



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102164902 B

(45) 授权公告日 2014. 07. 23

(21) 申请号 200980134351. 9

(22) 申请日 2009. 07. 07

(30) 优先权数据

61/078, 876 2008. 07. 08 US

61/150, 873 2009. 02. 09 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011. 03. 02

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2009/049794 2009. 07. 07

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/005958 EN 2010. 01. 14

(73) 专利权人 因塞特公司

地址 美国德拉萨州

(72) 发明人 A·P·坎布斯 E·W·岳

R·B·斯帕克斯 W·朱 J·周

Q·林 L·翁 T-Y·岳 P·刘

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 马崇德 刘健

(51) Int. Cl.

C07D 271/08 (2006. 01)

A61K 31/4245 (2006. 01)

A61P 1/00 (2006. 01)

A61P 11/00 (2006. 01)

A61P 17/00 (2006. 01)

A61P 19/00 (2006. 01)

A61P 25/00 (2006. 01)

A61P 27/00 (2006. 01)

A61P 29/00 (2006. 01)

A61P 31/00 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

A61P 37/00 (2006. 01)

A61P 43/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

W0 2008/058178 A1, 2008. 05. 15, 权利要求
1-42.

审查员 郝鹏

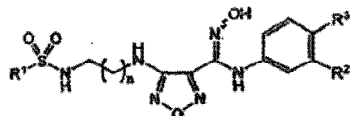
权利要求书8页 说明书85页 附图2页

(54) 发明名称

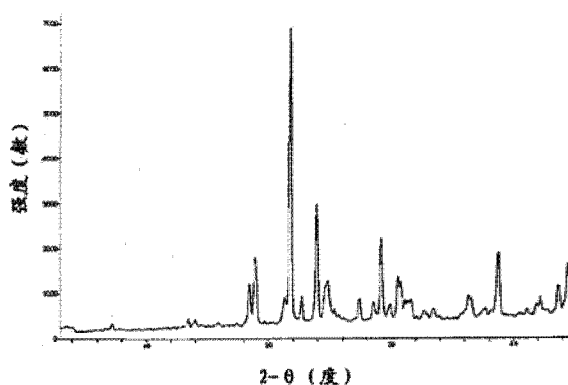
作为吡啶胺 2, 3- 双加氧酶的抑制剂的
1, 2, 5- 噁二唑

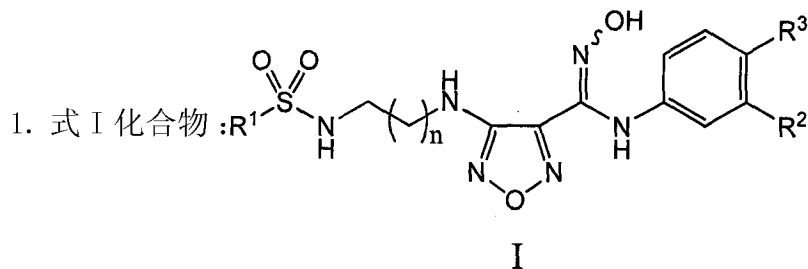
(57) 摘要

本发明涉及 1, 2, 5- 噁二唑衍生物和它们的组合物, 它们是吡啶胺 2, 3- 双加氧酶的抑制剂, 且可用于治疗癌症和其它病症, 还涉及用于制备这样的 1, 2, 5- 二噁唑衍生物的方法和中间体。本发明还提供了式 I 的 IDO 抑制剂或其可药用盐, 其中 R¹ 是 NH₂ 或 CH₃; R² 是 Cl、Br、CF₃、CH₃ 或 CN; R³ 是 H 或 F; 和 n 是 1 或 2, 等等。



(I)





或其药学上可接受的盐,其中:

R¹ 是 NH₂ 或 CH₃;

R² 是 Cl、Br、CF₃、CH₃ 或 CN;

R³ 是 H 或 F;且

n 是 1 或 2。

2. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R¹ 是 NH₂。

3. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R¹ 是 CH₃。

4. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R² 是 Cl。

5. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R² 是 Br。

6. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R² 是 CF₃。

7. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R² 是 CH₃。

8. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R² 是 CN。

9. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R³ 是 H。

10. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R³ 是 F。

11. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中 n 是 1。

12. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中 n 是 2。

13. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物选自:

4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

4-({3-[(氨基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-4-({3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-氯-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

N-(3-氯-4-氟苯基)-N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

4-({3-[(氨基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N-(3-氯-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

N-(3-氯-4-氟苯基)-N'-羟基-4-({3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}-氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

4-({3-[(氨基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-N'-羟基-4-({3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}-氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N'-羟基-N-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

4-({3-[(氨基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N'-羟基-N-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

N'-羟基-4-({3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

N-(4-氟-3-甲基苯基)-N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;

4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-氰基-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺;和

N-(3-氰基-4-氟苯基)-N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺。

14. 一种化合物,其是 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺,或其药学上可接受的盐。

15. 一种化合物,其是 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺。

16. 权利要求 15 的化合物的固体形式,所述固体形式是结晶的。

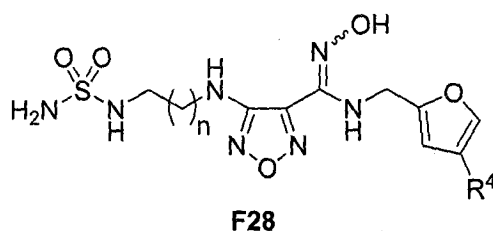
17. 权利要求 15 的化合物的固体形式,所述固体形式是无水的。

18. 权利要求 15 的化合物的固体形式,所述固体形式具有 162 至 166°C $\pm$ 3°C 的熔点。

19. 权利要求 15 的化合物的固体形式,所述固体形式具有如图 2 所示的 DSC 热分析图,其中所述 DSC 热分析图的温度读数变动 $\pm$ 3°C。

20. 权利要求 15 的化合物的固体形式,所述固体形式具有如图 1 所示的 XRPD 图谱,其中在所述 XRPD 图谱中峰分配的 2- θ 变动 $\pm$ 0.2°。

21. 式 F28 的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R⁴ 是 F、Cl、Br 或 I;和 n 是 1 或 2,



22. 一种化合物, 其是 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺, 或其药学上可接受的盐。

23. 一种化合物, 其是 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-[(4-氯-2-呋喃基)甲基]-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺, 或其药学上可接受的盐。

24. 组合物, 其包含权利要求 1-15 和 21-23 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐, 和至少一种药学上可接受的载体。

25. 权利要求 1-15 和 21-23 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐在制备药物中的用途, 所述药物用于抑制吲哚胺 2,3-双加氧酶的活性。

26. 权利要求 1-15 和 21-23 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐在制备药物中的用途, 所述药物用于抑制患者的免疫抑制。

27. 权利要求 1-15 和 21-23 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐在制备药物中的用途, 所述药物用于治疗患者的癌症、病毒感染、抑郁症、神经变性病症、创伤、年龄相关的白内障、器官移植排斥或自身免疫疾病。

28. 权利要求 27 的用途, 其中所述癌症选自结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌、肺癌、脑癌、卵巢癌、宫颈癌、睾丸癌、肾癌、头和颈癌、淋巴瘤和白血病。

29. 权利要求 27 的用途, 进一步包括给所述患者施用抗 CTLA-4 抗体、抗病毒剂、化疗剂、免疫抑制剂、辐射、抗肿瘤疫苗、抗病毒疫苗、细胞因子疗法或酪氨酸激酶抑制剂。

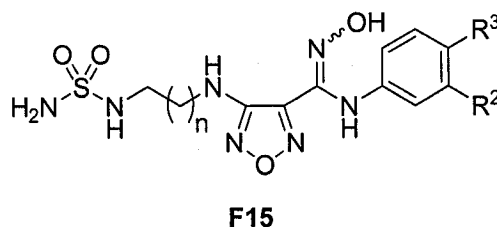
30. 权利要求 29 的用途, 其中所述细胞因子疗法包含 IL-2。

31. 权利要求 29 的用途, 其中所述化疗剂是细胞毒性剂。

32. 权利要求 1-15 和 21-23 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐在制备药物中的用途, 所述药物用于治疗患者的黑素瘤。

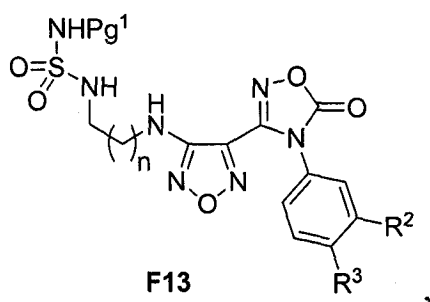
33. 权利要求 32 的用途, 所述化合物或其药学上可接受的盐与化疗剂、辐射、抗肿瘤疫苗或细胞因子疗法联合应用。

34. 一种制备式 F15 化合物或其盐的方法:



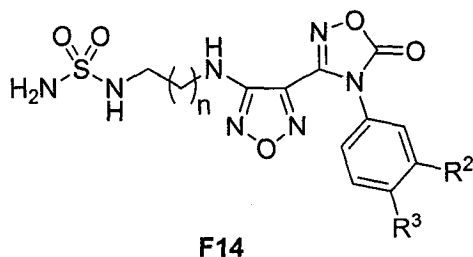
其中 R² 是 Cl、Br、CF₃、CH₃ 或 CN; R³ 是 H 或 F; 且 n 是 1 或 2, 所述方法包括:

a) 使式 F13 化合物或其盐与氨基去保护剂反应以得到式 F14 化合物或其盐:



其中 Pg^1 是氨基保护基,

:



且

b) 使所述式 F14 化合物与碱反应以得到所述式 F15 化合物。

35. 权利要求 34 的方法, 其中 R^2 是 Br, R^3 是 F, 且 n 是 1。

36. 权利要求 34 的方法, 其中 R^2 是 Br, R^3 是 F, 且 n 是 2。

37. 权利要求 34 的方法, 其中 R^2 是 Cl, R^3 是 F, 且 n 是 1。

38. 权利要求 34 的方法, 其中 R^2 是 Cl, R^3 是 F, 且 n 是 2。

39. 权利要求 34 的方法, 其中 R^2 是 CF_3 , R^3 是 F, 且 n 是 1。

40. 权利要求 34 的方法, 其中 R^2 是 CF_3 , R^3 是 F, 且 n 是 2。

41. 权利要求 34 的方法, 其中 R^2 是 CF_3 , R^3 是 H, 且 n 是 1。

42. 权利要求 34 的方法, 其中 R^2 是 CF_3 , R^3 是 H, 且 n 是 2。

43. 权利要求 34 的方法, 其中 R^2 是 CN, R^3 是 F, 且 n 是 1。

44. 权利要求 34 的方法, 其中所述 Pg^1 是烷氧基羰基。

45. 权利要求 44 的方法, 其中所述烷氧基羰基是叔丁氧基羰基。

46. 权利要求 34 的方法, 其中所述氨基去保护剂是三氟乙酸。

47. 权利要求 34 的方法, 其中所述氨基去保护剂是盐酸。

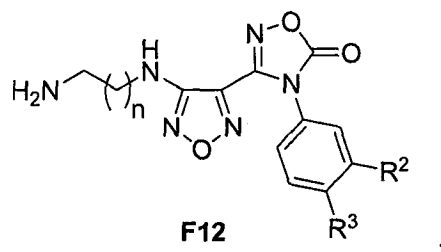
48. 权利要求 47 的方法, 其中所述反应在包含二噁烷的溶剂中进行。

49. 权利要求 47 的方法, 其中所述反应在异丙醇中进行。

50. 权利要求 34 的方法, 其中所述碱包含碱金属氢氧化物。

51. 权利要求 34 的方法, 其中所述碱是氢氧化钠。

52. 权利要求 34 的方法, 其中所述式 F13 化合物如下得到: 用 $\text{Pg}^1\text{-NH-}$ 磺酰氯处理式 F12 化合物或其盐,



随后用有机碱处理以得到所述式 F13 化合物。

53. 权利要求 52 的方法, 其中所述 Pg^1 包含烷氧基羰基。

54. 权利要求 53 的方法, 其中所述烷氧基羰基是叔丁氧基羰基。

55. 权利要求 52 的方法, 其中所述处理在溶剂中进行。

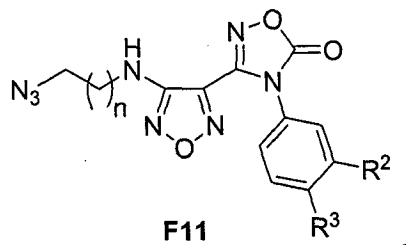
56. 权利要求 52 的方法, 其中所述处理在卤化的溶剂中进行。

57. 权利要求 56 的方法, 其中所述卤化的溶剂是二氯甲烷。

58. 权利要求 52 的方法, 其中所述有机碱包括三 (C_{1-6}) 烷基胺。

59. 权利要求 52 的方法, 其中所述有机碱是三乙胺。

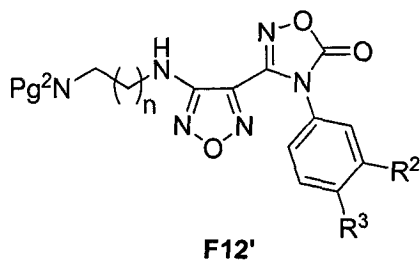
60. 权利要求 52 的方法, 其中所述式 F12 化合物通过还原式 F11 化合物或其盐得到:



61. 权利要求 60 的方法, 其中所述还原是在有碘化钠、氯代三甲基硅烷和甲醇存在下进行。

62. 权利要求 60 的方法, 所述方法进一步包括如下纯化所述式 F12 化合物:

a) 使所述式 F12 化合物与氨基保护剂反应以得到式 F12' 化合物或其盐:



其中 Pg^2N 是受保护的胺;

b) 纯化所述式 F12' 化合物以得到纯化的式 F12' 化合物; 且

c) 使所述纯化的式 F12' 化合物与氨基去保护剂反应以得到纯化的式 F12 化合物。

63. 权利要求 62 的方法, 其中所述氨基保护剂是二碳酸二叔丁酯。

64. 权利要求 62 的方法, 其中所述纯化通过硅胶上的色谱法进行。

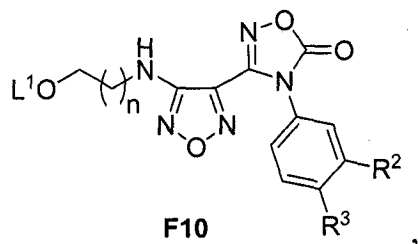
65. 权利要求 63 的方法, 其中所述氨基去保护剂是盐酸。

66. 权利要求 65 的方法, 其中所述反应在包含二噁烷的溶剂中进行。

67. 权利要求 65 的方法, 其中所述反应在异丙醇中进行。

68. 权利要求 60 的方法, 其中所述式 F11 化合物如下得到: 用叠氮化物试剂处理式 F10

化合物或其盐以得到所述式 F11 化合物：



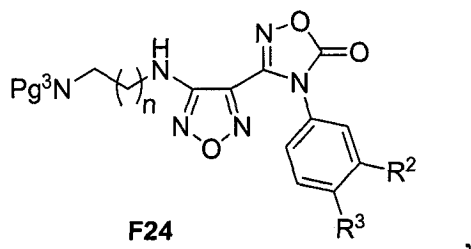
其中 L^1 选自烷基磺酰基、卤代烷基磺酰基和芳基磺酰基。

69. 权利要求 68 的方法, 其中 L^1 是烷基磺酰基。

70. 权利要求 69 的方法, 其中所述烷基磺酰基是甲磺酰基。

71. 权利要求 68 的方法, 其中所述叠氮化物试剂是叠氮化钠。

72. 权利要求 52 的方法, 其中所述式 F12 化合物如下得到: 使式 F24 化合物或其盐与氨基去保护剂反应以得到所述式 F12 化合物:



其中 Pg^3N 是受保护的胺。

73. 权利要求 72 的方法, 其中所述受保护的胺是 $(C_6H_5)_3C-NH$ 。

74. 权利要求 72 的方法, 其中所述受保护的胺是 $(C_6H_5)_2C=N$ 。

75. 权利要求 72 的方法, 其中所述去保护剂包括有机酸。

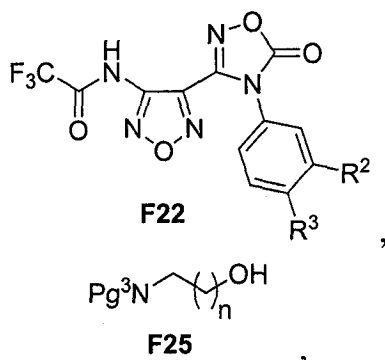
76. 权利要求 72 的方法, 其中所述去保护剂包括有机酸和有机硅烷。

77. 权利要求 76 的方法, 其中所述有机酸是三氟乙酸, 且所述有机硅烷包括三烷基硅烷。

78. 权利要求 77 的方法, 其中所述三烷基硅烷是三(异丙基)硅烷。

79. 权利要求 75 的方法, 其中所述有机酸是三氟乙酸。

80. 权利要求 72 的方法, 其中所述式 F24 化合物如下得到: 用式 F25 化合物或其盐和偶联试剂处理式 F22 化合物或其盐以得到所述式 F24 化合物:

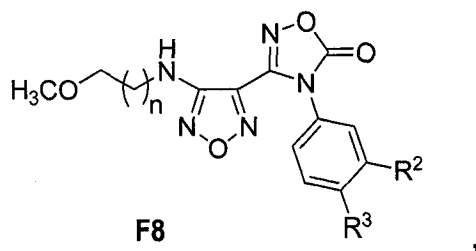


其中 pg^3N 是受保护的胺。

81. 权利要求 80 的方法, 其中所述受保护的胺是 $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C-NH}$ 。

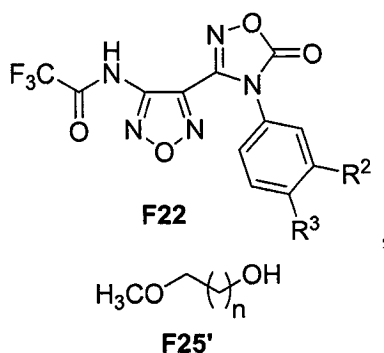
82. 权利要求 80 的方法, 其中所述受保护的胺是 $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C=N}$ 。

83. 一种制备式 F8 化合物或其盐的方法:



其中, R^2 是 Cl 、 Br 、 CF_3 、 CH_3 或 CN ; R^3 是 H 或 F ; 且 n 是 1 或 2;

所述方法包括使式 F22 化合物或其盐与式 F25' 化合物或其盐和偶联试剂反应以得到所述式 F8 化合物,



84. 权利要求 83 的方法, 其中所述偶联试剂包括叔磷和偶氮二甲酸二烷基酯。

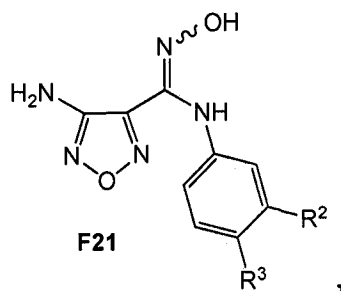
85. 权利要求 84 的方法, 其中所述叔磷是三芳基磷。

86. 权利要求 85 的方法, 其中所述三芳基磷是三苯基磷。

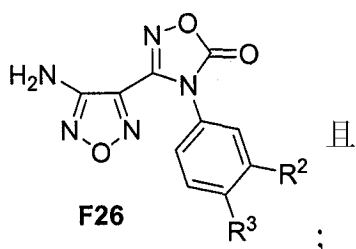
87. 权利要求 84 的方法, 其中所述偶氮二甲酸二烷基酯是偶氮二甲酸二异丙基酯。

88. 权利要求 83 的方法, 其中所述式 F22 化合物如下得到:

a) 用羰基二咪唑处理式 F21 化合物或其盐,

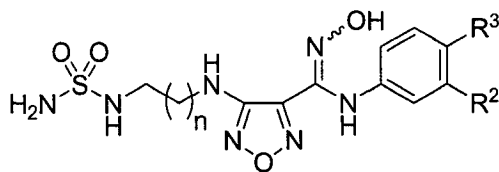


以得到式 F26 化合物或其盐,



b) 用三氟乙酸酐处理所述式 F26 化合物以得到所述式 F22 化合物。

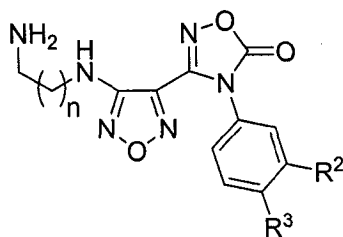
89. 一种制备式 F15 化合物或其盐的方法：



F15

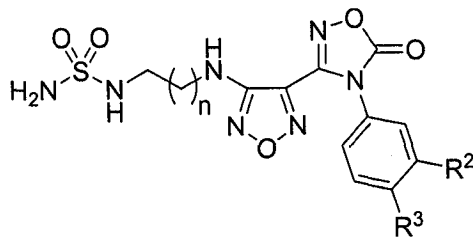
其中 R^2 是 Cl、Br、 CF_3 、 CH_3 或 CN； R^3 是 H 或 F；且 n 是 1 或 2，
所述方法包括：

a) 使式 F12 化合物或其盐与磺酰胺和有机碱反应，



F12

以得到式 F14 化合物或其盐，



F14

且

b) 使所述式 F14 化合物或其盐与碱反应以得到所述式 F15 化合物。

90. 权利要求 89 的方法，其中所述有机碱包括杂环碱。

91. 权利要求 89 的方法，其中所述有机碱是吡啶。

92. 权利要求 89 的方法，其中使式 F12 化合物反应进一步包括加热所述反应物。

93. 权利要求 92 的方法，其中所述加热使用微波辐射进行。

94. 权利要求 89 的方法，其中所述碱包括碱金属氢氧化物。

95. 权利要求 89 的方法，其中所述碱是氢氧化钠。

作为吲哚胺 2,3-双加氧酶的抑制剂的 1,2,5-噁二唑

技术领域

[0001] 本发明涉及 1,2,5-噁二唑衍生物,它们是吲哚胺 2,3-双加氧酶 (dioxygenase) 的抑制剂,且可用于治疗癌症和其它病症,还涉及用于制备它们的方法和中间体。

背景技术

[0002] 色氨酸 (Trp) 是生物合成蛋白、烟酸和神经递质 5-羟色胺 (血清素) 所需要的一种必需氨基酸。酶吲哚胺 2,3-双加氧酶 (又称为 IDO 或 IDO) 催化将 L-色氨酸降解为 N-甲酰基-犬尿氨酸的第一和限速步骤。在人细胞中,由 IDO 活性导致 Trp 耗竭是著名的 γ 干扰素 (IFN- γ)-诱导型抗微生物效应机制。IFN- γ 刺激诱发 IDO 的激活,其导致 Trp 耗竭,因而抑制依赖 Trp 的细胞内病原体例如鼠弓形虫 (*Toxoplasma gondii*) 和沙眼衣原体 (*Chlamydia trachomatis*) 的生长。IDO 活性还对多种肿瘤细胞有抗增殖作用,且在同种异基因肿瘤排斥期间可在体内观察到 IDO 诱导,表明该酶可能在肿瘤排斥过程中起作用 (Daubener 等人,1999, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 467 :517-24 ;Taylor 等人,1991, *FASEB J.*, 5 :2516-22)。

[0003] 已经观察到,与外周血淋巴细胞 (PBL) 共培养的 HeLa 细胞通过 IDO 活性的上调获得免疫抑制表型。据信,在用白介素-2 (IL2) 处理后 PBL 增殖的减少是因为肿瘤细胞响应于 PBL 的 IFNG 分泌所释放的 IDO。1-甲基-色氨酸 (1MT) (一种特异性的 IDO 抑制剂) 处理可逆转该效应。有人提出,肿瘤细胞中的 IDO 活性可以用于削弱抗肿瘤应答 (Logan 等人,2002, *Immunology*, 105 :478-87)。

[0004] 近来,Trp 耗竭的免疫调节作用受到很多关注。几项证据提示,IDO 涉及诱发免疫耐受性。有关哺乳动物怀孕、肿瘤耐药性 (tumor resistance)、慢性感染和自身免疫性疾病的研究表明,表达 IDO 的细胞可抑制 T 细胞反应并提高耐受性。Trp 分解代谢加速出现在与细胞免疫激活有关的疾病和病症例如感染、恶性肿瘤、自身免疫性疾病和 AIDS 以及怀孕期间。例如,在自身免疫性疾病中观察到升高水平的 IFN 和升高水平的尿 Trp 代谢物;据推测,发生在自身免疫性疾病中的全身性和局部性 Trp 耗竭可能与这些疾病的变性和萎缩症状有关。在从关节炎性关节滑液中分离的细胞中出现高水平的 IDO 证明该假设。在人免疫缺陷病毒 (HIV) 患者中 IFN 也升高,IFN 水平升高与预后恶化有关。因此有人提出,HIV 感染长期诱发 IDO,机会性感染使它进一步增加,长期丢失 Trp 启动导致恶病质、痴呆和腹泻并且可能使 AIDS 患者免疫抑制的机制 (Brown 等人,1991, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 294 :425-35)。最终,近来表明抑制 IDO 可升高小鼠 HIV 模型中的病毒特异性 T 细胞水平,同时减少感染病毒的巨噬细胞的数目 (Portula 等人,2005, *Blood*, 106 :2382-90)。

[0005] 据信,IDO 在防止子宫中胎儿排斥的免疫抑制过程中起作用。在 40 多年前就已注意到,在怀孕期间,无论组织移植免疫学如何预测,异种遗传哺乳动物孕体均存活 (Medawar,1953, *Symp. Soc. Exp. Biol.* 7 :320-38)。母体与胎儿的解剖分离和胎儿抗原未成熟性不能完全解释胎儿同种异体移植存活。近来关注集中在母体的免疫耐受性上。因为在正常怀孕期间,人合胞滋养层细胞表达 IDO,且全身色氨酸浓度下降,据假设,在母体-胎

儿接触面上表达 IDO 是防止胎儿同种异体移植免疫排斥所必须的。为验证该假设,当怀孕小鼠(怀有同源或异源胎儿)暴露于 1MT 时,迅速出现 T 细胞诱发的对所有异源孕体的排斥。因此,通过色氨酸分解代谢,哺乳动物孕体似乎抑制 T 细胞活性并使本身免除排斥,并且在鼠科动物怀孕期间的阻断色氨酸分解代谢允许母体 T 细胞引起胎儿同种异体移植排斥(Munn 等人,1998, *Science* 281:1191-3)。

[0006] 基于色氨酸通过 IDO 降解的肿瘤免疫耐药机制的另一个证据来自大多数肿瘤组成型表达 IDO 的现象,通过免疫原性小鼠肿瘤细胞表达的 IDO 阻止预免疫小鼠中的排斥。该作用伴随肿瘤部位缺乏特异性 T 细胞蓄积,且在无明显的毒性下,通过用 IDO 抑制剂全身处理小鼠,该作用可部分恢复。因此,提示可通过同时施用 IDO 抑制剂,提高给癌症患者施用治疗性疫苗的效能(Uyttenhove 等人,2003, *Nature Med.*, 9:1269-74)。还证实,IDO 抑制剂 1-MT 可与化疗剂协同减少小鼠中肿瘤生长,提示抑制 IDO 还可增强常规细胞毒疗法的抗肿瘤活性(Muller 等人,2005, *Nature Med.*, 11:312-9)。

[0007] 导致对肿瘤无免疫应答性的一个机制可能是耐受原性宿主 APC 呈递肿瘤抗原。已有人的 IDO 表达抗原呈递细胞(APC)亚组的阐述,APC 共表达 CD123(IL3RA)和 CCR6 并抑制 T 细胞增殖。成熟和不成熟的 CD123- 阳性树突细胞都抑制 T 细胞活性,1MT 阻断该 IDO 抑制活性(Munn 等人,2002, *Science* 297:1867-70)。已证实,小鼠肿瘤引流淋巴结(TDLN)含有组成型表达免疫抑制水平的 IDO 的浆细胞样树突细胞(pDC)亚组。尽管在体外仅含 0.5% 淋巴结细胞,但这些 pDC 有效抑制 T 细胞对 pDC 本身呈递的抗原的反应,并且还以显著方式抑制 T 细胞对非抑制性 APC 呈递的第三方(third party)抗原的反应。在 pDC 群中,绝大多数功能性 IDO- 介导的抑制因子活性与新的共表达 B 谱系标记物 CD19 的 pDC 亚组无关。因此据假设,通过 TDLN 中的 pDC 引起的 IDO- 介导的抑制创造出有效抑制宿主抗肿瘤 T 细胞反应的局部微环境(Munn 等人,2004, *J. Clin. Invest.*, 114(2):280-90)。

[0008] IDO 将色氨酸、5- 羟色胺和褪黑素的吲哚部分降解,引发产生统称为犬尿氨酸的神经活性和免疫调节代谢物。通过局部消耗色氨酸和增加促凋亡的犬尿氨酸,树突细胞(DC)表达的 IDO 可极大影响 T 细胞增殖和存活。在 DC 中诱发 IDO 可能是调节性 T 细胞驱动的消耗耐受性的普通机制。因为,可预计此类耐受原性反应在多种生理病理病症中起作用,色氨酸代谢和犬尿氨酸产生可代表免疫和神经系统之间的关键介面(Grohmann 等人,2003, *Trends Immunol.*, 24:242-8)。在持续免疫激活的状态中,可利用的游离血清 Trp 减少,并且由于 5- 羟色胺生成减少,5- 羟色胺能功能可能也受影响(Wirleitner 等人,2003, *Curr. Med. Chem.*, 10:1581-91)。

[0009] 有趣的是,已观察到施用干扰素- α 引起神经精神病性副作用,例如抑郁症状和认知功能改变。对 5- 羟色胺能神经传递的直接影响可能导致这些副作用。另外,因为 IDO 激活导致 5- 羟色胺(5-HT)的前体色氨酸水平下降,IDO 还可能通过减少中枢 5-HT 合成,在这些神经精神病性副作用中起作用。另外,犬尿氨酸代谢物例如 3- 羟基-犬尿氨酸(3-OH-KYN)和喹啉酸(QUIN)对脑功能有毒性作用。3-OH-KYN 可通过增加反应性氧类(ROS)生成产生氧化应激,QUIN 可过度刺激海马 N- 甲基-D- 天冬氨酸(NMDA)受体,这导致细胞凋亡和海马萎缩。通过 NMDA 过度刺激导致 ROS 超量产生和海马萎缩与抑郁有关(Wichers 和 Maes,2004, *J. Psychiatry Neurosci.*, 29:11-17)。因此,IDO 活性可能在抑郁症中起作用。

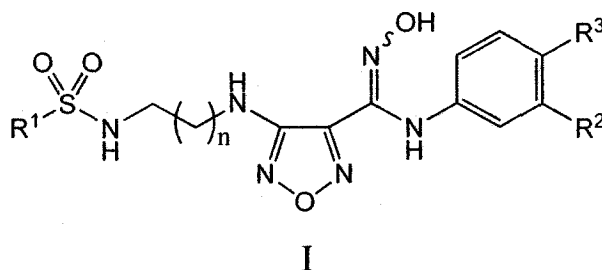
[0010] 正在开发治疗或预防 IDO 相关疾病（例如上述那些疾病）的 IDO 的小分子抑制剂。例如，在 US 2006/0258719 和 US 2007/0185165 中报道了 噁二唑和其它杂环 IDO 抑制剂。PCT 公布号 WO 99/29310 报道了改变 T 细胞介导免疫的方法，该方法包括用 IDO 抑制剂例如 1- 甲基 -DL- 色氨酸、对 -(3- 苯并呋喃基) -DL- 丙氨酸、对 -[3- 苯并 (b) 噻吩基] -DL- 丙氨酸和 6- 硝基 -L- 色氨酸，改变局部细胞外的色氨酸和色氨酸代谢物的浓度 (Munn, 1999)。在 WO 03/087347 中报道了制备抗原呈递细胞的方法，用于增强或减少 T 细胞耐受性 (Munn, 2003)，它同时也在欧洲专利 1501918 中公布。还在 WO 2004/094409 中报道了具有吡啶胺 -2,3- 双加氧酶 (IDO) 抑制活性的化合物；且美国专利申请公布号 2004/0234623 涉及通过联合施用吡啶胺 -2,3- 双加氧酶的抑制剂和其它治疗形式来治疗癌症或感染患者的方法。

[0011] 考虑到指示 IDO 在免疫抑制、肿瘤耐药性和 / 或排斥、慢性感染、HIV 感染、AIDS（包括其表现形式，例如恶病质、痴呆和腹泻）、自身免疫性疾病或病症（例如类风湿性关节炎）和免疫耐受性以及预防子宫胎儿排斥中的作用的实验数据，需要针对通过抑制 IDO 活性而抑制色氨酸降解的治疗剂。当 T 细胞被怀孕、恶性肿瘤和诸如 HIV 等病毒抑制时，可用 IDO 抑制剂激活 T 细胞，从而增强 T 细胞激活。抑制 IDO 还可以是神经病学或者神经精神疾病或病症（例如抑郁症）患者的重要治疗策略。本文中的化合物、组合物和方法帮助满足了目前对 IDO 调节剂的需求。

发明内容

[0012] 除了别的以外，本发明提供了式 I 的 IDO 抑制剂：

[0013]



[0014] 或其药学上可接受的盐，其中组分变量如本文所定义。

[0015] 本发明另外提供了包含式 I 化合物和至少一种药学上可接受的载体的药物组合物。

[0016] 本发明另外提供了抑制吡啶胺 2,3- 双加氧酶的活性的方法，所述方法包括使 吡啶胺 2,3- 双加氧酶 (IDO) 接触式 I 化合物或其药学上可接受的盐。

[0017] 本发明另外提供了抑制患者的免疫抑制的方法，所述方法包括给所述患者施用有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐。

[0018] 本发明另外提供了治疗患者的癌症、病毒感染、抑郁症、神经变性病症、创伤、年龄相关的白内障、器官移植排斥或自身免疫疾病的方法，所述方法包括给所述患者施用治疗有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐。

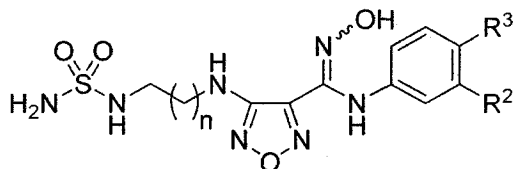
[0019] 本发明另外提供了治疗患者的黑素瘤的方法，所述方法包括给所述患者施用治疗有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐。

[0020] 本发明另外提供了用于治疗中的式 I 化合物或其药学上可接受的盐。

[0021] 本发明另外提供了式 I 化合物或其药学上可接受的盐用于制备用于治疗中的药物的应用。

[0022] 本发明另外提供了中间体、制备它们的方法和含有它们的组合物,它们可用于制备式 F15 的化合物:

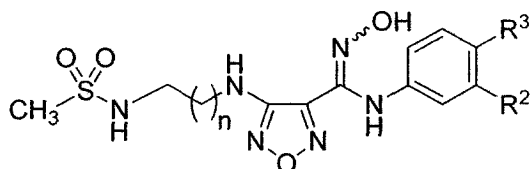
[0023]



F15

[0024] 本发明另外提供了中间体、制备它们的方法和含有它们的组合物,它们可用于制备式 F19 的化合物:

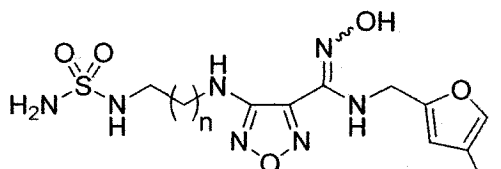
[0025]



F19

[0026] 本发明另外提供了中间体、制备它们的方法和含有它们的组合物,它们可用于制备式 F28 的化合物:

[0027]



F28

附图说明

[0028] 图 1 显示了在实施例 1 中制备的本发明化合物特有的 XRPD 图谱。

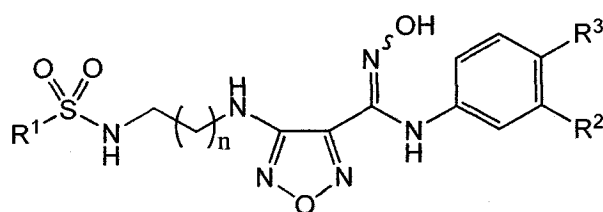
[0029] 图 2 显示了在实施例 1 中制备的本发明化合物特有的 DSC 热分析图。

[0030] 图 3 显示了在实施例 1 中制备的本发明化合物特有的 TGA 数据。

具体实施方式

[0031] 除了别的以外,本发明提供了式 I 的 IDO 抑制剂:

[0032]



I

[0033] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0034] R^1 是 NH_2 或 CH_3 ;

[0035] R^2 是 Cl 、 Br 、 CF_3 、 CH_3 或 CN ;

[0036] R^3 是 H 或 F ;且

[0037] n 是 1 或 2。

[0038] 在某些实施方案中, R^1 是 NH_2 。

[0039] 在某些实施方案中, R^1 是 CH_3 。

[0040] 在某些实施方案中, R^2 是 Cl 。

[0041] 在某些实施方案中, R^2 是 Br 。

[0042] 在某些实施方案中, R^2 是 CF_3 。

[0043] 在某些实施方案中, R^2 是 CH_3 。

[0044] 在某些实施方案中, R^2 是 CN 。

[0045] 在某些实施方案中, R^3 是 H 。

[0046] 在某些实施方案中, R^3 是 F 。

[0047] 在某些实施方案中, n 是 1。

[0048] 在某些实施方案中, n 是 2。

[0049] 本发明的化合物可以以不同的固体形式存在。本文使用的“固体形式”意在表示特征在于下述一种或多种性质的固体:例如,熔点、溶解度、稳定性、结晶性、吸湿性、水含量、TGA 特征、DSC 特征、DVS 特征、XRPD 特征等。例如,固体形式可以是无定形的、结晶的或其混合物。

[0050] 不同的结晶固体形式通常具有不同的结晶晶格(例如,晶胞),且经常因此具有不同的物理性质。在有些情况下,不同的结晶固体形式具有不同的水或溶剂含量。通过固态表征方法诸如通过 X-射线粉末衍射(XRPD),可以鉴别不同的结晶晶格。其它表征方法诸如差式扫描量热法(DSC)、热重分析法(TGA)、动态蒸汽吸附(DVS)等,进一步辅助鉴别固体形式以及辅助测定稳定性和溶剂/水含量。

[0051] 在一个方面,本发明提供了 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺(carboximidamide)的不同固体形式(参见实施例 1)。在某些实施方案中,固体形式是结晶固体。在某些实施方案中,固体形式是基本上无水的(例如,含有小于约 1%的水、小于约 0.5%的水、小于约 1.5%的水、小于约 2%的水)。在某些实施方案中,固体形式的特征在于,约 162 至约 166°C 的熔点或以约 162 至约 166°C 为中心的 DSC 吸热。在某些实施方案中,固体形式的特征在于,约 164°C 的熔点或以约 164°C 为中心的 DSC 吸热。在某些实施方案中,固体形式具有基本上如图 2 所示的 DSC 热分析图。在其它实施方案中,固体形式具有至少

1 个、2 个或 3 个选自下述的 XRPD 峰（以 $2-\theta$ 的方式）：约 18.4° 、约 18.9° 、约 21.8° 、约 23.9° 、约 29.2° 和约 38.7° 。在其它实施方案中，固体形式具有基本上如图 1 所示的 XRPD 图谱。

[0052] 本发明另外提供了组合物，其包含固体形式的 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺（参见实施例 1）。所述组合物可以包含至少约 50%、至少约 75%、至少约 90%、至少约 95% 或至少约 99%（按重量计算）的固体形式。所述组合物也可以含有药学上可接受的赋形剂。在某些实施方案中，所述固体形式是基本上纯化的。

[0053] XRPD 图谱的反射（峰）通常被视作特定结晶形式的指纹。众所周知，XRPD 峰的相对强度可以宽范围变化，这取决于样品制备技术、晶体粒度分布、使用的不同过滤器、样品固定方法和采用的具体仪器以及其它因素。在有些情况下，可能观察到新峰，或现有峰可能消失，这取决于仪器的类型或设置。本文使用的术语“峰”表示具有最大峰高度 / 强度的至少约 4% 的相对高度 / 强度的反射。此外，仪器差异和其它因素可以影响 $2-\theta$ 值。因而，峰分配，诸如本文报道的那些，可以变动 $\pm$ 约 0.2° ($2-\theta$)，且在本文中在 XRPD 的上下文中使用的术语“基本上”意在包括上述的变动。

[0054] 以相同的方式，与 DSC、TGA 或其它热实验有关的温度读数可以变动约 $\pm 3^\circ\text{C}$ ，这取决于仪器、具体设置、样品制备等。因此，本文报道的具有“基本上”如附图中的任一个所示的 DSC 热分析图的结晶形式，被理解为包含这样的变动。

[0055] 在本说明书的不同位置，本发明化合物的取代基以组或范围的形式公开。本发明尤其应包括各此类组和范围、以及此类组和范围内成员的每个单独亚组合。

[0056] 本发明化合物应是稳定的。本文中使用的“稳定的”是指这样的化合物，其足够稳健能够经受起由反应混合物分离至有效纯度的过程，优选能够配制成为有效治疗剂。

[0057] 还应意识到，为了明确起见，在不同实施方案上下文中描述的本发明的某些特征也可在单个实施方案中以组合形式提供。相反，为了简洁，在单个实施方案上下文中描述的本发明的各种特征也可分别或按任何适宜的亚组合形式提供。

[0058] 本发明的化合物另外意在包括所有可能的几何异构体。描述了本发明化合物的顺式和反式几何异构体，它们可分离为异构体的混合物或单独的异构体形式。用波浪线“”表示的结构图中的键意在表示，该结构表示顺式或反式异构体，或任意比例的顺式和反式异构体的混合物。

[0059] 本发明的化合物也包括互变异构形式。互变异构形式源自单键与邻近双键的对换，并伴随质子迁移。

[0060] 本发明的化合物还可包括出现在中间体或最终化合物中的原子的所有同位素。同位素包括具有相同原子数但不同质量数的那些原子。例如，氢的同位素包括氕和氘。

[0061] 在某些实施方案中，本发明的化合物及其盐是基本上分离的。“基本上分离的”是指，该化合物至少部分地或基本上与其形成或检出的环境分离。部分分离可以包括，例如，富含本发明化合物的组合物。基本上分离可以包括含有至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 97% 或至少约 99%（按重量计算）的本发明化合物或其盐的组合物。用于分离化合物和它们的盐的方法是本领域的常规技术。

[0062] 本发明还包括本文所述化合物的盐。本文中使用的“盐”是指公开的化合物的衍生物,其中通过将存在的酸或碱部分转化为其盐形式来修饰母体化合物。盐的实例包括、但不限于:诸如胺等碱基的无机酸(诸如 HCl、HBr、H₂SO₄)或有机酸(诸如醋酸、苯甲酸、三氟乙酸)盐;诸如羧酸等酸基的碱(诸如 Li、Na、K、Mg、Ca)或有机(诸如三烷基铵)盐等。通过常规化学方法,从含碱性或酸性部分的母体化合物可以合成本发明的盐。通常,在水中或在有机溶剂中或在两种的混合物中,通过使这些化合物的游离酸或碱形式与化学计量量的适当的碱或酸反应,可以制备此类盐;通常,优选非水性介质如醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈(ACN)。

[0063] 本发明的“药学上可接受的盐”包括上述“盐”的子集,它们是从例如无毒的无机或有机酸形成的母体化合物的常规无毒盐。合适的盐的列表参见:Remington's Pharmaceutical Sciences,第17版,Mack Publishing Company,Easton,Pa.,1985,第1418页,和 Journal of Pharmaceutical Science,66,2(1977),它们各自通过引用整体并入本文。短语“药学上可接受的”在本文中用于表示这样的化合物、物质、组合物和/或剂型,其在合理的医学判断范围内,适用于与人和动物的组织接触,而没有过度的毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症,与合理的利益/风险比相称。

[0064] 合成方法

[0065] 可按有机合成领域技术人员已知的多种方法制备本发明化合物。使用在下文中所述的方法以及合成有机化学领域中已知的合成方法或本领域技术人员意识到的有关改变方法,可以合成本发明的化合物。

[0066] 使用以下通用方法和规程,可以从容易得到的原料制备本发明化合物。应当理解,在给出典型的或优选的工艺条件(即反应温度、时间、反应物的摩尔比、溶剂、压力等)时;除非另有说明,也可使用其它工艺条件。最佳反应条件可以随所用的具体反应物或溶剂而异,但本领域技术人员可通过常规优化方法确定此类条件。

[0067] 按照本领域已知的任何合适的方法可以监测本文所述过程。例如,通过分光光度法例如核磁共振波谱(例如 ¹H 或 ¹³C)、红外光谱、分光光度测定法(例如紫外光-可见光)或质谱法,或通过色谱法例如高效液相色谱法(HPLC)或薄层色谱法,可以监测产物形成。通过本领域已知的任意合适的方法,可以纯化通过反应得到的化合物。例如,在合适的吸附剂(例如,硅胶、氧化铝等)上的色谱法(中压)、HPLC 或制备薄层色谱法、蒸馏、升华、研磨或重结晶。

[0068] 化合物的制备可以包含不同化学基团的保护和去保护。本领域技术人员可容易地确定对保护和去保护的需要,以及对适宜的保护基的选择。保护基化学可参见,例如 Wuts 和 Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis,第4版,John Wiley & Sons:New York,2006,其通过引用整体并入本文。

[0069] 可在合适的溶剂中进行本文所述方法的反应,有机合成领域的技术人员可容易地选择该合适的溶剂。在进行反应的温度,即在从溶剂的凝固温度至溶剂的沸点温度范围内的温度,合适的溶剂基本上不与原料(反应物)、中间体或产物反应。可在一种溶剂或一种以上溶剂的混合物中进行特定的反应。根据反应步骤,可以选择适用于特定反应步骤的溶剂。适宜的溶剂包括水、烷烃(诸如戊烷类、己烷类、庚烷类、环己烷等或其混合物)、芳族溶剂(诸如苯、甲苯、二甲苯等)、醇类(诸如甲醇、乙醇、异丙醇等)、醚类(诸如二烷基醚、甲

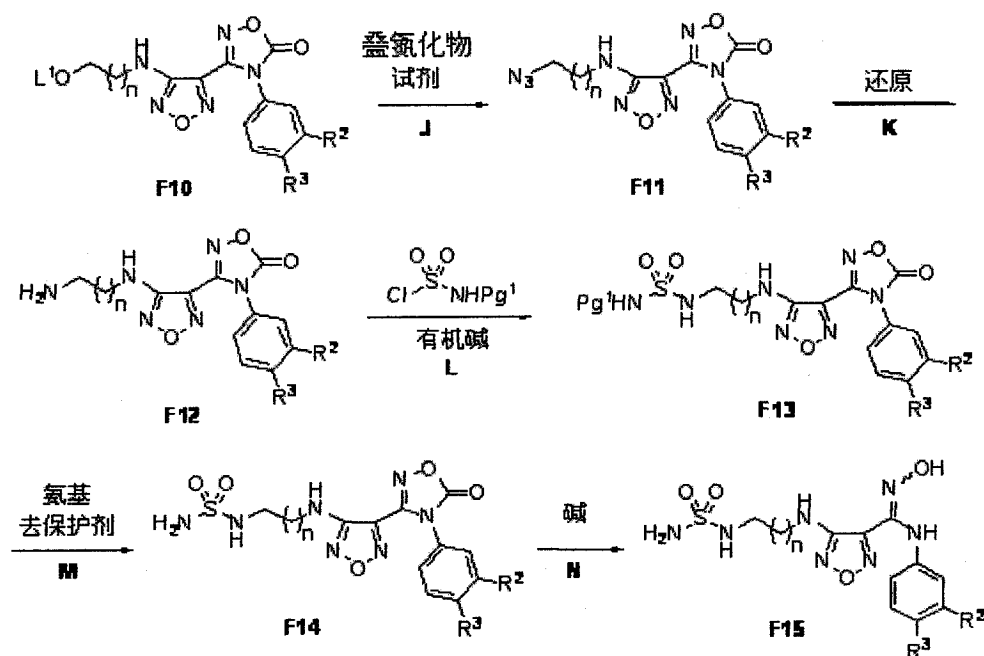
基叔丁基醚 (MTBE)、四氢呋喃 (THF)、二噁烷等)、酯类 (诸如醋酸乙酯、醋酸丁酯等)、卤化的溶剂 (诸如二氯甲烷 (DCM)、氯仿、二氯乙烷、四氯乙烷)、二甲基甲酰胺 (DMF)、二甲基亚砜 (DMSO)、丙酮、乙腈 (ACN)、六甲基磷酰胺 (HMPA) 和 N-甲基吡咯烷酮 (NMP)。这样的溶剂可以以它们的含水或无水形式使用。

[0070] 通过本领域已知的多种方法中的任一种,可以拆分化合物的外消旋混合物。一个实例方法包括分级重结晶,其中使用“手性拆分酸”,该酸是旋光的形成盐的有机酸。适用于分级重结晶方法的拆分剂是,例如:旋光酸,诸如 D 和 L 型酒石酸、二乙酰酒石酸、二苯甲酰酒石酸、扁桃酸、苹果酸、乳酸或不同的旋光的樟脑磺酸。通过在填充了旋光的拆分剂 (例如二硝基苯甲酰基苯基甘氨酸) 的柱上洗脱,也可拆分外消旋混合物。本领域技术人员可确定适宜的洗脱溶剂组合物。

[0071] 例如,使用下述反应途径和技术,可以制备本发明化合物。

[0072] 本发明的方法和中间体可用于制备 IDO 抑制剂。制备本发明的化合物 F15 的一般线路图如线路图 1 所示。

[0073]



线路图 1

[0074] 现在参考线路图 1,本发明提供了制备式 F15 化合物或其盐 (其中 R^2 是 Cl、Br、 CF_3 、 CH_3 或 CN; R^3 是 H 或 F; 且 n 是 1 或 2) 的方法,其中使式 F13 化合物或其盐 (其中 Pg^1 是氨基保护基) 与氨基去保护剂反应 (步骤 M) 以得到式 F14 化合物或其盐;并使式 F14 化合物与碱反应 (步骤 N) 以得到式 F15 化合物。通过使用溶剂 (诸如水、乙醇、MTBE 或其组合) 研磨或重结晶,可以纯化式 F15 化合物。

[0075] 在某些实施方案中, R^2 是 Br, R^3 是 F, 且 n 是 1。

[0076] 在某些实施方案中, R^2 是 Br, R^3 是 F, 且 n 是 2。

[0077] 在某些实施方案中, R^2 是 Cl, R^3 是 F, 且 n 是 1。

[0078] 在某些实施方案中, R^2 是 Cl, R^3 是 F, 且 n 是 2。

[0079] 在某些实施方案中, R^2 是 CF_3 , R^3 是 F, 且 n 是 1。

[0080] 在某些实施方案中, R^2 是 CF_3 , R^3 是 F, 且 n 是 2。

[0081] 在某些实施方案中, R^2 是 CF_3 , R^3 是 H, 且 n 是 1。

[0082] 在某些实施方案中, R^2 是 CF_3 , R^3 是 H, 且 n 是 2。

[0083] 在某些实施方案中, R^2 是 CN, R^3 是 F, 且 n 是 1。

[0084] 氨基保护基经常在有机合成中用于预防不希望的氨基反应, 同时进行希望的转化。氨基保护基允许容易地共价连接到氮原子上, 以及从氮原子选择性地裂解。本领域技术人员已知不同的氨基保护基, 概括地分类为烷氧基羰基 (诸如乙氧基羰基、叔丁氧基羰基 (Boc)、苄氧基羰基 (Cbz)、9-苄基甲氧基羰基 (Fmoc) 等)、酰基 (诸如乙酰基 (Ac)、苯甲酰基 (Bz) 等)、磺酰基 (诸如甲磺酰基、三氟甲磺酰基等)、芳烷基 (诸如苯甲基、二苯基甲基、三苯基甲基 (三苯甲基) 等)、链烯基烷基 (诸如烯丙基、异戊二烯基等)、二芳基亚甲基 (diarylmethyleneyl) (诸如 $(C_6H_5)_2C=N$ 等) 和甲硅烷基 (诸如叔丁基二甲基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基等)。氨基保护基的化学可以参见: Wuts 和 Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 第 4 版, 第 696-926 页, John Wiley & Sons: New York, 2006。在某些实施方案中, Pg^1 可以是烷氧基羰基 (诸如叔丁氧基羰基)。

[0085] 使用许多可得到的对上述不同基团特异性的氨基去保护剂, 可以方便地去除上述氨基保护基, 而不影响化合物的其它需要部分。叔丁氧基羰基可以从氮原子去除 (例如, 水解), 例如, 通过用酸 (诸如三氟乙酸、甲苯磺酸、盐酸等)、已知产生酸的试剂组合 (例如, 氯化乙酰和甲醇的混合物) 或路易斯酸 (例如, $BF_3 \cdot Et_2O$) 处理。苄氧基羰基可以从氮原子去除 (例如, 氢解 (hydrogenolyzed)), 例如, 通过用氢和催化剂 (诸如碳载钯) 处理。在某些实施方案中, 氨基去保护剂可以是三氟乙酸。在某些实施方案中, 氨基去保护剂含有三氟乙酸和 $> 0.5\%$ (按体积计算) 的水, 例如, $> 1.0\%$ (按体积计算) 的水、 $> 1.5\%$ (按体积计算) 的水、 $> 2.0\%$ (按体积计算) 的水、约 2% 至约 10% (按体积计算) 的水、约 10% 至约 20% (按体积计算) 的水或约 20% 至约 50% (按体积计算) 的水。在某些实施方案中, 氨基去保护剂可以是体积比为约 $98:2$ 的三氟乙酸和水的混合物。在某些实施方案中, 氨基去保护剂可以是盐酸, 其任选地在溶剂 (诸如水、THF 或二噁烷) 中。在这样的实施方案中, 盐酸可以以约 $4N$ 的浓度存在, 例如, 约 $1N$ 、约 $2N$ 、约 $3N$ 、约 $5N$ 、约 $6N$ 、约 $7N$ 、约 $8N$ 、约 $9N$ 或约 $10N$ 。在某些实施方案中, 去保护可以在醇 (诸如异丙醇) 中进行。在某些实施方案中, 步骤 M (线路图 1) 可以在约 $-10^\circ C$ 至约 $60^\circ C$ 的温度进行, 例如, 约 $-10^\circ C$ 至约 $0^\circ C$ 、约 $0^\circ C$ 至约 $25^\circ C$ 、约 $25^\circ C$ 至约 $45^\circ C$ 或约 $45^\circ C$ 至约 $60^\circ C$ 。

[0086] 碱可以用于转化 (例如, 水解) F14 中的 噁二唑酮环, 以显示 F15 中的氨基, 所述转化任选地在溶剂中 (步骤 N, 线路图 1)。氨基作为 噁二唑酮的保护, 可以用于预防羟基或氨基整体的不利反应。所述碱可以是: 有机碱, 诸如无环的胺 (例如, 三乙胺、二异丙基乙胺 (DIPEA) 等) 或环胺 (例如, 吡咯烷、哌啶等); 或无机碱, 诸如卤碱 (例如, NaOH、LiOH、KOH、 $Mg(OH)_2$ 等)。所述碱可以以树脂 (诸如 Amberlite® 等) 的形式得到。在一些其它的实施方案中, 所述碱可以以水溶液的形式提供, 诸如约 $2N$ 溶液 (例如, 约 $0.5N$ 溶液、约 $1N$ 溶液、约 $1.5N$ 溶液、约 $2.5N$ 溶液、从约 $3N$ 至约 $5N$ 溶液、从约 $5N$ 至约 $10N$ 溶液)。在某些实施方案中, 所述碱是碱金属氢氧化物 (例如, 氢氧化钠)。在某些实施方案中, 所述碱可以是 $2N$ NaOH 水溶液。在某些实施方案中, 所述溶剂可以是甲醇或四氢呋喃 (THF)。在某些实施方案中, 步骤 N (线路图 1) 可以在从约 $-10^\circ C$ 至约 $60^\circ C$ 的温度进行, 例如, 从约 $-10^\circ C$ 至约

0℃、从约 0℃至约 25℃、从约 25℃至约 45℃或从约 45℃至约 60℃。

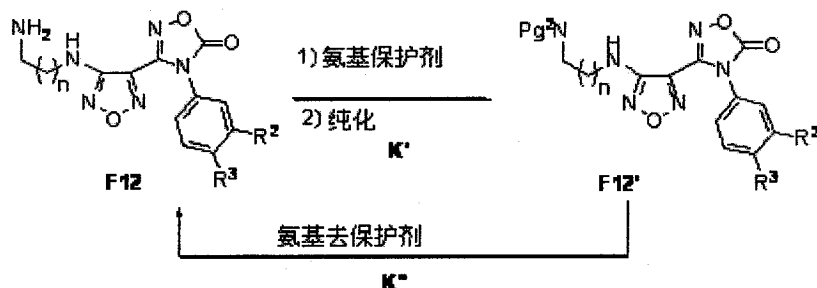
[0087] 在步骤 L(线路图 1)中,式 F13 化合物可以如下得到:通过用 $\text{Pg}^1\text{-NH-}$ 磺酰氯(任选地在溶剂中)处理式 F12 化合物或其盐,随后用有机碱处理得到的混合物以得到式 F13 化合物。该步骤 L(线路图 1)将伯胺 F12 转化成磺酰脲 F13,其中使用受保护的氨基-磺酰氯($\text{Pg}^1\text{-NH-SO}_2\text{Cl}$)。受保护的氨基-磺酰氯可以在制备后立即用于与 F12 的反应中。保护基可以选自本领域已知的用于保护胺或磺酰胺的任意保护基(同上)。在某些实施方案中, Pg^1 可以是烷氧基羰基(诸如叔丁氧基羰基)。在这样的实施方案中,通过使醇(例如,乙醇、叔丁醇等)与异氰酸氯代磺酰酯($\text{ClS(O)}_2\text{NCO}$)反应,可以得到烷氧基羰基 NH- 磺酰氯。适合用于该反应的溶剂包括、但不限于:卤化的溶剂诸如二氯甲烷等。有机碱可以是用于中和在诸如 F12 等伯胺和受保护的氨基-磺酰氯反应期间产生的 HCl 的任意碱。有机碱可以包括无环的叔胺诸如三(C_{1-6})烷基胺(例如,三乙胺、二异丙基乙胺(DIPEA)等)、环状叔胺(例如,N-甲基哌啶、1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷(DABCO)等)。在某些实施方案中,有机碱可以是三乙胺。在某些实施方案中,该步骤可以在从约 -10℃至约 60℃的温度进行,例如,从约 -10℃至约 0℃、从约 0℃至约 25℃、从约 25℃至约 45℃或从约 45℃至约 60℃。

[0088] 使用还原剂,可以将有机化合物还原成较低的氧化状态。还原通常包括添加氢原子或从基团去除氧原子。可以如下将诸如 F11 等有机叠氮化物还原成诸如 F12 等胺(步骤 K,线路图 1):通过添加氢,所述氢是以元素氢的形式,或使用氢化物试剂(诸如 NaBH_4 、 LiAlH_4 等);使用三苯基膦;或使用碘化钠、氯代三甲基硅烷和甲醇的组合。在某些实施方案中,通过还原式 F11 化合物或其盐,可以得到式 F12 化合物。在某些实施方案中,所述还原可以在有碘化钠、氯代三甲基硅烷和甲醇存在下进行。在某些实施方案中,碘化钠和氯代三甲基硅烷的摩尔比可以是约 1.0,例如,约 0.9、约 0.95、约 1.0、约 1.05 或约 1.1。在某些实施方案中,可以将氯代三甲基硅烷加入到 F11、碘化钠和甲醇的混合物(作为甲醇溶液)中。在某些实施方案中,步骤 K(线路图 1)可以在大约室温进行,例如,从约 10℃至约 50℃、从约 15℃至约 40℃、从约 20℃至约 30℃或从约 25℃至约 30℃。

[0089] 在有些情况下,氨基化合物 F12 可以证实挑战以得到基本上纯的形式,这通过 HPLC 或 NMR 波谱法等测得。不希望受到理论的约束,据信,这些胺中的一些可能难以通过硅胶色谱法进行纯化,这是由于增加的对硅胶的高亲和力或由于在纯化过程中不希望的降解。在这样的实施方案中,现在参考线路图 2,可以如下纯化式 F12 化合物:通过使式 F12 化合物与氨基保护剂反应得到式 F12' 化合物或其盐,其中 Pg^2N 是受保护的胺。该保护(步骤 K')可以继之以纯化式 F12' 化合物以得到纯化的式 F12' 化合物,并使纯化的式 F12' 化合物与氨基去保护剂(步骤 K'')反应以得到纯化的式 F12 化合物。氨基保护剂和氨基去保护剂是本领域技术人员已知的,诸如 Wuts 和 Greene(同上)中的那些。在某些实施方案中,氨基保护剂是二碳酸二叔丁酯(Boc_2O)。在这样的实施方案中, Pg^2N 是叔丁氧基羰基 -NH 。在这样的实施方案中,氨基去保护剂是能去除 Boc 保护基的试剂(同上)。在这样的实施方案中,氨基去保护剂是酸(例如,盐酸、三氟乙酸等),该酸任选地在溶剂(诸如水、THF 或二噁烷)中。在某些实施方案中,盐酸可以以约 4N 的浓度存在,例如,约 1N、约 2N、约 3N、约 5N、约 6N、约 7N、约 8N、约 9N 或约 10N。在某些实施方案中,去保护可以在醇(诸如异丙醇)中进行。在某些实施方案中,步骤 K' 或 K'' 可以在从约 -10℃至约 60℃的温度进行,例如,从约 -10℃至约 0℃、从约 0℃至约 25℃、从约 25℃至约 45℃或从约 45℃至约 60℃。适宜

的纯化方法是本领域技术人员已知的,且可以包括色谱法、结晶、升华等。在某些实施方案中,纯化可以通过硅胶上的色谱法进行。一般而言,通过物理方法,诸如测量熔点(在固体的情况下)、得到 NMR 波谱或进行 HPLC 分离,测定化合物的纯度。如果熔点降低,如果 NMR 波谱中不希望的信号减少,或如果 HPLC 踪迹中的外来峰被去除,则可以说化合物已经被纯化。在某些实施方案中,化合物是基本上纯化的。

[0090]



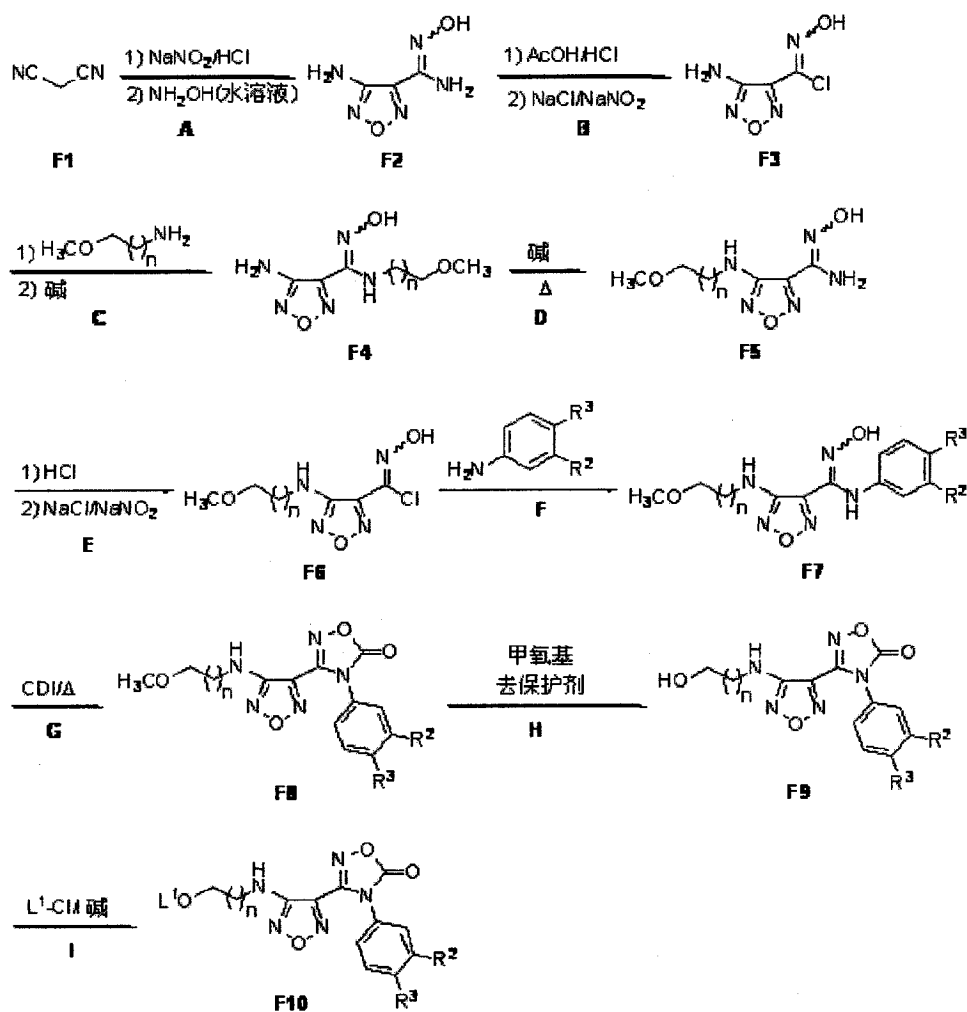
线路图 2

[0091] 在某些实施方案中,式 F11 化合物(线路图 1)可以如下得到:用叠氮化物试剂处理式 F10 化合物或其盐,其中 L^1 可以选自烷基磺酰基(诸如甲磺酰基)、卤代烷基磺酰基(诸如三氟甲磺酰基)、芳基磺酰基(诸如甲苯磺酰基)等,以得到式 F11 化合物(步骤 J)。在某些实施方案中, L^1 是烷基磺酰基。叠氮化物试剂包括能生成亲核的叠氮化物离子的任意试剂。叠氮化物试剂的实例包括碱金属叠氮化物(诸如叠氮化钠、叠氮化钾等)。在一些任选的实施方案中,诸如叠氮化钠等叠氮化物试剂可以与碘化钠组合使用。适用于该转化的溶剂是极性溶剂,包括 DMF、DMSO、NMP 等。在某些实施方案中,步骤 J 可以在 DMF 中进行。步骤 J 可以在高温进行,例如,从约 40℃ 至约 100℃、从约 50℃ 至约 90℃ 或从约 60℃ 至约 80℃。在某些实施方案中,步骤 J 可以在约 50℃ 进行。在某些实施方案中,步骤 J 可以在约 85℃ 进行。

[0092] 式 F10 化合物或其盐可以按照线路图 3 所示的步骤次序得到。中间体 4-氨基-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺 F2 的制备,已经描述在 J. Heterocycl. Chem. (1965), 2, 253, 它通过引用整体并入本文,且它向氯脒 F3 的转化已经描述在 Synth. Commun. (1988), 18, 1427, 它通过引用整体并入本文。可以将胺(诸如伯胺或仲胺,包括含有受保护的官能团的胺,例如,乙胺、2-甲氧基乙胺或二甲胺)偶联到氯脒 F3 上,所述偶联任选地在溶剂(诸如醋酸乙酯)中进行,随后加入有机碱(诸如三乙胺或 DIPEA,以淬灭在反应中产生的 HCl),以得到氨脒化合物 F4。可以如下实现重排诸如 F4 等化合物,将在环碳上的氨基与在脒碳上的氨基换位以得到化合物 F5:通过用碱(诸如 KOH、NaOH、LiOH、 $Mg(OH)_2$ 、 $Al(OH)_3$ 等)处理 F4,所述处理任选地在溶剂(诸如水、乙醇、乙二醇等)中进行,并在高温(例如,约 70℃、约 80℃、约 90℃、约 100℃、约 110℃、约 120℃、约 130℃、约 140℃、约 150℃、约 160℃、约 170℃、约 180℃、约 190℃ 或约 200℃)回流反应混合物。通过把 F5 加入到含有盐酸的含水酸性混合物(任选地包括醋酸)中,可以再次活化氨脒 F5 成为氯脒 F6。在该 F5 向 F6 转化的过程中,可以将 F5 的酸性混合物加热到约 45℃(诸如约 30℃、约 40℃、约 50℃ 或约 60℃)的温度,以实现溶解。可以将氯化钠加入该溶液,然后用亚硝酸盐试剂处理,所述亚硝酸盐试剂可以任选地作为水溶液提供,其温度低于约 0℃,诸

如低于约 -10°C 、低于约 -5°C 、低于约 5°C 或低于约 10°C 。亚硝酸盐试剂是能提供亚硝酸盐阴离子的试剂。亚硝酸盐试剂包括碱金属亚硝酸盐（例如，亚硝酸钠，亚硝酸钾等）和包括有机阳离子的有机亚硝酸盐（例如，四乙铵亚硝酸盐）。在某些实施方案中，醋酸乙酯、THF 或二噁烷可以用作共溶剂。可以将氯脒 F6 与诸如苯胺等芳族胺偶联，所述偶联任选地在极性溶剂（诸如甲醇、水、乙醇等）中、在高温（诸如约 50°C 、约 60°C 、约 70°C 、约 80°C 、约 90°C 、约 100°C 、约 110°C 或约 120°C ）、任选地在有无机碱（诸如 KHCO_3 、 NaHCO_3 ）存在下进行以得到芳基氨脒 F7。在某些实施方案中，所述无机碱可以以水溶液的形式提供。在某些实施方案中，所述无机碱可以加入到在高温的反应混合物中。然后可以使用在高温（诸如约 50°C 、约 60°C 、约 70°C 、约 80°C 、约 90°C 或约 100°C ）的溶剂（诸如醋酸乙酯、二噁烷、THF 等）中的 1,1'-羰基二咪唑 (CDI)，将 F7 的氨脒官能团保护为噁二唑酮。然后可以使用本领域技术人员已知的甲氧基去保护剂，诸如在 Wuts 和 Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 第 4 版, 第 24-30 页, John Wiley & Sons: New York, 2006 中的那些, 将 F8 的甲氧基转化成 F9 的羟基。例如, 通过将三溴化硼加入到冷的（诸如从约 -78°C 至约 25°C , 例如, 从约 -78°C 至约 10°C 、从约 -78°C 至约 0°C 、从约 -78°C 至约 -10°C 、从约 0°C 至约 25°C 或从约 0°C 至约 10°C ）F8 溶液中, 所述 F8 溶液任选地在诸如卤化的溶剂（例如, DCM、氯仿等）或醋酸乙酯等溶剂中。随后, 通过依次用 L^1Cl （任选地在溶剂（诸如醋酸乙酯或 DCM）中）和有机碱（诸如三乙胺或 DIPEA, 用于消除产生的 HCl ）处理, 可以将 F9 中的伯羟基活化为离去基团 $\text{L}^1\text{O}-$ （参见 F10）。例如, L^1 可以选自：烷基磺酰基（例如, 甲磺酰基）、卤代烷基磺酰基（例如, 三氟甲磺酰基）、芳基磺酰基（例如, 甲苯磺酰基）等。然后可以用用于置换（诸如通过 $\text{S}_{\text{N}}2$ 机制）离去基团 L^1O 的任意亲核试剂处理化合物 F10。

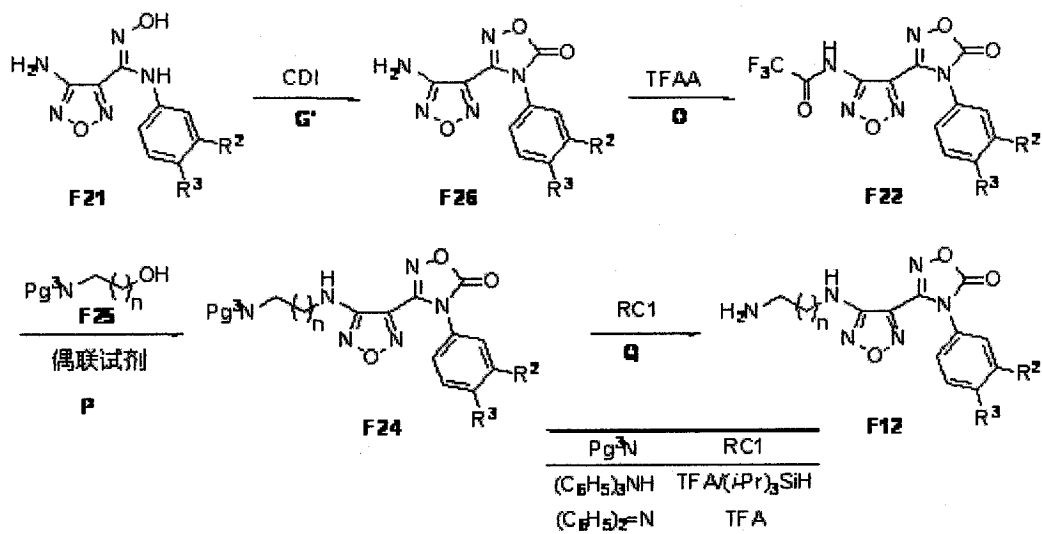
[0093]



线路图 3

[0094] 或者,通过线路图 4 所示的步骤次序,可以得到式 F12 化合物。

[0095]



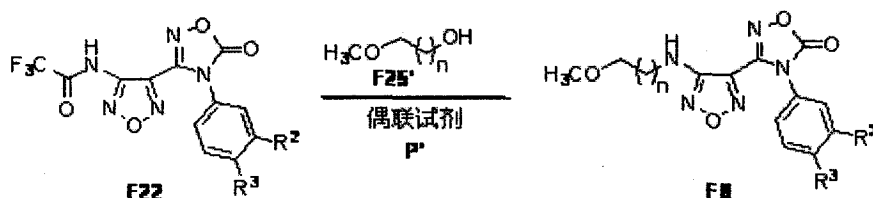
线路图 4

[0096] 现在参考线路图 4,在某些实施方案中,式 F12 化合物可以如下得到:通过使式 F24 化合物或其盐(其中 Pg^3N 是受保护的胺(例如, $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C-NH}$ 、 $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C}=\text{N}$ 等))与氨基去保护剂反应以得到式 F12 化合物。通过本领域技术人员已知的特定胺保护基的去保护方法,诸如在 Wuts 和 Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 第 4 版,第 696-926 页, John Wiley & Sons: New York, 2006 中的那些,可以实现处理化合物 F24 以用 NH_2 替换 Pg^3N (步骤 Q)。在某些实施方案中,当 Pg^3N 是 $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C}=\text{N}$ 时,去保护剂可以是:酸,诸如有机酸(例如,三氟乙酸、甲磺酸等)或无机酸(例如,盐酸);氢和钯;或酸性羟胺(NH_2OH)。在某些实施方案中,当 Pg^3N 是 $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C-NH}$ 时,去保护剂可以包括有机酸(诸如三氟乙酸、甲磺酸等)和任选的有机硅烷;氢和钯;或在液氨中的钠。有机硅烷是这样的化合物,其含有至少一个 Si-H 键,且连接到硅上的剩余基团是烷基、芳基或其组合。有机硅烷的实例包括三烷基硅烷(例如,三(异丙基)硅烷)、三芳基硅烷(例如,三苯基硅烷)或二苯基甲基硅烷。步骤 Q 可以在从约 -10°C 至约 60°C 的温度进行,例如,从约 -10°C 至约 0°C 、从约 0°C 至约 25°C 、从约 25°C 至约 45°C 或从约 45°C 至约 60°C 。

[0097] 通过在有偶联试剂存在下醇类 F25 与受保护的伯胺 F22 的 Mitsunobu 反应,可以制备化合物 F24,即受保护的仲胺(步骤 P)。所述偶联试剂可以是诸如三芳基膦(例如,三苯基膦)或三烷基膦(例如,三丁基膦)等叔膦和偶氮二甲酸二烷基酯的组合。偶氮二甲酸二烷基酯具有一般结构: $\text{ROOC-N}=\text{N-COOR}$, 其中 R 可以是烷基(例如,偶氮二甲酸二异丙基酯、偶氮二甲酸二乙基酯或偶氮二甲酸二对氯苯甲酯)。不希望受到理论的约束,据信,用三氟乙酰基部分保护胺(诸如在 F22 中)会阻止副作用,并提高仲胺 F24 的产率。在有偶联试剂存在下,可以活化诸如 F25 等醇类的羟基。胺亲核试剂可以置换活化的羟基,形成仲胺。Mitsunobu 反应可以在溶剂中进行,所述溶剂诸如:醚,例如 THF、二噁烷、二烷基醚等;卤化的溶剂,例如二氯甲烷、氯仿等;非极性溶剂,例如苯、甲苯等;极性-非质子溶剂,例如 DMF、HMPA 等。在某些实施方案中,式 F24 化合物可以如下得到:通过用式 F25 化合物或其盐和偶联试剂处理式 F22 化合物或其盐以得到式 F24 化合物。在某些实施方案中,该步骤可以在从约 -10°C 至约 60°C 的温度进行,例如,从约 -10°C 至约 0°C 、从约 0°C 至约 25°C 、从约 25°C 至约 45°C 或从约 45°C 至约 60°C 。

[0098] 通过 2 步方法(步骤 G' 和 O),可以从化合物 F21 制备化合物 F22。可以用 1,1'-羰基二咪唑(CDI)处理化合物 F21,所述处理任选地在溶剂(诸如醋酸乙酯或 THF)中在高温(诸如约 50°C , 例如,约 60°C 、约 65°C 、约 70°C 、约 80°C 或约 90°C)进行,以将化合物 F21 中的氨基转化成在化合物 F26 中存在的咪唑酮。又可以在有机碱(诸如吡啶、三乙胺、DIPEA 等)存在下用三氟乙酸酐处理这些化合物 F26,所述处理任选地在溶剂(诸如 DCM、THF、二噁烷或醋酸乙酯)中进行以得到化合物 F22。在某些实施方案中,式 F22 化合物可以如下得到:通过用羰基二咪唑(CDI)处理式 F21 化合物或其盐以得到式 F26 化合物或其盐,并用三氟乙酸酐处理式 F26 化合物以得到式 F22 化合物。

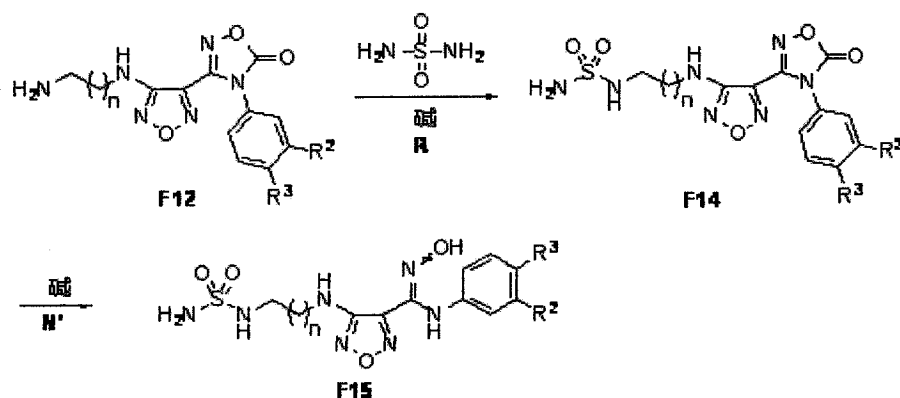
[0099]



线路图 5

[0100] 现在参考线路图 5(步骤 P'), 且基于上面对 Mitsunobu 反应的描述, 本发明的另一个方面提供了制备式 F8 化合物或其盐(其中, R^2 , R^3 和 n 如本文定义)的方法, 该方法包括, 使式 F22 化合物或其盐和式 F25' 化合物或其盐与偶联试剂反应, 该反应任选地在溶剂(诸如 THF、二烷基醚或二氯甲烷)中进行以得到式 F8 化合物。在某些实施方案中, 该步骤可以在从约 -10°C 至约 60°C 的温度进行, 例如, 从约 -10°C 至约 0°C 、从约 0°C 至约 25°C 、从约 25°C 至约 45°C 或从约 45°C 至约 60°C 。

[0101]



线路图 6

[0102] 线路图 6 描绘了将磺酰胺基团引入氨基化合物 F12 中的替代途径。在有诸如有机碱等碱存在下用磺酰胺处理 F12(步骤 R), 可以产生诸如 F14 等磺酰脲, 所述有机碱可以是杂环碱(例如, 吡啶)或三烷基胺(例如, 三乙胺、DIPEA 等), 它们各自可以任选地用作该转化的溶剂。该反应可以在高温下进行, 诸如约 130°C , 例如, 约 100°C 、约 110°C 、约 120°C 、约 130°C 或约 140°C 。使用微波辐射, 可以有利地施加这种加热。微波辐射可以在运行在单模方式的商业微波炉(例如, Initiator 3, 购自 Biotage)中进行。可以在有碱存在下将含有 1,3,4-噁二唑酮环的化合物 F14 去保护(例如, 水解)成希望的氨脒 F15(步骤 N')。所述碱可以是: 有机碱, 诸如无环的胺(例如, 三乙胺、二异丙基乙胺(DIPEA)等)或环胺(例如, 吡咯烷、哌啶等); 或无机碱, 诸如卤碱(例如, NaOH、LiOH、KOH、 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 等)。所述碱可以以树脂(诸如 Amberlite® 等)的形式得到。在一些其它的实施方案中, 所述碱可以以水溶液的形式提供, 诸如约 2N 溶液(例如, 约 0.5N 溶液、约 1N 溶液、约 1.5N 溶液、约 2.5N 溶液、从约 3N 至约 5N 溶液、从约 5N 至约 10N 溶液)。在某些实施方案中, 所述碱可以是碱金属氢氧化物(例如, 氢氧化钠)。在某些实施方案中, 所述碱可以是 2N NaOH 水溶液。在某些实施方案中, 所述溶剂可以是甲醇或四氢呋喃(THF)。在某些实施方案中, 去保护可以在从约 -10°C 至约 60°C 的温度进行, 例如, 从约 -10°C 至约 0°C 、从约 0°C 至约 25°C 、从约 25°C 至约 45°C 或从约 45°C 至约 60°C 。因此, 本发明的该方面提供了制备式 F15 化合物或其盐

(其中 R^2 、 R^3 和 n 如本文所定义) 的方法, 该方法包括, 使式 F12 化合物或其盐与磺酰胺和有机碱反应以得到式 F14 化合物 或其盐, 并使式 F14 化合物或其盐与碱反应以得到式 F15 化合物。

[0103] 本发明另外提供了式 F9、F12 和 F14 的化合物或其盐, 其中 R^2 是 Cl、Br、 CF_3 、 CH_3 或 CN; R^3 是 H 或 F; 且 n 是 1 或 2。

[0104] 在某些实施方案中, R^2 是 Br, R^3 是 F, 且 n 是 1。

[0105] 在某些实施方案中, R^2 是 Br, R^3 是 F, 且 n 是 2。

[0106] 在某些实施方案中, R^2 是 Cl, R^3 是 F, 且 n 是 1。

[0107] 在某些实施方案中, R^2 是 Cl, R^3 是 F, 且 n 是 2。

[0108] 在某些实施方案中, R^2 是 CF_3 , R^3 是 F, 且 n 是 1。

[0109] 在某些实施方案中, R^2 是 CF_3 , R^3 是 F, 且 n 是 2。

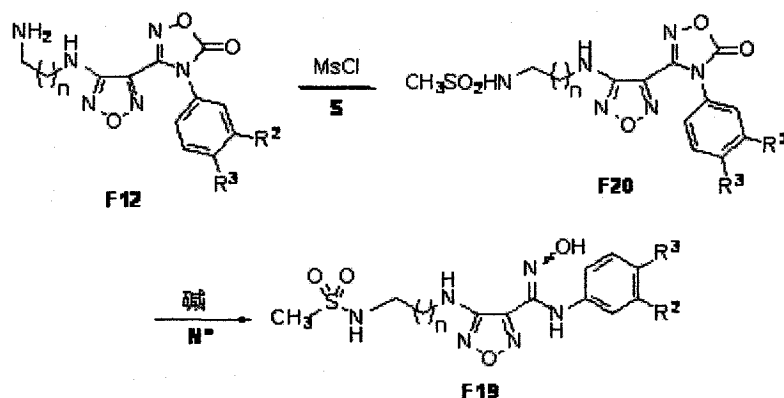
[0110] 在某些实施方案中, R^2 是 CF_3 , R^3 是 H, 且 n 是 1。

[0111] 在某些实施方案中, R^2 是 CF_3 , R^3 是 H, 且 n 是 2。

[0112] 在某些实施方案中, R^2 是 CH_3 , R^3 是 F, 且 n 是 1。

[0113] 在某些实施方案中, R^2 是 CN, R^3 是 F, 且 n 是 1。

[0114]

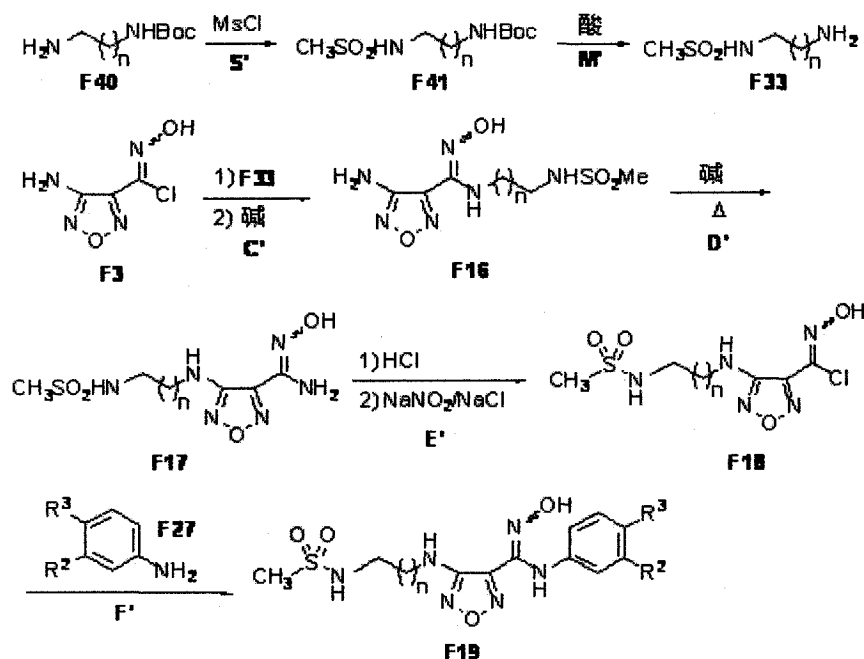


线路图 7

[0115] 现在参考线路图 7, 通过甲磺酰氯处理 (步骤 S), 可以从伯氨基化合物 F12 得到化合物 F19, 所述处理任选地在诸如醋酸乙酯、卤化的溶剂 (例如, 二氯甲烷、氯仿等) 或含醚溶剂 (THF、二乙醚、二噁烷等) 等溶剂中, 在有诸如三 (C_{1-6}) 烷基胺 (例如, 三乙胺、DIPEA 等) 或吡啶等有机碱 (以消除产生的 HCl) 存在下, 以得到磺酰胺 F20。甲磺酰基可以用其它烷基磺酰基 (例如, 乙基磺酰基)、卤代烷基磺酰基 (例如, 三氟甲磺酰基)、芳基磺酰基 (例如, 甲苯磺酰基) 等代替, 无需改变操作。在某些实施方案中, 该步骤可以在从约 $-10^{\circ}C$ 至约 $60^{\circ}C$ 的温度进行, 例如, 从约 $-10^{\circ}C$ 至约 $0^{\circ}C$ 、从约 $0^{\circ}C$ 至约 $25^{\circ}C$ 、从约 $25^{\circ}C$ 至约 $45^{\circ}C$ 或从约 $45^{\circ}C$ 至约 $60^{\circ}C$ 。可以在有碱存在下将含有 1,2,4-噁二唑酮环的磺酰胺化合物 F20 去保护 (例如, 水解) 成希望的氨肟 F19 (步骤 N'')。所述碱可以是: 有机碱, 诸如无环的胺 (例如, 三乙胺、二异丙基乙胺 (DIPEA) 等) 或环胺 (例如, 吡咯烷、哌啶等); 或无机碱, 诸如碱金属氢氧化物或碱土金属氢氧化物 (例如, NaOH、LiOH、KOH、 $Mg(OH)_2$ 等)。所述碱可以以树脂 (诸如 Amberlite® 等) 的形式得到。在一些其它的实施方案中, 所述碱可以以水溶液的形式提供, 诸如约 2N 溶液 (例如, 约 0.5N 溶液、约 1N 溶液、约 1.5N 溶液、约 2.5N 溶液、从

约 3N 至约 5N 溶液、从约 5N 至约 10N 溶液)。在某些实施方案中,所述碱是碱金属氢氧化物(例如,氢氧化钠)。在某些实施方案中,所述碱可以是 2N NaOH 水溶液。在某些实施方案中,所述溶剂可以是甲醇或四氢呋喃(THF)。在某些实施方案中,去保护可以在从约 -10℃ 至约 60℃ 的温度进行,例如,从约 -10℃ 至约 0℃、从约 0℃ 至约 25℃、从约 25℃ 至约 45℃ 或从约 45℃ 至约 60℃。因此,本发明的另一个方面提供了制备式 F19 化合物或其盐(其中 R²、R³ 和 n 如本文所定义)的方法,该方法包括,在有有机碱存在下,使式 F12 化合物或其盐与甲磺酰氯反应以得到式 F20 化合物或其盐,并使式 F20 化合物与碱反应以得到式 F19 化合物。在某些实施方案中,所述碱可以是碱金属氢氧化物,诸如氢氧化钠(例如,2N NaOH)。

[0116]



线路图 8

[0117] 芳基或烷基磺酰胺(例如,甲磺酰胺 F19)可以通过线路图 8 所示的步骤次序得到。可以用诸如芳基磺酰氯或烷基磺酰氯(例如,甲磺酰氯)等磺酰氯处理单-保护的 1, n-二胺,诸如 F40(例如,可商业得到的 N-(氨基烷基)(叔丁氧基)甲酰胺),所述处理任选地在诸如醋酸乙酯、卤化的溶剂(例如,二氯甲烷、氯仿等)或含醚溶剂(THF、二乙醚、二噁烷等)等溶剂中,在有诸如三乙胺、吡啶、DIPEA 等有机碱(以消除产生的 HCl)存在下进行,以得到磺酰胺 F41(步骤 S')。在单-保护的 1, n-二胺 F40 上的保护基可以选自不同的氨基保护基,且可以适当地选择合适的去保护条件(同上)以得到胺 F33(步骤 M')。在某些实施方案中,保护基可以是烷氧基羰基(诸如叔丁氧基羰基, Boc)。在这样的实施方案中,氨基去保护剂可以是酸,例如盐酸或三氟乙酸,其任选地在溶剂(诸如二噁烷)中。

[0118] 氯脒 F3 的制备已经描述在 Synth. Commun. (1988), 18, 1427, 它通过引用整体并入本文。可以将胺(诸如伯胺或仲胺,包括含有受保护的官能团的胺,例如,乙胺、2-甲氧基乙胺、二甲胺或 F33)偶联到氯脒 F3 上,所述偶联任选地在溶剂(诸如醋酸乙酯或乙醇)中进行,随后加入有机碱(诸如三乙胺或 DIPEA,以淬灭在反应中产生的 HCl)以得到氨基化合物 F16(步骤 C')。在某些实施方案中,该步骤可以在从约 -10℃ 至约 60℃ 的温度进行,例如,从约 -10℃ 至约 0℃、从约 0℃ 至约 25℃、从约 25℃ 至约 45℃ 或从约 45℃ 至约 60℃。可

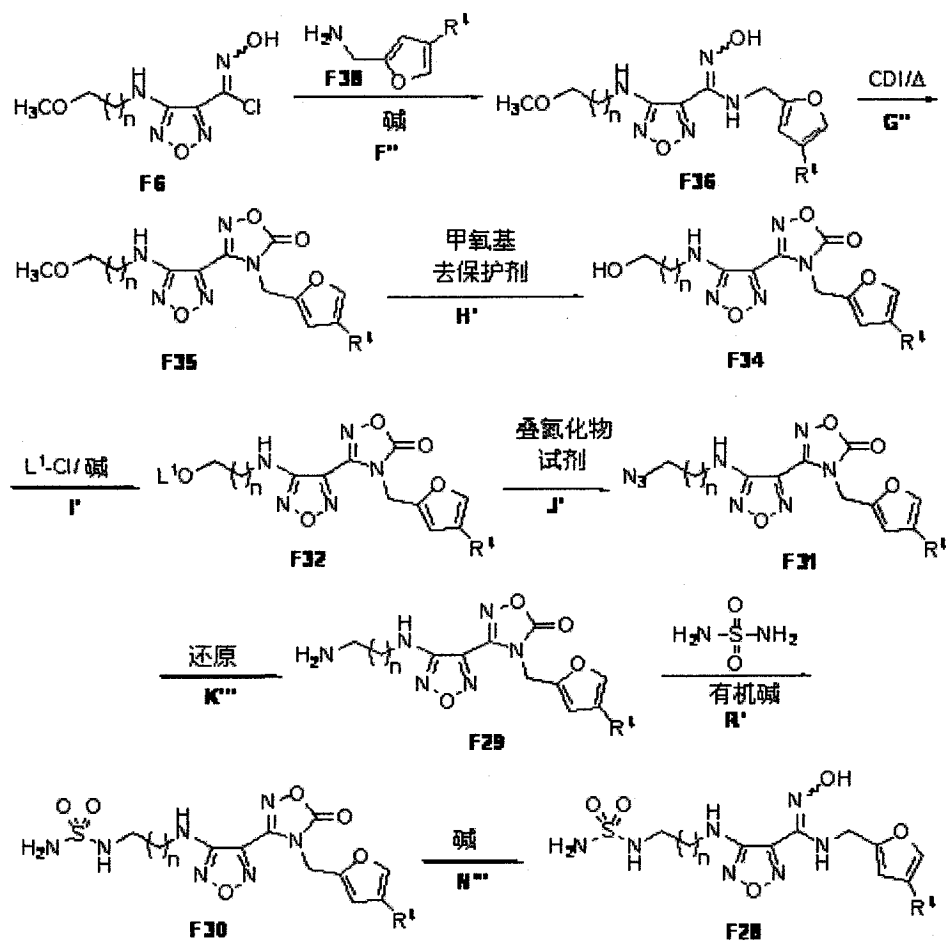
以如下实现重排诸如 F16 等化合物,将在环碳上的氨基与在肟碳上的氨基换位,以得到诸如 F17(步骤 D') 等化合物:通过用碱(诸如 KOH、NaOH、LiOH、 $Mg(OH)_2$ 、 $Al(OH)_3$ 等)处理 F16,所述处理任选地在溶剂(诸如水、乙醇、乙二醇等)中进行,并在高温(例如,约 70℃、约 80℃、约 90℃、约 100℃、约 110℃、约 120℃、约 130℃、约 140℃、约 150℃、约 160℃、约 170℃、约 180℃、约 190℃或约 200℃)回流反应混合物。通过把 F17 加入到含有盐酸的含水酸性混合物(任选地包括醋酸)中,可以再次活化氨基 F17,成为氯肟 F18(步骤 E')。在该 F17 向 F18 转化的过程中,可以将 F17 的酸性混合物加热到约 45℃(诸如约 30℃、约 40℃、约 50℃或约 60℃)的温度,以实现溶解。可以将氯化钠加入该溶液,然后用亚硝酸盐试剂处理,所述亚硝酸盐试剂可以任选地作为水溶液提供,其温度低于约 0℃,诸如低于约 -10℃、低于约 -5℃、低于约 5℃或低于约 10℃。亚硝酸盐试剂是能提供亚硝酸盐阴离子的试剂。亚硝酸盐试剂包括碱金属亚硝酸盐(例如,亚硝酸钠,亚硝酸钾等)和包括有机阳离子的有机亚硝酸盐(例如,四乙铵亚硝酸盐)。在某些实施方案中,醋酸乙酯、THF 或二噁烷可以用作共溶剂。用诸如苯胺 F27 等芳族胺置换 F18 中的氯化物,所述置换任选地在极性溶剂(诸如甲醇、水、乙醇等)中在室温进行,可以得到甲磺酰胺 F19(步骤 F')。在某些实施方案中,可以采用诸如约 10℃、约 20℃、约 30℃、约 40℃或约 50℃等温度。该反应可以任选地在有无机碱(诸如 $KHCO_3$ 、 $NaHCO_3$) 存在下进行,所述无机碱可以以水溶液的形式提供。

[0119] 因此,在本发明的另一个方面,提供了制备式 F19 化合物或其盐(其中 R^2 、 R^3 和 n 如本文所定义)的方法,该方法包括,使式 F17 化合物或其盐与盐酸反应,所述反应任选地在溶剂(诸如二噁烷)中进行,随后用亚硝酸盐试剂(例如,亚硝酸钠)处理,所述亚硝酸盐试剂任选地是水溶液的形式,以得到式 F18 化合物或其盐,并使式 F18 化合物与式 F27 化合物或其盐反应以得到式 F19 化合物。

[0120] 在某些实施方案中,式 F17 化合物可以如下得到:通过用碱(诸如氢氧化钾)处理式 F16 化合物或其盐,所述处理在溶剂(诸如乙二醇)中在足以回流溶剂的温度(诸如 130℃)进行,以得到式 F17 化合物。

[0121] 本发明另外提供了式 F18 化合物或其盐,其中 n 是 1 或 2。在某些实施方案中, n 是 1。在某些实施方案中, n 是 2。

[0122]



线路图 9

[0123] 如线路图 9 所述可以得到化合物 F28。可以使氯脒 F6 (同上, 线路图 1) 与杂环胺 (诸如式 F38 化合物) 偶联, 所述偶联任选地在极性溶剂 (诸如甲醇、水、乙醇等) 中、在有碱存在下进行, 所述碱诸如无机碱或有机碱 (例如, Et₃N、吡啶或 DIPEA), 以得到芳基氨脒 F36 (步骤 F'')。在某些实施方案中, F6 向 F36 的转化可以在诸如约 10℃、约 20℃、约 30℃、约 40℃、约 50℃、约 60℃ 或约 90℃ 的温度进行。在某些实施方案中, 所述无机碱可以以水溶液的形式提供。在某些实施方案中, 可以将无机碱加入到高温反应混合物中。然后可以使用在高温 (诸如约 50℃、约 60℃、约 70℃、约 80℃、约 90℃ 或约 100℃) 的溶剂 (诸如醋酸乙酯、二噁烷、THF 等) 中的 1,1'-羰基二咪唑 (CDI), 将 F36 的氨脒官能团保护为咪唑酮 (步骤 G'')。然后通过本领域技术人员已知的甲氧基去保护方法, 诸如在 Wuts 和 Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 第 4 版, 第 24-30 页, John Wiley & Sons: New York, 2006 中的那些, 将 F35 的甲氧基转化成 F34 中的羟基 (步骤 H')。例如, 通过将三溴化硼加入冷的 (诸如从约 -78℃ 至约 25℃, 例如, 从约 -78℃ 至约 10℃、从约 -78℃ 至约 0℃、从约 -78℃ 至约 -10℃、从约 0℃ 至约 25℃ 或从约 0℃ 至约 10℃) F35 溶液中, 任选地在诸如卤化的溶剂 (例如, DCM、氯仿等) 或醋酸乙酯等溶剂中。随后, 通过依次用 L¹Cl (任选地在溶剂 (诸如醋酸乙酯或 DCM) 中) 和有机碱 (诸如三乙胺或 DIPEA, 用于消除产生的 HCl) 处理, 可以将 F34 中的伯醇羟基活化为离去基团 L¹O- (参见步骤 I', F32)。在化合物 F32 中, L¹ 可以选自烷基磺酰基 (例如, 甲磺酰基)、卤代烷基磺酰基 (例

如,三氟甲磺酰基)、芳基磺酰基(例如,甲苯磺酰基)等。然后可以用任意的亲核试剂处理化合物 F32,从而用 S_N2 置换离去基团 L^1O 。在某些实施方案中,该步骤可以在从约 -10°C 至约 60°C 的温度进行,例如,从约 -10°C 至约 0°C 、从约 0°C 至约 25°C 、从约 25°C 至约 45°C 或从约 45°C 至约 60°C 。

[0124] 当亲核试剂是叠氮化物离子时,F32 提供 F31(步骤 J')。叠氮化物试剂包括能生成亲核的叠氮化物离子的任意试剂。叠氮化物试剂的实例包括碱金属叠氮化物(诸如叠氮化钠、叠氮化钾等)。在一些任选的实施方案中,诸如叠氮化钠等叠氮化物试剂可以与碘化钠组合使用。适用于该转化的溶剂是极性溶剂,包括 DMF、DMSO、NMP 等。在某些实施方案中,该步骤可以在 DMF 中进行。在某些实施方案中,该步骤可以在高温进行,例如,从约 40°C 至约 100°C 、从约 50°C 至约 90°C 或从约 60°C 至约 80°C 。在某些实施方案中,该步骤可以在 50°C 进行。在某些实施方案中,该步骤可以在 85°C 进行。可以如下将诸如 F31 等有机叠氮化物还原成诸如 F29 等有机胺:通过添加氢,所述氢是以元素氢的形式;使用氢化物试剂(诸如 NaBH_4 、 LiAlH_4 等);使用三苯基膦;或使用碘化钠、氯代三甲基硅烷和甲醇的组合(步骤 K'')。在某些实施方案中,所述还原可以在有碘化钠、氯代三甲基硅烷和甲醇存在下进行。在某些实施方案中,所述还原可以在大约室温进行,例如,从约 10°C 至约 50°C 、从约 15°C 至约 40°C 、从约 20°C 至约 30°C 或从约 25°C 至约 30°C 。在某些实施方案中,碘化钠和氯代三甲基硅烷的摩尔比可以是约 1.0,例如,约 0.9、约 0.95、约 1.0、约 1.05 或约 1.1。在某些实施方案中,可以将氯代三甲基硅烷加入到 F31、碘化钠和甲醇的混合物(作为甲醇溶液)中。

[0125] 在有诸如有机碱等碱存在下用磺酰胺处理 F29,可以产生诸如 F30 等磺酰脲(步骤 R'),所述有机碱可以是杂环碱(例如,吡啶)或三烷基胺(例如,三乙胺、DIPEA 等),它们各自可以任选地用作该转化的溶剂。该反应可以在高温下进行,诸如约 130°C ,例如,约 100°C 、约 110°C 、约 120°C 、约 130°C 或约 140°C 。使用微波辐射可以有利地施加这种加热。微波辐射可以在运行在单模方式的商业微波炉(例如,Initiator 3,购自 Biotage)中进行。可以在有碱存在下将含有 噁二唑酮环的化合物 F30 去保护(例如,水解)成希望的氨基 F28(步骤 N'')。所述碱可以是:有机碱,诸如无环的胺(例如,三乙胺、二异丙基乙胺(DIPEA)等)或环胺(例如,吡咯烷、哌啶等);或无机碱,诸如卤碱(例如, NaOH 、 LiOH 、 KOH 、 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 等)。所述碱可以以树脂(诸如 Amberlite®等)的形式得到。在一些其它的实施方案中,所述碱可以以水溶液(含水碱)的形式提供,诸如约 2N 溶液(例如,约 0.5N 溶液、约 1N 溶液、约 1.5N 溶液、约 2.5N 溶液、从约 3N 至约 5N 溶液、从约 5N 至约 10N 溶液)。在某些实施方案中,所述碱可以是碱金属氢氧化物(例如,氢氧化钠)。在某些实施方案中,所述碱可以是 2N NaOH 水溶液。在某些实施方案中,所述溶剂可以是甲醇或四氢呋喃(THF)。在某些实施方案中,去保护可以在从约 -10°C 至约 60°C 的温度进行,例如,从约 -10°C 至约 0°C 、从约 0°C 至约 25°C 、从约 25°C 至约 45°C 或从约 45°C 至约 60°C 。

[0126] 因此,本发明的另一个方面提供了制备式 F28 化合物或其盐(其中 R^4 是 F、Cl、Br 或 I;且 n 是 1 或 2)的方法,该方法包括,使式 F29 化合物或其盐与磺酰胺和有机碱反应以得到式 F30 化合物或其盐,并使式 F30 化合物与碱反应以得到式 F28 化合物。

[0127] 在某些实施方案中, R^4 是 Cl,且 n 是 1。

[0128] 在某些实施方案中, R^4 是 Br,且 n 是 1。

[0129] 在某些实施方案中,使式 F29 化合物反应另外包括加热反应物(诸如使用微波辐

射)。

[0130] 在另一个方面,本发明提供了通过还原式 F31 化合物或其盐得到式 F29 化合物的方法。在某些实施方案中,所述还原可以用碘化钠、氯代三甲基硅烷和甲醇的组合来实现。

[0131] 在本发明的另一个方面,式 F31 化合物可以如下得到:通过用叠氮化物试剂处理式 F32 化合物或其盐(其中 L^1 选自烷基磺酰基、卤代烷基磺酰基和芳基磺酰基)以得到式 F31 化合物。

[0132] 当单独地或与其它部分术语一起使用时,本文使用的术语“烷基”表示直链的或分支的、饱和的烃基,所述烃基具有 1-6 个碳原子、1-4 个碳原子或 1-3 个碳原子。实例烷基包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基等。

[0133] 本文使用的“链烯基”表示具有一个或多个碳-碳双键的烷基。实例链烯基包括乙烯基、丙烯基等。

[0134] 本文使用的术语“芳基”表示具有 6-14 个碳原子的单环或多环芳族烃基。实例芳基包括苯基、萘基、蒽基、菲基、茚满基、茚基等。

[0135] 当单独地或与其它部分一起使用时,本文使用的术语“卤代烷基”表示被一个或多个卤素原子取代的烷基,所述卤素原子独立地选自 F、Cl、Br 和 I。实例卤代烷基包括 CF_3 、 CHF_2 、 CH_2CF_3 等。

[0136] 本文使用的术语“烷氧基”表示 -O- 烷基。实例烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基(例如,正丙氧基和异丙氧基)、叔丁氧基等。

[0137] 本文使用的“烷基胺”表示被烷基取代的氨基(NH_2)。实例烷基胺基团包括甲胺、己胺等。

[0138] 本文使用的“三烷基胺”表示被 3 个烷基取代的氮原子。实例三烷基胺基团包括三甲胺、三乙胺等。

[0139] 本文使用的术语“烷氧基羰基”表示被烷氧基取代的 $CO:-C(O)-O-$ 烷基。实例烷氧基羰基包括乙氧基羰基、叔丁氧基羰基(Boc)、苄氧基羰基(Cbz)、9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)等。

[0140] 本文使用的术语“烷基磺酰基”表示被烷基取代的磺酰基:烷基 $S(O)_2-$ 。实例烷基磺酰基包括甲磺酰基、乙磺酰基等。

[0141] 本文使用的术语“卤代烷基磺酰基”表示被卤代烷基取代的磺酰基。实例卤代烷基磺酰基包括三氟甲磺酰基、1,1,1-三氟乙磺酰基等。

[0142] 本文使用的术语“芳基磺酰基”表示被芳基或取代的芳基取代的磺酰基,其中在芳基上的取代基选自卤素、硝基、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 卤代烷基。

[0143] 本文使用的术语“杂环碱”表示任选取代的 4-14 元杂环,其中至少一个成环成员是氮原子。杂环碱可以是芳族的或非芳族的。实例杂环碱包括吡啶、吡咯烷、哌啶、吗啉等。杂环上的实例取代基包括 F、Cl、Br、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 卤代烷基。

[0144] 使用方法

[0145] 本发明的化合物可以抑制酶吲哚胺-2,3-双加氧酶(IDO)的活性。例如,本发明的化合物可以用于通过施用抑制量的本发明化合物,抑制细胞中或需要调节该酶的个体中的 IDO 活性。

[0146] 本发明另外提供了抑制系统中色氨酸降解的方法,该系统含有表达 IDO 的细胞,

诸如组织、活生物体或细胞培养物。在某些实施方案中,本发明提供了通过施用有效量的本文中提供的组合物的化合物,改变(例如增加)哺乳动物细胞外色氨酸水平的方法。测量色氨酸水平和色氨酸降解的方法是本领域中的常规方法。

[0147] 本发明另外提供了通过给患者施用有效量的本文所述的化合物或组合物,抑制患者的免疫抑制(例如 IDO- 介导的免疫抑制)的方法。已经将 IDO- 介导的免疫抑制与下述内容相关联:例如,癌症,肿瘤生长、转移,病毒感染,病毒复制等。

[0148] 本发明另外提供了通过给需要这种治疗的个体施用治疗有效量或剂量的本发明化合物或其药物组合物,治疗与个体(例如患者)中 IDO 活性或表达(包括异常活性和/或过表达)有关的疾病的方法。疾病实例可包括直接或间接与 IDO 酶表达或活性(例如过表达或异常活性)有关的任何疾病、障碍或病症。IDO- 相关的疾病也包括可通过调节酶活性予以预防、缓解或治愈的任何疾病、障碍或病症。IDO- 相关的疾病的实例包括:癌症;病毒感染,例如 HIV 感染、HCV 感染;抑郁症;神经变性病症,例如阿尔茨海默氏病和亨廷顿病;创伤;年龄相关的白内障;器官移植(例如器官移植排斥)和自身免疫疾病,包括哮喘、类风湿性关节炎、多发性硬化、变应性炎症、炎性肠病、银屑病和系统性红斑狼疮。可通过本文方法治疗的癌症实例包括结肠、胰腺、乳腺、前列腺、肺、脑、卵巢、宫颈、睾丸、肾、头和颈的癌;淋巴瘤;白血病;黑色素瘤等。本发明的化合物也可以用于治疗肥胖症和缺血。

[0149] 本文中使用的术语“细胞”意在表示体外、离体或体内的细胞。在某些实施方案中,离体细胞可以是生物体(例如哺乳动物)切除的组织样品的一部分。在某些实施方案中,体外细胞可以是细胞培养物中的细胞。在某些实施方案中,体内细胞是生活在生物体(例如哺乳动物)中的细胞。

[0150] 本文中使用的术语“接触”是指将指定部分在体外系统或体内系统中放在一起。例如,使 IDO 酶与本发明化合物“接触”包括,将本发明化合物施用给具有 IDO 的个体或患者(例如人),以及例如,将本发明化合物引入含有含 IDO 酶的细胞或纯化制品的样品中。

[0151] 在本文中可互换使用的术语“个体”或“患者”是指包括哺乳动物在内的任何动物,优选小鼠、大鼠、其它啮齿类动物、兔、狗、猫、猪、牛、羊、马或灵长类动物,最优选人。

[0152] 本文中使用的短语“治疗有效量”是指在组织、系统、动物、个体或人中引起研究人员、兽医、医师或其它临床医师正在寻找的生物学或医学反应的活性化合物或药物的量。

[0153] 本文使用的术语“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”表示:1) 预防疾病;例如,在易感染疾病、病症或障碍但尚未经历或出现疾病病理或症状的个体中预防疾病、病症或障碍;2) 抑制疾病;例如,在正经历或出现疾病、病症或障碍的病理或症状的个体中抑制疾病、病症或障碍(即,阻止病理和/或症状的进一步发展);或3) 缓解疾病;例如,在正经历或出现疾病、病症或障碍的病理或症状的个体中缓解疾病、病症或障碍(即逆转病理和/或症状)。

[0154] 组合法

[0155] 一种或多种其它药物或治疗方法,例如抗病毒剂、化疗剂或其它抗癌剂、免疫促进剂、免疫抑制剂、辐射、抗肿瘤和抗病毒疫苗、细胞因子疗法(例如 IL2、GM-CSF 等)和/或酪氨酸激酶抑制剂,可与本发明化合物联合使用,用于治疗 IDO- 相关的疾病、障碍或病症。这些药剂可与本发明化合物组合在单一的剂型中,或这些药剂可作为分开的剂型同时或先后施用。

[0156] 预计与本发明化合物联用的适宜的抗病毒剂可以包括核苷和核苷酸逆转录酶抑制剂 (NRTI)、非核苷逆转录酶抑制剂 (NNRTI)、蛋白酶抑制剂和其它抗病毒药。

[0157] 适宜的 NRTI 实例包括：齐多夫定 (AZT)；去羟肌苷 (ddI)；扎西他滨 (ddC)；司他夫定 (d4T)；拉米夫定 (3TC)；阿巴卡韦 (1592U89)；阿德福韦二匹伏酯 [二 (POM)-PMEA]；洛布卡韦 (BMS-180194)；BCH-10652；恩曲他滨 [(-)-FTC]； β -L-FD4 (又称为 β -L-D4C，命名为 β -L-2', 3'-dideoxy-5-氟-cytidine)；DAPD, ((-)- β -D-2, 6, -二氨基-嘌呤二氧戊环)；和洛德腺苷 (FddA)。典型的适宜的 NNRTI 包括奈韦拉平 (BI-RG-587)；地拉韦啉 (BHAP, U-90152)；依法韦仑 (DMP-266)；PNU-142721；AG-1549；MKC-442 (1-(乙氧基-甲基)-5-(1-甲基乙基)-6-(苯基甲基)-(2,4(1H,3H)-嘧啶二酮)；和 (+)-红厚壳属植物提取物 (calanolide A) (NSC-675451) 和 B。典型的适宜的蛋白酶抑制剂包括沙奎那韦 (Ro 31-8959)；利托那韦 (ABT-538)；茚地那韦 (MK-639)；奈非那韦 (AG-1343)；氨普奈韦 (141W94)；拉西那韦 (BMS-234475)；DMP-450；BMS-2322623；ABT-378；和 AG-1549。其它抗病毒剂包括羟基脲、利巴韦林、IL-2、IL-12、喷他韦西和 Yissum 项目号 11607。

[0158] 适宜的化疗剂或其它抗癌剂包括、例如，烷化剂 (包括但不限于氮芥、乙烯亚胺衍生物、磺酸烷基酯、亚硝基脲和三氮烯)，例如乌拉莫司汀、氮芥 (chlormethine)、环磷酰胺 (CytosanTM)、异环磷酰胺、美法仑、苯丁酸氮芥、哌泊溴烷、三亚乙基-密胺、塞替派、白消安、卡莫司汀、洛莫司汀、链佐星、达卡巴嗪和替莫唑胺。

[0159] 在黑素瘤的治疗中，适合与本发明化合物组合使用的药剂包括：达卡巴嗪 (DTIC)，任选地，以及其它化疗药诸如卡莫司汀 (BCNU) 和顺铂；由 DTIC、BCNU、顺铂和他莫昔芬组成的“Dartmouth 方案”；顺铂、长春碱和 DTIC 的组合；或替莫唑胺。在黑素瘤的治疗中，根据本发明的化合物也可以与免疫治疗药物相组合，所述免疫治疗药物包括细胞因子诸如干扰素 α 、白介素 2 和肿瘤坏死因子 (TNF)。

[0160] 在黑素瘤的治疗中，本发明化合物也可以与疫苗疗法组合使用。抗黑素瘤疫苗在某些方面类似于用于预防由病毒造成的疾病 (诸如脊髓灰质炎、麻疹和腮腺炎) 的抗病毒疫苗。可以将减弱的黑素瘤细胞或黑素瘤细胞的部分 (称作抗原) 注射进患者中，以刺激身体的免疫系统，从而破坏黑素瘤细胞。

[0161] 使用超热隔离肢体灌注技术 (hyperthermic isolated limb perfusion technique)，也可以用包括一种或多种本发明化合物的药剂组合，治疗限制在臂或腿上的黑素瘤。该治疗方法将有关肢体的循环与身体其它部分暂时隔离，并将高剂量的化疗剂注射进供应肢体的动脉中，从而将高剂量提供给肿瘤区域，而不将内部器官暴露于这些剂量，否则可能造成严重的副作用。通常，将流体温热至 102° 至 104 °F。美法仑是在该化疗操作中最常用的药物。它可以与称作肿瘤坏死因子 (TNF) 的另一种药剂一起施用 (参见关于细胞因子的部分)。

[0162] 适宜的化疗剂或其它抗癌剂包括，例如：抗代谢药 (包括但不限于叶酸拮抗剂、嘧啶类似物、嘌呤类似物和腺苷脱氨酶抑制剂)，例如甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、氟尿苷、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤、6-巯鸟嘌呤、磷酸氟达拉滨、喷司他丁和吉西他滨。

[0163] 适宜的化疗剂或其它抗癌剂还包括，例如：某些天然产物及其衍生物 (例如长春花生物碱、抗肿瘤抗生素、酶、淋巴因子和表鬼臼毒素)，例如长春碱、长春新碱、长春地辛、博来霉素、放线菌素 D、柔红霉素、多柔比星、表柔比星、伊达比星、阿糖胞苷、紫杉醇

(TAXOL™)、普卡霉素、脱氧考福霉素、丝裂霉素 -C、L- 天冬酰胺酶、干扰素（尤其 IFN- α ）、依托泊苷和替尼泊苷。

[0164] 其它细胞毒性剂包括诺维本 (navelbene)、CPT-11、阿那曲唑、来曲唑、卡培他滨、reloxafine、环磷酰胺、异环磷酰胺和屈洛昔芬。

[0165] 也适用的是细胞毒性剂,例如:表鬼臼毒素;抗肿瘤酶;拓扑异构酶抑制剂;丙卡巴肼;米托蒽醌;铂配位络合物,例如顺铂和卡铂;生物反应调节物;生长抑制剂;抗激素治疗剂;亚叶酸;替加氟;和造血生长因子。

[0166] 其它抗癌剂包括抗体治疗剂,例如曲妥单抗 (Herceptin)、共刺激分子(例如 CTLA-4、4-1BB 和 PD-1) 的抗体或细胞因子 (IL-10, TGF- β 等) 的抗体。

[0167] 其它抗癌剂还包括阻滞免疫细胞迁移的那些,例如趋化因子受体(包括 CCR2 和 CCR4) 的拮抗剂。

[0168] 其它抗癌剂还包括增强免疫系统的那些,例如佐剂或过继性 T 细胞转移。

[0169] 抗癌疫苗包括树突细胞、合成肽、DNA 疫苗和重组病毒。

[0170] 安全并有效地施用大多数这样的化疗剂的方法,是本领域技术人员已知的。另外,它们的施用描述在标准文献中。例如,在“Physicians' Desk Reference”(PDR,例如,1996 edition,Medical Economics Company, Montvale, NJ) 中,描述了多种化疗剂的施用,它的公开内容通过引用并入本文,如同对它予以完整阐述。

[0171] 药物制剂和剂型

[0172] 当用作药物时,可按药物组合物的形式施用本发明化合物,该组合物是本发明化合物和药学上可接受的载体的组合。这些组合物可以按制药领域中熟知的方式进行制备,且可以通过多种途径给药,这取决于是否需要局部或全身治疗和待治疗的区域。给药可以是局部的(包括眼和粘膜,包括鼻内、阴道和直肠递送)、肺的(例如,通过吸入或吹入粉末或气雾剂,包括通过喷雾器;气管内、鼻内、表皮的和透皮的)、眼的、口服的或肠胃外的。眼递送方法可以包括局部给药(滴眼剂)、结膜下、眼周或玻璃体内注射,或通过气球导管引入,或将眼插入物经手术置于结膜囊内。肠胃外给药包括静脉内、动脉内、皮下、腹膜内或肌肉内注射或输注;或颅内(例如鞘内或心室内)给药。可以按单次推注剂量形式肠胃外给药,或可以通过例如连续灌注泵给药。局部施用的药物组合物和制剂可以包括透皮贴剂、软膏、洗剂、霜剂、凝胶剂、滴剂、栓剂、喷雾剂、液体剂和粉末剂。常规的药物载体、水性、粉末或油性基质、增稠剂等可能是必需的或期望的。

[0173] 本发明还包括这样的药物组合物,其含有一种或多种以上本发明化合物作为活性成分与一种或多种药学上可接受的载体组合。在制备本发明的组合物时,通常将活性成分与赋形剂混合,用赋形剂稀释,或装入例如胶囊、小药囊、纸或其它容器形式的载体内。当赋形剂用作稀释剂时,它可以是固体、半固体或液体物质,用作活性成分的溶媒、载体或介质。因此,组合物可以是以下形式:片剂、丸剂、粉末剂、锭剂、小药囊、扁囊剂、酏剂、混悬剂、乳剂、溶液剂、糖浆剂、气雾剂(固体或在液体介质中)、含例如高达 10% (按重量计算) 活性化合物的软膏剂、软和硬明胶胶囊剂、栓剂、无菌可注射溶液剂和无菌包装粉末剂。

[0174] 在制备制剂时,可将活性化合物粉碎以得到适宜粒度,然后与其它成分组合。如果活性化合物基本上不溶,可将其粉碎成小于 200 目的粒度。如果活性化合物基本上溶于水,可通过粉碎调整粒度以得到在制剂中基本上均匀的分布,例如约 40 目。

[0175] 适宜的赋形剂的某些实例包括乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、黄蓍胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆和甲基纤维素。制剂还可包括：润滑剂，例如滑石粉、硬脂酸镁和矿物油；湿润剂；乳化剂和助悬剂；防腐剂，例如苯甲酸甲酯和苯甲酸羟基丙酯；甜味剂和矫味剂。使用本领域已知的方法，可以配制本发明组合物，以便在施用给患者后提供活性成分的速释、缓释或延迟释放。

[0176] 可按单位剂型配制组合物，每一剂量含有约 5 至约 100mg、更通常约 10 至约 30mg 的活性成分。术语“单位剂型”是指物理上分离的单位，其适宜作为用于人受试者和其它哺乳动物的单位剂量，每个单位含有与适宜的药物赋形剂混合的经计算产生所需疗效的预定量的活性物质。

[0177] 活性化合物的有效剂量的范围可很大，通常按药理学有效量给药。但是，可以理解，实际施用的化合物的量通常由医师根据相关情况确定，所述情况包括待治疗的病症、选择的给药途径、施用的实际化合物、患者个体的年龄、重量和反应、患者症状的严重程度等。

[0178] 对于制备固体组合物例如片剂，将主要活性成分与药物赋形剂混合，形成固体预制剂组合物，其含有本发明化合物的均匀混合物。当称这些预制剂组合物为均匀时，活性成分通常均匀地分布在组合物中，致使该组合物可容易地再分为同等有效的单位剂型，例如片剂、丸剂和胶囊剂。然后将该固体预制剂再分为上述类型的单位剂型，其含有例如 0.1 至约 500mg 本发明活性成分。

[0179] 可将本发明的片剂或丸剂包衣或以其它方式复合，以得到提供长效作用优点的剂型。例如，片剂或丸剂可以包含内剂量和外剂量组分，后者是前者的外壳形式。两种组分可被肠溶层隔开，所述肠溶层用于阻止在胃中崩解，以使内组分完整通入十二指肠或延迟释放。多种物质可用于此类肠溶层或包衣，此类物质包括多种高分子酸，和高分子酸与诸如虫胶、鲸蜡醇和醋酸纤维素等物质的混合物。

[0180] 用于口服或注射给药的其中可掺入本发明化合物和组合物的液体形式包括：水溶液、适当矫味的糖浆剂、水性或油性混悬液和用食用油（例如棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油）矫味的乳剂以及酞剂和类似的药用溶媒。

[0181] 用于吸入或吹入的组合物包括：在药理学上可接受的水性或有机溶剂或其混合物中的溶液剂和混悬液，以及粉末剂。液体或固体组合物可以含有如上所述的适宜的药学上可接受的赋形剂。在某些实施方案中，所述组合物通过口服或鼻呼吸途径给药，实现局部或全身作用。使用惰性气体可以使组合物雾化。可直接由雾化装置吸入雾化溶液，或雾化装置可与面罩或间歇正压呼吸机连接。从以适当方式递送制剂的装置，可以口服地或经鼻施用溶液、混悬液或粉末组合物。

[0182] 施用给患者的化合物或组合物的量随下述因素而异：施用的药物、给药目的（例如预防或治疗）、患者的状态、给药方式等。在治疗应用中，可以以足以治愈或至少部分抑制疾病及其并发症症状的量，将组合物施用给已患疾病的患者。有效剂量取决于所治疗的疾病状态和主治临床医师的判断，该判断取决于诸如疾病的严重程度、患者的年龄、体重和一般状况等因素。

[0183] 给患者施用的组合物可以是上述药物组合物形式。通过常规灭菌技术可以将这些组合物灭菌，或可以过滤除菌。可以包装水溶液，用于原样使用，或冻干，在给药前将冻干制

品与无菌水性载体组合。化合物制品的 pH 通常为 3-11, 更优选 5-9, 最优选 7-8。可以理解, 使用某些前述赋形剂、载体或稳定剂会导致药物盐的形成。

[0184] 本发明化合物的治疗剂量可以随下述因素而异: 例如, 治疗的具体用途、施用化合物的方式、患者的健康和状态以及开处方医师的判断。本发明化合物在药物组合物中的比例或浓度可以随许多因素而异: 包括剂量、化学特性(例如疏水性)和给药途径。例如, 对于肠胃外给药, 可以将本发明化合物提供在含有约 0.1-约 10% w/v 该化合物的生理缓冲水溶液中。某些典型剂量范围为约 1 μ g/kg-约 1g/kg 体重/日。在某些实施方案中, 剂量范围为约 0.01mg/kg-约 100mg/kg 体重/日。剂量很可能取决于此类变量, 诸如疾病或病症的种类和发展程度、具体患者的一般健康状态、所选择的化合物的相对生物学效能、赋形剂制剂及其给药途径。从由体外或动物模型试验系统导出的剂量-反应曲线可以外推出有效剂量。

[0185] 本发明化合物也可与一种或多种额外的活性成分组合配制, 所述活性成分可以包括任何药物, 例如抗病毒剂、疫苗、抗体、免疫促进剂、免疫抑制剂、抗炎剂等。

[0186] 标记的化合物和测定方法

[0187] 本发明的另一方面涉及荧光染料、自旋标记物、重金属或放射性标记的本发明化合物, 其不仅可用于成像, 而且可用于体外和体内测定, 用于定位和定量组织样品(包括人)中的 IDO 酶, 以及用于通过抑制标记化合物的结合来鉴定 IDO 酶配体。因此, 本发明包括含有此类标记的化合物的 IDO 酶测定。

[0188] 本发明还包括同位素地标记的式 I 化合物。“同位素地”或“放射性标记的”化合物是这样的本发明化合物, 其中一个或多个原子被置换或替换为具有不同于通常在自然界中发现的(即天然存在的)原子质量或质量数的原子质量或质量数的原子。可掺入本发明化合物中的适宜的放射性核素包括、但不限于, ^2H (又写为 D, 代表氘)、 ^3H (又写为 T, 代表氚)、 ^{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 和 ^{131}I 。掺入本发明的放射性标记的化合物中的放射性核素取决于该放射性标记的化合物的具体用途。例如, 对于体外 IDO 酶标记和竞争测定, 掺入了 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{82}Br 、 ^{125}I 、 ^{131}I 或 ^{35}S 的化合物通常最有用。对于放射性成像应用, ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{131}I 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 或 ^{77}Br 通常最有用。

[0189] 可以理解, “放射性标记的”或“标记的化合物”是已经掺入至少一种放射性核素的化合物。在某些实施方案中, 放射性核素选自 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^{35}S 和 ^{82}Br 。

[0190] 将放射性同位素掺入有机化合物的合成方法适用于本发明化合物, 且在本领域中众所周知。

[0191] 本发明的放射性标记的化合物可以用于筛选测定中, 以鉴定/评价化合物。概括地说, 可评价新合成的或鉴定的化合物(即试验化合物)的减少本发明放射性标记的化合物与 IDO 酶结合的能力。因此, 试验化合物的与放射性标记的化合物竞争结合 IDO 酶的能力直接与其结合亲和力相关。

[0192] 试剂盒

[0193] 本发明还包括药物试剂盒, 其可用于例如治疗或预防 IDO- 相关的疾病或病症、肥胖症、糖尿病和在本文中提及的其它疾病, 所述试剂盒包括一个或多个装有药物组合物的容器, 所述药物组合物包含治疗有效量的本发明化合物。此类试剂盒另外可以包括, 如果需要的话, 一种或多种不同的常规药物试剂盒组件, 例如装有一种或多种药学上可接受的

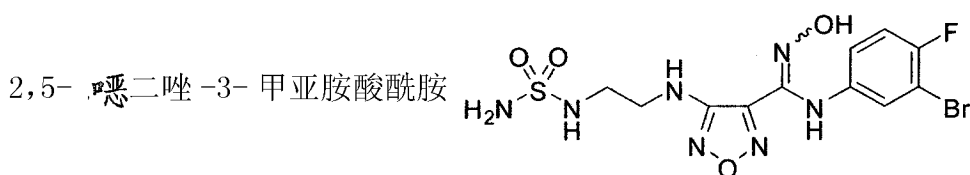
载体的容器,其它容器等,本领域技术人员可以容易地明白。在试剂盒中还可以包括,指示要施用的组分的量的说明书(作为插页或标签),用药指南和/或关于混合组分的指南。

[0194] 通过具体的实施例更详细地说明本发明。为说明目的提供以下实施例,它们不应以任何方式限制本发明。本领域技术人员容易地认识到,可改变或修改多种非关键性参数以得到基本上相同的结果。按照一种或多种本文提供的测定,发现实施例化合物是 IDO 抑制剂。

[0195] 实施例

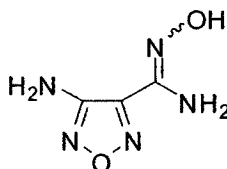
[0196] 实施例 1

[0197] 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺



[0198] 步骤 A:4-氨基-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

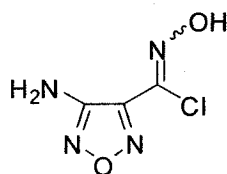
[0199]



[0200] 将丙二腈 [Aldrich, 产品号 M1407] (320.5g, 5mol) 加入预热至 45℃ 的水 (7L) 中, 并搅拌 5min。在冰浴中冷却得到的溶液, 并加入亚硝酸钠 (380g, 5.5mol)。当温度达到 10℃ 时, 加入 6N 盐酸 (55mL)。发生温和的放热反应后, 温度达到 16℃。15min 后, 去除冷却浴, 将反应混合物在 16-18℃ 搅拌 1.5 小时。将反应混合物冷却至 13℃, 一次性加入 50% 羟胺水溶液 (990g, 15mol)。温度升高至 26℃。当放热反应结束时, 去除冷却浴, 并在 26-27℃ 继续搅拌 1 小时, 然后使其缓慢达到回流。回流维持 2 小时, 然后使反应混合物冷却过夜。在冰浴中搅拌反应混合物, 在 40min 内分份加入 6N 盐酸 (800mL) 至 pH 7.0。继续在 5℃ 冰浴中搅拌。通过过滤收集沉淀物, 用水充分洗涤, 并在真空干燥箱 (50℃) 中干燥以得到希望的产物 (644g, 90%)。C₃H₆N₅O₂ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 144.0。13C NMR (75MHz, CD₃OD): δ 156.0, 145.9, 141.3。

[0201] 步骤 B:4-氨基-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲酰亚胺 (carboximidoyl) 氯化物

[0202]

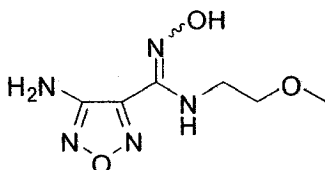


[0203] 将 4-氨基-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺 (422g, 2.95mol) 加入水 (5.9L)、醋酸 (3L) 和 6N 盐酸 (1.475L, 3 当量) 的混合物中, 在 42-45℃ 搅拌该悬浮液直到完全溶解。加入氯化钠 (518g, 3 当量), 并在冰/水/甲醇浴中搅拌该溶液。经 3.5 小时加入亚硝酸钠 (199.5g, 0.98 当量) 在水 (700mL) 中的溶液, 同时维持温度低于 0℃。加入

结束后,继续在冰浴中搅拌 1.5 小时,然后将反应混合物温热至 15℃。通过过滤收集沉淀物,用水充分洗涤,放入醋酸乙酯 (3.4L) 中,用无水硫酸钠 (500g) 处理,并搅拌 1 小时。通过硫酸钠 (200g) 过滤该悬浮液,并在旋转蒸发器上浓缩滤液。将残余物溶于甲基叔丁基醚 (5.5L) 中,用炭 (40g) 处理,搅拌 40min,并通过硅藻土过滤。在旋转蒸发器中去除溶剂,并在真空干燥箱 (45℃) 中干燥得到的产物以得到希望的产物 (256g, 53.4%)。C₃H₄ClN₄O₂ 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 162.9。 ¹³C NMR (100MHz, CD₃OD): δ 155.8, 143.4, 129.7。

[0204] 步骤 C: 4-氨基-N'-羟基-N-(2-甲氧基乙基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

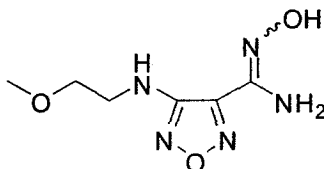
[0205]



[0206] 将 4-氨基-N'-羟基-N-(2-甲氧基乙基)-1,2,5-噁二唑-3-甲酰亚胺氯化物 (200.0g, 1.23mol) 与醋酸乙酯 (1.2L) 混合。在搅拌下,一次性加入 0-5℃ 的 2-甲氧基乙胺 [Aldrich, 产品号 143693] (119.0mL, 1.35mol)。使反应物温度升高至 41℃。将反应物冷却至 0-5℃。加入三乙胺 (258mL, 1.84mol)。搅拌 5min 后,LCMS 指示反应结束。用水 (500mL) 和盐水 (500mL) 洗涤反应溶液,经硫酸钠干燥,并浓缩以得到希望的产物 (294g, 119%), 为粗黑色油。C₆H₁₂N₅O₃ 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 202.3。 ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 10.65 (s, 1H), 6.27 (s, 2H), 6.10 (t, J = 6.5Hz, 1H), 3.50 (m, 2H), 3.35 (d, J = 5.8Hz, 2H), 3.08 (s, 3H)。

[0207] 步骤 D: N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

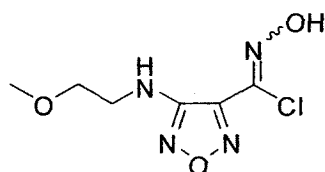
[0208]



[0209] 将 4-氨基-N'-羟基-N-(2-甲氧基乙基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺 (248.0g, 1.23mol) 与水 (1L) 混合。加入氢氧化钾 (210g, 3.7mol)。将反应物在 100℃ 回流过夜 (15 小时)。使用在己烷中的 50% 醋酸乙酯 (含有 1% 氢氧化铵) 的 TLC 指示反应结束 (产物 R_f = 0.6, 原料 R_f = 0.5)。LCMS 也指示反应结束。将反应物冷却至室温,并用醋酸乙酯 (3x 1L) 萃取。合并的醋酸乙酯溶液经硫酸钠干燥并浓缩以得到希望的产物 (201g, 81%), 为粗灰白色固体。C₆H₁₂N₅O₃ 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 202.3。 ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 10.54 (s, 1H), 6.22 (s, 2H), 6.15 (t, J = 5.8Hz, 1H), 3.45 (t, J = 5.3Hz, 2H), 3.35 (m, 2H), 3.22 (s, 3H)。

[0210] 步骤 E: N-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲酰亚胺氯化物

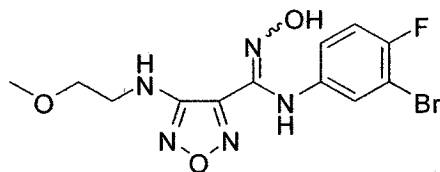
[0211]



[0212] 在室温,将N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺(50.0g,0.226mol)溶于6.0M盐酸水溶液(250mL,1.5mol)中。加入氯化钠(39.5g,0.676mol),然后加入水(250mL)和醋酸乙酯(250mL)。在3-5℃,经1小时,缓慢加入预先制备的亚硝酸钠(15.0g,0.217mol)的水溶液(100mL)。将反应物在3-8℃搅拌2小时,然后在室温度过周末。LCMS指示反应结束。用醋酸乙酯(2x200mL)萃取反应溶液。合并的醋酸乙酯溶液经硫酸钠干燥,并浓缩以得到希望的产物(49.9g,126%),为粗白色固体。 $C_6H_{10}ClN_4O_3$ 的LCMS(M+H)⁺:m/z=221.0。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ 13.43(s,1H),5.85(t,J=5.6Hz,1H),3.50(t,J=5.6Hz,2H),3.37(dd,J=10.8,5.6Hz,2H),3.25(s,3H)。

[0213] 步骤F:N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

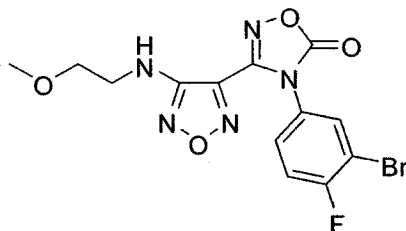
[0214]



[0215] 将N-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲酰亚胺氯化物(46.0g,0.208mol)与水(300mL)混合。将混合物加热到60℃。加入3-溴-4-氟苯胺[Oakwood products,产品号013091](43.6g,0.229mol),并搅拌10min。经15min加入温热的碳酸氢钠(26.3g,0.313mol)溶液(300mL水)。将反应物在60℃搅拌20min。LCMS指示反应结束。将反应溶液冷却至室温,并用醋酸乙酯(2x300mL)萃取。合并的醋酸乙酯溶液经硫酸钠干燥,并浓缩以得到希望的产物(76.7g,98%),为粗褐色固体。 $C_{12}H_{14}BrFN_5O_3$ 的LCMS(M+H)⁺:m/z=374.0,376.0。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ 11.55(s,1H),8.85(s,1H),7.16(t,J=8.8Hz,1H),7.08(dd,J=6.1,2.7Hz,1H),6.75(m,1H),6.14(t,J=5.8Hz,1H),3.48(t,J=5.2Hz,2H),3.35(dd,J=10.8,5.6Hz,2H),3.22(s,3H)。

[0216] 步骤G:4-(3-溴-4-氟苯基)-3-{4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

[0217]

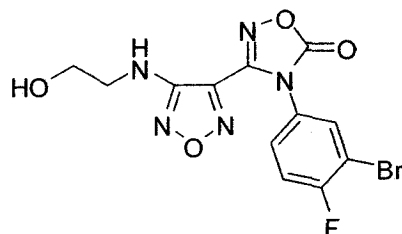


[0218] 将N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺(76.5g,0.204mol),1,1'-羰基二咪唑(49.7g,0.307mol)和醋酸乙酯(720mL)的混合物加热到60℃,并搅拌20min。LCMS指示反应结束。将反应物冷却至室

温,用 1N HCl (2x 750mL) 洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩以得到希望的产物 (80.4g,98%),为粗褐色固体。 $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$ 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 400.0,402.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 7.94 (t, J = 8.2Hz, 1H), 7.72 (dd, J = 9.1, 2.3Hz, 1H), 7.42 (m, 1H), 6.42 (t, J = 5.7Hz, 1H), 3.46 (t, J = 5.4Hz, 2H), 3.36 (t, J = 5.8Hz, 2H), 3.26 (s, 3H)。

[0219] 步骤 H: 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-{4-[(2-羟基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

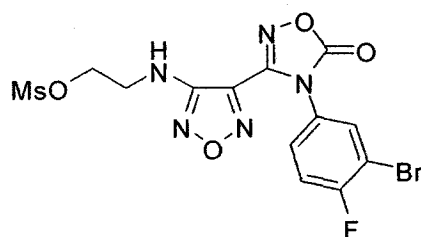
[0220]



[0221] 将 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-{4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (78.4g, 0.196mol) 溶于二氯甲烷 (600mL) 中。在 -67℃, 经 15min 加入三溴化硼 (37mL, 0.392mol)。使反应物在 30min 内温热至 -10℃。LCMS 指示反应结束。将反应物在室温搅拌 1 小时。在 0-5℃, 经 30min 用饱和碳酸氢钠溶液 (1.5L) 缓慢淬灭反应。使反应物温度升高至 25℃。用醋酸乙酯萃取反应物 (2x 500mL, 第一次萃取有机层是在下面, 第二次萃取有机层是在上面)。合并的有机层经硫酸钠干燥, 并浓缩以得到希望的产物 (75g, 99%), 为粗褐色固体。 $C_{12}H_{10}BrFN_5O_4$ 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 386.0, 388.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.08 (dd, J = 6.2, 2.5Hz, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.68 (t, J = 8.7Hz, 1H), 6.33 (t, J = 5.6Hz, 1H), 4.85 (t, J = 5.0Hz, 1H), 3.56 (dd, J = 10.6, 5.6Hz, 2H), 3.29 (dd, J = 11.5, 5.9Hz, 2H)。

[0222] 步骤 I: 2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基甲磺酸酯

[0223]

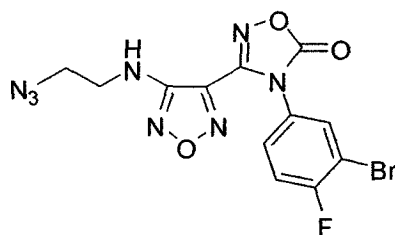


[0224] 向 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-{4-[(2-羟基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (1.5kg, 3.9mol, 也含有一些对应的溴-化合物) 在醋酸乙酯 (12L) 中的溶液中, 经 1h 逐滴加入在室温的甲磺酰氯 (185mL, 2.4mol)。经 45min 逐滴加入三乙胺 (325mL, 2.3mol), 在这期间使反应物温度升高至 35℃。2h 后, 用水 (5L)、盐水 (1L) 洗涤反应混合物, 经硫酸钠干燥, 与相同大小的另外 3 批反应物合并, 并在真空中去除溶剂以得到希望的产物 (7600g, 定量产率), 为黄褐色固体。 $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$ 的 LCMS (M+Na)⁺:m/z = 485.9, 487.9。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.08 (dd, J = 6.2, 2.5Hz, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.58 (t, J = 8.7Hz, 1H), 6.75 (t, J = 5.9Hz, 1H), 4.36 (t, J = 5.3Hz, 2H), 3.58 (dd, J =

11. 2, 5. 6Hz, 2H), 3. 18 (s, 3H)。

[0225] 步骤 J: 3-{4-[(2-叠氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

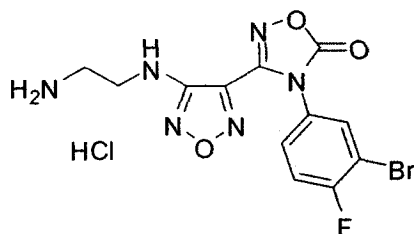
[0226]



[0227] 向在 22L 烧瓶中搅拌的 2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基甲磺酸酯 (2.13kg, 4.6mol, 也含有一些对应的溴-化合物) 在二甲基甲酰胺 (4L) 中的溶液中, 加入叠氮化钠 (380g, 5.84mol)。将反应物在 50℃ 加热 6h, 倒入冰/水 (8L), 并用 1:1 醋酸乙酯:庚烷 (20L) 萃取。用水 (5L) 和盐水 (5L) 洗涤有机层, 并在真空中去除溶剂以得到希望的产物 (1464g, 77%), 为黄褐色固体。C₁₂H₈BrFN₈O₃Na 的 LCMS (M+Na)⁺: m/z = 433. 0, 435. 0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8. 08 (dd, J = 6. 2, 2. 5Hz, 1H), 7. 72 (m, 1H), 7. 58 (t, J = 8. 7Hz, 1H), 6. 75 (t, J = 5. 7Hz, 1H), 3. 54 (t, J = 5. 3Hz, 2H), 3. 45 (dd, J = 11. 1, 5. 2Hz, 2H)。

[0228] 步骤 K: 3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢氯化物

[0229]



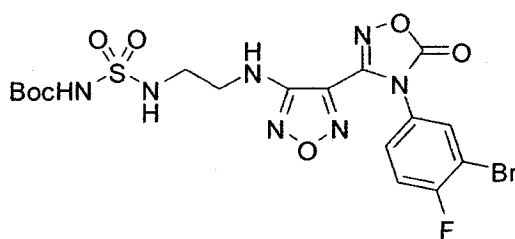
[0230] 将碘化钠 (1080g, 7.2mol) 加入在甲醇 (6L) 中的 3-{4-[(2-叠氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (500g, 1.22mol) 中。将混合物搅拌 30min, 在这期间观察到温和放热。以使温度不超过 35℃ 的速率逐滴加入氯代三甲基硅烷 (930mL, 7.33mol) 在甲醇 (1L) 中的溶液, 并将反应物在环境温度搅拌 3.5h。用 33wt% 五水合硫代硫酸钠在水 (~1.5L) 中的溶液中和反应, 用水 (4L) 稀释, 并用固体碳酸钾 (250g- 分成小份加入; 注意起泡) 小心地将 pH 调至 9。加入二碳酸二叔丁酯 (318g, 1.45mol), 并在室温搅拌反应物。经 4h 加入每份 50g 的其它碳酸钾 (200g), 以确保 pH 仍然在或高于 9。在室温搅拌过夜后, 过滤固体, 与水 (2L) 一起研磨, 然后与 MTBE (1.5L) 一起研磨。共进行 11 批 (5.5kg, 13.38mol)。与 1:1 THF:二氯甲烷 (24L, 4 批, 在 20L 旋转蒸发器烧瓶中, 50℃, 1h) 一起研磨合并的固体, 过滤, 并用二氯甲烷 (每批 3L) 洗涤以得到灰白色固体。将粗产物溶于 55℃ 四氢呋喃 (5mL/g) 中, 用脱色碳 (2wt%) 和硅胶 (2wt%) 处理, 并通过硅藻土热过滤以得到产物, 为灰白色固体 (5122g)。在真空中浓缩合并的 MTBE、THF 和二氯甲烷滤液, 并色谱分离 (2kg 硅胶, 含有 0-100% 醋酸乙酯梯度的庚烷, 30L) 以得到更多产物 (262g)。在对流加热炉中将合并的固体干燥至恒重 (5385g,

83%)。

[0231] 在 22L 烧瓶中装入氯化氢 (4N 在 1,4-二噁烷中的溶液, 4L, 16mol)。经 10min, 分份加入固体 [2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]氨基甲酸叔丁酯 (2315g, 4.77mol)。在室温搅拌料浆, 并逐渐变成不能搅拌的稠糊。在室温静置过夜后, 将该糊在醋酸乙酯 (10L) 中制浆, 过滤, 重新在醋酸乙酯 (5L) 中制浆, 过滤, 并干燥至恒重以得到希望的产物, 为白色固体 (与其它批次合并, 装载 5kg 原料, 4113g, 95%)。C₁₂H₁₁BrFN₆O₃ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 384.9, 386.9。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.12 (m, 4H), 7.76 (m, 1H), 7.58 (t, J = 8.7Hz, 1H), 6.78 (t, J = 6.1Hz, 1H), 3.51 (dd, J = 11.8, 6.1Hz, 2H), 3.02 (m, 2H)。

[0232] 步骤 L: ({[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]氨基}磺酰基)氨基甲酸叔丁酯

[0233]

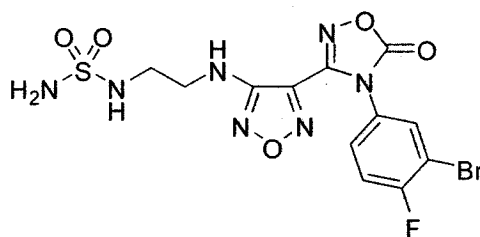


[0234] 给 5L 圆底烧瓶装入异氰酸氯代磺酰酯 [Aldrich, 产品号 142662] (149mL, 1.72mol) 和二氯甲烷 (1.5L), 并使用冰浴冷却至 2℃。以使温度不超过 10℃ 的速率逐滴加入在二氯甲烷 (200mL) 中的叔丁醇 (162mL, 1.73mol)。将得到的溶液在室温搅拌 30-60min 以得到 [氯代磺酰基]氨基甲酸叔丁酯。

[0235] 给 22L 烧瓶装入 3-{4-[2-氨基乙基]氨基}-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢氯化物 (661g, 1.57mol) 和 8.5L 二氯甲烷。用冰/盐浴冷却至 -15℃ 后, 以使温度不超过 -10℃ 的速率加入 [氯代磺酰基]氨基甲酸叔丁酯溶液 (如上制备) (加入时间 7min)。搅拌 10min 后, 以使温度不超过 -5℃ 的速率 (加入时间 10min) 加入三乙胺 (1085mL, 7.78mol)。去除冷却浴, 使反应物温热至 10℃, 分成 2 份, 并用 10% 浓 HCl 中和 (每份 4.5L)。将每份转移至 50L 分液漏斗, 并用醋酸乙酯稀释以完全溶解白色固体 (~25L)。分离各层, 并用水 (5L)、盐水 (5L) 洗涤有机层, 并在真空中去除溶剂以得到灰白色固体。与 MTBE (2x 1.5L) 一起研磨固体, 并干燥至恒重以得到白色固体。以该方式处理共 4113g 原料 (5409g, 98%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 10.90 (s, 1H), 8.08 (dd, J = 6.2, 2.5Hz, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.59 (t, J = 8.6Hz, 1H), 6.58 (t, J = 5.7Hz, 1H), 3.38 (dd, J = 12.7, 6.2Hz, 2H), 3.10 (dd, J = 12.1, 5.9Hz, 2H), 1.41 (s, 9H)。

[0236] 步骤 M: N-[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]磺酰胺

[0237]



[0238] 向装有 98 : 2 三氟乙酸 : 水 (8.9L) 的 22L 烧瓶中, 经 10 分钟分份加入 ({[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]氨基}磺酰基)氨基甲酸叔丁酯 (1931g, 3.42mol)。将得到的混合物在室温搅拌 1.5h, 在真空中去除溶剂, 并用二氯甲烷 (2L) 洗涤 (chase)。用新鲜的 98 : 2 三氟乙酸 : 水 (8.9L) 处理得到的固体第二次, 在 40-50℃ 加热 1h, 在真空中去除溶剂, 并用二氯甲烷 (3x 2L) 洗涤。在真空干燥箱中在 50℃ 干燥得到的白色固体过夜。以该方式处理共 5409g (4990g, 定量产率)。C₁₂H₁₂BrFN₇O₅S 的 LCMS (M+H)⁺ : m/z = 463.9, 465.9。 ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 8.08 (dd, J = 6.2, 2.5Hz, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.59 (t, J = 8.7Hz, 1H), 6.67 (t, J = 5.9Hz, 1H), 6.52 (t, J = 6.0Hz, 1H), 3.38 (dd, J = 12.7, 6.3Hz, 2H), 3.11 (dd, J = 12.3, 6.3Hz)。

[0239] 步骤 N : 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0240] 向在 22L 烧瓶中搅拌的含有残余量的三氟乙酸的 N-[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]磺酰胺 (2.4mol) 的粗混合物中, 加入 THF (5L)。使用冰浴将得到的溶液冷却至 0℃, 以使温度不超过 10℃ 的速率加入 2N NaOH (4L)。在环境温度搅拌 3h 后 (LCMS 指示没有原料剩余), 用浓 HCl (~ 500mL) 将 pH 调至 3-4。在真空中去除 THF, 并用醋酸乙酯 (15L) 萃取得到的混合物。用水 (5L)、盐水 (5L) 洗涤有机层, 并在真空中去除溶剂以得到固体。与 MTBE (2x 2L) 一起研磨固体, 与相同大小的另外 3 批反应物合并, 并在对流加热炉中干燥过夜以得到白色固体 (3535g)。将固体重结晶 (3x 22L 烧瓶, 2 : 1 水 : 乙醇, 14.1L/烧瓶), 并在 50℃ 对流加热炉中干燥至恒重以得标题化合物, 为灰白色固体 (3290g, 78%)。C₁₁H₁₄BrFN₇O₄S 的 LCMS (M+H)⁺ : m/z = 437.9, 439.9。 ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 11.51 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 7.17 (t, J = 8.8Hz, 1H), 7.11 (dd, J = 6.1, 2.7Hz, 1H), 6.76 (m, 1H), 6.71 (t, J = 6.0Hz, 1H), 6.59 (s, 2H), 6.23 (t, J = 6.1Hz, 1H), 3.35 (dd, J = 10.9, 7.0Hz, 2H), 3.10 (dd, J = 12.1, 6.2Hz, 2H)。

[0241] 终产物是无水结晶固体。通过 Karl Fischer 滴定法测得水含量小于 0.1%。测定了 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图谱 (Rigaku MiniFlex 粉末衍射仪; 在 1.054056 Å 的 Cu, 具有 Kβ 过滤器; 开始角 = 3, 停止角 = 45, 取样 = 0.02, 扫描速度 = 2), 如图 1 所示。在下面的表 1 中提供了 2-θ 峰列表。在 Mettler Toledo 差示扫描量热法 (DSC) 822 仪器上测定固体的熔化范围。以 10℃/min 的加热速率将样品从 40℃ 加热至 240℃。DSC 热分析图 (图 2) 显示在 162.7℃ 的 T_{开始} 和在 163.8℃ 的 T_峰。热重分析法 (TGA) (图 3) 显示 0.3% 的重量减少, 其中使用 TA 仪器 Q500, 以 10℃/min 的加热速率, 从 20℃ 加热至 150℃。

[0242] 表 1

[0243]

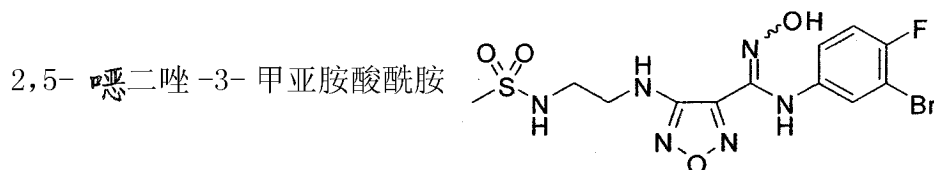
2-θ	高度	H%
3.9	74	1.1
7.2	119	1.8
13.4	180	2.8
14.0	150	2.3
15.9	85	1.3
18.4	903	13.9
18.9	1469	22.7
21.3	519	8
21.8	6472	100
22.7	516	8
23.9	2515	38.9
24.8	804	12.4
25.3	182	2.8
27.4	476	7.4
28.6	354	5.5
29.2	1767	27.3
29.9	266	4.1
30.6	773	11.9
31.2	379	5.8
31.6	291	4.5
32.7	144	2.2
33.5	221	3.4
36.4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

[0244]

41.0	153	2.4
42.1	382	5.9
43.6	527	8.1
44.4	1080	16.7

[0245] 实施例 2

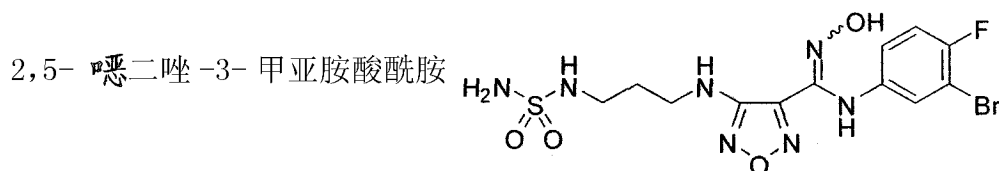
[0246] N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺



[0247] 使用 N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺和 3-溴-4-氟苯胺 [Oakwood Products, Inc., 产品号 013091] 作为原料,根据实施例 17 步骤 E 的程序,制备标题化合物。C₁₂H₁₅BrFN₆O₄S 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 437.0, 439.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.49 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 7.17 (m, 2H), 7.09 (dd, J = 6.3, 2.5Hz, 1H), 6.26 (t, J = 6.1Hz, 1H), 3.33 (m, 2H), 3.13 (q, J = 6.0Hz, 2H), 2.89 (s, 3H)。

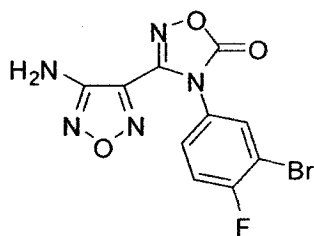
[0248] 实施例 3

[0249] 4-({3-[(氨基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺



[0250] 步骤 A: 3-(4-氨基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

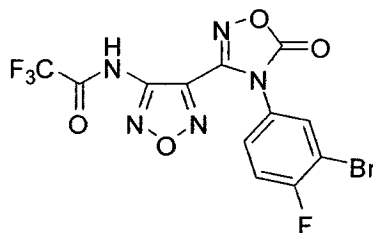
[0251]



[0252] 使用 4-氨基-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺 [参见美国专利申请公开号 2006/0258719] 作为原料,根据实施例 5 步骤 A 的程序,制备希望的化合物,98%产率。C₁₀H₆BrFN₅O₃ 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 342.0, 344.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.06 (dd, J = 6.2, 2.5Hz, 1H), 7.72-7.67 (m, 1H), 7.58 (dd, J = 8.7, 8.7Hz, 1H), 6.60 (s, 2H)。

[0253] 步骤B: N-{4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-2,2,2-三氟乙酰胺

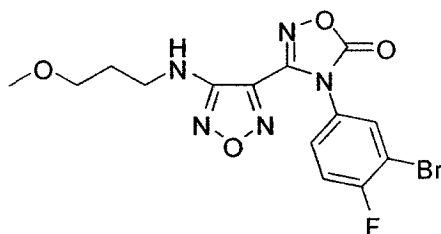
[0254]



[0255] 使用 3-(4-氨基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例 5 步骤 B 的程序,制备希望的化合物,81% 产率。 $C_{12}H_5BrF_4N_5O_4$ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 437.9,439.9。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 7.92-7.89(m, 1H), 7.54-7.52(m, 2H)。

[0256] 步骤C: 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-{4-[(3-甲氧基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

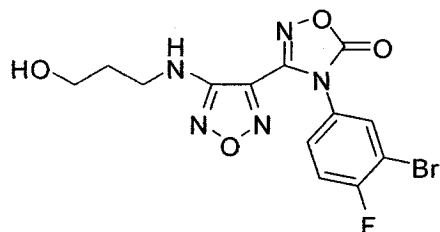
[0257]



[0258] 用偶氮二甲酸二异丙基酯 (6.7mL, 34mmol) 逐滴处理在 0℃ 的 3-甲氧基丙-1-醇 [Fluka 产品号 38457] (3.1mL, 32mmol) 和三苯基膦 (8.4g, 32mmol) 在四氢呋喃 (93mL) 中的溶液。将反应混合物在 0℃ 搅拌 15min, 用 N-{4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-2,2,2-三氟乙酰胺 (10g, 23mmol) 在四氢呋喃 (47mL) 中的溶液处理, 并在 25℃ 搅拌 72h。浓缩反应混合物, 用醋酸乙酯 (200mL) 稀释, 用三氟乙酸 (20mL) 和水 (20mL) 处理, 并在 50℃ 加热 6h。浓缩反应混合物, 用醋酸乙酯 (200mL) 再次稀释, 并用水 (3x 80mL)、饱和碳酸氢钠 (2x 80mL) 和盐水 (80mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩为粗残余物。在硅胶上纯化该物质以得到希望的产物 (6.4g, 54%), 为白色固体。 $C_{14}H_{14}BrFN_5O_4$ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 414.0, 416.0。

[0259] 步骤D: 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-{4-[(3-羟基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

[0260]

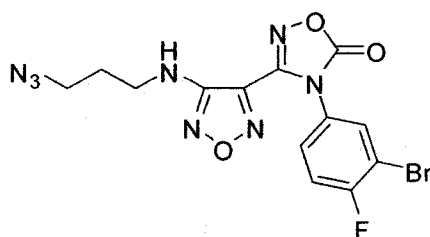


[0261] 用在二氯甲烷中的 1M 三溴化硼 (28mL, 28mmol) 处理在 -78℃ 的 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-{4-[(3-甲氧基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

(6.3g, 14mmol) 在二氯甲烷 (60mL) 中的溶液, 并在 25℃ 搅拌 2h。将反应混合物冷却至 0℃, 并用饱和碳酸氢钠 (100mL) 淬灭。分离水层, 并用二氯甲烷 (2x 150mL) 萃取。用盐水 (100mL) 洗涤合并的有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩成粗的灰白色固体。在硅胶上纯化该物质以得到希望的产物 (4.0g, 73%), 为白色固体。C₁₃H₁₂BrFN₅O₄ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 400.0, 402.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.07 (dd, J = 6.2, 2.5Hz, 1H), 7.72-7.68 (m, 1H), 7.59 (dd, J = 8.8, 8.6Hz, 1H), 6.54 (t, J = 5.7Hz, 1H), 4.60 (t, J = 5.1Hz, 1H), 3.48-3.43 (m, 2H), 3.32-3.26 (m, 2H), 1.74-1.67 (m, 2H)。

[0262] 步骤 E: 3-{4-[(3-叠氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

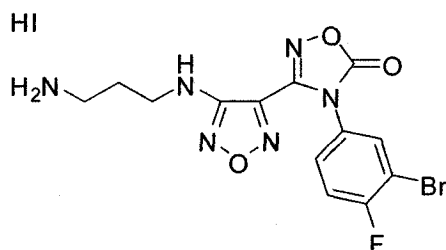
[0263]



[0264] 用甲磺酰氯 (0.75mL, 9.7mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (2.6mL, 15mmol) 处理 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-{4-[(3-羟基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (3.0g, 7.5mmol) 在二氯甲烷 (27mL) 中的溶液, 并在 25℃ 搅拌 2h。用水 (20mL) 稀释反应混合物, 并用二氯甲烷 (20mL) 萃取。分离有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩以得到甲磺酸酯, 其不经进一步纯化地使用。用叠氮化钠 (0.73g, 11mmol) 处理粗甲磺酸酯在 N,N-二甲基甲酰胺 (24mL) 中的溶液, 并在 85℃ 加热 2h。用醋酸乙酯 (300mL) 稀释反应混合物, 并用水 (100mL)、饱和碳酸氢钠 (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩以得到希望的产物 (3.2g, 99%)。该物质不经进一步纯化地使用。C₁₃H₁₀BrFN₈O₃Na 的 LCMS (M+Na)⁺: m/z = 446.9, 448.9。

[0265] 步骤 F: 3-{4-[(3-氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物

[0266]

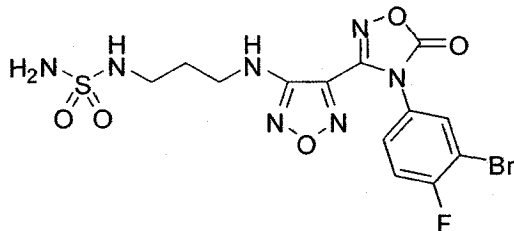


[0267] 用碘化钠 (4.2g, 28mmol) 处理 3-{4-[(3-叠氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (2.0g, 4.7mmol) 在甲醇 (36mL) 中的溶液, 并在 25℃ 搅拌 5min。用氯代三甲基硅烷 (3.6mL, 28mmol) 在甲醇 (7mL) 中的溶液逐滴处理反应混合物, 并在 25℃ 搅拌 40min。将反应混合物缓慢地倒入在 0℃ 冷却的硫代硫酸钠 (5.0g, 32mmol) 在水 (200mL) 中的溶液中。过滤沉淀的固体, 用水洗涤, 并干燥以得到希望的产物 (2.3g, 93%), 为固体。C₁₃H₁₃BrFN₆O₃ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 399.0, 401.0。

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 8.08 (dd, $J = 6.1, 2.3\text{Hz}$, 1H), 7.74–7.70 (m, 1H), 7.60 (dd, $J = 8.8, 8.6\text{Hz}$, 1H), 7.22 (br s, 2H), 6.69 (br s, 1H), 2.81–2.77 (m, 2H), 1.86–1.79 (m, 2H)。

[0268] 步骤 G : N-[3-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)丙基]磺酰胺

[0269]



[0270] 在微波中在 130 °C 加热 3-({4-[4-(3-氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物 (150mg, 0.28mmol) 和磺酰胺 (160mg, 1.7mmol) 在吡啶 (2.5mL) 中的溶液 10min。浓缩反应混合物以得到粗残余物。通过制备 LCMS 纯化该物质以得到希望的产物 (96mg, 71%), 为固体。C₁₃H₁₄BrFN₇O₅S 的 LCMS (M+H)⁺ : m/z = 478.0, 480.0。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 8.07 (dd, $J = 6.2, 2.5\text{Hz}$, 1H), 7.73–7.69 (m, 1H), 7.59 (dd, $J = 8.8, 8.6\text{Hz}$, 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)。

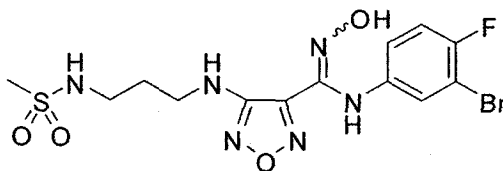
[0271] 步骤 H : 4-({3-[(氨基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0272] 用 2M NaOH (0.3mL, 0.6mmol) 处理 N-[3-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)丙基]磺酰胺 (35mg, 73 μmol) 在甲醇 (1mL) 中的溶液, 并在 25°C 搅拌 30min。用醋酸 (50 μL , 0.9mmol) 处理反应混合物, 过滤, 并通过制备 LCMS 纯化以得到希望的产物 (14mg, 42%), 为固体。C₁₂H₁₆BrFN₇O₄S 的 LCMS (M+H)⁺ : m/z = 451.8, 453.9。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 11.5 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 7.17 (dd, $J = 8.8, 8.6\text{Hz}$, 1H), 7.09 (dd, $J = 6.1, 2.7\text{Hz}$, 1H), 6.76–6.72 (m, 1H), 6.56 (dd, $J = 6.1, 6.1\text{Hz}$, 1H), 6.51 (s, 2H), 6.17 (dd, $J = 5.9, 5.9\text{Hz}$, 1H), 3.27–3.21 (m, 2H), 2.94–2.88 (m, 2H), 1.78–1.71 (m, 2H)。

[0273] 实施例 4

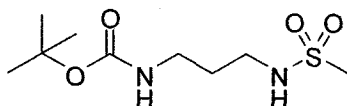
[0274] N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-4-({3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0275]



[0276] 步骤 A : {3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}氨基甲酸叔丁酯

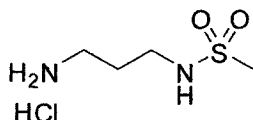
[0277]



[0278] 使用 N-(3-氨基丙基)(叔丁氧基)甲酰胺 [Aldrich 产品号 436992] 作为原料, 根据实施例 17 步骤 A 的程序, 制备希望的化合物, 70% 产率。C₄H₁₃N₂O₂S 的 LCMS ([M-Boc+H]⁺; m/z = 153.1。

[0279] 步骤 B : N-(3-氨基丙基)甲磺酰胺氢氯化物

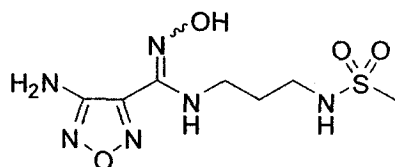
[0280]



[0281] 使用 {3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基} 氨基甲酸叔丁酯作为原料, 根据实施例 17 步骤 B 的程序, 制备希望的化合物。C₄H₁₃N₂O₂S 的 LCMS (M+H)⁺; m/z = 153.1。

[0282] 步骤 C : 4-氨基-N'-羟基-N-{3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}-1,2,5-噁二

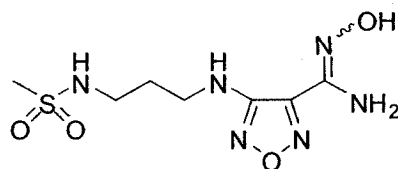
唑-3-甲亚胺酸酰胺



[0283] 使用 N-(3-氨基丙基)甲磺酰胺氢氯化物和 4-氨基-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲酰亚胺氯化物 [根据实施例 1 步骤 A 至 B 制备] 作为原料, 根据实施例 17 步骤 C 的程序, 制备希望的化合物, 19% 产率。

[0284] 步骤 D : N'-羟基-4-({3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0285]



[0286] 使用 4-氨基-N'-羟基-N-{3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺作为原料, 根据实施例 17 步骤 D 的程序, 制备希望的化合物。C₇H₁₅N₆O₄S 的 LCMS (M+H)⁺; m/z = 279.0。

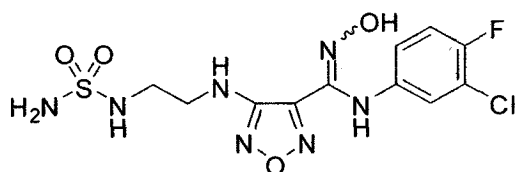
[0287] 步骤 E : N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-4-({3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0288] 使用 N'-羟基-4-({3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺和 3-溴-4-氟苯胺 [Oakwood Products, Inc., 产品号 013091] 作为原料, 根据实施例 17 步骤 E 的程序, 制备标题化合物, 12% 产率。C₁₃H₁₇BrFN₆O₄S 的 LCMS (M+H)⁺; m/z = 451.0, 453.0。¹H NMR (400MHz, CD₃OD): δ 7.12 (dd, J = 5.9, 2.4Hz, 1H), 7.05 (t, J = 8.7Hz, 1H), 6.83 (m, 1H), 3.39 (t, J = 6.8Hz, 2H), 3.14 (t, J = 6.6Hz, 2H), 2.94 (s, 3H), 1.87 (m, 2H)。

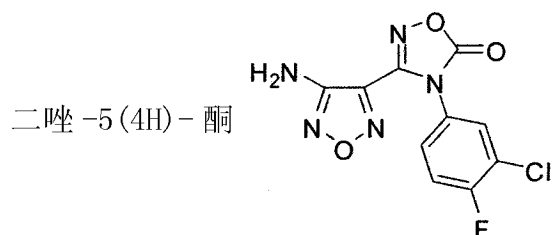
[0289] 实施例 5

[0290] 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-氯-4-氟苯基)-N'-羟基-1,

2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺



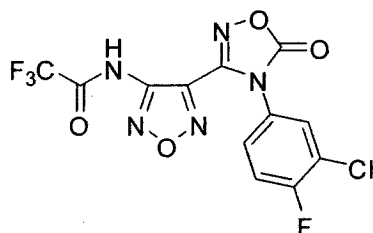
[0291] 步骤 A: 3-(4-氨基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-氯-4-氟苯基)-1,2,4-噁二



[0292] 用 1,1'-羰基二咪唑 (53g, 0.32mol) 在四氢呋喃 (200mL) 中的溶液, 处理 4-氨基-N-(3-氯-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺 (80g, 0.29mol) [参见美国专利申请公开号 2006/0258719] 在四氢呋喃 (500mL) 中的溶液, 并回流加热 1h。将反应混合物冷却至 25℃, 并浓缩至大量固体沉淀出来。用醋酸乙酯 (1.5L) 稀释异质混合物, 并用 1N HCl (2x 300mL)、水 (300mL) 和盐水 (200mL) 洗涤。分离有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩以得到希望的产物 (88g, 定量), 为灰白色固体。该物质不经进一步纯化地使用。C₁₀H₆ClFN₅O₃ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 298.0。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 7.96(dd, J = 6.6, 2.3Hz, 1H), 7.69-7.60(m, 2H), 6.60(s, 2H)。

[0293] 步骤 B: N-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-2,2,2-三氟乙酰胺

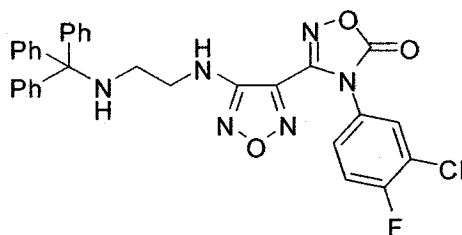
[0294]



[0295] 用 三 氟 乙 酸 酐 (14mL, 100mmol) 处 理 3-(4-氨基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-氯-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (15g, 50mmol) 在二氯甲烷 (120mL) 中的溶液, 冷却至 0℃, 并用吡啶 (8.2mL, 100mmol) 处理。将反应混合物在 25℃ 搅拌 10min, 冷却至 0℃, 并用水 (10mL) 淬灭。用醋酸乙酯 (500mL) 稀释反应混合物, 并用 1N HCl (300mL)、水 (2x 200mL) 和盐水 (200mL) 洗涤。分离有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩至 ~50mL 体积。温热该溶液 (~40-50℃), 并在剧烈搅拌下用己烷 (600mL) 处理, 随后用石油醚 (200mL) 处理。将混合物在 0℃ 搅拌 30min, 通过过滤收集固体, 用己烷洗涤, 并干燥以得到希望的产物 (19.7g, 99%), 为白色固体。C₁₂H₅ClF₄N₅O₄ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 394.0。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 7.82(dd, J = 6.6, 2.5Hz, 1H), 7.59(dd, J = 9.0, 9.0Hz, 1H), 7.52-7.47(m, 1H)。

[0296] 步骤 C: 4-(3-氯-4-氟苯基)-3-(4-{[2-(三苯甲基氨基)乙基]氨基}-1,2,5-噁二唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

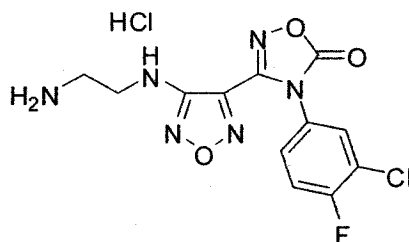
[0297]



[0298] 用偶氮二甲酸二异丙基酯 (7.0mL, 35mmol) 逐滴处理在 0℃ 的 2-(三苯甲基氨基)乙醇 (10g, 33mmol) [EP599220 和 J. Org. Chem. (2001), 66, 7615] 和三苯基膦 (8.7g, 33mmol) 在四氢呋喃 (65mL) 中的溶液。将反应混合物在 0℃ 搅拌 15min, 用 N-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-2,2,2-三氟乙酰胺 (9.3g, 24mmol) 在四氢呋喃 (28mL) 中的溶液处理, 并在 25℃ 搅拌 16h。浓缩反应混合物, 用醋酸乙酯 (350mL) 稀释, 冷却至 0℃, 用 1N HCl (200mL) 处理, 并在 25℃ 搅拌 1h。用额外的 1N HCl (150mL) 处理反应混合物, 并在 25℃ 搅拌 3h。分离有机层, 用饱和碳酸氢钠 (200mL) 和盐水 (100mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩成黄色泡沫, 将其从己烷中再次浓缩以得到油状固体。用甲基叔丁基醚 (50mL) 处理油状固体, 并搅拌以得到异质混合物。过滤固体, 用甲基叔丁基醚 (30mL) 洗涤, 并干燥以得到希望的产物 (10g, 74%), 为白色固体。C₃₁H₂₄ClFN₆O₃Na 的 LCMS (M+Na)⁺: m/z = 605.2。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ 7.97 (dd, J = 6.7, 2.6Hz, 1H), 7.71-7.66 (m, 1H), 7.60 (dd, J = 9.1, 8.8Hz, 1H), 7.40-7.37 (m, 6H), 7.28-7.23 (m, 6H), 7.18-7.12 (m, 3H), 6.59 (dd, J = 5.9, 5.6Hz, 1H), 3.37-3.31 (m, 2H), 2.96 (dd, J = 7.6, 7.6Hz, 1H), 2.27-2.19 (m, 2H)。

[0299] 步骤 D: 3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-氯-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢氯化物

[0300]

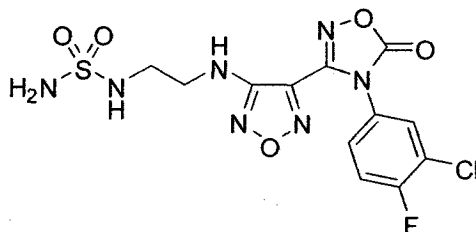


[0301] 将预混合的三异丙基硅烷 (3.4mL, 17mmol) 和三氟乙酸 (44mL, 570mmol) 的溶液加入到 4-(3-氯-4-氟苯基)-3-(4-{[2-(三苯甲基氨基)乙基]氨基}-1,2,5-噁二唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (6.5g, 11mmol) 中, 并将得到的悬浮液在 25℃ 搅拌 30min。过滤反应混合物, 并用三氟乙酸洗涤。将滤液浓缩成油, 用甲醇 (25mL) 稀释, 冷却至 0℃, 用在 1,4-二噁烷 (14mL) 中的 4M HCl 处理, 并在 25℃ 搅拌 15min。将混合物浓缩成固体, 用二乙醚 (50mL) 处理, 并过滤。用二乙醚 (50mL) 洗涤固体, 并干燥以得到希望的产物 (4.1g, 98%), 为白色固体。C₁₂H₁₁ClFN₆O₃ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 341.1。¹H NMR (300MHz,

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)。

[0302] 步骤E: N-[2-({4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]磺酰胺

[0303]



[0304] 用在 0℃ 的叔丁醇 (2.2 mL, 23 mmol) 处理异氰酸氯代磺酰酯 (2.0 mL, 23 mmol) 在二氯甲烷 (70 mL) 中的溶液, 并在 25℃ 搅拌 1 h。将该混合物加入到 3-({4-[4-(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}4-(3-氯-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢氯化物 (4.3 g, 11 mmol) 在二氯甲烷 (70 mL) 中的悬浮液中。用 0℃ 的三乙胺 (6.3 mL, 45 mmol) 在二氯甲烷 (20 mL) 中的溶液处理反应混合物, 并在 25℃ 搅拌 3 h。用 0.1 N HCl 稀释反应混合物, 并用醋酸乙酯 (2x 100 mL) 萃取。用盐水 (100 mL) 洗涤合并的有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩成白色固体。用二氯甲烷 (100 mL) 稀释该白色固体, 用三氟乙酸 (20 mL) 处理, 并在 25℃ 搅拌 3 h。浓缩反应混合物为粗残余物, 通过硅胶色谱法纯化以得到希望的产物 (3.7 g, 78%), 为白色固体。C₁₂H₁₂ClFN₇O₅S 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 420.0。¹H NMR (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)。

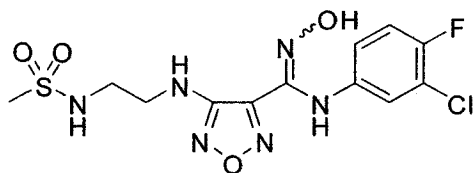
[0305] 步骤F: 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-氯-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0306] 用 2 M NaOH (18 mL, 35 mmol) 处理 N-[2-({4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]磺酰胺 (3.7 g, 8.8 mmol) 在甲醇 (70 mL) 中的溶液, 并在 25℃ 搅拌 2 h。用 6 N HCl 淬灭反应混合物至 pH ~ 7, 并在减压下去除甲醇。过滤沉淀的固体, 并用水洗涤以得到希望的产物 (3.2 g, 92%), 为白色固体。C₁₁H₁₄ClFN₇O₄S 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 394.0。¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) : δ 7.96 (dd, $J = 6.8, 2.1$ Hz, 0.05 H), 7.32–7.29 (m, 0.1 H), 7.18 (dd, $J = 9.1, 9.1$ Hz, 0.95 H), 6.93 (dd, $J = 6.4, 2.7$ Hz, 0.95 H), 6.71–6.66 (m, 0.95 H), 6.33 (br s, 1H), 3.35–3.27 (m, 2H), 3.10–3.06 (m, 2H)。

[0307] 实施例 6

[0308] N-(3-氯-4-氟苯基)-N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

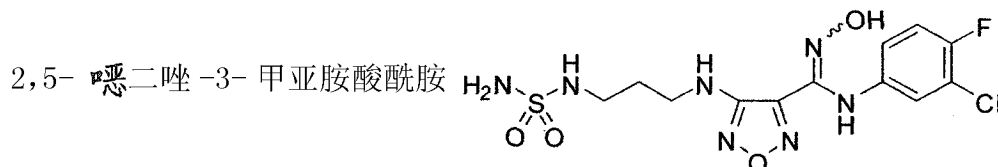
[0309]



[0310] 使用 N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺和 3-氯-4-氟苯胺 [Aldrich, 产品号 228583] 作为原料, 根据实施例 17 步骤 E 的程序, 制备标题化合物。C₁₂H₁₅ClFN₆O₄S 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 393.0。 ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.50 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 7.19 (m, 2H), 6.96 (dd, J = 6.7, 2.5Hz, 1H), 6.71 (m, 1H), 6.26 (t, J = 6.4Hz, 1H), 3.32 (m, 2H), 3.13 (q, J = 5.8Hz, 2H), 2.89 (s, 3H)。

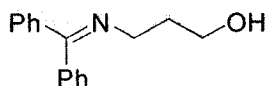
[0311] 实施例 7

[0312] 4-({3-[(氨基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N-(3-氯-4-氟苯基)-N'-羟基-1,



[0313] 步骤 A: 3-[(二苯基亚甲基)氨基]丙-1-醇

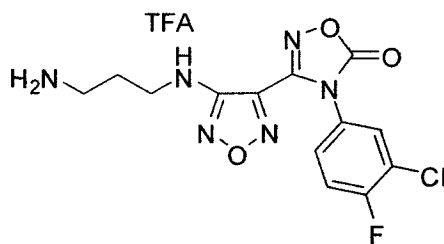
[0314]



[0315] 用二苯甲酮亚胺 (4.4mL, 26mmol) 处理 3-氨基-1-丙醇 [Aldrich 产品号 A76400] (2.0mL, 26mmol) 在二氯甲烷 (79mL) 中的溶液, 并在 25℃ 搅拌 16h。过滤反应混合物, 并浓缩滤液以得到希望的产物 (6.3g, 定量), 为油。该物质不经进一步纯化地使用。C₁₆H₁₈NO 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 240.2。

[0316] 步骤 B: 3-{4-[(3-氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-氯-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮三氟醋酸酯

[0317]



[0318] 用偶氮二甲酸二异丙基酯 (75 μL, 0.38mmol) 逐滴处理 0℃ 的 3-[(二苯基亚甲基)氨基]丙-1-醇 (80mg, 0.33mmol) 和三苯基膦 (93mg, 0.36mmol) 在四氢呋喃 (1mL) 中的溶液。将反应混合物在 0℃ 搅拌 15min, 用 N-{4-[4-(3-氯-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-2,2,2-三氟乙酰胺 (100mg, 0.25mmol) 在四氢呋喃 (0.5mL) 中的溶液处理, 并在 25℃ 搅拌 16h。用三氟乙酸 (1mL) 处理反应混合物, 在 25℃ 搅拌 3h, 并浓缩为粗残余物。通过制备 LCMS 纯化该物质以得到希望的产物 (18mg, 15%)。C₁₃H₁₃ClFN₆O₃ 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 355.1。

[0319] 步骤 C: 4-({3-[(氨基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N-(3-氯-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

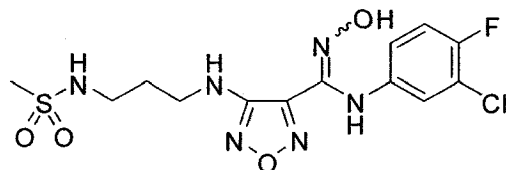
[0320] 使用 3-{4-[(3-氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-氯-4-氟苯基)

基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮三氟醋酸酯作为原料,根据实施例 15 步骤 G 的程序,制备希望的化合物,34%产率。 $C_{12}H_{16}ClFN_7O_4S$ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 408.1。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 8.90(s, 1H), 7.20(dd, J = 9.2, 9.0Hz, 1H), 6.96(dd, J = 6.4, 2.7Hz, 1H), 6.72-6.69(m, 1H), 6.55(t, J = 6.0Hz, 1H), 6.51(s, 2H), 6.16(t, J = 5.9Hz, 1H), 3.28-3.21(m, 2H), 2.93-2.87(m, 2H), 1.76-1.72(m, 2H)。

[0321] 实施例 8

[0322] N-(3-氯-4-氟苯基)-N'-羟基-4-({3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0323]

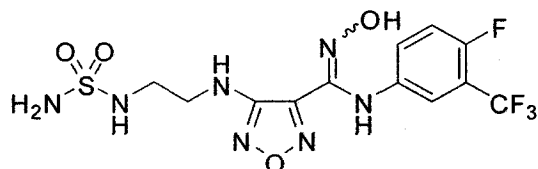


[0324] 使用 N'-羟基-4-({3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺 [根据实施例 4 步骤 A 至 D 制备] 和 3-氯-4-氟苯胺 [Aldrich, 产品号 228583] 作为原料,根据实施例 4 步骤 E 的程序,制备标题化合物,10%产率。 $C_{13}H_{17}ClFN_6O_4S$ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 407.1。¹H NMR(400MHz, CD₃OD): δ 7.06(t, J = 8.9Hz, 1H), 6.98(m, 1H), 6.80(m, 1H), 3.73(m, 2H), 3.28(m, 2H), 2.94(s, 3H), 1.28(m, 2H)。

[0325] 实施例 9

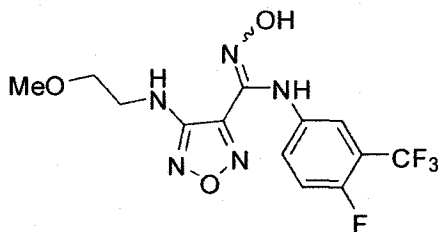
[0326] 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0327]



[0328] 步骤 A: N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

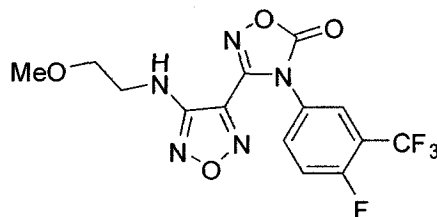
[0329]



[0330] 使用 N-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸氯化物 [根据实施例 1 步骤 A 至 E 制备] 和 3-三氟甲基-4-氟苯胺 [Aldrich, 产品号 217778] 作为原料,根据实施例 13 步骤 A 的程序,制备希望的化合物,定量产率。 $C_{13}H_{14}F_4N_5O_3$ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 364.0。¹H NMR(400MHz, CD₃OD): δ 7.15(m, 2H), 7.08(m, 1H), 3.60(t, J = 5.3Hz, 2H), 3.46(t, J = 5.3Hz, 2H), 3.38(s, 3H)。

[0331] 步骤B: 4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-3-{4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

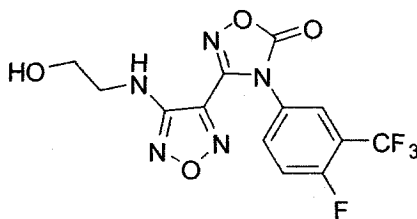
[0332]



[0333] 使用 N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺作为原料,根据实施例 13 步骤 B 的程序,制备希望的化合物,79%产率。 $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4$ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 390.0。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 8.20(dd, J = 6.3, 2.4Hz, 1H), 8.03(m, 1H), 7.76(t, J = 9.5Hz, 1H), 6.41(t, J = 5.7Hz, 1H), 3.49(t, J = 5.5Hz, 2H), 3.39(q, J = 5.7Hz, 2H), 3.25(s, 3H)。

[0334] 步骤C: 4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-3-{4-[(2-羟基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

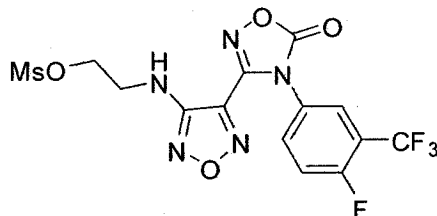
[0335]



[0336] 使用 4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-3-{4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例 13 步骤 C 的程序,制备希望的化合物,99%产率。 $C_{13}H_{10}F_4N_5O_4$ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 376.0。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 8.22(m, 1H), 8.05(m, 1H), 7.76(t, J = 9.9Hz, 1H), 6.34(t, J = 5.7Hz, 1H), 4.87(t, J = 5.2Hz, 1H), 3.56(q, J = 5.5Hz, 2H), 3.29(q, J = 5.7Hz, 2H)。

[0337] 步骤D: 2-[(4-{4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基}-1,2,5-噁二唑-3-基)氨基]乙基甲磺酸酯

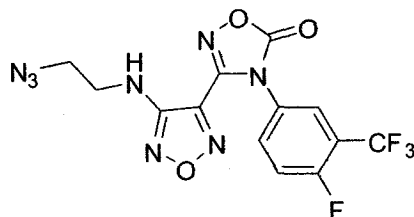
[0338]



[0339] 使用 4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-3-{4-[(2-羟基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例 13 步骤 D 的程序,制备希望的化合物,95%产率。 $C_{14}H_{12}F_4N_5O_6S$ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 454.0。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 8.23(dd, J = 6.5, 2.5Hz, 1H), 8.06(m, 1H), 7.76(t, J = 9.6Hz, 1H), 6.76(t, J = 5.8Hz, 1H), 4.37(t, J = 5.4Hz, 2H), 3.60(q, J = 5.5Hz, 2H), 3.17(s, 3H)。

[0340] 步骤E: 3-{4-[(2-叠氮基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

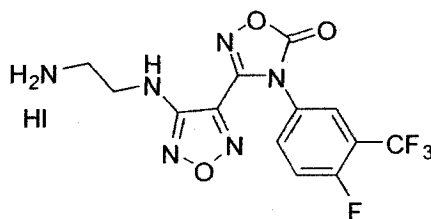
[0341]



[0342] 使用 2-[(4-{4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基}-1,2,5-噁二唑-3-基)氨基]乙基甲磺酸酯作为原料,根据实施例 13 步骤 E 的程序,制备希望的化合物,100%产率。 $C_{13}H_9F_4N_6O_3$ 的 LCMS ($M-N_2+H$)⁺: $m/z = 372.8$ 。¹H NMR (400MHz, 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)。

[0343] 步骤F: 3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物

[0344]



[0345] 使用 3-{4-[(2-叠氮基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例 13 步骤F的程序,制备希望的化合物,80%产率。 $C_{13}H_{11}F_4N_6O_3$ 的 LCMS ($M+H$)⁺: $m/z = 375.0$ 。¹H NMR (400MHz, 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 (br s, 0.4H), 6.68 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 3.42 (q, $J = 5.8$ Hz, 2H), 2.95 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H)。

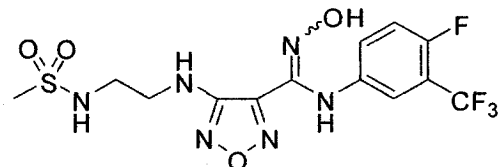
[0346] 步骤G: 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0347] 使用 3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物作为原料,根据实施例 13 步骤G的程序,制备标题化合物,55%产率。 $C_{12}H_{14}F_4N_7O_4S$ 的 LCMS ($M+H$)⁺: $m/z = 428.0$ 。¹H NMR (400MHz, 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)。

[0348] 实施例 10

[0349] N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-N'-羟基-4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0350]

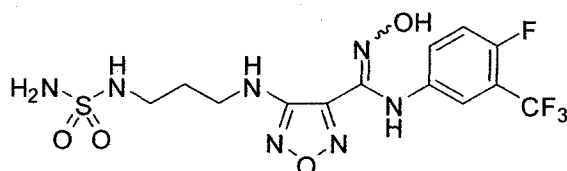


[0351] 使用 N' -羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺和 3-三氟甲基-4-氟苯胺 [Aldrich, 产品号 217778] 作为原料, 根据实施例 17 步骤 E 的程序, 制备标题化合物。C₁₃H₁₅F₄N₆O₄S 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 427.0。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 11.60(s, 1H), 9.07(s, 1H), 7.30(t, J = 10.1Hz, 1H), 7.18(t, J = 6.0Hz, 1H), 7.13(dd, J = 6.0, 2.7Hz, 1H), 7.03(m, 1H), 6.27(t, J = 6.3Hz, 1H), 3.32(m, 2H), 3.13(q, J = 6.0Hz, 2H), 2.89(s, 3H)。

[0352] 实施例 11

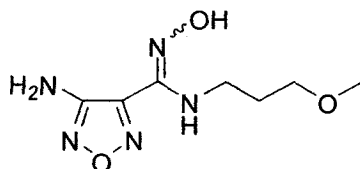
[0353] 4-({3-[(氨基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]- N' -羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0354]



[0355] 步骤 A: 4-氨基- N' -羟基-N-(3-甲氧基丙基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

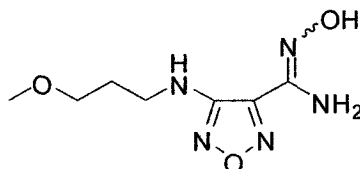
[0356]



[0357] 使用 3-甲氧基-1-丙胺作为原料, 根据实施例 1 步骤 C 的程序, 制备希望的化合物, 93% 产率。C₇H₁₄N₅O₃ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 216.1。

[0358] 步骤 B: N' -羟基-4-[(3-甲氧基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

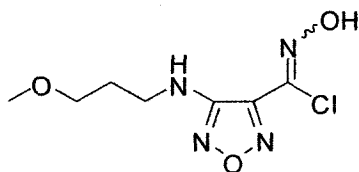
[0359]



[0360] 使用 4-氨基- N' -羟基-N-(3-甲氧基丙基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺作为原料, 根据实施例 1 步骤 D 的程序, 制备希望的化合物, 72% 产率。C₇H₁₄N₅O₃ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 216.1。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆): δ 10.4(s, 1H), 6.21-6.13(m, 3H), 3.37(t, J = 6.1Hz, 2H), 3.28-3.21(m, 5H), 1.82-1.74(m, 2H)。

[0361] 步骤 C: N-羟基-4-[(3-甲氧基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲酰亚胺氯化物

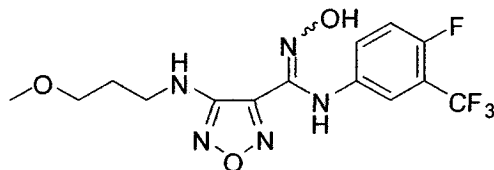
[0362]



[0363] 使用 N'-羟基-4-[(3-甲氧基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺作为原料,根据实施例 1 步骤 E 的程序,制备希望的化合物,定量产率。C₇H₁₂ClN₄O₃ 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 235. 1。

[0364] 步骤 D:N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-N'-羟基-4-[(3-甲氧基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

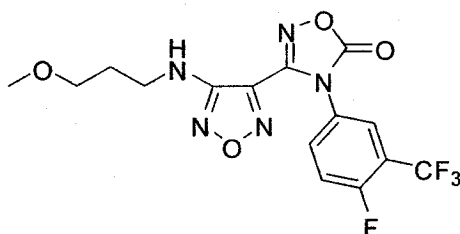
[0365]



[0366] 使用 N-羟基-4-[(3-甲氧基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲酰亚胺氯化物和 4-氟-3-(三氟甲基)苯胺作为原料,根据实施例 1 步骤 F 的程序,制备希望的化合物,87% 产率。C₁₄H₁₆F₄N₅O₃ 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 378. 1。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11. 5 (s, 1H), 9. 05 (s, 1H), 7. 30 (dd, J = 10. 0, 9. 6Hz, 1H), 7. 13-7. 11 (m, 1H), 7. 05-7. 00 (m, 1H), 6. 22 (t, J = 5. 7Hz, 1H), 3. 35-3. 32 (m, 2H), 3. 25-3. 19 (m, 5H), 1. 79-1. 72 (m, 2H)。

[0367] 步骤 E:4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-3-{4-[(3-甲氧基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

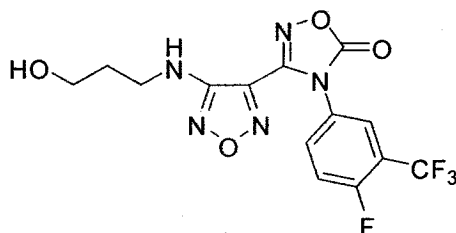
[0368]



[0369] 使用 N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-N'-羟基-4-[(3-甲氧基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺作为原料,根据实施例 1 步骤 G 的程序,制备希望的化合物,定量产率。C₁₅H₁₄F₄N₅O₄ 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 404. 0。

[0370] 步骤 F:4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-3-{4-[(3-羟基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

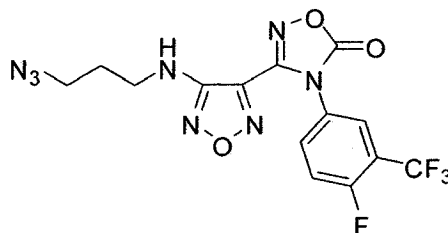
[0371]



[0372] 使用 4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-3-{4-[(3-甲氧基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例 3 步骤 D 的程序,制备希望的化合物,97%产率。 $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4$ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 390.0。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆): δ 8.20(dd, J = 6.4, 2.6Hz, 1H), 8.06-8.01(m, 1H), 7.75(dd, J = 10.0, 9.4Hz, 1H), 6.53(t, J = 5.7Hz, 1H), 4.59(t, J = 5.0Hz, 1H), 3.51-3.42(m, 2H), 3.32-3.26(m, 2H), 1.73-1.68(m, 2H)。

[0373] 步骤 G:3-{4-[(3-叠氮基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

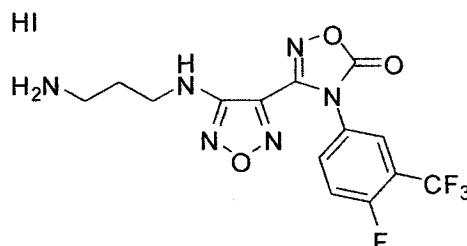
[0374]



[0375] 使用 4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-3-{4-[(3-羟基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例 3 步骤 E 的程序,制备希望的化合物,定量产率。 $C_{14}H_{10}F_4N_5O_3Na$ 的 LCMS(M+Na)⁺:m/z = 437.0。

[0376] 步骤 H:3-{4-[(3-氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物

[0377]



[0378] 使用 3-{4-[(3-叠氮基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例 3 步骤 F 的程序,制备希望的化合物,81%产率。 $C_{14}H_{13}F_4N_6O_3$ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 389.1。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆): δ 8.18(dd, J = 6.4, 2.3Hz, 1H), 8.06-8.01(m, 1H), 7.72(dd, J = 9.7, 9.4Hz, 1H), 7.34(br s, 2H), 6.71(br s, 1H), 2.78-2.73(m, 2H), 1.85-1.75(m, 2H)。

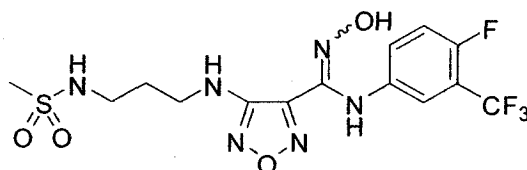
[0379] 步骤 I:4-({3-[(氨基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0380] 使用 3-{4-[(3-氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物作为原料,根据实施例 15 步骤 G 的程序,制备希望的化合物,60%产率。 $C_{13}H_{16}F_4N_7O_4S$ 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 442.0。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆): δ 11.6(s, 1H), 9.08(s, 1H), 7.31(dd, J = 10.0, 9.4Hz, 1H), 7.13(dd, J = 6.4, 2.9Hz, 1H), 7.05-6.99(m, 1H), 6.58(t, J = 6.0Hz, 1H), 6.52(s, 2H), 6.17(t, J = 5.9Hz, 1H), 3.28-3.21(m, 2H), 2.94-2.87(m, 2H), 1.79-1.72(m, 2H)。

[0381] 实施例 12

[0382] N-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-N'-羟基-4-({3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0383]

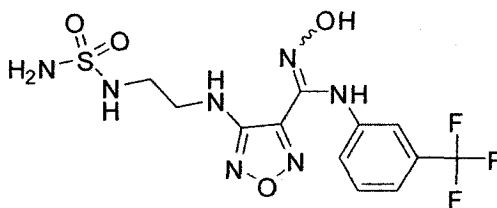


[0384] 使用 3-{4-[(3-氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[4-氟-3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物作为原料,根据实施例 16 的程序,制备希望的化合物,70%产率。 $C_{14}H_{17}F_4N_6O_4S$ 的 LCMS $(M+H)^+$: $m/z = 441.1$ 。 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.6 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 7.30 (dd, $J = 10.0, 9.6$ Hz, 1H), 7.13 (dd, $J = 6.2, 2.5$ Hz, 1H), 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, 3H), 1.76-1.72 (m, 2H)。

[0385] 实施例 13

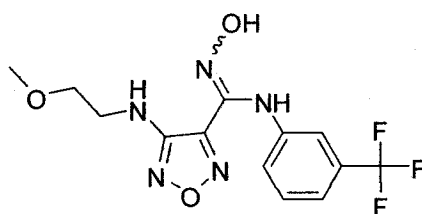
[0386] 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N'-羟基-N-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0387]



[0388] 步骤 A: N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-N-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

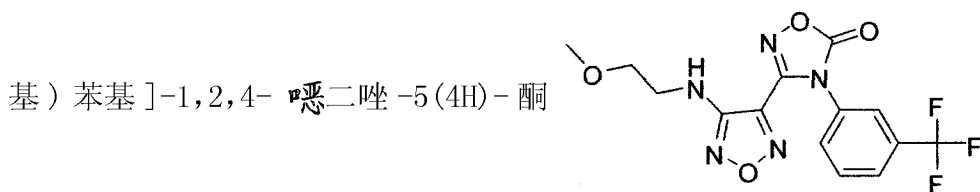
[0389]



[0390] 在水 (10mL) 中搅拌 N-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲酰亚胺氯化物 (1.3g, 5.0mmol) [根据实施例 1 步骤 A 至 E 制备], 并温热至 60°C 5 分钟。一次性加入 3-(三氟甲基)苯胺 [Aldrich, 产品号 A41801] (880mg, 5.5mmol), 将反应物搅拌 15 分钟。在保持在 60°C 的同时, 经 5 分钟逐滴加入碳酸氢钠 (630mg, 7.5mmol) 在水 (10mL) 中的溶液。将反应物在 60°C 搅拌另外 50 分钟, 然后冷却至室温。将醋酸乙酯 (20mL) 和盐水 (30mL) 加入烧瓶中, 并收集有机层。用醋酸乙酯 (2x 20mL) 萃取水层, 合并的有机相经硫酸钠干燥。在真空中去除溶剂以得到希望的产物, 为橙色固体 (1.4g, 80%)。 $C_{13}H_{15}F_3N_5O_3$ 的计算 LCMS $(M+H)^+$: $m/z = 346.1$ 。 1H NMR (400MHz, CD_3OD): δ 7.36 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 7.02 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 3.60 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 3.46 (t, $J =$

5. 2Hz, 2H), 3. 38 (s, 3H)。

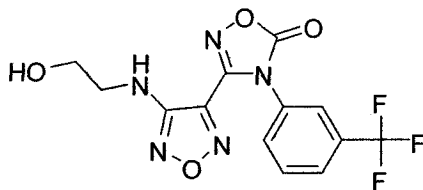
[0391] 步骤 B: 3-{4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲



[0392] 将N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-N-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺 (1.4g, 3.80mmol) 和 1,1'-羰基二咪唑 (1.16g, 7.16mmol) 溶于醋酸乙酯 (20mL) 中。将反应混合物在 70℃ 加热 40 分钟。加入额外的 1,1'-羰基二咪唑 (0.26g, 1.16mmol)。在 70℃ 搅拌另外 50 分钟后, 将反应物冷却至室温。加入醋酸乙酯 (20mL), 在水中的 1N HCl (2x 20mL) 洗涤粗反应物。加入盐水, 以辅助分离第一次洗液。有机层经硫酸钠干燥, 并在真空中浓缩。通过硅胶上的快速色谱法纯化, 其中使用在己烷中的醋酸乙酯洗脱液, 得到希望的产物 (1.3g, 90%)。C₁₄H₁₃F₃N₅O₄ 的计算 LCMS(M+H)⁺: m/z = 372.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.07 (s, 1H), 7.92 (m, 2H), 7.79 (t, J = 8.1Hz, 1H), 6.42 (t, J = 6.0Hz, 1H), 3.47 (t, J = 5.8Hz, 2H), 3.38 (q, J = 5.0Hz, 2H), 3.24 (s, 3H)。

[0393] 步骤 C: 3-{4-[(2-羟基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

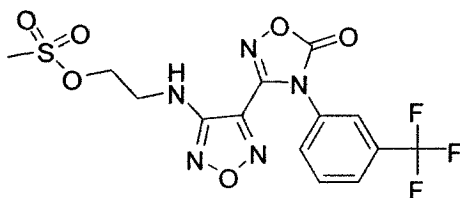
[0394]



[0395] 在氮气氛下, 在圆底烧瓶中, 在二氯甲烷 (11mL) 中搅拌 3-{4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (1.3g, 3.6mmol)。使温度达到 -78℃, 并经 15 分钟逐滴加入 1.0M 三溴化硼在二氯甲烷 (7.9mL, 7.9mmol) 中的溶液。经 45 分钟将反应物温热至室温, 并继续在室温搅拌另外 45 分钟。将反应物冷却至 0℃, 经 15 分钟逐滴加入饱和碳酸氢钠水溶液 (25mL)。温热至室温后, 将醋酸乙酯 (10mL) 和水 (10mL) 加入烧瓶中。收集有机层, 并用醋酸乙酯 (2x 20mL) 萃取水层。合并的有机层经硫酸钠干燥后, 在真空中去除溶剂以得到希望的产物 (1.0g, 81%)。C₁₃H₁₁F₃N₅O₄ 的计算 LCMS(M+H)⁺: m/z = 358.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.08 (s, 1H), 7.93 (t, J = 8.2Hz, 2H), 7.79 (t, J = 8.2Hz, 1H), 6.35 (t, J = 5.7Hz, 1H), 4.86 (br s, 1H), 3.55 (t, J = 6.0Hz, 2H), 3.28 (m, 2H)。

[0396] 步骤 D: 2-[(4-{5-氧-4-[3-(三氟甲基)苯基]-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基}-1,2,5-噁二唑-3-基)氨基]乙基甲磺酸酯

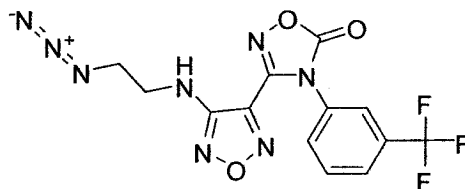
[0397]



[0398] 向 3-{4-[(2-羟基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (1.0g, 2.9mmol) 在醋酸乙酯 (8.5mL) 中的溶液中, 一次性加入甲磺酰氯 (0.29mL, 3.7mmol)。将反应物搅拌 5 分钟, 也一次性加入三乙胺 (0.52mL, 3.7mmol)。搅拌另外 10 分钟后, 通过加入水 (5mL) 淬灭反应。用醋酸乙酯 (2x 5mL) 萃取产物, 经硫酸钠干燥, 并在真空中浓缩以得到希望的产物 (1.2g, 99%)。C₁₄H₁₃F₃N₅O₆S 的计算 LCMS (M+H)⁺: m/z = 436.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.10 (s, 1H), 7.92 (m, 2H), 7.80 (t, J = 8.2Hz, 1H), 6.77 (t, J = 5.9Hz, 1H), 4.36 (t, J = 5.5Hz, 2H), 3.58 (m, 2H), 3.17 (s, 3H)。

[0399] 步骤 E: 3-{4-[(2-叠氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

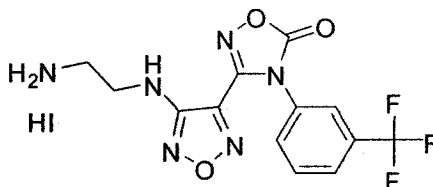
[0400]



[0401] 将 2-[(4-{5-氧-4-[3-(三氟甲基)苯基]-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基}-1,2,5-噁二唑-3-基)氨基]乙基甲磺酸酯 (1.2g, 2.9mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (2.7mL) 中。一次性加入叠氮化钠 (280mg, 4.3mmol) 后, 使温度达到 65℃, 并将反应物搅拌 6 小时。冷却回室温后, 加入水 (10mL) 淬灭反应。用醋酸乙酯 (3x 10mL) 萃取产物, 合并的有机层经硫酸钠干燥。在真空中去除溶剂以得到希望的产物 (1.05g, 96%)。C₁₃H₁₀F₃N₆O₃ 的计算 LCMS (M-N₂+H)⁺: m/z = 355.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.09 (s, 1H), 7.93 (m, 2H), 7.79 (t, J = 8.2Hz, 1H), 6.75 (t, J = 5.8Hz, 1H), 3.52 (t, J = 5.7Hz, 2H), 3.44 (q, J = 5.5Hz, 2H)。

[0402] 步骤 F: 3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物

[0403]



[0404] 向 3-{4-[(2-叠氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (1.05g, 2.8mmol) 在甲醇 (12mL) 中的溶液中, 加入碘化钠 (2.5g, 17mmol)。搅拌 10 分钟后, 经 15 分钟逐滴加入氯代三甲基硅烷 (2.1mL, 17mmol) 在甲醇 (1.41mL) 中的溶液。将反应物继续搅拌 40 分钟, 然后一次性加入硫代硫酸钠 (2.7g, 17mmol) 在水 (12.5mL) 中的溶液。在加入硫代硫酸钠溶液后沉淀出米色固体, 通过真空过

滤进行收集。用水 (2x 10mL) 冲洗固体,并在真空下干燥过夜以得到希望的产物。固体也从滤液中沉淀出来,通过真空过滤进行收集。在漏斗中用水 (3x 10mL) 洗涤后,将产物在真空下干燥过夜。将固体用醋酸乙酯 (3.8mL) 洗涤 1 小时成料浆,并通过过滤重新收集。用醋酸乙酯 (2x 2mL) 冲洗并干燥过夜后,得到额外的产物。得到共计 760mg 希望的产物 (57%), 为氢碘化物盐。C₁₃H₁₂F₃N₆O₃ 的计算 LCMS(M+H)⁺:m/z = 357.1。¹HNMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 8.10(s, 1H), 7.95(m, 2H), 7.81(t, J = 8.1Hz, 1H), 7.68(br s, 2H), 6.74(t, J = 6.7Hz, 1H), 3.49(m, 2H), 3.03(t, J = 6.7Hz, 2H)。

[0405] 步骤 G: 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N'-羟基-N-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

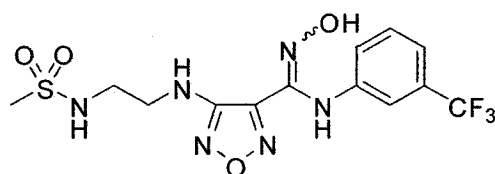
[0406] 向在氮气氛下的 0℃ 的异氰酸氯代磺酰酯 (9.2 μL, 0.11mmol) 在二氯甲烷 (0.24mL) 中的溶液中,逐滴加入叔丁醇 (10 μL, 0.11mmol)。将溶液在室温搅拌 1 小时以得到 [氯代磺酰基]氨基甲酸叔丁酯溶液。

[0407] 在单独的烧瓶中,将 3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物 (26mg, 0.053mmol) 悬浮于二氯甲烷 (0.5mL) 中。建立氮气氛,并使温度达到 0℃。经 5 分钟,将 [氯代磺酰基]氨基甲酸叔丁酯溶液 (如上制备) 加入到搅拌的胺盐悬浮液中。10 分钟后,逐滴加入三乙胺 (37 μL, 0.27mmol)。将反应混合物在室温搅拌 1.5 小时。在真空中浓缩后,用三氟乙酸 (0.5mL, 6mmol) 处理残余物。将其搅拌 1 小时,再次在真空中将混合物浓缩至干燥。将干燥的固体悬浮于甲醇 (0.5mL) 中,并一次性加入在水中的 2.0N NaOH (0.53mL, 1.1mmol)。将反应物加热至 45℃,并搅拌 30 分钟。用醋酸 (60 μL, 1.1mmol) 中和后,通过制备 LCMS 纯化产物以得到希望的产物 (8.5mg, 39%)。C₁₂H₁₅F₃N₇O₄S 的计算 LCMS(M+H)⁺:m/z = 410.0。¹H NMR(400MHz, CD₃OD): δ 7.36(t, J = 7.8Hz, 1H), 7.23(d, J = 7.8Hz, 1H), 7.10(s, 1H), 7.03(d, J = 7.8Hz, 1H), 3.48(m, 2H), 3.29(m, 2H)。

[0408] 实施例 14

[0409] N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0410]



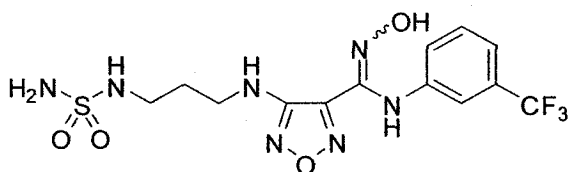
[0411] 使用 N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺和 3-三氟甲基苯胺 [Aldrich, 产品号 A41801] 作为原料,根据实施例 17 步骤 E 的程序,制备标题化合物。C₁₃H₁₆F₃N₆O₄S 的 LCMS(M+H)⁺:m/z = 409.1。¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆): δ 11.63(s, 1H), 9.08(s, 1H), 7.39(t, J = 7.6Hz, 1H), 7.21(m, 2H), 7.10(s, 1H), 6.99(d, J = 8.1Hz, 1H), 6.28(t, J = 5.4Hz, 1H), 3.36(q, J = 5.8Hz, 2H), 3.17(q, J = 5.8Hz, 2H), 2.91(s, 3H)。

[0412] 实施例 15

[0413] 4-({3-[(氨基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N'-羟基-N-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

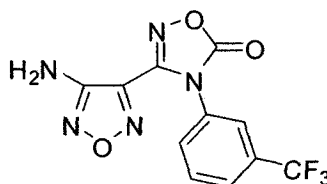
基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0414]



[0415] 步骤 A: 3-(4-氨基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

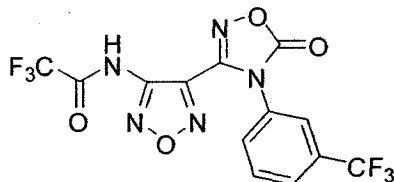
[0416]



[0417] 使用 4-氨基-N'-羟基-N-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺 [参见美国专利申请公开号 2006/0258719] 作为原料, 根据实施例 5 步骤 A 的程序, 制备希望的化合物, 97% 产率。C₁₁H₇F₃N₅O₃ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 314. 1。

[0418] 步骤 B: 2,2,2-三氟-N-(4-{5-氧-4-[3-(三氟甲基)苯基]-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基}-1,2,5-噁二唑-3-基)乙酰胺

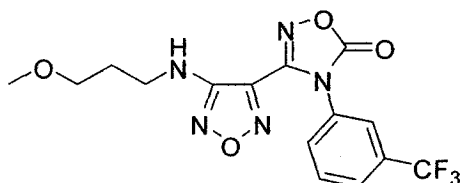
[0419]



[0420] 使用 3-(4-氨基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮作为原料, 根据实施例 5 步骤 B 的程序, 制备希望的化合物, 90% 产率。C₁₃H₆F₆N₅O₄ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 410. 0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 7.91-7.88 (m, 2H), 7.76-7.69 (m, 2H)。

[0421] 步骤 C: 3-{4-[(3-甲氧基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

[0422]

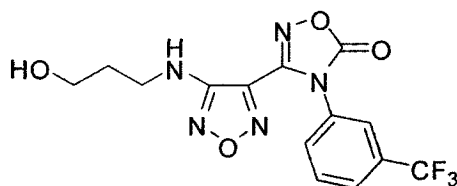


[0423] 使用 2,2,2-三氟-N-(4-{5-氧-4-[3-(三氟甲基)苯基]-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基}-1,2,5-噁二唑-3-基)乙酰胺作为原料, 根据实施例 3 步骤 C 的程序, 制备希望的化合物, 49% 产率。C₁₅H₁₅F₃N₅O₄ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 386. 1。¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ 7.83 (d, J = 8.1Hz, 1H), 7.72-7.67 (m, 2H), 7.59 (d, J = 7.5Hz, 1H), 6.08-6.04 (m, 1H),

3.57 (t, J = 5.6Hz, 2H), 3.54-3.47 (m, 2H), 3.40 (s, 3H), 2.01-1.93 (m, 2H)。

[0424] 步骤D: 3-{4-[(3-羟基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

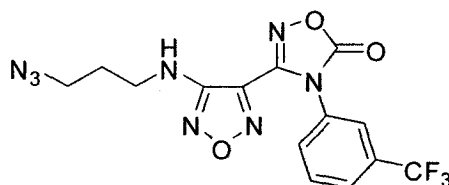
[0425]



[0426] 使用 3-{4-[(3-甲氧基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例3步骤D的程序,制备希望的化合物,69%产率。 $C_{14}H_{13}F_3N_5O_4$ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 372.1。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.07 (s, 1H), 7.95-7.90 (m, 2H), 7.79 (dd, J = 7.9, 7.9Hz, 1H), 6.55 (t, J = 5.6Hz, 1H), 4.59 (t, J = 5.1Hz, 1H), 3.47-3.42 (m, 2H), 3.30-3.25 (m, 2H), 1.72-1.65 (m, 2H)。

[0427] 步骤E: 3-{4-[(3-叠氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

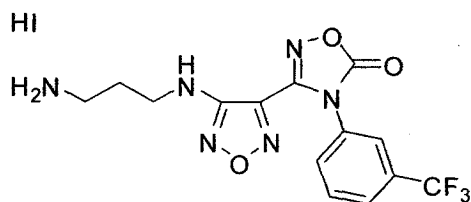
[0428]



[0429] 使用 3-{4-[(3-羟基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例3步骤E的程序,制备希望的化合物,92%产率。 $C_{14}H_{11}F_3N_8O_3Na$ 的 LCMS (M+Na)⁺: m/z = 419.0。

[0430] 步骤F: 3-{4-[(3-氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物

[0431]



[0432] 使用 3-{4-[(3-叠氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例3步骤F的程序,制备希望的化合物,92%产率。 $C_{14}H_{14}F_3N_6O_3$ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 371.1。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.09 (s, 1H), 7.96-7.92 (m, 2H), 7.80 (dd, J = 8.0, 7.8Hz, 1H), 7.53 (br s, 2H), 6.70-6.65 (m, 1H), 4.10 (br s, 1H), 3.32-3.31 (m, 2H), 2.81-2.78 (m, 2H), 1.85-1.82 (m, 2H)。

[0433] 步骤G: 4-({3-[(氨基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N'-羟基-N-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

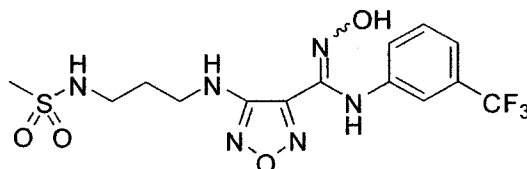
[0434] 将 3-{4-[(3-氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例3步骤G的程序,制备希望的化合物,92%产率。 $C_{14}H_{14}F_3N_6O_3$ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 371.1。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.09 (s, 1H), 7.96-7.92 (m, 2H), 7.80 (dd, J = 8.0, 7.8Hz, 1H), 7.53 (br s, 2H), 6.70-6.65 (m, 1H), 4.10 (br s, 1H), 3.32-3.31 (m, 2H), 2.81-2.78 (m, 2H), 1.85-1.82 (m, 2H)。

基]-1,2,4- 噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物 (1.5g, 3.0mmol) 和磺酰胺 (1.7g, 18mmol) 在吡啶 (60mL) 中的溶液在微波中在 130℃ 加热 10min。浓缩反应混合物以得到粗中间体 N-{3-[4-{5-氧-4-[3-(三氟甲基)苯基]-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基}-1,2,5-噁二唑-3-基)氨基]丙基}磺酰胺。用 2N NaOH (12mL, 24mmol) 处理粗中间体在甲醇 (90mL) 中的溶液, 并在 25℃ 搅拌 30min。用 6M HCl 处理反应混合物, 直到溶液呈酸性, 并用醋酸乙酯 (250mL) 萃取。用水 (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩以得到粗残余物。通过制备 LCMS 纯化该物质以得到希望的产物 (1.1g, 82%), 为粘性固体。C₁₃H₁₇F₃N₇O₄S 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 424.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.6 (s, 1H), 9.12 (s, 1H), 7.37 (dd, J = 8.0, 8.0Hz, 1H), 7.21-7.18 (m, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.95 (d, J = 10.0Hz, 1H), 6.52 (br s, 3H), 6.17 (t, J = 6.0Hz, 1H), 3.28-3.22 (m, 2H), 2.93-2.89 (m, 2H), 1.77-1.73 (m, 2H)。

[0435] 实施例 16

[0436] N'-羟基-4-({3-[(甲基磺酰基)氨基]丙基}氨基)-N-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

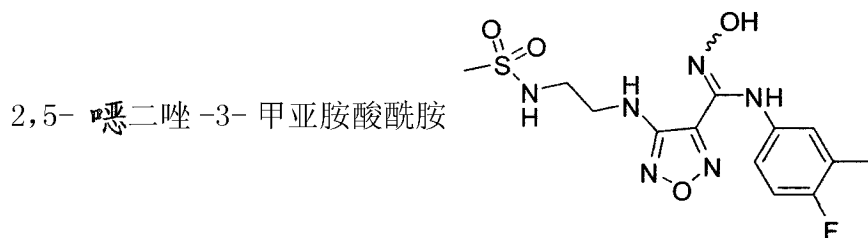
[0437]



[0438] 用三乙胺 (17 μL, 0.12mmol) 和甲磺酰氯 (6 μL, 70 μmol) 处理 3-{4-[(3-氨基丙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物 (来自实施例 15, 步骤 F; 25mg, 50 μmol) 在二氯甲烷 (1mL) 中的溶液, 并在 25℃ 搅拌 2h。浓缩反应混合物以得到中间体 N-{3-[4-{5-氧-4-[3-(三氟甲基)苯基]-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基}-1,2,5-噁二唑-3-基)氨基]丙基}甲磺酰胺, 为粗残余物, 其不经进一步纯化地使用。用 2N NaOH (0.25mL, 0.5mmol) 处理粗中间体在甲醇 (1mL) 中的溶液, 并在 25℃ 搅拌 30min。用醋酸 (50 μL, 0.9mmol) 处理反应混合物, 过滤, 并通过制备 LCMS 纯化以得到希望的产物 (13mg, 65%), 为固体。C₁₄H₁₈F₃N₆O₄S 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 423.1。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.6 (s, 1H), 9.11 (s, 1H), 7.37 (dd, J = 8.0, 8.0Hz, 1H), 7.20 (d, J = 7.8Hz, 1H), 7.07-7.01 (m, 2H), 6.96 (d, J = 8.0Hz, 1H), 6.20 (t, J = 5.9Hz, 1H), 3.27-3.22 (m, 2H), 2.99-2.94 (m, 2H), 2.87 (s, 3H), 1.78-1.71 (m, 2H)。

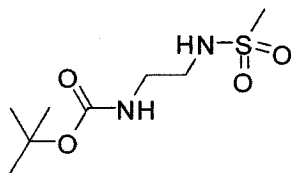
[0439] 实施例 17

[0440] N-(4-氟-3-甲基苯基)-N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺



[0441] 步骤 A: {2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基甲酸叔丁酯

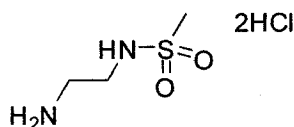
[0442]



[0443] 在二氯甲烷 (320mL) 中搅拌 N-(2-氨基乙基)(叔丁氧基)甲酰胺 (17.5mL, 0.11mol) [Alfa#L19947], 并加入三乙胺 (33mL, 0.24mol)。加入甲磺酰氯 (8.5mL, 0.11mol) 在二氯甲烷 (10mL) 中的溶液。将得到的混合物搅拌 1 小时, 并加入水 (30mL)。用二氯甲烷 (3x 30mL) 萃取产物, 经硫酸钠干燥, 并在真空中浓缩以得到希望的产物 (21g, 81%)。 $C_3H_{11}N_2O_2S$ 的计算 LCMS(M-Boc+H)⁺:m/z = 139.1。

[0444] 步骤 B :N-(2-氨基乙基)甲磺酰胺二氢氯化物

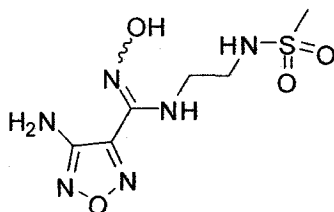
[0445]



[0446] 在 4N 氯化氢的 1,4-二噁烷溶液 (97mL, 388mmol) 中, 搅拌 {2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基甲酸叔丁酯 (21g, 88mmol) 30 分钟。与醋酸乙酯和己烷一起研磨, 随后与二乙醚和己烷一起研磨, 得到希望的化合物, 为胶质 (19g, 100%)。 $C_3H_{11}N_2O_2S$ 的计算 LCMS(M+H)⁺:m/z = 139.0。

[0447] 步骤 C :4-氨基-N'-羟基-N-{2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

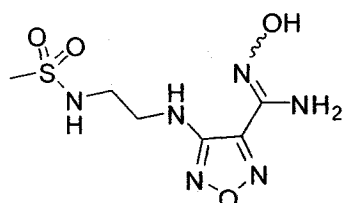
[0448]



[0449] 在乙醇 (460mL) 中搅拌 4-氨基-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲酰亚胺氯化物 (9.7g, 60mmol), 分份缓慢地加入 N-(2-氨基乙基)甲磺酰胺二氢氯化物 (19g, 109mmol), 温度升高至 25℃。冷却回 0℃后, 经 15 分钟逐滴加入三乙胺 (53mL, 380mmol), 并将反应物搅拌另外 15 分钟。用水 (300mL) 和盐水 (300mL) 洗涤溶液。有机层经硫酸钠干燥, 并在真空中浓缩以得到希望的产物 (16g, 100%)。 $C_6H_{13}N_6O_4S$ 的计算 LCMS(M+H)⁺:m/z = 265.1。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): 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)。

[0450] 步骤 D :N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二

唑-3-甲亚胺酸酰胺



[0451] 在 1,2-乙二醇 (38mL) 中搅拌 4-氨基-N'-羟基-N-{2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺 (0.47g, 1.8mmol)。一次性加入氢氧化钾 (600g, 11mmol)。将反应物在 130℃ 加热 4 小时, 并冷却至室温。加入 1N HCl 溶液 (60mL), 并用醋酸乙酯 (4x 40mL) 萃取产物。合并的有机相经硫酸钠干燥, 并在真空中浓缩以得到希望的产物 (0.45g, 96%)。C₆H₁₂N₆O₄S 的计算 LCMS (M+H)⁺: m/z = 265.1。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 10.49 (s, 1H), 7.18 (m, 1H), 6.20 (m, 3H), 3.36 (m, 2H), 3.15 (m, 2H), 2.87 (s, 3H)。

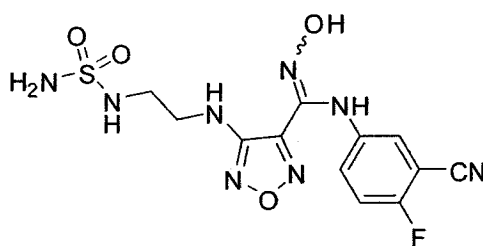
[0452] 步骤 E: N-(4-氟-3-甲基苯基)-N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0453] 在 1,4-二噁烷 (2mL) 中搅拌 N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺 (35mg, 0.13mmol), 并加入 6N 氯化氢溶液 (4mL)。将溶液冷却至 0℃, 缓慢地加入亚硝酸钠 (11mg, 0.16mmol) 在水 (3mL) 中的溶液。将混合物在 0℃ 搅拌 1 小时, 并蒸发。加入干燥的 1,4-二噁烷 (2mL), 将混合物蒸发另外 2 次。加入 4-氟-3-甲基苯胺 [Aldrich, 产品号 559415] (25mg, 0.20mmol) 在乙醇 (2mL) 中的溶液, 将混合物搅拌 1 小时。通过制备 LCMS (pH2) 纯化以得到希望的化合物 (17mg, 27%)。C₁₃H₁₈FN₆O₄S 的计算 LCMS (M+H)⁺: m/z = 373.1。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): 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)。

[0454] 实施例 18

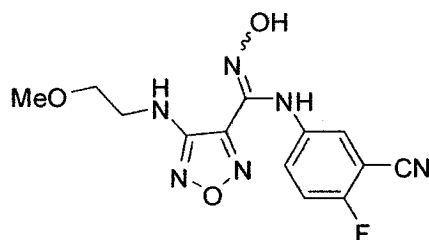
[0455] 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-氰基-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0456]



[0457] 步骤 A: N-(3-氰基-4-氟苯基)-N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

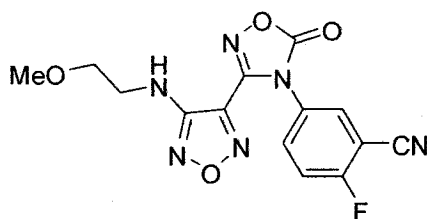
[0458]



[0459] 使用 N-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲酰亚胺氯化物 [根据实施例 1 步骤 A 至 E 制备] 和 5-氨基-2-氟苄腈 [Aldrich, 产品号 639877] 作为原料, 根据实施例 13 步骤 A 的程序, 制备希望的化合物, 100% 产率。C₁₃H₁₄FN₆O₃ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 321.0。

[0460] 步骤 B: 2-氟-5-[3-{4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-5-氧-1,2,4-噁二唑-4(5H)-基]苄腈

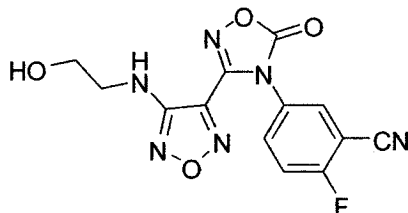
[0461]



[0462] 使用 N-(3-氰基-4-氟苯基)-N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲酰亚胺酰胺作为原料, 根据实施例 13 步骤 B 的程序, 制备希望的化合物, 91% 产率。C₁₄H₁₂FN₆O₄ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 347.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.25 (dd, J = 5.7, 2.6Hz, 1H), 8.06 (m, 1H), 7.77 (t, J = 9.2Hz, 1H), 6.41 (t, J = 5.7Hz, 1H), 3.48 (m, 2H), 3.40 (q, J = 5.4Hz, 2H), 3.25 (s, 3H)。

[0463] 步骤 C: 2-氟-5-[3-{4-[(2-羟基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-5-氧-1,2,4-噁二唑-4(5H)-基]苄腈

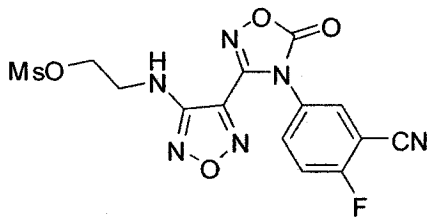
[0464]



[0465] 使用 2-氟-5-[3-{4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-5-氧-1,2,4-噁二唑-4(5H)-基]苄腈作为原料, 根据实施例 13 步骤 C 的程序, 制备希望的化合物, 定量产率。C₁₃H₁₀FN₆O₄ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 333.0。

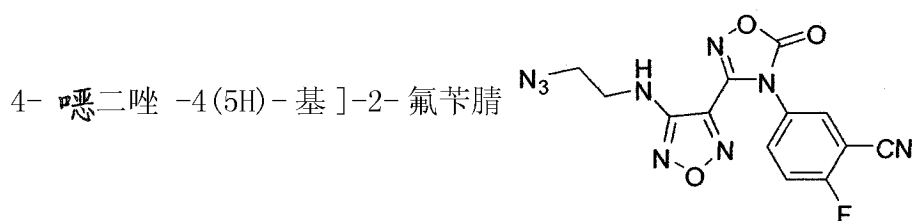
[0466] 步骤 D: 2-({4-[4-(3-氰基-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基甲磺酸酯

[0467]



[0468] 使用 2-氟-5-[3-{4-[(2-羟基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-5-氧-1,2,4-噁二唑-4(5H)-基]苄腈作为原料, 根据实施例 13 步骤 D 的程序, 制备希望的化合物, 88% 产率。C₁₄H₁₂FN₆O₆S 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 411.0。

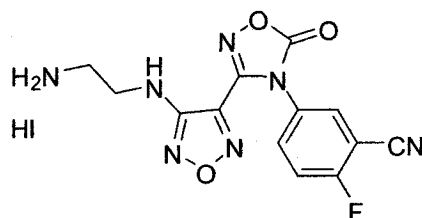
[0469] 步骤 E :5-[3-{4-[(2-叠氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-5-氧-1,2,



[0470] 使用 2-({4-[4-(3-氰基-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基甲磺酸酯作为原料,根据实施例 13 步骤 E 的程序,制备希望的化合物,95%产率。

[0471] 步骤 F :5-[3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-5-氧-1,2,4-噁二唑-4(5H)-基]-2-氟苄腈氢碘化物

[0472]



[0473] 使用 5-[3-{4-[(2-叠氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-5-氧-1,2,4-噁二唑-4(5H)-基]-2-氟苄腈作为原料,根据实施例 13 步骤 F 的程序,制备希望的化合物,57%产率。 $C_{13}H_{11}FN_7O_3$ 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 332.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.29 (dd, J = 5.8, 2.7Hz, 1H), 8.09 (m, 1H), 7.83 (br s, 3H), 7.79 (t, J = 9.0Hz, 1H), 6.77 (t, J = 5.9Hz, 1H), 3.50 (q, J = 6.4Hz, 2H), 3.04 (m, 2H)。

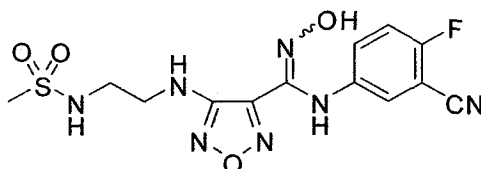
[0474] 步骤 G :4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-氰基-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0475] 在微波瓶中,将 5-[3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-5-氧-1,2,4-噁二唑-4(5H)-基]-2-氟苄腈氢碘化物 (20.0mg, 0.044mmol) 和磺酰胺 (25mg, 0.26mmol) 悬浮于吡啶 (0.5mL) 中。在微波反应器中将反应物加热至 120℃ 10 分钟。去除溶剂,将残余物溶于甲醇 (0.17mL) 中。一次性加入 2.0N NaOH 在水中的溶液 (0.22mL, 0.44mmol)。将反应物在室温搅拌过夜。用醋酸 (50 μL) 中和后,使用制备 LCMS 纯化产物以得到标题化合物 (4.9mg, 29%)。 $C_{12}H_{14}FN_8O_4S$ 的 LCMS (M+H)⁺:m/z = 385.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.65 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.34 (t, J = 9.1Hz, 1H), 7.22 (dd, J = 5.4, 2.8Hz, 1H), 7.13 (m, 1H), 6.70 (t, J = 5.9Hz, 1H), 6.59 (s, 2H), 6.20 (t, J = 6.1Hz, 1H), 3.34 (m, 2H), 3.09 (m, 2H)。

[0476] 实施例 19

[0477] N-(3-氰基-4-氟苯基)-N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0478]

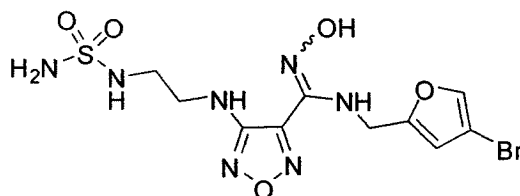


[0479] 使用 N'-羟基-4-({2-[(甲基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺和 3-氰基-4-氟苯胺 [Aldrich, 产品号 639877] 作为原料, 根据实施例 17 步骤 E 的程序, 制备标题化合物。C₁₃H₁₄FN₇NaO₄S 的 LCMS (M+Na)⁺: m/z = 406.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.65 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.35 (m, 1H), 7.18 (m, 3H), 6.56 (m, 1H), 6.23 (m, 1H), 6.24 (s, 2H), 3.32 (m, 2H), 3.14 (m, 2H), 2.89 (s, 3H)。

[0480] 实施例 20

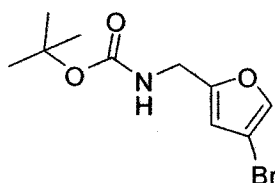
[0481] 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0482]



[0483] 步骤 A: [(4-溴-2-呋喃基)甲基]氨基甲酸叔丁酯

[0484]

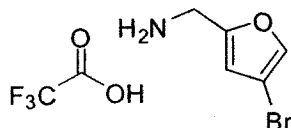


[0485] 将 4-溴-2-糠醛 [Aldrich, 产品号 666599] (10.0g, 57.1mmol) 溶于乙醇 (50 mL) 和水 (50mL) 中。依次加入 N-羟基胺氢氯化物 (7.15g, 103mmol) 和醋酸钠 (8.44g, 103mmol), 并使反应混合物在 100°C 回流 1 小时。将溶液部分地浓缩, 收集沉淀物, 并用冷水 (2x 10mL) 洗涤。用醋酸乙酯 (3x 25mL) 萃取滤液, 用盐水 (50mL) 洗涤合并的有机层。经硫酸钠干燥后, 在真空中浓缩溶液。将残余物与沉淀物合并, 并溶于醋酸 (70mL) 中。放入冰浴中以后, 经 25 分钟份加入锌 (14.7g, 225mmol)。经 1.5 小时使反应物温热至室温, 并通过硅藻土过滤。在真空中去除溶剂。

[0486] 在四氢呋喃 (72mL) 中搅拌残余物。经 45 分钟逐滴加入 2.0N NaOH 在水中的溶液 (179mL, 358mmol)。5 分钟后, 逐滴加入二碳酸二叔丁酯 (16.9g, 77.4mmol)。将反应物搅拌 2 小时, 并在真空中去除四氢呋喃。加入醋酸乙酯 (100mL), 过滤悬浮液。收集有机层, 用醋酸乙酯 (2x 50mL) 萃取产物。用盐水 (100mL) 和水 (100mL) 洗涤合并的有机层, 经硫酸钠干燥, 并在真空中浓缩以得到希望的产物 (15.3g, 79%)。C₁₀H₁₄BrNNaO₃ 的计算 LCMS (M+Na)⁺: m/z = 298.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 7.79 (s, 1H), 7.37 (t, J = 5.8Hz, 1H), 6.33 (s, 1H), 4.06 (d, J = 6.1Hz, 2H), 1.36 (s, 9H)。

[0487] 步骤 B: 1-(4-溴-2-呋喃基)甲胺三氟醋酸酯

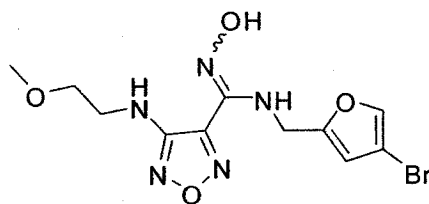
[0488]



[0489] 在氮气氛围下,经 15 分钟用三氟乙酸 (43mL) 处理 0℃ 的 [(4-溴-2-呋喃基)甲基]氨基甲酸叔丁酯 (15.3g, 55.4mmol) 在二氯甲烷 (86mL) 中的溶液。经 30 分钟,将反应混合物温热至室温。在真空中去除溶剂,并用甲苯 (3x 50mL) 洗涤。将产物冻干 18 小时以得到希望的产物,为褐色固体 (13.0g, 81%)。C₅H₄BrO 的计算 LCMS (M-NH₂)⁺: m/z = 158.9, 160.9。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.34 (br s, 3H), 8.01 (s, 1H), 6.70 (s, 1H), 4.08 (s, 1H)。

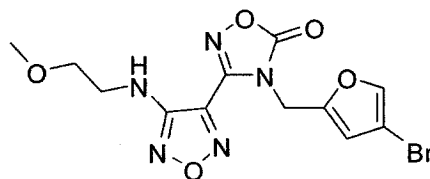
[0490] 步骤 C: N-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0491]



[0492] 在室温在乙醇 (20mL) 中搅拌 N-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-carbimidoyl 氯化物 [根据实施例 1 步骤 A 至 E 的程序制备] (4.5g, 20.3mmol)。向其中加入 1-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]胺三氟醋酸酯 (6.5g, 22.4mmol) 在乙醇 (24mL) 中的溶液,将混合物搅拌 15 分钟。经 10 分钟逐滴加入三乙胺 (6.3mL, 44.8mmol),并将反应物搅拌另外 15 分钟。在真空中去除溶剂,加入水 (50mL) 后,用醋酸乙酯 (3x 50mL) 萃取产物。用盐水 (50mL) 洗涤合并的有机层,经硫酸钠干燥,并浓缩以得到希望的产物 (7.5g, 100%)。C₁₁H₁₅BrN₅O₄ 的计算 LCMS (M+H)⁺: m/z = 359.9, 361.9。

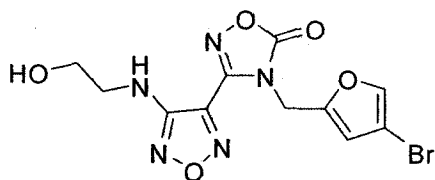
[0493] 步骤 D: 4-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-3-{4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮



[0494] 将 N-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺 (7.3g, 20.4mmol) 和 1,1'-羰基二咪唑 (5.0g, 30.5mmol) 溶于醋酸乙酯 (72mL) 中。将反应混合物在 65℃ 加热 15 分钟。加入醋酸乙酯 (70mL),用 0.1N 氯化氢水溶液 (2x 70mL) 洗涤粗反应物。有机层经硫酸钠干燥,并在真空中浓缩。通过硅胶上的快速色谱法纯化,其中使用在己烷中的醋酸乙酯洗脱液,得到希望的产物 (4.1g, 90%)。C₁₂H₁₃BrN₅O₅ 的计算 LCMS (M+H)⁺: m/z = 386.0, 388.0。¹H NMR (400MHz, CD₃OD): δ 7.88 (s, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.39 (t, J = 5.7Hz, 1H), 5.07 (s, 2H), 3.50 (m, 2H), 3.41 (q, J = 5.7Hz, 2H), 3.25 (s, 3H)。

[0495] 步骤 E: 4-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-3-{4-[(2-羟基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

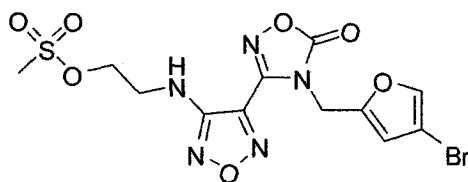
[0496]



[0497] 在氮气氛围下,在圆底烧瓶中,在二氯甲烷 (68mL) 中搅拌 4-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-3-{4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (8.2g, 21mmol)。使温度达到 -78°C , 并经 45 分钟逐滴加入 1.0M 三溴化硼在二氯甲烷中的溶液 (43mL, 43mmol)。在 -78°C 搅拌反应物 45 分钟, 并继续在 0°C 搅拌另外 30 分钟。在保持 0°C 的同时, 经 25 分钟逐滴加入饱和碳酸氢钠水溶液 (120mL)。温热至室温后, 收集有机层, 用醋酸乙酯 (2x 50mL) 萃取水层。用盐水 (100mL) 洗涤合并的有机层, 经硫酸钠干燥, 并在真空中浓缩以得到希望的产物 (7.7g, 97%) 以及少量 3-{4-[(2-溴乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮。 $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{BrN}_5\text{O}_5$ 的计算 LCMS $(\text{M}+\text{H})^+ : m/z = 371.7, 374.0$ 。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 7.89 (s, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.31 (t, $J = 5.8\text{Hz}$, 1H), 5.08 (s, 2H), 4.85 (br s, 1H), 3.56 (m, 2H), 3.30 (q, $J = 5.6\text{Hz}$, 2H)。

[0498] 步骤 F: 2-[(4-{4-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基}-1,2,5-噁二唑-3-基)氨基]乙基甲磺酸酯

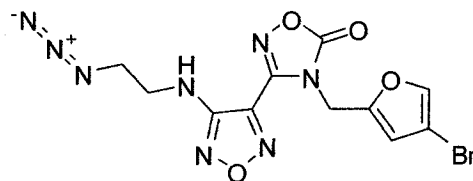
[0499]



[0500] 向 4-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-3-{4-[(2-羟基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (7.7g, 21mmol, 也含有一些对应的溴-化合物) 在醋酸乙酯 (100mL) 中的溶液中, 一次性加入甲磺酰氯 (0.96mL, 12mmol)。将反应物搅拌 5 分钟, 也一次性加入三乙胺 (1.6mL, 11mmol)。搅拌 30 分钟后, 加入额外的甲磺酰氯 (0.4mL, 5mmol), 在 5 分钟后, 加入三乙胺 (0.58mL, 4.2mmol)。15 分钟后, 通过加入水 (100mL) 淬灭反应。用醋酸乙酯 (3x 50mL) 萃取产物, 并用盐水 (100mL) 洗涤合并的有机层。经硫酸钠干燥后, 在真空中去除溶剂以得到希望的产物 (9.3g, 100%)。 $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{BrN}_5\text{O}_7\text{S}$ 的计算 LCMS $(\text{M}+\text{H})^+ : m/z = 449.8, 451.8$ 。 ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 7.88 (s, 1H), 6.73 (t, $J = 6.2\text{Hz}$, 1H), 6.68 (s, 1H), 5.08 (s, 2H), 4.37 (m, 2H), 3.59 (q, $J = 5.8\text{Hz}$, 2H), 3.16 (s, 3H)。

[0501] 步骤 G: 3-{4-[(2-叠氮基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

[0502]

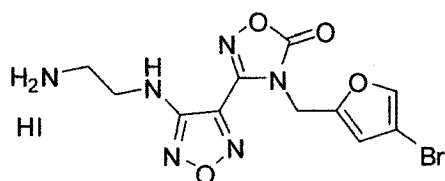


[0503] 将 2-[(4-{4-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二

唑-3-基}-1,2,5-噁二唑-3-基)氨基]乙基甲磺酸酯(9.1g,20mmol,也含有一些对应的溴-化合物)溶于二甲基甲酰胺(90mL)中。一次性加入叠氮化钠(1.97g,30.3mmol),在5分钟后,使温度达到65℃。将反应物搅拌2小时,并冷却回室温。加入水(200mL)以淬灭反应。用醋酸乙酯(3x 100mL)萃取产物,并用盐水(2x 150mL)和水(150mL)洗涤合并的有机层。经硫酸钠干燥后,在真空中去除溶剂以得到希望的产物(7.7g,96%)。C₁₁H₉BrN₈NaO₄的计算LCMS(M+Na)⁺:m/z = 418.7,421.0。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ 7.88(s,1H),6.71(t,J = 5.7Hz,1H),6.68(s,1H),5.08(s,2H),3.54(t,J = 5.7Hz,2H),3.47(q,J = 5.7Hz,2H)。

[0504] 步骤H:3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物

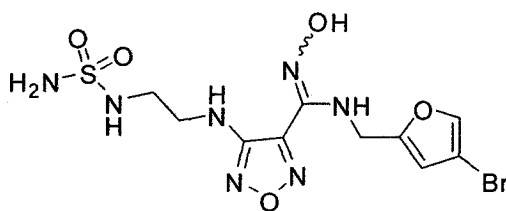
[0505]



[0506] 向3-{4-[(2-叠氮基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮(7.7g,19mmol)在甲醇(80mL)中的溶液中,加入碘化钠(17.4g,116mmol)。搅拌10分钟后,经5分钟逐滴加入氯代三甲基硅烷溶液(14.8mL,116mmol)。将反应物继续搅拌1小时,然后缓慢加入到0℃的硫代硫酸钠(23.0g,145mmol)在水(800mL)中的溶液中,形成沉淀物。用甲醇(10mL)冲洗烧瓶,并通过真空过滤收集沉淀物。用冷水(2x 25mL)冲洗固体,并在真空下干燥以得到希望的产物(5.8g,60%),为氢碘化物盐。C₁₁H₁₂BrN₆O₄的计算LCMS(M+H)⁺:m/z = 370.9,372.8。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ 7.86(s,1H),7.36(br s,3H),6.68(t,J = 5.8Hz,1H),6.65(s,1H),5.07(s,2H),3.45(q,J = 5.8Hz,2H),2.98(t,J = 5.8Hz,2H)。

[0507] 步骤I:4-[(2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基)氨基]-N-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0508]



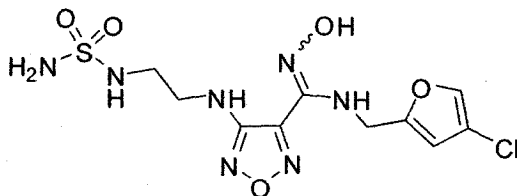
[0509] 在微波瓶中,将3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[(4-溴-2-呋喃基)甲基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物(30mg,0.060mmol)和磺酰胺(29mg,0.30mmol)悬浮于吡啶(1mL)中。用氮冲洗反应混合物,并在微波反应器中在130℃加热3分钟。去除溶剂,将粗中间体悬浮于甲醇(1mL)中。一次性加入2.0N NaOH水溶液(0.30mL,0.60mmol),并将反应物加热至45℃30分钟。用醋酸(68μL,1.2mmol)中和后,通过制备LCMS纯化产物以得到希望的产物(10.4mg,41%)。C₁₀H₁₅BrN₇O₅S的计算LCMS(M+H)⁺:m/z = 423.9,426.0。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ 10.87(s,1H),7.75(s,1H),6.83(t,J = 7.3Hz,1H),6.68(t,J = 6.0Hz,1H),6.56(s,2H),6.30(t,J = 6.0Hz,1H),

6.23 (s, 1H), 4.56 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 2H), 3.32 (q, $J = 6.3\text{Hz}$, 2H), 3.07 (q, $J = 6.3\text{Hz}$, 2H)。

[0510] 实施例 21

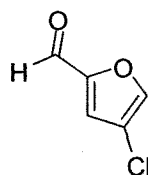
[0511] 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-[(4-氯-2-呋喃基)甲基]-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0512]



[0513] 步骤 A :4-氯-2-糠醛

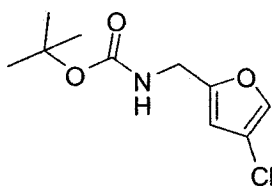
[0514]



[0515] 向在氮气氛下搅拌的三氯化铝 (29.8g, 0.223mol) 在二氯甲烷 (200mL) 中的悬浮液中, 经 15 分钟加入 2-呋喃甲醛 (8.44mL, 0.102mol)。搅拌 30 分钟后, 使用吸液管, 将氯气在悬浮液中鼓泡 50 分钟。密封烧瓶, 在室温搅拌 90 小时。将反应混合物缓慢加入冰 (500mL) 在 1.0N 氯化氢水溶液 (300mL) 中的混合物。将混合物温热至室温 1 小时。分离各层, 并收集有机层。用二氯甲烷 (2x 200mL) 萃取其它产物。用水 (250mL) 洗涤合并的有机层, 经硫酸钠干燥。在真空中去除溶剂以得到粗混合物, 其含有希望的产物 (14.0g, 100%, 60% 纯度)。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9.56 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.71 (s, 1H)。

[0516] 步骤 B :[(4-氯-2-呋喃基)甲基]氨基甲酸叔丁酯

[0517]



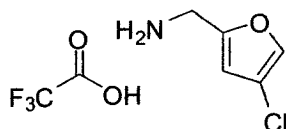
[0518] 将 4-氯-2-糠醛 (14.0g, 60% 纯度, 64mmol) 溶于乙醇 (50mL) 和水 (50mL) 中。依次加入 N-羟基胺氢氯化物 (12.6g, 182mmol) 和醋酸钠 (14.9g, 182mmol), 并将反应混合物在 100℃ 回流 1 小时。将溶液部分地浓缩, 然后加入水 (25mL) 和醋酸乙酯 (50mL)。收集有机层, 用醋酸乙酯 (2x 25mL) 萃取水层。用盐水 (50mL) 和水 (50mL) 洗涤合并的有机层。经硫酸钠干燥后, 在真空中浓缩溶液。将中间体悬浮于醋酸 (115mL) 中。在冰浴中冷却溶液, 经 20 分钟份份加入锌 (33.1g, 506mmol)。经 2 小时使反应物温热至室温, 并通过硅藻土过滤。在真空中去除溶剂。

[0519] 在四氢呋喃 (100mL) 中搅拌残余物。经 30 分钟逐滴加入 2.0M NaOH 水溶液 (152mL, 304mmol)。将反应混合物放入冰浴中, 5 分钟后, 经 15 分钟逐滴加入二碳酸二叔丁酯 (24.3g, 111mmol)。经接下来的 2 小时使反应物温热至室温, 然后在真空中去除四氢呋喃。

喃。加入醋酸乙酯 (100mL), 过滤悬浮液。收集有机层, 并用醋酸乙酯 (2x 100mL) 萃取水层。用水 / 盐水的 1 : 1 混合物 (100mL) 洗涤 合并的有机层, 经硫酸钠干燥, 并在真空中浓缩。通过硅胶上的快速色谱法纯化, 其中使用在己烷中的醋酸乙酯洗脱液, 得到希望的产物 (3.05g, 22%)。C₁₀H₁₄ClNNaO₃ 的计算 LCMS (M+Na)⁺: m/z = 253.9。 ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 7.81 (s, 1H), 7.37 (t, J = 5.3Hz, 1H), 6.32 (s, 1H), 4.05 (d, J = 6.0Hz, 2H), 1.36 (s, 9H)。

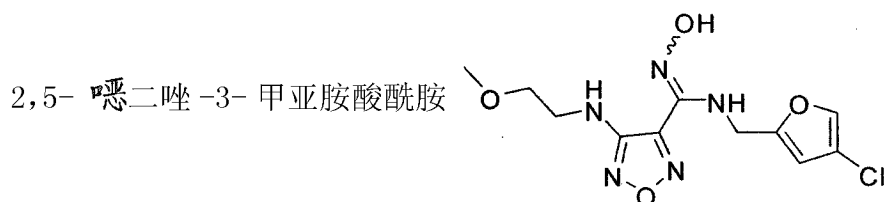
[0520] 步骤 C : 1-(4-氯-2-呋喃基) 甲胺三氟醋酸酯

[0521]



[0522] 使用 [(4-氯-2-呋喃基) 甲基] 氨基甲酸叔丁酯作为原料, 根据实施例 20 步骤 B 的程序, 制备希望的化合物, 定量产率。C₅H₄ClO 的计算 LCMS (M-NH₂)⁺: m/z = 115.0。 ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 8.29 (br s, 3H), 8.04 (s, 1H), 6.69 (s, 1H), 4.07 (s, 2H)。

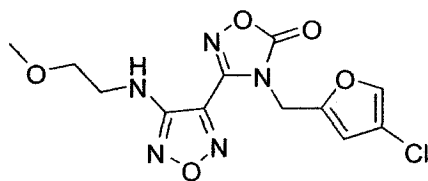
[0523] 步骤 D : N-[(4-氯-2-呋喃基) 甲基]-N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基) 氨基]-1,



[0524] 使用 N-羟基-4-(2-甲氧基乙氨基)-1,2,5-噁二唑-3-carbimidoyl 氯化物和 1-(4-氯-2-呋喃基) 甲胺三氟醋酸酯作为原料, 根据实施例 20 步骤 C 的程序, 制备希望的化合物, 定量产率。C₁₁H₁₅ClN₅O₄ 的计算 LCMS (M+H)⁺: m/z = 316.0。

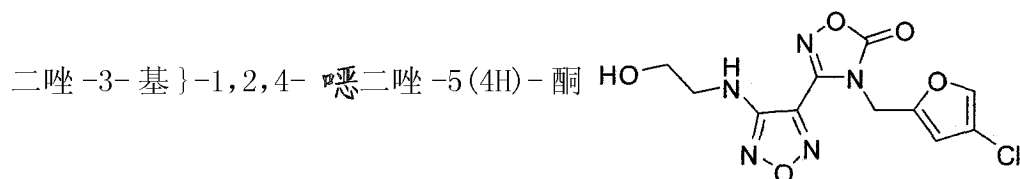
[0525] 步骤 E : 4-[(4-氯-2-呋喃基) 甲基]-3-{4-[(2-甲氧基乙基) 氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

[0526]



[0527] 使用 N-[(4-氯-2-呋喃基) 甲基]-N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基) 氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺作为原料, 根据实施例 20 步骤 D 的程序, 制备希望的化合物, 51% 产率。C₁₂H₁₃ClN₅O₅ 的计算 LCMS (M+H)⁺: m/z = 342.0。

[0528] 步骤 F : 4-[(4-氯-2-呋喃基) 甲基]-3-{4-[(2-羟基乙基) 氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

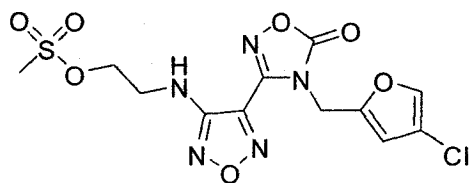


[0529] 使用 4-[(4-氯-2-呋喃基) 甲基]-3-{4-[(2-甲氧基乙基) 氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

二唑-3-基}-1,2,4- 噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例 20 步骤 E 的程序,制备希望的化合物,定量产率。 $C_{11}H_{10}ClN_5NaO_5$ 的计算 LCMS(M+Na)⁺:m/z = 349.9。

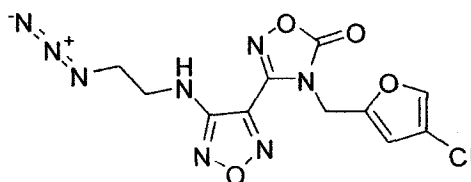
[0530] 步骤 G:2-[4-{4-[(4-氯-2-呋喃基)甲基]-5-氧-4,5-二氢-1,2,4- 噁二唑-3-基}-1,2,5- 噁二唑-3-基)氨基]乙基甲磺酸酯

[0531]



[0532] 使用 4-[4-(4-氯-2-呋喃基)甲基]-3-{4-[(2-羟基乙基)氨基]-1,2,5- 噁二唑-3-基}-1,2,4- 噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例 20 步骤 F 的程序,制备希望的化合物,69%产率。 $C_{12}H_{13}ClN_5O_7S$ 的计算 LCMS(M+H)⁺:m/z = 405.8。

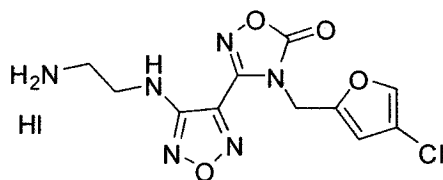
[0533] 步骤 H:3-{4-[(2-叠氮基乙基)氨基]-1,2,5- 噁二唑-3-基}-4-[(4-氯-2-呋喃基)甲基]-1,2,4- 噁二唑-5(4H)-酮



[0534] 使用 2-[4-{4-[(4-氯-2-呋喃基)甲基]-5-氧-4,5-二氢-1,2,4- 噁二唑-3-基}-1,2,5- 噁二唑-3-基)氨基]乙基甲磺酸酯作为原料,根据实施例 20 步骤 G 的程序,制备希望的化合物,定量产率。 $C_{11}H_9ClN_8NaO_4$ 的计算 LCMS(M+Na)⁺:m/z = 374.9。

[0535] 步骤 I:3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5- 噁二唑-3-基}-4-[(4-氯-2-呋喃基)甲基]-1,2,4- 噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物

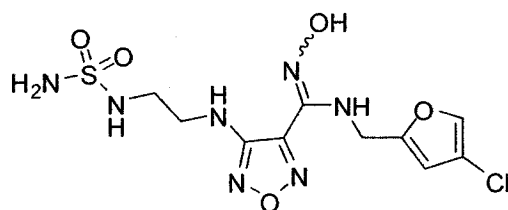
[0536]



[0537] 使用 3-{4-[(2-叠氮基乙基)氨基]-1,2,5- 噁二唑-3-基}-4-[(4-氯-2-呋喃基)甲基]-1,2,4- 噁二唑-5(4H)-酮作为原料,根据实施例 20 步骤 H 的程序,制备希望的化合物,57%产率。 $C_{11}H_{12}ClN_6O_4$ 的计算 LCMS(M+H)⁺:m/z = 326.9。

[0538] 步骤 J:4-[(2-{[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-[(4-氯-2-呋喃基)甲基]-N'-羟基-1,2,5- 噁二唑-3-基]甲亚胺酸酰胺

[0539]

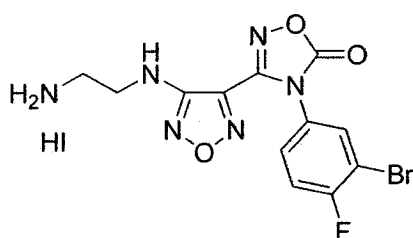


[0540] 使用 3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-[(4-氯-2-呋喃基)甲基]-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物作为原料,根据实施例 20 步骤 I 的程序,制备希望的化合物,53%产率。 $C_{10}H_{15}ClN_7O_5S$ 的计算 LCMS $(M+H)^+$: $m/z = 379.9$ 。 1H NMR(400MHz, $DMSO-d_6$): δ 10.88(s, 1H), 7.77(s, 1H), 6.83(t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 6.68(t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 6.56(s, 2H), 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)。

[0541] 实施例 22

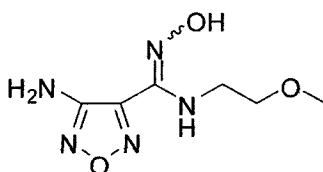
[0542] 中间体 3-(4-(2-氨基乙氨基)-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物的替代制备方法

[0543]



[0544] 步骤 A: 4-氨基-N'-羟基-N-(2-甲氧基乙基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

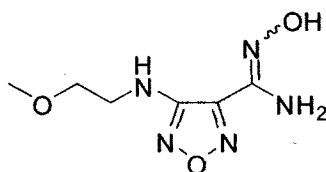
[0545]



[0546] 将 4-氨基-N'-羟基-N-(2-甲氧基乙基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸氯化物(可以根据实施例 1 步骤 A-B 制备, 200.0g, 1.23mol) 与醋酸乙酯(1.2L) 相混合。在 0-5℃, 在搅拌的同时, 一次性加入 2-甲氧基乙胺[Aldrich, 产品号 143693](119.0mL, 1.35mol)。使反应物温度升高至 41℃。将反应物冷却至 0-5℃。加入三乙胺(258mL, 1.84mol)。搅拌 5min 后, LCMS 指示反应结束。用水(500mL) 和盐水(500mL) 洗涤反应溶液, 经硫酸钠干燥, 并浓缩以得到希望的产物(294g, 119%), 为粗黑色油。 $C_6H_{12}N_5O_3$ 的 LCMS $(M+H)^+$: $m/z = 202.3$ 。 1H NMR(400MHz, $DMSO-d_6$): 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)。

[0547] 步骤 B: N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0548]

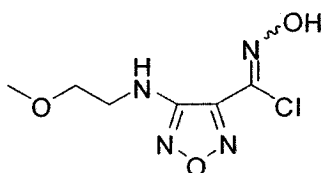


[0549] 将 4-氨基-N'-羟基-N-(2-甲氧基乙基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

(248.0g, 1.23mol) 与水 (1L) 相混合。加入氢氧化钾 (210g, 3.7mol)。将反应物在 100℃ 回流过夜 (15 小时)。使用在己烷中的 50% 醋酸乙酯 (含有 1% 氢氧化铵) 的 TLC 指示反应结束 (产物 $R_f = 0.6$, 原料 $R_f = 0.5$)。LCMS 也指示反应结束。将反应物冷却至室温, 并用醋酸乙酯 (3x 1L) 萃取。合并的醋酸乙酯溶液经硫酸钠干燥, 并浓缩以得到希望的产物 (201g, 81%), 为粗灰白色固体。C₆H₁₂N₅O₃ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 202.3。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 10.54 (s, 1H), 6.22 (s, 2H), 6.15 (t, J = 5.8Hz, 1H), 3.45 (t, J = 5.3Hz, 2H), 3.35 (m, 2H), 3.22 (s, 3H)。

[0550] 步骤 C: N-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲酰亚胺氯化物

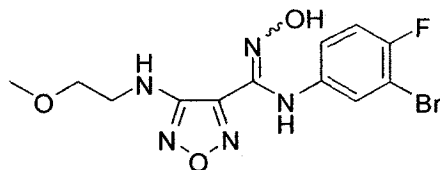
[0551]



[0552] 在室温, 将 N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺 (50.0g, 0.226mol) 溶于 6.0M 盐酸水溶液 (250mL, 1.5mol) 中。加入氯化钠 (39.5g, 0.676mol), 随后加入水 (250mL) 和醋酸乙酯 (250mL)。在 3-5℃, 经 1 小时缓慢加入预先制备的亚硝酸钠 (15.0g, 0.217mol) 的水溶液 (100mL)。将反应物在 3-8℃ 搅拌 2 小时, 然后在室温搅拌周末。LCMS 指示反应结束。用醋酸乙酯 (2x 200mL) 萃取反应溶液。合并的醋酸乙酯溶液经硫酸钠干燥, 并浓缩以得到希望的产物 (49.9g, 126%), 为粗白色固体。C₆H₁₀ClN₄O₃ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 221.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 13.43 (s, 1H), 5.85 (t, J = 5.6Hz, 1H), 3.50 (t, J = 5.6Hz, 2H), 3.37 (dd, J = 10.8, 5.6Hz, 2H), 3.25 (s, 3H)。

[0553] 步骤 D: N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

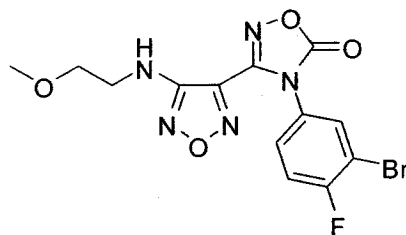
[0554]



[0555] 将 N-羟基-4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-甲酰亚胺氯化物 (46.0g, 0.208mol) 与水 (300mL) 相混合。将混合物加热到 60℃。加入 3-溴-4-氟苯胺 [Oakwood products, 产品号 013091] (43.6g, 0.229mol), 并搅拌 10min。经 15min 加入温热的碳酸氢钠 (26.3g, 0.313mol) 溶液 (300mL 水)。将反应物在 60℃ 搅拌 20min。LCMS 指示反应结束。将反应溶液冷却至室温, 并用醋酸乙酯 (2x 300mL) 萃取。合并的醋酸乙酯溶液经硫酸钠干燥, 并浓缩以得到希望的产物 (76.7g, 98%), 为粗褐色固体。C₁₂H₁₄BrFN₅O₃ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 374.0, 376.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.55 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 7.16 (t, J = 8.8Hz, 1H), 7.08 (dd, J = 6.1, 2.7Hz, 1H), 6.75 (m, 1H), 6.14 (t, J = 5.8Hz, 1H), 3.48 (t, J = 5.2Hz, 2H), 3.35 (dd, J = 10.8, 5.6Hz, 2H), 3.22 (s, 3H)。

[0556] 步骤 E: 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-{4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二

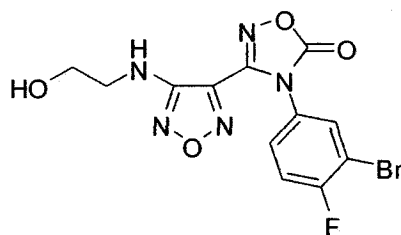
唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮



[0557] 将N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-(2-甲氧基乙基)-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺 (76.5g, 0.204mol)、1,1'-羰基二咪唑 (49.7g, 0.307mol) 和醋酸乙酯 (720mL) 的混合物加热至 60℃, 并搅拌 20min。LCMS 指示反应结束。将反应物冷却至室温, 用 1N HCl (2x 750mL) 洗涤, 经硫酸钠干燥, 并浓缩以得到希望的产物 (80.4g, 98%), 为粗褐色固体。C₁₃H₁₂BrFN₅O₄ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 400.0, 402.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 7.94 (t, J = 8.2Hz, 1H), 7.72 (dd, J = 9.1, 2.3Hz, 1H), 7.42 (m, 1H), 6.42 (t, J = 5.7Hz, 1H), 3.46 (t, J = 5.4Hz, 2H), 3.36 (t, J = 5.8Hz, 2H), 3.26 (s, 3H)

[0558] 步骤 F: 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-{4-[(2-羟基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

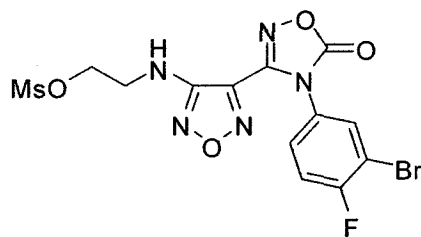
[0559]



[0560] 将 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-{4-[(2-甲氧基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (78.4g, 0.196mol) 溶于二氯甲烷 (600mL) 中。在 -67℃, 经 15min 加入三溴化硼 (37mL, 0.392mol)。在 30min 内使反应物温热至 -10℃。LCMS 指示反应结束。将反应物在室温搅拌 1 小时。在 0-5℃, 经 30min 用饱和碳酸氢钠溶液 (1.5L) 缓慢淬灭反应。使反应物温度升高至 25℃。用醋酸乙酯萃取反应物 (2x 500mL, 第一次萃取有机层是在下面, 第二次萃取有机层是在上面)。合并的有机层经硫酸钠干燥, 并浓缩以得到希望的产物 (75g, 99%), 为粗褐色固体。C₁₂H₁₀BrFN₅O₄ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 386.0, 388.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.08 (dd, J = 6.2, 2.5Hz, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.68 (t, J = 8.7Hz, 1H), 6.33 (t, J = 5.6Hz, 1H), 4.85 (t, J = 5.0Hz, 1H), 3.56 (dd, J = 10.6, 5.6Hz, 2H), 3.29 (dd, J = 11.5, 5.9Hz, 2H)。

[0561] 步骤 G: 2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基甲磺酸酯

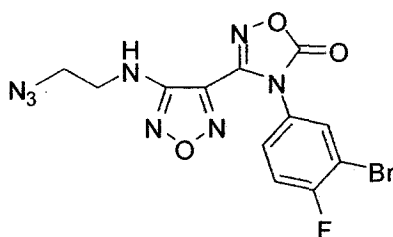
[0562]



[0563] 将 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-(4-(2-羟基乙氨基)-1,2,5-噁二唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (72.2g, 0.188mol) 与醋酸乙酯 (600mL) 一起混合。加入甲磺酰氯 (19.2mL, 0.248mol), 随后加入三乙胺 (34.9mL, 0.250mol)。将反应物在室温搅拌 5min。当 LCMS 指示反应结束时 ($M+H = 442$), 将 500ml 水加入反应物中。用醋酸乙酯 (2x 500mL) 萃取反应物。用盐水 (500mL) 洗涤合并的醋酸乙酯溶液, 经硫酸钠干燥, 并浓缩以得到 85.1g 粗褐色固体。 ^1H NMR 证实结构。粗产率是 97%。 $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{BrFN}_5\text{O}_6\text{SNa}$ 的 LCMS ($M+\text{Na}$) $^+$: $m/z = 485.9$, 487.9。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8.08 (dd, $J = 6.2, 2.5\text{Hz}$, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.58 (t, $J = 8.7\text{Hz}$, 1H), 6.75 (t, $J = 5.9\text{Hz}$, 1H), 4.36 (t, $J = 5.3\text{Hz}$, 2H), 3.58 (dd, $J = 11.2, 5.6\text{Hz}$, 2H), 3.18 (s, 3H)。

[0564] 步骤 H: 3-{4-[(2-叠氮基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮

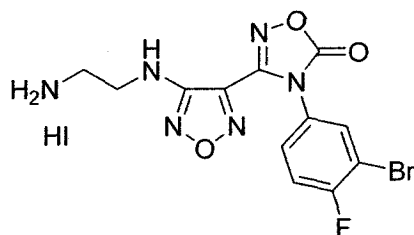
[0565]



[0566] 将 2-(4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基)-1,2,5-噁二唑-3-基氨基)乙基甲磺酸酯 (50.0g, 0.108mol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (83mL) 中。加入叠氮化钠 (10.5g, 0.162mol)。将反应物在 65°C 搅拌 5-6 小时。LCMS 指示反应结束 ($M+\text{Na} = 435$)。用水 (250mL) 淬灭反应, 并用醋酸乙酯 (2x 250mL) 萃取。用水 (250mL, 层分离缓慢, 加入 100ml 盐水来促进分离) 洗涤合并的醋酸乙酯溶液, 经硫酸钠干燥, 并浓缩以得到 49.7g 粗褐色固体。粗产率是 112%。 $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{BrFN}_8\text{O}_3\text{Na}$ 的 LCMS ($M+\text{Na}$) $^+$: $m/z = 433.0$, 435.0。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8.08 (dd, $J = 6.2, 2.5\text{Hz}$, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.58 (t, $J = 8.7\text{Hz}$, 1H), 6.75 (t, $J = 5.7\text{Hz}$, 1H), 3.54 (t, $J = 5.3\text{Hz}$, 2H), 3.45 (dd, $J = 11.1, 5.2\text{Hz}$, 2H)。

[0567] 步骤 I: 3-(4-(2-氨基乙氨基)-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢碘化物

[0568]

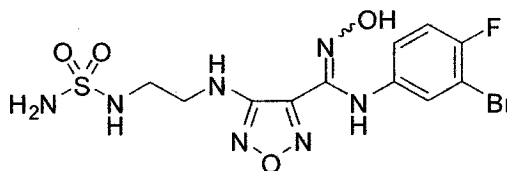


[0569] 将 3-(4-(2-叠氮基乙氨基)-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (80.0g, 0.194mol) 与甲醇 (800mL) 相混合。加入碘化钠 (175.0g, 1.17mol)。将反应物在室温搅拌 10min。将氯代三甲基硅烷 (148mL, 1.17mol) 溶于甲醇 (100mL) 中, 并经 30min 加入到反应物中。反应温度升高到 42℃。将反应物在室温搅拌 30min。LCMS 指示反应结束 ($M+H = 386$)。用在水 (900mL) 中的硫代硫酸钠 (190.0g, 1.20mol) 淬灭反应。大量固体沉淀出来。通过过滤收集产物 (过滤速率缓慢), 用水 (200mL) 冲洗, 并真空干燥过夜。将滤饼在醋酸乙酯 (500mL) 中制浆 30min。过滤产物 (过滤速率缓慢), 并在真空下干燥周末以得到 95g 灰白色固体。C₁₂H₁₁BrFN₆O₃ 的 LCMS ($M+H$)⁺: $m/z = 384.9, 386.9$ 。¹HNMR (400MHz, DMSO-d₆): 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)。

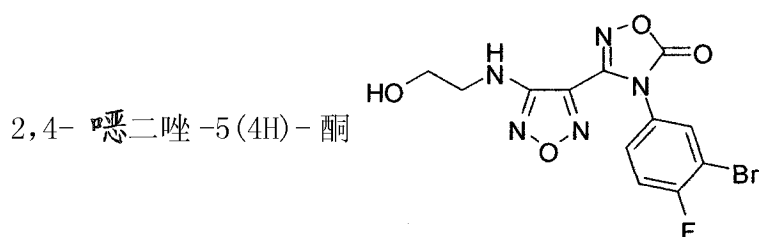
[0570] 实施例 23

[0571] 4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺的替代制备方法

[0572]

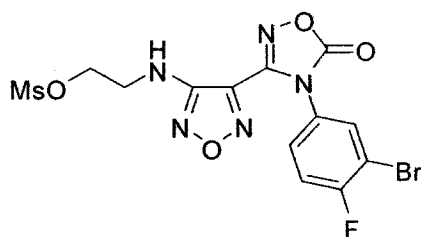


[0573] 步骤 A: 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-(4-(2-羟基乙氨基)-1,2,5-噁二唑-3-基)-1,



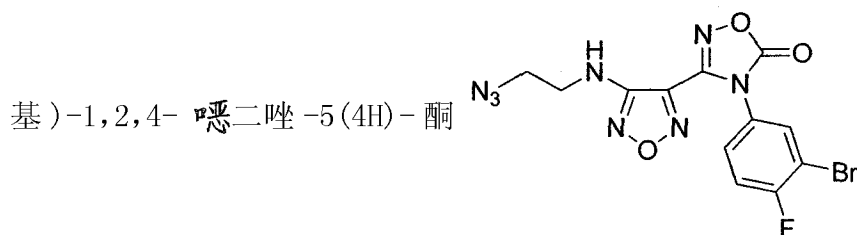
[0574] 向在 22L 烧瓶中搅拌的 0℃ 的 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-(4-(2-甲氧基乙氨基)-1,2,5-噁二唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (可以根据实施例 1 步骤 A-G 制备; 1232g, 3.08mol) 在二氯甲烷 (12L) 中的溶液中, 以使温度不超过 10℃ 的速率逐滴加入三溴化硼 (354mL, 3.67mol)。在冰上搅拌 1h 后, 以使温度不超过 20℃ 的速率 (加入时间 10min), 小心地加入饱和碳酸氢钠水溶液 (2L)。将得到的混合物转移至 50L 分液漏斗, 用水 (10L) 稀释, 并使用固体碳酸氢钠将水层的 pH 从 1 调至 8。分离各层, 并用水 (10L) 洗涤有机层, 并在真空中去除溶剂以得到黄褐色固体 (24mol, 在多批中处理, 9.54kg, 定量产率)。将该物质在 4 体积的 7 : 1 庚烷 : 醋酸乙酯中制浆 (4x 22L 烧瓶), 过滤, 并干燥以得标题化合物, 为黄褐色固体 (8679g, 94%)。产物是羟基-和对应的溴-物质的混合物。

[0575] 步骤 B: 2-(4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基)-1,2,5-噁二唑-3-基氨基)乙基甲磺酸酯



[0576] 在室温,向 4-(3-溴-4-氟苯基)-3-{4-[(2-羟基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (1.5kg, 3.9mol, 也含有一些对应的溴-化合物) 在醋酸乙酯 (12L) 中的溶液中,经 1h 逐滴加入甲磺酰氯 (185mL, 2.4mol)。经 45min 逐滴加入三乙胺 (325mL, 2.3mol), 在这期间,反应温度升高到 35℃。2h 后,用水 (5L)、盐水 (1L) 洗涤反应混合物,经硫酸钠干燥,与相同大小的另外 3 批反应物合并,并在真空中去除溶剂以得到希望的产物 (7600g, 定量产率, 也含有一些对应的溴-化合物, 注意: 刺激性粉尘!), 为黄褐色固体。C₁₃H₁₁BrFN₅O₆Na 的 LCMS (M+Na)⁺: m/z = 485.9, 487.9。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.08 (dd, J = 6.2, 2.5Hz, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.58 (t, J = 8.7Hz, 1H), 6.75 (t, J = 5.9Hz, 1H), 4.36 (t, J = 5.3Hz, 2H), 3.58 (dd, J = 11.2, 5.6Hz, 2H), 3.18 (s, 3H)。

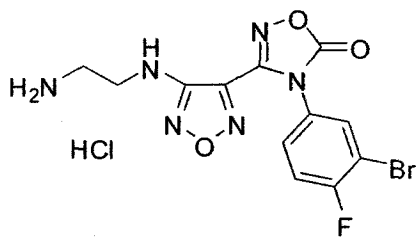
[0577] 步骤 C: 3-(4-(2-叠氮基乙氨基)-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮



[0578] 向在 22L 烧瓶中搅拌的 2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基甲磺酸酯 (2.13kg, 4.6mol, 也含有一些对应的溴-化合物) 在二甲基甲酰胺 (4L) 中的溶液中,加入叠氮化钠 (380g, 5.84mol)。将反应物在 50℃ 加热 6h, 倒入冰/水 (8L) 中, 并用 1:1 醋酸乙酯: 庚烷 (20L) 萃取。用水 (5L) 和盐水 (5L) 洗涤有机层, 并在真空中去除溶剂以得到希望的产物 (1464g, 77%), 为黄褐色固体。C₁₂H₈BrFN₈O₃Na 的 LCMS (M+Na)⁺: m/z = 433.0, 435.0。¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz): δ 8.08 (dd, J = 6.2, 2.5Hz, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.58 (t, J = 8.7Hz, 1H), 6.75 (t, J = 5.7Hz, 1H), 3.54 (t, J = 5.3Hz, 2H), 3.45 (dd, J = 11.1, 5.2Hz, 2H)。

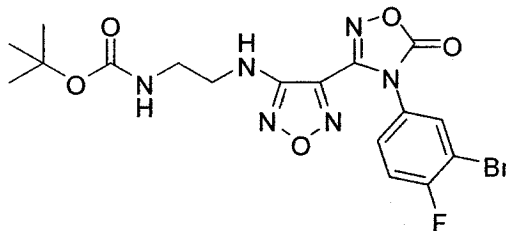
[0579] 步骤 D: 3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢氯化物

[0580]



[0581] 步骤 D, 部分 1:2-(4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基)-1,2,5-噁二唑-3-基氨基)乙基氨基甲酸叔丁酯

[0582]



[0583] 将碘化钠 (1080g, 7.2mol) 加入在甲醇 (6L) 中的 3-{4-[(2-叠氮基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮 (500g, 1.22mol) 中。将混合物搅拌 30min, 在这期间观察到温和放热。以使温度不超过 35℃ 的速率, 逐滴加入氯代三甲基硅烷 (930mL, 7.33mol) 在甲醇 (1L) 中的溶液, 并将反应物在环境温度搅拌 3.5h。用 33wt% 五水合硫代硫酸钠在水 (~1.5L) 中的溶液中和反应, 用水 (4L) 稀释, 并用固体碳酸钾 (250g- 分成小份加入: 注意起泡) 小心地将 pH 调至 9。加入二碳酸叔丁酯 (318g, 1.45mol), 并在室温搅拌反应物。经 4h 加入每份 50g 的其它碳酸钾 (200g), 以确保 pH 仍然在或高于 9。在室温搅拌过夜后, 过滤固体, 与水 (2L) 一起研磨, 然后与 MTBE (1.5L) 一起研磨。共进行 11 批 (5.5kg, 13.38mol)。与 1:1 THF: 二氯甲烷 (24L, 4 批, 在 20L 旋转蒸发器烧瓶中, 50℃, 1h) 一起研磨合并的固体, 过滤, 并用二氯甲烷 (每批 3L) 洗涤以得到灰白色固体。将粗产物溶于 55℃ 四氢呋喃 (5mL/g) 中, 用脱色碳 (2wt%) 和硅胶 (2wt%) 处理, 并通过硅藻土过滤以得到产物, 为灰白色固体 (5122g)。在真空中浓缩合并的 MTBE、THF 和二氯甲烷滤液, 并色谱分离 (2kg 硅胶, 含有 0-100% 醋酸乙酯梯度的庚烷, 30L) 以得到更多产物 (262g)。在对流加热炉中将合并的 2-(4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基)-1,2,5-噁二唑-3-基氨基)乙基氨基甲酸叔丁酯固体干燥至恒重 (5385g, 83%)。

[0584] 步骤 D, 部分 2:3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢氯化物

[0585] 方法 A:

[0586] 在 22L 烧瓶中装入氯化氢 (4N 在 1,4-二噁烷中的溶液, 4L, 16mol)。经 10min, 分份加入固体 [2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]氨基甲酸叔丁酯 (2315g, 4.77mol)。在室温搅拌料浆, 并逐渐变成不能搅拌的稠糊。在室温静置过夜后, 将该糊在醋酸乙酯 (10L) 中制浆, 过滤, 重新在醋酸乙酯 (5L) 中制浆, 过滤, 并干燥至恒重以得到希望的产物, 为白色固体 (与其它批次合并, 装载 5kg 原料, 4113g, 95%)。C₁₂H₁₁BrFN₆O₃ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 384.9, 386.9。

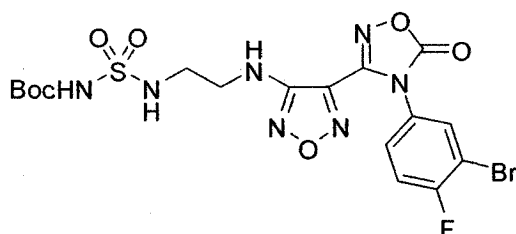
^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 8.12 (m, 4H), 7.76 (m, 1H), 7.58 (t, $J = 8.7\text{Hz}$, 1H), 6.78 (t, $J = 6.1\text{Hz}$, 1H), 3.51 (dd, $J = 11.8, 6.1\text{Hz}$, 2H), 3.02 (m, 2H)。

[0587] 方法 B:

[0588] 将 [2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]氨基甲酸叔丁酯 (5000g) 加入在室温的异丙醇 (20L) 和 4N HCl 在 1,4-二噁烷 (10L) 中的混合物中。将该批加热至 40-45°C, 并保持 1h。将醋酸乙酯加入在 40-45°C 的该批, 并保持 2.5h。在 HPLC 指示反应结束后, 将庚烷 (10L) 加入该批。将该批冷却至 25°C。通过过滤分离产物, 用醋酸乙酯 (3x 5.0L) 洗涤湿饼。在真空干燥箱中在 20°C 干燥产物以得到 4344g (93.4% 产率) 标题化合物。该批的 LC-MS、 ^1H 和 ^{13}C NMR 和 HPLC 数据与通过方法 A 制备的产物的数据相同。

[0589] 步骤 E: ({[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]氨基}磺酰基)氨基甲酸叔丁酯

[0590]

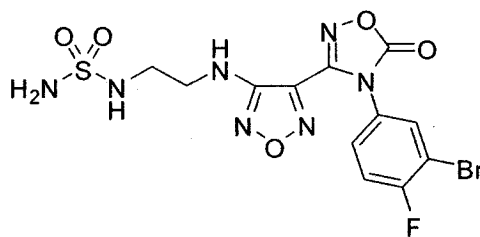


[0591] 给 5L 圆底烧瓶装入异氰酸氯代磺酰酯 [Aldrich, 产品号 142662] (149mL, 1.72mol) 和二氯甲烷 (1.5L), 并使用冰浴冷却至 2°C。以使温度不超过 10°C 的速率, 逐滴加入在二氯甲烷 (200mL) 中的叔丁醇 (162mL, 1.73mol)。将得到的溶液在室温搅拌 30-60min 以得到 [氯代磺酰基]氨基甲酸叔丁酯。

[0592] 给 22L 烧瓶装入 3-{4-[(2-氨基乙基)氨基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮氢氯化物 (661g, 1.57mol) 和 8.5L 二氯甲烷。用冰/盐浴冷却至 -15°C 后, 以使温度不超过 -10°C 的速率 (加入时间 7min), 加入 [氯代磺酰基]氨基甲酸叔丁酯溶液 (如上制备)。搅拌 10min 后, 以使温度不超过 -5°C 的速率 (加入时间 10min), 加入三乙胺 (1085mL, 7.78mol)。去除冷却浴, 使反应物温热至 10°C, 分成 2 份, 并用 10% 浓 HCl 中和 (每份 4.5L)。将每份转移至 50L 分液漏斗, 并用醋酸乙酯稀释, 以完全溶解白色固体 (~25L)。分离各层, 并用水 (5L)、盐水 (5L) 洗涤有机层, 并在真空中去除溶剂以得到灰白色固体。与 MTBE (2x 1.5L) 一起研磨固体, 并干燥至恒重得到白色固体。以该方式处理共 4113g 原料 (5409g, 98%)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 10.90 (s, 1H), 8.08 (dd, $J = 6.2, 2.5\text{Hz}$, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.59 (t, $J = 8.6\text{Hz}$, 1H), 6.58 (t, $J = 5.7\text{Hz}$, 1H), 3.38 (dd, $J = 12.7, 6.2\text{Hz}$, 2H), 3.10 (dd, $J = 12.1, 5.9\text{Hz}$, 2H), 1.41 (s, 9H)。

[0593] 步骤 F: N-[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]磺酰胺

[0594]



[0595] 方法 A :使用三氟乙酸

[0596] 向装有 98 : 2 三氟乙酸 : 水 (8.9L) 的 22L 烧瓶中, 经 10 分钟分份加入 ({[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]氨基}磺酰基)氨基甲酸叔丁酯 (1931g, 3.42mol)。将得到的混合物在室温搅拌 1.5h, 在真空中去除溶剂, 并用二氯甲烷 (2L) 洗涤。用新鲜的 98 : 2 三氟乙酸 : 水 (8.9L) 处理得到的固体第二次, 在 40-50℃ 加热 1h, 在真空中去除溶剂, 并用二氯甲烷 (3x 2L) 洗涤。在真空干燥箱中在 50℃ 干燥得到的白色固体过夜。以该方式处理共 5409g (4990g, 定量产率)。C₁₂H₁₂BrFN₇O₅S 的 LCMS (M+H)⁺ : m/z = 463.9, 465.9。 ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 8.08 (dd, J = 6.2, 2.5Hz, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.59 (t, J = 8.7Hz, 1H), 6.67 (t, J = 5.9Hz, 1H), 6.52 (t, J = 6.0Hz, 1H), 3.38 (dd, J = 12.7, 6.3Hz, 2H), 3.11 (dd, J = 12.3, 6.3Hz)。

[0597] 方法 B :使用盐酸

[0598] 向 ({[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]氨基}磺酰基)氨基甲酸叔丁酯 (4500g) 在异丙醇 (9L) 中的溶液中, 加入在二噁烷 (8.0L) 中的 4N HCl。将反应混合物加热至 40-45℃, 并在该温度保持约 5h。在反应结束后 (通过 HPLC 分析指示), 将庚烷 (72L) 加入反应混合物。将得到的混合物加热至 68℃, 并在该温度保持 1h。使该批冷却至约 23℃。通过过滤收集固体产物。用庚烷 (16L) 和异丙醇 (1.2L) 的混合物洗涤湿饼, 并在过滤漏斗上在抽吸下干燥。将粗产物溶于约 43℃ 的醋酸乙酯 (10.8L) 中。经 15min 将庚烷 (32.4L) 加入醋酸乙酯溶液中。将该批加热至 70℃, 并在该温度保持 1h。将该批冷却至 21℃, 通过过滤收集固体产物。用庚烷 (14.4L) 洗涤湿饼, 并在过滤漏斗上在抽吸下干燥。产物的产量是 3034g。该批的 LC-MS、¹H 和 ¹³C NMR 和 HPLC 数据与通过方法 A 制备的产物的数据相同。

[0599] 步骤 G : (Z)-4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲亚胺酸酰胺

[0600] 方法 A :

[0601] 向在 22L 烧瓶中搅拌的含有残余量的三氟乙酸的 N-[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]磺酰胺 (2.4mol) 的粗混合物中, 加入 THF (5L)。使用冰浴将得到的溶液冷却至 0℃, 以使温度不超过 10℃ 的速率, 加入 2N NaOH (4L)。在环境温度搅拌 3h 后 (LCMS 指示没有原料剩余), 用浓 HCl (~500mL) 将 pH 调至 3-4。在真空中去除 THF, 并用醋酸乙酯 (15L) 萃取得到的混合物。用水 (5L)、盐水 (5L) 洗涤有机层, 并在真空中去除溶剂以得到固体。与 MTBE (2x 2L) 一起研磨固体, 与相同大小的另外 3 批反应物合并, 并在对流加热炉中干燥过夜以得到

白色固体 (3535g)。将固体重结晶 (3x 22L 烧瓶, 2 : 1 去离子超滤水 : 乙醇, 14.1L/ 烧瓶), 并在 50℃ 对流加热炉中干燥至恒重以得标题化合物, 为灰白色固体 (3290g, 78%)。 $C_{11}H_{14}BrFN_7O_4S$ 的 LCMS (M+H)⁺: m/z = 437.9, 439.9。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.51 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 7.17 (t, J = 8.8Hz, 1H), 7.11 (dd, J = 6.1, 2.7Hz, 1H), 6.76 (m, 1H), 6.71 (t, J = 6.0Hz, 1H), 6.59 (s, 2H), 6.23 (t, J = 6.1Hz, 1H), 3.35 (dd, J = 10.9, 7.0Hz, 2H), 3.10 (dd, J = 12.1, 6.2Hz, 2H)。X-射线晶体学分析测得, 该标题化合物采取相对于脒官能团的碳-氮双键 (C=N) 的 Z-构型 (Z-异构体)。

[0602] 方法 B:

[0603] 将 N-[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-氧-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}氨基)乙基]磺酰胺 (1500g) 加入 THF (6.0L), 并将该批冷却至 2℃。将三氟乙酸 (0.006L) 加入在 2℃ 的该批, 随后加入在 0-2℃ 的氢氧化钠水溶液 (384g 固体 NaOH 在 4.8L 水中)。将该批温热至约 16℃, 并保持 5h。在反应结束 (通过 HPLC 指示) 后, 加入浓盐酸 (0.7L), 将该批的 pH 调至 3-4。通过在减压下蒸馏, 从该批去除约 4L 溶剂。将该批加入醋酸乙酯 (18.0L), 并将双相混合物搅拌 15min。依次用水 (6.0L) 和盐水 (6.0L) 洗涤有机层。有机溶液经无水硫酸镁干燥。过滤硫酸镁, 并在减压下蒸发滤液至干燥。向得到的固体中, 加入 MTBE (3.0L), 并将料浆搅拌 15min。通过过滤分离固体产物。依次用 MTBE (1.2L) 和庚烷 (1.2L) 洗涤滤饼。在抽吸下在过滤漏斗上干燥固体以得到 1416g (87.9%) 产物。通过在 17℃ 在 MTBE (9.6L) 中重新制浆 2h, 进一步纯化产物 (2440g, 在 2 批中得到)。将该批冷却至 6℃ 30min。通过过滤收集固体产物, 依次用 MTBE (3.6L) 和庚烷 (1.2L) 洗涤湿饼。在真空干燥箱中在 20℃ 干燥产物以得到 1962g 标题化合物, 81.7% 产率。该批的 LC-MS、¹H 和 ¹³C NMR 和 HPLC 数据与通过方法 A 制备的产物的数据相同。

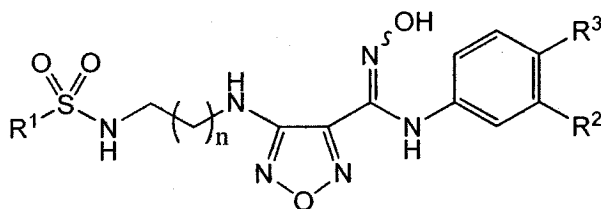
[0604] 实施例 24

[0605] 化合物数据

[0606] 在下面的表 2 中, 总结了实施例 1-19 的化合物的选择的物理和生物活性数据。IC₅₀ 数据来自在实施例 A 中提供的测定。

[0607] 表 2

[0608]



[0609]

实施例 编号	R ₁	R ₂	R ₃	n	IDO IC ₅₀ (nM)	MS [M+H]
1	NH ₂	Br	F	1	<200	437.9, 439.9
2	Me	Br	F	1	<200	437.0, 439.0
3	NH ₂	Br	F	2	<100	451.8, 453.9
4	Me	Br	F	2	<100	451.0, 453.0
5	NH ₂	Cl	F	1	<200	394.0
6	Me	Cl	F	1	<200	393.0
7	NH ₂	Cl	F	2	<200	408.1
8	Me	Cl	F	2	<200	407.1
9	NH ₂	CF ₃	F	1	<100	428.0
10	Me	CF ₃	F	1	<100	427.0
11	NH ₂	CF ₃	F	2	<100	442.0
12	Me	CF ₃	F	2	<100	441.1
13	NH ₂	CF ₃	H	1	<500	410.0
14	Me	CF ₃	H	1	<200	409.1
15	NH ₂	CF ₃	H	2	<200	424.0
16	Me	CF ₃	H	2	<200	423.1
17	Me	CH ₃	F	1	<500	373.1

[0610]

18	NH ₂	CN	F	1	<750	385.0
19	Me	CN	F	1	<500	406.0*

[0611] * [M+Na]

[0612] 实施例 25

[0613] 化合物数据

[0614] 在下面的表 3 中,提供了实施例 20 和 21 的化合物的 IDO IC₅₀ 数据 (参见实施例 A)。

[0615] 表 3

[0616]

实施例编号	IDO IC ₅₀ (nM)
20	< 500
21	< 750

[0617] 实施例 26

[0618] NMR 数据

[0619] 在下面的表 4 中,提供了实施例 1-21 的化合物的 ¹H NMR 数据 (Varian Inova500 光谱仪、Mercury 400 光谱仪或 Varian (或 Mercury) 300 光谱仪)。

[0620] 表 4

[0621]

实施 例编 号	溶剂	MHz	¹ H NMR 波谱
1	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 11.5 (s, 1 H), 8.89 (s, 1 H), 7.17 (dd, <i>J</i> = 8.8, 8.6 Hz, 1 H), 7.09 (dd, <i>J</i> = 6.1, 2.7 Hz, 1 H), 6.76 - 6.72 (m, 1 H), 6.56 (dd, <i>J</i> = 6.1, 6.1 Hz, 1 H), 6.51 (s, 2 H), 6.17 (dd, <i>J</i> = 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- <i>d</i> ₆	400	δ 11.49 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 7.17 (m, 2H), 7.09 (dd, <i>J</i> = 6.3, 2.5 Hz, 1H), 6.26 (t, <i>J</i> = 6.1 Hz, 1H), 3.33 (m, 2H), 3.13 (q, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 2.89 (s, 3H)
3	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 11.5 (s, 1 H), 8.89 (s, 1 H), 7.17 (dd, <i>J</i> = 8.8, 8.6 Hz, 1 H), 7.09 (dd, <i>J</i> = 6.1, 2.7 Hz, 1 H), 6.76 - 6.72 (m, 1 H), 6.56 (dd, <i>J</i> = 6.1, 6.1 Hz, 1 H), 6.51 (s, 2 H), 6.17 (dd, <i>J</i> = 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, <i>J</i> = 5.9, 2.4 Hz, 1H), 7.05 (t, <i>J</i> = 8.7 Hz, 1H), 6.83 (m, 1H), 3.39 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 3.14 (t, <i>J</i> = 6.6 Hz, 2H), 2.94 (s, 3H), 1.87 (m, 2H)

[0622]

5	DMSO- d_6	400	δ 7.96 (dd, J = 6.8, 2.1 Hz, 0.05 H), 7.32 - 7.29 (m, 0.1 H), 7.18 (dd, J = 9.1, 9.1 Hz, 0.95 H), 6.93 (dd, J = 6.4, 2.7 Hz, 0.95 H), 6.71 - 6.66 (m, 0.95 H), 6.33 (br s, 1 H), 3.35 - 3.27 (m, 2 H), 3.10 - 3.06 (m, 2 H)
6	DMSO- d_6	400	δ 11.50 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 7.19 (m, 2H), 6.96 (dd, J = 6.7, 2.5 Hz, 1H), 6.71 (m, 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)
7	DMSO- d_6	400	δ 8.90 (s, 1 H), 7.20 (dd, J = 9.2, 9.0 Hz, 1 H), 6.96 (dd, J = 6.4, 2.7 Hz, 1 H), 6.72 - 6.69 (m, 1 H), 6.55 (t, J = 6.0 Hz, 1 H), 6.51 (s, 2 H), 6.16 (t, J = 5.9 Hz, 1 H), 3.28 - 3.21 (m, 2 H), 2.93 - 2.87 (m, 2 H), 1.76 - 1.72 (m, 2 H)
8	CD ₃ OD	300	δ 7.06 (t, J = 8.9 Hz, 1H), 6.98 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 3.73 (m, 2H), 3.28 (m, 2H), 2.94 (s, 3H), 1.28 (m, 2H)
9	DMSO- d_6	400	δ 11.60 (s, 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)
10	DMSO- d_6	400	δ 11.60 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 7.30 (t, J = 10.1 Hz, 1H), 7.18 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 7.13 (dd, J = 6.0, 2.7 Hz, 1H), 7.03 (m, 1H), 6.27 (t, J = 6.3 Hz, 1H), 3.32 (m, 2H), 3.13 (q, J = 6.0 Hz, 2H), 2.89 (s, 3H)
11	DMSO- d_6	300	δ 11.6 (s, 1 H), 9.08 (s, 1 H), 7.31 (dd, J = 10.0, 9.4 Hz, 1 H), 7.13 (dd, J = 6.4, 2.9 Hz, 1 H), 7.05 - 6.99 (m, 1 H), 6.58 (t, J = 6.0 Hz, 1 H), 6.52 (s, 2 H), 6.17 (t, J = 5.9 Hz, 1 H), 3.28 - 3.21 (m, 2 H), 2.94 - 2.87 (m, 2 H), 1.79 - 1.72 (m, 2 H)
12	DMSO- d_6	400	δ 11.6 (s, 1 H), 9.07 (s, 1 H), 7.30 (dd, J = 10.0, 9.6 Hz, 1 H), 7.13 (dd, J = 6.2, 2.5 Hz, 1 H), 7.05 - 7.02 (m, 2 H), 6.19 (t, J = 5.8 Hz, 1 H), 3.27 - 3.21 (m, 2 H), 2.99 - 2.94 (m, 2 H), 2.87 (s, 3 H), 1.76 - 1.72 (m, 2 H)
13	CD ₃ OD	400	δ 7.36 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.10 (s, 1H), 7.03 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 3.48 (m, 2H), 3.29 (m, 2H)
14	DMSO- d_6	500	δ 11.63 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.39 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.21 (m, 2H), 7.10 (s, 1H), 6.99 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.28 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 3.36 (q, J = 5.8 Hz, 2H), 3.17 (q, J = 5.8 Hz, 2H), 2.91 (s, 3H)
15	DMSO- d_6	400	δ 11.6 (s, 1 H), 9.12 (s, 1 H), 7.37 (dd, J = 8.0, 8.0 Hz, 1 H), 7.21 - 7.18 (m, 1 H), 7.07 (s, 1 H), 6.95 (d, J = 10.0 Hz, 1 H), 6.52 (br s, 3 H), 6.17 (t, J = 6.0 Hz, 1 H), 3.28 - 3.22 (m, 2 H), 2.93 - 2.89 (m, 2 H), 1.77 - 1.73 (m, 2 H)
16	DMSO- d_6	400	δ 11.6 (s, 1 H), 9.11 (s, 1 H), 7.37 (dd, J = 8.0, 8.0 Hz, 1 H), 7.20 (d, J = 7.8 Hz, 1 H), 7.07 - 7.01 (m, 2 H), 6.96 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 6.20 (t, J = 5.9 Hz, 1 H), 3.27 - 3.22 (m, 2 H), 2.99 - 2.94 (m, 2 H), 2.87 (s, 3 H), 1.78 - 1.71 (m, 2 H)
17	DMSO- d_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- d_6	400	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)
19	DMSO- d_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).

[0623]

20	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 10.87 (s, 1 H), 7.75 (s, 1 H), 6.83 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 1 H), 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, 1 H), 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)

[0624] 实施例 A :人吡啶胺 2,3- 双加氧酶 (IDO) 酶测定

[0625] 在大肠杆菌中表达具有 N- 末端 His 标签的人吡啶胺 2,3- 双加氧酶 (IDO), 纯化至同质。IDO 催化色氨酸吡啶核的吡咯环的氧化断裂以得到 N'- 甲酰基犬尿氨酸。按文献所述, 在室温, 在有 20mM 抗坏血酸盐、5 μM 亚甲蓝和 0.2mg/mL 过氧化氢酶的 50mM 磷酸钾缓冲液 (pH 6.5) 存在下, 使用 95nM IDO 和 2mM-Trp 进行测定。在 321nm 处的吸光度增大 (由于形成 N'- 甲酰基犬尿氨酸) 后, 连续记录初始反应速率 (参见 :Sono, M., 等人, 1980, J. Biol. Chem. 255, 1339-1345)。

[0626] 实施例 B :在基于 HeLa 细胞的吡啶胺 2,3- 双加氧酶 (IDO) / 犬尿氨酸试验中测定抑制剂活性

[0627] 从美国典型组织培养物中心 (American Type Tissue Culture Collection) (ATCC, Manassas, VA) 得到 HeLa 细胞 (#CCL-2), 按惯例将它们保存在最低基础培养基 (eagle) 中, 所述培养基含有 2mM L- 谷氨酰胺和调成含有 1.5g/L 碳酸氢钠、0.1mM 非必需氨基酸、1mM 丙酮酸钠和 10% 胎牛血清的 Earle 氏 BSS (均购自 Invitrogen)。在 37°C, 将细胞保存在提供 5% CO₂ 的控湿培养箱中。如下进行测定 :按 5×10³/ 孔的密度, 将 HeLa 细胞接种在 96 孔培养板中, 并培养过夜。第二天, 将 IFN- γ (50ng/mL 终浓度) 和化合物的系列稀释液 (总体积 200 μL 培养基) 加给细胞。温育 48 小时后, 将 140 μL 上清液 / 孔移至新的 96 孔板中。将 10 μL 6.1N 三氯乙酸 (#T0699, Sigma) 混入各孔, 在 50°C 温育 30min 以使吡啶胺 2,3- 双加氧酶产生的 N- 甲酰基犬尿氨酸水解为犬尿氨酸。然后以 2500rpm 将反应混合物离心 10min 以去除沉淀物。将 100 μL 上清液 / 孔移至另一 96 孔板中, 与乙酸中的 100 μL 2% (w/v) 对二甲氨基苯甲醛 (#15647-7, Sigma-Aldrich) 混合。使用 SPECTRAMax 250 微量板读出器 (Molecular Devices), 在 480nm 测量犬尿氨酸产生的黄色。用 L- 犬尿氨酸 (#K8625, Sigma) 作标准。用 100 μL 培养基制备标准液 (240、120、60、30、15、7.5、3.75、1.87 μM), 并将它们与等体积的 2% (w/v) 对二甲氨基苯甲醛混合。测定各个浓度下的抑制百分率, 得到一式两份的平均值。使用非线性回归分析数据, 得到 IC₅₀ 值 (Prism Graphpad)。参见 :Takikawa O, 等人, 1988, J. Biol. Chem., 263(4) :2041-8。

[0628] 实施例 C :IDO 抑制剂对被表达 IDO 的树突细胞抑制的 T 细胞增殖的作用的测定

[0629] 通过白细胞单采术 (leukopheresis), 从人周围单核细胞收集单核细胞。然后, 以 1×10⁶ 细胞 / 孔的密度, 将单核细胞接种在 96 孔板中, 其中使用补充了 10% 胎牛血清和 2mM L- 谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基 (均购自 Invitrogen)。在 37°C 下培养过夜后, 贴壁细胞保留在板上。然后用 100ng/ml GM-CSF (#300-03, PeproTech) 和 250ng/ml IL-4 (#200-04, PeproTech) 刺激贴壁单核细胞 5-7 天, 再用来自鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 的 5 μg/mL LPS (#437650, Sigma) 和 50ng/mL IFN- γ (#285-IF,

R&D Systems) 活化另外 2 天,以诱导树突细胞成熟。

[0630] 树突细胞活化后,将培养基替换为补充了 100-200U/mL IL-2(#CYT-209, ProSpec-Tany TechnoGene) 和 100ng/mL 抗 CD3 抗体 (#555336, PharMingen)、T 细胞 ($2-3 \times 10^5$ 细胞/孔) 和 IDO 化合物系列稀释液的完全 RPMI 1640。温育另外 2 天后,按照厂商的说明,使用比色细胞增殖 ELISA 试剂盒 (#1647229, RocheMolecular Biochemicals), 通过 BrdU 掺入测定法测量 T 细胞增殖。在有 $10 \mu\text{M}$ BrdU 标记溶液存在下,将细胞连续培养 16-18h。然后,去除标记培养基,将 $200 \mu\text{L}$ FixDenat/孔加给细胞,在室温温育 30 分钟。去除 FixDenat 溶液,加入 $100 \mu\text{L}$ /孔抗 -BrdU-POD 抗体缀合物工作溶液。使反应在室温进行 90 分钟。然后去除抗体缀合物,用 $200 \mu\text{L}$ /孔的洗涤溶液冲洗细胞三次。最后,加入 $100 \mu\text{L}$ /孔的底物溶液,在显色期间,用微量板读出器 (Spectra Max PLUS, Molecular Devices) 得到结果。得到在不同时间点的多个读数,以确保数据在线性范围内。按惯例,从包括适当对照在内的重复实验得到数据。参见: Temess P, 等人, 2002, J. Exp. Med., 196 (4) :447-57 ;和 Hwu, P, 等人, 2000, J. Immunol., 164 (7) :3596-9。

[0631] 实施例 D: IDO 抑制剂的抗肿瘤活性的体内试验

[0632] 使用改良的肿瘤同种异体移植物/异种移植物方案,可以测试体内抗肿瘤效能。例如,已有文献报道,在免疫活性小鼠中,IDO 抑制可以与细胞毒性化疗产生协同作用 (Muller, A. J., 等人, 2005, Nat. Med. 11 :312-319)。通过将研究用 IDO 抑制剂在生长于免疫活性同源小鼠中的鼠肿瘤异种移植物模型 (例如 B16 和有关的变体, CT-26, LLC) 中的协同作用,与在用中和抗 -CD4 抗体处理过的同源小鼠中观察到的作用、或与生长在免疫受损的小鼠 (例如 nu/nu) 中的相同肿瘤进行对比,证实了该协同作用依赖于 T 细胞。

[0633] 免疫活性小鼠与免疫受损小鼠的有差别的抗肿瘤作用的概念,也可以允许测试作为单一药剂的研究用 IDO 抑制剂。例如, LLC 肿瘤在它们的同源宿主品系 C57B1/6 中生长良好。但是,如果用 IDO 抑制剂 1-MT (与安慰剂对比) 处理这些小鼠,肿瘤的形成显著延迟,提示 IDO 抑制即生长抑制 (Friberg, M., 等人, 2002, Int. J. Cancer 101 :151-155)。按照该逻辑,可以检验生长在 C57B1/6 免疫活性小鼠中的 LLC 异种移植物肿瘤模型中的 IDO 抑制效能,并与 IDO 抑制剂对在裸小鼠或 SCID 小鼠 (或用中和 T 细胞活性的抗体处理过的 C57B1/6 小鼠) 中的 LLC 肿瘤生长的作用进行对比。由于缓解 IDO 的肿瘤介导的免疫抑制活性的作用可能随不同肿瘤模型的免疫原性潜力而异,可以对肿瘤细胞进行遗传修饰,以增加其免疫原性潜力。例如, GM-CSF 在 B16. F10 细胞中的表达增加它们的免疫原性潜力 (Dranoff, G., 等人, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 90 :3539-3543)。这样,在某些肿瘤模型 (例如 B16. F10) 中,可以产生表达免疫刺激蛋白 (例如 GM-CSF) 的 [多] 克隆,并测试 IDO 抑制剂对从免疫活性和免疫受损小鼠中的这些癌细胞产生的肿瘤的生长抑制作用。

[0634] 评价 IDO 抑制剂体内效能的第三个途径采用“预免疫”鼠肿瘤同种异体移植物/异种移植物模型。在这些模型中,使免疫活性小鼠对特定一种或多种肿瘤抗原致敏,以模拟治疗性抗 - 肿瘤疫苗。当随后在异种移植实验中用鼠肿瘤细胞系 (具有与用于免疫的那些相似的肿瘤抗原) 挑战小鼠时,这会启动小鼠的由免疫系统介导的抗 - 肿瘤应答。已经证实, IDO 的表达会钝化抗 - 肿瘤应答,并使异种移植物更快地生长。重要的是, IDO 抑制剂 1-MT 抑制该模型中的肿瘤生长 (Uyttenhove, C., 等人, 2003, Nat. Med. 9 :1269-1274)。该模型尤其有意义,因为 IDO 活性允许 P815 肿瘤生长,因此 IDO 的特异性抑制是生长抑制性的。

[0635] 最后,治疗性免疫可以用于评价 IDO 抑制剂在体内的效果。例如,已用 B16-BL6 细胞证明,通过静脉内注射肿瘤细胞,然后用由肿瘤细胞表达的确定表征的免疫原性肽(例如 TRP-2)处理,可以挑战 B1k/6 小鼠(Ji 等人,2005, J. Immunol, 175:1456-63)。重要的是,免疫系统调节物(例如抗-CTL-4 抗体)可以提高对这种治疗性免疫的应答。以类似方式——肿瘤肽免疫(用或不用 IDO 抑制剂),可以评价 IDO 抑制剂的效果。通过动物存活(至发病的时间),或通过设定的时间点测量肿瘤向肺和/或其它器官的转移来评价效能。

[0636] 在任何/所有上述模型中,也可以直接和/或间接测量肿瘤反应性免疫细胞的数量和/或活性。用于测量肿瘤反应性免疫细胞的数量和/或活性的方法是公认的,且可以使用本领域技术人员熟悉的技术来进行(Current Protocols in Immunology, Vol. 4, Coligan, J.E. 等人;Immunotherapy of Cancer, Human Press, 2006, Disis, M.L. 和其中的参考文献)。理论上,IDO 的免疫抑制作用的降低可以导致肿瘤特异性的免疫细胞的数量或反应性的增加。另外,当与诸如化疗剂和/或免疫调节剂(例如抗-CTLA4 抗体)等其它治疗剂联用时,IDO 抑制可以进一步增加肿瘤反应性的免疫细胞的数量或反应性。

[0637] 使用标准的肿瘤技术,可以进行所有同种异体移植/异种移植实验(综述见,Corbett 等人,见 Cancer Drug Discovery and Development:Anticancer Drug Development Guide:Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval,第2版。Teicher, B.A. 和 Andrews, P.A., Humana Press Inc.:Totowa, NJ, 2004)。使用本领域技术人员熟悉的技术,可以进行克隆基因(例如 IDO, GM-CSF)并将它们导入肿瘤细胞系(综述见, Sambrook, J. 和 Russel, D., Molecular Cloning: A laboratory Manual(第3版), Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, NY, 2001)。

[0638] 实施例 E: IDO 抑制剂在人免疫缺陷病毒-1(HIV-1) 脑炎模型中的体内测试

[0639] 1. 细胞分离和病毒感染

[0640] 通过白细胞单采术包的对流离心淘析法,可以得到来自 HIV-1、2 和乙型肝炎血清阴性供体的单核细胞和 PBL。使用 Teflon 烧瓶,在补充了 10% 热灭活的混合人血清、1% 谷氨酰胺、50 μ g/mL 庆大霉素、10 μ g/mL 环丙沙星(Sigma) 和 1000U/mL 高纯度重组人巨噬细胞集落刺激因子的 Dulbecco 氏改良的伊格尔培养基(DMEM, Sigma-Aldrich) 中,在悬浮培养物中培养单核细胞。培养 7 天后,以 0.01 的感染复数用 HIV-1_{ADA} 感染 MDM。

[0641] 2. Hu-PBL-NOD/SCID HIVE 小鼠

[0642] 购买 4 周龄雄性 NOD/C.B-17 SCID 小鼠(Jackson Laboratory)。在无病原体条件下,在无菌微型隔离笼中饲养动物。在 PBL 移植前 3 天,给所有动物腹膜内注射大鼠抗-CD122(0.25mg/小鼠),在注射 PBL 前 1 天和注射 PBL(20×10^6 细胞/小鼠) 后 3 天后,注射兔去唾液酸基-GM1 抗体(0.2mg/小鼠)(Wako) 两次。PBL 重建后 8 天,颅内(i.c.) 注射 HIV-1_{ADA}-感染的 MDM(3×10^5 细胞, 10 μ L), 得到 hu-PBL-NOD/SCID HIVE 小鼠。颅内注射 HIV-1 感染的 MDM 后,立即给 hu-PBL-NOD/SCID HIVE 小鼠皮下(s.c) 植入对照(溶媒) 或化合物颗粒(14 或 28 天缓释, Innovative Research)。设计初始实验,以确认用 IDO 化合物处理的 huPBL-NOD/SCID HIVE 动物中病毒特异性的 CTL 的诱导。通过四聚体染色和从脑组织消除 MDM 的神经病理学分析,可以进行确认。然后设计实验,以分析人淋巴细胞重建、体液免疫应答和神经病理性交替(altemations)。在这些实验中,在颅内注射人 MDM 后第 7

天给动物抽血,在第 14 和 21 天处死。收集在含有 EDTA 的试管中的血液用于流式细胞术,而血浆用于使用 ELISA (Beckman Coulter™) 的 HIV-1p24 检测。按照厂商的说明 (Cambridge Biotech HIV-1 蛋白印迹试剂盒, Calypte Biomedical), 通过蛋白印迹试验检测 HIV-1- 特异性的抗体。在对照和化合物处理的动物中, 检测到相似量的病毒特异性的抗体。使用 3 个不同的人白细胞供体, 进行总计 3 个独立实验。

[0643] 3. hu PBL-NOD/SCID HIVE 小鼠的外周血和脾的 FAC 扫描

[0644] 在颅内注射人 MDM 后第 1-3 周, 对外周血进行双色 FACS 分析, 在第 2 和 3 周分析脾细胞。在 4℃, 将人 CD4、CD8、CD56、CD3、IFN- γ 的荧光染料-缀合的单克隆抗体 (mAb) (eBioscience) 与细胞一起温育 30min。为了评价细胞免疫应答, 与抗-人 CD8 和 FITC-缀合的抗-小鼠 CD45 一起进行 IFN- γ 细胞内染色, 以排除鼠细胞。为了测定 Ag-特异性的 CTL, 在植物凝集素/白介素-2 (PHA/IL-2)-刺激的脾细胞上进行别藻蓝蛋白-缀合的四聚体染色, 用于检测 HIV-1^{gag} (p17 (aa77-85) SLYNTVATL, SL-9) 和 HIV-1^{pol} [(aa476-485) ILKEPVHGV, IL-9]。按照 NIH/National Institute of Allergy and Infections Disease, National Tetramer Core Facilities 的建议, 将细胞染色。使用 CellQuest 软件 (Becton Dickinson Immunocytometry System), 使用 FACS Calibur™ 分析数据。

[0645] 4. 组织病理学和影像分析

[0646] 在颅内注射 MDM 后第 14 和 21 天, 采集脑组织, 用 4% 磷酸盐缓冲多聚甲醛固定, 并包埋在石蜡中, 或在 -80℃ 下冷冻备用。将来自包埋块的冠状缝切面切开, 以鉴定注射部位。对于每只小鼠, 从人 MDM 注射部位切下 30-100 个 (5 μ m-厚) 系列切片, 并分析 3-7 片载玻片 (分别 10 个切片)。用二甲苯脱去脑组织切片的石蜡, 用梯度乙醇水合。按照基本的间接方案进行免疫组织化学染色, 其中采用抗原修复 (通过在 0.01mol/L 柠檬酸盐缓冲液中加热至 95℃ 30min 以抗原修复)。为了鉴定小鼠脑中的人细胞, 使用 mAb : 波形蛋白 (1 : 50, 克隆 3B4, Dako Corporation), 其用于鉴定所有人白细胞。分别用 CD68 (1 : 50 稀释度, 克隆 KP 1) 和 CD8 (1 : 50 稀释度, 克隆 144B) 抗体, 检测人 MDM 和 CD8⁺ 淋巴细胞。用 mAb : HIV-1p24 (1 : 10, 克隆 Kal-1, 均购自 Dako) 标记病毒感染的细胞。用 Iba-1 抗体 (1 : 500, Wako) 检测反应性的鼠小神经胶质细胞。使用从日本札幌北海道大学医学研究生院中心研究所细胞药理学系 (Department of Cell Pharmacology, Central Research Institute, Graduate School of Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan) 得到的抗体, 检验人 IDO (huIDO) 表达。用适宜的生物素化的第二抗体检测第一抗体, 并使用抗生物素蛋白-生物素复合物 (Vectastain Elite ABC 试剂盒, Vector Laboratories) 和辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的葡聚糖聚合物 (EnVision, Dako Corporation) 显色。使用 Mayer 氏苏木精, 将免疫染色的切片复染色。缺失第一抗体或掺入了无关的 IgG 同工型的切片用作对照。按照盲法方式, 两名独立的观察员计数来自每只小鼠的每个切片中的 CD8⁺ 淋巴细胞、CD68⁺MDM 和 HIV-1 p24⁺ 细胞的数目。使用 Nikon Eclipse 800 显微镜 (Nikon Instruments Inc) 进行光学显微镜检查。如前所述, 通过计算机辅助影像分析 (Image-Pro® Plus, Media Cybernetics), 对 Iba1 进行半定量分析 (免疫染色占据的面积百分比)。

[0647] 5. 统计分析

[0648] 使用 Prism (Graph Pad) (用 Student t 检验进行对比) 和 ANOVA 分析数据。将 P 值 < 0.05 视为显著的。

[0649] 6. 参考文献

[0650] Poluektova LY, Munn DH, Persidsky Y, 和 Gendelman HE (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。

[0651] 除本文所述那些外,本领域技术人员从前面的描述显而易见本发明的不同修改。此类修改也应在所附权利要求书的范围内。在本申请中引用的每篇参考文献(包括所有专利、专利申请和出版物),都通过引用整体并入本文中。

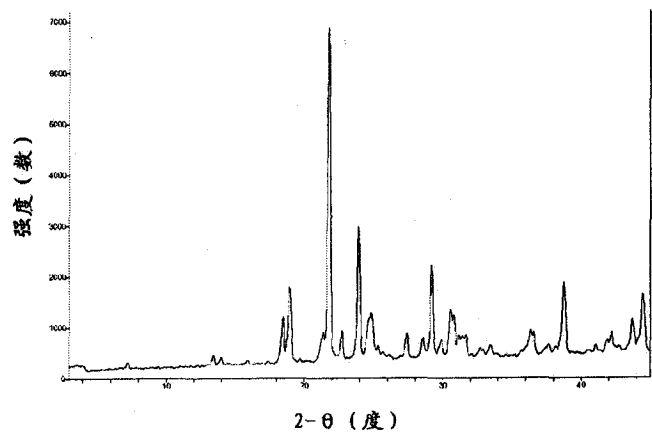


图 1

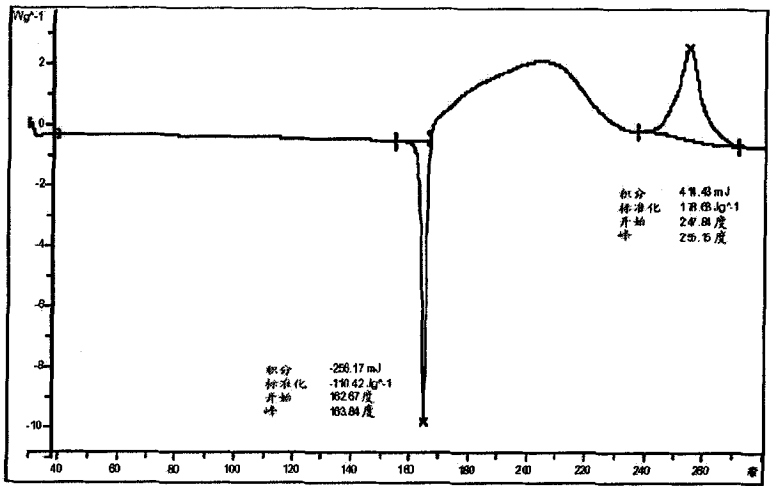


图 2

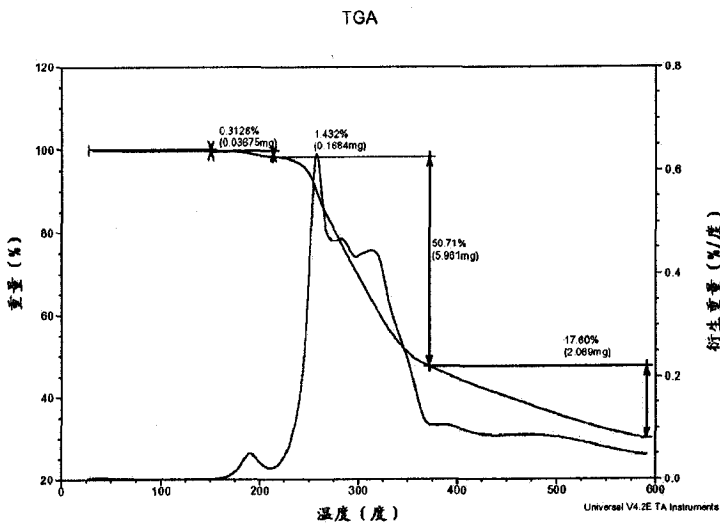


图 3