensayos de enzimas IDO que contienen tales compuestos marcados.

Los compuestos de Fórmula I pueden ser compuestos isotópicamente marcados de Fórmula I. Un compuesto "isotópicamente" o "radio-marcado" es un compuesto de la invención en el que uno o más átomos están reemplazados o sustituidos con un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico normalmente hallado en la naturaleza (es decir, que se produce naturalmente). Radionúclidos adecuados que pueden incorporarse en los compuestos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, ^2H (también escrito como D para deuterio), ^3H (también escrito T para tritio) ^{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 y ^{131}I . El radionúclido que se incorpora en los presentes compuestos radio-marcados dependerá de la aplicación específica de ese compuesto radio-marcado. Por ejemplo, para el marcado de enzimas IDO *in vitro* y ensayos de competición, los compuestos que incorporan ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I o ^{35}S serán generalmente los más útiles. Para aplicaciones de obtención de radio-imágenes, ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br o ^{77}Br serán generalmente los más útiles.

Se entiende que un "compuesto radiomarcado" o "marcado" es un compuesto que ha incorporado al menos un radionúclido. En algunas realizaciones, el radionúclido está seleccionado del grupo que consiste en ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S y ^{82}Br .

Procedimientos sintéticos para incorporar radio-isótopos en los compuestos orgánicos son aplicables a compuestos de la invención y son muy conocidos en la técnica.

Un compuesto radio-marcado de la invención puede usarse en un ensayo de cribado para identificar/evaluar compuestos. En términos generales, un compuesto recientemente sintetizado o identificado (es decir, compuesto de prueba) puede evaluarse para su capacidad para reducir la unión del compuesto radio-marcado de la invención a la enzima IDO. Por consiguiente, la capacidad de un compuesto de prueba para competir con el compuesto radio-marcado para unirse a la enzima IDO se correlaciona directamente con su afinidad de unión.

Kits

La presente invención también incluye kits farmacéuticos útiles, por ejemplo, en el tratamiento o prevención de enfermedades o trastornos asociados a IDO, obesidad, diabetes y otras enfermedades citadas en el presente documento que incluyen uno o más recipientes que contienen una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención. Tales kits pueden incluir adicionalmente, si se desea, uno o más de diversos componentes de kits farmacéuticos convencionales tales como, por ejemplo, recipientes con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, recipientes adicionales, etc., como será rápidamente evidente para aquellos expertos en la materia. Instrucciones, bien como panfletos o etiquetas, que indican cantidades de los componentes que van a administrarse, pautas para administración y/o pautas para mezclar los componentes, también pueden incluirse en el kit.

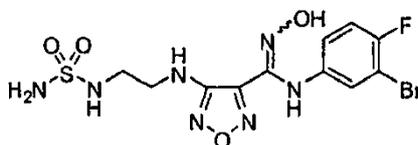
La invención se describirá en mayor detalle a modo de ejemplos específicos. Los siguientes ejemplos se ofrecen para fines ilustrativos y no pretenden limitar la invención en ningún modo. Aquellos expertos en la materia reconocerán fácilmente una variedad de parámetros no críticos que pueden cambiarse o modificarse dando esencialmente los mismos resultados. Se ha encontrado que los compuestos de los ejemplos son inhibidores de IDO según uno o más de los ensayos proporcionados en el presente documento.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

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

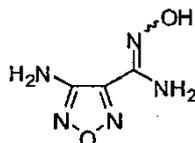
10



15

Etapa A: 4-Amino-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

20



25

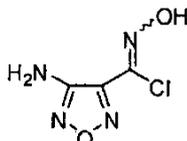
30

Se añadió malononitrilo [Aldrich, producto nº M1407] (320,5 g, 5 moles) a agua (7 l) precalentada a 45 °C y se agitó durante 5 min. La disolución resultante se enfrió en un baño de hielo y se añadió nitrito de sodio (380 g, 5,5 moles). Cuando la temperatura alcanzó 10 °C, se añadió ácido clorhídrico 6 N (55 ml). Una reacción exotérmica suave aseguró que la temperatura llegara a 16 °C. Después de 15 min se retiró el baño frío y la mezcla de reacción se agitó durante 1,5 h a 16-18 °C. La mezcla de reacción se enfrió a 13 °C y se añadió 50 % de hidroxilamina acuosa (990 g, 15 moles) de una vez. La temperatura subió a 26 °C. Cuando la reacción exotérmica se calmó se retiró el baño frío y la agitación continuó durante 1 h a 26-27 °C, a continuación se llevó lentamente a reflujo. El reflujo se mantuvo durante 2 h y a continuación la mezcla de reacción se dejó enfriar durante la noche. La mezcla de reacción se agitó en un baño de hielo y se añadió ácido clorhídrico 6 N (800 ml) en porciones durante 40 min a pH 7,0. La agitación continuó en el baño de hielo a 5 °C. Se recogió el precipitado por filtración, se lavó bien con agua y se secó en una estufa de vacío (50 °C) dando el producto deseado (644 g, 90 %). CL-EM para C₃H₆N₅O₂(M+H)⁺: m/z = 144,0. RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD): δ 156,0, 145,9, 141,3.

35

Etapa B: Cloruro de 4-amino-N-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo

40



45

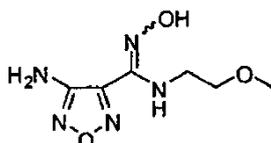
50

Se añadió 4-amino-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (422 g, 2,95 moles) a una mezcla de agua (5,9 l), ácido acético (3 l) y ácido clorhídrico 6 N (1,475 l, 3 eq.) y esta suspensión se agitó a 42 - 45 °C hasta que se logró la disolución completa. Se añadió cloruro sódico (518 g, 3 eq.) y esta disolución se agitó en un baño de hielo/agua/metanol. Se añadió una disolución de nitrato de sodio (199,5 g, 0,98 eq.) en agua (700 ml) durante 3,5 h mientras que se mantenía la temperatura por debajo de 0 °C. Después de la adición completa la agitación continuó en el baño de hielo durante 1,5 h y a continuación la mezcla de reacción se dejó calentar a 15 °C. Se recogió el precipitado por filtración, se lavó bien con agua, se recogió en acetato de etilo (3,4 l), se trató con sulfato de sodio anhidro (500 g) y se agitó durante 1 h. Esta suspensión se filtró a través de sulfato de sodio (200 g) y el filtrado se concentró sobre un evaporador rotatorio. El residuo se disolvió en metil t-butil éter (5,5 l), se trató con carbón vegetal (40 g), se agitó durante 40 min y se filtró a través de Celite. El disolvente se eliminó en un evaporador rotatorio y el producto resultante se secó en una estufa de vacío (45 °C) dando el producto deseado (256 g, 53,4 %). CL-EM para C₃H₄ClN₄O₂ (M+H)⁺: m/z = 162,9. RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD): δ 155,8, 143,4, 129,7.

55

Etapa C: 4-Amino-N'-hidroxi-N-(2-metoxietil)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

60

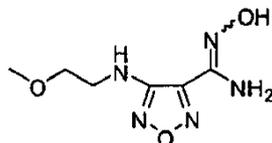


65

Se mezcló cloruro de 4-amino-N-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo (200,0 g, 1,23 moles) con acetato de etilo (1,2 l). A 0-5 °C se añadió 2-metoxietilamina [Aldrich, producto nº 143693] (119,0 ml, 1,35 moles) en una

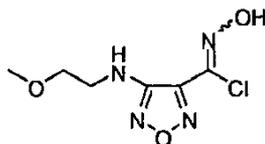
porción mientras se agitaba. La temperatura de reacción subió a 41 °C. La reacción se enfrió a 0 - 5 °C. Se añadió trietilamina (258 ml, 1,84 moles). Después de agitar 5 min, la CL-EM indicó completitud de la reacción. La disolución de reacción se lavó con agua (500 ml) y salmuera (500 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró dando el producto deseado (294 g, 119 %) como un aceite oscuro en bruto. CL-EM para $C_6H_{12}N_5O_3(M+H)^+$: $m/z = 202,3$.
 5 RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,65 (s, 1H), 6,27 (s, 2H), 6,10 (t, $J = 6,5$ Hz, 1H), 3,50 (m, 2H), 3,35 (d, $J = 5,8$ Hz, 2H), 3,08 (s, 3H).

Etapa D: *N'*-Hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida



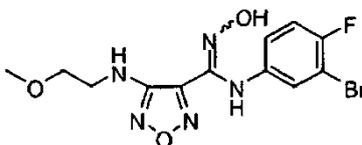
Se mezcló 4-amino-*N'*-hidroxi-*N*-(2-metoxietil)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (248,0 g, 1,23 moles) con agua (1 l). Se añadió hidróxido potásico (210 g, 3,7 moles). La reacción se sometió a reflujo a 100 °C durante la noche (15 horas). La CCF con 50 % de acetato de etilo (que contiene 1 % de hidróxido de amonio) en hexano indicó reacción completa (R_f del producto = 0,6, R_f del material de partida = 0,5). La CL-EM también indicó completitud de la reacción. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con acetato de etilo (3 x 1 l). La disolución de acetato de etilo combinada se secó sobre sulfato de sodio y se concentró dando el producto deseado (201 g, 81 %) como un sólido blanquecido en bruto. CL-EM para $C_6H_{12}N_5O_3 (M+H)^+$: $m/z = 202,3$ RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,54 (s, 1H), 6,22 (s, 2H), 6,15 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 3,45 (t, $J = 5,3$ Hz, 2H), 3,35 (m, 2H), 3,22 (s, 3H).

Etapa E: Cloruro de *N'*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo



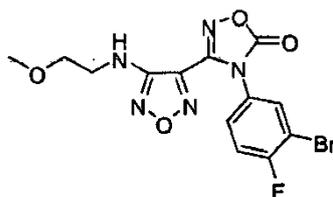
A temperatura ambiente se disolvió *N'*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (50,0 g, 0,226 moles) en disolución acuosa de ácido clorhídrico 6,0 M (250 ml, 1,5 moles). Se añadió cloruro sódico (39,5 g, 0,676 moles), seguido de agua (250 ml) y acetato de etilo (250 ml). A 3-5 °C se añadió lentamente una disolución acuosa previamente preparada (100 ml) de nitrito de sodio (15,0 g, 0,217 moles) durante 1 h. La reacción se agitó a 3 - 8 °C durante 2 horas y a continuación a temperatura ambiente durante el fin de semana. La CL-EM indicó reacción completa. La disolución de reacción se extrajo con acetato de etilo (2 x 200 ml). La disolución de acetato de etilo combinada se secó sobre sulfato de sodio y se concentró dando el producto deseado (49,9 g, 126 %) como un sólido blanco en bruto. CL-EM para $C_6H_{10}ClN_4O_3 (M+H)^+$: $m/z = 221,0$. RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 13,43 (s, 1H), 5,85 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 3,50 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 3,37 (dd, $J = 10,8, 5,6$ Hz, 2H), 3,25 (s, 3H).

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



Se mezcló cloruro de *N'*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo (46,0 g, 0,208 moles) con agua (300 ml). La mezcla se calentó a 60 °C. Se añadió 3-bromo-4-fluoroanilina [Oakwood Products, producto n° 013091] (43,6 g, 0,229 moles) y se agitó durante 10 min. Se añadió una disolución caliente de bicarbonato sódico (26,3 g, 0,313 moles) (300 ml agua) durante 15 min. La reacción se agitó a 60 °C durante 20 min. La CL-EM indicó completitud de la reacción. La disolución de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con acetato de etilo (2 x 300 ml). La disolución de acetato de etilo combinada se secó sobre sulfato de sodio y se concentró dando el producto deseado (76,7 g, 98 %) como un sólido marrón en bruto. CL-EM para $C_{12}H_{14}BrFN_5O_3 (M+H)^+$: $m/z = 374,0, 376,0$. RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,55 (s, 1H), 8,85 (s, 1H), 7,16 (t, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,08 (dd, $J = 6,1, 2,7$ Hz, 1H), 6,75 (m, 1H), 6,14 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 3,48 (t, $J = 5,2$ Hz, 2H), 3,35 (dd, $J = 10,8, 5,6$ Hz, 2H), 3,22 (s, 3H).

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



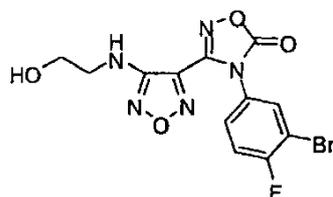
5

Se calentó una mezcla de *N*-(3-bromo-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (76,5 g, 0,204 moles), 1,1'-carbonildiimidazol (49,7 g, 0,307 moles) y acetato de etilo (720 ml) a 60 °C y se agitó durante 20 min. La CL-EM indicó reacción completa. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se lavó con HCl 1 N (2 x 750 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró dando el producto deseado (80,4 g, 98 %) como un sólido marrón en bruto. CL-EM para $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$ (M+H)⁺: m/z = 400,0, 402,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,94 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,72 (dd, *J* = 9,1, 2,3 Hz, 1H), 7,42 (m, 1H), 6,42 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 3,46 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H), 3,36 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H), 3,26 (s, 3H).

15

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

20



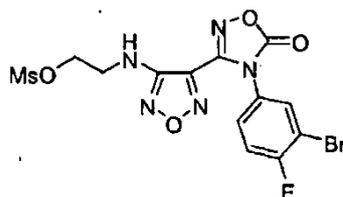
25

Se disolvió 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona (78,4 g, 0,196 moles) en diclorometano (600 ml). A -67 °C se añadió tribromuro de boro (37 ml, 0,392 moles) durante 15 min. La reacción se calentó a -10 °C en 30 min. La CL-EM indicó reacción completa. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A 0 - 5 °C la reacción se extinguió lentamente con disolución saturada de bicarbonato sódico (1,5 l) durante 30 min. La temperatura de reacción subió a 25 °C. La reacción se extrajo con acetato de etilo (2 x 500 ml, la primera fase orgánica de extracción está en el fondo y la segunda fase orgánica de extracción está arriba). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron dando el producto deseado (75 g, 99 %) como un sólido marrón en bruto. CL-EM para $C_{12}H_{10}BrFN_5O_4$ (M+H)⁺: m/z = 386,0, 388,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,08 (dd, *J* = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,70 (m, 1H), 7,68 (t, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,33 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,85 (t, *J* = 5,0 Hz, 1H), 3,56 (dd, *J* = 10,6, 5,6 Hz, 2H), 3,29 (dd, *J* = 11,5, 5,9 Hz, 2H).

35

Etapa I: Metanosulfonato de 2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etilo

40



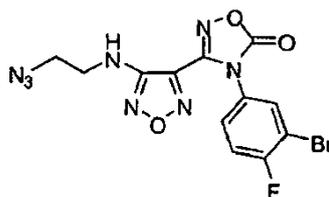
45

A una disolución de 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona (1,5 kg, 3,9 moles, que también contiene algo del compuesto de bromo correspondiente) en acetato de etilo (12 l) se añadió cloruro de metanosulfonylo (185 ml, 2,4 moles) gota a gota durante 1 h a temperatura ambiente. Se añadió gota a gota trietilamina (325 ml, 2,3 moles) durante 45 min, tiempo durante el cual la temperatura de reacción aumentó a 35 °C. Después de 2 h, la mezcla de reacción se lavó con agua (5 l), salmuera (1 l), se secó sobre sulfato de sodio, se combinó con 3 reacciones más del mismo tamaño, y los disolventes se eliminaron a vacío proporcionando el producto deseado (7600 g, rendimiento cuantitativo) como un sólido de color tostado. CL-EM para $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$ (M+Na)⁺: m/z = 485,9, 487,9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 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* = 5,9 Hz, 1H), 4,36 (t, *J* = 5,3 Hz, 2H), 3,58 (dd, *J* = 11,2, 5,6 Hz, 2H), 3,18 (s, 3H).

55

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

65



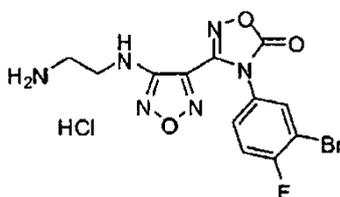
5

10 A una disolución de metanosulfonato de 2-((2-azidoetil)amino)-1,2,5-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il]amino)etilo (2,13 kg, 4,6 moles, que también contiene algo del compuesto de bromo correspondientes) en dimetilformamida (4 l) agitando en un matraz de 22 l se añadió azida de sodio (380 g, 5,84 moles). La reacción se calentó a 50 °C durante 6 h, se vertió en hielo/agua (8 l) y se extrajo con 1:1 de acetato de etilo:heptano (20 l). La fase orgánica se lavó con agua (5 l) y salmuera (5 l), y los disolventes se eliminaron a vacío proporcionando el producto deseado (1464 g, 77 %) como un sólido de color tostado. CL-EM para $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$ (M+Na)⁺: m/z = 433,0, 435,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 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).

15

20 Etapa K: Clorhidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il]-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona

20



25

30 Se añadió yoduro de sodio (1080 g, 7,2 moles) a 3-{4-[(2-azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il]-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona (500 g, 1,22 moles) en metanol (6 l). La mezcla se dejó con agitación durante 30 min, tiempo durante el cual se observó una leve exotermia. Se añadió clorotrimetilsilano (930 ml, 7,33 moles) como disolución en metanol (1 l) gota a gota a una tasa de manera que la temperatura no superó 35 °C, y la reacción se dejó con agitación durante 3,5 h a temperatura ambiente. La reacción se neutralizó con 33 % en peso de disolución de tiosulfato de sodio pentahidratado en agua (~1,5 l), se diluyó con agua (4 l) y el pH se ajustó a 9 cuidadosamente con carbonato de potasio sólido (250 g – se añadió en pequeñas partes: se observa espumación). Se añadió dicarbonato de di-*terc*-butilo (318 g, 1,45 moles) y la reacción se dejó con agitación a temperatura ambiente. Se añadió carbonato de potasio adicional (200 g) en porciones de 50 g durante 4 h para garantizar que el pH estaba todavía en o por encima de 9. Después de agitar a temperatura ambiente durante la noche, el sólido se filtró, se trituró con agua (2 l) y a continuación MTBE (1,5 l). Se realizaron un total de 11 series (5,5 kg, 13,38 moles). Los sólidos combinados se trituraron con 1:1 de THF:diclorometano (24 l, 4 series en un matraz de evaporador rotatorio de 20 l, 50 °C, 1 h), se filtraron y se lavaron con diclorometano (3 l cada serie) proporcionando un sólido blanquecino. El material en bruto se disolvió a 55 °C tetrahidrofurano (5 ml/g), se trató con carbón decolorante (2 % en peso) y gel de sílice (2 % en peso) y se filtró en caliente a través de Celite proporcionando el producto como un sólido blanquecino (5122 g). Los filtrados de MTBE, THF y diclorometano combinados se concentraron a vacío y se cromatografiaron (2 kg de gel de sílice, heptano con un gradiente del 0-100 % de acetato de etilo, 30 l) proporcionando más producto (262 g). Los sólidos combinados se secaron a un peso constante en un horno de convección (5385 g, 83 %).

35

40

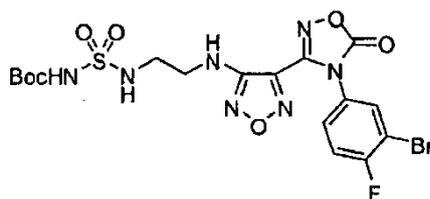
45

50 En un matraz de 22 l se cargó cloruro de hidrógeno (disolución 4 N en 1,4-dioxano, 4 l, 16 moles). Se añadió 2-((2-((4-[(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il]amino)etil]carbamato de *terc*-butilo (2315 g, 4,77 moles) como un sólido en porciones durante 10 min. La suspensión se agitó a temperatura ambiente y gradualmente se convirtió en una pasta densa que no pudo agitarse. Después de asentarse durante la noche a temperatura ambiente, la pasta se suspendió en acetato de etilo (10 l), se filtró, se resuspendió en acetato de etilo (5 l), se filtró y se secó a un peso constante proporcionando el producto deseado como un sólido blanco (se combinó con otras series, 5 kg de material de partida cargado, 4113 g, 95 %). CL-EM para $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$ (M+H)⁺: m/z = 384,9, 386,9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,12 (m, 4H), 7,76 (m, 1H), 7,58 (t, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,78 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H), 3,51 (dd, *J* = 11,8, 6,1 Hz, 2H), 3,02 (m, 2H).

55

60 Etapa L: (([2-((4-[(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il]amino)etil]amino)sulfonil)carbamato de *terc*-butilo

65

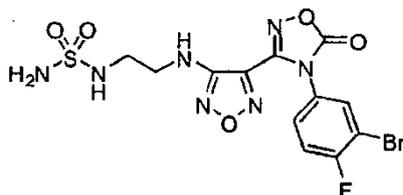


5

10 Se cargó un matraz redondo de 5 l con isocianato de clorosulfonilo [Aldrich, producto n° 142662] (149 ml, 1,72 moles) y diclorometano (1,5 l) y se enfrió usando un baño de hielo a 2 °C. Se añadió gota a gota *tert*-butanol (162 ml, 1,73 moles) en diclorometano (200 ml) a una tasa de manera que la temperatura no superó 10 °C. La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30-60 min proporcionando [clorosulfonil]carbamato de *tert*-butilo.

15 Se cargó un matraz de 22 l con clorhidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona (661 g, 1,57 moles) y 8,5 l de diclorometano. Después de enfriarse a -15 °C con un baño de hielo/sal, la disolución de [clorosulfonil]carbamato de *tert*-butilo (preparada como antes) se añadió a una tasa de manera que la temperatura no superó -10 °C (tiempo de adición 7 min). Después de agitar durante 10 min, se añadió trietilamina (1085 ml, 7,78 moles) a una tasa de manera que la temperatura no superó -5 °C (tiempo de adición 10 min). Se retiró el baño frío, la reacción se dejó calentar a 10 °C, se fraccionó en dos porciones y se neutralizó con 10 % de HCl conc. (4,5 l cada porción). Cada porción se transfirió a un embudo de decantación de 50 l y se diluyó con acetato de etilo para disolver completamente el sólido blanco (~25 l). Se separaron las fases, y la fase orgánica se lavó con agua (5 l), salmuera (5 l) y los disolventes se eliminaron a vacío proporcionando un sólido blanquecino. El sólido se trituró con MTBE (2 x 1,5 l) y se secó a un peso constante proporcionando un sólido blanco. Se procesó un total de 4113 g de material de partida de este modo (5409 g, 98 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,90 (s, 1H), 8,08 (dd, *J* = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,59 (t, *J* = 8,6 Hz, 1H), 6,58 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 3,38 (dd, *J* = 12,7,6,2 Hz, 2H), 3,10 (dd, *J* = 12,1, 5,9 Hz, 2H), 1,41 (s, 9 H).

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



35

40 A un matraz de 22 l que contenía 98:2 de ácido trifluoroacético:agua (8,9 l) se añadió ({[2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etil]amino}sulfonil)carbamato de *tert*-butilo (1931 g, 3,42 moles) en porciones durante 10 minutos. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h, los disolventes se eliminaron a vacío y se atraparon con diclorometano (2 l). El sólido resultante se trató una segunda vez con 98:2 de ácido trifluoroacético:agua (8,9 l) fresco, se calentó durante 1 h a 40-50 °C, los disolventes se eliminaron a vacío y se atraparon con diclorometano (3 x 2 l). El sólido blanco resultante se secó en un horno de secado a vacío a 50 °C durante la noche. Se procesó un total de 5409 g de este modo (4990 g, rendimiento cuant.). CL-EM para C₁₂H₁₂BrFN₇O₅S (M+H)⁺: m/z = 463,9, 465,9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,08 (dd, *J* = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,59 (t, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,67 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 6,52 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,38 (dd, *J* = 12,7, 6,3 Hz, 2H), 3,11 (dd, *J* = 12,3, 6,3 Hz).

50

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

55 A una mezcla en bruto de N-[2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etil]sulfamida (2,4 moles) que contenía cantidades residuales de ácido trifluoroacético agitadas en un matraz de 22 l se añadió THF (5 l). La disolución resultante se enfrió a 0 °C usando un baño de hielo y se añadió NaOH 2 N (4 l) a una tasa de manera que la temperatura no superó 10 °C. Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 h (la CL-EM indicó que no quedaba material de partida), el pH se ajustó a 3-4 con HCl concentrado (~500 ml). El THF se eliminó a vacío y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (15 l). La fase orgánica se lavó con agua (5 l), salmuera (5 l) y los disolventes se eliminaron a vacío proporcionando un sólido. El sólido se trituró con MTBE (2 x 2 l), se combinó con otras tres reacciones del mismo tamaño y se secó durante la noche en un horno de convección proporcionando un sólido blanco (3535 g). Se recristalizó el sólido (3 matraces x 22 l, 2:1 de agua:etanol, 14,1 l cada matraz) y se secó en un horno de convección a 50 °C a un peso constante para proveer el compuesto del título como un sólido blanquecino (3290 g, 78 %). CL-EM para C₁₁H₁₄BrFN₇O₄S (M+H)⁺: m/z = 437,9,439,9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,51 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 7,17 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,11 (dd, *J* =

65

ES 2 665 419 T3

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

5 El producto final fue un sólido cristalino anhidro. Se determinó que el contenido de agua era inferior al 0,1 % por valoración de Karl Fischer. Se determinó el patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) (difractómetro de polvo Rigaku MiniFlex; Cu a $1,054056\text{\AA}$ con filtro $K\beta$; ángulo inicial = 3, ángulo de parada = 45, muestreo = 0,02, velocidad de barrido = 2) y se muestra en la Figura 1. Una lista de picos de 2-theta se proporciona en la Tabla 1 a continuación. El intervalo de fusión del sólido se determinó en un instrumento 822 de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de Mettler Toledo. La muestra se calentó de 40 °C a 240 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C por min. El termograma de DSC (Figura 2) mostró una $T_{\text{aparición}}$ a 162,7 °C y T_{pico} a 163,8 °C. El análisis termogravimétrico (TGA) (Figura 3) mostró pérdida de peso del 0,3 %, calentamiento de 20 °C a 150 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min usando un instrumento Q500 de TA.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

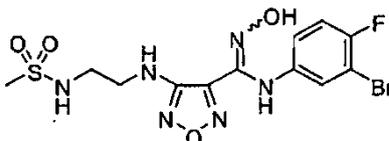
Tabla 1

	2-Theta	Altura	H%
	3.9	74	1.1
5	7.2	119	1.8
	13.4	180	2.8
	14.0	150	2.3
10	15.9	85	1.3
	18.4	903	13.9
	18.9	1469	22.7
15	21.3	519	8
	21.8	6472	100
	22.7	516	8
20	23.9	2515	38.9
	24.8	804	12.4
	25.3	182	2.8
25	27.4	476	7.4
	28.6	354	5.5
	29.2	1767	27.3
30	29.9	266	4.1
	30.6	773	11.9
	31.2	379	5.8
35	31.6	291	4.5
	32.7	144	2.2
	33.5	221	3.4
40	36.4	469	7.2
	37.6	152	2.3
	38.7	1381	21.3
45	41.0	153	2.4
	42.1	382	5.9
	43.6	527	8.1
50	44.4	1080	16.7

Ejemplo 2

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

60

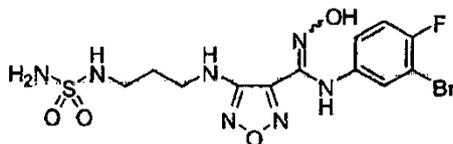


65 El compuesto del título se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 17, Etapa E**, usando *N'*-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonyl)amino]etil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida y 3-bromo-4-fluoroanilina [Oakwood Products, Inc., producto nº 013091] como materiales de partida. CL-EM para C₁₂H₁₅BrFN₆O₄S (M+H)⁺: m/z = 437,0, 439,0.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 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), 2,89 (s, 3H).

Ejemplo 3

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

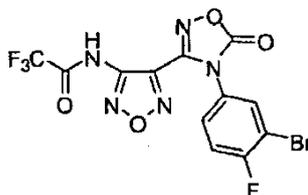


Etapa A: 3-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona



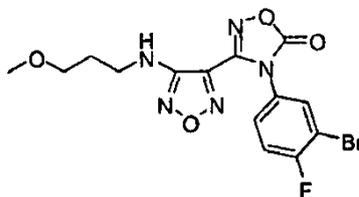
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 5, Etapa A**, usando 4-amino-*N*-(3-bromo-4-fluorofenil)-*N*'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida [véase la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n° 2006/0258719] como material de partida con un rendimiento del 98 %. CL-EM para $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{BrFN}_5\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}^+$): $m/z = 342,0, 344,0$. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 8,06 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1H), 7,72 - 7,67 (m, 1H), 7,58 (dd, $J = 8,7, 8,7$ Hz, 1H), 6,60 (s, 2H).

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



El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 5, Etapa B**, usando 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona como material de partida con un rendimiento del 81 %. CL-EM para $\text{C}_{12}\text{H}_5\text{BrF}_4\text{N}_5\text{O}_4$ ($\text{M}+\text{H}^+$): $m/z = 437,9, 439,9$. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 7,92 - 7,89 (m, 1H), 7,54 - 7,52 (m, 2H).

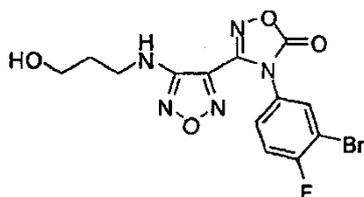
Etapa C: 4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona



Se trató una disolución de 3-metoxipropan-1-ol [Fluka, producto n° 38457] (3,1 ml, 32 mmoles) y trifetilfosfina (8,4 g, 32 mmoles) en tetrahidrofurano (93 ml) a 0 °C con azodicarboxilato de diisopropilo (6,7 ml, 34 mmoles) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 15 min, se trató con una disolución de *N*-{4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-2,2,2-trifluoroacetamida (10 g, 23 mmoles) en tetrahidrofurano (47 ml) y se agitó a 25 °C durante 72 h. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó con acetato de etilo (200 ml), se trató con ácido trifluoroacético (20 ml) y agua (20 ml) y se calentó a 50 °C durante 6 h. La mezcla de reacción se concentró, se re-diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con agua (3 x 80 ml), bicarbonato sódico saturado (2 x 80 ml) y salmuera (80 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró dando un residuo en bruto. Este material se purificó sobre gel de sílice dando el producto deseado (6,4 g,

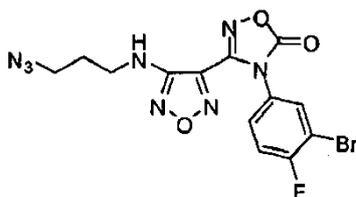
54 %) como un sólido blanco. CL-EM para $C_{14}H_{14}BrFN_5O_4(M+H)^+$: $m/z = 414,0,416,0$.

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



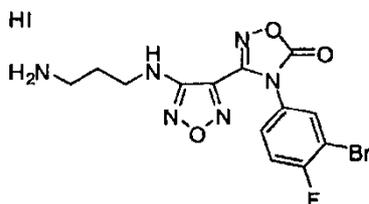
Se trató una disolución de 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (6,3 g, 14 mmoles) en diclorometano (60 ml) a $-78\text{ }^\circ\text{C}$ con tribromuro de boro 1 M en diclorometano (28 ml, 28 mmoles) y se agitó a $25\text{ }^\circ\text{C}$, durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió a $0\text{ }^\circ\text{C}$ y se extinguió con bicarbonato sódico saturado (100 ml). La fase acuosa se separó y se extrajo con diclorometano (2 x 150 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron dando un sólido blanquecino en bruto. Este material se purificó sobre gel de sílice dando el producto deseado (4,0 g, 73 %) como un sólido blanco. CL-EM para $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4(M+H)^+$: $m/z = 400,0, 402,0$. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 8,07 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1H), 7,72 - 7,68 (m, 1H), 7,59 (dd, $J = 8,8, 8,6$ Hz, 1H), 6,54 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,60 (t, $J = 5,1$ Hz, 1H), 3,48 - 3,43 (m, 2H), 3,32 - 3,26 (m, 2H), 1,74 - 1,67 (m, 2H).

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



Se trató una disolución de 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(3-hidroxiopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (3,0 g, 7,5 mmoles) en diclorometano (27 ml) con cloruro de metanosulfonilo (0,75 ml, 9,7 mmoles) y *N,N*-diisopropiletilamina (2,6 ml, 15 mmoles) y se agitó a $25\text{ }^\circ\text{C}$ durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con diclorometano (20 ml). La fase orgánica se separó, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró dando el mesilato que se usó sin más purificación. Se trató una disolución del mesilato en bruto en *N,N*-dimetilformamida (24 ml) con azida de sodio (0,73 g, 11 mmoles) y se calentó a $85\text{ }^\circ\text{C}$ durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (300 ml) y se lavó con agua (100 ml), bicarbonato sódico saturado (100 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró dando el producto deseado (3,2 g, 99 %). Este material se usó sin más purificación. CL-EM para $C_{13}H_{10}BrFN_8O_3Na(M+Na)^+$: $m/z = 446,9, 448,9$.

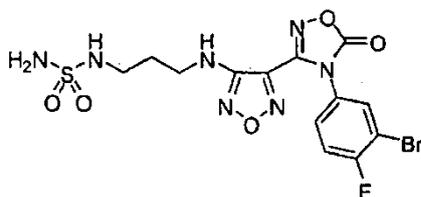
Etapa F: Yodhidrato de 3-{4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona



Se trató una disolución de 3-{4-[(3-azidopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (2,0 g, 4,7 mmoles) en metanol (36 ml) con yoduro de sodio (4,2 g, 28 mmoles) y se agitó a $25\text{ }^\circ\text{C}$ durante 5 min. La mezcla de reacción se trató con una disolución de clorotrimetilsilano (3,6 ml, 28 mmoles) en metanol (7 ml) gota a gota y se agitó a $25\text{ }^\circ\text{C}$ durante 40 min. La mezcla de reacción se vertió lentamente en una disolución de tiosulfato de sodio (5,0 g, 32 mmoles) en agua (200 ml) que se enfrió a $0\text{ }^\circ\text{C}$. El sólido que precipitó se filtró, se lavó con agua y se secó dando el producto deseado (2,3 g, 93 %) como un sólido. CL-EM para $C_{13}H_{13}BrFN_6O_3(M+H)^+$: $m/z = 399,0, 401,0$. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 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 a, 2H), 6,69 (s a, 1H), 2,81 - 2,77 (m, 2H), 1,86 - 1,79 (m, 2H).

Etapa G: *N*-[3-{4-[(3-Bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}]

amino)propil]sulfamida



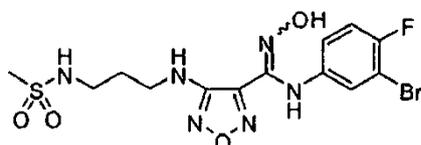
Se calentó una disolución de yodhidrato de 3-{4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona (150 mg, 0,28 mmoles) y sulfamida (160 mg, 1,7 mmoles) en piridina (2,5 ml) en un microondas a 130 °C durante 10 min. Se concentró la mezcla de reacción dando un residuo en bruto. Este material se purificó por CL-EM preparativa dando el producto deseado (96 mg, 71 %) como un sólido. CL-EM para $C_{13}H_{14}BrFN_7O_5S$ (M+H)⁺: m/z = 478,0, 480,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,07 (dd, *J* = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,73 - 7,69 (m, 1H), 7,59 (dd, *J* = 8,8, 8,6 Hz, 1H), 6,57 - 6,51 (m, 4H), 3,31 - 3,26 (m, 2H), 2,92 - 2,87 (m, 2H), 1,79 - 1,72 (m, 2H).

Etapa H: 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propil}amino)-*N*-(3-bromo-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

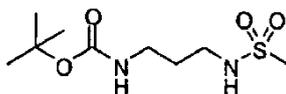
Se trató una disolución de *N*-[3-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)propil]sulfamida (35 mg, 73 μmoles) en metanol (1 ml) con NaOH 2 M (0,3 ml, 0,6 mmoles) y se agitó a 25 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se trató con ácido acético (50 μl, 0,9 mmoles), se filtró y se purificó por CL-EM preparativa dando el producto deseado (14 mg, 42 %) como un sólido. CL-EM para $C_{12}H_{16}BrFN_7O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 451,8, 453,9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,5 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 7,17 (dd, *J* = 8,8, 8,6 Hz, 1H), 7,09 (dd, *J* = 6,1, 2,7 Hz, 1H), 6,76 - 6,72 (m, 1H), 6,56 (dd, *J* = 6,1, 6,1 Hz, 1H), 6,51 (s, 2H), 6,17 (dd, *J* = 5,9, 5,9 Hz, 1H), 3,27 - 3,21 (m, 2H), 2,94 - 2,88 (m, 2H), 1,78 - 1,71 (m, 2H).

Ejemplo 4

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

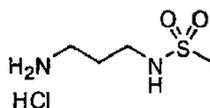


Etapa A: {3-[(Metilsulfonyl)amino]propil}carbamato de *tert*-butilo



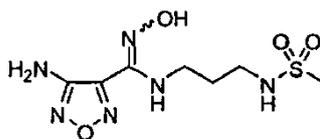
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 17, Etapa A**, usando *N*-(3-aminopropil)-*tert*-butoxi)carboxamida [Aldrich, producto nº 436992] como material de partida con un rendimiento del 70 %. CL-EM para $C_4H_{13}N_2O_2S$ ([M-Boc+H]⁺): m/z = 153,1.

Etapa B: Clorhidrato de *N*-(3-aminopropil)metanosulfonamida



El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 17, Etapa B**, usando {3-[(metilsulfonyl)amino]propil}carbamato de *tert*-butilo como material de partida. CL-EM para $C_4H_{13}N_2O_2S$ (M+H)⁺: m/z = 153,1.

Etapa C: 4-Amino-*N'*-hidroxi-*N*-{3-[(metilsulfonyl)amino]propil}-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

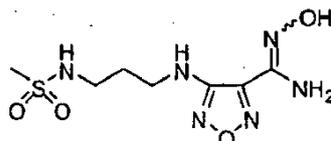


5

El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 17, Etapa C**, usando clorhidrato de *N*-(3-aminopropil)metanosulfonamida y cloruro de 4-amino-*N*-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo [preparado según el **Ejemplo 1, Etapas A a B**] como materiales de partida con un rendimiento del 19 %.

10

Etapa D: *N*'-Hidroxi-4-({3-[(metilsulfonyl)amino]propil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida



15

El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 17, Etapa D**, usando 4-amino-*N*'-hidroxi-*N*'-{3-[(metilsulfonyl)amino]propil}-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida como material de partida. CL-EM para $C_7H_{15}N_6O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 279,0.

20

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

25

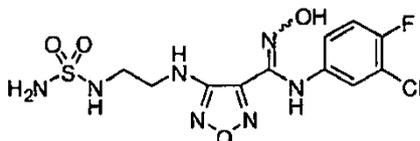
El compuesto del título se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 17, Etapa E**, usando *N*'-hidroxi-4-({3-[(metilsulfonyl)amino]propil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida y 3-bromo-4-fluoroanilina [Oakwood Products, Inc., producto n° 013091] como materiales de partida con un rendimiento del 12 %. CL-EM para $C_{13}H_{17}BrFN_6O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 451,0, 453,0. RMN ¹H (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).

30

Ejemplo 5

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

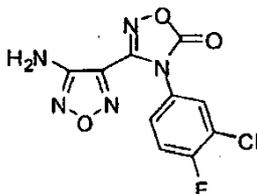
35



40

Etapa A: 3-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-(3-cloro-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona

45



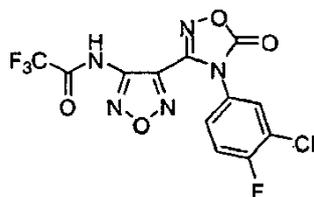
50

Se trató una disolución de 4-amino-*N*-(3-cloro-4-fluorofenil)-*N*'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (80 g, 0,29 moles) [véase la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n° 2006/0258719] en tetrahidrofurano (500 ml) con una disolución de 1,1'-carbonildiimidazol (53 g, 0,32 moles) en tetrahidrofurano (200 ml) y se calentó a reflujo durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió a 25 °C y se concentró hasta el punto en el que precipitó una gran cantidad de sólido. La mezcla heterogénea se diluyó con acetato de etilo (1,5 l) y se lavó con HCl 1 N (2 x 300 ml), agua (300 ml) y salmuera (200 ml). La fase orgánica se separó, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró dando el producto deseado (88 g, cuantitativo) como un sólido blanquecino. Este material se usó sin más purificación. CL-EM para $C_{10}H_6ClFN_5O_3$ (M+H)⁺: m/z = 298,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,96 (dd, *J* = 6,6, 2,3 Hz, 1H), 7,69 - 7,60 (m, 2H), 6,60 (s, 2H).

60

Etapa B: *N*-[4-[4-(3-cloro-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il]-2,2,2-trifluoroacetamida

65



5

10

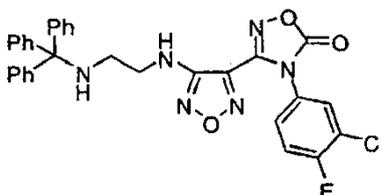
15

20

Se trató una disolución de 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-(3-cloro-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (15 g, 50 mmoles) en diclorometano (120 ml) con anhídrido trifluoroacético (14 ml, 100 mmoles), se enfrió a 0 °C y se trató con piridina (8,2 ml, 100 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 10 min, se enfrió a 0 °C y se extinguió con agua (10 ml). La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (500 ml) y se lavó con HCl 1 N (300 ml), agua (2 x 200 ml) y salmuera (200 ml). La fase orgánica se separó, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a ~50 ml de volumen. Esta disolución se calentó (~40-50 °C) y se trató con hexanos (600 ml) bajo agitación vigorosa, seguido de éter de petróleo (200 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min y el sólido se recogió por filtración, se lavó con hexanos y se secó dando el producto deseado (19,7 g, 99 %) como un sólido blanco. CL-EM para C₁₂H₅ClF₄N₅O₄ (M+H)⁺: m/z = 394,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,82 (dd, *J* = 6,6,2,5 Hz, 1H), 7,59 (dd, *J* = 9,0, 9,0 Hz, 1H), 7,52 - 7,47 (m, 1H).

Etapas C: 4-(3-Cloro-4-fluorofenil)-3-(4-[[2-(tritolamino)etil]amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona

25



30

35

40

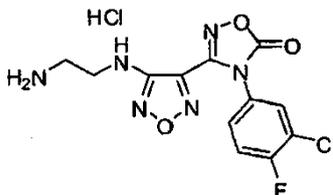
45

Se trató una disolución de 2-(tritolamino)etanol (10 g, 33 mmoles) [documento EP599220 y J. Org. Chem. (2001), 66, 7615] y trifenilfosfina (8,7 g, 33 mmoles) en tetrahidrofurano (65 ml) a 0 °C con azodicarboxilato de diisopropilo (7,0 ml, 35 mmoles) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 15 min, se trató con una disolución de *N*-{4-[4-(3-cloro-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-2,2,2-trifluoroacetamida (9,3 g, 24 mmoles) en tetrahidrofurano (28 ml) y se agitó a 25 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó con acetato de etilo (350 ml), se enfrió a 0 °C, se trató con HCl 1 N (200 ml) y se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se trató con HCl 1 N adicional (150 ml) y se agitó a 25 °C durante 3 h. La fase orgánica se separó, se lavó con bicarbonato sódico saturado (200 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró dando una espuma amarilla que se volvió a concentrar en hexanos dando un sólido aceitoso. El sólido aceitoso se trató con metil *tert*-butil éter (50 ml) y se agitó dando una mezcla heterogénea. El sólido se filtró, se lavó con metil *tert*-butil éter (30 ml) y se secó dando el producto deseado (10 g, 74 %) como un sólido blanco. CL-EM para C₃₁H₂₄ClF₄N₆O₃Na (M+Na)⁺: m/z = 605,2. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,97 (dd, *J* = 6,7, 2,6 Hz, 1H), 7,71 - 7,66 (m, 1H), 7,60 (dd, *J* = 9,1, 8,8 Hz, 1H), 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, 1H), 3,37 - 3,31 (m, 2H), 2,96 (dd, *J* = 7,6, 7,6 Hz, 1H), 2,27 - 2,19 (m, 2H).

Etapas D: Clorhidrato de 3-(4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-(3-cloro-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona

50

55



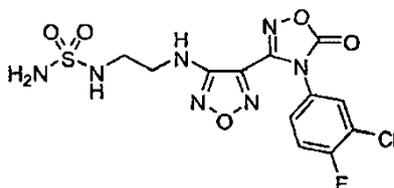
60

65

Se añadió una disolución previamente mezclada de triisopropilsilano (3,4 ml, 17 mmoles) y ácido trifluoroacético (44 ml, 570 mmoles) a 4-(3-cloro-4-fluorofenil)-3-(4-[[2-(tritolamino)etil]amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (6,5 g, 11 mmoles) y la suspensión resultante se agitó a 25 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con ácido trifluoroacético. El filtrado se concentró dando un aceite que se diluyó con metanol (25 ml), se enfrió a 0 °C, se trató con HCl 4 M en 1,4-dioxano (14 ml) y se agitó a 25 °C durante 15 min. La mezcla se concentró dando un sólido que se trató con éter dietílico (50 ml) y se filtró. El sólido se lavó con éter dietílico (50 ml) y se secó dando el producto deseado (4,1 g, 98 %) como un sólido blanco. CL-EM para

$C_{12}H_{11}ClFN_6O_3$ (M+H)⁺: m/z = 341,1. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,05 - 8,00 (m, 4H), 7,75 - 7,69 (m, 1H), 7,64 (dd, *J* = 9,1, 8,8 Hz, 1H), 6,77 (dd, *J* = 5,9, 5,9 Hz, 1H), 3,54 - 3,47 (m, 2H), 3,04 - 2,99 (m, 2H).

Etapa E: *N*-[2-({4-[4-(3-Cloro-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il]amino)etil]sulfamida



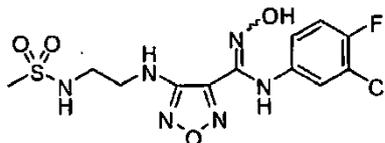
Se trató una disolución de isocianato de clorosulfonilo (2,0 ml, 23 mmoles) en diclorometano (70 ml) con alcohol *t*-butílico (2,2 ml, 23 mmoles) a 0 °C y se agitó a 25 °C durante 1 h. Esta mezcla se añadió a una suspensión de clorhidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-(3-cloro-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona (4,3 g, 11 mmoles) en diclorometano (70 ml). La mezcla de reacción se trató con una disolución de trietilamina (6,3 ml, 45 mmoles) en diclorometano (20 ml) a 0 °C y se agitó a 25 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se diluyó con HCl 0,1 N y se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron dando un sólido blanco. El sólido blanco se diluyó con diclorometano (100 ml), se trató con ácido trifluoroacético (20 ml) y se agitó a 25 °C durante 3 h. Se concentró la mezcla de reacción dando un residuo en bruto que se purificó por cromatografía en gel de sílice dando el producto deseado (3,7 g, 78 %) como un sólido blanco. CL-EM para $C_{12}H_{12}ClFN_7O_5S$ (M+H)⁺: m/z = 420,0. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,98 (dd, *J* = 6,4, 2,1 Hz, 1H), 7,70 - 7,60 (m, 2H), 6,66 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 6,57 (s, 2H), 6,52 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 3,42 - 3,35 (m, 2H), 3,13 - 3,06 (m, 2H).

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

Se trató una disolución de *N*-[2-({4-[4-(3-cloro-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il]amino)etil]sulfamida (3,7 g, 8,8 mmoles) en metanol (70 ml) con NaOH 2 M (18 ml, 35 mmoles) y se agitó a 25 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se inactivó con HCl 6 N a pH~7 y el metanol se eliminó a presión reducida. El sólido que precipitó se filtró y se lavó con agua dando el producto deseado (3,2 g, 92 %) como un sólido blanco. CL-EM para $C_{11}H_{14}ClFN_7O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 394,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,96 (dd, *J* = 6,8, 2,1 Hz, 0,05 H), 7,32 - 7,29 (m, 0, 1H), 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 a, 1H), 3,35 - 3,27 (m, 2H), 3,10 - 3,06 (m, 2H).

Ejemplo 6

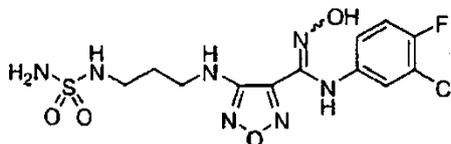
***N*-(3-Cloro-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonil)amino]etil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida**



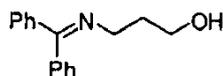
El compuesto del título se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 17, Etapa E**, usando *N'*-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonil)amino]etil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida y 3-cloro-4-fluoroanilina [Aldrich, producto nº 228583] como materiales de partida. CL-EM para $C_{12}H_{15}ClFN_6O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 393,0. RMN ¹H (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).

Ejemplo 7

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



Etapa A: 3-[(Difenilmetileno)amino]propan-1-ol



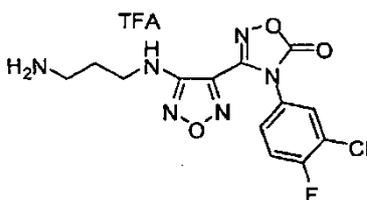
5

Se trató una disolución de 3-amino-1-propanol [Aldrich, producto nº A76400] (2,0 ml, 26 mmoles) en diclorometano (79 ml) con benzofenonaimina (4,4 ml, 26 mmoles) y se agitó a 25 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró dando el producto deseado (6,3 g, cuantitativo) como un aceite. Este material se usó sin más purificación. CL-EM para $C_{16}H_{18}NO$ (M+H)⁺: m/z = 240,2.

10

Etapa B: Trifluoroacetato de 3-[4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il]-4-(3-cloro-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona

15



20

Se trató una disolución de 3-[(difenilmetileno)amino]propan-1-ol (80 mg, 0,33 mmoles) y trifetilfosfina (93 mg, 0,36 mmoles) en tetrahidrofurano (1 ml) a 0 °C con azodicarboxilato de diisopropilo (75 µl, 0,38 mmoles) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 15 min, se trató con una disolución de *N*-[4-[4-(3-cloro-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il]-2,2,2-trifluoroacetamida (100 mg, 0,25 mmoles) en tetrahidrofurano (0,5 ml), y se agitó a 25 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se trató con ácido trifluoroacético (1 ml), se agitó a 25 °C durante 3 h y se concentró dando un residuo en bruto. Este material se purificó por CL-EM preparativa dando el producto deseado (18 mg, 15 %). CL-EM para $C_{13}H_{13}ClFNO_3$ (M+H)⁺: m/z = 355,1.

25

30

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

El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 15, Etapa G**, usando trifluoroacetato de 3-[4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il]-4-(3-cloro-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona como material de partida con un rendimiento del 34 %. CL-EM para $C_{12}H_{16}ClFN_7O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 408,1. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,90 (s, 1H), 7,20 (dd, *J* = 9,2, 9,0 Hz, 1H), 6,96 (dd, *J* = 6,4, 2,7 Hz, 1H), 6,72 - 6,69 (m, 1H), 6,55 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 6,51 (s, 2H), 6,16 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 3,28 - 3,21 (m, 2H), 2,93 - 2,87 (m, 2H), 1,76 - 1,72 (m, 2H).

35

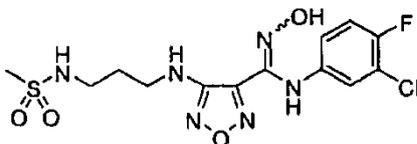
40

40

Ejemplo 8

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

45



50

El compuesto del título se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 4, Etapa E**, usando *N*'-hidroxi-4-({3-[(metilsulfonil)amino]propil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida [preparada según el **Ejemplo 4, Etapas A a D**] y 3-cloro-4-fluoroanilina [Aldrich, producto nº 228583] como materiales de partida con un rendimiento del 10 %. CL-EM para $C_{13}H_{17}ClFN_6O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 407,1. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): 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).

55

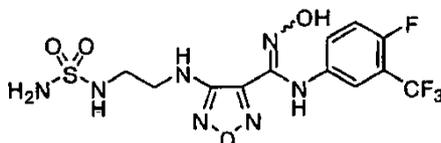
60

Ejemplo 9

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

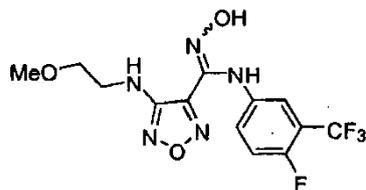
60

65



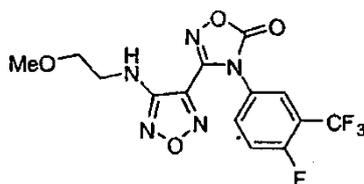
65

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



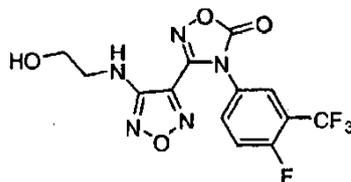
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 13, Etapa A**, usando cloruro de *N*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo [preparado según el **Ejemplo 1, Etapas A a E**] y 3-trifluorometil-4-fluoroanilina [Aldrich, producto nº 217778] como materiales de partida con rendimiento cuantitativo. CL-EM para $C_{13}H_{14}F_4N_5O_3$ (M+H)⁺: m/z = 364,0. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 7,15 (m, 2H), 7,08 (m, 1H), 3,60 (t, J = 5,3 Hz, 2H), 3,46 (t, J = 5,3 Hz, 2H), 3,38 (s, 3H).

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



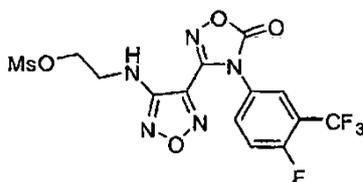
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 13, Etapa B**, usando *N*-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-*N'*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida como material de partida con un rendimiento del 79 %. CL-EM para $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4$ (M+H)⁺: m/z = 390,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,20 (dd, J = 6,3, 2,4 Hz, 1H), 8,03 (m, 1H), 7,76 (t, J = 9,5 Hz, 1H), 6,41 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 3,49 (t, J = 5,5 Hz, 2H), 3,39 (q, J = 5,7 Hz, 2H), 3,25 (s, 3H).

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



El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 13, Etapa C**, usando 4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona como material de partida con un rendimiento del 99 %. CL-EM para $C_{13}H_{10}F_4N_5O_4$ (M+H)⁺: m/z = 376,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,22 (m, 1H), 8,05 (m, 1H), 7,76 (t, J = 9,9 Hz, 1H), 6,34 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 4,87 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 3,56 (q, J = 5,5 Hz, 2H), 3,29 (q, J = 5,7 Hz, 2H).

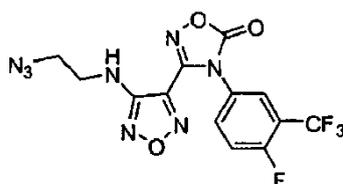
Etapa D: Metanosulfonato de 2-[(4-{4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1,2,5-oxadiazol-3-il)amino]etilo



El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 13, Etapa D**, usando 4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona como material de partida con un rendimiento del 95 %. CL-EM para $C_{14}H_{12}F_4N_5O_6S$ (M+H)⁺: m/z = 454,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,23 (dd, J = 6,5, 2,5 Hz, 1H), 8,06 (m, 1H), 7,76 (t, J = 9,6 Hz, 1H), 6,76 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 4,37 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 3,60 (q, J = 5,5 Hz, 2H), 3,17 (s, 3H).

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

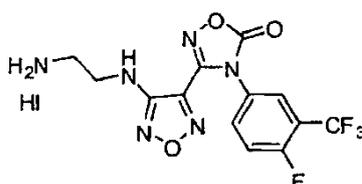
5



10 El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 13, Etapa E**, usando metanosulfonato de 2-[(4-{4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1,2,5-oxadiazol-3-il)amino]etilo como material de partida con un rendimiento del 100 %. CL-EM para $C_{13}H_9F_4N_6O_3$ (M-N₂+H)⁺: m/z = 372,8. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,22 (dd, *J* = 6,2, 2,4 Hz, 1H), 8,05 (m, 1H), 7,76 (t, *J* = 9,6 Hz, 1H), 6,75 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 3,53 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H), 3,45 (q, *J* = 5,6 Hz, 2H).

15 Etapa F: Yodhidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona

20



25 El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 13, Etapa F**, usando 3-{4-[(2-azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona como material de partida con un rendimiento del 80 %. CL-EM para $C_{13}H_{11}F_4N_6O_3$ (M+H)⁺: m/z = 375,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,20 (dd, *J* = 6,2, 2,4 Hz, 1H), 8,03 (m, 1H), 7,74 (t, *J* = 9,8 Hz, 1H), 7,10 (s a, 0,4 H), 6,68 (t, *J* = 5,5 Hz, 1H), 3,42 (q, *J* = 5,8 Hz, 2H), 2,95 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H).

30

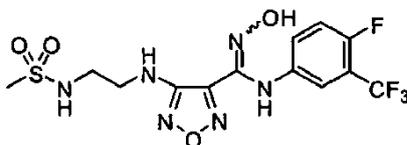
Etapa G: 4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil)amino)-*N*-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-*N'*-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

35 El compuesto del título se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 13, Etapa G**, usando yodhidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona como material de partida con un rendimiento del 55 %. CL-EM para $C_{12}H_{14}F_4N_7O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 428,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,60 (s, 1H), 9,06 (s, 1H), 7,30 (t, *J* = 10,1 Hz, 1H), 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, 1H), 3,36 (q, *J* = 6,5 Hz, 2H), 3,08 (m, 2H).

40 Ejemplo 10

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

45



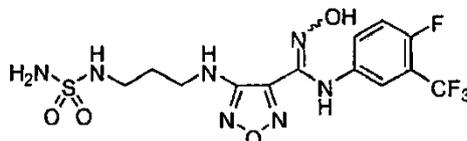
50

55 El compuesto del título se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 17, Etapa E**, usando *N'*-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonil)amino]etil)amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida y 3-trifluorometil-4-fluoroanilina [Aldrich, producto n° 217778] como materiales de partida. CL-EM para $C_{13}H_{15}F_4N_6O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 427,0. RMN ¹H (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).

60 Ejemplo 11

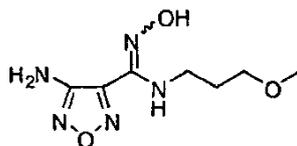
4-({3-[(Aminosulfonil)amino]propil)amino)-*N*-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-*N'*-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

65



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

5

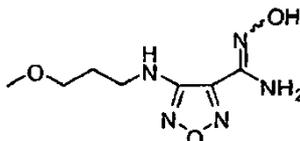


El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 1, Etapa C**, usando 3-metoxi-1-propanamina como material de partida con un rendimiento del 93 %. CL-EM para $C_7H_{14}N_5O_3$ (M+H)⁺: m/z = 216,1.

10

Etapa B: *N'*-Hidroxi-4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

15



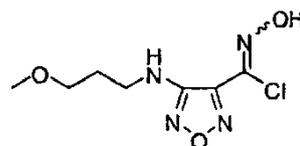
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 1, Etapa D**, usando 4-amino-*N'*-hidroxi-*N*-(3-metoxipropil)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida como material de partida con un rendimiento del 72 %. CL-EM para $C_7H_{14}N_5O_3$ (M+H)⁺: m/z = 216,1. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,4 (s, 1H), 6,21 - 6,13 (m, 3 H), 3,37 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H), 3,28 - 3,21 (m, 5 H), 1,82 - 1,74 (m, 2H).

20

25

Etapa C: Cloruro de *N*-hidroxi-4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo

30

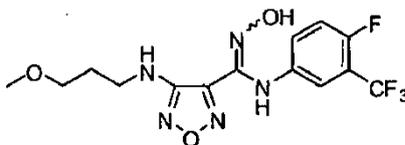


El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 1, Etapa E**, usando *N'*-hidroxi-4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida como material de partida con rendimiento cuantitativo. CL-EM para $C_7H_{12}ClN_4O_3$ (M+H)⁺: m/z = 235,1.

35

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

40



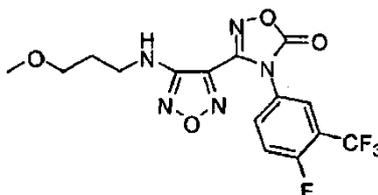
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 1, etapa F**, usando cloruro de *N*-hidroxi-4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo y 4-fluoro-3-(trifluorometil)bencenoamina como materiales de partida con un rendimiento del 87 %. CL-EM para $C_{14}H_{16}F_4N_5O_3$ (M+H)⁺: m/z = 378,1. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,5 (s, 1H), 9,05 (s, 1H), 7,30 (dd, *J* = 10,0,9,6 Hz, 1H), 7,13 - 7,11 (m, 1H), 7,05 - 7,00 (m, 1H), 6,22 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 3,35 - 3,32 (m, 2H), 3,25 - 3,19 (m, 5 H), 1,79 - 1,72 (m, 2H).

45

50

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

55

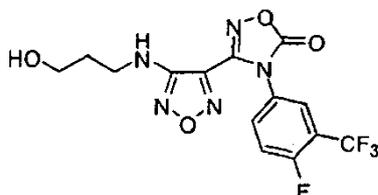


60

El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 1, Etapa G**, usando *N*-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-*N'*-hidroxi-4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida como material de partida con rendimiento cuantitativo. CL-EM para $C_{15}H_{14}F_4N_5O_4$ (M+H)⁺: m/z = 404,0.

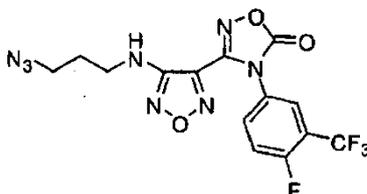
65

Etapa F: 4-[4-Fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-3-{4-[(3-hidroxiopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona



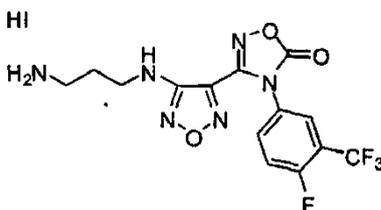
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 3, Etapa D**, usando 4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-3-{4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona como material de partida con un rendimiento del 97 %. CL-EM para $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4(M+H)^+$: $m/z = 390,0$. RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8,20 (dd, $J = 6,4, 2,6$ Hz, 1H), 8,06 - 8,01 (m, 1H), 7,75 (dd, $J = 10,0, 9,4$ Hz, 1H), 6,53 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,59 (t, $J = 5,0$ Hz, 1H), 3,51 - 3,42 (m, 2H), 3,32 - 3,26 (m, 2H), 1,73 - 1,68 (m, 2H).

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



El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 3, etapa E**, usando 4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-3-{4-[(3-hidroxiopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona como material de partida con rendimiento cuantitativo. CL-EM para $C_{14}H_{10}F_4N_8O_3Na(M+Na)^+$: $m/z = 437,0$.

Etapa H: Yodhidrato de 3-{4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona



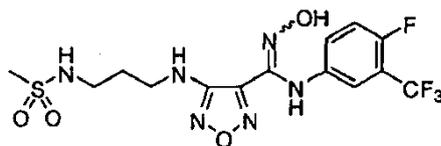
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 3, etapa F**, usando 3-{4-[(3-azidopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona como material de partida con un rendimiento del 81 %. CL-EM para $C_{14}H_{13}F_4N_6O_3(M+H)^+$: $m/z = 389,1$. RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8,18 (dd, $J = 6,4, 2,3$ Hz, 1H), 8,06 - 8,01 (m, 1H), 7,72 (dd, $J = 9,7, 9,4$ Hz, 1H), 7,34 (s a, 2H), 6,71 (s a, 1H), 2,78 - 2,73 (m, 2H), 1,85 - 1,75 (m, 2H).

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

El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 15, Etapa G**, usando yodhidrato de 3-{4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona como material de partida con un rendimiento del 60 %. CL-EM para $C_{13}H_{16}F_4N_7O_4S(M+H)^+$: $m/z = 442,0$. RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11,6 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,31 (dd, $J = 10,0, 9,4$ Hz, 1H), 7,13 (dd, $J = 6,4, 2,9$ Hz, 1H), 7,05 - 6,99 (m, 1H), 6,58 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 6,52 (s, 2H), 6,17 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 3,28 - 3,21 (m, 2H), 2,94 - 2,87 (m, 2H), 1,79 - 1,72 (m, 2H).

Ejemplo 12

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



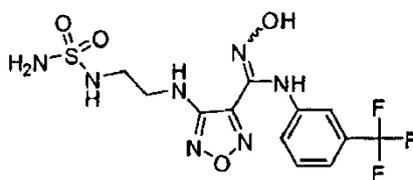
5

El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 16** usando yodhidrato de 3-{4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona como material de partida con un rendimiento del 70 %. CL-EM para $C_{14}H_{17}F_4N_6O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 441,1. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,6 (s, 1H), 9,07 (s, 1H), 7,30 (dd, *J* = 10,0, 9,6 Hz, 1H), 7,13 (dd, *J* = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,05 - 7,02 (m, 2H), 6,19 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 3,27 - 3,21 (m, 2H), 2,99 - 2,94 (m, 2H), 2,87 (s, 3 H), 1,76 - 1,72 (m, 2H).

10

Ejemplo 13**4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)-*N'*-hidroxi-*N*-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida**

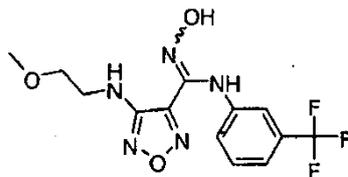
15



20

Etapa A: *N*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-*N*-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

25



30

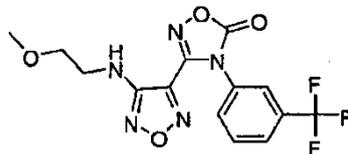
Se agitó cloruro de *N*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo (1,3 g, 5,0 mmoles) [preparado según el **Ejemplo 1, Etapas A a E**] en agua (10 ml) y se calentó a 60 °C durante 5 minutos. Se añadió 3-(trifluorometil)anilina [Aldrich, producto n° A41801] (880 mg, 5,5 mmoles) en una porción y la reacción se agitó durante 15 minutos. Mientras que permanecía a 60 °C, se añadió gota a gota una disolución de bicarbonato sódico (630 mg, 7,5 mmoles) en agua (10 ml) durante 5 minutos. La reacción se agitó a 60 °C durante 50 minutos adicionales, y a continuación se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se añadieron acetato de etilo (20 ml) y salmuera (30 ml) al matraz y se recogió la fase orgánica. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 20 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio. El disolvente se eliminó a vacío dando el producto deseado como un sólido naranja (1,4 g, 80 %). CL-EM calculada para $C_{13}H_{15}F_3N_5O_3$ (M+H)⁺: m/z = 346,1. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): 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).

35

40

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

45



50

Se disolvieron *N*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-*N*-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (1,4 g, 3,80 mmoles) y 1,1'-carbonildiimidazol (1,16 g, 7,16 mmoles) en acetato de etilo (20 ml). La mezcla de reacción se calentó a 70 °C durante 40 minutos. Se añadió 1,1'-carbonildiimidazol adicional (0,26 g, 1,16 mmoles). Después de agitar a 70 °C durante otros 50 minutos, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se añadió acetato de etilo (20 ml) y la reacción en bruto se lavó con HCl 1 N en agua (2 x 20 ml). Se añadió salmuera para ayudar en la separación del primer lavado. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice con un eluyente de acetato de etilo en hexanos dio el producto deseado (1,3 g, 90 %). CL-EM calculada para $C_{14}H_{13}F_3N_5O_4$ (M+H)⁺: m/z = 372,0. RMN ¹H (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).

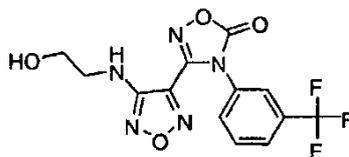
55

60

65

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

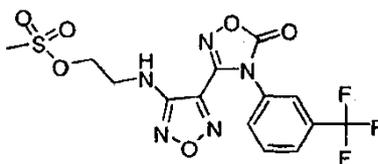
5



10 En un matraz redondo bajo atmósfera de nitrógeno se agitó 3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (1,3 g, 3,6 mmoles) en diclorometano (11 ml). La temperatura se llevó a -78°C y se añadió gota a gota una disolución de tribromuro de boro 1,0 M en diclorometano (7,9 ml, 7,9 mmoles) durante 15 minutos. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante 45 minutos y continuó agitándose a temperatura ambiente durante 45 minutos adicionales. La reacción se enfrió a 0°C y se añadió gota a gota una disolución saturada de bicarbonato sódico en agua (25 ml) durante 15 minutos. Después de calentar hasta temperatura ambiente, se añadieron acetato de etilo (10 ml) y agua (10 ml) al matraz. La fase orgánica se recogió y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 20 ml). Después de secar las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de sodio, el disolvente se eliminó a vacío dando el producto deseado (1,0 g, 81 %). CL-EM calculada para $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_4$ ($\text{M}+\text{H}^+$): $m/z = 358,0$. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 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, 1H), 3,55 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 3,28 (m, 2H).

Etapa D: Metanosulfonato de 2-[(4-{5-oxo-4-[3-(trifluorometil)fenil]-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etilo]

25



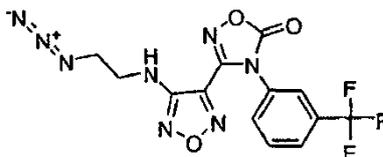
30

35 A una disolución de 3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (1,0 g, 2,9 mmoles) en acetato de etilo (8,5 ml) se añadió cloruro de metanosulfonilo (0,29 ml, 3,7 mmoles) en una porción. La reacción se agitó durante 5 minutos y se añadió trietilamina (0,52 ml, 3,7 mmoles), también en una porción. Después de agitar durante 10 minutos adicionales, la reacción se inactivó con la adición de agua (5 ml). El producto se extrajo con acetato de etilo (2 x 5 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío dando el producto deseado (1,2 g, 99 %). CL-EM calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}^+$): $m/z = 436,0$. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 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).

40

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

45

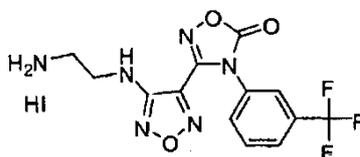


50 Se disolvió metanosulfonato de 2-[(4-{5-oxo-4-[3-(trifluorometil)fenil]-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etilo] (1,2 g, 2,9 mmoles) en *N,N*-dimetilformamida (2,7 ml). Después de añadir azida de sodio (280 mg, 4,3 mmoles) en una porción, la temperatura se llevó a 65°C y la reacción se agitó durante 6 horas. Después de enfriarse de nuevo hasta temperatura ambiente, se añadió agua (10 ml) para extinguir la reacción. El producto se extrajo con acetato de etilo (3x10 ml) y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio. El disolvente se eliminó a vacío dando el producto deseado (1,05 g, 96 %). CL-EM calculada para $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{F}_3\text{N}_6\text{O}_3$ ($\text{M}-\text{N}_2+\text{H}^+$): $m/z = 355,0$. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 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).

Etapa F: Yodhidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona

60

65



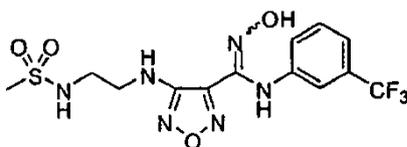
A una disolución de 3-{4-[(2-azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (1,05 g, 2,8 mmoles) en metanol (12 ml) se añadió yoduro de sodio (2,5 g, 17 mmoles). Después de agitar durante 10 minutos, se añadió gota a gota una disolución de clorotrimetilsilano (2,1 ml, 17 mmoles) en metanol (1,41 ml) durante 15 minutos. La reacción continuó agitándose durante 40 minutos y a continuación se añadió una disolución de tiosulfato de sodio (2,7 g, 17 mmoles) en agua (12,5 ml) en una porción. Precipitó un sólido beis tras la adición de la disolución de tiosulfato de sodio y se recogió por filtración a vacío. El sólido se aclaró con agua (2 x 10 ml) y se secó a vacío durante la noche dando el producto deseado. También había precipitado un sólido del filtrado y se recogió por filtración a vacío. Después de lavar con agua (3x10 ml) en el embudo, el producto se secó durante la noche a vacío. El sólido se lavó en suspensión con acetato de etilo (3,8 ml) durante 1 hora y se recogió por filtración. Después de aclarar con acetato de etilo (2 x 2 ml) y secar durante la noche, se obtuvo producto adicional. En total, se obtuvieron 760 mg de producto deseado (57 %) como la sal de yodhidrato. CL-EM calculada para C₁₃H₁₂F₃N₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 357,1. RMN ¹H (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 a, 2H), 6,74 (t, *J* = 6,7 Hz, 1H), 3,49 (m, 2H), 3,03 (t, *J* = 6,7 Hz, 2H).

15 Etapa G: 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etil}amino)-*N*'-hidroxi-*N*-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

A una disolución de isocianato de clorosulfonyl (9,2 µl, 0,11 mmoles) en diclorometano (0,24 ml), a 0 °C y bajo una atmósfera de nitrógeno, se añadió *de* alcohol *terc*-butílico (10 µl, 0,11 mmoles) en un modo gota a gota. La disolución se dejó con agitación a temperatura ambiente durante 1 hora para obtener una disolución de [clorosulfonyl]carbamato *de* *terc*-butilo. En un matraz separado se suspendió yodhidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (26 mg, 0,053 mmoles) en diclorometano (0,5 ml). Se estableció una atmósfera de nitrógeno y la temperatura se llevó a 0 °C. La disolución de [clorosulfonyl]carbamato *de* *terc*-butilo (preparada como antes) se añadió durante 5 minutos a la suspensión agitada de la sal de amina. Después de 10 minutos, se añadió gota a gota trietilamina (37 µl, 0,27 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Después de concentrar a vacío, el residuo se trató con ácido trifluoroacético (0,5 ml, 6 mmoles). Éste se agitó durante 1 hora y la mezcla se concentró de nuevo a sequedad a vacío. Los sólidos secados se suspendieron en metanol (0,5 ml) y se añadió NaOH 2,0 N en agua (0,53 ml, 1,1 mmoles) en una porción. La reacción se calentó a 45 °C y se agitó durante 30 minutos. Después de la neutralización con ácido acético (60 µl, 1,1 mmoles), el producto se purificó por CL-EM preparativa dando el producto deseado (8,5 mg, 39 %). CL-EM calculada para C₁₂H₁₅F₃N₇O₄S (M+H)⁺: m/z = 410,0. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): 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).

35 Ejemplo 14

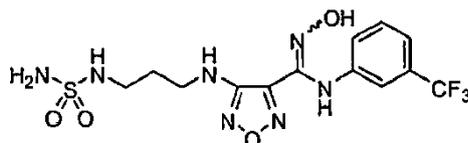
***N*'-Hidroxi-4-({2-[(metilsulfonyl)amino]etil}amino)-*N*-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida**



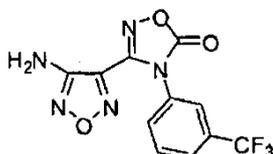
45 El compuesto del título se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 17, Etapa E**, usando *N*'-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonyl)amino]etil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida y 3-trifluorometilaniolina [Aldrich, producto n° A41801] como materiales de partida. CL-EM para C₁₃H₁₆F₃N₆O₄S (M+H)⁺: m/z = 409,1. RMN ¹H (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).

50 Ejemplo 15

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

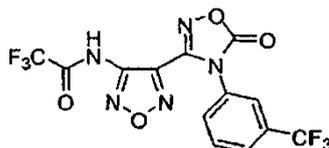


60 Etapa A: 3-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona



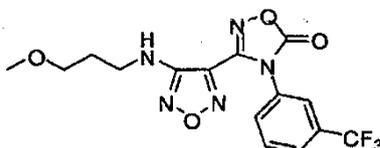
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 5, Etapa A**, usando 4-amino-*N*-hidroxi-*N*-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida [véase la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n° 2006/0258719] como material de partida con un rendimiento del 97 %. CL-EM para $C_{11}H_7F_3N_5O_3$ (M+H)⁺: m/z = 314,1.

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



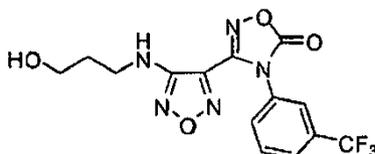
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 5, Etapa B**, usando 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona como material de partida con un rendimiento del 90 %. CL-EM para $C_{13}H_6F_3N_5O_4$ (M+H)⁺: m/z = 410,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,91 - 7,88 (m, 2H), 7,76 - 7,69 (m, 2H).

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



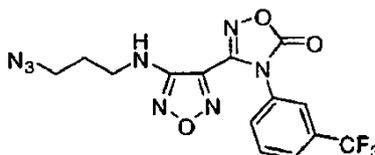
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 3, Etapa C**, usando 2,2,2-trifluoro-*N*-(4-{5-oxo-4-[3-(trifluorometil)fenil]-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1,2,5-oxadiazol-3-il)acetamida como material de partida con un rendimiento del 49 %. CL-EM para $C_{15}H_{15}F_3N_5O_4$ (M+H)⁺: m/z = 386,1. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,83 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,72 - 7,67 (m, 2H), 7,59 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,08 - 6,04 (m, 1H), 3,57 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,54 - 3,47 (m, 2H), 3,40 (s, 3 H), 2,01 - 1,93 (m, 2H).

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



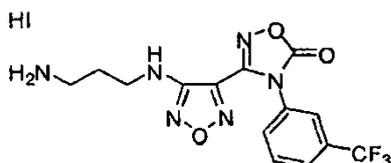
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 3, Etapa D**, usando 3-{4-[(3-metoxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona como material de partida con un rendimiento del 69 %. CL-EM para $C_{14}H_{13}F_3N_5O_4$ (M+H)⁺: m/z = 372,1. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,07 (s, 1H), 7,95 - 7,90 (m, 2H), 7,79 (dd, *J* = 7,9, 7,9 Hz, 1H), 6,55 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,59 (t, *J* = 5,1 Hz, 1H), 3,47 - 3,42 (m, 2H), 3,30 - 3,25 (m, 2H), 1,72 - 1,65 (m, 2H).

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



El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 3, Etapa E**, usando 3-{4-[(3-hidroxipropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona como material de partida con un rendimiento del 92 %. CL-EM para $C_{14}H_{11}F_3N_8O_3Na$ (M+Na)⁺: m/z = 419,0.

Etapa F: Yodhidrato de 3-{4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona



5

10 El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 3, Etapa F**, usando 3-{4-[(3-azidopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona como material de partida con un rendimiento del 92 %. CL-EM para $C_{14}H_{14}F_3N_6O_3$ (M+H)⁺: m/z = 371,1. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,09 (s, 1H), 7,96 - 7,92 (m, 2H), 7,80 (dd, *J* = 8,0, 7,8 Hz, 1H), 7,53 (s a, 2H), 6,70 - 6,65 (m, 1H), 4,10 (s a, 1H), 3,32 - 3,31 (m, 2H), 2,81 - 2,78 (m, 2H), 1,85 - 1,82 (m, 2H).

15 **Etapa G:** 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propil}amino)-*N*'-hidroxi-*N*-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

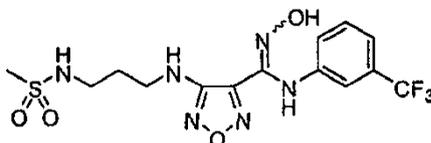
20 Se calentó una disolución de yodhidrato de 3-{4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (1,5 g, 3,0 mmoles) y sulfamida (1,7 g, 18 mmoles) en piridina (60 ml) en un microondas a 130 °C durante 10 min. Se concentró la mezcla de reacción dando el producto intermedio en bruto *N*-{3-[(4-{5-oxo-4-[3-(trifluorometil)fenil]-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1,2,5-oxadiazol-3-il)amino]propil}sulfamida. Se trató una disolución del producto intermedio en bruto en metanol (90 ml) con NaOH 2 N (12 ml, 24 mmoles) y se agitó a 25 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se trató con HCl 6 M hasta que la disolución fue ácida y se extrajo con acetato de etilo (250 ml). La fase orgánica se lavó con agua (100 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró dando un residuo en bruto. Este material se purificó por CL-EM preparativa dando el producto deseado (1,1 g, 82 %) como un sólido gomoso. CL-EM para $C_{13}H_{17}F_3N_7O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 424,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,6 (s, 1H), 9,12 (s, 1H), 7,37 (dd, *J* = 8,0, 8,0 Hz, 1H), 7,21 - 7,18 (m, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,95 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 6,52 (s a, 3 H), 6,17 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,28 - 3,22 (m, 2H), 2,93 - 2,89 (m, 2H), 1,77 - 1,73 (m, 2H).

30

Ejemplo 16

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

35



40

45 Se trató una disolución de yodhidrato de 3-{4-[(3-aminopropil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (del Ejemplo 15, Etapa F; 25 mg, 50 μmoles) en diclorometano (1 ml) con trietilamina (17 μl, 0,12 mmoles) y cloruro de metanosulfonylo (6 μl, 70 μmoles) y se agitó a 25 °C durante 2 h. Se concentró la mezcla de reacción dando el producto intermedio, *N*-{3-[(4-{5-oxo-4-[3-(trifluorometil)fenil]-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1,2,5-oxadiazol-3-il)amino]propil}metanosulfonamida, como un residuo en bruto que se usó sin más purificación. Se trató una disolución del producto intermedio en bruto en metanol (1 ml) con NaOH 2 N (0,25 ml, 0,5 mmoles) y se agitó a 25 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se trató con ácido acético (50 μl, 0,9 mmoles), se filtró y se purificó por CL-EM preparativa dando el producto deseado (13 mg, 65 %) como un sólido. CL-EM para $C_{14}H_{18}F_3N_6O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 423,1. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,6 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 7,37 (dd, *J* = 8,0, 8,0 Hz, 1H), 7,20 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,07 - 7,01 (m, 2H), 6,96 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,20 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 3,27 - 3,22 (m, 2H), 2,99 - 2,94 (m, 2H), 2,87 (s, 3 H), 1,78 - 1,71 (m, 2H).

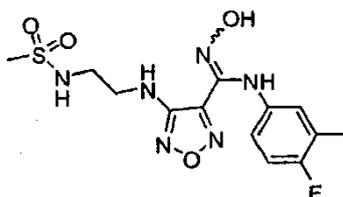
50

Ejemplo 17

55

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

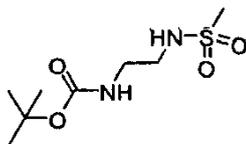
60



65

Etapa A: {2-[(Metilsulfonil)amino]etil}carbamato de *terc*-butilo

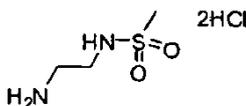
5



Se agitó *N*-(2-aminoetil)(*terc*-butoxi)carboxamida (17,5 ml, 0,11 moles) [Alfa, nº L19947] en diclorometano (320 ml) y se añadió trietilamina (33 ml, 0,24 moles). Se añadió una disolución de cloruro de metanosulfonilo (8,5 ml, 0,11 moles) en diclorometano (10 ml). La mezcla resultante se agitó durante 1 hora y se añadió agua (30 ml). El producto se extrajo con diclorometano (3 x 30 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío dando el producto deseado (21 g, 81 %). CL-EM calculada para $C_3H_{11}NO_2S$ (M-Boc+H)⁺: m/z = 139,1.

Etapa B: Diclorhidrato de *N*-(2-Aminoetil)metanosulfonamida

20

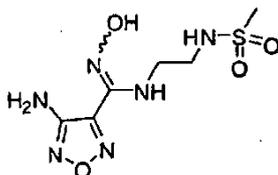


Se agitó {2-[(metilsulfonil)amino]etil}carbamato de *terc*-butilo (21 g, 88 mmoles) en una disolución de cloruro de hidrógeno 4 N en 1,4-dioxano (97 ml, 388 mmoles) durante 30 minutos. La trituración con acetato de etilo y hexanos seguido de éter dietílico y hexanos dio el compuesto deseado como una goma (19 g, 100 %). CL-EM calculada para $C_3H_{11}N_2O_2S$ (M+H)⁺: m/z = 139,0.

25

Etapa C: 4-Amino-*N'*-hidroxi-*N*-{2-[(metilsulfonil)amino]etil}-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

30



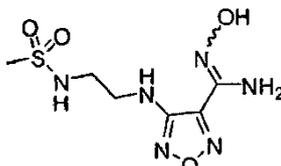
35

Se agitó cloruro de 4-amino-*N*-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo (9,7 g, 60 mmoles) en etanol (460 ml) y se añadió diclorhidrato de *N*-(2-aminoetil)metanosulfonamida (19 g, 109 mmoles) lentamente en porciones y la temperatura subió a 25 °C. Después de enfriarse de nuevo a 0 °C, se añadió gota a gota trietilamina (53 ml, 380 mmoles) durante 15 minutos y la reacción se agitó durante 15 minutos adicionales. La disolución se lavó con agua (300 ml) y salmuera (300 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío dando el producto deseado (16 g, 100 %). CL-EM calculada para $C_6H_{13}N_6O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 265,1. RMN ¹H (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).

40

Etapa D: *N'*-Hidroxi-4-({2-[(metilsulfonil)amino]etil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

45



50

Se agitó 4-amino-*N'*-hidroxi-*N*-{2-[(metilsulfonil)amino]etil}-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (0,47 g, 1,8 mmoles) en 1,2-etanodiol (38 ml). Se añadió hidróxido potásico (600 g, 11 mmoles) en una porción. La reacción se calentó a 130 °C durante 4 horas y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se añadió disolución de HCl 1 N (60 ml) y el producto se extrajo con acetato de etilo (4 x 40 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron a vacío dando el producto deseado (0,45 g, 96 %). CL-EM calculada para $C_6H_{12}N_6O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 265,1. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 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).

55

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

60

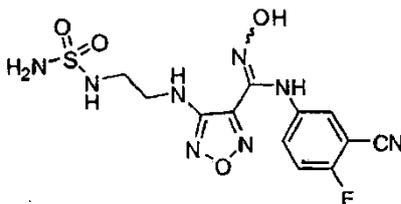
Se agitó *N*-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonil)amino]etil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (35 mg, 0,13 mmoles) en 1,4-dioxano (2 ml) y se añadió disolución de cloruro de hidrógeno 6 N (4 ml). La disolución se enfrió a 0 °C y se añadió lentamente una disolución de nitrito de sodio (11 mg, 0,16 mmoles) en agua (3 ml). La mezcla se

65

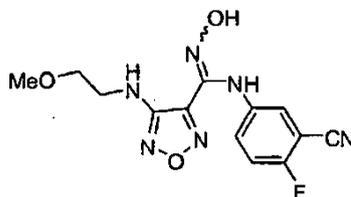
agitó durante 1 hora a 0 °C y se evaporó. Se añadió 1,4-dioxano seco (2 ml) y la mezcla se evaporó dos veces más. Se añadió una disolución de 4-fluoro-3-metilnilina [Aldrich, producto n° 559415] (25 mg, 0,20 mmoles) en etanol (2 ml) y la mezcla se agitó durante 1 hora. La purificación por CL-EM preparativa (pH 2) dio el compuesto deseado (17 mg, 27 %). CL-EM calculada para C₁₃H₁₈FN₆O₄S (M+H)⁺: m/z = 373,1. RMN ¹H (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).

Ejemplo 18

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

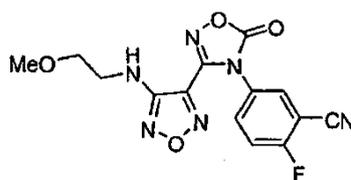


Etapas A: *N*-(3-Ciano-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida



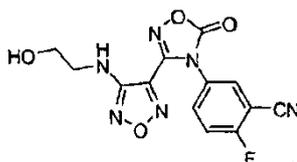
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 13, Etapa A**, usando cloruro de *N*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo [preparado según el **Ejemplo 1, Etapas A a E**] y 5-amino-2-fluorobenzonitrilo [Aldrich, producto n° 639877] como materiales de partida con un rendimiento del 100 %. CL-EM para C₁₃H₁₄FN₆O₃(M+H)⁺: m/z = 321,0.

Etapas B: 2-Fluoro-5-[3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il]-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5*H*)-il]benzonitrilo



El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 13, Etapa B**, usando *N*-(3-ciano-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida como material de partida con un rendimiento del 91 %. CL-EM para C₁₄H₁₂FN₆O₄ (M+H)⁺: m/z = 347,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,25 (dd, *J* = 5,7, 2,6 Hz, 1H), 8,06 (m, 1H), 7,77 (t, *J* = 9,2 Hz, 1H), 6,41 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 3,48 (m, 2H), 3,40 (q, *J* = 5,4 Hz, 2H), 3,25 (s, 3H).

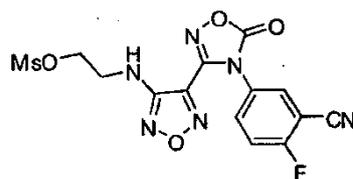
Etapas C: 2-Fluoro-5-[3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il]-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5*H*)-il]benzonitrilo



El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 13, Etapa C**, usando 2-fluoro-5-[3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il]-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5*H*)-il]benzonitrilo como material de partida con un rendimiento cuantitativo. CL-EM para C₁₃H₁₀FN₆O₄ (M+H)⁺: m/z = 333,0.

Etapas D: Metanosulfonato de 2-({4-[4-(3-ciano-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etilo

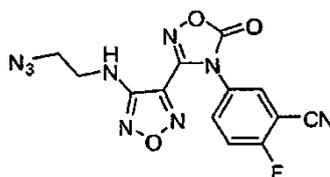
5



10 El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 13, Etapa D**, usando 2-fluoro-5-[3-4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il]-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5H)-il]benzocarbonitrilo como material de partida con un rendimiento del 88 %. CL-EM para $C_{14}H_{12}FN_6O_6S$ (M+H)⁺: m/z = 411,0.

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

15

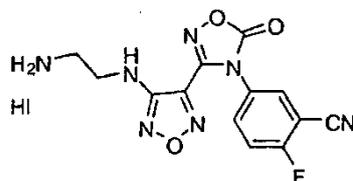


20

25 El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 13, Etapa E**, usando metanosulfonato de 2-({4-[4-(3-ciano-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etilo como material de partida con un rendimiento del 95 %.

30 Etapa F: Yodhidrato de 5-[3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5H)-il]-2-fluorobenzonitrilo

30



35

40 El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 13, Etapa F**, usando 5-[3-{4-[(2-azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5H)-il]-2-fluorobenzonitrilo como material de partida con un rendimiento del 57 %. CL-EM para $C_{13}H_{11}FN_7O_3$ (M+H)⁺: m/z = 332,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8,29 (dd, J = 5,8, 2,7 Hz, 1H), 8,09 (m, 1H), 7,83 (s a, 3 H), 7,79 (t, J = 9,0 Hz, 1H), 6,77 (t, J = 5,9 Hz, 1H), 3,50 (q, J = 6,4 Hz, 2H), 3,04 (m, 2H).

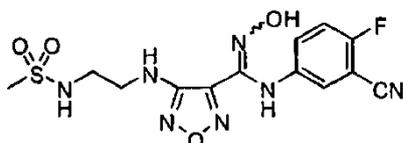
45 Etapa G: 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etil}amino)-N-(3-ciano-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

50 En un vial de microondas, se suspendieron yodhidrato de 5-[3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5H)-il]-2-fluorobenzonitrilo (20,0 mg, 0,044 mmoles) y sulfamida (25 mg, 0,26 mmoles) en piridina (0,5 ml). La reacción se calentó a 120 °C durante 10 minutos en un reactor de microondas. El disolvente se eliminó y el residuo se disolvió en metanol (0,17 ml). Se añadió una disolución de NaOH 2,0 N en agua (0,22 ml, 0,44 mmoles) en una porción. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de la neutralización con ácido acético (50 μl), el producto se purificó usando CL-EM preparativa dando el compuesto del título (4,9 mg, 29 %). CL-EM para $C_{12}H_{14}FN_8O_4S$ (M+H)⁺: m/z = 385,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): 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).

Ejemplo 19

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

60

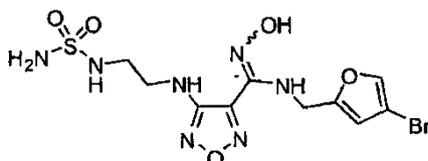


65

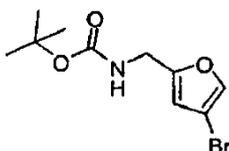
El compuesto del título se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 17, Etapa E**, usando *N*'-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonil)amino]etil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida y 3-ciano-4-fluoroanilina [Aldrich, producto nº 639877] como materiales de partida. CL-EM para $C_{13}H_{14}FN_7NaO_4S$ ($M+Na$)⁺: $m/z = 406,0$. RMN ¹H (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).

Ejemplo 20

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



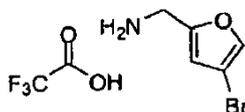
Etapa A: [(4-Bromo-2-furil)metil]carbamato de *terc*-butilo



Se disolvió 4-bromo-2-furaldehído [Aldrich, producto nº 666599] (10,0 g, 57,1 mmoles) en etanol (50 ml) y agua (50 ml). Se añadieron secuencialmente clorhidrato de *N*-hidroxiamina (7,15 g, 103 mmoles) y acetato sódico (8,44 g, 103 mmoles) y la mezcla de reacción se llevó a reflujo a 100 °C durante 1 hora. La disolución se concentró parcialmente y el precipitado se recogió y se lavó con agua fría (2 x 10 ml). El filtrado se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml). Después de secar sobre sulfato de sodio, la disolución se concentró a vacío. El residuo se combinó con el precipitado y se disolvió en ácido acético (70 ml). Después de poner en un baño de hielo, se añadió cinc (14,7 g, 225 mmoles) en porciones durante 25 minutos. La reacción se calentó hasta temperatura ambiente durante 1,5 horas y se filtró a través de Celite. El disolvente se eliminó a vacío.

El residuo se agitó en tetrahidrofurano (72 ml). Se añadió gota a gota una disolución de NaOH 2,0 N en agua (179 ml, 358 mmoles) durante 45 minutos. Después de 5 minutos, se añadió gota a gota dicarbonato de di-*terc*-butilo (16,9 g, 77,4 mmoles). La reacción se agitó durante 2 horas y el tetrahidrofurano se eliminó a vacío. Se añadió acetato de etilo (100 ml) y la suspensión se filtró. La fase orgánica se recogió y el producto se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml) y agua (100 ml), se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron a vacío dando el producto deseado (15,3 g, 79 %). CL-EM calculada para $C_{10}H_{14}BrNNaO_3$ ($M+Na$)⁺: $m/z = 298,0$. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,79 (s, 1H), 7,37 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 6,33 (s, 1H), 4,06 (d, $J = 6,1$ Hz, 2H), 1,36 (s, 9 H).

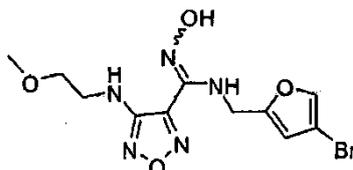
Etapa B: Trifluoroacetato de 1-(4-bromo-2-furil)metanamina



Bajo una atmósfera de nitrógeno, se trató una disolución de [(4-bromo-2-furil)metil]carbamato de *terc*-butilo (15,3 g, 55,4 mmoles) en diclorometano (86 ml) a 0 °C con ácido trifluoroacético (43 ml) durante 15 minutos. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente durante 30 minutos. El disolvente se eliminó a vacío y se atrapó con tolueno (3 x 50 ml). El producto se liofilizó durante 18 horas dando el producto deseado como un sólido marrón (13,0 g, 81 %). CL-EM calculada para C_5H_4BrO ($M-NH_2$)⁺: $m/z = 158,9, 160,9$. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,34 (s a, 3 H), 8,01 (s, 1H), 6,70 (s, 1H), 4,08 (s, 1H).

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

5

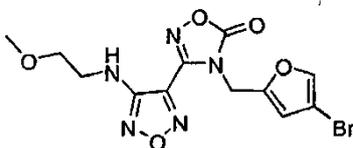


10 Se agitó cloruro de *N*-hidroxi-4-(2-metoxietilamino)-1,2,5-oxadiazol-3-carbimidoil [preparado según el procedimiento del **Ejemplo 1, Etapas A a E**] (4,5 g, 20,3 mmoles) en etanol (20 ml) a temperatura ambiente. A ésta se añadió una disolución de trifluoroacetato de 1-(4-bromo-2-furil)metanamina (6,5 g, 22,4 mmoles) en etanol (24 ml) y la mezcla se agitó durante 15 minutos. Se añadió gota a gota trietilamina (6,3 ml, 44,8 mmoles) durante 10 minutos y la reacción se agitó durante 15 minutos adicionales. El disolvente se eliminó a vacío y después de añadir agua (50 ml), el producto se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron dando el producto deseado (7,5 g, 100 %). CL-EM calculada para $C_{11}H_{15}BrN_5O_4$ (M+H)⁺: m/z = 359,9, 361,9.

15

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

20



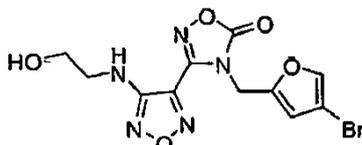
25

30 Se disolvieron *N*-[(4-bromo-2-furil)metil]-*N*'-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (7,3 g, 20,4 mmoles) y 1,1'-carbonildiimidazol (5,0 g, 30,5 mmoles) en acetato de etilo (72 ml). La mezcla de reacción se calentó a 65 °C durante 15 minutos. Se añadió acetato de etilo (70 ml) y la reacción en bruto se lavó con cloruro de hidrógeno 0,1 N en agua (2 x 70 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice con un eluyente de acetato de etilo en hexanos dio el producto deseado (4,1 g, 90 %). CL-EM calculada para $C_{12}H_{13}BrN_5O_5$ (M+H)⁺: m/z = 386,0, 388,0. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 7,88 (s, 1H), 6,67 (s, 1H), 6,39 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 5,07 (s, 2H), 3,50 (m, 2H), 3,41 (q, *J* = 5,7 Hz, 2H), 3,25 (s, 3H).

30

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

40

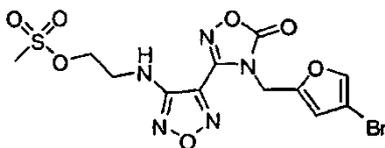


45 En un matraz redondo bajo atmósfera de nitrógeno se agitó 4-[(4-bromo-2-furil)metil]-3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (8,2 g, 21 mmoles) en diclorometano (68 ml). La temperatura se llevó a -78 °C y se añadió gota a gota una disolución de tribromuro de boro 1,0 M en diclorometano (43 ml, 43 mmoles) durante 45 minutos. La reacción se agitó a -78 °C durante 45 minutos y continuó agitándose a 0 °C durante 30 minutos adicionales. Mientras que permanecía a 0 °C, se añadió gota a gota una disolución saturada de bicarbonato sódico en agua (120 ml) durante 25 minutos. Después de calentar hasta temperatura ambiente, la fase orgánica se recogió y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron a vacío dando el producto deseado (7,7 g, 97 %) junto con una pequeña cantidad de 3-{4-[(2-bromoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[(4-bromo-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona. CL-EM calculada para $C_{11}H_{11}BrN_5O_5$ (M+H)⁺: m/z = 371,7, 374,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,89 (s, 1H), 6,68 (s, 1H), 6,31 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 5,08 (s, 2H), 4,85 (s a, 1H), 3,56 (m, 2H), 3,30 (q, *J* = 5,6 Hz, 2H).

50

55 Etapa F: Metanosulfonato de 2-[(4-{4-[(4-bromo-2-furil)metil]-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1,2,5-oxadiazol-3-il)amino]etilo

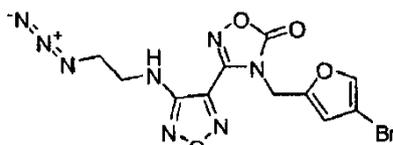
60



65 A una disolución de 4-[(4-bromo-2-furil)metil]-3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (7,7 g, 21 mmoles, que contiene también algo del compuesto de bromo correspondiente) en acetato de

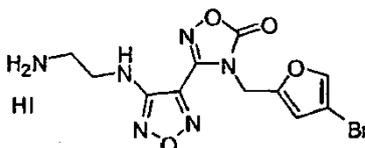
etilo (100 ml) se añadió cloruro de metanosulfonilo (0,96 ml, 12 mmoles) en una porción. La reacción se agitó durante 5 minutos y se añadió trietilamina (1,6 ml, 11 mmoles), también en una porción. Después de agitar durante 30 minutos, se añadió cloruro de metanosulfonilo adicional (0,4 ml, 5 mmoles), seguido 5 minutos después por trietilamina (0,58 ml, 4,2 mmoles). Después de 15 minutos, la reacción se inactivó con la adición de agua (100 ml). El producto se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml). Después de secar sobre sulfato de sodio, el disolvente se eliminó a vacío dando el producto deseado (9,3 g, 100 %). CL-EM calculada para $C_{12}H_{13}BrN_5O_7S$ (M+H)⁺: m/z = 449,8, 451,8. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,88 (s, 1H), 6,73 (t, *J* = 6,2 Hz, 1H), 6,68 (s, 1H), 5,08 (s, 2H), 4,37 (m, 2H), 3,59 (q, *J* = 5,8 Hz, 2H), 3,16 (s, 3H).

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



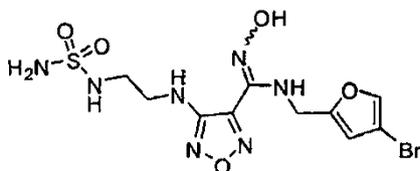
Se disolvió metanosulfonato de 2-[(4-[(4-bromo-2-furil)metil]-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1,2,5-oxadiazol-3-il]amino]etilo (9,1 g, 20 mmoles, que contiene también algo del compuesto de bromo correspondiente) en dimetilformamida (90 ml). Se añadió azida de sodio (1,97 g, 30,3 mmoles) en una porción y después de 5 minutos la temperatura se llevó a 65 °C. La reacción se agitó durante 2 horas y se dejó enfriar de nuevo hasta temperatura ambiente. Se añadió agua (200 ml) para extinguir la reacción. El producto se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 150 ml) y agua (150 ml). Después de secar sobre sulfato de sodio, el disolvente se eliminó a vacío dando el producto deseado (7,7 g, 96 %). CL-EM calculada para $C_{11}H_9BrN_8NaO_4$ (M+Na)⁺: m/z = 418,7, 421,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,88 (s, 1H), 6,71 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 6,68 (s, 1H), 5,08 (s, 2H), 3,54 (t, *J* = 5,7 Hz, 2H), 3,47 (q, *J* = 5,7 Hz, 2H).

Etapa H: Yodhidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[(4-bromo-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona



A una disolución de 3-{4-[(2-azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[(4-bromo-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (7,7 g, 19 mmoles) en metanol (80 ml) se añadió yoduro de sodio (17,4 g, 116 mmoles). Después de agitar durante 10 minutos, se añadió gota a gota una disolución de clorotrimetilsilano (14,8 ml, 116 mmoles) durante 5 minutos. La reacción continuó agitándose durante 1 hora, momento en el que se añadió lentamente a una disolución de tiosulfato de sodio (23,0 g, 145 mmoles) en agua (800 ml) a 0 °C, produciendo un precipitado. El matraz se aclaró con metanol (10 ml) y el precipitado se recogió mediante filtración a vacío. El sólido se aclaró con agua fría (2 x 25 ml) y se secó a vacío dando el producto deseado (5,8 g, 60 %) como la sal de yodhidrato. CL-EM calculada para $C_{11}H_{12}BrN_6O_4$ (M+H)⁺: m/z = 370,9, 372,8. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,86 (s, 1H), 7,36 (s a, 3 H), 6,68 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 6,65 (s, 1H), 5,07 (s, 2H), 3,45 (q, *J* = 5,8 Hz, 2H), 2,98 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H).

Etapa I: 4-[(2-[(Aminosulfonil)amino]etil)amino]-N-[(4-bromo-2-furil)metil]-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

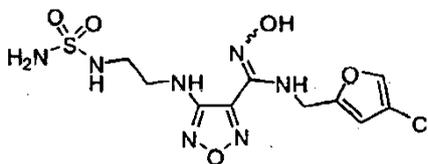


En un vial de microondas, se suspendieron yodhidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[(4-bromo-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (30 mg, 0,060 mmoles) y sulfamida (29 mg, 0,30 mmoles) en piridina (1 ml). La mezcla de reacción se lavó con nitrógeno y se calentó a 130 °C durante 3 minutos en un reactor de microondas. El disolvente se eliminó y el producto intermedio en bruto se suspendió en metanol (1 ml). Se añadió una disolución 2,0 N de NaOH en agua (0,30 ml, 0,60 mmoles) en una porción y la reacción se calentó a 45 °C durante 30 minutos. Después de la neutralización con ácido acético (68 µl, 1,2 mmoles), el producto se purificó por CL-EM preparativa dando el producto deseado (10,4 mg, 41 %). CL-EM calculada para $C_{10}H_{15}BrN_7O_5S$ (M+H)⁺: m/z = 423,9, 426,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,87 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 6,83 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H), 6,68 (t, *J* =

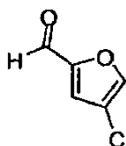
6,0 Hz, 1H), 6,56 (s, 2H), 6,30 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 6,23 (s, 1H), 4,56 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H), 3,32 (q, $J = 6,3$ Hz, 2H), 3,07 (q, $J = 6,3$ Hz, 2H).

Ejemplo 21

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

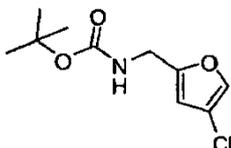


Etapa A: 4-Cloro-2-furaldehído



A una suspensión con agitación de tricloruro de aluminio (29,8 g, 0,223 moles) en diclorometano (200 ml) bajo atmósfera de nitrógeno se añadió 2-furancarboxaldehído (8,44 ml, 0,102 moles) durante 15 minutos. Después de agitar durante 30 minutos, se burbujeó cloro en la suspensión usando una pipeta durante un periodo de tiempo de 50 minutos. El matraz se cerró y se dejó con agitación a temperatura ambiente durante 90 horas. La mezcla de reacción se añadió lentamente a una mezcla de hielo (500 ml) en una disolución de cloruro de hidrógeno 1,0 N en agua (300 ml). La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante la siguiente hora. Se separaron las fases y se recogió la fase orgánica. Se extrajo producto adicional con diclorometano (2 x 200 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (250 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio. El disolvente se eliminó a vacío dando una mezcla en bruto que contenía el producto deseado (14,0 g, 100 %, pureza del 60 %). RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 9,56 (s, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,71 (s, 1H).

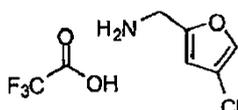
Etapa B: [(4-Cloro-2-furil)metil]carbamato de *terc*-butilo



Se disolvió 4-cloro-2-furaldehído (14,0 g, pureza del 60 %, 64 mmoles) en etanol (50 ml) y agua (50 ml). Se añadieron secuencialmente clorhidrato de *N*-hidroxiamina (12,6 g, 182 mmoles) y acetato sódico (14,9 g, 182 mmoles) y la mezcla de reacción se llevó a reflujo a 100 °C durante 1 hora. La disolución se concentró parcialmente, a continuación se añadieron agua (25 ml) y acetato de etilo (50 ml). La fase orgánica se recogió y la acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 25 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml) y agua (50 ml). Después de secar sobre sulfato de sodio, la disolución se concentró a vacío. El producto intermedio se suspendió en ácido acético (115 ml). La disolución se enfrió en un baño de hielo y se añadió cinc (33,1 g, 506 mmoles) en porciones durante 20 minutos. La reacción se calentó a temperatura ambiente durante 2 horas y se filtró a través de Celite. El disolvente se eliminó a vacío.

El residuo se agitó en tetrahidrofurano (100 ml). Se añadió gota a gota una disolución de NaOH 2,0 M en agua (152 ml, 304 mmoles) durante 30 minutos. La mezcla de reacción se dispuso en un baño de hielo y después de 5 minutos se añadió gota a gota dicarbonato de di-*terc*-butilo (24,3 g, 111 mmoles) durante 15 minutos. La reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante las 2 horas siguientes y a continuación el tetrahidrofurano se eliminó a vacío. Se añadió acetato de etilo (100 ml) y se filtró la suspensión. La fase orgánica se recogió y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una mezcla 1:1 de agua/salmuera (100 ml), se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron a vacío. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice con un eluyente de acetato de etilo en hexanos dio el producto deseado (3,05 g, 22 %). CL-EM calculada para $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{ClNNaO}_3$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: $m/z = 253,9$. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,81 (s, 1H), 7,37 (t, $J = 5,3$ Hz, 1H), 6,32 (s, 1H), 4,05 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H), 1,36 (s, 9 H).

Etapa C: Trifluoroacetato de 1-(4-cloro-2-furil)metanamina

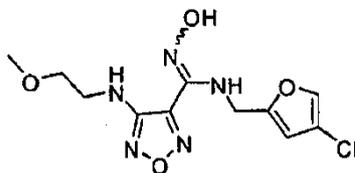


El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 20, Etapa B**, usando [(4-cloro-2-furil)metil]carbamato de *terc*-butilo como material de partida con rendimiento cuantitativo. CL-EM calculada para C_9H_4ClO ($M-NH_2$)⁺: $m/z = 115,0$. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,29 (s a, 3 H), 8,04 (s, 1H), 6,69 (s, 1H), 4,07 (s, 2H).

5

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

10

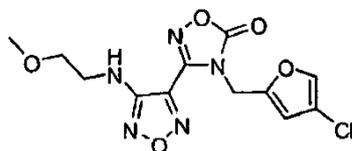


El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 20, Etapa C**, usando cloruro de *N*-hidroxi-4-(2-metoxietilamino)-1,2,5-oxadiazol-3-carbimidoilo y trifluoroacetato de 1-(4-cloro-2-furil)metanamina como material de partida con rendimiento cuantitativo. CL-EM calculada para $C_{11}H_{15}ClN_5O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z = 316,0$.

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

20

25

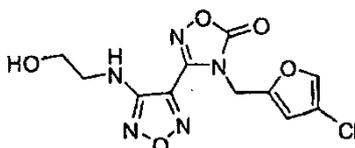


El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 20, Etapa D**, usando *N*-[(4-cloro-2-furil)metil]-*N*'-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida como material de partida con un rendimiento del 51 %. CL-EM calculada para $C_{12}H_{13}ClN_5O_5$ ($M+H$)⁺: $m/z = 342,0$.

30

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

35



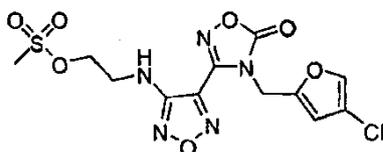
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 20, Etapa E**, usando 4-[(4-cloro-2-furil)metil]-3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona como material de partida en rendimiento cuantitativo. CL-EM calculada para $C_{11}H_{10}ClN_5NaO_5$ ($M+Na$)⁺: $m/z = 349,9$.

40

Etapa G: Metanosulfonato de 2-[(4-{4-[(4-cloro-2-furil)metil]-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1,2,5-oxadiazol-3-il)amino]etilo

45

50

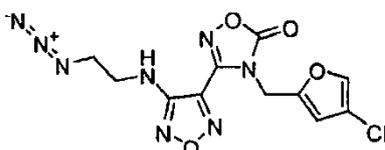


El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 20, Etapa F**, usando 4-[(4-cloro-2-furil)metil]-3-{4-[(2-hidroxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona como material de partida con un rendimiento del 69 %. CL-EM calculada para $C_{12}H_{13}ClN_5O_7S$ ($M+H$)⁺: $m/z = 405,8$.

55

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

60



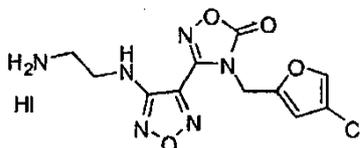
El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 20, Etapa G**, usando

65

metanosulfonato de 2-[(4-{4-[(4-cloro-2-furil)metil]-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1,2,5-oxadiazol-3-il)amino]etil] como material de partida con rendimiento cuantitativo. CL-EM calculada para $C_{11}H_9ClN_8NaO_4$ (M+Na)⁺: m/z = 374,9.

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

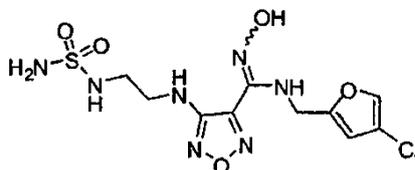
10



15 El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 20, Etapa H**, usando 3-{4-[(2-azidoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[(4-cloro-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona como material de partida con un rendimiento del 57 %. CL-EM calculada para $C_{11}H_{12}ClN_6O_4$ (M+H)⁺: m/z = 326,9.

20 Etapa J: 4-[(2-[(Aminosulfonil)amino]etil)amino]-N-[(4-cloro-2-furil)metil]-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

25



25

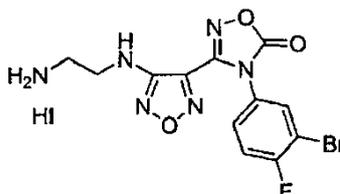
30 El compuesto deseado se preparó según el procedimiento del **Ejemplo 20, Etapa I**, usando yodhidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-[(4-cloro-2-furil)metil]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona como material de partida con un rendimiento del 53 %. CL-EM calculada para $C_{10}H_{15}ClN_7O_5S$ (M+H)⁺: m/z = 379,9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,88 (s, 1H), 7,77 (s, 1H), 6,83 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H), 6,68 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 6,56 (s, 2H), 6,30 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 6,22 (s, 1H), 4,55 (d, 2H), 3,32 (q, *J* = 6,3 Hz, 2H), 3,06 (q, *J* = 6,3 Hz, 2H).

35 Ejemplo 22

35

Preparación alternativa del producto intermedio yodhidrato de 3-(4-(2-aminoetilamino)-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona

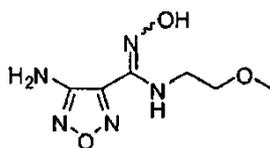
40



45

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

50

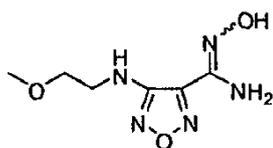


55 Se mezcló cloruro de 4-amino-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo (puede prepararse según el **Ejemplo 1, Etapas A-B**, 200,0 g, 1,23 moles) con acetato de etilo (1,2 l). A 0-5 °C se añadió 2-metoxietilamina [Aldrich, producto nº 143693] (119,0 ml, 1,35 moles) en una porción mientras se agitaba. La temperatura de reacción subió a 41 °C. La reacción se enfrió a 0 - 5 °C. Se añadió trietilamina (258 ml, 1,84 moles). Después de agitar 5 min, la CL-EM indicó completitud de la reacción. La disolución de reacción se lavó con agua (500 ml) y salmuera (500 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró dando el producto deseado (294 g, 119 %) como un aceite oscuro en bruto. CL-EM para $C_6H_{12}N_5O_3$ (M+H)⁺: m/z = 202,3. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,65 (s, 1H), 6,27 (s, 2H), 6,10 (t, *J* = 6,5 Hz, 1H), 3,50 (m, 2H), 3,35 (d, *J* = 5,8 Hz, 2H), 3,08 (s, 3H).

60

Etapa B: N'-Hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

65

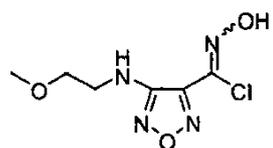


5

Se mezcló 4-amino-*N*-hidroxi-*N*-(2-metoxietil)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (248,0 g, 1,23 moles) con agua (1 L). Se añadió hidróxido potásico (210 g, 3,7 moles). La reacción se sometió a reflujo a 100 °C durante la noche (15 horas). La CCF con 50 % de acetato de etilo (que contiene 1 % de hidróxido de amonio) en hexano indicó reacción completa (Rf de producto = 0,6, Rf de material de partida = 0,5). La CL-EM también indicó completitud de la reacción. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con acetato de etilo (3 x 1 l). La disolución de acetato de etilo combinada se secó sobre sulfato de sodio y se concentró dando el producto deseado (201 g, 81 %) como un sólido blanquecido en bruto. CL-EM para C₆H₁₂N₅O₃ (M+H)⁺: m/z = 202,3 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,54 (s, 1H), 6,22 (s, 2H), 6,15 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 3,45 (t, *J* = 5,3 Hz, 2H), 3,35 (m, 2H), 3,22 (s, 3H).

15

Etapa C: Cloruro de *N*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo



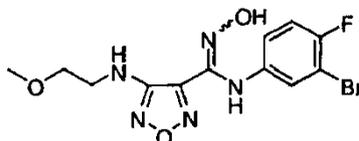
20

A temperatura ambiente se disolvió *N*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (50,0 g, 0,226 moles) en disolución acuosa 6,0 M de ácido clorhídrico (250 ml, 1,5 moles). Se añadió cloruro sódico (39,5 g, 0,676 moles) seguido de agua (250 ml) y acetato de etilo (250 ml). A 3-5 °C se añadió lentamente una disolución acuosa previamente preparada (100 ml) de nitrito de sodio (15,0 g, 0,217 moles) durante 1 h. La reacción se agitó a 3 - 8 °C durante 2 horas y a continuación a temperatura ambiente durante el fin de semana. La CL-EM indicó reacción completa. La disolución de reacción se extrajo con acetato de etilo (2 x 200 ml). La disolución de acetato de etilo combinada se secó sobre sulfato de sodio y se concentró dando el producto deseado (49,9 g, 126 %) como un sólido blanco en bruto. CL-EM para C₆H₁₀ClN₄O₃ (M+H)⁺: m/z = 221,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 13,43 (s, 1H), 5,85 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 3,50 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,37 (dd, *J* = 10,8, 5,6 Hz, 2H), 3,25 (s, 3H).

25

30

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



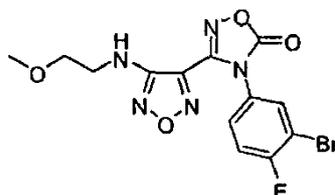
40

Se mezcló cloruro de *N*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoilo (46,0 g, 0,208 moles) con agua (300 ml). La mezcla se calentó a 60 °C. Se añadió 3-bromo-4-fluoroanilina [Oakwood Products, producto n° 013091] (43,6 g, 0,229 moles) y se agitó durante 10 min. Se añadió una disolución caliente de bicarbonato sódico (26,3 g, 0,313 moles) (300 ml agua) durante 15 min. La reacción se agitó a 60 °C durante 20 min. La CL-EM indicó completitud de la reacción. La disolución de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con acetato de etilo (2 x 300 ml). La disolución de acetato de etilo combinada se secó sobre sulfato de sodio y se concentró dando el producto deseado (76,7 g, 98 %) como un sólido marrón en bruto. CL-EM para C₁₂H₁₄BrFN₅O₃ (M+H)⁺: m/z = 374,0, 376,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,55 (s, 1H), 8,85 (s, 1H), 7,16 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,08 (dd, *J* = 6,1, 2,7 Hz, 1H), 6,75 (m, 1H), 6,14 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 3,48 (t, *J* = 5,2 Hz, 2H), 3,35 (dd, *J* = 10,8, 5,6 Hz, 2H), 3,22 (s, 3H).

45

50

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

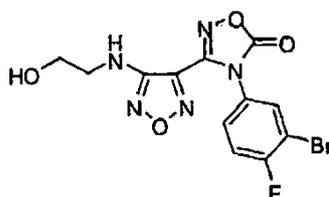


60

65

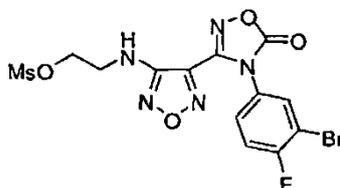
Se calentó una mezcla de *N*-(3-bromo-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida (76,5 g, 0,204 moles), 1,1'-carbonyldiimidazol (49,7 g, 0,307 moles) y acetato de etilo (720 ml) a 60 °C y se agitó durante 20 min. La CL-EM indicó reacción completa. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se lavó con HCl 1 N (2 x 750 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró dando el producto deseado (80,4 g, 98 %) como un sólido marrón en bruto. CL-EM para $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$ (M+H)⁺: $m/z = 400,0, 402,0$. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,94 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,72 (dd, *J* = 9,1, 2,3 Hz, 1H), 7,42 (m, 1H), 6,42 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 3,46 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H), 3,36 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H), 3,26 (s, 3H).

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



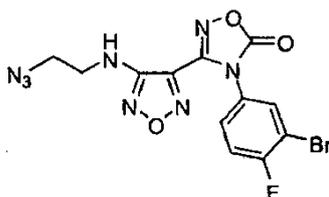
Se disolvió 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(2-metoxietil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona (78,4 g, 0,196 moles) en diclorometano (600 ml). A -67 °C se añadió tribromuro de boro (37 ml, 0,392 moles) durante 15 min. La reacción se calentó a -10 °C en 30 min. La CL-EM indicó reacción completa. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A 0 - 5 °C la reacción se extinguió lentamente con disolución saturada de bicarbonato sódico (1,5 l) durante 30 min. La temperatura de reacción subió a 25 °C. La reacción se extrajo con acetato de etilo (2 x 500 ml, la primera fase orgánica de extracción está en el fondo y la segunda fase orgánica de extracción está arriba). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron dando el producto deseado (75 g, 99 %) como un sólido marrón en bruto. CL-EM para $C_{12}H_{10}BrFN_5O_4$ (M+H)⁺: $m/z = 386,0, 388,0$. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,08 (dd, *J* = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,70 (m, 1H), 7,68 (t, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,33 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,85 (t, *J* = 5,0 Hz, 1H), 3,56 (dd, *J* = 10,6,5,6 Hz, 2H), 3,29 (dd, *J* = 11,5, 5,9 Hz, 2H).

Etapa G: Metanosulfonato de 2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etilo



Se mezcló 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-(4-(2-hidroxietilamino)-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona (72,2 g, 0,188 moles) con acetato de etilo (600 ml). Se añadió cloruro de metanosulfonilo (19,2 ml, 0,248 moles) seguido de trietilamina (34,9 ml, 0,250 moles). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. Cuando la CL-EM indicó completitud de la reacción (M+H = 442), se añadieron 500 ml de agua a la reacción. La reacción se extrajo con acetato de etilo (2 x 500 ml). La disolución de acetato de etilo combinada se lavó con salmuera (500 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró dando 85,1 g de sólido marrón en bruto. La RMN ¹H verificó la estructura. El rendimiento en bruto fue del 97 %. CL-EM para $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$ (M+Na)⁺: $m/z = 485,9, 487,9$. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 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* = 5,9 Hz, 1H), 4,36 (t, *J* = 5,3 Hz, 2H), 3,58 (dd, *J* = 11,2, 5,6 Hz, 2H), 3,18 (s, 3H).

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

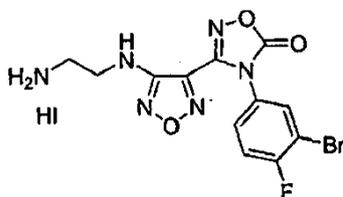


Se disolvió metanosulfonato de 2-(4-{4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1,2,5-oxadiazol-3-ilamino)etilo (50,0 g, 0,108 moles) en *N,N*-dimetilformamida (83 ml). Se añadió azida de sodio (10,5 g, 0,162 moles). La reacción se agitó a 65 °C durante 5-6 horas. La CL-EM indicó reacción completa (M+Na = 435). La reacción se inactivó con agua (250 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 250 ml). La disolución de acetato de etilo combinada se lavó con agua (250 ml), la separación de fases fue lenta, se añadieron 100 ml de salmuera para

mejorar la separación), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró dando 49,7 g de sólido marrón en bruto. El rendimiento en bruto es del 112 %. CL-EM para $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$ (M+Na)⁺: m/z = 433,0, 435,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 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).

5 Etapa I: Yodhidrato de 3-(4-(2-aminoetilamino)-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona

10



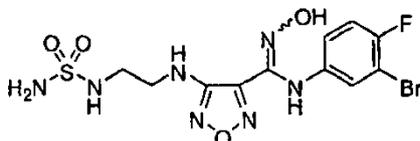
15

Se mezcló 3-(4-(2-azidoetilamino)-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (80,0 g, 0,194 moles) con metanol (800 ml). Se añadió yoduro de sodio (175,0 g, 1,17 moles). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se disolvió clorotrimetilsilano (148 ml, 1,17 moles) en metanol (100 ml) y se añadió a la reacción durante 30 min. La temperatura de reacción subió a 42 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La CL-EM indicó reacción completa (M+H = 386). La reacción se inactivó con tiosulfato de sodio (190,0 g, 1,20 moles) en agua (900 ml). Precipitó una gran cantidad de sólido. El producto se recogió por filtración (la velocidad de filtración fue lenta), se aclaró con agua (200 ml) y se secó a vacío durante la noche. La torta de filtración se suspendió en acetato de etilo (500 ml) durante 30 min. El producto se filtró (la velocidad de filtración fue lenta) y se secó a vacío durante el fin de semana dando 95 g de un sólido blanquecino. CL-EM para $C_{12}H_{11}BrFN_8O_3$ (M+H)⁺: m/z = 384,9, 386,9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,12 (m, 4H), 7,76 (m, 1H), 7,58 (t, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,78 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H), 3,51 (dd, *J* = 11,8, 6,1 Hz, 2H), 3,02 (m, 2H).

30 Ejemplo 23

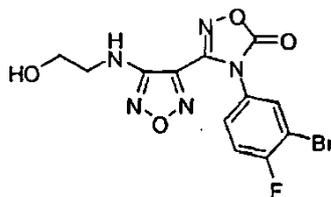
Preparación alternativa de 4-({2-[(aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

35



40 Etapa A: 4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-3-(4-(2-hidroxietilamino)-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona

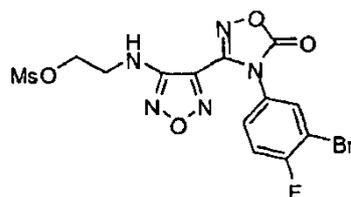
45



50 A una disolución de 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-(4-(2-metoxietilamino)-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (puede prepararse según el **Ejemplo 1, etapas A-G**; 1232 g, 3,08 moles) en diclorometano (12 l) agitando en un matraz de 22 l a 0 °C se añadió tribromuro de boro (354 ml, 3,67 ml) gota a gota a una tasa de manera que la temperatura no superara 10 °C. Después de agitar sobre hielo durante 1 h, se añadió cuidadosamente una disolución de bicarbonato sódico acuoso saturado (2 l) a una tasa de manera que la temperatura no superara 20 °C (tiempo de adición 10 min). La mezcla resultante se transfirió a un embudo de decantación de 50 l, se diluyó con agua (10 l) y el pH de la fase acuosa se ajustó de 1 a 8 usando bicarbonato sódico sólido. Se separaron las fases, y la fase orgánica se lavó con agua (10 l), y los disolventes se eliminaron a vacío proporcionando un sólido de color tostado (se procesaron 24 moles en múltiples series, 9,54 kg, rendimiento cuant.). El material se suspendió en 4 volúmenes de 7:1 de heptano:acetato de etilo (4 matraces x 22 l), se filtró y se secó para proveer el compuesto del título como un sólido de color tostado (8679 g, 94 %). El producto fue una mezcla de las especies de hidroxilo y de bromo correspondientes.

60 Etapa B: Metanosulfonato de 2-(4-(4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1,2,5-oxadiazol-3-ilamino)etilo

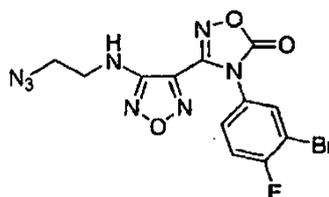
65



5

10 A una disolución de 4-(3-bromo-4-fluorofenil)-3-{4-[(2-hidroxi)etilo]amino}-1,2,5-oxadiazol-3-il}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (1,5 kg, 3,9 moles, que contiene también algo del compuesto de bromo correspondiente) en acetato de etilo (12 l) se añadió cloruro de metanosulfonylo (185 ml, 2,4 moles) gota a gota durante 1 h a temperatura ambiente. Se añadió gota a gota trietilamina (325 ml, 2,3 moles) durante 45 min, tiempo durante el cual la temperatura de reacción aumentó a 35 °C. Después de 2 h, la mezcla de reacción se lavó con agua (5 l), salmuera (1 l), se secó sobre sulfato de sodio, se combinó con 3 reacciones más del mismo tamaño y los disolventes se eliminaron a vacío proporcionando el producto deseado (7600 g, rendimiento cuantitativo, que contiene también algo del compuesto de bromo correspondiente, cuidado: ¡polvo irritante!) como un sólido de color tostado. CL-EM para $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$ (M+Na)⁺: m/z = 485,9, 487,9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 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 = 5,9 Hz, 1H), 4,36 (t, 5,3 Hz, 2H), 3,58 (dd, J = 11,2, 5,6 Hz, 2H), 3,18 (s, 3H).

20 Etapa C: 3-(4-(2-Azidoetilamino)-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona

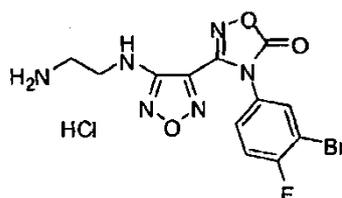


25

30 A una disolución de metanosulfonato de 2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etilo (2,13 kg, 4,6 moles, que contiene también algo del compuesto de bromo correspondiente) en dimetilformamida (4 l) agitando en un matraz de 22 l se añadió azida de sodio (380 g, 5,84 moles). La reacción se calentó a 50 °C durante 6 h, se vertió en hielo/agua (8 l) y se extrajo con 1:1 de acetato de etilo:heptano (20 L). La fase orgánica se lavó con agua (5 l) y salmuera (5 l), y los disolventes se eliminaron a vacío proporcionando el producto deseado (1464 g, 77 %) como un sólido de color tostado. CL-EM para $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$ (M+Na)⁺: m/z = 433,0, 435,0. RMN ¹H (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).

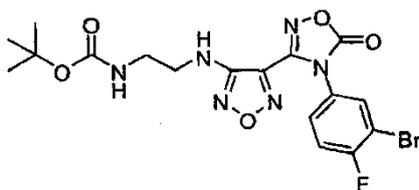
35

40 Etapa D: Clorhidrato de 3-{4-[(2-amino)etilo]amino}-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona



45

50 Etapa D, Parte 1: 2-(4-(4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1,2,5-oxadiazol-3-ilamino)etilcarbamato de *terc*-butilo



55

60

65 Se añadió yoduro de sodio (1080 g, 7,2 moles) a 3-{4-[(2-azido)etilo]amino}-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona (500 g, 1,22 moles) en metanol (6 L). La mezcla se dejó con agitación durante 30 min, tiempo durante el cual se observó una leve exotermia. Se añadió clorotrimetilsilano (930 ml, 7,33 moles) como una disolución en metanol (1 l) gota a gota a una tasa de manera que la temperatura no superara 35 °C, y la reacción se dejó con agitación durante 3,5 h a temperatura ambiente. La reacción se neutralizó con 33 % en

peso de disolución de tiosulfato de sodio pentahidratado en agua (~1,5 l), se diluyó con agua (4 l) y el pH se ajustó a 9 cuidadosamente con carbonato de potasio sólido (250 g - se añadió en pequeñas partes: se observa espumación). Se añadió dicarbonato de di-*terc*-butilo (318 g, 1,45 moles) y la reacción se dejó con agitación a temperatura ambiente. Se añadió carbonato de potasio adicional (200 g) en porciones de 50 g durante 4 h para garantizar que el pH estaba todavía en o por encima de 9. Después de agitar a temperatura ambiente durante la noche, el sólido se filtró, se trituró con agua (2 l) y a continuación MTBE (1,5 l). Se realizaron un total de 11 series (5,5 kg, 13,38 moles). Los sólidos combinados se trituraron con 1:1 de THF:diclorometano (24 l, 4 series en un matraz de evaporador rotatorio de 20 l, 50 °C, 1 h), se filtraron y se lavaron con diclorometano (3 l cada serie) proporcionando un sólido blanquecino. El material en bruto se disolvió a 55 °C, tetrahidrofurano (5 ml/g), se trató con carbón decolorante (2 % en peso) y gel de sílice (2 % en peso) y se filtró en caliente a través de Celite proporcionando el producto como un sólido blanquecino (5122 g). Los filtrados de MTBE, THF y diclorometano combinados se concentraron a vacío y se cromatografiaron (2 kg de gel de sílice, heptano con un gradiente del 0-100 % de acetato de etilo, 30 l) proporcionando más producto (262 g). Los sólidos combinados de 2-(4-(4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1,2,5-oxadiazol-3-ilamino)etilcarbamato de *terc*-butilo se secaron a un peso constante en un horno de convección (5385 g, 83 %).

Etapa D, Parte 2: Clorhidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona

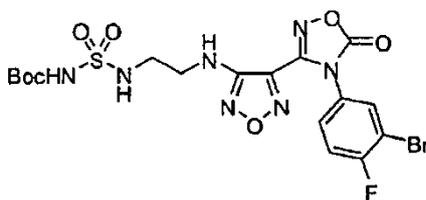
Procedimiento A:

En un matraz de 22 l se cargó cloruro de hidrógeno (disolución 4 N en 1,4-dioxano, 4 l, 16 moles). Se añadió [2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etil]carbamato de *terc*-butilo (2315 g, 4,77 moles) como un sólido en porciones durante 10 min. La suspensión se agitó a temperatura ambiente y gradualmente se convirtió en una pasta densa que no pudo agitarse. Después de asentarse durante la noche a temperatura ambiente, la pasta se suspendió en acetato de etilo (10 l), se filtró, se resuspendió en acetato de etilo (5 l), se filtró y se secó a un peso constante proporcionando el producto deseado como un sólido blanco (se combinó con otras series, 5 kg de material de partida cargado, 4113 g, 95 %). CL-EM para C₁₂H₁₁BrFN₆O₃ (M+H)⁺: m/z = 384,9, 386,9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,12 (m, 4H), 7,76 (m, 1H), 7,58 (t, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,78 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H), 3,51 (dd, *J* = 11,8, 6,1 Hz, 2H), 3,02 (m, 2H).

Procedimiento B:

Se añadió [2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etil]carbamato de *terc*-butilo (5000 g) a una mezcla de isopropanol (20 l) y HCl 4 N en 1,4-dioxano (10 l) a temperatura ambiente. El lote se calentó a 40-45 °C y se mantuvo durante 1 h. Se añadió acetato de etilo al lote a 40-45 °C y se mantuvo durante 2,5 h. Tras la completitud de la reacción, como se indica por HPLC, se añadió heptano (10 l) al lote. El lote se enfrió a 25 °C. El producto se aisló por filtración y la torta húmeda se lavó con acetato de etilo (3 x 5,0 l). El producto se secó en un horno a vacío a 20 °C dando 4344 g (rendimiento del 93,4 %) del compuesto del título. Los datos de CL-EM, RMN ¹H y ¹³C y HPLC de este lote fueron idénticos a aquellos del producto preparado por el Procedimiento A.

Etapa E: (([2-({4-[4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etil]amino)sulfonil)carbamato de *terc*-butilo

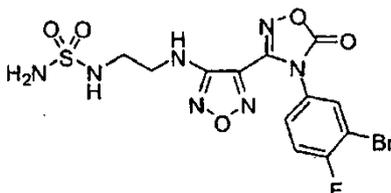


Se cargó un matraz redondo de 5 l con isocianato de clorosulfonilo [Aldrich, producto n° 142662] (149 ml, 1,72 moles) y diclorometano (1,5 l) y se enfrió usando un baño de hielo a 2 °C. Se añadió gota a gota *terc*-butanol (162 ml, 1,73 moles) en diclorometano (200 ml) a una tasa de manera que la temperatura no superara 10 °C. La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30-60 min proporcionando [clorosulfonil]carbamato de *terc*-butilo.

Se cargó un matraz de 22 l con clorhidrato de 3-{4-[(2-aminoetil)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-il}-4-(3-bromo-4-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4*H*)-ona (661 g, 1,57 moles) y 8,5 l de diclorometano. Después de enfriarse a -15 °C con un baño de hielo/sal, la disolución de [clorosulfonil]carbamato de *terc*-butilo (preparada como antes) se añadió a una tasa de manera que la temperatura no superara -10 °C (tiempo de adición 7 min). Después de agitar durante 10 min, se añadió trietilamina (1085 ml, 7,78 moles) a una tasa de manera que la temperatura no superara -5 °C (tiempo de adición 10 min). Se retiró el baño frío, la reacción se dejó calentar a 10 °C, se fraccionó en dos porciones

y se neutralizó con 10 % de HCl conc. (4,5 l cada porción). Cada porción se transfirió a un embudo de decantación de l y se diluyó con acetato de etilo para disolver completamente el sólido blanco (~25 l). Se separaron las fases, y la fase orgánica se lavó con agua (5 l), salmuera (5 l) y los disolventes se eliminaron a vacío proporcionando un sólido blanquecino. El sólido se trituró con MTBE (2 x 1,5 l) y se secó a un peso constante proporcionando un sólido blanco. Se procesó un total de 4113 g de material de partida de este modo (5409 g, 98 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,90 (s, 1H), 8,08 (dd, *J* = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,59 (t, *J* = 8,6 Hz, 1H), 6,58 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 3,38 (dd, *J* = 12,7, 6,2 Hz, 2H), 3,10 (dd, *J* = 12,1, 5,9 Hz, 2H), 1,41 (s, 9 H).

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



Procedimiento A: usando ácido trifluoroacético

A un matraz de 22 l que contenía 98:2 de ácido trifluoroacético:agua (8,9 l) se añadió ({[2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etil]amino}sulfonyl)carbamato de *tert*-butilo (1931 g, 3,42 moles) en porciones durante 10 minutos. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h, los disolventes se eliminaron a vacío y se atraparon con diclorometano (2 l). El sólido resultante se trató una segunda vez con 98:2 de ácido trifluoroacético:agua fresco (8,9 l), se calentó durante 1 h a 40-50 °C, los disolventes se eliminaron a vacío y se atraparon con diclorometano (3 x 2 l). El sólido blanco resultante se secó en un horno de secado a vacío a 50 °C durante la noche. Se procesó un total de 5409 g de este modo (4990 g, rendimiento cuant.). CL-EM para C₁₂H₁₂BrFN₇O₅S (M+H)⁺: m/z = 463,9, 465,9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,08 (dd, *J* = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,59 (t, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,67 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 6,52 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,38 (dd, *J* = 12,7, 6,3 Hz, 2H), 3,11 (dd, *J* = 12,3, 6,3 Hz).

Procedimiento B: usando ácido clorhídrico

A la disolución de ({[2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etil]amino}sulfonyl)carbamato de *tert*-butilo (4500 g) en isopropanol (9 l) se añadió HCl 4 N en dioxano (8,0 l). La mezcla de reacción se calentó a 40-45 °C y se mantuvo a esta temperatura durante aproximadamente 5 h. Tras completarse la reacción (como se indica por el análisis de HPLC), se añadió heptano (72 l) a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se calentó a 68 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 1 h. El lote se dejó enfriar a aproximadamente 23 °C. El producto sólido se recogió por filtración. La torta húmeda se lavó con una mezcla de heptano (16 l) e isopropanol (1,2 l) y se secó bajo succión sobre un embudo de filtración. El producto bruto se disolvió en acetato de etilo (10,8 l) a aproximadamente 43 °C. Se añadió heptano (32,4 l) a la disolución de acetato de etilo durante 15 min. El lote se calentó a 70 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 1 h. El lote se enfrió a 21 °C y el producto sólido se recogió por filtración. La torta húmeda se lavó con heptano (14,4 l) y se secó bajo succión sobre el embudo de filtración. El rendimiento de producto fue 3034 g. Los datos de CL-EM, RMN ¹H y ¹³C y HPLC de este lote fueron idénticos a aquellos del producto preparado por el Procedimiento A.

Etapa G: (*Z*)-4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etil}amino)-*N*-(3-bromo-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida

Procedimiento A:

A una mezcla en bruto de *N*-[2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il}amino)etil]sulfamida (2,4 moles) que contiene cantidades residuales de ácido trifluoroacético con agitación en un matraz de 22 l se añadió THF (5 l). La disolución resultante se enfrió a 0 °C usando un baño de hielo y se añadió NaOH 2 N (4 l) a una tasa de manera que la temperatura no superara 10 °C. Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 h (la CL-EM indicó que no quedaba material de partida), el pH se ajustó a 3-4 con HCl concentrado (~500 ml). El THF se eliminó a vacío y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (15 l). La fase orgánica se lavó con agua (5 l), salmuera (5 l) y los disolventes se eliminaron a vacío proporcionando un sólido. El sólido se trituró con MTBE (2 x 2 l), se combinó con otras tres reacciones del mismo tamaño y se secó durante la noche en un horno de convección proporcionando un sólido blanco (3535 g). Se recristalizó el sólido (3 matraces x 22 l, 2:1 de agua ultrafiltrada desionizada:etanol, 14,1 l de cada matraz) y se secó en un horno de convección a 50 °C a un peso constante para proveer el compuesto del título como un sólido blanquecino (3290 g, 78 %). CL-EM para C₁₁H₁₄BrFN₇O₄S (M+H)⁺: m/z = 437,9, 439,9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,51 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 7,17 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,11 (dd, *J* = 6,1, 2,7 Hz, 1H), 6,76 (m, 1H), 6,71 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 6,59 (s, 2H), 6,23 (t, *J* = 6,1

Hz, 1H), 3,35 (dd, $J = 10,9, 7,0$ Hz, 2H), 3,10 (dd, $J = 12,1, 6,2$ Hz, 2H). El análisis cristalográfico de rayos X determina que el compuesto del título adopta una configuración Z (isómero Z) con respecto al doble enlace carbononitrógeno (C=N) de la funcionalidad oxima.

5 Procedimiento B:

Se añadió *N*-[2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorofenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1,2,5-oxadiazol-3-il]amino)etil]sulfamida (1500 g) a THF (6,0 l) y el lote se enfrió a 2 °C. Se añadió ácido trifluoroacético (0,006 l) al lote a 2 °C, seguido de la adición de disolución acuosa de hidróxido sódico (384 g de NaOH sólido en 4,8 l de agua) a 0-2 °C. El lote se calentó a aproximadamente 16 °C y se mantuvo durante 5 h. Tras completarse de reacción, como se indica por HPLC, se añadió ácido clorhídrico concentrado (0,7 l) para ajustar el pH del lote a 3-4. Se eliminaron aproximadamente 4 l de disolvente del lote mediante destilación a presión reducida. El lote se añadió a acetato de etilo (18,0 l) y se agitó la mezcla bifásica durante 15 min. La fase orgánica se lavó secuencialmente con agua (6,0 l) y salmuera (6,0 l). La disolución orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Se filtró sulfato de magnesio y el filtrado se evaporó a sequedad a presión reducida. Al sólido resultante se añadió MTBE (3,0 l) y la suspensión se agitó durante 15 min. El producto sólido se aisló por filtración. La torta de filtración se lavó secuencialmente con MTBE (1,2 l) y heptano (1,2 l). El sólido se secó sobre el embudo de filtración bajo succión dando 1416 g (87,9 %) del producto. El producto (2440 g, obtenido en dos lotes) se purificó adicionalmente resuspendiendo en MTBE (9,6 l) a 17 °C durante 2 h. El lote se enfrió a 6 °C durante 30 min. El producto sólido se recogió por filtración y la torta húmeda se lavó secuencialmente con MTBE (3,6 l) y heptano (1,2 l). El producto se secó en un horno a vacío a 20 °C dando 1962 g del compuesto del título con un rendimiento del 81,7 %. Los datos de CL-EM, RMN ¹H y ¹³C y HPLC de este lote fueron idénticos a aquellos del producto preparado por el Procedimiento A.

25 Ejemplo 24

Datos de compuestos

Datos de actividad física y biológica seleccionados para los compuestos del Ejemplo 1-19 se resumen en la Tabla 2 a continuación. Los datos de Cl₅₀ son del ensayo proporcionado en el Ejemplo A.

30

35

40

45

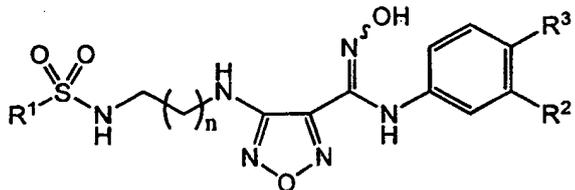
50

55

60

65

Tabla 2



Ex. No.	R1	R2	R3	n	IDO IC50 (nM)	MS [M+H]
1	NH2	Br	F	1	<200	437.9, 439.9
2	Me	Br	F	1	<200	437.0, 439.0
3	NH2	Br	F	2	<100	451.8, 453.9
4	Me	Br	F	2	<100	451.0, 453.0
5	NH2	Cl	F	1	<200	394.0
6	Me	Cl	F	1	<200	393.0
7	NH2	Cl	F	2	<200	408.1
8	Me	Cl	F	2	<200	407.1
9	NH2	CF3	F	1	<100	428.0
10	Me	CF3	F	1	<100	427.0
11	NH2	CF3	F	2	<100	442.0
12	Me	CF3	F	2	<100	441.1
13	NH2	CF3	H	1	<500	410.0
14	Me	CF3	H	1	<200	409.1
15	NH2	CF3	H	2	<200	424.0
16	Me	CF3	H	2	<200	423.1
17	Me	CH3	F	1	<500	373.1
18	NH2	CN	F	1	<750	385.0
19	Me	CN	F	1	<500	406.0*

*[M + Na]

Ejemplo 25

Datos de compuestos

Se proporcionan datos de IC_{50} de IDO (véase el Ejemplo A) para los compuestos de los Ejemplos 20 y 21 a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3

Ex. No.	IDO IC_{50} (nM)
20	<500
21	<750

Ejemplo 26

Datos de RMN

5 Se proporcionan datos de RMN ^1H (espectrómetro Varian Inova 500, un espectrómetro Mercury 400 o un espectrómetro Varian (o Mercury) 300) para los compuestos de los Ejemplos 1-21 a continuación en la Tabla 4.

Tabla 4

Ex. No.	solvente	MHz	^1H NMR espectro
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, 1 H), 8.90 (s, 1 H), 7.17 (m, 2 H), 7.09 (dd, $J = 6.3, 2.5$ Hz, 1 H), 6.26 (t, $J = 6.1$ Hz, 1 H), 3.33 (m, 2 H), 3.13 (q, $J = 6.0$ Hz, 2 H), 2.89 (s, 3 H)
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, 1 H), 7.05 (t, $J = 8.7$ Hz, 1 H), 6.83 (m, 1 H), 3.39 (t, $J = 6.8$ Hz, 2 H), 3.14 (t, $J = 6.6$ Hz, 2 H), 2.94 (s, 3 H), 1.87 (m, 2 H)
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, 1 H), 8.91 (s, 1 H), 7.19 (m, 2 H), 6.96 (dd, $J = 6.7, 2.5$ Hz, 1 H), 6.71 (m, 1 H), 6.26 (t, $J = 6.4$ Hz, 1 H), 3.32 (m, 2 H), 3.13 (q, $J = 5.8$ Hz, 2 H), 2.89 (s, 3 H)
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, 1 H), 6.98 (m, 1 H), 6.80 (m, 1 H), 3.73 (m, 2 H), 3.28 (m, 2 H), 2.94 (s, 3 H), 1.28 (m, 2 H)
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, 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)
10	DMSO- d_6	400	δ 11.60 (s, 1 H), 9.07 (s, 1 H), 7.30 (t, $J = 10.1$ Hz, 1 H), 7.18 (t, $J = 6.0$ Hz, 1 H), 7.13 (dd, $J = 6.0, 2.7$ Hz, 1 H), 7.03 (m, 1 H), 6.27 (t, $J = 6.3$ Hz, 1 H), 3.32 (m, 2 H), 3.13 (q, $J = 6.0$ Hz, 2 H), 2.89 (s, 3 H)
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, 1 H), 7.23 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H), 7.10 (s, 1 H), 7.03 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H), 3.48 (m, 2 H), 3.29 (m, 2 H)
14	DMSO- d_6	500	δ 11.63 (s, 1 H), 9.08 (s, 1 H), 7.39 (t, $J = 7.6$ Hz, 1 H), 7.21 (m, 2 H), 7.10 (s, 1 H), 6.99 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 6.28 (t, $J = 5.4$ Hz, 1 H), 3.36 (q, $J = 5.8$ Hz, 2 H), 3.17 (q, $J = 5.8$ Hz, 2 H), 2.91 (s, 3 H)
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)

65

(continuación)

Ex. No.	solvente	MHz	¹ H NMR espectro
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), 3.06 (q, <i>J</i> = 6.3 Hz, 2 H)

Ejemplo A: Ensayo de la enzima indoleamina 2,3-dioxigenasa (IDO) humana

Se expresó indoleamina 2,3-dioxigenasa (IDO) humana con una marca de His del extremo N en *E. coli* y se purificó a homogeneidad. La IDO cataliza la escisión oxidativa del anillo de pirrol del núcleo de indol de triptófano dando *N*-formilquinurenina. Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente como se describe en la bibliografía usando IDO 95 nM y D-Trp 2 mM en presencia de ascorbato 20 mM, azul de metileno 5 μM y 0,2 mg/ml de catalasa en tampón fosfato de potasio 50 mM (pH 6,5). Las tasas de reacción inicial se registraron siguiendo continuamente el aumento de absorbancia a 321 nm debido a la formación de *N*-formilquinurenina (véase: Sono, M. y col., 1980, *J. Biol. Chem.* 255, 1339-1345).

Ejemplo B: Determinación de la actividad inhibidora en el ensayo de indoleamina 2,3-dioxigenasa (IDO)/quinurenina basado en células HeLa

Se obtuvieron células HeLa (#CCL-2) de la Colección Americana de Cultivos de Tejidos Tipo (ATCC, Manassas, VA) y se mantuvieron rutinariamente en medio esencial mínimo (Eagle) con L-glutamina 2 mM y BSS de Earle ajustado para contener 1,5 g/l de bicarbonato sódico, aminoácidos no esenciales 0,1 mM, piruvato de sodio 1 mM y 10 % de suero bovino fetal (todos de Invitrogen). Las células se mantuvieron a 37 °C en una estufa de incubación humidificada suministrada con 5 % de CO₂. El ensayo se realizó del siguiente modo: se sembraron células HeLa en una placa de cultivo de 96 pocillos a una densidad de 5 x 10³ por pocillo y se cultivaron durante la noche. Al día siguiente se añadieron IFN-γ (50 ng/ml de concentración final) y diluciones sucesivas de compuestos (en el volumen total de 200 μl de medio de cultivo) a las células. Después de 48 horas de incubación se transfirieron 140 μl del sobrenadante por pocillo a una nueva placa de 96 pocillos. Se mezclaron 10 μl de ácido tricloroacético 6,1 N (#T0699, Sigma) en cada pocillo y se incubaron a 50 °C durante 30 min para hidrolizar la *N*-formilquinurenina producida por indoleamina 2,3-dioxigenasa en quinurenina. La mezcla de reacción se centrifugó a continuación durante 10 min a 2500 rpm para eliminar los sedimentos. Se transfirieron 100 μl del sobrenadante por pocillo a otra placa de 96 pocillos y se mezclaron con 100 μl de 2 % (peso/volumen) de *p*-dimetilaminobenzaldehído (n° 15647-7, Sigma-Aldrich) en ácido acético. El color amarillo derivado de la quinurenina se midió a 480 nm usando un lector de microplacas SPECTRAMax 250 (Molecular Devices). Se usó L-quinurenina (#K8625, Sigma) como patrón. Los patrones (240, 120, 60, 30, 15, 7,5, 3,75, 1,87 μM) se prepararon en 100 μl de medio de cultivo y se mezclaron con volumen igual de 2 % (peso/volumen) de *p*-dimetilaminobenzaldehído. Se determinó el porcentaje de inhibición a concentraciones individuales y se obtuvieron valores promedio de duplicados. Los datos se analizaron usando regresión no lineal para generar valores de CI₅₀ (Prism Graphpad). Véase: Takikawa O y col., 1988, *J. Biol. Chem.*, 263(4): 2041-8.

Ejemplo C: Determinación del efecto de inhibidores de IDO sobre la proliferación de linfocitos T que se suprime por células dendríticas que expresan IDO

Se recogieron monocitos de células mononucleares periféricas humanas por leucofóresis. Los monocitos se sembraron a continuación a una densidad de 1 x 10⁶ células/pocillo en una placa de 96 pocillos, usando medio RPMI 1640 complementado con 10 % de suero bovino fetal y L-glutamina 2 mM (todos de Invitrogen). Las células adherentes se retuvieron sobre la placa después del cultivo durante la noche a 37 °C. Los monocitos adherentes se

estimularon a continuación durante 5-7 días con 100 ng/ml de GM-CSF (n° 300-03, PeproTech) y 250 ng/ml de IL-4 (n° 200-04, PeproTech), seguido de activación con 5 µg/ml de LPS de *Salmonella typhimurium* (n° 437650, Sigma) y 50 ng/ml de IFN-γ (n° 285-SI, R&D Systems) durante 2 días adicionales para inducir la maduración de células dendríticas.

5
Después de la activación celular dendrítica, el medio se sustituyó con RPMI 1640 completo complementado con 100-200 U/ml de IL-2 (n° CYT-209, ProSpec-Tany TechnoGene) y 100 ng/ml de anticuerpo anti-CD3 (n° 555336, Pharmingen), linfocitos T (2-3 x 10⁵ células/pocillo) y diluciones sucesivas de compuestos IDO. Después de la incubación durante 2 días más, se midió la proliferación de linfocitos T por ensayo de incorporación de BrdU, usando un kit de ELISA de proliferación celular colorimétrica por instrucciones de los fabricantes (n° 1647229, Roche Molecular Biochemicals). Las células se cultivaron continuamente durante 16-18 h en presencia de disolución de marcado BrdU 10 µM. Entonces, el medio de marcado se eliminó y se añadieron 200 µl de FixDenat por pocillo a las células y se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se eliminó la disolución de FixDenat y se añadieron 100 µl/pocillo de disolución de trabajo de conjugado de anticuerpo anti-BrdU-POD. La reacción se llevó a cabo durante 90 minutos a temperatura ambiente. A continuación se eliminó el conjugado de anticuerpo y las células se aclararon tres veces con 200 µl/pocillo de disolución de lavado. Finalmente, se añadieron 100 µl/pocillo de disolución de sustrato y los resultados se obtuvieron usando un lector de microplacas (Spectra Max PLUS, Molecular Devices) durante el desarrollo de color. Se obtuvieron múltiples lecturas en diversos momentos de tiempo para garantizar que los datos estuvieran dentro del intervalo lineal. Los datos se obtuvieron rutinariamente de experimentos duplicados, y se incluyeron controles apropiados. Véase: Terness P, y col. 2002, J. Exp. Med., 196(4): 447-57; y Hwu, P, y col. 2000, J. Immunol., 164(7): 3596-9.

Ejemplo D: Prueba *in vivo* de inhibidores de IDO para actividad antitumoral

25 La eficacia antitumoral *in vivo* puede probarse usando protocolos modificados de aloinjerto/xenoinjerto de tumor. Por ejemplo, se ha descrito en la bibliografía que la inhibición de IDO puede sinergizar con quimioterapia citotóxica en ratones inmunocompetentes (Muller, A.J., y col. 2005, Nat. Med. 11:312-319). Se mostró que esta sinergia era dependiente de linfocitos T por comparación de los efectos sinérgicos de un inhibidor de IDO en investigación en modelos de xenoinjerto de tumor murino (por ejemplo, B16 y variantes relacionadas, CT-26, LLC) cultivados en ratones singénicos competentes en ratones singénicos inmunocompetentes con los observados en ratones singénicos tratados con anticuerpos anti-CD4 neutralizantes, o los mismos tumores cultivados en ratones inmunocomprometidos (por ejemplo, nu/nu).

35 El concepto de efectos antitumorales diferenciales en ratones inmunocompetentes frente a inmunocomprometidos puede también permitir la prueba de inhibidores en investigación de IDO como agentes únicos. Por ejemplo, los tumores LLC crecieron bien en su cepa huésped singénica, C57B1/6. Sin embargo, si estos ratones se tratan con el inhibidor de IDO 1-MT (frente a placebo), la formación de tumores es sustancialmente retrasada, que implica que la inhibición de IDO era inhibidora del crecimiento (Friberg, M., y col. 2002, Int. J. Cancer 101:151-155). Tras esta lógica, puede examinarse la eficacia de la inhibición de IDO en el modelo de tumor de xenoinjerto de LLC cultivado en ratones inmunocompetentes C57B1/6 y comparar aquella con los efectos de inhibidores de IDO sobre el crecimiento tumoral de LLC en ratones desnudos o SCID (o ratones C57B1/6 tratados con anticuerpos que neutralizan la actividad de linfocitos T). Como los efectos de aliviar la actividad inmunosupresora mediada por tumor de IDO se diferenciará probablemente dependiendo del potencial inmunogénico de diferentes modelos de tumor, pueden hacerse modificaciones genéticas a las células tumorales para aumentar su potencial inmunogénico. Por ejemplo, la expresión de GM-CSF en células B16.F10 aumenta su potencial inmunogénico (Dranoff, G., y col. 1993, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 90:3539-3543). Como tal, en algunos modelos de tumor (por ejemplo, B16.F10) pueden generarse [poli]clones que expresan proteínas inmunoestimulantes tales como GM-CSF y probar los efectos inhibidores del crecimiento de inhibidores de IDO contra tumores establecidos a partir de estas células tumorales en tanto ratones inmunocompetentes como inmunocomprometidos.

50 Una tercera vía para evaluar la eficacia de inhibidores de IDO *in vivo* emplea modelos de aloinjerto/xenoinjerto de tumor murino 'pre-inmunización'. En estos modelos, ratones inmunocompetentes se sensibilizan a un antígeno de tumor específico o antígenos para imitar una vacunación anti-tumoral terapéutica. Esto sensibiliza a los ratones para una respuesta antitumoral mediada por el sistema inmunitario cuando los ratones se exponen posteriormente a líneas celulares tumorales murinas (que poseen antígenos de tumor similares a aquellos usados para inmunización) en experimentos de xenoinjerto. Se ha mostrado que la expresión de IDO atenúa la respuesta antitumoral y permite que los xenoinjertos crezcan más rápidamente. Y, lo que es más importante, el crecimiento de tumores en este modelo se inhibe por el inhibidor de IDO 1-MT (Uyttenhove, C., y col. 2003, Nat. Med. 9:1269-1274). Este modelo es particularmente atractivo, ya que la actividad de IDO es permisiva para el crecimiento tumoral de P815 y la inhibición específica de IDO debe, por tanto, ser inhibidora del crecimiento.

60 Finalmente, puede usarse inmunización terapéutica para evaluar el impacto de inhibidores de IDO *in vivo*. Por ejemplo, se ha demostrado usando células B16-BL6 que pueden exponerse ratones Blk/6 a una inyección intravenosa de células tumorales, seguido de tratamiento con un péptido inmunogénico bien caracterizado (por

ejemplo TRP-2) expresado por las células tumorales (Ji y col., 2005, J. Immunol, 175: 1456-63). Y, lo que es más importante, los modificadores del sistema inmunitario, tales como el anticuerpo anti-CTL-4, pueden mejorar las respuestas a tales inmunizaciones terapéuticas. El impacto de inhibidores de IDO puede evaluarse de un modo similar - inmunización de péptidos tumorales con o sin inhibidor de IDO. La eficacia se evalúa por la supervivencia animal (tiempo hasta la morbilidad) o por la medición de metástasis tumorales a los pulmones y/u otros órganos en momentos de tiempo definidos.

En cualquiera/todos de los modelos anteriormente mencionados, también puede ser posible medir directa y/o indirectamente el número y/o actividad de células inmunitarias reactivas tumorales. Los procedimientos de medición del número y/o actividad de células inmunitarias reactivas tumorales están bien establecidos y pueden realizarse usando técnicas conocidas para aquellos instruidos en la materia (Current Protocols in Immunology, vol. 4, Coligan, J. E., y col.; Immunotherapy of Cancer, Human Press, 2006, Disis, M.L. y referencias en su interior). Conceptualmente, una reducción en los efectos inmunosupresores de IDO puede producir números elevados o reactividad de células inmunitarias específicas de tumor. Además, la inhibición de IDO puede aumentar adicionalmente el número o la reactividad de células inmunitarias reactivas de tumor cuando se combinó con otros terapéuticos, por ejemplo, quimioterapéuticos y/o inmunomoduladores (por ejemplo, anticuerpo anti-CTLA4).

Todos los experimentos de aloinjerto/xenoinjerto pueden realizarse usando técnicas de tumor convencionales (revisadas por Corbett y col., en Cancer Drug Discovery and Development: Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval, 2ª ed. Teicher, B.A. y Andrews, P.A., Gumana Press Inc.: Totowa, NJ, 2004). La clonación e introducción de genes (por ejemplo, IDO, GM-CSF) en líneas celulares tumorales puede realizarse usando técnicas conocidas para aquellos instruidos en la materia (revisado en Sambrook, J. y Russel, D., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3ª edición), Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, NY, 2001).

Ejemplo E: prueba *in vivo* de inhibidores de IDO en modelo de encefalitis por el virus de la inmunodeficiencia humana-1 (VIH-1)

1. Aislamiento de células e infección viral

Pueden obtenerse monocitos y PBL mediante elutriación centrífuga a contracorriente de paquetes de leucoféresis de donantes seronegativos para VIH-1, 2 y hepatitis B. Se cultivan los monocitos en cultivo en suspensión utilizando matraces de teflón en medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, Sigma-Aldrich) complementado con 10 % de suero humano combinado inactivado por calor, 1 % de glutamina, 50 µg/ml de gentamicina, 10 µg/ml de ciprofloxacina (Sigma) y 1000 U/ml de factor estimulante de colonias de macrófagos humano recombinante altamente purificado. Después de siete días en cultivo, se infectan MDM con el VIH-1_{ADA} a una multiplicidad de infección de 0, 01.

2. Ratones Hu-PBL-NOD/SCID HIVE

Pueden adquirirse ratones NOD/C.B-17 SCID macho de cuatro semanas de edad (Jackson Laboratory). Los animales se mantienen en jaulas Micro-Isolator estériles en condiciones libres de patógenos. Se inyecta a todos los animales, por vía intraperitoneal, anticuerpo anti-CD122 de rata (0,25 mg/ratón) tres días antes del trasplante de PBL y dos veces con anticuerpos para asialo-GM1 de conejo (0,2 mg/ratón) (Wako) un día antes y tres días después de la inyección de PBL (20 x 10⁶ células/ratón). Se inyectan, por vía intracraneal (i.c.), MDM infectados con el VIH-1_{ADA} (3 x 10⁵ células en 10 µl) ocho días tras la reconstitución de PBL, generando ratones hu-PBL-NOD/SCID HIVE. Inmediatamente después de la inyección i.c. de MDM infectados con VIH-1, se implanta a los ratones hu-PBL-NOD/SCID HIVE por vía subcutánea (s.c.) control (vehículo) o pellas de compuesto (14 ó 28 días de liberación lenta, Innovative Research). Se diseñan los experimentos iniciales para confirmar la inducción de CTL específicos del virus en los animales hu PBL-NOD/SCID HIVE tratados con compuestos de IDO. Esto se confirma mediante tinción de tetrámero y análisis neuropatológicos de eliminación de MDM del tejido cerebral. A continuación, se diseña el experimento para analizar la reconstitución de linfocitos humanos, las respuestas inmunitarias humorales y las alteraciones neuropatológicas. En estos experimentos, se sangran los animales el día 7 y se sacrifican los días 14 y 21 después de la inyección i.c. de MDM humanos. Se utiliza la sangre recogida en tubos que contienen EDTA para la citometría de flujo y se usa el plasma para la detección de VIH-1 p24 usando ELISA (Beckman Coulter™). Los anticuerpos específicos para el VIH-1 se detectan por pruebas de transferencia Western según las instrucciones del fabricante (kit de transferencia Western de VIH-1 de Cambridge Biotech, Calypte Biomedical). Se detecta una cantidad similar de anticuerpos específicos del virus en el control y animales tratados con compuesto. Pueden realizarse un total de tres experimentos independientes usando tres donantes de leucocitos humanos diferentes.

3. FACSscan de sangre periférica y bazo en ratones hu PBL-NOD/SCID HIVE

Puede realizarse el análisis FACS de dos colores en sangre periférica en la semana 1-3 y esplenocitos en la semana 2 y 3 después de la inyección i.c. de MDM humanos. Se incuban las células con Ab monoclonales (mAb) conjugados con fluorocromo para CD4, CD8, CD56, CD3, IFN-γ humanos (eBioscience) durante 30 minutos a 4 °C.

Para evaluar la respuesta inmunitaria celular, se realiza tinción intracelular de IFN- γ en combinación con anticuerpos anti-CD8 humano y anticuerpos anti-CD45 de ratón conjugados con FITC para excluir las células murinas. Para determinar los CTL específicos de anticuerpo, se realiza la tinción de tetrámero conjugada con alofocianina para el VIH-1⁹⁹ (p17 (aa77-85) SLYNTVATL, SL-9) y el VIH-1^{pol} [(aa476-485) ILKEPVHGV, IL-9] en esplenocitos estimulados con fitohemaglutinina/interleucina-2 (PHA/IL-2). Se tiñen las células siguiendo la recomendación del NIH/National Institute of Allergy and Infections Disease, National Tetramer Core Facilities. Los datos se analizaron con un FACS Calibur™ usando el software CellQuest (Becton Dickinson Immunocytometry System).

4. Histopatología y análisis de imágenes

Se recoge tejido cerebral los días 14 y 21 después de la inyección i.c. de MDM, se fija en 4 % de paraformaldehído tamponado con fosfato y se incorpora en parafina o se congela a -80 °C para su uso posterior. Se cortan secciones coronales de los bloques incorporados con el fin de identificar el sitio de la inyección. Para cada ratón, se cortan 30-100 secciones en serie (5 μ m de espesor) del sitio de inyección de MDM humanos y se analizan 3-7 portaobjetos (10 secciones separadas). Las secciones de cerebro se desparafinan con xileno y se hidratan en alcoholes en gradiente. La tinción inmunohistoquímica sigue un protocolo indirecto básico, usando la recuperación de antígeno por calentamiento a 95 °C en 0,01 mol/l de tampón citrato durante 30 minutos para la recuperación del antígeno. Para identificar las células humanas en cerebros de ratón, se usa mAb para vimentina (1:50, clon 3B4, Dako Corporation), que identifica todos los leucocitos humanos. Los MDM humanos y los linfocitos CD8⁺ se detectan con anticuerpos para CD68 (dilución 1:50, clon KP 1) y CD8 (dilución 1:50, clon 144B), respectivamente. Las células infectadas con virus se marcan con mAb para VIH-1 p24 (1:10, clon Kal-1, todo de Dako). Se detectan células de la microglía murinas reactivas con anticuerpo Iba-1 (1:500, Wako). La expresión deIDO humana (huIDO) se visualiza con Ab obtenidos del Departamento de Farmacología Celular, Central Research Institute, Facultad de Medicina, Universidad de Hokkaido, Sapporo, Japón. Los anticuerpos primarios se detectan con los anticuerpos secundarios biotinilados apropiados y se visualizan con complejos de avidina-biotina (kit Vectastain Elite ABC, Vector Laboratories) y polímero de dextrano acoplado a peroxidasa de rábano picante (HRP) (EnVision, Dako Corporation). Se realiza la contratinción de secciones inmunoteñidas con hematoxilina de Mayer. Las secciones de las que se elimina el anticuerpo primario o incorpora el isotipo IgG irrelevante sirven de controles. Dos observadores independientes, de forma enmascarada, cuentan el número de linfocitos CD8⁺, MDM CD68⁺ y células VIH-1 p24⁺ en cada sección de cada ratón. Se realiza el examen de microscopía óptica con un microscopio Nikon Eclipse 800 (Nikon Instruments Inc.). Se realiza el análisis semicuantitativo para Iba1 (porcentaje del área ocupada por inmunotinción) mediante análisis de imágenes asistido por ordenador (Image-Pro® Plus, Media Cybernetics) como se ha descrito anteriormente.

5. Análisis estadístico

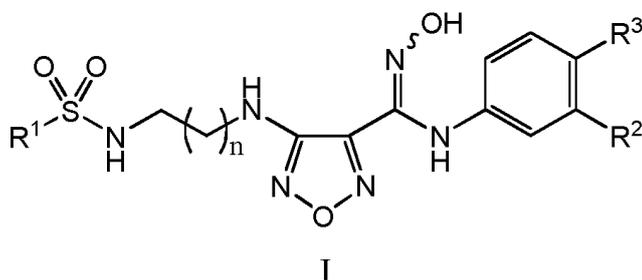
Pueden analizarse los datos mediante Prism (Graph Pad) con la prueba de la t de Student para comparaciones y ANOVA. Se consideraron significativos valores de $P < 0,05$.

6. Referencia

Poluektova L.Y., Munn DH, Persidsky Y. y Gendelman H.E. (2002). Generation of cytotoxic T cells against virus-infected human brain macrophages in a murine model of HIV-1 encephalitis. *J. Immunol.* 168(8):3941-9.

Reivindicaciones

1. Un compuesto de Fórmula I:



15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 para su uso en el tratamiento de un cáncer; en donde

20 R¹ es NH₂ o CH₃;
R² es Cl, Br, CF₃, CH₃ o CN;
R³ es H o F; y
n es 1 ó 2.

25 2. El compuesto o sal para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 en el que:

(a) R¹ es NH₂; o
(b) R¹ es CH₃.

30 3. El compuesto o sal para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, en el que:

(a) R² es Cl; o
(b) R² es Br; o
(c) R² es CF₃; o
(d) R² es CH₃; o;
(e) R² es CN.

4. El compuesto o sal para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que:

(a) R³ es H; o
(b) R³ es F.

5. El compuesto o sal para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que:

(a) n es 1; o
(b) n es 2.

6. Un compuesto seleccionado de:

50 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etil}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
N-(3-Bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonyl)amino]etil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propil}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
55 N-(3-Bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-4-({3-[(metilsulfonyl)amino]propil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etil}amino)-N-(3-cloro-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
N-(3-Cloro-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonyl)amino]etil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
60 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propil}amino)-N-(3-cloro-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
N-(3-Cloro-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-4-({3-[(metilsulfonyl)amino]propil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etil}amino)-N-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
65 N-[4-Fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonyl)amino]etil}amino)-1,2,5-oxadiazol-

3-carboximidamida;
 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propil}amino)-N-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
 N-[4-Fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-hidroxi-4-({3-[(metilsulfonyl)amino]propil}-amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etil}amino)-N'-hidroxi-N-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
 N'-Hidroxi-4-({2-[(metilsulfonyl)amino]etil}amino)-N-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propil}amino)-N'-hidroxi-N-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
 N'-Hidroxi-4-({3-[(metilsulfonyl)amino]propil}amino)-N-[3-(trifluorometil)fenil]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
 N-(4-Fluoro-3-metilfenil)-N'-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonyl)amino]etil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etil}amino)-N-(3-ciano-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;
 y
 N-(3-Ciano-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-4-({2-[(metilsulfonyl)amino]etil}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1.

7. 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etil}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1.

8. 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etil}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida, en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1.

9. El compuesto o sal para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el compuesto es una forma sólida de 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etil}amino)-N-(3-bromo-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida, que es

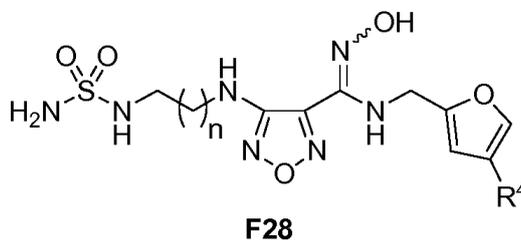
- (a) cristalina; o
- (b) contiene menos del 2% de agua.

10. El compuesto o sal para el uso de acuerdo con la reivindicación 9, donde la forma sólida tiene un punto de fusión de 162 a 166° C, ±3° C.

11. El compuesto o sal para el uso de acuerdo con la reivindicación 9, donde la forma sólida tiene:

- (a) al menos un pico XRPD, en términos de 2-theta, seleccionado de 18.4° ±0.2°, 18.9° ±0.2°, 21.8° ±0.2°, 23.9° ±0.2°, 29.2° ±0.2°, y 38.7° ±0.2°; o
- (b) teniendo al menos dos picos XRPD, en términos de 2-theta, seleccionados de 18.4° ±0.2°, 18.9° ±0.2°, 21.8° ±0.2°, 23.9° ±0.2°, 29.2° ±0.2°, y 38.7° ±0.2°; o
- (c) teniendo al menos tres picos XRPD, en términos de 2-theta, seleccionados de 18.4° ±0.2°, 18.9° ±0.2°, 21.8° ±0.2°, 23.9° ±0.2°, 29.2° ±0.2°, y 38.7° ±0.2°.

12. Un compuesto de Fórmula F28:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 para su uso en el tratamiento de un cáncer, en donde:

- R⁴ es F, Cl, Br, o I; y
- n es 1 ó 2.

13. 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etil}amino)-N-[(4-bromo-2-furil)metil]-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 para el uso de

acuerdo con la reivindicación 12.

5 **14.** 4-({2-[(Aminosulfonil)amino]etil}amino)-N-[(4-cloro-2-furil)metil]-N'-hidroxi-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 para el uso de acuerdo con la reivindicación 12.

10 **15.** El compuesto, sal, o forma sólida para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que dicho cáncer se selecciona de melanoma, cáncer de colon, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, cáncer de cerebro, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer testicular, cáncer renal, cáncer de cabeza y cuello, linfoma y leucemia.

16. El compuesto, sal, o forma sólida para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, en el que el cáncer es melanoma.

15 **17.** El compuesto, sal, o forma sólida para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 13, en el que el cáncer es cáncer de ovario.

20 **18.** El compuesto, sal, o forma sólida para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 13, en el que el cáncer es cáncer de mama.

19. El compuesto, sal, o forma sólida para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, en el que el cáncer es cáncer de páncreas.

25 **20.** El compuesto, sal, o forma sólida para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, en el que el cáncer es cáncer de próstata.

21. El compuesto, sal, o forma sólida para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, en el que el cáncer es cáncer de pulmón.

30

35

40

45

50

55

60

65

Figura 1

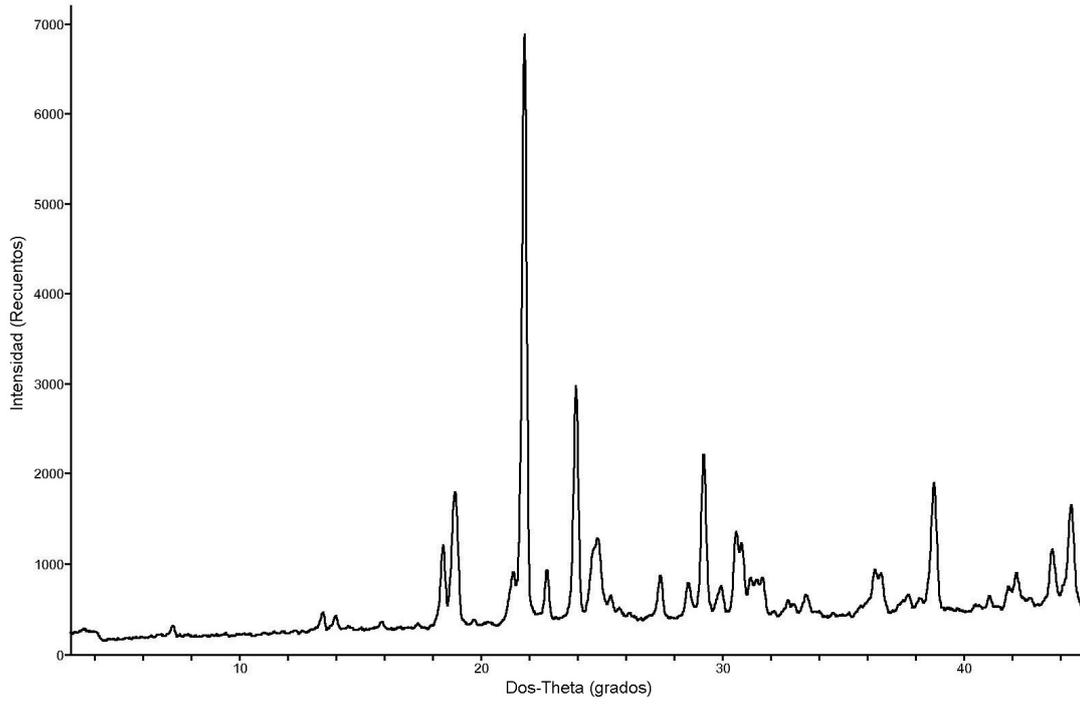


Figura 2

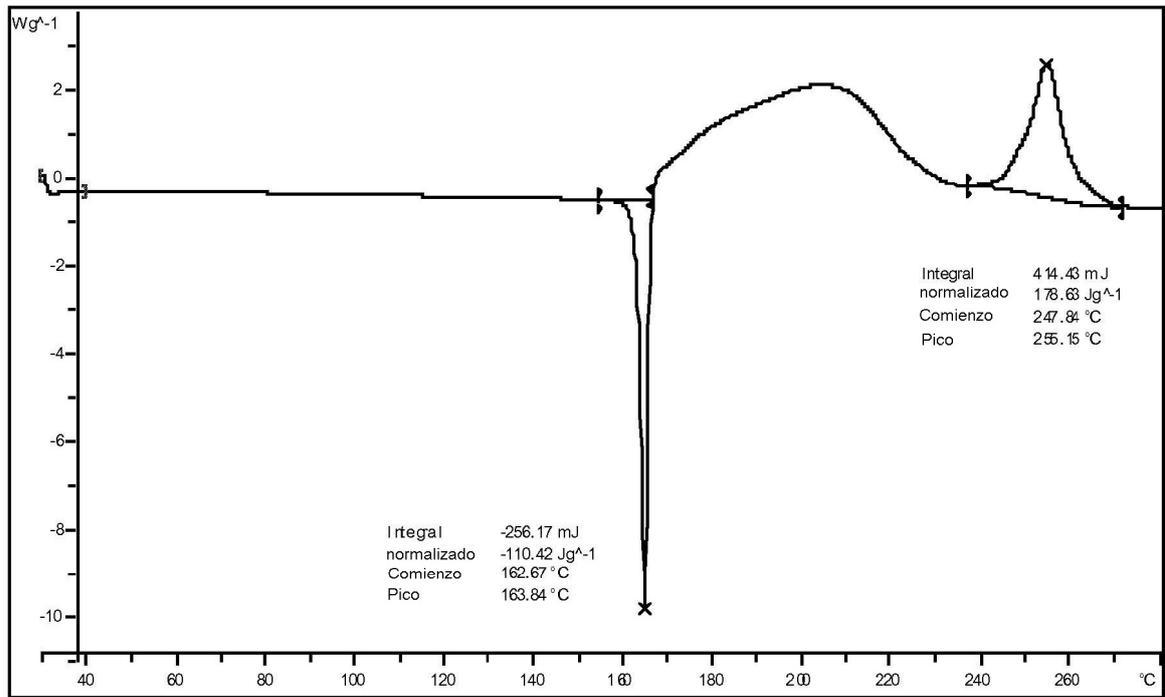


Figura 3

