



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년08월19일  
(11) 등록번호 10-1649548  
(24) 등록일자 2016년08월12일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07D 271/08 (2006.01) A61K 31/4245 (2006.01)  
A61P 31/12 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2011-7002993  
(22) 출원일자(국제) 2009년07월07일  
심사청구일자 2014년07월07일
- (85) 번역문제출일자 2011년02월08일  
(65) 공개번호 10-2011-0031971  
(43) 공개일자 2011년03월29일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2009/049794  
(87) 국제공개번호 WO 2010/005958  
국제공개일자 2010년01월14일
- (30) 우선권주장  
61/078,876 2008년07월08일 미국(US)  
61/150,873 2009년02월09일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌  
US20070185165 A1  
US20060258719 A1  
WO2008058178 A1
- (73) 특허권자  
인사이트 홀딩스 코포레이션  
미국 텔라웨어주 19803 윌밍턴 어거스틴 컷-오프 1801
- (72) 발명자  
콤스 앤드류 피.  
미국 펜실베이니아주 19348 케네트 스퀘어 이스트 도 런 로드 329  
웨 에디 더블유.  
미국 펜실베이니아주 19350 란텐버그 알테머스 드라이브 9  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
장훈

전체 청구항 수 : 총 34 항

심사관 : 송호선

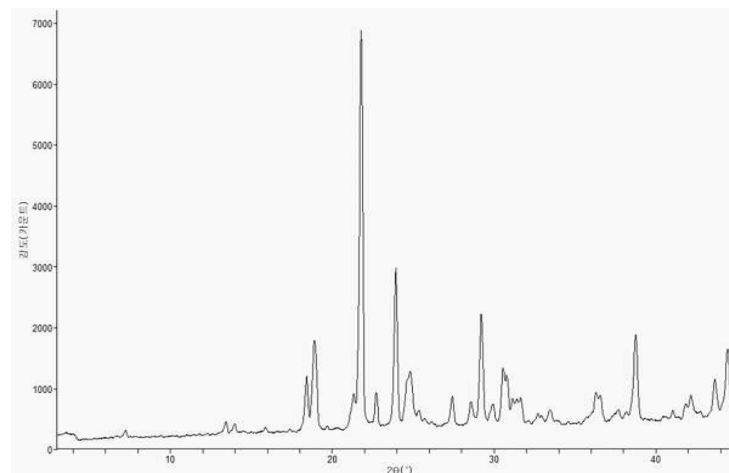
(54) 발명의 명칭 인돌아민 2,3-디옥시게나아제의 억제제로서의 1,2,5-옥사디아졸

(57) 요약

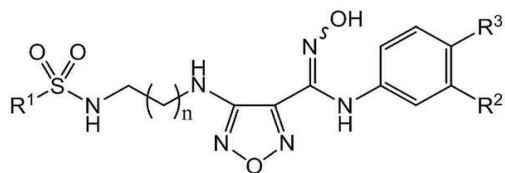
본 발명은 인돌아민 2,3-디옥시게나아제의 억제제이며 암 및 기타 장애의 치료에 유용한 1,2,5-옥사디아졸 유도체, 및 이의 조성물, 및 이러한 1,2,5-옥사디아졸 유도체의 제조 방법 및 이의 제조를 위한 중간체에 관한 것이다. 특히 본 발명은 화학식 I의 IDO 억제제를 제공한다.

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



[화학식 I]



상기 화학식 I에서,

R<sup>1</sup>이 NH<sub>2</sub> 또는 CH<sub>3</sub>이고;

R<sup>2</sup>가 Cl, Br, CF<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>, 또는 CN이고;

R<sup>3</sup>이 H 또는 F이고;

n이 1 또는 2이다.

(72) 발명자

**스파크스 리차드 비.**

미국 펜실베이니아주 19061 부스윈 라킨 로드 2616

**주 원위**

미국 펜실베이니아주 19063 미디어 아벨 플레이스 21

**저우 자청**

미국 델라웨어주 19702 뉴어크 베이 블러바드 46

**린 치옌**

미국 델라웨어주 19711 뉴어크 헨로펜 코트 6

**왕 링카이**

미국 펜실베이니아주 19355 멜번 랜드마크 드라이브 28

**웨 타이-웬**

미국 델라웨어주 19707 호케신 블랙버드 드라이브 501

**류 평리**

미국 델라웨어주 19702 뉴어크 파일럿 코트 205

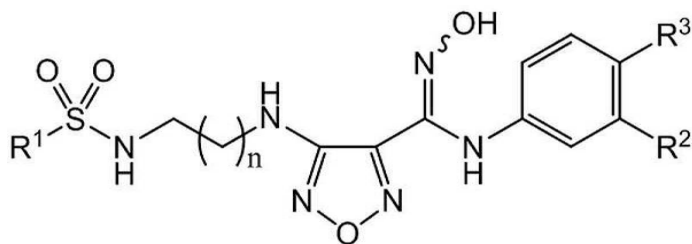
## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

[화학식 I]



상기 화학식 I에서,

R<sup>1</sup>은 NH<sub>2</sub> 또는 CH<sub>3</sub>이고;

R<sup>2</sup>는 Cl, Br, CF<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>, 또는 CN이고;

R<sup>3</sup>은 H 또는 F이고;

n은 1 또는 2이다.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, R<sup>1</sup>이 NH<sub>2</sub>인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, R<sup>1</sup>이 CH<sub>3</sub>인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

#### 청구항 4

제1항에 있어서, R<sup>2</sup>가 Cl인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

#### 청구항 5

제1항에 있어서, R<sup>2</sup>가 Br인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

#### 청구항 6

제1항에 있어서, R<sup>2</sup>가 CF<sub>3</sub>인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, R<sup>2</sup>가 CH<sub>3</sub>인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

#### 청구항 8

제1항에 있어서, R<sup>2</sup>가 CN인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

## 청구항 9

제1항에 있어서,  $R^3$ 이 H인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

## 청구항 10

제1항에 있어서,  $R^3$ 이 F인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

## 청구항 11

제1항에 있어서,  $n$ 이 1인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

## 청구항 12

제1항에 있어서,  $n$ 이 2인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

## 청구항 13

제1항에 있어서,

4-({2-[(아미노설폰일)아미노]에틸}아미노)-*N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

*N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설폰일)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

4-({3-[(아미노설폰일)아미노]프로필}아미노)-*N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

*N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-({3-[(메틸설폰일)아미노]프로필}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

4-({2-[(아미노설폰일)아미노]에틸}아미노)-*N*-(3-클로로-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

*N*-(3-클로로-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설폰일)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

4-({3-[(아미노설폰일)아미노]프로필}아미노)-*N*-(3-클로로-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

*N*-(3-클로로-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-({3-[(메틸설폰일)아미노]프로필}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

4-({2-[(아미노설폰일)아미노]에틸}아미노)-*N*-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

*N*-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-*N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설폰일)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

4-({3-[(아미노설폰일)아미노]프로필}아미노)-*N*-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

*N*-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-*N'*-히드록시-4-({3-[(메틸설폰일)아미노]프로필}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

4-({2-[(아미노설폰일)아미노]에틸}아미노)-*N'*-히드록시-*N*-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

*N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설폰일)아미노]에틸}아미노)-*N*-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

4-({3-[(아미노설포닐)아미노]프로필}아미노)-*N'*-히드록시-*N*-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

*N'*-히드록시-4-({3-[(메틸설포닐)아미노]프로필}아미노)-*N*-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

*N*-(4-플루오로-3-메틸페닐)-*N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;

4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N*-(3-시아노-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드; 및

*N*-(3-시아노-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드로부터 선택되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

#### 청구항 14

4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드인 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

#### 청구항 15

4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드인 화합물.

#### 청구항 16

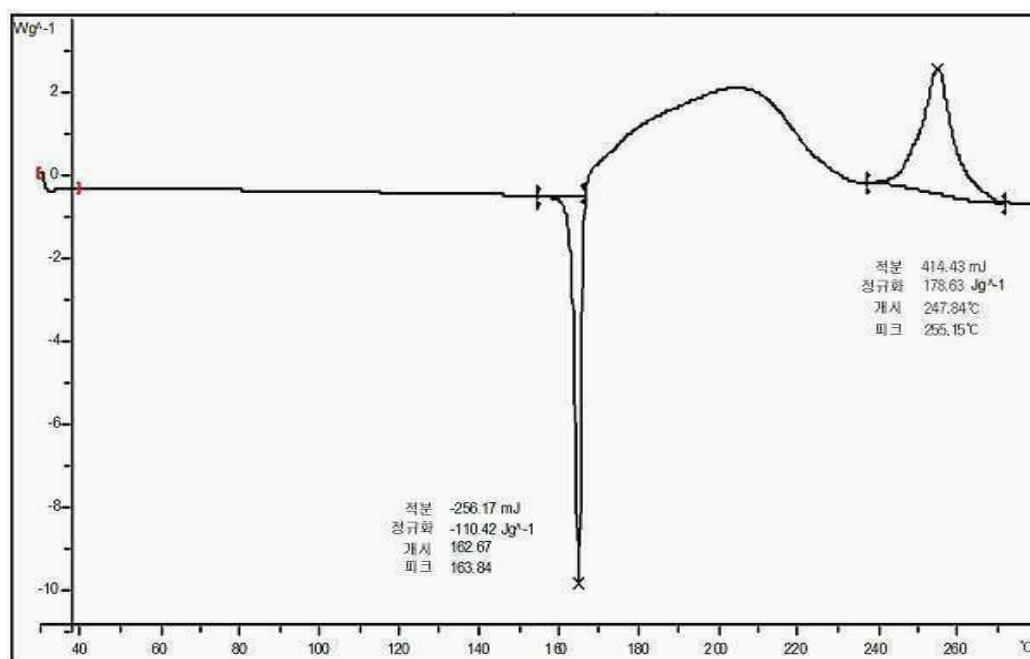
2% 미만의 물을 함유하는, 제15항의 화합물의 고형물.

#### 청구항 17

융점이 159 내지 169℃인 제15항의 화합물의 고형물.

#### 청구항 18

상기 도면에서 보여진 바와 동일한 DSC 열분해도(thermogram)를 갖는 제15항의 화합물의 고형물.



상기 도면에서, 상기 DSC 열분해도의 온도 측정값은 ±3℃로 달라진다.

#### 청구항 19

2 $\theta$ 로 환산하여 18.4°  $\pm$  0.2° , 18.9°  $\pm$  0.2° , 21.8°  $\pm$  0.2° , 23.9°  $\pm$  0.2° , 29.2°  $\pm$  0.2° , 및 38.7°  $\pm$  0.2° 로부터 선택된 적어도 하나의 XRPD 피크를 갖는 제15항의 화합물의 고형물로서, 상기 XRPD는 Cu로 K $\beta$  필터에 의한 1.054056 Å, 개시 각도 3, 정지 각도 45, 샘플링 0.02, 및 스캔 속도 2에서 측정되는, 고형물.

#### 청구항 20

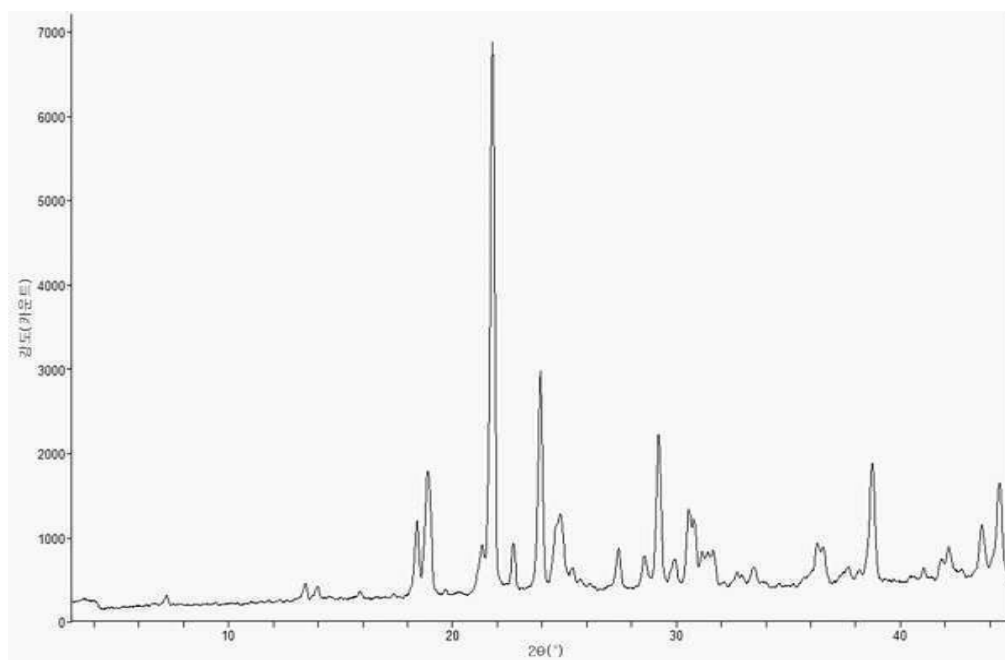
2 $\theta$ 로 환산하여 18.4°  $\pm$  0.2° , 18.9°  $\pm$  0.2° , 21.8°  $\pm$  0.2° , 23.9°  $\pm$  0.2° , 29.2°  $\pm$  0.2° , 및 38.7°  $\pm$  0.2° 로부터 선택된 적어도 2개의 XRPD 피크를 갖는 제15항의 화합물의 고형물로서, 상기 XRPD는 Cu로 K $\beta$  필터에 의한 1.054056 Å, 개시 각도 3, 정지 각도 45, 샘플링 0.02, 및 스캔 속도 2에서 측정되는, 고형물.

#### 청구항 21

2 $\theta$ 로 환산하여 18.4°  $\pm$  0.2° , 18.9°  $\pm$  0.2° , 21.8°  $\pm$  0.2° , 23.9°  $\pm$  0.2° , 29.2°  $\pm$  0.2° , 및 38.7°  $\pm$  0.2° 로부터 선택된 적어도 3개의 XRPD 피크를 갖는 제15항의 화합물의 고형물로서, 상기 XRPD는 Cu로 K $\beta$  필터에 의한 1.054056 Å, 개시 각도 3, 정지 각도 45, 샘플링 0.02, 및 스캔 속도 2에서 측정되는, 고형물.

#### 청구항 22

하기 도면에서 보여진 바와 동일한 XRPD 패턴을 갖는 제15항의 화합물의 고형물.

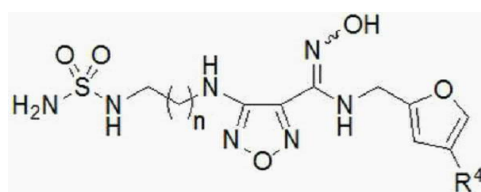


상기 도면에서, 상기 XRPD 패턴의 피크 할당은 2 $\theta$   $\pm$  0.2° 로 달라지고; 상기 XRPD는 Cu로 K $\beta$  필터에 의한 1.054056 Å, 개시 각도 3, 정지 각도 45, 샘플링 0.02, 및 스캔 속도 2에서 측정된다.

#### 청구항 23

화학식 F28의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

[화학식 F28]



상기 화학식 F28에서,

$R^4$ 는 F, Cl, Br, 또는 I이고;

n은 1 또는 2이다.

#### 청구항 24

4-({2-[(아미노설폰닐)아미노]에틸}아미노)-N-[(4-브로모-2-푸틸)메틸]-N'-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드인 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

#### 청구항 25

4-({2-[(아미노설폰닐)아미노]에틸}아미노)-N-[(4-클로로-2-푸틸)메틸]-N'-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드인 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

#### 청구항 26

제1항 내지 제15항 및 제23항 내지 제25항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 환자의 암, 바이러스성 감염, 우울증, 알츠하이머병, 헌팅턴병, 외상, 노화 관련 백내장, 기관 이식 거부, 또는 자가면역 질환의 치료에 사용되는 약제학적 조성물.

#### 청구항 27

제1항 내지 제15항 및 제23항 내지 제25항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 환자의 결장암, 췌장암, 유방암, 전립선암, 폐암, 뇌암, 난소암, 자궁경부암, 고환암, 신장암, 두경부암, 림프종, 흑색종 또는 백혈병 치료에 사용되는 약제학적 조성물.

#### 청구항 28

제27항에 있어서, 항바이러스제, 항암 백신, 항-세포독성 T림프구 연관 단백질 4[cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4(CTLA-4)] 항체, 항-프로그래밍된 세포 사멸 단백질 1[programmed cell death protein 1(PD-1)] 항체, 화학요법제, 면역억제제, 방사선, 항종양 백신, 항바이러스 백신, 인터페론 알파, 종양 괴사 인자(TNF), 인터류킨-2(IL-2), 과립구 대식세포 콜로니 자극인자[granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(GM-CSF)], 또는 티로신 키나아제 억제제를 단일 투약 형태로 환자에게 병용투여하거나, 또는 별개의 투약 형태로서 동시에 또는 순차적으로 환자에게 투여하기 위한 약제학적 조성물.

#### 청구항 29

제28항에 있어서, 환자에게 인터류킨-2(IL-2)를 병용투여하기 위한, 약제학적 조성물.

#### 청구항 30

제28항에 있어서, 환자에게 항-세포독성 T림프구 연관 단백질 4(CTLA-4) 항체를 병용투여하기 위한, 약제학적 조성물.

#### 청구항 31

제28항에 있어서, 환자에게 항-프로그래밍된 세포 사멸 단백질 1(PD-1) 항체를 병용투여하기 위한, 약제학적 조성물.

#### 청구항 32

제28항에 있어서, 상기 화학요법제가 세포독성제인, 약제학적 조성물.

#### 청구항 33

제1항 내지 제15항 및 제23항 내지 제25항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 환자의 흑색종 치료에 사용되는 약제학적 조성물.

#### 청구항 34

3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온;  
 3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온;  
 4-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온;  
 N-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-N'-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드;  
 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온;  
 3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온;  
 4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온; 및  
 N-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-N'-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드  
 로부터 선택되는 화합물.

### 청구항 35

삭제

### 청구항 36

삭제

### 청구항 37

삭제

### 청구항 38

삭제

### 청구항 39

삭제

### 청구항 40

삭제

### 청구항 41

삭제

### 청구항 42

삭제

### 청구항 43

삭제

### 청구항 44

삭제

### 청구항 45

삭제

### 청구항 46



삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

삭제

청구항 121

삭제

청구항 122

삭제

청구항 123

삭제

청구항 124

삭제

청구항 125

삭제

청구항 126

삭제

청구항 127

삭제

청구항 128

삭제

청구항 129

삭제

청구항 130

삭제

청구항 131

삭제

청구항 132

삭제

청구항 133

삭제

청구항 134

삭제

청구항 135

삭제

청구항 136

삭제

청구항 137

삭제

청구항 138

삭제

청구항 139

삭제

청구항 140

삭제

청구항 141

삭제

청구항 142

삭제

청구항 143

삭제

청구항 144

삭제

청구항 145

삭제

청구항 146

삭제

청구항 147

삭제

청구항 148

삭제

청구항 149

삭제

청구항 150

삭제

청구항 151

삭제

청구항 152

삭제

청구항 153

삭제

청구항 154

삭제

청구항 155

삭제

청구항 156

삭제

청구항 157

삭제

청구항 158

삭제

청구항 159

삭제

청구항 160

삭제

청구항 161

삭제

청구항 162

삭제

청구항 163

삭제

청구항 164

삭제

청구항 165

삭제

청구항 166

삭제

청구항 167

삭제

청구항 168

삭제

청구항 169

삭제

청구항 170

삭제

청구항 171

삭제

청구항 172

삭제

청구항 173

삭제

청구항 174



삭제

청구항 175

삭제

청구항 176

삭제

**발명의 설명****기술 분야**

- [0001] 본 발명은 인돌아민 2,3-디옥시게나아제의 억제제이며 암과 기타 장애의 치료에 유용한 1,2,5-옥사디아졸 유도체, 및 이를 제조하기 위한 방법 및 중간체에 관한 것이다.

**배경 기술**

- [0002] 트립토판(Trp)은 단백질, 니아신 및 신경전달물질 5-하이드록시트립타민(세로토닌)의 생합성에 요구되는 필수 아미노산이다. 효소 인돌아민 2,3-디옥시게나아제(INDO 또는 IDO로도 알려짐)는 L-트립토판의 N-포름일-키누레닌(N-formyl-kynurenine)으로의 분해과정에서 제1 단계 및 속도 결정 단계에 촉매작용을 한다. 인간 세포에서, IDO 활성화로부터 기인하는 Trp의 고갈은 중요한 감마 인터페론(IFN- $\gamma$ ) 유도성 항미생물 작용 기전이다. IFN- $\gamma$  자극은 IDO의 활성화를 유도하며, 이는 Trp를 고갈시켜 톡소플라스마 곤디(*Toxoplasma gondii*) 및 클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*)와 같은 Trp 의존성 세포내 병원균의 성장을 정지시킨다. IDO 활성화 또한 많은 종양 세포에 대하여 항증식 효과를 가지며, IDO 유도가 동종(allogeneic) 종양의 거부반응 동안에 생체 내에서 관찰되어 왔는데, 이는 이 효소의 종양 거부 과정에서의 가능한 역할을 보여준다(Daubener, *et al.*, 1999, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 467: 517-24; Taylor, *et al.*, 1991, *FASEB J.*, 5: 2516-22).
- [0003] 말초 혈액 림프구(PBL)와 공동 배양된 HeLa 세포가, IDO 활성화의 상향조절을 통해 면역억제 표현형을 획득하는 것으로 관찰되었다. 인터류킨-2(IL2)를 사용한 치료시 PBL 증식의 감소가, PBL에 의한 IFNG 분비에 대한 반응으로 종양 세포에 의해 방출된 IDO로부터 기인하는 것으로 여겨졌다. 이 효과는 특정 IDO 억제제인 1-메틸-트립토판(1MT)에 의한 치료에 의해 뒤바뀌었다. 종양 세포에서 IDO 활성화가 항종양 반응을 손상시킬 수 있는 것으로 제시되었다(Logan, *et al.*, 2002, *Immunology*, 105: 478-87).
- [0004] 최근에, Trp 고갈의 면역조절 역할이 상당한 주목을 받아왔다. 몇 가지 방식의 증거가 IDO가, 면역관용(immune tolerance)의 유도에 관련됨을 제시하고 있다. 포유동물의 임신, 종양 저항, 만성 감염 및 자가면역 질환의 연구는, IDO를 발현하는 세포가 T-세포 반응을 억제하고 관용을 촉진할 수 있음을 보여왔다. 가속화된 Trp 이화작용(catabolism)이 감염, 악성종양, 자가면역 질환 및 AIDS와 같은 세포성 면역 활성화와 연관된 질환 및 장애에서 관찰될 뿐만 아니라 임신 중에 관찰되어 왔다. 예를 들어, IFN 수준의 증가와 높은 Trp 대사산물의 수준 상승이 자가면역 질환에서 관찰되어 왔는데, 자가면역 질환에서 발생하는 Trp의 전신 또는 국소적 고갈이 이들 질환의 악화 및 소모성 증상과 관련될 수 있다고 가정되어 왔다. 이 가설을 지지하여, 높은 수준의 IDO가 관절염 관절의 활액으로부터 분리된 세포에서 관찰되었다. IFN이 또한 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 환자에서 증가하며, IFN 수준의 증가는 예후(prognosis) 악화와 연관된다. 따라서, IDO가 HIV 감염에 의해 만성적으로 유도되며 기회감염(opportunistic infection)에 의해 더 증가한다는 것과, Trp의 만성 손실이 악액질(cachexia), 치매와 설사 및 아마도 AIDS 환자의 면역억제의 원인이 되는 기전을 개시되게 한다는 것이 제시되었다(Brown, *et al.*, 1991, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 294: 425-35). 이를 위해, 최근에 IDO 억제제가 바이러스 특이적 T-세포의 수준을 높이고, 부수적으로 HIV 마우스 모델에서 바이러스로 감염된 대식세포의 수를 감소시킬 수 있는 것으로 나타났다(Portula *et al.*, 2005, *Blood*, 106: 2382-90).
- [0005] IDO는 면역억제 과정에서 자궁내 태아 거부반응을 방지하는 역할을 하는 것으로 여겨진다. 40년 이상 전에, 조직 이식 면역학에 의해 예측될 수 있는 것임에도 불구하고 임신 중 유전적으로 이질적인 포유동물의 태아가 생존한다는 것이 관찰되었다(Medawar, 1953, *Symp. Soc. Exp. Biol.* 7: 320-38). 산모와 태아의 해부학적 분리 및 태아의 항원 미숙이, 태아의 동종이식 생존을 충분히 설명할 수는 없다. 최근에 산모의 면역 관용에 관심이 집중되어 왔다. 정상 임신 중에 IDO가 인간 융합세포영양막(syncytiotrophoblast) 세포에 의해 발현되어 전신

트립토판 농도가 내려가기 때문에, 산모-태아 접촉면에서의 IDO 발현이 태아 동종이식의 면역 거부반응을 방지하는데 필요하다는 가설이 세워졌다. 이 가설을 시험하기 위해, 임신한 마우스(동질유전자적(syngeneic) 또는 동종 태아를 임신함)를 1MT에 노출시켰고, 모든 동종 태아의 급격한 T-세포 유도된 거부반응이 관찰되었다. 따라서, 트립토판을 이화함으로써, 포유동물의 태아가 T-세포 활성을 억제하고 거부반응에 대해 자신을 방어하는 것으로 보이며, 무린의 임신 중 트립토판 이화작용을 차단하는 것은, 모성 T-세포가 태아 동종이식 거부를 유발하게 하는 것을 허용한다(Munn, *et al.*, 1998, *Science*, 281: 1191-3).

[0006] IDO에 의한 트립토판 분해에 기초한 종양 면역 저항 기전에 대한 추가의 증거는, 대부분의 인간 종양이 본질적으로 IDO를 발현한다는 관찰과, 면역원성 마우스 종양 세포에 의한 IDO의 발현이 전면역화된(preimmunized) 마우스에 의해 이들의 거부반응을 방지한다는 관찰로부터 비롯된다. 이 효과는 종양 부위에서 특이적 T-세포의 축적의 부족을 수반하며, 뚜렷한 독성이 없어서 IDO의 억제제로 마우스를 전신 처리함으로써 일부 되돌아갈 수 있다. 따라서, 암 환자의 치료적 백신 접종의 효능이, IDO 억제제의 수반되는 투여에 의해 개선될 수 있음이 제시되었다(Uyttenhove *et al.*, 2003, *Nature Med.*, 9: 1269-74). 또한, IDO 억제제인 1-MT가 화학치료제와 함께 상승효과를 나타내어 마우스에서 종양 성장을 감소시킬 수 있는 것으로 나타났으며, 이는 IDO 억제가 또한 전형적인 세포독성 치료법의 항-종양 활성을 향상시킬 수 있음을 제시한다(Muller *et al.*, 2005, *Nature Med.*, 11: 312-9).

[0007] 종양에 대한 면역 무반응의 원인이 되는 하나의 기전은 관용유발(tolerogenic) 숙주 APC에 의한 종양 항원의 제시일 수 있다. CD123(IL3RA)과 CCR6를 공동발현하고 T-세포 증식을 억제하는 인간 IDO 발현 항원 제시 세포(APC)의 소집단이 또한 기술되어 왔다. 성숙 및 미숙 CD123-양성 수지상 세포는 T-세포 활성을 억제하였고, 이 IDO 억제 활성은 1MT에 의해 차단되었다(Munn, *et al.*, 2002, *Science*, 297: 1867-70). 또한, 마우스 종양 배출 림프절(TDLN: tumor-draining lymph node)이 본질적으로 면역억제 수준의 IDO를 발현하는 형질세포양(plasmacytoid) 수지상 세포(pDC)의 소집단을 함유한다는 것이 입증되어 왔다. 단지 0.5%의 림프절 세포를 포함함에도 불구하고, 시험관 내에서, 이들 pDC는 pDC 자체에 의해 제시된 항원에 대한 T-세포 반응을 강력하게 억제하고 또한, 우세한 방식으로, 비억제성 APC에 의해 제시된 제 3자 항원에 대한 T-세포 반응을 억제하였다. pDC의 집단 내에, 기능적 IDO 매개된 억제제 활성의 대부분은 B-계열 마커 CD19를 공동발현하는 pDC의 신규 소집단과 분리되었다. 따라서, TDLN에서 pDC에 의한 IDO 매개된 억제가 숙주 항종양 T-세포 반응을 강력히 억제하는 국소적 미세환경을 만들어낸다는 가설이 세워졌다(Munn, *et al.*, 2004, *J. Clin. Invest.*, 114(2): 280-90).

[0008] IDO는 트립토판, 세로토닌 및 멜라토닌의 인돌 부분을 분해하며, 통틀어 키누레닌(kynurenine)으로 알려진 신경활성(neuroactive) 및 면역조절 대사물질의 생성을 개시한다. 국소적으로 트립토판을 고갈시키고 세포사멸 유발성(proapoptotic) 키누레닌을 증가시킴으로써, 수지상 세포(DC)에 의해 발현된 IDO는 T-세포 증식 및 생존에 상당한 영향을 미칠 수 있다. DC에서의 IDO 유도는 조절성 T-세포에 의해 구동되는 결실 관용(deletional tolerance)의 일반적인 기전일 수 있다. 이러한 관용유발 반응이 다양한 생리병리학적 조건에서 작동할 것으로 예상할 수 있기 때문에, 트립토판 기전과 키누레닌 생성이 면역계 및 신경계 간에 중요한 접점에 해당될 수 있다(Grohmann, *et al.*, 2003, *Trends Immunol.*, 24: 242-8). 지속적인 면역 활성화 상태에서, 자유 혈청 Trp의 사용가능성이 사라지며, 세로토닌 생성 감소의 결과로 세로토닌 기능 또한 영향을 받을 수 있다(Wirleitner, *et al.*, 2003, *Curr. Med. Chem.*, 10: 1581-91).

[0009] 흥미롭게도, 인터페론- $\alpha$ 의 투여가 우울 증상 및 인지 기능의 변화와 같은 신경정신적 부작용을 유도하는 것으로 관찰되어 왔다. 세로토닌 신경전달에 대한 직접적인 영향이 이러한 부작용의 원인이 될 수 있다. 또한, IDO 활성화가 트립토판 수준의 감소를 유발할 수 있기 때문에, 세로토닌(5-HT)의 전구체인 IDO가 중추적 5-HT 합성을 감소시킴으로써 이러한 신경정신적 부작용에 역할을 한다. 더욱이, 3-하이드록시-키누레닌(3-OH-KYN) 및 퀴놀린산(QUIN)과 같은 키누레닌 대사물질은 뇌 기능에 독성 효과를 갖는다. 3-OH-KYN이 또한 활성 산소종(ROS)의 생성을 증가시킴으로써 산화적 스트레스를 초래할 수 있으며, QUIN이 해마 N-메틸-D-아스파테이트(NMDA) 수용체의 과다자극을 생성하여 세포사멸 및 해마 위축을 유발할 수 있다. NMDA 과다자극에 의해 야기되는 ROS 과다생성 및 해마 위축 모두는 우울증과 연관이 있다(Wichers and Maes, 2004, *J. Psychiatry Neurosci.*, 29: 11-17). 따라서, IDO 활성이 우울증에 역할을 할 수 있다.

[0010] IDO의 소분자 억제제가 상기 기술된 것과 같은 IDO 관련 질병을 치료하거나 예방하기 위해 개발되고 있다. 예를 들어, 옥사디아졸 및 기타 헤테로사이클릭 IDO 억제제가 미국 특허 제2006/0258719호 및 미국 특허 제2007/0185165호에 보고되어 있다. PCT 공개 WO 제99/29310호는 1-메틸-DL-트립토판, p-(3-벤조퓨라닐)-DL-알라닌, p-[3-벤조(b)티에닐]-DL-알라닌, 및 6-니트로-L-트립토판과 같은 IDO 억제제를 사용하여, 트립토판 및 트

립토판 대사물질의 국소적 세포의 농도를 바꾸는 것을 포함하는 T-세포 매개 면역을 바꾸는 방법을 보고하고 있다(Munn, 1999). T-세포 반응을 향상시키거나 감소시키기 위한 항원 제시 세포를 제조하는 방법이 유럽 특허 제1501918호로도 공개된 WO 제03/087347호에 보고되어 있다(Munn, 2003). 인돌아민-2,3-디옥시게나아제(IDO) 억제 활성을 갖는 화합물이 또한 WO 제2004/094409호에 보고되어 있으며, 미국 특허 출원 공개 제2004/0234623호는 다른 치료 수단과 조합하여 인돌아민-2,3-디옥시게나아제의 억제제를 투여함으로써 암 또는 감염을 갖는 대상을 치료하는 방법에 관한 것이다.

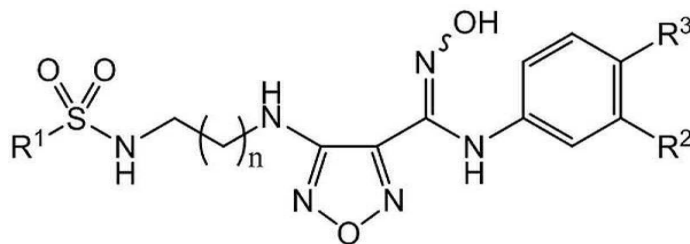
[0011] 면역 억제, 중앙 저항 및/또는 거부반응, 만성 감염, HIV-감염, AIDS(악액질, 치매 및 설사와 같은 이의 징후 포함), 자가면역 질환 또는 장애(예컨대 류마티스 관절염), 및 면역 관용 및 자궁내 태아 거부반응에서의 IDO에 대한 역할을 보여주는 실험 데이터를 고려할 때, IDO 활성을 억제함으로써 트립토판 분해의 억제를 목표로 하는 치료제가 바람직하다. IDO 억제제는 T-세포를 활성화시켜 T-세포가 임신, 악성종양 또는 바이러스, 예컨대 HIV에 의해 억제되는 경우에 T-세포 활성화를 향상시키는데 사용될 수 있다. IDO의 억제는 또한 우울증과 같은 신경 또는 신경정신적 질환 또는 장애를 갖는 환자에 대한 중요한 치료 전략일 수 있다. 본 발명의 화합물, 조성물 및 방법은 IDO 조절제에 대한 현재의 요구를 충족시키는데 도움을 준다.

## 발명의 내용

[0012] 본 발명의 요약

[0013] 본 발명은 특히 화학식 I의 IDO 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0014] [화학식 I]



[0015]

[0016] 상기 화학식 I에서,

[0017] 구성 변수들은 본 명세서에 정의되어 있다.

[0018] 본 발명은 또한 화학식 I의 화합물 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0019] 본 발명은 또한 인돌아민 2,3-디옥시게나아제(IDO)를 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과 접촉시키는 것을 포함하는, 인돌아민 2,3-디옥시게나아제의 활성을 억제하는 방법을 제공한다.

[0020] 본 발명은 또한 환자의 면역억제의 억제 방법으로서, 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 상기 환자에게 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

[0021] 본 발명은 또한 환자의 암, 바이러스성 감염, 우울증, 신경퇴행적 장애, 외상, 노화 관련 백내장, 기관 이식 거부, 또는 자가면역 질환의 치료 방법으로서, 치료적 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 상기 환자에게 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

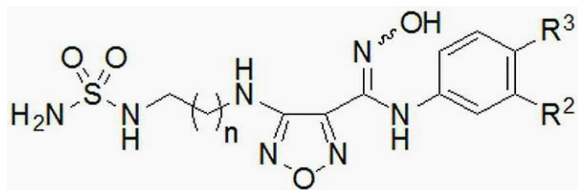
[0022] 본 발명은 또한 환자의 흑색종의 치료 방법으로서, 치료적 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 상기 환자에게 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

[0023] 본 발명은 또한 치료에 사용하기 위한 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0024] 본 발명은 또한 치료에 사용하기 위한 의약의 제조를 위한, 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공한다.

[0025] 본 발명은 또한 화학식 F15의 화합물의 제조에 유용한 중간체, 상기 중간체의 제조 방법, 및 상기 중간체를 함유하는 조성물을 제공한다.

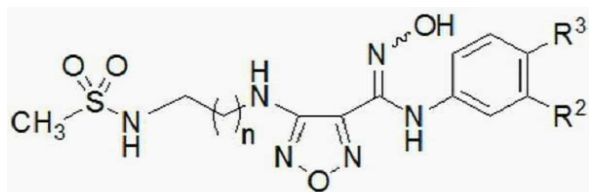
[0026] [화학식 F15]



[0027]

[0028] 본 발명은 또한 화학식 F19의 화합물의 염의 제조에 유용한 중간체, 상기 중간체의 제조 방법, 및 상기 중간체를 함유하는 조성물을 제공한다.

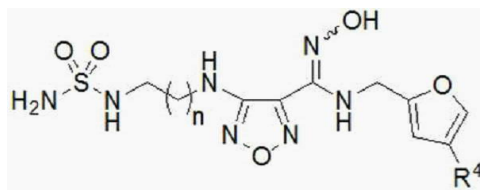
[0029] [화학식 F19]



[0030]

[0031] 본 발명은 또한 화학식 F28의 화합물의 염의 제조에 유용한 중간체, 상기 중간체의 제조 방법, 및 상기 중간체를 함유하는 조성물을 제공한다.

[0032] [화학식 F28]



[0033]

### 도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 실시예 1에서 제조된 본 발명의 화합물의 XRPD 패턴 특성을 보여준다.

도 2는 실시예 1에서 제조된 본 발명의 화합물의 DSC 열분해도(thermogram) 특성을 보여준다.

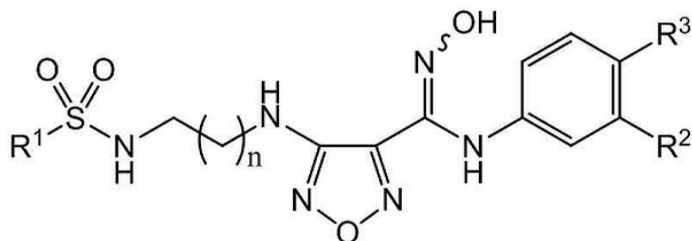
도 3은 실시예 1에서 제조된 본 발명의 화합물의 TGA 데이터 특성을 보여준다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 발명의 상세한 설명

[0036] 본 발명은 특히, 화학식 I의 IDO 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0037] [화학식 I]




[0038]

[0039] 상기 화학식 I에서,

[0040] R<sup>1</sup>이 NH<sub>2</sub> 또는 CH<sub>3</sub>이고;

- [0041]  $R^2$ 가 Cl, Br,  $CF_3$ ,  $CH_3$ , 또는 CN이고;
- [0042]  $R^3$ 이 H 또는 F이고;
- [0043] n이 1 또는 2이다.
- [0044] 몇 가지 양태에서,  $R^1$ 이  $NH_2$ 이다.
- [0045] 몇 가지 양태에서,  $R^1$ 이  $CH_3$ 이다.
- [0046] 몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가 Cl이다.
- [0047] 몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가 Br이다.
- [0048] 몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가  $CF_3$ 이다.
- [0049] 몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가  $CH_3$ 이다.
- [0050] 몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가 CN이다.
- [0051] 몇 가지 양태에서,  $R^3$ 이 H이다.
- [0052] 몇 가지 양태에서,  $R^3$ 이 F이다.
- [0053] 몇 가지 양태에서, n이 1이다.
- [0054] 몇 가지 양태에서, n이 2이다.
- [0055] 본 발명의 화합물은 다양한 고체 형태로 존재할 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, "고체 형태"란 예를 들어, 용점, 용해도, 안정성, 결정도, 흡습성, 수분 함량, TGA 특성, DSC 특성, DVS 특성, XRPD 특성 등과 같은 하나 이상의 성질을 특징으로 하는 고형물을 의미한다. 고체 형태는 예를 들어 무정형, 결정형, 또는 이들의 혼합일 수 있다.
- [0056] 상이한 결정질 고체 형태는 전형적으로 상이한 결정질 격자(예를 들어, 단위 세포)를 가지며, 통상적 결과로서, 상이한 물리적 성질을 갖는다. 일부 예에서, 상이한 결정질 고체 형태는 상이한 물 또는 용매 함량을 갖는다. 상이한 결정질 격자는 X-선 분말 회절(XRPD)과 같은 고형 상태 특성화 방법에 의해 확인될 수 있다. 시차주사 열량계(DSC), 열 중량 분석(TGA), 동적 증기 흡착(DVS) 등과 같은 기타 특성화 방법에서, 안정성 및 용매/수분 함량을 측정하는데 뿐만 아니라 고체 형태를 확인하는데 추가로 도움이 된다.
- [0057] 하나의 측면에서, 본 발명은 다양한 고체 형태의 4-({2-[(아미노설폰)아미노]에틸}아미노)-N-(3-브로모-4-플루오로페닐)-N'-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드를 제공한다(실시예 1 참조). 몇 가지 양태에서, 고체 형태는 결정질 고형물이다. 몇 가지 양태에서, 고체 형태는 실질적으로 무수이다(예를 들어, 약 1% 미만의 물, 약 0.5% 미만의 물, 약 1.5% 미만의 물, 약 2% 미만의 물 함유). 몇 가지 양태에서, 고체 형태는 약 162 내지 약 166°C의 온도의 용점, 또는 그 온도에 집중된 DSC 흡열을 특징으로 한다. 몇 가지 양태에서, 고체 형태는 약 164°C의 온도의 용점, 또는 그 온도에 집중된 DSC 흡열을 특징으로 한다. 몇 가지 양태에서, 고체 형태는 도 2에 나타나 있는 바와 실질적으로 동일한 DSC 열분해도를 갖는다. 추가 양태에서, 고체 형태는 2- $\theta$ 로 환산하여, 약 18.4°, 약 18.9°, 약 21.8°, 약 23.9°, 약 29.2°, 및 약 38.7°로부터 선택된 적어도 하나, 2개 또는 3개의 XRPD 피크를 갖는다. 추가 양태에서, 고체 형태는 도 1에 나타나 있는 바와 실질적으로 동일한 XRPD 패턴을 갖는다.
- [0058] 본 발명은 또한 고체 형태의 4-({2-[(아미노설폰)아미노]에틸}아미노)-N-(3-브로모-4-플루오로페닐)-N'-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드를 포함하는 조성물을 제공한다(실시예 1 참조). 상기 조성물은 적어도 약 50 중량%, 적어도 약 75 중량%, 적어도 약 90 중량%, 적어도 약 95 중량%, 또는 적어도 약 99 중량%의 고체 형태를 포함할 수 있다. 상기 조성물은 또한 약제학적으로 허용가능한 부형제를 함유할 수 있다. 몇 가지 양태에서, 고체 형태는 실질적으로 순수하다.



- [0059] 반사(피크)의 XRPD 패턴은 일반적으로 특정 결정성 형태의 지문(fingerprint)으로 여겨진다. XRPD 피크의 상대적 강도가, 그 중에서도, 시료 제조 기법, 결정 크기 분포, 사용된 다양한 필터, 시료 마운팅(mounting) 과정, 및 사용된 특정 기기에 따라 크게 달라질 수 있음은 잘 알려져 있다. 일부 경우, 기기 타입이나 설정에 따라, 새로운 피크가 관찰되거나 존재하던 피크가 사라질 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "피크"는 최대 피크 높이/강도의 적어도 4%의 상대적 높이/강도를 갖는 반사를 지칭한다. 더욱이, 기기 편차 및 기타 인자들이  $2-\theta$  값에 영향을 미칠 수 있다. 따라서, 본 명세서에 보고된 것과 같이, 피크 할당(assignment)은 약  $\pm 0.2^\circ$  ( $2-\theta$ )까지 달라질 수 있고, 본 명세서에서 XRPD의 문맥 내에 사용된 용어 "실질적으로"는 상기 언급된 편차를 포함하는 것을 의미한다.
- [0060] 같은 방식으로, DSC, TGA, 또는 다른 열 실험장치들과 관련된 온도 측정값은 기기, 특정 설정, 시료 준비 등에 따라 약  $\pm 3^\circ\text{C}$ 로 달라질 수 있다. 따라서, 도면 중 어느 하나에 나타나 있는 바와 "실질적으로" 같은 DSC 열분해도를 갖는, 본 명세서에 보고된 결정성 형태는 상기 편차를 수용하는 것으로 이해된다.
- [0061] 본 명세서의 다양한 곳에서, 본 발명의 화합물의 치환기는 그룹으로 또는 범위로 개시될 수 있다. 본 발명은 이러한 그룹 및 범위의 멤버의 각각의 및 모든 개별 하위조합(subcombination)을 포함한다는 것이 구체적으로 의도된다.
- [0062] 본 발명의 화합물은 안정한 것으로 의도된다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, "안정한"이란 반응 혼합물로부터 유용한 수준의 순도로 분리하는 것을 충분히 왕성하게 존속시키며 바람직하게는 효과적인 치료제로 제형할 수 있는 화합물을 의미한다.
- [0063] 별개의 양태의 문맥의 명확성을 위해 기재된 본 발명의 특정한 특징은 단일 양태로 조합하여 제공될 수도 있다는 것이 추가로 인지된다. 반대로, 단일 양태의 문맥의 간결성을 위해 기재된 본 발명의 다양한 특징은 별개로 또는 임의의 적합한 하위조합으로 제공될 수 있다.
- [0064] 본 발명의 화합물은 모든 가능한 기하 이성질체를 포함하는 것이 추가로 의도된다. 본 발명의 화합물의 시스 및 트랜스 기하 이성질체가 기재되어 있고, 이성질체의 혼합물로서 또는 별개의 이성질체 형태로서 분리될 수 있다. 물결무늬 ""로 표시되는 구조 다이어그램에서의 결합은, 그 구조가 시스 또는 트랜스 이성질체, 또는 시스와 트랜스 이성질체의 임의의 비율의 혼합물을 표시하는 것을 나타낸다는 것이 의도된다.
- [0065] 본 발명의 화합물은 또한 호변체 형태를 포함한다. 호변체 형태는 양성자의 수반되는 양성자 이동과 함께 인접 이중결합과 함께 단일 결합의 교체로부터 기인한다.
- [0066] 본 발명의 화합물은 또한 중간 또는 최종 화합물에 존재하는 원소의 모든 동위원소를 포함할 수 있다. 동위원소는, 원자수는 동일하지만 질량수는 상이한 원자를 포함한다. 예를 들어, 수소의 동위원소는 삼중수소 및 중수소를 포함한다.
- [0067] 몇 가지 양태에서, 본 발명의 화합물, 및 이의 염은 실질적으로 분리된다. "실질적으로 분리된"란, 형성 또는 검출되는 환경으로부터 화합물이 적어도 부분적으로 또는 실질적으로 분리된다는 것을 의미한다. 부분적 분리는 예를 들어, 본 발명의 화합물이 풍부한 조성물을 포함할 수 있다. 실질적 분리는 적어도 약 50 중량%, 적어도 약 60 중량%, 적어도 약 70 중량%, 적어도 약 80 중량%, 적어도 약 90 중량%, 적어도 약 95 중량%, 적어도 약 97중량, 또는 적어도 약 99중량%의 본 발명의 화합물 또는 이의 염을 함유하는 조성물을 포함할 수 있다. 화합물 및 이의 염을 분리하는 방법은 본 기술분야에서 일상적인 것이다.
- [0068] 본 발명은 본 명세서에 기재된 화합물의 염을 포함한다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, "염"이란 개시된 화합물의 유도체를 의미하고, 여기서, 모(parent) 화합물은 존재하는 산 또는 염기 부분을 이의 염 형태로 전환함으로써 변형될 수 있다. 염의 예는 비제한적으로, 아민과 같은 염기성 잔기의 광물산(예컨대 HCl, HBr, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 또는 유기 산(예컨대 아세트산, 벤조산, 트리플루오로아세트산) 염; 카르복실산과 같은 염기성 잔기의 알칼리(예컨대 Li, Na, K, Mg, Ca) 또는 유기(예컨대 트리알킬암모늄) 염 등을 포함한다. 본 발명의 염은 종래의 화학적 방법으로 염기 또는 산 부분을 함유하는 모 화합물로부터 합성될 수 있다. 일반적으로, 이러한 염은 물 또는 유기 용매에서, 또는 이들의 혼합물에서 상기 화합물의 유리 산 또는 염기 형태를 화학양론적 양의 적절한 염기 또는 산과 반응시켜서 제조될 수 있고; 비수성 매질과 같은 에테르, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올, 또는 아세토니트릴(ACN)이 바람직하다.
- [0069] 본 발명의 "약제학적으로 허용가능한 염"은, 예를 들어 비독성 무기 또는 유기 산으로부터 형성된 모 화합물의 종래의 비독성 염인, 상기 기재의 "염"의 소집단을 포함한다. 적합한 염의 목록은, 그 전체가 참조로 본 명세

서에 인용된 문헌(*Remington's Pharmacuetical Sciences*, 17<sup>th</sup> ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418, and *Journal of Pharmacuetica Science*, 66, 2(1977))에서 발견된다. 문구 "약제학적으로 허용가능한"은, 지나친 독성, 과민증, 알레르기 반응, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이, 정상적인 의학적 판단의 범위 내에서 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투약 형태가 합리적인 수익/위험 비율에 상응한다는 것을 의미하기 위해 본 명세서에 사용된다.

[0070] 합성 방법

[0071] 본 발명의 화합물은 유기 합성의 본 기술분야의 숙련자에 공지된 다양한 방식으로 제조될 수 있다. 본 발명의 화합물은 합성 유기 화학의 기술분야에 공지된 합성 방법 또는 본 기술분야의 숙련자에 의해 인식되는 바와 같은 이의 변형과 함께, 하기에 기재된 바와 같은 방법을 사용하여 합성될 수 있다.

[0072] 본 발명의 화합물은 하기의 일반적인 방법 및 절차를 사용하여 쉽게 사용이 가능한 개시 물질로부터 제조될 수 있다. 전형적인 또는 바람직한 공정 조건(즉, 반응 온도, 시간, 반응물의 몰 비, 용매, 압력 등)이 주어지면, 달리 지적되지 않는 한 다른 공정 조건도 사용될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 최적의 반응 조건은 사용된 특정 반응물 또는 용매와 함께 변할 수 있지만, 이러한 조건은 통상의 최적화 절차에 의해 본 기술분야의 숙련자에 의해 결정될 수 있다.

[0073] 본 명세서에 기재된 공정은 본 기술분야에 공지된 적합한 방법에 따라 모니터링될 수 있다. 예를 들어, 생성물 형성은 분광 수단, 예컨대 핵 자기 공명 분광법(예를 들어, <sup>1</sup>H 또는 <sup>13</sup>C), 적외선 분광법, 분광광도법(예를 들어, UV-가시광선), 또는 질량 분광분석법에 의해; 또는 크로마토그래피, 예컨대 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 또는 박층 크로마토그래피에 의해 모니터링될 수 있다. 반응에 의해 수득된 화합물은 본 기술분야에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해 정제될 수 있다. 예를 들어, 적합한 흡착제(예를 들어, 실리카겔, 알루미나 등) 상의 크로마토그래피(중간 압력), HPLC, 또는 제조용 박층 크로마토그래피; 증류; 승화, 분쇄, 또는 재결정화가 있다.

[0074] 화합물의 제조는 다양한 화학 그룹의 보호 및 탈보호를 수반할 수 있다. 보호 및 탈보호에 대한 필요, 및 적절한 보호 그룹의 선택은 본 기술분야의 숙련자에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 보호 그룹의 화학은 예를 들어 그 전체가 참고로 본 명세서에 인용된 문헌(*Wuts and Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4<sup>th</sup> Ed., John Wiley & Sons: New York, 2006)에서 발견될 수 있다.

[0075] 본 명세서에 기재된 공정들의 반응이 유기 합성의 본 기술분야의 숙련자에 의해 쉽게 선택될 수 있는 적합한 용매에서 수행될 수 있다. 적합한 용매는 반응이 수행되는 온도, 즉 용매의 빙점 내지 용매의 비점의 범위일 수 있는 온도에서 개시 물질(반응물), 중간체, 또는 생성물과 실질적으로 비반응성일 수 있다. 주어진 반응이 하나의 용매 또는 2개 이상의 용매의 혼합물에서 수행될 수 있다. 반응 단계에 따라, 특정 반응 단계를 위한 적합한 용매(들)이 선택될 수 있다. 적절한 용매는 물, 알칸(예컨대 펜탄, 헥산, 헵탄, 사이클로헥산 등, 또는 이들의 혼합물), 방향성 용매(예컨대 벤젠, 톨루엔, 자일렌 등), 알콜(예컨대 메탄올, 에탄올, 이소프로판올 등), 에테르(예컨대 디알킬에테르, 메틸 tert-부틸 에테르(MTBE), 테트라히드로푸란(THF), 디옥산 등), 에스테르(예컨대 에틸 아세테이트, 부틸 아세테이트 등), 할로젠화 용매(예컨대 디클로로메탄(DCM), 클로로포름, 디클로로에탄, 테트라클로로에탄), 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO), 아세톤, 아세토니트릴(ACN), 헥사메틸포스포아미드(HMPA) 및 N-메틸 피롤리돈(NMP)를 포함한다. 이러한 용매는 이의 습윤 또는 무수 형태로 사용될 수 있다.

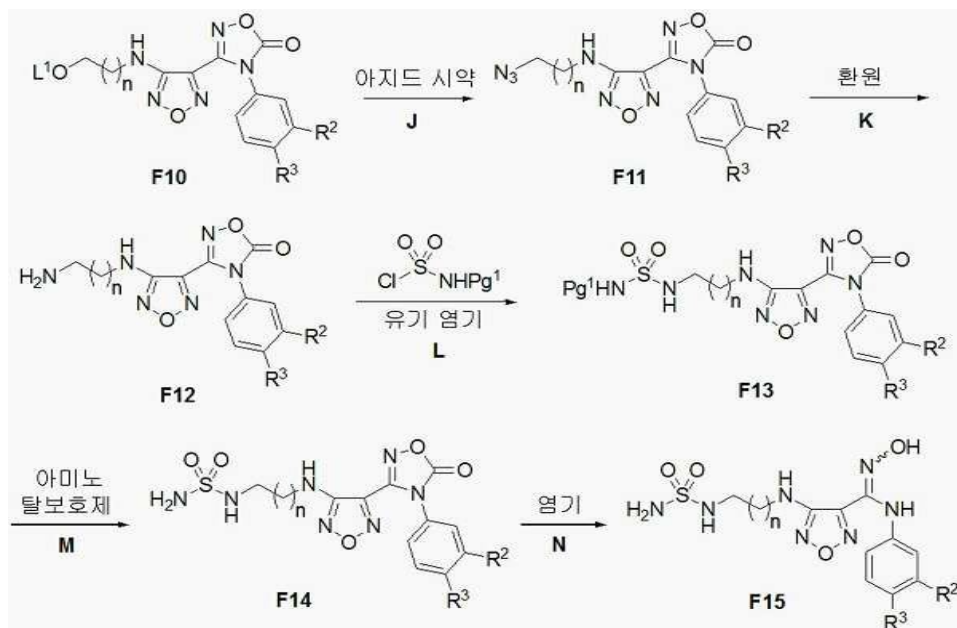
[0076] 화합물의 라세미 혼합물의 분할은 본 기술분야에 공지된 수많은 임의의 방법으로 수행될 수 있다. 예시적인 방법은 임의 활성 염 형성 유기 산인 "키랄 분할 산(chiral resolving acid)"을 사용하는 분별 재결정화를 포함한다. 분별 재결정화 방법을 위한 적합한 분할제(resolving agent)는 예를 들어, 임의 활성 산, 예컨대 타르타르산, 디아세틸타르타르산, 디벤조일타르타르산, 만델산, 말산, 락트산 또는 다양한 임의 활성 캄포르설포닉산의 D 및 L 형태이다. 라세미 혼합물의 분할은 또한 임의 활성 분할제(예를 들어, 디니트로벤조일페닐글리신)로 포장된 칼럼 상에서 용리에 의해 수행될 수 있다. 적합한 용리 용매 조성물은 본 기술분야의 숙련자에 의해 결정될 수 있다.

[0077] 본 발명의 화합물은 하기에 기재된 반응 경로 및 기술을 사용하여 제조될 수 있다.

[0078] 본 발명의 공정 및 중간체는 IDO 억제제의 제조에 유용하다. 본 발명의 화합물 F15의 제조를 위한 일반적인 반

응식은 반응식 1에 기재되어 있다.

[반응식 1]



이제 반응식 1을 참조로, 본 발명은, 화학식 F13(여기서,  $Pg^1$  는 아미노 보호 그룹이다)의 화합물 또는 이의 염을 아미노 탈보호제와 반응시켜(단계 M) 화학식 F14의 화합물 또는 이의 염을 얻는 단계 및 화학식 F14의 화합물을 염기와 반응시켜(단계 N) 화학식 F15의 화합물을 얻는 단계에 의한, 화학식 F15(여기서,  $R^2$ 가 Cl, Br,  $CF_3$ ,  $CH_3$ , 또는 CN이고;  $R^3$ 이 H 또는 F이고; n이 1 또는 2이다)의 화합물 또는 이의 염의 제조 방법을 제공한다. 화학식 F15의 화합물은 용매, 예컨대 물, 에탄올, MTBE 또는 이들의 배합물을 사용하여 분쇄 또는 재결정화에 의해 정제될 수 있다.

몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가 Br이고,  $R^3$ 이 F이며, n이 1이다.

몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가 Br이고,  $R^3$ 이 F이며, n이 2이다.

몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가 Cl이고,  $R^3$ 이 F이며, n이 1이다.

몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가 Cl이고,  $R^3$ 이 F이며, n이 2이다.

몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가  $CF_3$ 이고,  $R^3$ 이 F이며, n이 1이다.

몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가  $CF_3$ 이고,  $R^3$ 이 F이며, n이 2이다.

몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가  $CF_3$ 이고,  $R^3$ 이 H이며, n이 1이다.

몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가  $CF_3$ 이고,  $R^3$ 이 H이며, n이 2이다.

몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가 CN이고,  $R^3$ 이 F이며, n이 1이다.

아미노 보호 그룹은, 원하는 변형을 수행하면서 아미노 그룹의 불필요한 반응을 방지하기 위해 유기 합성에서 규칙적으로 사용된다. 아미노 보호 그룹은 질소 원자로의 용이한 공유결합 및 질소 원자로부터 선택적 절단을 허용한다. 다양한 아미노 보호 그룹은 대체로 알콕시카르보닐(예컨대 에톡시카르보닐, tert-부톡시카르보닐(Boc), 벤질옥시카르보닐(Cbz), 9-플루오레닐메틸옥시카르보닐(Fmoc) 등), 아실(예컨대 아세틸(Ac), 벤조일(Bz) 등), 설포닐(예컨대 메탄설포닐, 트리플루오로메탄설포닐 등), 아릴알킬(예컨대 벤질, 디페닐메틸, 트리페닐메



틸(트리틸) 등), 알케닐알킬(예컨대 알릴, 프레닐 등), 디아틸메틸렌일(예컨대  $(C_6H_5)_2C=N$  등), 및 실릴(예컨대 tert-부틸디메틸실릴, 트리이소프로필실릴 등)로서 분류되고, 본 기술분야의 숙련자에 공지되어 있다. 아미노 보호 그룹의 화학은 문헌(Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4<sup>th</sup> Ed., pp 696-926, John Wiley & Sons: New York, 2006)에서 발견된다. 몇 가지 양태에서,  $Pg^1$ 는 알콕시카르보닐(예컨대 tert-부톡시카르보닐)일 수 있다.

[0092]

상기에 기재된 아미노 보호 그룹은 화합물의 다른 원하는 부분에 영향을 미치지 않으면서 상기에서 언급한 다양한 그룹에 대해 특이적인 많은 사용이능한 아미노 탈보호제를 사용하여 편리하게 제거될 수 있다. tert-부톡시카르보닐 그룹은 예를 들어 산(예컨대 트리플루오로아세트산, 톨루엔설폰산, 염산 등); 산을 생성하는 것으로 공지된 시약(예를 들어, 아세틸 클로라이드와 메탄올의 혼합물)의 배합물; 또는 루이스 산(예를 들어,  $BF_3 \cdot t_2O$ )에 의한 처리에 의해 질소 원자로부터 제거(예를 들어, 가수분해)될 수 있다. 벤질옥시카르보닐은, 예를 들어 수소 및 촉매(예컨대 탄소상 팔라듐)에 의한 처리에 의해 질소 원자로부터 제거(예를 들어, 수소첨가)될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 아미노 탈보호제는 트리플루오로아세트산일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 아미노 탈보호제는 트리플루오로아세트산 및 >0.5용적%의 물, 예를 들어, >1.0용적%의 물, >1.5용적%의 물, >2.0용적%의 물, 약 2용적% 내지 약 10용적%의 물, 약 10용적% 내지 약 20용적%의 물, 또는 약 20용적% 내지 약 50용적%의 물을 함유한다. 몇 가지 양태에서, 아미노 탈보호제는 용적비 약 98:2인 트리플루오로아세트산 및 물의 혼합물일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 아미노 탈보호제는, 임의로 용매(예컨대 물, THF, 또는 디옥산) 중의 염산일 수 있다. 이러한 양태에서, 염산은 약 4N, 예를 들어, 약 1N, 약 2N, 약 3N, 약 5N, 약 6N, 약 7N, 약 8N, 약 9N, 또는 약 10N의 농도로 존재할 수 있다. 몇 가지 양태에서, 탈보호는 알콜(예컨대 이소프로판올)에서 수행될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 단계 M(반응식 1)은 약 -10℃ 내지 약 60℃, 예를 들어, 약 -10℃ 내지 약 0℃, 약 0℃ 내지 약 25℃, 약 25℃ 내지 약 45℃, 또는 약 45℃ 내지 약 60℃의 온도에서 수행될 수 있다.

[0093]

염기는 임의의 용매에서 F15에서 아미독심을 드러내기 위해 F14 중 옥사디아졸론 환의 전환(예를 들어, 가수분해)을 위해 사용될 수 있다(단계 N, 반응식 1). 옥사디아졸론으로서 아미독심의 보호는 전체적으로 히드록실 그룹 또는 아미독심의 역반응을 방지하는데 유용할 수 있다. 염기는 유기 염기, 예컨대 어사이클릭 아민(예를 들어, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민(DIPEA) 등) 또는 사이클릭 아민(예를 들어, 피롤리딘, 피페리딘 등); 또는 무기 염기, 예컨대 알칼리(예를 들어, NaOH, LiOH, KOH,  $Mg(OH)_2$  등)일 수 있다. 염기는 수지(예컨대 Amberlite<sup>®</sup> 등)의 형태로 사용이능하게 만들어질 수 있다. 일부 추가 양태에서, 염기는 물 중의 용액, 예컨대 약 2N의 용액(예를 들어, 약 0.5N의 용액, 약 1N의 용액, 약 1.5N의 용액, 약 2.5N의 용액, 약 3N 내지 약 5N의 용액, 약 5N 내지 약 10N의 용액)의 형태로 제공될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 염기는 알칼리 금속 히드록시드(예컨대 수산화나트륨)이다. 몇 가지 양태에서, 염기는 물 중의 2N의 NaOH 용액일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 용매는 메탄올 또는 테트라히드로푸란(THF)일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 단계 N(반응식 1)은 약 -10℃ 내지 약 60℃, 예를 들어, 약 -10℃ 내지 약 0℃, 약 0℃ 내지 약 25℃, 약 25℃ 내지 약 45℃, 또는 약 45℃ 내지 약 60℃의 온도에서 수행될 수 있다.

[0094]

단계 L(반응식 1)에서, 화학식 F13의 화합물은 임의의 용매에서 화학식 F12의 화합물 또는 이의 염을  $Pg^1-NH$ -설폰일 클로라이드로 처리하고, 그 다음, 수득한 혼합물을 유기 염기로 처리하여 화학식 F13의 화합물을 수득함으로써 수득할 수 있다. 이 단계 L(반응식 1)은 보호된 아미노-설폰일 클로라이드( $Pg^1-NH-SO_2Cl$ )를 사용하여 1차 아민 F12를 설폰일 우레아 F13으로 변형시킨다. 보호된 아미노-설폰일 클로라이드는 제조될 수 있고, F12에 의한 반응에 즉시 사용될 수 있다. 보호 그룹은 아민 또는 설폰아미드(상기)를 보호하기 위한 본 기술분야에 공지된 임의의 보호 그룹으로부터 선택될 수 있다. 몇 가지 양태에서,  $Pg^1$ 는 알콕시카르보닐 그룹(예컨대 tert-부톡시카르보닐)일 수 있다. 이러한 양태에서, 알콕시카르보닐 NH-설폰일 클로라이드는 알콜(예컨대 에탄올, tert-부틸 알콜 등)과 클로로설폰일 이소시아네이트( $CIS(O)_2NCO$ )와의 반응으로 수득할 수 있다. 이 반응의 적절한 용매는 비제한적으로, 할로젠화 용매, 예컨대 디클로로메탄 등을 포함한다. 유기 염기는 1차 아민, 예컨대 F12 및 보호된 아미노-설폰일 클로라이드의 반응 동안에 산출된 HCl을 중화시키는데 쓰이는 어떤 염기일 수 있다. 유기 염기는 사이클릭 3차 아민, 예컨대 트리( $C_{1-6}$ )알킬아민(예를 들어, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민(DIPEA) 등), 사이클릭 3차 아민(예를 들어, N-메틸 피페리딘, 1,4-디아자비사이클로[2.2.2]옥탄(DABCO) 등)을 포함할 수 있다. 몇 가지 양태에서, 유기 염기는 트리에틸아민일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 이 단계

는 약 -10℃ 내지 약 60℃, 예를 들어, 약 -10℃ 내지 약 0℃, 약 0℃ 내지 약 25℃, 약 25℃ 내지 약 45℃, 또는 약 45℃ 내지 약 60℃의 온도에서 수행될 수 있다.

[0095]

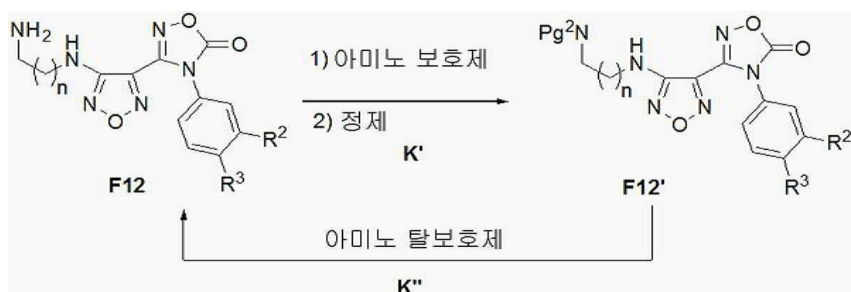
유기 화합물은 환원제를 사용하여 낮은 산화 상태로 환원될 수 있다. 환원은 통상 수소원자의 부가 또는 그룹으로부터 산소 원자의 제거를 수반한다. 유기 아지드, 예컨대 F11은 원소 수소의 형태의 수소의 부가에 의해, 또는 히드라이드 시약(예컨대  $\text{NaBH}_4$ ,  $\text{LiAlH}_4$  등); 트리페닐포스핀; 또는 요오드화나트륨, 클로로트리메틸실란, 및 메탄올의 조합을 사용하여 아민, 예컨대 F12(단계 K, 반응식 1)로 환원될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 화학식 F12의 화합물은 화학식 F11의 화합물 또는 이의 염을 환원시켜서 수득할 수 있다. 몇 가지 양태에서, 환원은 요오드화나트륨, 클로로트리메틸실란, 및 메탄올의 존재하에 수행될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 요오드화나트륨 및 클로로트리메틸실란의 몰 비는 약 1.0, 예를 들어, 약 0.9, 약 0.95, 약 1.0, 약 1.05, 또는 약 1.1 일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 클로로트리메틸실란은 메탄올 중 용액으로서 F11, 요오드화나트륨 및 메탄올의 혼합물에 첨가될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 단계 K(반응식 1)은 약 실온, 예를 들어, 약 10℃ 내지 약 50℃, 약 15℃ 내지 약 40℃, 약 20℃ 내지 약 30℃, 또는 약 25℃ 내지 약 30℃에서 수행될 수 있다.

[0096]

아미노 화합물 F12는, 일부 경우에, HPLC 또는 NMR 분광법 등에 의해 측정되는 바와 실질적으로 동일한 순수한 형태로 얻는 것에 이의를 제기하는 것을 증명할 수 있다. 이론에 구속되지 않으려는 의도로, 실리카겔에 대한 증가된 높은 친화도, 또는 정제 동안의 불필요한 분해에 기인하여 실리카겔 크로마토그래피로 정제하는 것이 어려울지도 모른다는 것으로 믿는다. 이러한 양태에서, 반응식 2를 참조하여, 화학식 F12의 화합물은 화학식 F12'의 화합물을 아미노 보호제와 반응시켜 화학식 F12'의 화합물 또는 이의 염을 얻는 것으로 정제될 수 있고, 여기서,  $\text{Pg}^2\text{N}$ 이 보호된 아민이다. 그 다음, 이 보호(단계 K') 다음에, 화학식 F12'의 화합물을 정제하여 정제된 화학식 F12'의 화합물을 제공하고, 정제된 화학식 F12'의 화합물을 아미노 탈보호제(단계 K'')와 반응시켜 정제된 화학식 F12의 화합물을 제공하는 것이 뒤따를 수 있다. 아미노 보호제 및 아미노 탈보호제는 본 기술분야의 숙련자, 예컨대 Wuts 및 Greene (*ibid*)에 공지되어 있다. 몇 가지 양태에서, 아미노 보호제는 디-*t*-부틸 디카보네이트( $\text{Boc}_2\text{O}$ )이다. 이러한 양태에서,  $\text{Pg}^2\text{N}$ 는 tert-부톡시 카르보닐-NH이다. 이러한 양태에서, 아미노 탈보호제는 Boc 보호 그룹(상기)을 제거할 수 있는 시약이다. 이러한 양태에서, 아미노 탈보호제는 임의로 용매(예컨대 물, THF, 또는 디옥산) 중의 산(예를 들어, 염산, 트리플루오로아세트산 등)이다. 몇 가지 양태에서, 염산은 약 4N, 예를 들어, 약 1N, 약 2N, 약 3N, 약 5N, 약 6N, 약 7N, 약 8N, 약 9N, 또는 약 10N의 농도로 존재할 수 있다. 몇 가지 양태에서, 탈보호는 알콜(예컨대 이소프로판올)에서 수행될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 단계 K' 또는 K''는 약 -10℃ 내지 약 60℃, 예를 들어, 약 -10℃ 내지 약 0℃, 약 0℃ 내지 약 25℃, 약 25℃ 내지 약 45℃, 또는 약 45℃ 내지 약 60℃의 온도에서 수행될 수 있다. 적절한 정제 방법은 본 기술분야의 숙련자에게 공지되어 있고, 크로마토그래피, 결정화, 승화 등을 포함할 수 있다. 몇 가지 양태에서, 정제는 실리카겔 상에서 크로마토그래피에 의해 수행될 수 있다. 화합물의 순도는 일반적으로 물리적 방법, 예컨대 융점(고형물의 경우)의 측정, NMR 스펙트럼의 획득, 또는 HPLC 분리의 수행에 의해 측정된다. 융점이 감소하면, NMR 스펙트럼에서의 불필요한 신호가 감소하면, 또는 HPLC 자취에서의 외생 피크가 제거되면, 화합물은 정제되었던 상기일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 화합물은 실질적으로 정제된다.

[0097]

[반응식 2]



[0098]

[0099]

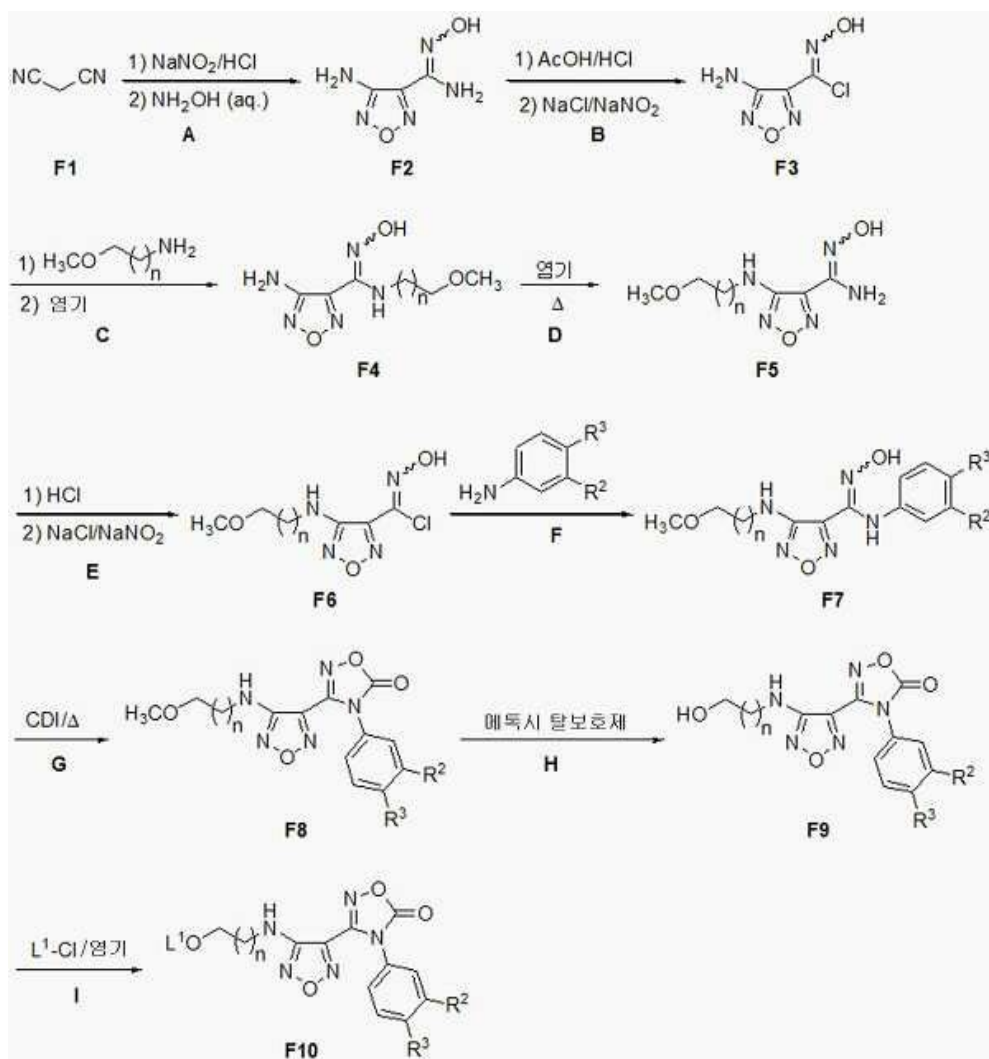
몇 가지 양태에서, 화학식 F11의 화합물(반응식 1)은 화학식 F10(여기서,  $\text{L}^1$ 이 알킬설포닐(예컨대 메탄설포닐), 할로알킬설포닐(예컨대 트리플루오로메탄설포닐), 아릴설포닐(예컨대 톨루엔설포닐) 등으로부터 선택될 수 있다)의 화합물 또는 이의 염을 아지드 시약으로 처리하여 화학식 F11의 화합물을 제공하여 얻는다(단계 J). 몇 가지 양태에서,  $\text{L}^1$ 이 알킬설포닐이다. 아지드 시약은 친핵성 아지드 이온을 생산할 수 있는 어떤 시약을 포함한다. 아지드 시약의 예는 알칼리 금속 아지드(예컨대 아지드화나트륨, 칼륨 아지드 등)를 포함한다. 일부

임의적 양태에서, 아지드 시약, 예컨대 아지드화나트륨은 요오드화나트륨과 조합하여 사용될 수 있다. 이 변형을 위한 적절한 용매는 DMF, DMSO, NMP 등을 포함하는 극성 용매이다. 몇 가지 양태에서, 단계 J는 DMF에서 수행될 수 있다. 단계 J는 고온, 예를 들어, 약 40℃ 내지 약 100℃, 약 50℃ 내지 약 90℃, 또는 약 60℃ 내지 약 80℃에서 수행될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 단계 J는 약 50℃에서 수행될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 단계 J는 약 85℃에서 수행될 수 있다.

[0100]

화합식 F10의 화합물 또는 이의 염은 반응식 3에서 보여진 단계의 순서로 수득할 수 있다. 중간체인, 4-아미노-N'-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드 F2의 제조는, 그 전체가 참고로 본 명세서에 인용된 문헌(*J. Heterocycl. Chem.*(1965), 2, 253)에 기재되어 있고, 그것의 클로로 옥심 F3로의 전환은, 그 전체가 참고로 본 명세서에 인용된 문헌(*Synth. Commun.*(1988), 18, 1427)에 기재되어 있다. 보호된 관능기, 예를 들어, 에틸 아민, 2-메톡시에틸아민 또는 디메틸아민)을 함유하는 아민을 포함하는 아민(예컨대 1차 또는 2차 아민은 임의로 용매(예컨대 에틸 아세테이트) 중의 클로로 옥심 F3에 결합되고, 그 다음, 유기 염기(예컨대 반응에서 산출된 HCl을 급랭시키기 위한 트리에틸아민 또는 DIPEA)를 첨가하여 아미독심 화합물 F4를 제공할 수 있다. 환 탄소 상의 아미노 그룹 및 옥심 탄소 상의 아미노 그룹을 바꾸어서 화합물 F5을 제공하기 위한 화합물, 예컨대 F4의 재배열은 임의 용매(예컨대 물, 에탄올, 에틸렌 글리콜 등)에서 F4를 염기(예컨대 KOH, NaOH, LiOH, Mg(OH)<sub>2</sub>, Al(OH)<sub>3</sub> 등)으로 처리하고 고온, 예를 들어, 약 70℃, 약 80℃, 약 90℃, 약 100℃, 약 110℃, 약 120℃, 약 130℃, 약 140℃, 약 150℃, 약 160℃, 약 170℃, 약 180℃, 약 190℃, 또는 약 200℃에서 반응 혼합물을 환류시킴으로써 달성될 수 있다. 아미독심 F5는 아세트산을 임의로 포함하는 염산 함유 수성 산 혼합물에 F5를 첨가하여 클로로 옥심 F6으로 다시 활성화될 수 있다. F5의 F6으로의 전환을 위한 상기 공정에서, F5의 산 혼합물은 분해를 달성하기 위해 약 45℃, 예컨대 약 30℃, 약 40℃, 약 50℃, 또는 약 60℃의 온도로 가열될 수 있다. 염화나트륨은 상기 용액에 첨가될 수 있고, 그 다음, 약 0℃ 미만, 예컨대 약 -10℃ 미만, 약 -5℃ 미만, 약 5℃ 미만, 또는 약 10℃ 미만의 온도에서, 수용액으로서 임의로 제공될 수 있는 아질산염 시약으로 처리될 수 있다. 아질산염 시약은 아질산염 음이온을 제공할 수 있는 것이다. 아질산염 시약은 알칼리 금속 아질산염(예를 들어, 아질산나트륨, 칼륨 아질산염 등) 및 오가노 아질산염(예를 들어, 테트라에틸암모늄 아질산염)을 포함하고, 이는 유기 양이온을 포함한다. 몇 가지 양태에서, 에틸 아세테이트, THF 또는 디옥산은 공-용매로서 사용될 수 있다. 클로로 옥심 F6은, 임의의 무기 염기(예컨대 KHCO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>)의 존재하에 고온, 예컨대 약 50℃, 약 60℃, 약 70℃, 약 80℃, 약 90℃, 약 100℃, 약 110℃, 또는 약 120℃에서 임의의 극성 용매(예컨대 메탄올, 물, 에탄올 등)에서 방향성 아민, 예컨대 아닐린과 결합되어 아릴아미독심 F7를 제공할 수 있다. 몇 가지 양태에서, 무기 염기는 수용액의 형태로 제공될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 무기 염기는 고온에서 반응 혼합물에 첨가될 수 있다. 그 다음, F7의 아미독심 관능기는, 고온, 예컨대 약 50℃, 약 60℃, 약 70℃, 약 80℃, 약 90℃, 또는 약 100℃에서 용매(예컨대 에틸 아세테이트, 디옥산, THF 등)에서 1,1'-카르보닐 디이미다졸(CDI)를 사용하여 옥사디아졸론으로서 보호될 수 있다. 그 다음, F8의 메톡시 그룹은, 예를 들어 임의의 용매, 예컨대 할로젠화 용매(예를 들어, DCM, 클로로포름 등) 또는 에틸 아세테이트에서 삼브롬화붕소를 F8의 차가운(예컨대 약 -78℃ 내지 약 25℃, 예를 들어, 약 -78℃ 내지 약 10℃, 약 -78℃ 내지 약 0℃, 약 -78℃ 내지 약 -10℃, 약 0℃ 내지 약 25℃, 또는 약 0℃ 내지 약 10℃) 용액에 첨가하여, 하기와 같은 본 기술분야의 숙련자에 공지된 것과 같은 메톡시 탈보호제를 사용하여 F9의 히드록실 그룹으로 전환될 수 있다: Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4<sup>th</sup> Ed., pp 24-30, John Wiley & Sons: New York, 2006. F9의 1차 히드록실 그룹은 산출된 HCl(예컨대 트리에틸아민 또는 DIPEA)를 제거하기 위해 임의로 용매(예컨대 에틸 아세테이트 또는 DCM), 및 유기 염기에서 L<sup>1</sup>Cl에 의한 순차적 처리로 이탈 그룹 L<sup>1</sup>O-(참조, F10)으로서 나중에 활성화될 수 있다. L<sup>1</sup>이, 예를 들어 알킬설포닐(예를 들어, 메탄설포닐), 할로알킬설포닐(예를 들어, 트리플루오로메탄설포닐), 아릴설포닐(예를 들어, 톨루엔설포닐) 등으로부터 선택될 수 있다. 그 다음, 화합물 F10은 이탈 그룹 L<sup>1</sup>O의 치환(예컨대 S<sub>N</sub>2 기전)을 위한 어떤 친핵체로 처리될 수 있다.

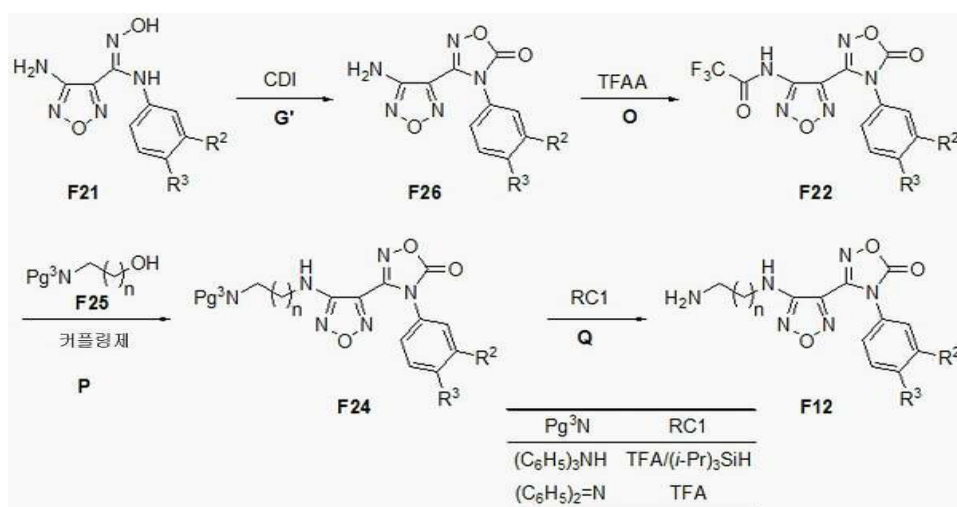
[0101] [반응식 3]



[0102]

[0103] 대안적으로, 화학식 F12의 화합물은 반응식 4에 묘사된 단계의 순서로 수득할 수 있다.

[0104] [반응식 4]



[0105]

[0106] 반응식 4를 참조하여, 몇 가지 양태에서, 화학식 F12의 화합물은 화학식 F24(여기서, Pg<sup>3</sup>N이 보호된 아민(예를 들어, (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>C-NH, (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>C=N 등)이다)의 화합물 또는 이의 염을 아미노 탈보호제와 반응시켜서 화학식 F12의



화합물을 제공함으로써 수득할 수 있다. 화합물 F24를 처리하여  $\text{Pg}^3\text{N}$ 를  $\text{NH}_2$ 로 대체하는 것(단계 Q)는 하기와 같은 본 기술분야의 숙련자에 공지된 특정 아민 보호 그룹의 탈보호를 위한 방법에 의해 달성될 수 있다: Wuts 및 Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4<sup>th</sup> Ed., pp 696-926, John Wiley & Sons: New York, 2006. 몇 가지 양태에서,  $\text{Pg}^3\text{N}$ 이  $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C}=\text{N}$ 일 때, 탈보호제는 산, 예컨대 유기 산(예를 들어, 트리플루오로아세트산, 메탄설폰산 등) 또는 무기 산(예를 들어, 염산); 수소 및 팔라듐; 또는 산 히드록실아민( $\text{NH}_2\text{OH}$ )일 수 있다. 몇 가지 양태에서,  $\text{Pg}^3\text{N}$ 이  $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C}-\text{NH}$ 일 때, 탈보호제는 유기 산(예컨대 트리플루오로아세트산 메탄설폰산 등) 및 임의의 오가노실란; 수소 및 팔라듐; 또는 액체 암모니아 중 나트륨을 포함할 수 있다. 오가노실란은 적어도 하나의 Si-H 결합을 함유하는 화합물이고, 규소에 결합된 그룹의 나머지는 알킬, 아릴 또는 이들의 배합물이다. 오가노실란의 예는 트리알킬실란(예를 들어, 트리(이소프로필)실란), 트리아릴실란(예를 들어, 트리페닐실란) 또는 디페닐메틸실란을 포함한다. 단계 Q는 온도 약  $-10^\circ\text{C}$  내지 약  $60^\circ\text{C}$ , 예를 들어, 약  $-10^\circ\text{C}$  내지 약  $0^\circ\text{C}$ , 약  $0^\circ\text{C}$  내지 약  $25^\circ\text{C}$ , 약  $25^\circ\text{C}$  내지 약  $45^\circ\text{C}$ , 또는 약  $45^\circ\text{C}$  내지 약  $60^\circ\text{C}$ 의 온도에서 수행될 수 있다.

[0107]

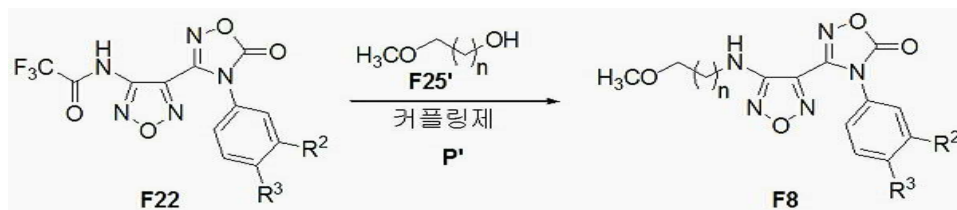
보호된 2차 아민인 화합물 F24는 커플링 시약의 존재하에 알콜 F25와 보호된 1차 아민 F22와의 미츠노부(Mitsunobu) 반응으로 제조될 수 있다(단계 P). 커플링 시약은 3차 포스핀, 예컨대 트리아릴포스핀(예를 들어, 트리페닐포스핀) 또는 트리알킬포스핀(예를 들어, 트리부틸포스핀) 및 디알킬 아조디카르복실레이트의 조합일 수 있다. 디알킬 아조디카르복실레이트는 일반적인 구조:  $\text{ROOC}-\text{N}=\text{N}-\text{COOR}$ 로 표시되고, 여기서, R은 알킬 그룹(예를 들어, 디이소프로필 아조디카르복실레이트, 디에틸 아조디카르복실레이트, 또는 디-p-클로로벤질 아조디카르복실레이트)일 수 있다. 이론에 구속되지 않으려는 의도로, 트리플루오로아세틸 부분에 의한 아민 부호(예컨대 F22)는 부반응을 방지하고, 2차 아민 F24의 수율을 개선하는 것으로 믿어진다. 알코올의 히드록실 그룹, 예컨대 F25는 커플링 시약의 존재하에 활성화될 수 있다. 아민 친핵체는 활성화된 히드록실 그룹을 치환하여 2차 아민을 형성할 수 있다. 미츠노부 반응이 용매, 예컨대 에테르 예를 들어, THF, 디옥산, 디알킬 에테르 등; 할로겐화 용매 예를 들어, 디클로로메탄, 클로로포름 등; 무극성 용매 예를 들어, 벤젠, 톨루엔 등; 극성-비양성자성 용매, 예컨대 DMF, HMPA 등에서 수행될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 화학식 F24의 화합물은 화학식 F22의 화합물 또는 이의 염을 화학식 F25의 화합물 또는 이의 염, 및 커플링 시약으로 처리하여 화학식 F24의 화합물을 제공하는 것으로서 수득할 수 있다. 몇 가지 양태에서, 이 단계는 약  $-10^\circ\text{C}$  내지 약  $60^\circ\text{C}$ , 예를 들어, 약  $-10^\circ\text{C}$  내지 약  $0^\circ\text{C}$ , 약  $0^\circ\text{C}$  내지 약  $25^\circ\text{C}$ , 약  $25^\circ\text{C}$  내지 약  $45^\circ\text{C}$ , 또는 약  $45^\circ\text{C}$  내지 약  $60^\circ\text{C}$ 의 온도에서 수행될 수 있다.

[0108]

화합물 F22는 화합물 F21로부터 2단계 공정(단계 G' 및 O)로 만들어 질 수 있다. 화합물 F21은 고온, 예컨대 약  $50^\circ\text{C}$ , 예를 들어, 약  $60^\circ\text{C}$ , 약  $65^\circ\text{C}$ , 약  $70^\circ\text{C}$ , 약  $80^\circ\text{C}$ , 또는 약  $90^\circ\text{C}$ 에서 임의로 용매(예컨대 에틸 아세테이트 또는 THF)에서 1,1'-카르보닐 디이미다졸(CDI)로 처리하여 F21의 아미독심을 화합물 F26에 존재하는 옥사디아졸론으로 전환할 수 있다. 이들 화합물 F26은 이번에는 유기 염기(예컨대 피리딘, 트리에틸아민, DIPEA 등)의 존재하에 임의로 용매(예컨대 DCM, THF, 디옥산, 또는 에틸 아세테이트)에서 트리플루오로아세트산 무수물로 처리되어 화합물 F22를 제공할 수 있다. 몇 가지 양태에서, 화학식 F22의 화합물은 화학식 F21의 화합물 또는 이의 염을 카르보닐 디이미다졸(CDI)로 처리하여 화학식 F26의 화합물 또는 이의 염을 얻고, 화학식 F26의 화합물을 트리플루오로아세트산 무수물로 처리하여 화학식 F22의 화합물을 제공하는 것으로서 수득할 수 있다.

[0109]

#### [반응식 5]



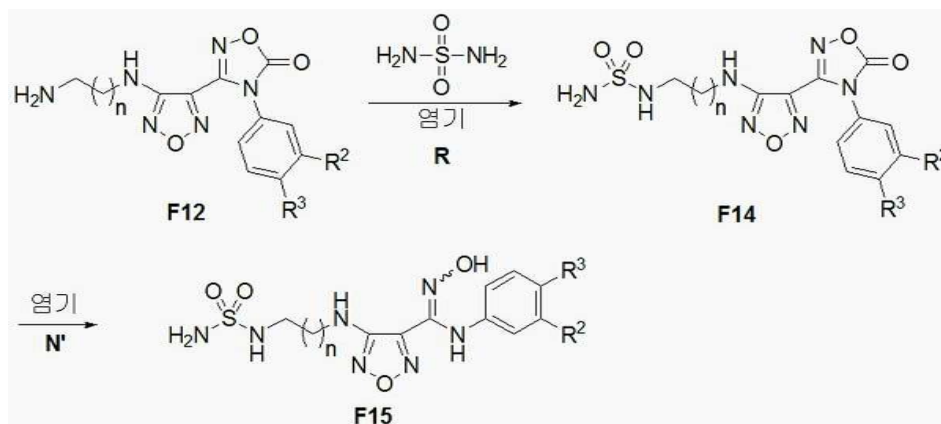
[0110]

[0111]

이제 반응식 5(단계 P')를 참조하고 미츠노부(Mitsunobu) 반응의 상기 기재를 근거로, 본 발명의 다른 측면은 화학식 F8(여기서,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ , 및 n이 본 명세서에 정의되어 있다)의 화합물 또는 이의 염의 제조 방법을 제공하고, 상기 방법은 임의로 용매(예컨대 THF, 디알킬 에테르, 또는 디클로로메탄)에서 화학식 F22의 화합물 또는 이의

염, 및 화학식 F25'의 화합물 또는 이의 염을 커플링 시약과 반응시켜서 화학식 F8의 화합물을 제공하는 것을 포함한다. 몇 가지 양태에서, 이 단계는 약 -10℃ 내지 약 60℃, 예를 들어, 약 -10℃ 내지 약 0℃, 약 0℃ 내지 약 25℃, 약 25℃ 내지 약 45℃, 또는 약 45℃ 내지 약 60℃의 온도에서 수행될 수 있다.

[0112] [반응식 6]



[0113]

[0114] 반응식 6은 설폰아미드 그룹의 아미노 화합물 F12에의 도입을 위한 대안적인 경로를 묘사한다. 각각이 이 변형을 위한 용매로서 임의로 사용될 수 있는 복소환 염기(예를 들어, 피리딘), 또는 트리알킬아민(예를 들어, 트리에틸아민, DIPEA 등)일 수 있는 염기(단계 R), 예컨대 유기 염기의 존재하에 F12를 설폰아미드로 처리하여 설폰아미드, 예컨대 F14를 제공할 수 있다. 이 반응이 고온, 예컨대 약 130℃, 예를 들어, 약 100℃, 약 110℃, 약 120℃, 약 130℃, 또는 약 140℃의 온도에서 수행될 수 있다. 이러한 가열은 유리하게는 마이크로파 조사를 사용하여 적용될 수 있다. 마이크로파 조사는 단일 방식으로 작동하는 시판되는 마이크로파 오븐(예를 들어, Initiator™, Biotage로부터 사용가능)에서 수행될 수 있다. 옥사디아졸론 환를 함유하는 화합물 F14는 염기의 존재하에 목적 아미노 화합물 F15로 탈보호(예를 들어, 가수분해)될 수 있다(단계 N'). 염기는 유기 염기, 예컨대 사이클릭 아민(예를 들어, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민(DIPEA) 등) 또는 사이클릭 아민(예를 들어, 피롤리딘, 피페리딘 등); 또는 무기 염기, 예컨대 알칼리(예를 들어, NaOH, LiOH, KOH, Mg(OH)<sub>2</sub> 등)일 수 있다.

염기는 수지(예컨대 Amberlite® 등)의 형태로 사용가능하다. 일부 추가 양태에서, 염기는 물 중의 용액의 형태, 예컨대 약 2N의 용액(예를 들어, 약 0.5N의 용액, 약 1N의 용액, 약 1.5N의 용액, 약 2.5N의 용액, 약 3N 내지 약 5N의 용액, 약 5N 내지 약 10N의 용액)으로 제공될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 염기는 알칼리 금속 히드록사이드(예컨대 수산화나트륨)일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 염기는 물 중의 2N의 NaOH 용액일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 용매는 메탄올 또는 테트라히드로푸란(THF)일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 탈보호는 약 -10℃ 내지 약 60℃, 예를 들어, 약 -10℃ 내지 약 0℃, 약 0℃ 내지 약 25℃, 약 25℃ 내지 약 45℃, 또는 약 45℃ 내지 약 60℃의 온도에서 수행될 수 있다. 따라서, 본 발명의 이러한 측면은 화학식 F15(여기서, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, 및 n이 본 명세서에서 정의된 바와 같다)의 화합물 또는 이의 염의 제조 방법을 제공하고; 상기 방법은 화학식 F12의 화합물 또는 이의 염을 설폰아미드 및 유기 염기와 반응시켜 화학식 F14의 화합물 또는 이의 염을 얻고, 화학식 F14의 화합물 또는 이의 염을 염기와 반응시켜 화학식 F15의 화합물을 얻는 것을 포함한다.

[0115] 본 발명은 또한 화학식 F9의 화합물, 화학식 F12의 화합물, 및 화학식 F14의 화합물을 제공하고, 여기서, R<sup>2</sup>가 Cl, Br, CF<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>, 또는 CN이고; R<sup>3</sup>이 H 또는 F이고; n이 1 또는 2이다.

[0116] 몇 가지 양태에서, R<sup>2</sup>가 Br이고, R<sup>3</sup>이 F이며, n이 1이다.

[0117] 몇 가지 양태에서, R<sup>2</sup>가 Br이고, R<sup>3</sup>이 F이며, n이 2이다.

[0118] 몇 가지 양태에서, R<sup>2</sup>가 Cl이고, R<sup>3</sup>이 F이며, n이 1이다.

[0119] 몇 가지 양태에서, R<sup>2</sup>가 Cl이고, R<sup>3</sup>이 F이며, n이 2이다.

[0120] 몇 가지 양태에서, R<sup>2</sup>가 CF<sub>3</sub>이고, R<sup>3</sup>이 F이며, n이 1이다.

[0121] 몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가  $CF_3$ 이고,  $R^3$ 이 F이며, n이 2이다.

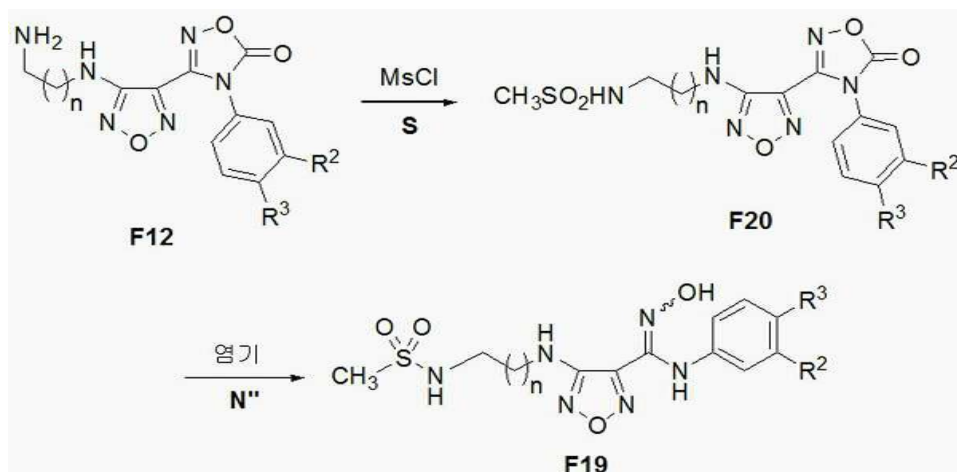
[0122]        몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가  $CF_3$ 이고,  $R^3$ 이 H이며, n이 1이다.

[0123] 몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가  $CF_3$ 이고,  $R^3$ 이 H이며, n이 2이다.

[0124] 몇 가지 양태에서,  $R^2$ 은  $CH_3$ 이고,  $R^3$ 이 F이며, n이 1이다.

[0125]        몇 가지 양태에서,  $R^2$ 가 CN이고,  $R^3$ 이 F이며,  $n$ 이 1이다.

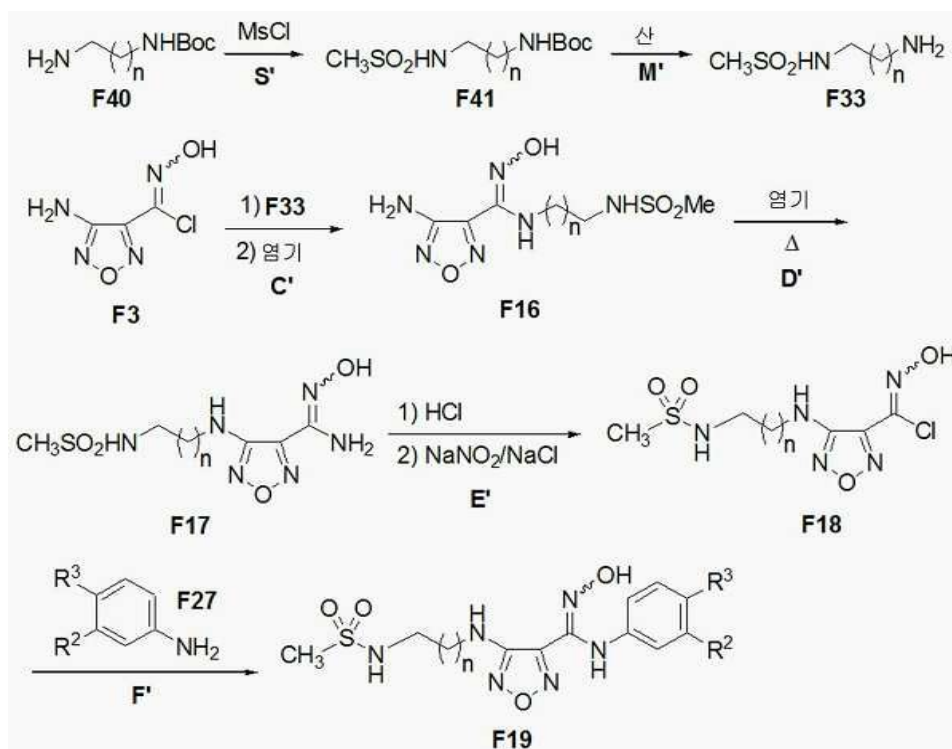
[0126] [반응식 7]



[0127]

[0128] 이제 반응식 7을 참조로, 화합물 F19는 (산출된 HCl를 제거하기 위한) 유기 염기, 예컨대 트리(C<sub>1-6</sub>)알킬아민(예를 들어, 트리에틸아민, DIPEA 등), 또는 피리딘의 존재하에 임의로 용매, 예컨대 에틸 아세테이트, 할로젠화 용매(예를 들어, 디클로로메탄, 클로로포름 등) 또는 에테르성 용매(THF, 디에틸 에테르, 디옥산 등)에서 메탄설폰닐 클로라이드(단계 S)로 처리하여 설폰아미드 F20을 얻음으로써 1차 아미노 화합물 F12로부터 수득할 수 있다. 메탄설폰닐 그룹은, 절차를 변경하지 않고 다른 알킬설폰닐(예를 들어, 에틸설폰닐), 할로알킬설폰닐(예를 들어, 트리플루오로메탄설폰닐), 아릴설폰닐(예를 들어, 톨루엔설폰닐) 등으로 치환될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 이 단계는 약 -10℃ 내지 약 60℃, 예를 들어, 약 -10℃ 내지 약 0℃, 약 0℃ 내지 약 25℃, 약 25℃ 내지 약 45℃, 또는 약 45℃ 내지 약 60℃의 온도에서 수행될 수 있다. 옥사디아졸론 환를 함유하는 설폰아미드 화합물 F20은 염기(단계 N")의 존재하에 목적 아미독심 F19으로 탈보호(예를 들어, 가수분해)될 수 있다. 염기는 유기 염기, 예컨대 사이클릭 아민(예를 들어, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민(DIPEA) 등) 또는 사이클릭 아민(예를 들어, 피롤리딘, 피페리딘 등); 또는 무기 염기, 예컨대 알칼리 금속 히드록시드 또는 알칼리 토금속 히드록시드(예를 들어, NaOH, LiOH, KOH, Mg(OH)<sub>2</sub> 등)일 수 있다. 염기는 수지(예컨대 Amberlite® 등)의 형태로 사용이능하다. 일부 추가 양태에서, 염기는 물 중의 용액, 예컨대 약 2N의 용액(예를 들어, 약 0.5N의 용액, 약 1N의 용액, 약 1.5N의 용액, 약 2.5N의 용액, 약 3N 내지 약 5N의 용액, 약 5N 내지 약 10N의 용액)의 형태로 제공될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 염기는 알칼리 금속 히드록시드(예를 들어, 수산화나트륨)이다. 몇 가지 양태에서, 염기는 물 중의 2N의 NaOH 용액일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 용매는 메탄올 또는 테트라히드로푸란(THF)일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 탈보호는 약 -10℃ 내지 약 60℃, 예를 들어, 약 -10℃ 내지 약 0℃, 약 0℃ 내지 약 25℃, 약 25℃ 내지 약 45℃, 또는 약 45℃ 내지 약 60℃의 온도에서 수행될 수 있다. 따라서, 본 발명의 다른 측면은 화학식 F19(여기서, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, 및 n이 본 명세서에서 정의된 바와 같다)의 화합물 또는 이의 염의 제조 방법을 제공하고; 상기 방법은 유기 염기의 존재하에 화학식 F12의 화합물 또는 이의 염을 메탄설폰닐 클로라이드와 반응시켜 화학식 F20의 화합물 또는 이의 염을 얻고, 화학식 F20의 화합물을 염기와 반응시켜 화학식 F19의 화합물을 얻는 것을 포함한다. 몇 가지 양태에서, 염기는 알칼리 금속 히드록시드, 예컨대 수산화나트륨(예를 들어, 2N의 NaOH)일 수 있다.

[0129] [반응식 8]



[0130]

[0131]

아릴 또는 알킬설폰아미드(예를 들어, 메탄설폰아미드 F19)는 반응식 8에 보여진 단계의 순서로 수득할 수 있다. 단일보호된 1, n-디아민, 예컨대 F40(예를 들어, 시판되는 N-(아미노알킬)(t-부톡시)카르복사미드)는 (산출된 HCl을 제거하기 위한) 유기 염기, 예컨대 트리에틸아민, 피리딘, DIPEA 등의 존재하에 임의로 용매, 예컨대 에틸 아세테이트, 할로겐화 용매(예를 들어, 디클로로메탄, 클로로포름 등) 또는 에테르성 용매(THF, 디에틸 에테르, 디옥산 등)에서 설폰일 클로라이드, 예컨대 아릴설폰일 클로라이드 또는 알킬설폰일 클로라이드(예를 들어, 메탄설폰일 클로라이드)로 처리되어 설폰아미드 F41를 제공할 수 있다(단계 S'). 단일보호된 1, n-디아민 F40에 대한 보호 그룹은 다양한 아미노 보호 그룹으로부터 선택될 수 있고, 적합한 탈보호 조건은 적절하게 선택(상기)되어 아민 F33을 수득할 수 있다(단계 M'). 몇 가지 양태에서, 보호 그룹은 알콕시카르보닐(예컨대 tert-부톡시카르보닐, Boc)일 수 있다. 이러한 양태에서, 아미노 탈보호제는, 임의로 용매(예컨대 디옥산)에서 산, 예를 들어, 염산 또는 트리플루오로아세트산일 수 있다.

[0132]

클로로 옥심 F3의 제조는, 그 전체가 참고로 본 명세서에 인용된 문헌(*Synth. Commun.*(1988), 18, 1427)에 기재되어 있다. 아민(예컨대 보호된 관능기를 함유하는 아민을 포함하는 1차 또는 2차 아민, 예를 들어, 에틸 아민, 2-메톡시에틸아민, 디메틸아민 또는 F33)는, 임의로 용매(예컨대 에틸 아세테이트 또는 에탄올)에서 클로로 옥심 F3에 결합되고, 그 다음, 유기 염기(예컨대 반응에서 산출된 HCl를 급랭시키기 위한 트리에틸아민 또는 DIPEA)를 첨가하여 아미독심 화합물 F16를 제공할 수 있다(단계 C'). 몇 가지 양태에서, 이 단계는 약  $-10^\circ\text{C}$  내지 약  $60^\circ\text{C}$ , 예를 들어, 약  $-10^\circ\text{C}$  내지 약  $0^\circ\text{C}$ , 약  $0^\circ\text{C}$  내지 약  $25^\circ\text{C}$ , 약  $25^\circ\text{C}$  내지 약  $45^\circ\text{C}$ , 또는 약  $45^\circ\text{C}$  내지 약  $60^\circ\text{C}$ 의 온도에서 수행될 수 있다. 환 탄소 상에 아미노 그룹을 옮기고 옥심 탄소 상에 아미노 그룹을 옮기기 위해 화합물, 예컨대 F16을 재배열하여 화합물, 예컨대 F17을 제공하는 것(단계 D')는, 임의로 용매(예컨대 물, 에탄올, 에틸렌 글리콜 등)에서 F16를 염기(예컨대 KOH, NaOH, LiOH,  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Al}(\text{OH})_3$  등)으로 처리하고 반응 혼합물을 고온, 예를 들어, 약  $70^\circ\text{C}$ , 약  $80^\circ\text{C}$ , 약  $90^\circ\text{C}$ , 약  $100^\circ\text{C}$ , 약  $110^\circ\text{C}$ , 약  $120^\circ\text{C}$ , 약  $130^\circ\text{C}$ , 약  $140^\circ\text{C}$ , 약  $150^\circ\text{C}$ , 약  $160^\circ\text{C}$ , 약  $170^\circ\text{C}$ , 약  $180^\circ\text{C}$ , 약  $190^\circ\text{C}$ , 또는 약  $200^\circ\text{C}$ 에서 환류함으로써 달성될 수 있다. 아미독심 F17은 아세트산을 임의로 포함하는 염산 함유 수성 산 혼합물에 F17을 첨가하여 클로로 옥심 F18으로서 다시 활성될 수 있다(단계 E'). F17의 F18로의 전환을 위한 이 공정에서, F17의 산 혼합물은 약  $45^\circ\text{C}$ , 예컨대 약  $30^\circ\text{C}$ , 약  $40^\circ\text{C}$ , 약  $50^\circ\text{C}$ , 또는 약  $60^\circ\text{C}$ 의 온도로 가열되어 분해를 달성할 수 있다. 염화나트륨은 이 용액에 첨가될 수 있고, 약  $0^\circ\text{C}$  미만, 예컨대 약  $-10^\circ\text{C}$  미만, 약  $-5^\circ\text{C}$  미만, 약  $5^\circ\text{C}$  미만, 또는 약  $10^\circ\text{C}$  미만의 온도에서, 수용액으로서 임의로 제공될 수 있는 아질산염 시약으로 처리될 수 있다. 아질산염 시약은 아질산염 음이온을 제공할 수 있는 것이다. 아질산염 시약은 알칼리 금속 아질산염(예를 들어, 아질산나트륨, 칼륨 아질산염 등) 및 오가노 아질산염(예를 들어, 테트라에틸암모늄 아질산염)을 포함하고, 이는 유기 양이온을 포함한다.



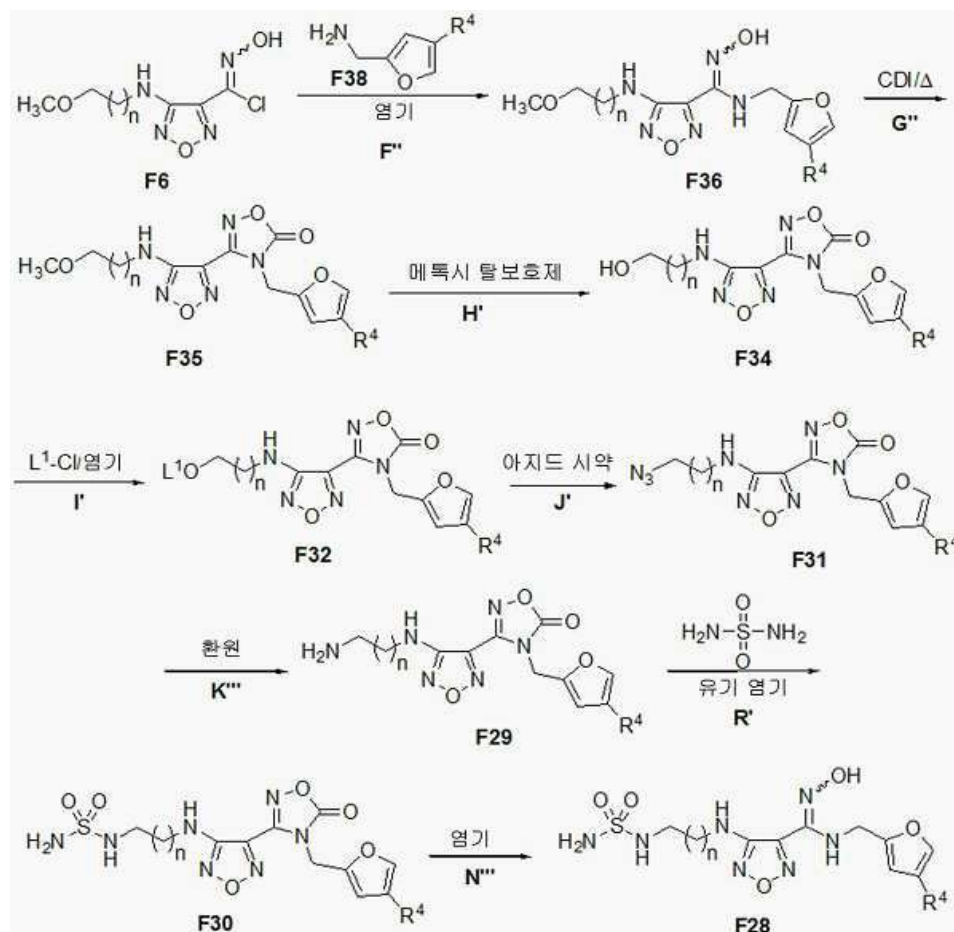
다. 몇 가지 양태에서, 에틸 아세테이트, THF 또는 디옥산은 공-용매로서 사용될 수 있다. 실온에서, 임의로 극성 용매(예컨대 메탄올, 물, 에탄올 등)에서 F18에서의 클로라이드를 방향성 아민, 예컨대 아닐린 F27로 치환하여 메탄설폰아미드 F19(단계 F')을 제공할 수 있다. 몇 가지 양태에서, 온도, 예컨대 약 10℃, 약 20℃, 약 30℃, 약 40℃, 또는 약 50℃가 적용될 수 있다. 이 반응이 수용액의 형태로 제공될 수 있는 무기 염기(예컨대  $\text{KHCO}_3$ ,  $\text{NaHCO}_3$ )의 존재하에 임의로 수행될 수 있다.

[0133] 따라서, 본 발명의 다른 측면은 화학식 F19(여기서,  $R^2$ ,  $R^3$ , 및  $n$ 이 본 명세서에서 정의된 바와 같다)의 화합물 또는 이의 염의 제조 방법을 제공하고; 상기 방법은 임의로 용매(예컨대 디옥산)에서 화학식 F17의 화합물 또는 이의 염을 염산과 반응시킨 다음, 임의로 수용액의 형태로 아질산염 시약(예컨대 아질산나트륨)으로 처리하여 화학식 F18의 화합물 또는 이의 염을 얻는 단계, 및 화학식 F18의 화합물을 화학식 F27의 화합물 또는 이의 염과 반응시켜 화학식 F19의 화합물을 얻는 단계를 포함한다.

[0134] 몇 가지 양태에서, 화학식 F17의 화합물은 용매를 환류시키기에 충분한 온도(예컨대 130℃)에서 용매(예컨대 에틸렌 글리콜)에서 화학식 F16의 화합물 또는 이의 염을 염기(예컨대 수산화칼륨)로 처리하여, 화학식 F17의 화합물을 제공함으로써 수득할 수 있다.

[0135] 본 발명은 또한 화학식 F18(여기서  $n$ 이 1 또는 2이다)의 화합물 또는 이의 염을 제공한다. 몇 가지 양태에서,  $n$ 이 1이다. 몇 가지 양태에서,  $n$ 이 2이다.

[반응식 9]



[0137]

[0138] 화합물 F28은 반응식 9에 기재된 바와 같이 수득할 수 있다. 클로로 옥심 F6(앞에서, 반응식 1)는 염기, 예컨대 무기 염기 또는 유기 염기(예를 들어, Et<sub>3</sub>N, 피리딘 또는 DIPEA)의 존재하에, 임의로 극성 용매(예컨대 메탄올, 물, 에탄올 등)에서 복소환 아민(예컨대 화학식 F38의 화합물)과 커플링되어 아릴아미드옥심 F36(단계 F')을 제공할 수 있다. 몇 가지 양태에서, F6의 F36으로의 전환은 온도, 예컨대 약 10℃, 약 20℃, 약 30℃, 약 40℃, 약 50℃, 약 60℃, 또는 약 90℃의 온도에서 수행될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 무기 염기는 수용액의 형태로 제공될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 무기 염기는 고온에서 반응 혼합물에 첨가될 수 있다. 그 다음,

F36의 아미독심 관능기는 고온, 예컨대 약 50℃, 약 60℃, 약 70℃, 약 80℃, 약 90℃, 또는 약 100℃(단계 G')에서 용매(예컨대 에틸 아세테이트, 디옥산, THF 등)에서 1,1'-카르보닐 디이미다졸(CDI)를 사용하여 옥사디아졸론으로서 보호될 수 있다. 그 다음, F35의 메톡시 그룹은 하기에 기재된 것과 같은, 메톡시 그룹(단계 H')의 탈보호를 위한 본 기술분야의 숙련자에 공지된 방법에 의해 F34에서 히드록실 그룹으로 전환될 수 있다 (Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4<sup>th</sup> Ed., pp 24-30, John Wiley & Sons: New York, 2006). 예를 들어, 임의로 용매, 예컨대 할로젠화 용매(예를 들어, DCM, 클로로포름 등) 또는 에틸 아세테이트에서, 삼브롬화붕소의 차가운(예컨대 약 -78℃ 내지 약 25℃, 예를 들어, 약 -78℃ 내지 약 10℃, 약 -78℃ 내지 약 0℃, 약 -78℃ 내지 약 -10℃, 약 0℃ 내지 약 25℃, 또는 약 0℃ 내지 약 10℃) F35의 용액에의 첨가에 의해. 그 다음, F34에서의 1차 히드록실 그룹은 임의로 용매(예컨대 에틸 아세테이트 또는 DCM), 및 유기 염기에서, L<sup>1</sup>Cl에 의한 연속 처리에 의해 이탈 그룹 L<sup>1</sup>O-(참조, 단계 I', F32)으로서 나중에 활성화되어 산출된 HCl(예컨대 트리에틸아민 또는 DIPEA)를 제거할 수 있다. 화합물 F32에서, L<sup>1</sup>이 알킬설폰닐(예를 들어, 메탄설폰닐), 할로알킬설폰닐(예를 들어, 트리플루오로메탄설폰닐), 아릴설폰닐(예를 들어, 톨루엔설폰닐) 등으로부터 선택될 수 있다. 그 다음, 화합물 F32는 이탈 그룹 L<sup>1</sup>O의 S<sub>N</sub>2 치환을 위한 어떤 친핵체로 처리될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 이 단계는 약 -10℃ 내지 약 60℃, 예를 들어, 약 -10℃ 내지 약 0℃, 약 0℃ 내지 약 25℃, 약 25℃ 내지 약 45℃, 또는 약 45℃ 내지 약 60℃의 온도에서 수행될 수 있다.

[0139]

친핵체가 아지드 이온일 때, F32는 F31(단계 J')를 제공한다. 아지드 시약은 친핵성 아지드 이온을 생산할 수 있는 어떤 시약을 포함한다. 아지드 시약의 예는 알칼리 금속 아지드(예컨대 아지드화나트륨, 칼륨 아지드)를 포함한다. 일부 임의 양태에서, 아지드 시약, 예컨대 아지드화나트륨은 요오드화나트륨과 조합하여 사용될 수 있다. 이 변형을 위한 적절한 용매는 DMF, DMSO, NMP 등을 포함하는 극성 용매이다. 몇 가지 양태에서, 이 단계는 DMF에서 수행될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 이 단계는 고온, 예를 들어, 약 40℃ 내지 약 100℃, 약 50℃ 내지 약 90℃, 또는 약 60℃ 내지 약 80℃의 온도에서 수행될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 이 단계는 50℃에서 수행될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 이 단계는 85℃에서 수행될 수 있다. 유기 아지드, 예컨대 F31은 원소 수소의 형태에서; 히드라이드 시약(예컨대 NaBH<sub>4</sub>, LiAlH<sub>4</sub> 등)를 사용하고; 트리페닐포스핀을 사용하고; 또는 요오드화나트륨, 클로로트리메틸실란, 및 메탄올(단계 K''')의 조합을 사용하여 수소의 첨가에 의해 유기 아민, 예컨대 F29로 환원될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 환원은 요오드화나트륨, 클로로트리메틸실란, 및 메탄올의 존재하에 수행될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 환원은 약 실온, 예를 들어, 약 10℃ 내지 약 50℃, 약 15℃ 내지 약 40℃, 약 20℃ 내지 약 30℃, 또는 약 25℃ 내지 약 30℃의 온도에서 수행될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 요오드화나트륨 및 클로로트리메틸실란의 몰 비는 약 1.0, 예를 들어, 약 0.9, 약 0.95, 약 1.0, 약 1.05, 또는 약 1.1일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 클로로트리메틸실란은 메탄올에서 용액으로서 F31의 혼합물, 요오드화나트륨 및 메탄올에 첨가될 수 있다.

[0140]

각각이 변형을 위한 용매로서 임의로 사용될 수 있는 복소환 염기(예를 들어, 피리딘), 또는 트리알킬아민(예를 들어, 트리에틸아민, DIPEA 등)일 수 있는 염기, 예컨대 유기 염기의 존재하에의 F29의 설파미드에 의한 처리로 설폰닐 우레아, 예컨대 F30(단계 R')를 제공한다. 이 반응이 고온, 예컨대 약 130℃, 예를 들어, 약 100℃, 약 110℃, 약 120℃, 약 130℃, 또는 약 140℃의 온도에서 수행될 수 있다. 이러한 가열은 마이크로파 조사를 사용하여 적용될 수 있다. 마이크로파 조사는 단일 방식으로 작동하는 시판되는 마이크로파 오븐(예를 들어, Initiator™, Biotage로부터 사용가능)에서 수행될 수 있다. 옥사디아졸론 환를 함유하는 화합물 F30은 염기(단계 N''')의 존재하에 목적 아미독심 F28로 탈보호(예를 들어, 가수분해)될 수 있다. 염기는 유기 염기, 예컨대 어사이클릭 아민(예를 들어, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민(DIPEA) 등) 또는 사이클릭 아민(예를 들어, 피롤리딘, 피페리딘 등); 또는 무기 염기, 예컨대 알칼리(예를 들어, NaOH, LiOH, KOH, Mg(OH)<sub>2</sub> 등)일 수 있다. 염기는 수지(예컨대 Amberlite® 등)의 형태로 사용가능하다. 일부 추가 양태에서, 염기는 물(수성 염기) 중의 용액, 예컨대 약 2N의 용액(예를 들어, 약 0.5N의 용액, 약 1N의 용액, 약 1.5N의 용액, 약 2.5N의 용액, 약 3N 내지 약 5N의 용액, 약 5N 내지 약 10N의 용액)의 형태로 제공될 수 있다. 몇 가지 양태에서, 염기는 알칼리 금속 히드록시드(예를 들어, 수산화나트륨)일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 염기는 물 중의 2N의 NaOH 용액일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 용매는 메탄올 또는 테트라히드로푸란(THF)일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 탈보호는 약 -10℃ 내지 약 60℃, 예를 들어, 약 -10℃ 내지 약 0℃, 약 0℃ 내지 약 25℃, 약 25℃ 내지 약 45℃, 또는 약 45℃ 내지 약 60℃의 온도에서 수행될 수 있다.

[0141]

따라서, 본 발명의 다른 측면은 화학식 F28(여기서, R<sup>4</sup>는 F, Cl, Br, 또는 I이고; n이 1 또는 2이다)의 화합물

또는 이의 염의 제조 방법을 제공하고, 상기 방법은 화학식 F29의 화합물 또는 이의 염을 설파미드 및 유기 염기와 반응시켜 화학식 F30의 화합물 또는 이의 염을 얻는 단계, 및 화학식 F30의 화합물을 염기와 반응시켜 화학식 F28의 화합물을 얻는 단계를 포함한다.

- [0142] 몇 가지 양태에서,  $R^4$ 는 Cl이고, n이 1이다.
- [0143] 몇 가지 양태에서,  $R^4$ 는 Br이고, n이 1이다.
- [0144] 몇 가지 양태에서, 화학식 F29의 화합물의 사용은 반응물을 가열하는 것을 추가로 포함한다(예컨대 마이크로파 조사 사용).
- [0145] 다른 측면에서, 본 발명은 화학식 F31의 화합물 또는 이의 염을 환원시켜 화학식 F29의 화합물을 얻는 방법을 제공한다. 몇 가지 양태에서, 환원은 요오드화나트륨, 클로로트리메틸실란, 및 메탄올의 조합으로 수행될 수 있다.
- [0146] 본 발명의 다른 측면에서, 화학식 F31의 화합물은 화학식 F32(여기서,  $L^1$ 이 알킬설포닐, 할로알킬설포닐, 및 아릴설포닐로부터 선택된다)의 화합물 또는 이의 염을 아지드 시약으로 처리하여 화학식 F31의 화합물을 제공하는 것으로써 수득할 수 있다.
- [0147] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "알킬"이란, 단독으로 또는 추가 부분 용어와 함께 사용될 때, 1 내지 6개의 탄소 원자, 1 내지 4개의 탄소 원자, 또는 1 내지 3개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄, 포화 탄화수소 그룹을 의미한다. 실시예 알킬 그룹은 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸 등을 포함한다.
- [0148] 본 명세서에 사용된 바와 같이, "알케닐"이란 하나 이상의 이중 탄소-탄소 결합을 갖는 알킬 그룹을 의미한다. 실시예 알케닐 그룹은 에테닐(비닐), 프로페닐 등을 포함한다.
- [0149] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "아릴"이란 6 내지 14개의 탄소 원자를 갖는 모노사이클릭 또는 폴리사이클릭일 수 있는 방향성 탄화수소 그룹을 의미한다. 실시예 아릴 그룹은 페닐, 나프틸, 안트라세닐, 펜안트라세닐, 인다닐, 인테닐 등을 포함한다.
- [0150] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "할로알킬"이란, 단독으로 또는 추가 부분과 함께 사용될 때, F, Cl, Br, 및 I로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 할로겐 원자에 의해 치환된 알킬 그룹을 의미한다. 할로알킬 그룹의 예는  $CF_3$ ,  $CHF_2$ ,  $CH_2CF_3$  등을 포함한다.
- [0151] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "알콕시"란 -O-알킬 그룹을 의미한다. 알콕시 그룹의 예는 메톡시, 에톡시, 프로폭시(예를 들어, n-프로폭시 및 이소프로폭시), t-부톡시 등을 포함한다.
- [0152] 본 명세서에 사용된 바와 같이, "알킬아민"이란 알킬 그룹에 의해 치환된 아미노( $NH_2$ ) 그룹을 의미한다. 알킬아민 그룹의 예는 메틸아민, 헥실아민 등을 포함한다.
- [0153] 본 명세서에 사용된 바와 같이, "트리알킬아민"이란 3개의 알킬 그룹에 의해 치환된 질소 원자를 의미한다. 트리알킬아민 그룹의 예는 트리메틸아민, 트리에틸아민 등을 포함한다.
- [0154] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "알콕시카르보닐"이란 알콕시 그룹에 의해 치환된 CO:  $-C(O)-O-$ 알킬을 의미한다. 알콕시카르보닐 그룹의 예는 에톡시카르보닐, tert-부톡시카르보닐(Boc), 벤질옥시카르보닐(Cbz), 9-플루오레닐메틸옥시카르보닐(Fmoc) 등을 포함한다.
- [0155] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "알킬설포닐"이란 알킬 그룹에 의해 치환된 설포닐 그룹: 알킬 $S(O)_2-$ 을 의미한다. 알킬설포닐 그룹의 예는 메탄설포닐, 에탄설포닐 등을 포함한다.
- [0156] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "할로알킬설포닐"이란 할로알킬 그룹에 의해 치환된 설포닐 그룹을 의미한다. 할로알킬설포닐 그룹의 예는 트리플루오로메탄설포닐, 1,1,1-트리플루오로에탄설포닐 등을 포함한다.
- [0157] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "아릴설포닐"이란 아릴 그룹 또는 치환된 아릴 그룹에 의해 치환된 설포닐 그룹을 의미하고 여기서, 아릴 그룹 상의 치환기는 할로, 니트로,  $C_{1-4}$  알킬, 및  $C_{1-4}$  할로알킬로부터 선택된다.

- [0158] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "복소환 염기"이란 4 내지 14개 원(member), 임의 치환된 헤테로사이클이고, 여기서, 적어도 하나의 환 형성 원(member)은 질소 원자이다. 복소환 염기는 방향성 또는 비방향성일 수 있다. 실시예 복소환 염기는 피리딘, 피롤리딘, 피페리딘, 모르폴린 등을 포함한다. 복소환 상의 치환기의 예는 F, Cl, Br, C<sub>1-4</sub> 알킬, 및 C<sub>1-4</sub> 할로알킬을 포함한다.
- [0159] *사용 방법*
- [0160] 본 발명의 화합물은 효소 인돌아민-2,3-디옥시게나아제(IDO)의 활성을 억제할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 화합물은 억제량의 본 발명의 화합물을 투여하여 효소의 조절이 필요한 세포 또는 개체의 IDO의 활성을 억제하기 위해 사용될 수 있다.
- [0161] 본 발명은 또한, 조직, 생물체, 또는 세포 배양과 같은 IDO를 발현시키는 세포를 함유하는 시스템에서 트립토판의 분해를 억제하는 방법을 제공한다. 몇 가지 양태에서, 본 발명은 본 명세서에 제공된 유효량의 화합물 또는 조성물을 투여하여 포유류의 세포와 트립토판 수준을 변경(예를 들어, 증가)시키는 방법을 제공한다. 트립토판 수준 및 트립토판 분해의 방법은 본 기술분야에서 일상적인 것이다.
- [0162] 본 발명은 또한, 본 명세서에 인용된 유효량의 화합물 또는 조성물을 환자에게 투여하여 환자의 IDO 매개된 면역억제와 같은 면역억제를 억제하는 방법을 제공한다. IDO 매개된 면역억제는 예를 들어, 암, 종양 성장, 전이, 바이러스성 감염, 바이러스성 복제 등과 연관되었다.
- [0163] 본 발명은 또한, 치료를 필요로 하는 개체(예컨대 환자)에 치료적 유효량 또는 투여량의 본 발명의 염 또는 이의 약제학적 조성물을 투여함으로써, 개체에서 IDO의 비정상적인 활성 및/또는 과발현을 포함하는 조절곤란한 키나아제 신호전달 경로와 관련된 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 질환의 예는 과발현 또는 비정상 활성과 같은 IDO 효소의 발현 또는 활성과 직접 또는 간접적으로 연결된 어떤 질환, 장애 또는 상태를 포함할 수 있다. IDO 관련된 질환은 또한, 효소 활성의 조절에 의해 예방, 개선 또는 치유될 수 있는 어떤 질환, 장애 또는 상태를 포함할 수 있다. IDO 관련된 질환의 예는 하기를 포함한다: 암, 바이러스성 감염, 예컨대 HIV 감염, HCV 감염, 우울증, 신경퇴행성 장애, 예컨대 알츠하이머병 및 헌팅턴병, 외상, 노화 관련 백내장, 기관 이식(예를 들어, 기관 이식거부), 및 천식, 류마티스성 관절염, 다발성 경화증, 알레르기성 염증, 염증성 장 질환, 건선 및 전신홍반성낭창을 포함하는 자가면역 질환. 본 방법으로 치료가능한 암의 예는 결장, 췌장, 유방, 전립선, 폐, 뇌, 난소, 자궁경부, 고환, 신장, 두경부, 림프종, 백혈병, 흑색종 등의 암을 포함한다. 본 발명의 화합물은 또한, 비만 및 허혈(虛血)의 치료에 유용할 수 있다.
- [0164] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "세포"는 시험관내, 생체외 또는 생체내에 존재하는 세포를 지칭하는 것을 의미한다. 몇 가지 양태에서, 생체외 세포는 포유동물과 같은 유기체로부터 절개된 조직 시료의 일부일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 시험관내 세포는 세포 배양액 중의 세포일 수 있다. 몇 가지 양태에서, 생체내 세포는 포유동물과 같은 유기체 내에 생존하고 있는 세포이다.
- [0165] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "접촉시키는"은 시험관내 시스템이나 생체내 시스템에서 지시된 부분을 함께 모으는 것을 지칭한다. 예를 들어, IDO 효소를 본 발명의 화합물과 "접촉시키는 것"은 본 발명의 화합물을 IDO를 갖는 인간과 같은 개체 또는 환자에게 투여하는 것 뿐만 아니라, 예를 들어, 본 발명의 화합물을 IDO를 함유하는 세포성 또는 정제된 조제물을 함유하는 시료 내로 도입하는 것을 포함한다.
- [0166] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 상호 교환적으로 사용된 용어 "개체" 또는 "환자"는 포유동물, 바람직하게는 마우스, 랫트, 기타 설치류, 토끼, 개, 고양이, 돼지, 소, 양, 말, 또는 영장류, 및 가장 바람직하게는 인간을 포함하는 임의의 동물을 지칭한다.
- [0167] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 문구 "치료적 유효량"이란 연구원, 의사, 전문의 또는 다른 임상가가 찾은 조직, 기관, 동물, 개체 또는 인간의 생물학적 또는 임상적 반응을 도출하는 활성 화합물 또는 약제학적 제제의 양을 의미한다.
- [0168] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 (1) 질환을 예방하는 것, 예를 들어, 질환, 상태 또는 장애에 취약할 수 있지만 질환의 병리 또는 징후(symptomatology)를 아직 경험하거나 나타내지 않은 개체에서 질환, 상태 또는 장애를 예방하는 것; (2) 질환을 억제하는 것, 예를 들어, 질환, 상태 또는 장애에 취약할 수 있지만 질환, 상태 또는 장애의 병리 또는 징후를 경험하거나 나타내는 개체에서 질환, 상태 또는 장애를 억제하는 것(즉, 병리 및/또는 징후의 추가 발달을 저지하는 것); 또는 (3) 질환을 개선하는 것, 예를



들어, 질환, 상태 또는 장애의 병리학 또는 징후학을 경험하거나 나타내는 개체에서 질환, 상태 또는 장애를 개선하는 것(즉, 병리 및/또는 징후를 역전시키는 것)을 지칭한다.

[0169] 병용 치료

[0170] 하나 이상의 추가 약제학적 제제 또는 치료 방법, 예를 들어, 항바이러스제, 화학요법제 또는 다른 항암제, 면역 증강제, 면역억제제, 방사선, 항종양 및 항바이러스 백신, 사이토카인 치료제(예를 들어, IL2, GM-CSF 등), 및/또는 티로신 키나아제 억제제는 IDO 관련된 질환, 장애 또는 상태의 치료를 위해 본 발명의 화합물과 병용하여 사용될 수 있다. 제제는 단일 투약 형태로 본 화합물과 병용될 수 있고, 또는 제제는 별개의 투약 형태로서 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0171] 본 발명의 화합물과 병용하여 사용하기 위해 고려되는 적합한 항바이러스제는 뉴클레오티드 및 뉴클레오티드 역전사효소 억제제(NRTI), 비(non)뉴클레오티드 역전사효소 억제제(NNRTI), 프로테아제 억제제 및 다른 항바이러스성 약물을 포함할 수 있다.

[0172] 적합한 NRTI의 예는 지도부딘(zidovudine; AZT); 디다노신(didanosine; ddI); 잘시타빈(zalcitabine; ddC); 스타부딘(stavudine; d4T); 라미부딘(lamivudine; 3TC); 아바카비르(abacavir; 1592U89); 아데포비르 디피복실[adefovir dipivoxil; bis(POM)-PMEA]; 로부카비르(lobucavir; BMS-180194); BCH-10652; 에미트리시타빈[emtricitabine; (-)-FTC]; 베타-L-FD4 (베타-L-D4C로도 불리고, 베타-L-2',3'-디클레옥시-5-플루오로-시티덴로 명명); DAPD, ((-)-베타-D-2,6-디아미노-퓨린 디옥솔란); 및 로데노신(lodenosine; FddA)을 포함한다. 전형적인 적합한 NNRTI은 네비라핀(nevirapine; BI-RG-587); 델라비라딘(delaviradine; BHAP, U-90152); 에파비렌즈(efavirenz; DMP-266); PNU-142721; AG-1549; MKC-442(1-(에톡시-메틸)-5-(1-메틸에틸)-6-(페닐메틸)-(2,4(1H,3H)-피리미딘디온); 및 (+)-칼라노라이드 A(NSC-675451) 및 B를 포함한다. 전형적인 적합한 프로테아제 억제제는 사퀴나비르(saquinavir; (Ro 31-8959); 리토나비르(ritonavir; ABT-538); 인디나비르(indinavir; MK-639); 넬프나비르(nelfinavir; AG-1343); 암프레나비르(amprenavir; 141W94); 라시나비르(lasinaivir; BMS-234475); DMP-450; BMS-2322623; ABT-378; 및 AG-1 549를 포함한다. 다른 항바이러스제는 히드록시우레아, 리바비린(ribavirin), IL-2, IL-12, 펜타푸사이드(pentafuside) 및 Yisum Project No.11607을 포함한다.

[0173] 적합한 화학요법제 또는 기타 항암제는 추가로, 예를 들어, 우라실 머스타드, 클로르메틴, 사이클로포스파미드(Cytoxan™), 이포스파미드(ifosfamide), 멜팔란(melphalan), 클로람부실(chlorambucil), 피포브로만(pipobroman), 트리에틸렌-멜라민, 트리에틸렌티오포스포라민, 부숴판(busulphan), 카르무스틴(carmustine), 로무스틴(lomustine), 스트렙토조신(streptozocin), 다카르바진(dacarbazine) 및 테모졸로미드(temozolomide)와 같은 알킬화제(질소 머스타드, 에틸렌이민 유도체, 알킬 술포네이트, 니트로우레아 및 트리아젠을 포함하나, 이에 제한되지는 않음)를 포함한다.

[0174] 흑색종의 치료에서, 본 발명의 화합물과 병용하여 사용하기 위한 적합한 제제는 하기를 포함한다: 카르무스틴(carmustine, BCNU) 및 시스플라틴(cisplatin)과 같은 다른 화학요법 약물과 임의로 병용하는 다카르바진(dacarbazine, DTIC); DTIC, BCNU, 시스플라틴(cisplatin) 및 타목시펜(tamoxifen)으로 이루어진 "다트머스(Dartmouth) 접생"; 시스플라틴, 빈블라스틴(vinblastine), 및 DTIC의 조합; 또는 테모졸로마이드(temozolomide). 본 발명에 따른 화합물은 또한, 흑색종의 치료에서 사이토카인, 예컨대 인터페론 알파, 인터류킨 2, 및 종양 괴사 인자(TNF)를 포함하는 면역치료 약물과 병용될 수 있다.

[0175] 본 발명의 화합물은 또한, 흑색종의 치료에서 백신 치료와 병용하여 사용될 수 있다. 항흑색종 백신은, 여러가지 점에서 예컨대 소아마비, 홍역, 및 유행성이하선염(mumps)과 같은 바이러스에 의해 야기된 질환을 치료하기 위해 사용되는 항바이러스 백신과 유사하다. 쇠약한 흑색종 세포, 또는 항원으로 불리는 흑색종 세포의 일부는 신체 면역계를 자극하기 위해 환자에 주입되어 흑색종 세포를 파괴할 수 있다.

[0176] 팔 또는 다리로 한정된 흑색종은 또한, 고온형 분리된 팔다리 관류 기술을 사용하여, 하나 이상의 본 발명의 화합물을 포함하는 제제들의 병행으로 치료될 수 있다. 이 치료 프로토콜은 신체의 나머지로부터 연관 팔다리의 순환을 일시적으로 분리하고, 팔다리에 공급하는 동맥에 고용량의 화학요법제를 주입하고, 이에 따라, 달리 심각한 부작용을 야기하지 않는 이들 용량에 내부 기관을 노출하지 않으면서 개시 물질 Rf = 0.5). LCMS는 또한 반응의 완료를 나타내었다. 반응물을 실온에서 냉각하고, 에틸 아세테이트 102 내지 104°F로 따뜻하게 된다. 멜팔란(melphalan)은 이러한 화학요법 과정에 아주 종종 사용되는 약물이다. 이는 종양 괴사 인자(TNF)로 불리는 다른 제제와 함께 주어질 수 있다(참조, 사이토킨에 대한 섹션 ).

- [0177] 적합한 화학요법제 또는 기타 항암제는 추가로, 예를 들어, 메토크세이트, 5-플우로우라실, 플록수리딘(floxuridine), 시타라빈(cytarabine), 6-머캅토피리딘, 6-티오구아닌, 플루다라빈 포스페이트, 펜토스타틴 및 젬시타빈과 같은 항대사산물(폴산 길항제, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 아데노신 데아미나아제 억제제를 포함하나, 이에 제한되지는 않음)을 포함한다.
- [0178] 적합한 화학요법제 또는 다른 항암제는 추가로, 예를 들어, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 블레오마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 이다루비신, 아라-C, 파클리탁셀(TAXOL™), 미트라마이신, 데옥시코-포르마이신, 미토마이신-C, L-아스파라기나아제, 인터페론(특히 IFN-a), 에토포사이드, 및 테니포사이드와 같은, 특정 천연 생성물 및 이의 유도체(예를 들어, 빈카 알칼로이드(vinca alkaloid), 항종양성 항생제, 효소, 림포카인 및 에피도도필로톡신(epipodophyllotoxin))를 포함한다.
- [0179] 기타 세포독성 치료제는 나벨벤(navelbene), CPT-11, 아나스트라졸, 레트라졸, 카페시타빈, 레록사핀, 사이클로포스포파미드, 이포사미드, 및 드롤록사핀을 포함한다.
- [0180] 에피도도필로톡신과 같은 세포독성 치료제; 항종양성 효소; 토포이소머라아제 억제제; 프로카르바진; 미톡산트론(mitoxantrone); 시스플라틴 및 카보플라틴과 같은 백금 배위 착화합물; 생물학적 반응 조절물질; 성장 억제제; 항호르몬 치료제; 루코보린(leucovorin); 테가푸르(tegafur); 및 조절 성장 인자가 또한 적합하다.
- [0181] 기타 항암제는 트라스투주맙(trastuzumab, Herceptin)과 같은 항체 치료제, CTLA-4, 4-1BB 및 PD-1과 같은 보조자극 분자에 대한 항체, 또는 사이토카인에 대한 항체(IL-10, TGF- $\beta$  등)를 포함한다.
- [0182] 기타 항암제(들)은 또한 CCR2 및 CCR4를 포함하는, 케모카인 수용체에 대한 길항제와 같이 면역 세포 이동을 차단하는 것을 포함한다.
- [0183] 기타 항암제는 또한 보조제(adjutant) 또는 입양(adoptive) T-세포 전달과 같이 면역계를 증대시키는 것을 포함한다.
- [0184] 항암 백신은 수지상 세포, 합성 펩타이드, DNA 백신 및 재조합 바이러스를 포함한다.
- [0185] 대부분의 이들 화학요법제의 대부분을 안전하고 효과적으로 투여하는 방법은 본 기술분야의 숙련자에게 알려져 있다. 또한, 이의 투여는 표준 문헌에 기술되어 있다. 예를 들어, 많은 화학요법제의 투여는 "Physicians' Desk Reference" (PDR, 예컨대 1996 edition, Medical Economics Company, Montvale, NJ)에 기술되어 있으며, 상기 내용은 전문이 제시된 것처럼 전체가 참조로써 본 명세서에 통합되어 있다.
- [0186] *약제학적 제형 및 투약 형태*
- [0187] 제약으로 사용될 경우, 본 발명의 화합물은 본 발명의 화합물과 약제학적으로 허용가능한 담체의 조합인 약제학적 조성물의 형태로 투여될 수 있다. 이들 조성물은 약제학적 분야에서 잘 알려진 방식으로 제조될 수 있으며, 국소 또는 전신 치료가 필요한지 여부 및 치료될 부위에 따라 다양한 경로에 의해 투여될 수 있다. 투여는 국소(눈, 및 비내, 질 및 직장 전달을 포함하는 점막을 포함), 폐(예컨대 분무기(nebulizer), 기관내, 비내, 표피 및 경피에 의함을 포함하는, 분제 또는 에어로졸의 흡입 또는 흡입제에 의함), 안구, 경구 또는 비경구일 수 있다. 안구 전달 방법은 국소 투여(점안약), 결막낭(conjunctival sac) 내에 수술적으로 위치된 풍선 카테터 또는 안과 삽입물에 의한, 결막하(subconjunctival), 안구 주위 또는 유리체내(intravitreal) 주사 또는 도입을 포함할 수 있다. 비경구 투여는 정맥내, 동맥내, 피하, 복강내 또는 근육내 주사 또는 주입을 포함하며, 또는 두개내(intracranial), 예컨대 수강내(intrathecal) 또는 뇌실내 투여를 포함한다. 비경구 투여는 단일 볼루스(bolus) 투여 형태일 수 있거나, 또는 예를 들어 연속적인 관류 펌프에 의한 것일 수 있다. 국소 투여를 위한 약제학적 조성물 및 제형은 경피 패치, 연고, 로션, 크림, 젤, 점액제(drop), 좌제, 스프레이, 액체 및 분제를 포함할 수 있다. 통상적인 약제학적 담체, 수성 분제 또는 유성 기제, 증점제 등이 필요하거나 바람직할 수 있다.
- [0188] 본 발명은 또한 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체와 조합된 하나 이상의 본 발명의 화합물을 활성 성분으로서 함유하는 약제학적 조성물을 포함한다. 본 발명의 조성물 제조시, 활성 성분은 통상적으로 부형제와 혼합되거나, 부형제에 의해 희석되거나, 예를 들어, 캡슐, 샷세제(sachet), 종이 또는 기타 용기의 형태로 상기 담체 내에 봉입된다. 부형제가 희석제로 작용할 경우, 이는 고체, 반고체 또는 액체 물질일 수 있으며, 이는 활성 성분을 위한 비히클, 담체 또는 매질로 작용한다. 따라서, 조성물은 정제, 환제, 분제, 로젠지제(lozenge), 샷세제(sachet), 카세제(cachet), 엘릭서제(elixir), 현탁제, 유화액, 용액, 시럽, 에어로졸(고체

로서 또는 액체 매질 중), 예를 들어, 최대 10 중량%의 활성 화합물을 함유하는 연고, 연질 및 경질 젤라틴 캡슐, 좌제, 멸균 주사가 가능한 용액 및 멸균 포장된 분제의 형태일 수 있다.

[0189] 제형 제조시, 활성 화합물은 다른 성분과 결합시키기 전에 적절한 입자 크기를 제공하기 위하여 제분될 수 있다. 활성 화합물이 실질적으로 불용성인 경우, 200 메쉬 미만의 입자 크기로 제분될 수 있다. 활성 화합물이 실질적으로 수용성일 경우, 제형 내에 실질적으로 균일한 분포, 예를 들어, 약 40 메쉬를 제공하기 위하여, 입자 크기가 제분에 의해 조절될 조절될 수 있다.

[0190] 적합한 부형제의 일부 예는 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 검 아카시아, 칼슘 포스페이트, 알기네이트, 트라가칸트, 젤라틴, 칼슘 실리케이트, 미세결정 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로오스, 물, 시럽, 및 메틸 셀룰로오스를 포함한다. 제형은 부가적으로 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 미네랄 오일과 같은 윤활제; 습윤제; 유화제 및 현탁제; 메틸- 및 프로필하이드록시-벤조에이트와 같은 보존제; 감미제; 및 향미제를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 본 기술분야에 알려진 공정을 사용하여 환자에게 투여 후, 활성 성분의 신속방출, 서방출 또는 지연 방출을 제공하도록 제형화될 수 있다.

[0191] 조성물은 단위 투여 형태로 제형화될 수 있으며, 각각 투여량은 활성 성분을 약 5 내지 약 100mg, 보다 일반적으로는 약 10 내지 약 30 mg을 함유한다. 용어 "단위 투여 형태"는 인간 대상 및 기타 포유동물을 위한 단일 투여량으로서 적합한 물리적으로 분리된 단위를 지칭하며, 각각 단위는 적합한 약제학적 부형제와 함께, 원하는 치료 효과를 생성하도록 산출된 미리 결정된 양의 활성 물질을 함유한다.

[0192] 활성 화합물은 광범위한 투여량 범위에 걸쳐 효과적일 수 있고, 일반적으로 약제학적 유효량으로 투여된다. 하지만, 실제 투여된 화합물의 양은 치료될 상태, 선택된 투여 경로, 실제 투여된 화합물, 개별 환자의 연령, 체중 및 반응, 환자의 증상의 중증도를 포함하는, 관련 상황에 따라, 의사에 의해 통상적으로 결정될 것으로 이해될 것이다.

[0193] 정제와 같은 고체 조성물을 제조하기 위하여, 주요 활성 성분은 약제학적 부형제와 혼합되어 본 발명의 화합물의 균질한 혼합물을 함유하는 고체 예비제형 조성물을 형성한다. 이들 예비제형 조성물을 균질한 것으로 언급하는 경우, 활성 성분은 통상적으로 조성물이 동등하게 효과적인 단위 투여 형태, 예를 들어, 정제, 환제 및 캡슐로 용이하게 세분될 수 있도록 조성물 전반에 걸쳐 균일하게 분산된다. 그 다음, 이 고체 예비제형은, 예를 들어, 본 발명의 활성 성분을 0.1 내지 약 500 mg 함유하는, 상기 기술된 타입의 단일 투여 형태로 세분된다.

[0194] 본 발명의 정제 또는 환제는 코팅되거나 또는 혼합되어, 연장된 작용 이점을 부여하는 투여 형태를 제공할 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 환제는 내부 투여 및 외부 투여 성분을 포함할 수 있으며, 후자는 전자에 대한 외피 형태이다. 상기 두 개의 성분은 위장에서의 분해를 건디는 작용을 하고 내부 성분이 그대로 십이지장으로 지나가거나 지연 방출되도록 작용하는 장용층에 의해 분리될 수 있다. 수많은 중합성 산, 및 중합성 산과 셀락, 세틸 알콜 및 셀룰로오스 아세테이트와 같은 물질과의 혼합물을 포함하는, 이러한 다양한 물질이 상기 장용성 피막 또는 코팅을 위해 사용될 수 있다.

[0195] 본 발명의 화합물 및 조성물이 경구 투여로 또는 주사에 의해 혼입될 수 있는 액체 형태는 적절하게 향미된 시럽, 수성 또는 유성 현탁액, 및 식용유, 예를 들어, 면실유, 참기름, 야자유, 또는 땅콩유로 향미된 유화액 뿐만 아니라, 엘릭서 및 유사한 약제학적 비히클을 포함한다.

[0196] 흡입 또는 흡입제를 위한 조성물은 약제학적으로 허용가능한 수성 또는 유기 용매, 또는 이의 혼합물 중의 용액 제 및 현탁제, 및 분제를 포함한다. 액체 또는 고체 조성물은 위에 기술된 바와 같은 적합한 약제학적으로 허용가능한 부형제를 함유할 수 있다. 몇 가지 양태에서, 조성물은 국소 또는 전신 효과를 위하여 경구 또는 비강 호흡기 경로에 의해 투여된다. 조성물은 불활성 기체를 사용하여 분무될 수 있다. 분무된 용액은 분무 장치로부터 직접 호흡될 수 있거나, 분무 장치는 안면 마스크 텐트나 간헐적 양압 호흡기에 부착될 수 있다. 용액제, 현탁제, 또는 분제 조성물은 제형을 적절한 방식으로 전달하는 장치로부터 경구 또는 비내 투여될 수 있다.

[0197] 환자에게 투여되는 화합물 또는 조성물의 양은 투여되는 물질, 예방 또는 치료와 같은 투여 목적, 환자의 상태, 투여 방식 등에 따라 달라질 것이다. 치료 적용에서, 조성물은 이미 질환으로 고통받고 있는 환자에게 질환 및 그 합병증 증상을 치료하거나 적어도 부분적으로 정지시키기에 충분한 양으로 투여될 수 있다. 유효 투여량은 치료될 질환 상태 뿐만 아니라 질환의 중증도, 환자의 연령, 체중 및 일반적 상태와 같은 인자에 따라 임상치의 판단에 의해 달라질 것이다.

- [0198] 환자에게 투여되는 조성물은 상기 기술된 약제학적 조성물의 형태일 수 있다. 이들 조성물은 통상적인 멸균 기술에 의해 멸균되거나 멸균 여과될 수 있다. 수용액은 그 자체로 사용되기 위해 포장되거나 또는 동결건조될 수 있으며, 상기 동결건조된 조제물은 투여 전에 멸균 수성 담체와 배합될 수 있다. 화합물 조제물의 pH는 통상적으로 3 내지 11, 보다 바람직하게는 5 내지 9, 및 가장 바람직하게는 7 내지 8일 것이다. 앞서 말한 부형제, 담체 또는 안정제 중 특정의 것의 사용이 약제학적 염의 형성을 야기할 것으로 이해될 것이다.
- [0199] 본 발명의 화합물의 치료적 투여량은, 예를 들어, 치료가 수행되는 특정 용도, 화합물의 투여 방식, 환자의 건강 및 상태, 처방 의사의 판단에 따라 달라질 수 있다. 약제학적 조성물 중의 본 발명의 화합물의 비율 또는 농도는 투여량, 화학적 성질(예컨대 소수성) 및 투여 경로를 포함하는, 수많은 인자에 따라 달라질 것이다. 예를 들어, 본 발명의 화합물은 비경구 투여를 위해 약 0.1 내지 약 10% w/v의 화합물을 함유하는 생리학적 완충 수용액으로 제공될 수 있다. 일부 통상적 투여량 범위는 하루당 체중의 약 1 µg/kg 내지 약 1g/kg이다. 몇 가지 양태에서, 투여량 범위는 하루당 체중의 약 0.01mg/kg 내지 약 100mg/kg이다. 상기 투여량은 아마도 질환 또는 장애의 유형 및 진행 정도, 특정 환자의 전반적인 건강 상태, 선택된 화합물의 상대적인 생물학적 효능, 부형제의 제형 및 그 투여 경로와 같은 변수에 좌우될 것이다. 유효 투여량은 시험관내 또는 동물 모델 시험 시스템으로부터 도출된 용량-반응 곡선으로부터 외삽될 수 있다.
- [0200] 본 발명의 화합물은 또한 항-바이러스제, 백신, 항체, 면역 향상제, 면역 억제제, 항-염증제 등과 같은 임의의 약제학적 제제를 포함할 수 있는 하나 이상의 부가적인 활성 성분과 조합되어 제형화될 수 있다.
- [0201] 라벨링된 화합물 및 분석 방법
- [0202] 본 발명의 또 다른 측면은 인간을 포함하는 조직 시료에서 IDO 효소의 위치를 알아내고 정량화하기 위한, 그리고 라벨링된 화합물의 결합을 억제함으로써 IDO 효소 리간드를 확인하기 위한, 시험관내 및 생체내 영상화 뿐만 아니라 분석에 유용할, 형광 염료, 스핀 라벨(spin label), 중금속 또는 방사선 라벨링된 본 발명의 화합물에 관한 것이다. 따라서, 본 발명은 라벨링된 화합물을 함유하는 IDO 효소 분석을 포함한다.
- [0203] 본 발명은 화학식 I의 동위원소적으로 라벨링된 화합물을 추가로 포함한다. "동위원소적으로" 또는 "방사선 라벨링된" 화합물은 하나 이상의 원자가 자연상에서 통상적으로 발견되는(즉, 자연적으로 발생하는) 원자 질량 또는 질량수와 상이한 원자 질량 또는 질량수를 갖는 원자로 대체되거나 치환된 본 발명의 화합물이다. 본 발명의 화합물에 혼입될 수 있는 적합한 방사성 핵종(radionuclide)은  $^2\text{H}$ (중수소의 경우 D로도 기재됨),  $^3\text{H}$ (삼중수소의 경우 T로도 기재됨),  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ ,  $^{82}\text{Br}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{76}\text{Br}$ ,  $^{77}\text{Br}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$  및  $^{131}\text{I}$ 를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 방사선 라벨링된 화합물에 혼입된 방사성 핵종은 방사선 라벨링된 화합물의 특정 용도에 좌우될 것이다. 예를 들어, 시험관내 IDO 효소 라벨 및 경쟁 분석의 경우,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{82}\text{Br}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$ 를 혼입하는 화합물이 일반적으로 가장 유용할 것이다. 방사선-영상화 분석의 경우,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{76}\text{Br}$  또는  $^{77}\text{Br}$ 이 일반적으로 가장 유용할 것이다.
- [0204] "방사선 라벨링된" 또는 "라벨링된 화합물"은 적어도 하나의 방사성 핵종을 혼입한 화합물인 것으로 이해된다. 몇 가지 양태에서, 방사성 핵종은  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$  및  $^{82}\text{Br}$ 로 이루어지는 그룹으로부터 선택된다.
- [0205] 방사선 동위원소를 유기 화합물 내로 혼입시키기 위한 합성 방법은 본 발명의 화합물에 적용가능하며, 본 기술 분야에 잘 알려져 있다.
- [0206] 본 발명의 방사선 라벨링된 염은 화합물을 확인/평가하는 스크리닝 분석에 사용될 수 있다. 일반적인 표현으로, 새롭게 합성되거나 확인된 화합물(즉, 시험 화합물)은 본 발명의 방사선 라벨링된 화합물의 IDO 효소에의 결합을 감소시키는 능력에 대해 평가될 수 있다. 따라서, IDO 효소에 결합하는 방사선 라벨링된 화합물과 경쟁하는 시험 화합물의 능력은 직접적으로 그 결합 친화도와 직접 상호관련된다.
- [0207] 키트
- [0208] 본 발명은 또한, 예를 들어, 본 명세서에 언급된 IDO 관련된 질환 또는 장애, 비만, 당뇨병 및 다른 질환의 치료 또는 예방에 유용한 약제학적 키트를 포함하고, 상기 키트는 치료적 유효량의 본 발명의 화합물을 포함하는



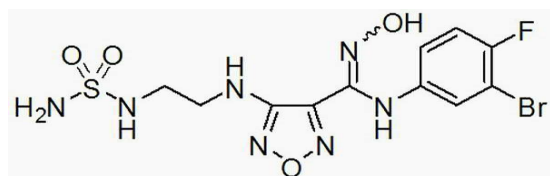
약제학적 조성물을 함유하는 하나 이상의 용기를 포함한다. 이러한 키트는 추가적으로, 필요한 경우, 예를 들어, 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체를 갖는 용기, 추가의 용기 등과 같은 하나 이상의 다양한 통상적인 약제학적 키트 성분을 포함할 수 있으며, 이는 본 기술분야에서의 숙련자에게 용이하게 자명하다. 투여되는 성분의 양, 투여 지침 및/또는 성분의 혼합에 대한 지침을 나타내는, 삽입물 또는 라벨로서의 지침서가 또한 상기 키트 내에 포함될 수도 있다.

[0209] 본 발명은 특정 실시예를 통해 보다 상세하게 기술될 것이다. 하기의 실시예는 단지 예시적인 목적에서 제공되는 것으로서, 어떠한 방식으로든 본 발명을 제한하고자 하는 것은 아니다. 본 기술분야의 숙련자라면 변경하거나 변형시켜 본질적으로 동일한 결과를 수득할 수 있는 다양한 중요하지 않은 변수를 용이하게 인지할 것이다. 실시예의 화합물은 본 명세서에 제공된 하나의 이상의 분석물에 따른 IDO의 억제제인 것으로 발견되었다.

## [0210] 실시예

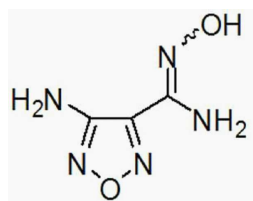
### [0211] 실시예 1

[0212] 4-({2-[(아미노설폰닐)아미노]에틸}아미노)-*N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드



[0213]

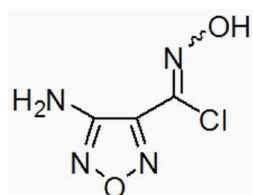
[0214] 단계 A: 4-아미노-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드



[0215]

[0216] 말로노니트릴[Aldrich, 제품 번호 M1407](320.5g, 5mol)을 45℃로 예열된 물(7L)에 첨가하고, 5분 동안 교반했다. 수득한 용액을 빙욕에서 냉각하고, 아질산나트륨(380g, 5.5mol)을 첨가했다. 온도가 10℃에 도달했을 때, 6N 염산(55mL)을 첨가했다. 완만한 발열 반응이, 온도가 16℃에 도달하면서 뒤이어 일어난다. 15분 후, 냉욕을 제거하고, 반응 혼합물을 1.5시간 동안 16 내지 18℃에서 교반했다. 반응 혼합물을 13℃로 냉각하고, 50% 수성 히드록실아민(990g, 15mol)을 한꺼번에 첨가했다. 온도는 26℃로 상승되었다. 발열 반응이 진정될 때, 냉욕을 제거하고, 교반을 1시간 동안 26 내지 27℃에서 계속한 다음, 천천히 환류시켰다. 환류를 2시간 동안 유지하고, 그 다음, 반응 혼합물을 밤새 냉각했다. 반응 혼합물을 빙욕에서 교반하고, 6N 염산(800mL)을 부분적으로 40분에 걸쳐 첨가하여 pH 7.0로 만들었다. 교반을 빙욕에서 5℃에서 계속했다. 침전물을 여과로 수집하고, 물로 잘 세정하고, 진공 오븐(50℃)에서 건조시켜 목적 생성물(644g, 90%)을 제공했다.  $C_8H_8N_5O_2 (M+H)^+$ 에 대한 LCMS:  $m/z = 144.0$ .  $^{13}C$  NMR (75MHz,  $CD_3OD$ ):  $\delta$  156.0, 145.9, 141.3.

[0217] 단계 B: 4-아미노-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미도일 클로라이드



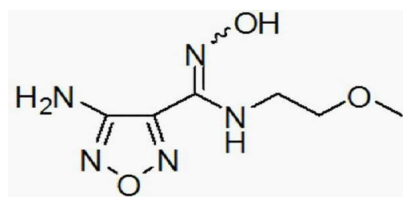
[0218]

[0219] 4-아미노-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드(422g, 2.95mol)을 물(5.9L), 아세트산(3L) 및

6N 염산(1.475L, 3당량)의 혼합물에 첨가하고, 이 현탁액을, 완전한 용해가 달성될 때까지 42 내지 45℃에서 교반했다. 염화나트륨(518g, 3당량)을 첨가하고, 이 용액을 얼음/물/메탄올 배스에서 교반했다. 물(700mL) 중의 아질산나트륨(199.5g, 0.98당량)의 용액을, 0℃ 미만의 온도를 유지하면서 3.5시간에 걸쳐 첨가했다. 완전히 첨가한 후, 교반을 빙욕에서 1.5시간 동안 계속하고, 그 다음, 반응 혼합물을 15℃로 가온했다. 침전물을 여과로 수집하고, 물로 잘 세정하고, 에틸 아세테이트(3.4L)에서 취하고, 무수 황산나트륨(500g)으로 처리하고, 1시간 동안 교반했다. 이 현탁액을 황산나트륨(200g)을 통해 여과하고 여과물을 회전식 증발기 상에서 농축했다. 잔류물을 메틸 *t*-부틸 에테르(5.5L)에 용해시키고, 목탄(40g)으로 처리하고, 40분 동안 교반하고, 셀라이트를 통해 여과했다. 용매를 회전식 증발기에서 제거하고, 수득한 생성물을 진공 오븐(45℃)에서 건조시켜 목적 생성물(256g, 53.4%)을 제공했다.  $C_3H_4ClN_4O_2$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 162.9.  $^{13}C$  NMR (100MHz,  $CD_3OD$ ):  $\delta$  155.8, 143.4, 129.7.

[0220]

단계 C: 4-아미노-*N'*-히드록시-*N*-(2-메톡시에틸)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드



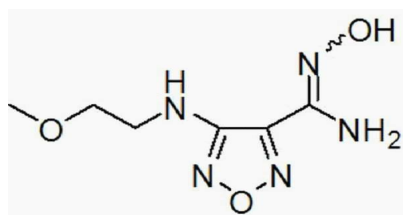
[0221]

[0222]

4-아미노-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미도일 클로라이드(200.0g, 1.23mol)를 에틸 아세테이트(1.2L)와 혼합했다. 0 내지 5℃에서 2-메톡시에틸아민[Aldrich, 제품 번호 143693](119.0mL, 1.35mol)을 교반하면서 한번에 첨가했다. 반응 온도는 41℃로 상승했다. 반응물을 0 내지 5℃로 냉각했다. 트리에틸아민(258mL, 1.84mol)을 첨가했다. 5분 동안 교반한 후, LCMS는 반응 완료를 나타냈었다. 반응 용액을 물(500mL)과 염수(500mL)로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 목적 생성물(294g, 119%)을 조 흑색 오일로서 제공했다.  $C_6H_{12}N_5O_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 202.3.  $^1H$  NMR (400MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  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).

[0223]

단계 D: *N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드

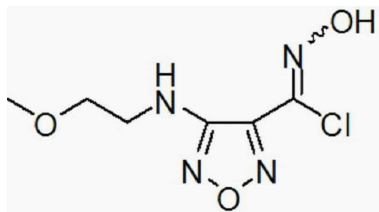


[0224]

[0225]

4-아미노-*N'*-히드록시-*N*-(2-메톡시에틸)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드(248.0g, 1.23mol)를 물(1L)과 혼합했다. 수산화칼륨(210g, 3.7mol)을 첨가했다. 반응물을 100℃에서 밤새(15시간) 환류했다. 헥산 중 50% 에틸 아세테이트(1% 수산화암모늄 함유)를 갖는 TLC는 반응 완료를 나타내었다(생성물  $R_f$  = 0.6, 개시 물질  $R_f$  = 0.5). LCMS는 또한 반응의 완료를 나타내었다. 반응물을 실온에서 냉각하고, 에틸 아세테이트(3×1L)로 추출했다. 합한 에틸 아세테이트 용액을 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 목적 생성물(201g, 81%)을 조 회백색 고형물로서 제공했다.  $C_6H_{12}N_5O_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 202.3  $^1H$  NMR (400MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  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).

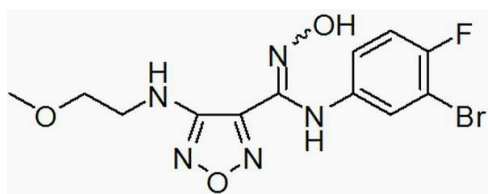
[0226] 단계 E: *N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미도일 클로라이드



[0227]

[0228] 실온에서 *N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미도아미드(50.0g, 0.226mol)를 6.0M 염산 수용액(250mL, 1.5mol)에 용해시켰다. 염화나트륨(39.5g, 0.676mol)을 첨가한 다음, 물(250mL) 및 에틸 아세테이트(250mL)를 첨가했다. 3 내지 5℃에서, 미리 제조된 수용액(100mL)의 아질산나트륨(15.0g, 0.217mol)을 1시간에 걸쳐 천천히 첨가했다. 반응물을 3 내지 8℃에서 2시간 동안 교반한 다음 실온에서 주말에 걸쳐 교반했다. LCMS는 반응 완료를 나타내었다. 반응 용액을 에틸 아세테이트(2×200mL)로 추출했다. 합한 에틸 아세테이트 용액을 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 목적 생성물(49.9g, 126%)을 조 백색 고형물로서 제공했다.  $C_6H_{10}ClN_4O_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 221.0$ . <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

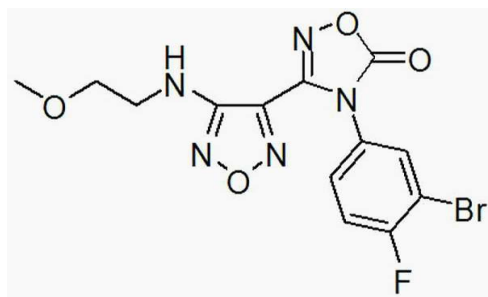
[0229] 단계 F: *N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드



[0230]

[0231] *N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미도일 클로라이드(46.0g, 0.208mol)를 물(300mL)로 추출했다. 혼합물을 60℃로 가열했다. 3-브로모-4-플루오로아닐린[Oakwood 제품, 제품 번호 013091](43.6g, 0.229mol)을 첨가하고, 10분 동안 교반했다. 따뜻한 중탄산나트륨(26.3g, 0.313mol) 용액(300mL 물)을 15분에 걸쳐 첨가했다. 반응물을 60℃에서 20분 동안 교반했다. LCMS는 반응 완료를 나타내었다. 반응 용액을 실온에서 냉각하고, 에틸 아세테이트(2×300mL)로 추출했다. 합한 에틸 아세테이트 용액을 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 목적 생성물(76.7g, 98%)을 조 갈색 고형물로서 제공했다.  $C_{12}H_{14}BrFN_5O_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 374.0$ , 376.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

[0232] 단계 G: 4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온



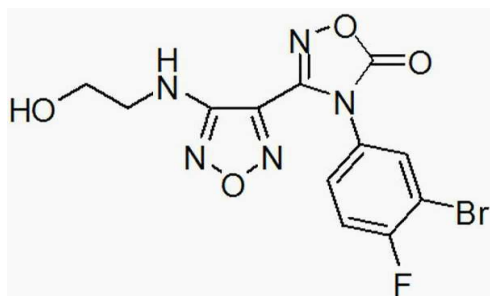
[0233]

[0234] *N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드

(76.5g, 0.204mol), 1,1'-카르보닐디이미다졸(49.7g, 0.307mol), 및 에틸 아세테이트(720mL)의 혼합물을 60℃로 가열하고, 20분 동안 교반했다. LCMS는 반응 완료를 나타내었다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 1N HCl(2×750mL)로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 목적 생성물(80.4g, 98%)을 조 갈색 고형물로서 제공했다.  $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 400.0, 402.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

[0235]

단계 H: 4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



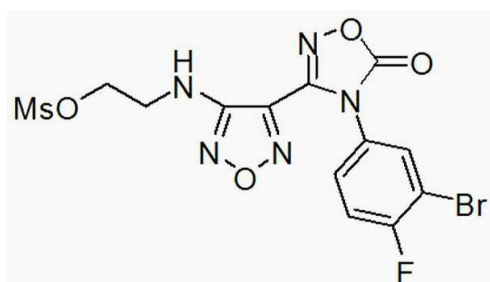
[0236]

[0237]

4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(78.4g, 0.196mol)을 디클로로메탄(600mL)에 용해시켰다. -67℃에서, 삼브롬화붕소(37mL, 0.392mol)를 15분에 걸쳐 첨가했다. 반응물을 30분 내에 -10℃로 가온했다. LCMS는 반응 완료를 나타내었다. 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반했다. 0 내지 5℃에서, 반응물을 포화 중탄산나트륨 용액(1.5L)으로 30분에 걸쳐 천천히 급랭시켰다. 반응 온도는 25℃로 상승되었다. 반응물을 에틸 아세테이트(2×500mL, 제1 추출 유기 층은 하부에 있고, 제2 추출 유기 층은 상부에 있다)로 추출했다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 목적 생성물(75g, 99%)을 조 갈색 고형물로서 제공했다.  $C_{12}H_{10}BrFN_5O_4$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 386.0, 388.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

[0238]

단계 I: 2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸 메탄설포네이트



[0239]

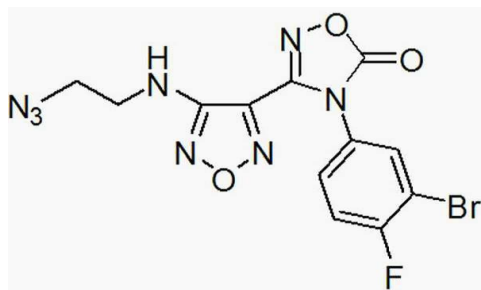
[0240]

에틸 아세테이트(12L) 중의 4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(1.5kg, 3.9mol, 상응하는 브로모-화합물의 일부도 함유)의 용액에 메탄설포닐 클로라이드(185mL, 2.4mol)를 1시간에 걸쳐 실온에서 적가했다. 트리에틸아민(325mL, 2.3mol)을 45분에 걸쳐 적가하고, 이 시간 동안에 반응 온도는 35℃로 상승했다. 2시간 후, 반응 혼합물을 물(5L) 및 염수(1L)로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 동일한 크기의 3개 초과와 혼합하고, 용매를 진공에서 제거하여 목적 생성물(7600g, 정량 수율)을 황갈색 고형물로서 제공했다.  $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$  (M+Na)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z =

485.9, 487.9.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

[0241]

단계 J: 3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



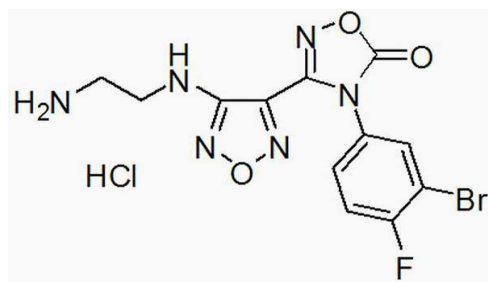
[0242]

[0243]

22L 플라스크에서 교반하면서, 디메틸포름아미드(4L) 중의 2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸 메탄설포네이트(2.13kg, 4.6mol, 상응하는 브로모-화합물의 일부도 함유)의 용액에 아지드화나트륨(380g, 5.84mol)을 첨가했다. 반응물을 50℃에서 6시간 동안 가열하고, 얼음/물(8L)에 붓고, 1:1 에틸 아세테이트:헵탄(20L)으로 추출했다. 유기 층을 물(5L)과 염수(5L)로 세정하고, 용매를 진공에서 제거하여 목적 생성물(1464g, 77%)을 황갈색 고형물로서 제공했다.  $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{BrFN}_5\text{O}_3\text{Na}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$ 에 대한 LCMS:  $m/z$  = 433.0, 435.0.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

[0244]

단계 K: 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드록로라이드



[0245]

[0246]

요오드화나트륨(1080g, 7.2mol)을 메탄올(6L) 중의 3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(500g, 1.22mol)에 첨가했다. 혼합물을 30분 동안 교반하고, 이 시간 동안에 가벼운 발열이 관찰되었다. 클로로트리메틸실란(930mL, 7.33mol)을, 온도가 35℃를 초과하지 않을 정도로 메탄올(1L) 중의 용액으로서 적가하고, 반응물을 3.5시간 동안 실온에서 교반했다. 반응물을 물(~1.5L) 중의 티오황산나트륨 5수화물의 33중량% 용액으로 중화하고, 물(4L)로 희석하고, pH 를, 고형 탄산칼륨(250g-소량으로 첨가됨: 거품 관찰)로 주의깊게 9로 조정했다. 디-*tert*-부틸 디카보네이트(318g, 1.45mol)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 교반했다. 추가 탄산칼륨(200g)을, pH가 여전히 9 이상인 것을 보장하기 위해 4시간에 걸쳐 50g씩 첨가했다. 실온에서 밤새 교반한 후, 고형물을 여과하고, 물(2L), 그 다음, MTBE(1.5L)로 분쇄했다. 총 11회 시행을 수행했다(5.5kg, 13.38mol). 합한 고형물을 1:1 THF:디클로로메탄(24L, 20L 회전식 증발기 플라스크에서 4회 시행, 50℃, 1시간)으로 분쇄하고, 여과하고, 디클로로메탄(3L 각각 시행)으로 세정하여 회백색 고형물을 제공했다. 조 물질을 55℃ 테트라히드로푸란(5mL/g)에 용해시키고, 탈색 탄소(2중량%) 및 실리카겔(2중량%)로 처리하고, 셀라이트를 통해 뜨겁게 여과하여 생성물을 회백색 고형물(5122g)로서 제공했다. 합한 MTBE, THF, 및 디클로로메탄 여과물을 진공에서 농축하고, 크로마토그래피(2kg 실리카겔, 0 내지

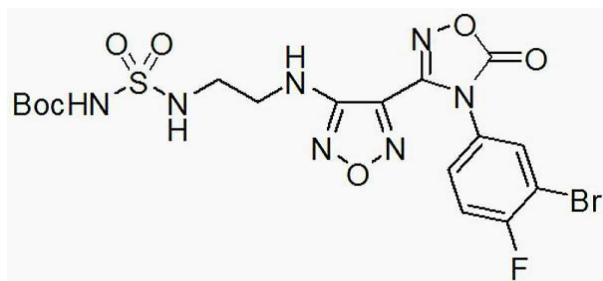
100% 에틸 아세테이트 구배를 갖는 헵탄, 30L)를 수행하여 더 많은 생성물(262g)을 제공했다. 합한 고형물을 대류 오븐(5385g, 83%)에서 일정 중량으로 건조시켰다.

[0247]

22L 플라스크에 염화수소(1,4-디옥산 중 4N의 용액, 4L, 16mol)를 충전했다. *tert*-부틸 [2-(4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아미노)에틸]카바메이트 (2315g, 4.77mol)를 10분에 걸쳐 고형물로서 부분적으로 첨가했다. 슬러리를 실온에서 교반하고, 이는 천천히, 교반될 수 있는 증점된 페이스트로 되었다. 밤새 실온에서 교반한 후, 페이스트를 에틸 아세테이트(10L)에서 슬러리화하고, 여과하고, 에틸 아세테이트(5L)에서 재슬러리화하고, 여과하고, 일정 중량으로 건조시켜 목적 생성물을 백색 고형물(다른 시행과 조합, 5kg 개시 물질 충전, 4113g, 95%)로서 제공했다.  $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 384.9, 386.9. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

[0248]

단계 L: *tert*-부틸 ({[2-(4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아미노)에틸]아미노}설포닐)카바메이트



[0249]

[0250]

5L 환저 플라스크에 클로로설포닐 이소시아네이트[Aldrich, 제품 번호 142662](149mL, 1.72mol) 및 디클로로메탄(1.5L)을 충전하고, 빙욕을 사용하여 2℃로 냉각했다. 디클로로메탄(200mL) 중의 *tert*-부탄올(162mL, 1.73mol)을, 온도가 10℃를 초과하지 않을 정도로 적가했다. 수득한 용액을 실온에서 30 내지 60분 동안 교반하여 *tert*-부틸 [클로로설포닐]카바메이트를 제공했다.

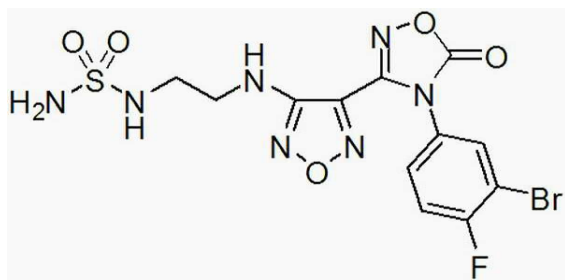
[0251]

22L 플라스크에 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로클로라이드(661g, 1.57mol) 및 8.5L 디클로로메탄을 충전했다. 얼음/염 배쓰로 -15℃로 냉각한 후, *tert*-부틸 [클로로설포닐]카바메이트 (상기와 같이 제조됨)의 용액을, 온도가 -10℃를 초과하지 않을 정도로 (추가 시간 7분) 첨가했다. 10분 동안 교반한 후, 트리에틸아민(1085mL, 7.78mol)을, 온도가 -5℃를 초과하지 않을 정도로 (추가 시간 10분) 첨가했다. 냉욕을 제거하고, 반응물을 10℃로 가온하고, 2부분으로 분리하고, 10% 농축 HCl(4.5L 각각 부분)으로 중화했다. 각각 부분을 50L 분별 깔때기로 옮기고, 에틸 아세테이트로 희석하고 백색 고형물(~25L)을 완전히 용해시켰다. 층을 분리하고, 유기 층을 물(5L)과 염수(5L)로 세정하고, 용매를 진공에서 제거하여 회백색 고형물을 제공했다. 고형물을 MTBE(2×1.5L)로 분쇄하고, 일정 중량으로 건조시켜 백색 고형물을 제공했다. 총 4113g의 개시 물질을 이러한 방식으로 가공했다(5409g, 98%). <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

[0252]

단계 M: N-[2-(4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아미노)에틸]설파미드





[0253]

[0254]

98:2 트리플루오로아세트산:물(8.9L)을 함유하는 22L 플라스크에 *tert*-부틸 ({[2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸]아미노}설포닐)카바메이트(1931g, 3.42mol)를 부분적으로 10분에 걸쳐 첨가했다. 수득한 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반하고, 용매를 진공에서 제거하고, 디클로로메탄(2L)로 추출했다. 수득한 고형물을 새로운 98:2 트리플루오로아세트산:물(8.9L)으로 2회 처리하고, 1시간 동안 40 내지 50℃에서 가열하고, 용매를 진공에서 제거하고, 디클로로메탄(3×2L)으로 추출했다. 수득한 백색 고형물을 진공 건조 오븐에서 50℃에서 밤새 건조시켰다. 총 5409g을 이러한 방식으로 가공했다(4990g, 정량 수율).  $C_{12}H_{12}BrFN_7O_5S$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 463.9, 465.9.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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, 6.3 Hz).

[0255]

단계 N: 4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N'*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드

[0256]

22L 플라스크에 교반하는 잔류량의 트리플루오로아세트산을 함유하는 *N*-[2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸]설포아미드(2.4mol)의 조 혼합물에 THF(5L)를 첨가했다. 수득한 용액을 빙욕으로 0℃로 냉각하고, 2N NaOH(4L)를, 온도가 10℃를 초과하지 않을 정도로 첨가했다. 실온에서 3시간 동안 교반한 후 (LCMS는 개시 물질이 남아있지 않다는 것을 나타내었다), pH를 농축 HCl(~500mL)로 3 내지 4로 조정했다. THF를 진공에서 제거하고, 수득한 혼합물을 에틸 아세테이트(15L)로 추출했다. 유기 층을 물(5L)과 염수(5L)로 세정하고, 용매를 진공에서 제거하여 고형물을 제공했다. 고형물을 MTBE(2×2L)로 분쇄하고, 동일한 크기의 3개의 다른 반응물과 합하고, 대류 오븐에서 밤새 건조시켜 백색 고형물(3535g)을 제공했다. 고형물을 재결정화하고(3×22L 플라스크, 2:1 물:에탄올, 14.1L 각각 플라스크), 50℃ 대류 오븐에서 일정 중량으로 건조시켜 표제 화합물을 회백색 고형물(3290g, 78%)로서 제공했다.  $C_{11}H_{14}BrFN_7O_4S$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 437.9, 439.9.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

[0257]

최종 생성물은 무수 결정질 고형물이었다. 수분 함량은 칼 피셔 적정(Karl Fischer titration)으로 0.1% 미만인 것으로 측정되었다. X-선 분말 회절(XRPD) 패턴이 측정되었고(Rigaku MiniFlex 분말 회절기;  $K\beta$  필터에 의한 1.054056 Å에서의 Cu; 개시 각도 = 3, 정지 각도 = 45, 샘플링 = 0.02, 스캔 속도 = 2), 도 1에 나타나 있다. 2- $\theta$  피크의 목록은 하기의 표 1에 제공된다. 고형물의 용융 범위는 Mettler Toledo 시차주사열량계(DSC) 822 기기 상에서 측정되었다. 샘플은 1분당 10℃의 가열 속도로 40℃로부터 240℃로 가열되었다. DSC 열분해도(도 2)는 162.7℃에서  $T_{개시}$  및 163.8℃에서  $T_{피크}$ 를 보여주었다. 열중량 분석(TGA)(도 3)는 TA Instrument Q500를 사용하여 10℃/min의 가열 속도로 20℃로부터 150℃로 가열하여, 0.3%의 중량 손실을 보여주었다.

표 1

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

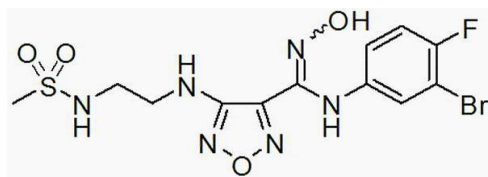
[0258]

[0259]

실시예 2

[0260]

*N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-((2-[(메틸설포닐)아미노]에틸)아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드



[0261]

[0262]

표제 화합물을, *N'*-히드록시-4-((2-[(메틸설포닐)아미노]에틸)아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드 및 3-브로모-4-플루오로아닐린[Oakwood 제품, Inc., 제품 번호 013091]을 개시 물질로서 사용하여 **실시예 17** 단계 E의 절차에 따라 제조했다.  $C_{12}H_{15}BrFN_4O_4S$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 437.0, 439.0.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

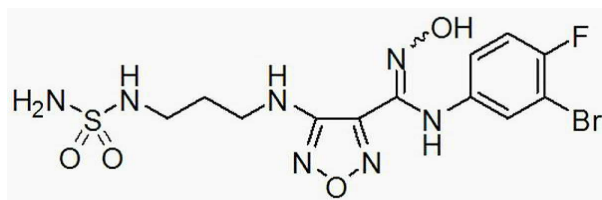
[0263]

실시예 3

[0264]

4-((3-[(아미노설포닐)아미노]프로필)아미노)-*N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드

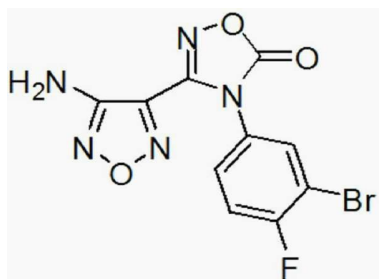




[0265]

[0266]

단계 A: 3-(4-아미노-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



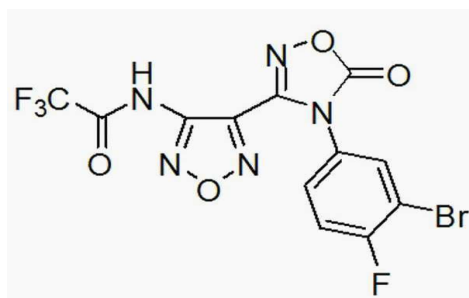
[0267]

[0268]

목적 화합물을, 4-아미노-N-(3-브로모-4-플루오로페닐)-N'-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드 [참조 미국 특허출원 공개 제2006/0258719호]를 개시 물질로서 사용하여 **실시예 5**, **단계 A**의 절차에 따라 98% 수율로 제조했다.  $C_{10}H_6BrFN_3O_3$  (M<sup>+</sup>)에 대한 LCMS: m/z = 342.0, 344.0.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

[0269]

단계 B: N-{4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-2,2,2-트리플루오로아세트아미드



[0270]

[0271]

목적 화합물을, 3-(4-아미노-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 을 개시 물질로서 사용하여 **실시예 5**, **단계 B**의 절차에 따라 81% 수율로 제조했다.  $C_{12}H_5BrF_4N_5O_4$  (M<sup>+</sup>)에 대한 LCMS: m/z = 437.9, 439.9.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7.92-7.89 (m, 1H), 7.54-7.52 (m, 2H).

[0272]

단계 C: 4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-{4-[(3-메톡시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



[0273]

[0274]

테트라히드로푸란(93mL) 중의 3-메톡시프로판-1-올[Fluka 제품 번호 38457](3.1mL, 32mmol) 및 트리페닐포스핀

(8.4g, 32mmol)의 용액을 0℃에서 디이소프로필 아조디카르복실레이트(6.7mL, 34mmol)로 적하하여 처리했다. 반응 혼합물을 0℃에서 15분 동안 교반하고, 테트라히드로푸란(47mL) 중의 *N*-{4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-2,2,2-트리플루오로아세트아미드(10g, 23mmol)의 용액으로 처리하고, 25℃에서 72시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 농축하고 에틸 아세테이트로 희석하고(200mL), 트리플루오로아세트산(20mL) 및 물(20mL)로 처리하고, 50℃에서 6시간 동안 가열했다. 반응 혼합물을 농축하고 에틸 아세테이트(200mL)로 희석하고, 물(3×80mL), 포화 중탄산나트륨(2×80mL) 및 염수(80mL)로 세정하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 조 잔류물을 제공했다. 이 물질을 실리카겔 상에서 정제하여 목적 생성물(6.4g, 54%)을 백색 고형물로서 제공했다.  $C_{14}H_{14}BrFN_5O_4$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 414.0, 416.0.

[0275]

단계 D: 4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-{4-[(3-히드록시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



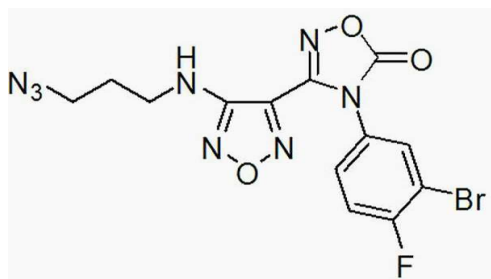
[0276]

[0277]

디클로로메탄(60mL) 중의 4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-{4-[(3-메톡시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(6.3g, 14mmol)의 용액을 -78℃에서 디클로로메탄(28mL, 28mmol) 중의 1M 삼브롬화붕소로 처리하고, 25℃에서 2시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각하고, 포화 중탄산나트륨(100mL)으로 급랭시키고, 수성 층을 분리하고, 디클로로메탄(2×150mL)으로 추출했다. 합한 유기 층을 염수(100mL)로 세정하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 조 회백색 고형물을 제공했다. 이 물질을 실리카겔 상에서 정제하여 목적 생성물(4.0g, 73%)을 백색 고형물로서 제공했다.  $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 400.0, 402.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

[0278]

단계 E: 3-{4-[(3-아지도프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



[0279]

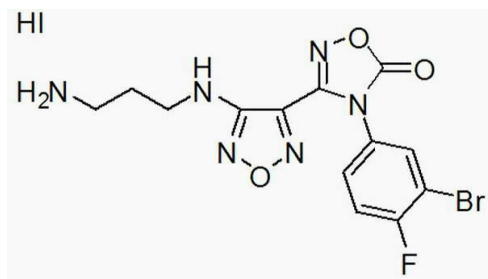
[0280]

디클로로메탄(27mL) 중의 4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-{4-[(3-히드록시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(3.0g, 7.5mmol)의 용액을 메탄설포닐 클로라이드(0.75mL, 9.7mmol) 및 *N,N*-디이소프로필에틸아민(2.6mL, 15mmol)으로 처리하고, 25℃에서 2시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 물(20mL)로 희석하고, 디클로로메탄(20mL)으로 추출했다. 유기 층을 분리하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 메실레이트를 얻고, 이를 추가 정제없이 사용했다. *N,N*-디메틸포름아미드(24mL) 중의 조 메실레이트의 용액을 아지드화나트륨(0.73g, 11mmol)으로 처리하고, 85℃에서 2시간 동안 가열했다. 반응 혼합물을

에틸 아세테이트(300mL)로 희석하고, 물(100mL), 포화 중탄산나트륨(100mL) 및 염수(100mL)로 세정하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 목적 생성물(3.2g, 99%)을 제공했다. 이 물질을 추가 정제없이 사용했다.  $C_{13}H_{10}BrFN_6O_3Na$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 446.9, 448.9.

[0281]

단계 F: 3-{4-[(3-아미노프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로요오다이드



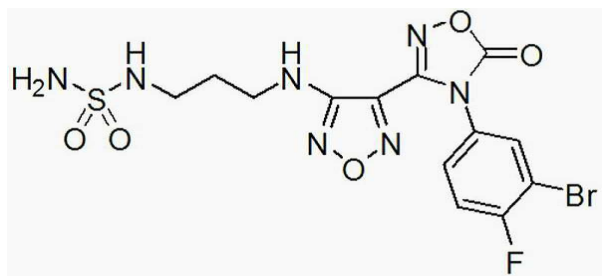
[0282]

[0283]

메탄올(36mL) 중의 3-{4-[(3-아지도프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(2.0g, 4.7mmol)의 용액을 요오드화나트륨(4.2g, 28mmol)로 처리하고, 25℃에서 5분 동안 교반했다. 반응 혼합물을 메탄올(7mL) 중의 클로로트리메틸실란(3.6mL, 28mmol)의 용액으로 적하 처리하고, 25℃에서 40분 동안 교반했다. 반응 혼합물을 0℃에서 냉각된 물(200mL) 중의 티오황산나트륨(5.0g, 32mmol)의 용액에 천천히 부었다. 침전된 고형물을 여과하고, 물로 세정하고 건조시켜 목적 생성물(2.3g, 93%)을 고형물로서 제공했다.  $C_{13}H_{13}BrFN_6O_3$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 399.0, 401.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8.08 (dd,  $J$  = 6.1, 2.3Hz, 1H), 7.74-7.70 (m, 1H), 7.60 (dd,  $J$  = 8.8, 8.6Hz, 1H), 7.22 (br s, 2H), 6.69 (br s, 1H), 2.81-2.77 (m, 2H), 1.86-1.79 (m, 2H).

[0284]

단계 G: *N*-[3-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)프로필]설파미드



[0285]

[0286]

피리딘(2.5mL) 중의 3-{4-[(3-아미노프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로요오다이드(150mg, 0.28mmol) 및 설파미드(160mg, 1.7mmol)의 용액을 130℃에서 10분 동안 마이크로파로 가열했다. 반응 혼합물을 농축하여 조 잔류물을 제공했다. 이 물질을 제조용 LCMS로 정제하여 목적 생성물(96mg, 71%)을 고형물로서 제공했다.  $C_{13}H_{14}BrFN_7O_5S$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 478.0, 480.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8.07 (dd,  $J$  = 6.2, 2.5Hz, 1H), 7.73-7.69 (m, 1H), 7.59 (dd,  $J$  = 8.8, 8.6Hz, 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).

[0287]

단계 H: 4-({3-[(아미노설포닐)아미노]프로필}아미노)-*N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드

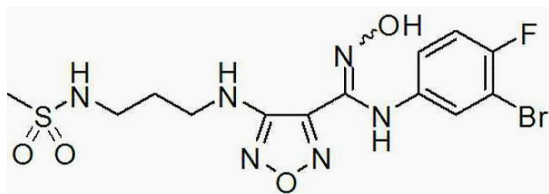
[0288]

메탄올(1mL) 중의 *N*-[3-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)프로필]설파미드(35mg, 73 μmol)의 용액을 2M NaOH(0.3mL, 0.6mmol)로

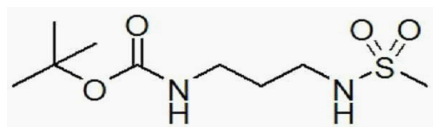
처리하고, 25℃에서 30분 동안 교반했다. 반응 혼합물을 아세트산(50  $\mu$ L, 0.9mmol)으로 처리하고, 여과하고, 제조용 LCMS로 정제하여 목적 생성물(14mg, 42%)을 고형물로서 제공했다.  $C_{12}H_{16}BrFN_7O_4S$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 451.8, 453.9.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11.5 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 7.17 (dd,  $J$  = 8.8, 8.6Hz, 1H), 7.09 (dd,  $J$  = 6.1, 2.7Hz, 1H), 6.76-6.72 (m, 1H), 6.56 (dd,  $J$  = 6.1, 6.1Hz, 1H), 6.51 (s, 2H), 6.17 (dd,  $J$  = 5.9, 5.9Hz, 1H), 3.27-3.21 (m, 2H), 2.94-2.88 (m, 2H), 1.78-1.71 (m, 2H).

#### [0289] 실시예 4

[0290] *N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-({3-[(메틸설포닐)아미노]프로필}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드

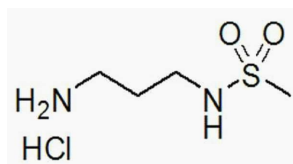


[0292] 단계 A: *tert*-부틸 {3-[(메틸설포닐)아미노]프로필}카바메이트



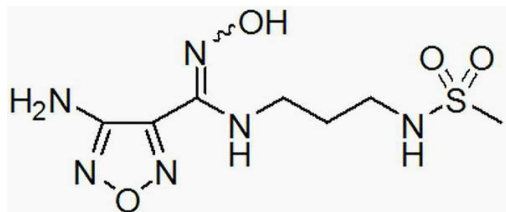
[0294] 목적 화합물을, *N*-(3-아미노프로필)(*tert*-부톡시)카르복사미드[Aldrich 제품 번호 436992]를 개시 물질로서 사용하여 실시예 17, 단계 A의 절차에 따라 70% 수율로 제조했다.  $C_4H_{13}N_2O_2S$  ( $[M-Boc+H]+H$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 153.1.

[0295] 단계 B: *N*-(3-아미노프로필)메탄설포나미드 히드로클로라이드



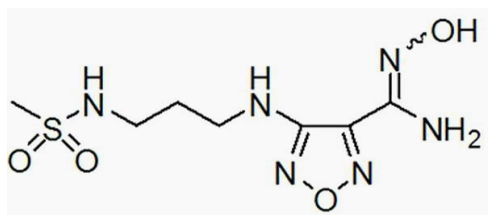
[0297] 목적 화합물을, *tert*-부틸 {3-[(메틸설포닐)아미노]프로필}카바메이트를 개시 물질로서 사용하여 실시예 17, 단계 B의 절차에 따라.  $C_4H_{13}N_2O_2S$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 153.1.

[0298] 단계 C: 4-아미노-*N'*-히드록시-*N*-(3-[(메틸설포닐)아미노]프로필)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드



[0300] 목적 화합물을, *N*-(3-아미노프로필)메탄설포나미드 히드로클로라이드 및 4-아미노-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미도일 클로라이드 [실시예 1, 단계 A 및 B에 따라 제조]를 개시 물질로서 사용하여 실시예 17, 단계 C의 절차에 따라 19% 수율로 제조했다.

[0301] 단계 D: *N'*-히드록시-4-({3-[(메틸설포닐)아미노]프로필}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드



[0302]

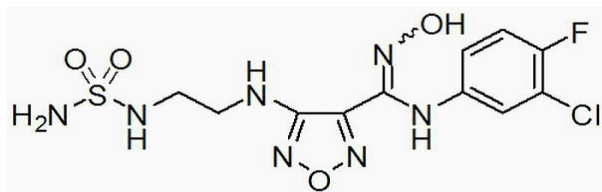
[0303] 목적 화합물을, 4-아미노-*N'*-히드록시-*N*-(3-[(메틸설포닐)아미노]프로필)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드를 개시 물질로서 사용하여 실시예 17, 단계 D의 절차에 따라 제조했다.  $C_7H_{15}N_6O_4S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 279.0.

[0304] 단계 E: *N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-({3-[(메틸설포닐)아미노]프로필}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드

[0305] 표제 화합물을, *N'*-히드록시-4-({3-[(메틸설포닐)아미노]프로필}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드 및 3-브로모-4-플루오로아닐린[Oakwood 제품, Inc., 제품 번호 013091]을 개시 물질로서 사용하여 실시예 17, 단계 E의 절차에 따라 12% 수율로 제조했다.  $C_{13}H_{17}BrFN_6O_4S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 451.0, 453.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): 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).

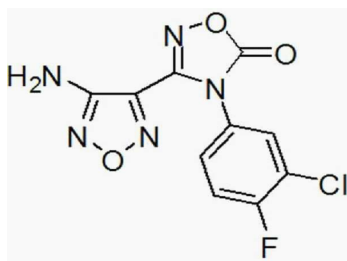
[0306] 실시예 5

[0307] 4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N*-(3-클로로-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드



[0308]

[0309] 단계 A: 3-(4-아미노-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온



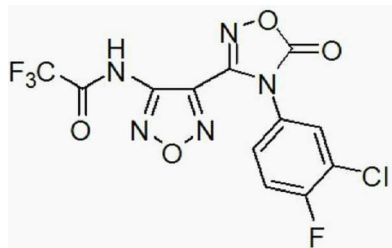
[0310]

[0311] 테트라히드로푸란(500mL) 중의 4-아미노-*N*-(3-클로로-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드(80g, 0.29mol)[참조 미국 특허출원 공개 No. 2006/0258719]의 용액을 테트라히드로푸란(200mL) 중의 1,1'-카르보닐디이미다졸(53g, 0.32mol)의 용액으로 처리하고, 1시간 동안 가열 환류했다. 반응 혼합물을 25℃로 냉각하고, 다량의 고형물이 침전하는 시점으로 농축했다. 불균일 혼합물을 에틸 아세테이트(1.5L)로 희석하고, 1N HCl(2×300mL), 물(300mL) 및 염수(200mL)로 세정했다. 유기 층을 분리하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 목적 생성물(88g, 정량적)을 회백색 고형물로서 제공했다. 이 물질을 추가

정제없이 사용했다.  $C_{10}H_6ClFN_5O_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 298.0.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.96 (dd,  $J$  = 6.6, 2.3Hz, 1H), 7.69-7.60 (m, 2H), 6.60 (s, 2H).

[0312]

단계 B: *N*-{4-[4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-2,2,2-트리플루오로아세트아미드



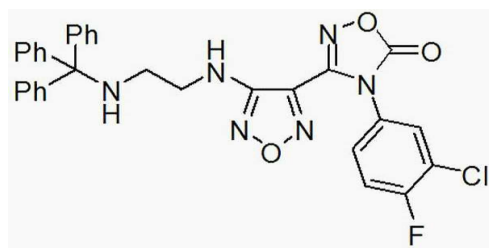
[0313]

[0314]

디클로로메탄(120mL) 중의 3-(4-아미노-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온(15g, 50mmol)의 용액을 트리플루오로아세트산 무수물(14mL, 100mmol)로 처리하고, 0℃로 냉각하고, 피리딘(8.2mL, 100mmol)으로 처리했다. 반응 혼합물을 25℃에서 10분 동안 교반하고, 0℃로 냉각하고, 물(10mL)로 급랭시켰다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트(500mL)로 희석하고, 1N HCl(300mL), 물(2×200mL) 및 염수(200mL)로 세정했다. 유기 층을 분리하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, ~50mL 용적으로 용적으로 농축했다. 이 용액을 가온하고(약 40 내지 50℃), 격렬한 교반하에 헥산(600mL)으로 처리한 다음 석유 에테르(200mL)로 처리했다. 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반하고, 고형물을 여과로 수집하고, 헥산으로 세정하고 건조시켜 목적 생성물(19.7g, 99%)을 백색 고형물로서 제공했다.  $C_{12}H_5ClF_4N_5O_4$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 394.0.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.82 (dd,  $J$  = 6.6, 2.5Hz, 1H), 7.59 (dd,  $J$  = 9.0, 9.0Hz, 1H), 7.52-7.47 (m, 1H).

[0315]

단계 C: 4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-3-(4-{[2-(트리틸아미노)에틸]아미노}-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온



[0316]

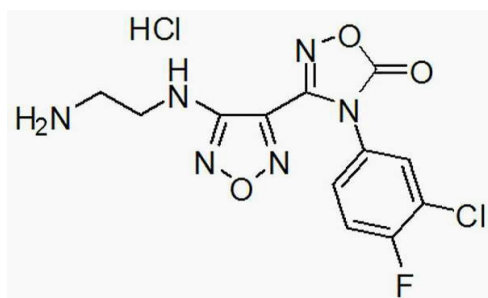
[0317]

테트라히드로푸란(65mL) 중의 2-(트리틸아미노)에탄올(10g, 33mmol) [EP599220; and *J. Org. Chem.*(2001), 66, 7615] 및 트리페닐포스핀(8.7g, 33mmol)의 용액을 0℃에서 디이소프로필 아조디카복실레이트(7.0mL, 35mmol)로 적하 처리했다. 반응 혼합물을 0℃에서 15분 동안 교반하고, 테트라히드로푸란(28mL) 중의 *N*-{4-[4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-2,2,2-트리플루오로아세트아미드(9.3g, 24mmol)의 용액으로 처리하고, 25℃에서 16시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 농축하고 에틸 아세테이트(350mL)로 희석하고, 0℃로 냉각하고, 1N HCl(200mL)로 처리하고, 25℃에서 1시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 추가 1N HCl(150mL)로 처리하고, 25℃에서 3시간 동안 교반했다. 유기 층을 분리하고, 포화 중탄산나트륨(200mL) 및 염수(100mL)로 세정하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 황색 발포체(foam)를 얻고, 이를 헥산으로부터 재농축하여 오일성 고형물을 제공했다. 오일성 고형물을 메틸 *tert*-부틸 에테르(50mL)로 처리하고, 교반하여 불균일 혼합물을 제공했다. 고형물을 여과하고, 메틸 *tert*-부틸 에테르(30mL)로 세정하고, 건조시켜 목적 생성물(10g, 74%)을 백색 고형물로서 제공했다.  $C_{31}H_{24}ClFN_6O_3Na$  (M+Na)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 605.2.  $^1H$  NMR (300MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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,  $J = 5.9, 5.6\text{Hz}$ , 1H), 3.37-3.31 (m, 2H), 2.96 (dd,  $J = 7.6, 7.6\text{Hz}$ , 1H), 2.27-2.19 (m, 2H).

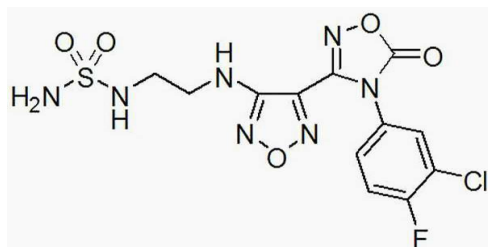
[0318] 단계 D: 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로클로라이드



[0319]

[0320] 트라이소프로필실란(3.4mL, 17mmol) 및 트리플루오로아세트산(44mL, 570mmol)의 미리 혼합된 용액을 4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-3-{4-[(2-(트리틸아미노)에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 (6.5g, 11mmol)에 첨가하고, 수득한 현탁액을 25℃에서 30분 동안 교반했다. 반응 혼합물을 여과하고, 트리플루오로아세트산으로 세정했다. 여과물을 농축하여 오일을 얻고, 이를 메탄올(25mL)로 희석하고, 0℃로 냉각하고, 1,4-디옥산(14mL) 중의 4M HCl로 처리하고, 25℃에서 15분 동안 교반했다. 혼합물을 농축하여 고형물을 얻고, 이를 디에틸 에테르(50mL)로 처리하고, 여과했다. 고형물을 디에틸 에테르(50mL)로 처리하고, 건조시켜 목적 생성물(4.1g, 98%)을 백색 고형물로서 제공했다.  $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{ClFN}_6\text{O}_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 341.1$ .  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.05-8.00 (m, 4H), 7.75-7.69 (m, 1H), 7.64 (dd,  $J = 9.1, 8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.77 (dd,  $J = 5.9, 5.9\text{Hz}$ , 1H), 3.54-3.47 (m, 2H), 3.04-2.99 (m, 2H).

[0321] 단계 E: *N*-[2-({4-[(3-클로로-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸]설퍼마이드



[0322]

[0323] 디클로로메탄(70mL) 중의 클로로설포닐 이소시아네이트(2.0mL, 23mmol)의 용액을 *t*-부틸 알콜(2.2mL, 23mmol)로 0℃에서 처리하고, 25℃에서 1시간 동안 교반했다. 이 혼합물을 디클로로메탄(70mL) 중의 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로클로라이드(4.3g, 11mmol)의 현탁액에 첨가했다. 반응 혼합물을 디클로로메탄(20mL) 중의 트리에틸아민(6.3mL, 45mmol)의 용액으로 0℃에서 처리하고, 25℃에서 3시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 0.1N HCl로 희석하고, 에틸 아세테이트(2×100mL)로 추출했다. 합한 유기 층을 염수(100mL)로 세정하고, 무수 황산 나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 백색 고형물을 제공했다. 백색 고형물을 디클로로메탄(100mL)로 희석하고, 트리플루오로아세트산(20mL)으로 처리하고, 25℃에서 3시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 농축하여 조 잔류물을 얻고, 이를 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 목적 생성물(3.7g, 78%)을 백색 고형물로서 제공했다.  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{ClFN}_7\text{O}_5\text{S}$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 420.0$ .  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.98 (dd,  $J = 6.4, 2.1\text{Hz}$ , 1H), 7.70-7.60 (m, 2H), 6.66 (t,  $J = 5.9\text{Hz}$ , 1H), 6.57 (s, 2H), 6.52 (t,  $J = 5.9\text{Hz}$ , 1H), 3.42-3.35 (m, 2H), 3.13-3.06 (m, 2H).

[0324] 단계 F: 4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N'*-(3-클로로-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아

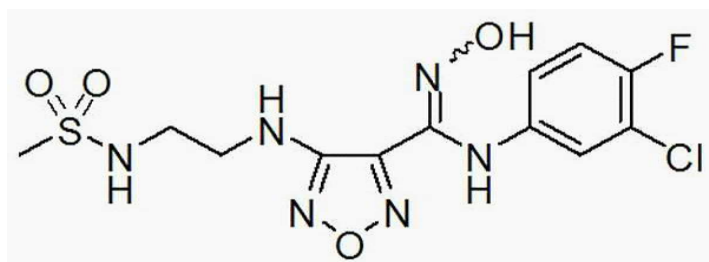
줄-3-카르복스이미드아미드

[0325] 메탄올(70mL) 중의 *N*-[2-({4-[4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸]설파미드(3.7g, 8.8mmol)의 용액을 2M NaOH(18mL, 35mmol)로 처리하고, 25℃에서 2시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 6N HCl로 급랭시켜 pH ~7로 만들고, 메탄올을 감압하에 제거했다. 침전된 고형물을 여과하고, 물로 세정하여 목적 생성물(3.2g, 92%)을 백색 고형물로서 제공했다.  $C_{11}H_{14}ClFN_7O_4S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 394.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.96 (dd, *J* = 6.8, 2.1Hz, 0.05H), 7.32-7.29 (m, 0.1H), 7.18 (dd, *J* = 9.1, 9.1Hz, 0.95H), 6.93 (dd, *J* = 6.4, 2.7Hz, 0.95H), 6.71-6.66 (m, 0.95H), 6.33 (br s, 1H), 3.35-3.27 (m, 2H), 3.10-3.06 (m, 2H).

[0326]

[0327] 실시예 6

[0328] *N*-(3-클로로-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드

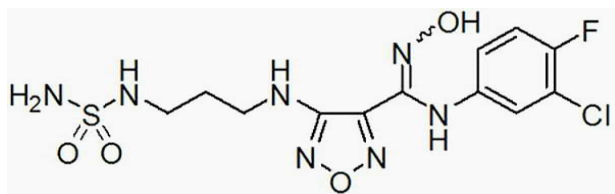


[0329]

[0330] 표제 화합물을, *N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드 및 3-클로로-4-플루오로아닐린[Aldrich, 제품 번호 228583]을 개시 물질로서 사용하여 실시예 17 단계 E의 절차에 따라 제조했다.  $C_{12}H_{15}ClFN_6O_4S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 393.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11.50 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 7.19 (m, 2H), 6.96 (dd, *J* = 6.7, 2.5Hz, 1시간), 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).

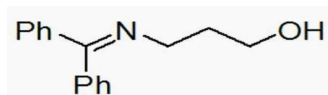
[0331] 실시예 7

[0332] 4-({3-[(아미노설포닐)아미노]프로필}아미노)-*N*-(3-클로로-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드



[0333]

[0334] 단계 A: 3-[(디페닐메틸렌)아미노]프로판-1-올

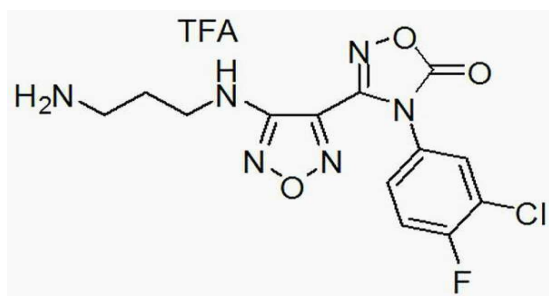


[0335]

[0336] 디클로로메탄(79mL) 중의 3-아미노-1-프로판올[Aldrich 제품 번호 A76400](2.0mL, 26mmol)의 용액을 벤조페논 이민(4.4mL, 26mmol)으로 처리하고, 25℃에서 16시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 여과하고, 여과물을 농축하여 목적 생성물(6.3g, 정량적)을 오일로서 제공했다. 이 물질을 추가 정제없이 사용했다.  $C_{16}H_{18}NO$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 240.2.



[0337] 단계 B: 3-{4-[(3-아미노프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온 트리플루오로아세트이트



[0338]

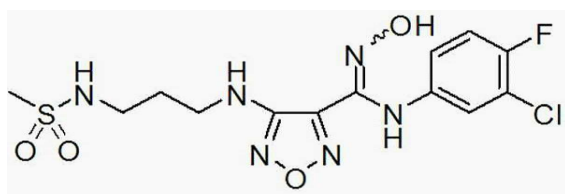
[0339] 테트라히드로푸란(1mL) 중의 3-[(디페닐메틸렌)아미노]프로판-1-올(80mg, 0.33mmol) 및 트리페닐포스핀(93mg, 0.36mmol)의 용액을 0℃에서 디이소프로필 아조디카르복실레이트(75μL, 0.38mmol)로 적하 처리했다. 반응 혼합물을 0℃에서 15분 동안 교반하고, 테트라히드로푸란(0.5mL) 중의 *N*-{4-[4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-2,2,2-트리플루오로아세트아미드(100mg, 0.25mmol)의 용액으로 처리하고, 25℃에서 16시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 트리플루오로아세트산(1mL)으로 처리하고, 25℃에서 3시간 동안 교반하고, 농축하여 조 잔류물을 제공했다. 이 물질을 제조용 LCMS로 정제하여 목적 생성물(18mg, 15%)을 제공했다.  $C_{13}H_{13}ClFN_6O_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 355.1

[0340] 단계 C: 4-({3-[(아미노설포닐)아미노]프로필}아미노)-*N*-(3-클로로-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드

[0341] 목적 화합물을, 3-{4-[(3-아미노프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-클로로-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온 트리플루오로아세트이트를 개시 물질로서 사용하여 **실시예 15**, **단계 G**의 절차에 따라 34% 수율로 제조했다.  $C_{12}H_{16}ClFN_7O_4S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 408.1. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

[0342] 실시예 8

[0343] *N*-(3-클로로-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-({3-[(메틸설포닐)아미노]프로필}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드



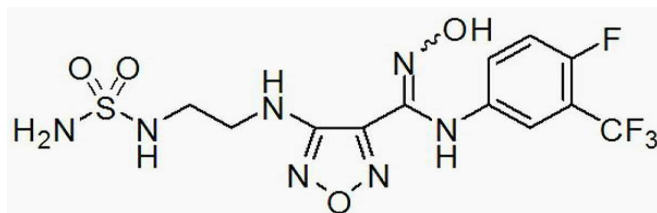
[0344]

[0345] 표제 화합물을, *N'*-히드록시-4-({3-[(메틸설포닐)아미노]프로필}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드 [**실시예 4**, **단계 A 내지 D**에 따라 제조] 및 3-클로로-4-플루오로아닐린[Aldrich, 제품 번호 228583]를 개시 물질로서 사용하여 **실시예 4**, **단계 E**의 절차에 따라 10% 수율로 제조했다.  $C_{13}H_{17}ClFN_6O_4S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 407.1 <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): 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).

[0346] 실시예 9

[0347] 4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N*-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사

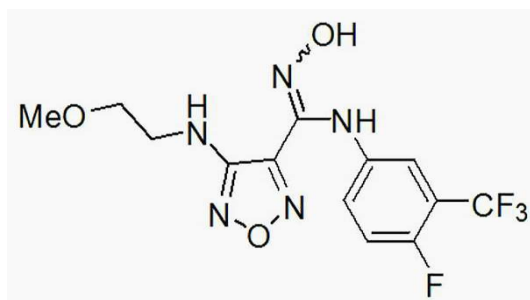
디아졸-3-카르복스이미드아미드



[0348]

[0349]

단계 A: *N*-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-*N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드



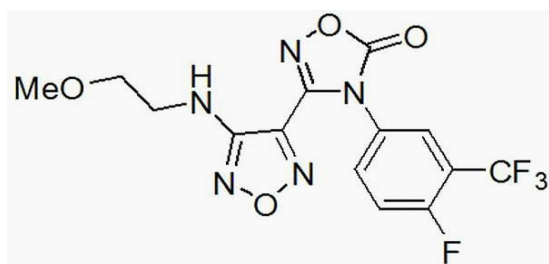
[0350]

[0351]

목적 화합물을, *N*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미도일 클로라이드 [실시예 1, 단계 A 내지 E에 따라 제조] 및 3-트리플루오로메틸-4-플루오로아닐린[Aldrich, 제품 번호 217778]를 개시 물질로서 사용하여 실시예 13, 단계 A의 절차에 따라 정량 수율로 제조했다.  $C_{13}H_{14}F_4N_5O_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 364.0$ .  $^1H$  NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  7.15 (m, 2H), 7.08 (m, 1H), 3.60 (t,  $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.46 (t,  $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.38 (s, 3H).

[0352]

단계 B: 4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



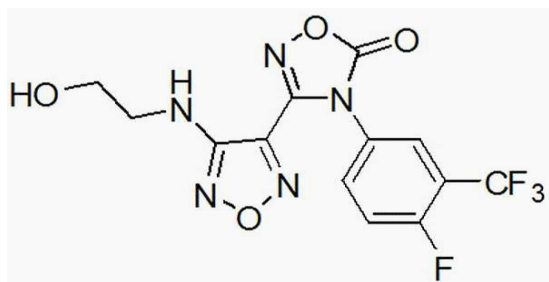
[0353]

[0354]

목적 화합물을, *N*-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-*N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드를 개시 물질로서 사용하여 실시예 13, 단계 B의 절차에 따라 79% 수율로 제조했다.  $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 390.0$ .  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  8.20 (dd,  $J = 6.3$ , 2.4Hz, 1H), 8.03 (m, 1H), 7.76 (t,  $J = 9.5$ Hz, 1H), 6.41 (t,  $J = 5.7$ Hz, 1H), 3.49 (t,  $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.39 (q,  $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.25 (s, 3H).

[0355]

단계 C: 4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



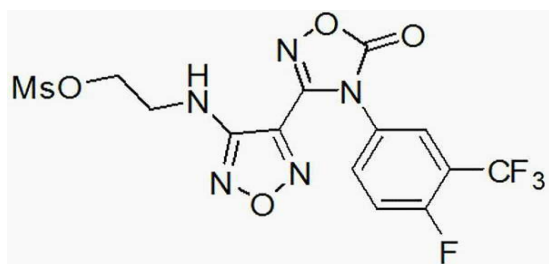
[0356]

[0357]

목적 화합물을, 4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온을 개시 물질로서 사용하여 **실시예 13, 단계 C**의 절차에 따라 99% 수율로 제조했다.  $C_{13}H_{10}F_4N_5O_4$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 376.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

[0358]

단계 D: 2-[(4-{4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일}-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아미노]에틸 메탄설포네이트



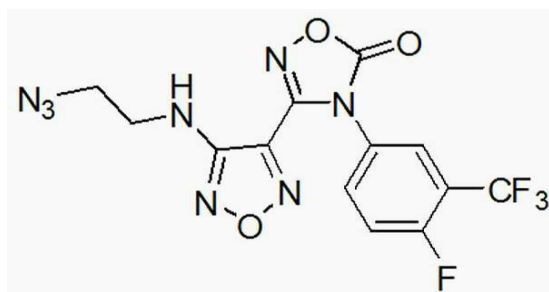
[0359]

[0360]

목적 화합물을, 4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온을 개시 물질로서 사용하여 **실시예 13, 단계 D**의 절차에 따라 95% 수율로 제조했다.  $C_{14}H_{12}F_4N_5O_6S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 454.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

[0361]

단계 E: 3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



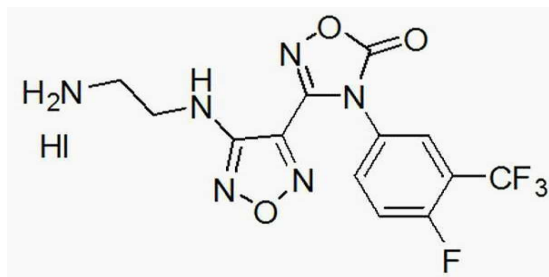
[0362]

[0363]

목적 화합물을, 2-[(4-{4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일}-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아미노]에틸 메탄설포네이트를 개시 물질로서 사용하여 **실시예 13, 단계 E**의 절차에 따라 100% 수율로 제조했다.  $C_{13}H_9F_4N_6O_3(N_2+H)^+$ 에 대한 LCMS: m/z = 372.8. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.22 (dd, J = 6.2, 2.4Hz, 1H), 8.05 (m, 1H), 7.76 (t, J = 9.6Hz, 1H), 6.75 (t, J = 5.9Hz, 1H), 3.53

(t,  $J = 5.9\text{Hz}$ , 2H), 3.45 (q,  $J = 5.6\text{Hz}$ , 2H).

[0364] 단계 F: 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로요오다이드



[0365]

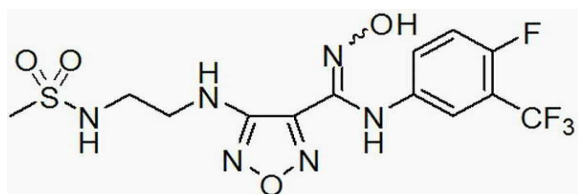
[0366] 목적 화합물을, 3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온을 개시 물질로서 사용하여 **실시예 13**, 단계 F의 절차에 따라 80% 수율로 제조했다.  $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{F}_4\text{N}_6\text{O}_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 375.0$ .  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.20 (dd,  $J = 6.2$ , 2.4Hz, 1H), 8.03 (m, 1H), 7.74 (t,  $J = 9.8\text{Hz}$ , 1H), 7.10 (br s, 0.4H), 6.68 (t,  $J = 5.5\text{Hz}$ , 1H), 3.42 (q,  $J = 5.8\text{Hz}$ , 2H), 2.95 (t,  $J = 6.5\text{Hz}$ , 2H).

[0367] 단계 G: 4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-N-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-N'-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드

[0368] 표제 화합물을, 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로요오다이드를 개시 물질로서 사용하여 **실시예 13**, 단계 G의 절차에 따라 55% 수율로 제조했다.  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{F}_4\text{N}_7\text{O}_4\text{S}$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 428.0$ .  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11.60 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 7.30 (t,  $J = 10.1\text{Hz}$ , 1H), 7.14 (dd,  $J = 6.1$ , 2.7Hz, 1H), 7.03 (m, 1H), 6.71 (t,  $J = 5.3\text{Hz}$ , 1H), 6.58 (s, 2H), 6.23 (t,  $J = 6.2\text{Hz}$ , 1H), 3.36 (q,  $J = 6.5\text{Hz}$ , 2H), 3.08 (m, 2H).

[0369] 실시예 10

[0370] N-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-N'-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드

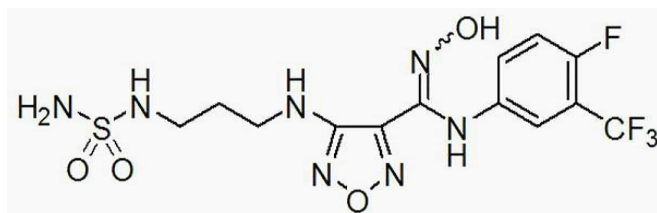


[0371]

[0372] 표제 화합물을, N'-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드 및 3-트리플루오로메틸-4-플루오로아닐린[Aldrich, 제품 번호 217778]를 개시 물질로서 사용하여 **실시예 17** 단계 E의 절차에 따라 제조했다.  $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{F}_4\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 427.0$ .  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11.60 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 7.30 (t,  $J = 10.1\text{Hz}$ , 1H), 7.18 (t,  $J = 6.0\text{Hz}$ , 1H), 7.13 (dd,  $J = 6.0$ , 2.7Hz, 1H), 7.03 (m, 1H), 6.27 (t,  $J = 6.3\text{Hz}$ , 1H), 3.32 (m, 2H), 3.13 (q,  $J = 6.0\text{Hz}$ , 2H), 2.89 (s, 3H).

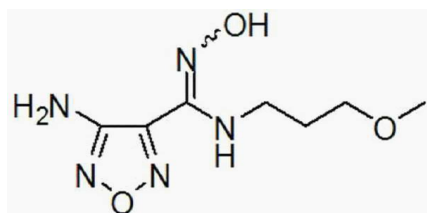
[0373] 실시예 11

[0374] 4-({3-[(아미노설포닐)아미노]프로필}아미노)-*N*-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드



[0375]

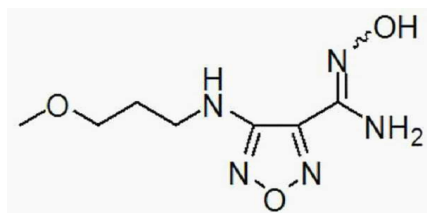
[0376] 단계 A: 4-아미노-*N'*-히드록시-*N*-(3-메톡시프로필)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드



[0377]

[0378] 목적 화합물을, 3-메톡시-1-프로판아민을 개시 물질로서 사용하여 실시예 1, 단계 C의 절차에 따라 93% 수율로 제조했다.  $C_7H_{14}N_5O_3$  (M<sup>+</sup>)에 대한 LCMS: m/z = 216.1.

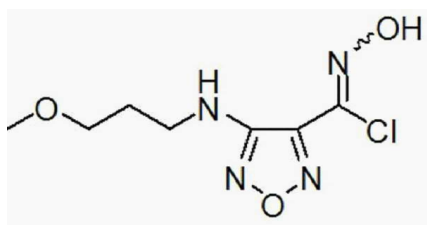
[0379] 단계 B: *N'*-히드록시-4-[(3-메톡시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드



[0380]

[0381] 목적 화합물을, 4-아미노-*N'*-히드록시-*N*-(3-메톡시프로필)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드를 개시 물질로서 사용하여 실시예 1, 단계 D의 절차에 따라 72% 수율로 제조했다.  $C_7H_{14}N_5O_3$  (M<sup>+</sup>)에 대한 LCMS: m/z = 216.1.  $^1H$  NMR (300MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

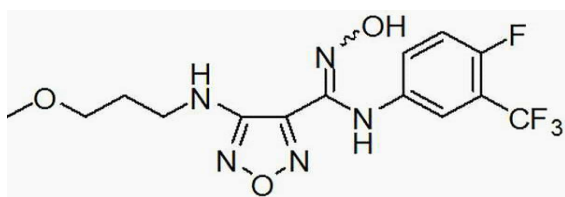
[0382] 단계 C: *N*-히드록시-4-[(3-메톡시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미도일 클로라이드



[0383]

[0384] 목적 화합물을, *N'*-히드록시-4-[(3-메톡시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드를 개시 물질로서 사용하여 실시예 1, 단계 E의 절차에 따라 정량 수율로 제조했다.  $C_7H_{12}ClN_4O_3$  (M<sup>+</sup>)에 대한 LCMS: m/z = 235.1.

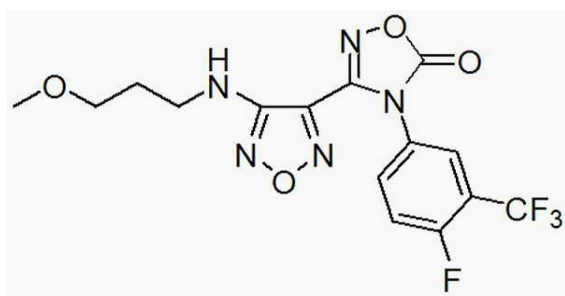
[0385] 단계 D: *N*-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-*N'*-히드록시-4-[(3-메톡시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드



[0386]

[0387] 목적 화합물을, *N*-히드록시-4-[(3-메톡시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미도일 클로라이드 및 4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)벤젠아민을 개시 물질로서 사용하여 **실시예 1**, **단계 F**의 절차에 따라 87% 수율로 제조했다.  $C_{14}H_{16}F_4N_5O_3$  (MH)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 378.1$ .  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11.5 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 7.30 (dd,  $J = 10.0, 9.6$ Hz, 1H), 7.13-7.11 (m, 1H), 7.05-7.00 (m, 1H), 6.22 (t,  $J = 5.7$ Hz, 1H), 3.35-3.32 (m, 2H), 3.25-3.19 (m, 5H), 1.79-1.72 (m, 2H).

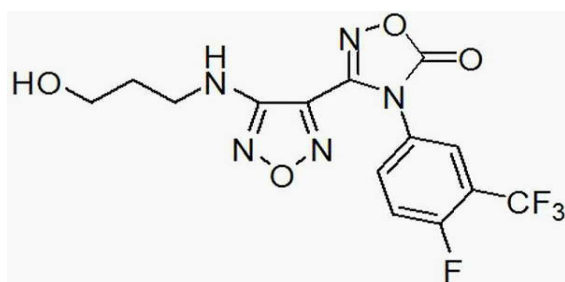
[0388] 단계 E: 4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-3-{4-[(3-메톡시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온



[0389]

[0390] 목적 화합물을, *N*-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-*N'*-히드록시-4-[(3-메톡시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드를 개시 물질로서 사용하여 **실시예 1**, **단계 G**의 절차에 따라 정량 수율로 제조했다.  $C_{15}H_{14}F_4N_5O_4$  (MH)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 404.0$ .

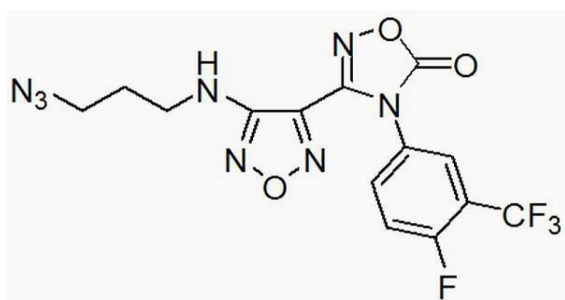
[0391] 단계 F: 4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-3-{4-[(3-히드록시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온



[0392]

[0393] 목적 화합물을, 4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-3-{4-[(3-메톡시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온을 개시 물질로서 사용하여 **실시예 3**, **단계 D**의 절차에 따라 97% 수율로 제조했다.  $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4$  (MH)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 390.0$ .  $^1H$  NMR (300MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.20 (dd,  $J = 6.4, 2.6$ Hz, 1H), 8.06-8.01 (m, 1H), 7.75 (dd,  $J = 10.0, 9.4$ Hz, 1H), 6.53 (t,  $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.59 (t,  $J = 5.0$ Hz, 1H), 3.51-3.42 (m, 2H), 3.32-3.26 (m, 2H), 1.73-1.68 (m, 2H).

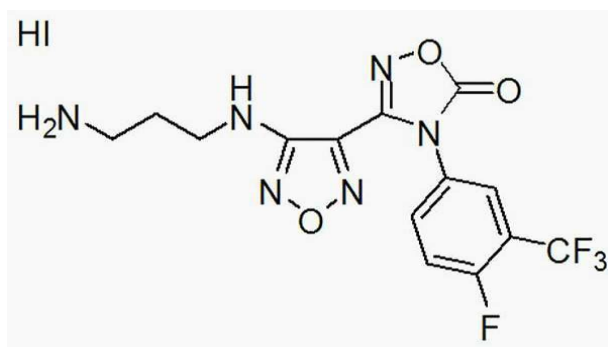
[0394] 단계 G: 3-{4-[(3-아지도프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온



[0395]

[0396] 목적 화합물을, 4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-3-{4-[(3-히드록시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온을 개시 물질로서 사용하여 **실시예 3**, 단계 E의 절차에 따라 정량 수율로 제조했다.  $C_{14}H_{10}F_4N_8O_3Na$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 437.0$ .

[0397] 단계 H: 3-{4-[(3-아미노프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온 히드로요오다이드



[0398]

[0399] 목적 화합물을, 3-{4-[(3-아지도프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온을 개시 물질로서 사용하여 **실시예 3**, 단계 F의 절차에 따라 81% 수율로 제조했다.  $C_{14}H_{13}F_4N_6O_3$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 389.1$ .  $^1H$  NMR (300MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  8.18 (dd,  $J = 6.4, 2.3$ Hz, 1H), 8.06-8.01 (m, 1H), 7.72 (dd,  $J = 9.7, 9.4$ Hz, 1H), 7.34 (br s, 2H), 6.71 (br s, 1H), 2.78-2.73 (m, 2H), 1.85-1.75 (m, 2H).

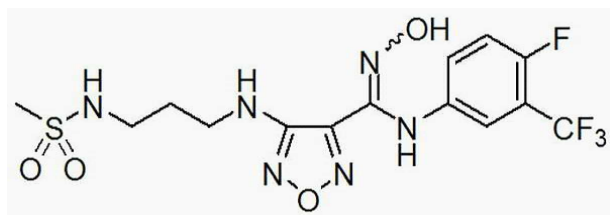
[0400] 단계 I: 4-({3-[(아미노설포닐)아미노]프로필}아미노)-*N*-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드

[0401] 목적 화합물을, 3-{4-[(3-아미노프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온 히드로요오다이드를 개시 물질로서 사용하여 **실시예 15**, 단계 G의 절차에 따라 60% 수율로 제조했다.  $C_{13}H_{16}F_4N_7O_4S$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 442.0$ .  $^1H$  NMR (300MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  11.6 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.31 (dd,  $J = 10.0, 9.4$ Hz, 1H), 7.13 (dd,  $J = 6.4, 2.9$ Hz, 1H), 7.05-6.99 (m, 1H), 6.58 (t,  $J = 6.0$ Hz, 1H), 6.52 (s, 2H), 6.17 (t,  $J = 5.9$ Hz, 1H), 3.28-3.21 (m, 2H), 2.94-2.87 (m, 2H), 1.79-1.72 (m, 2H).

[0402] 실시예 12

[0403] *N*-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-*N'*-히드록시-4-({3-[(메틸설포닐)아미노]프로필}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드





[0404]

[0405]

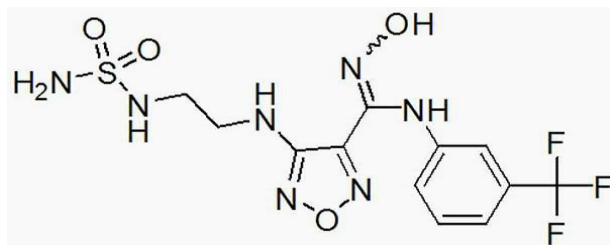
목적 화합물을, 3-{4-[(3-아미노프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[4-플루오로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로요오다이드를 개시 물질로서 사용하여 **실시예 16**의 절차에 따라 70% 수율로 제조했다.  $C_{14}H_{17}F_4N_6O_4S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 441.1. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.6 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 7.30 (dd, J = 10.0, 9.6Hz, 1H), 7.13 (dd, J = 6.2, 2.5Hz, 1H), 7.05-7.02 (m, 2H), 6.19 (t, J = 5.8Hz, 1H), 3.27-3.21 (m, 2H), 2.99-2.94 (m, 2H), 2.87 (s, 3H), 1.76-1.72 (m, 2H).

[0406]

실시예 13

[0407]

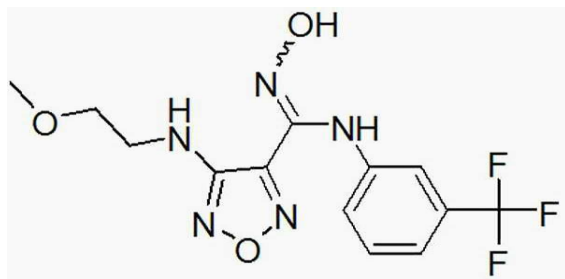
4-((2-[(아미노설포닐)아미노]에틸)아미노)-N'-히드록시-N-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복사이미드아미드



[0408]

[0409]

단계 A: *N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-*N*-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시  
미드아미드



[0410]

[0411]

N-히트록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미도일 클로라이드(1.3g, 5.0mmol) [실시예 1, 단계 A 내지 E에 따라 제조]를 물(10mL)에서 교반하고, 5분 동안 60℃로 가온했다. 3-(트리플루오로메틸)아닐린[Aldrich, 제품 번호 A41801](880mg, 5.5mmol)을 한번에 첨가하고, 반응물을 15분 동안 교반했다. 60℃를 유지하면서, 물(10mL) 중의 중탄산나트륨(630mg, 7.5mmol)의 용액을 5분에 걸쳐 적가했다. 반응물을 60℃에서 추가 50분 동안 교반하고, 그 다음, 실온으로 냉각했다. 에틸 아세테이트(20mL) 및 염수(30mL)를 플라스크에 첨가하고, 유기 층을 수집했다. 수성 층을 에틸 아세테이트(2×20mL)로 추출하고, 합한 유기물을 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 용매를 진공에서 제거하여 목적 생성물을 오렌지색 고형물(1.4g, 80%)로서 제공했다.  $C_{13}H_{15}F_3N_5O_3$  (MH)<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS: m/z = 346.1. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7.36 (t, J = 8.2Hz, 1H), 7.23 (d, J = 7.6Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 7.02 (d, J = 8.2Hz, 1H), 3.60 (t, J = 5.2Hz, 2H), 3.46 (t, J = 5.2Hz, 2H), 3.38 (s, 3H).

[0412]

단계 B: 3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



[0413]

[0414]

*N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-*N*-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드(1.4g, 3.80mmol) 및 1,1'-카르보닐디이미다졸(1.16g, 7.16mmol)을 에틸 아세테이트(20mL)에 용해시켰다. 반응 혼합물을 70℃에서 40분 동안 가열했다. 추가 1,1'-카르보닐디이미다졸(0.26g, 1.16mmol)을 첨가했다. 70℃에서 또 다른 50분 동안 교반한 후, 반응물을 실온으로 냉각했다. 에틸 아세테이트(20mL)를 첨가하고, 조 반응물을 물(2×20mL) 중의 1N HCl로 세정했다. 염수를 제1 세정물의 분리에서의 보조물에 첨가했다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조하고, 진공에서 농축했다. 헥산 중 에틸 아세테이트의 용리액을 갖는 실리카겔 상의 플래시 크로마토그래피에 의한 정제로 목적 생성물(1.3g, 90%)을 제공했다.  $C_{14}H_{13}F_3N_5O_4$  (M<sup>+</sup>)에 대해 계산된 LCMS:  $m/z$  = 372.0.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

[0415]

단계 C: 3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온



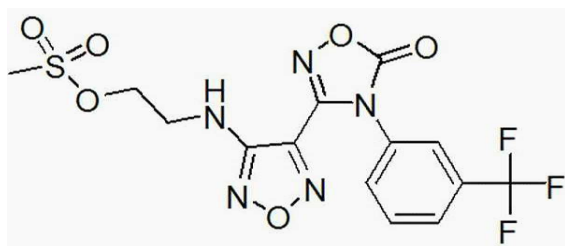
[0416]

[0417]

질소 분위기하에 환저 플라스크에서, 3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온(1.3g, 3.6mmol)을 디클로로메탄(11mL)에서 교반했다. 온도를 -78℃에 이르게 하고, 디클로로메탄(7.9mL, 7.9mmol) 중의 1.0M 삼브롬화붕소의 용액을 15분에 걸쳐 적가했다. 반응물을 실온에서 45분에 걸쳐 가온하고, 실온에서 추가 45분 동안 계속 교반했다. 반응물을 0℃로 냉각하고, 물(25mL) 중의 중탄산나트륨의 포화 용액을 15분에 걸쳐 적가했다. 실온으로 따뜻하게 한 후, 에틸 아세테이트(10mL) 및 물(10mL)을 플라스크에 첨가했다. 유기 층을 수집하고, 수성 층을 에틸 아세테이트(2×20mL)로 추출했다. 황산나트륨 상에서 합한 유기 층을 건조한 후, 용매를 진공에서 제거하여 목적 생성물(1.0g, 81%)을 제공했다.  $C_{13}H_{11}F_3N_5O_4$  (M<sup>+</sup>)에 대해 계산된 LCMS:  $m/z$  = 358.0.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

[0418]

단계 D: 2-[(4-{5-옥소-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일}-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아미노]에틸 메탄설포네이트



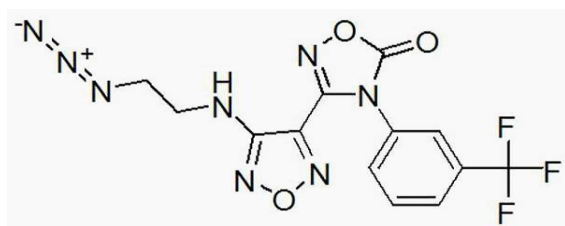
[0419]

[0420]

에틸 아세테이트(8.5mL) 중의 3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(1.0g, 2.9mmol)의 용액에 메탄설포닐 클로라이드(0.29mL, 3.7mmol)을 한번에 첨가했다. 반응물을 5분 동안 교반하고, 트리에틸아민(0.52mL, 3.7mmol)을 또한 한번에 첨가했다. 추가 10분 동안 교반한 후, 반응물을 물(5mL)의 첨가로 급랭시켰다. 생성물을 에틸 아세테이트(2×5mL)로 추출하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 진공에서 농축하여 목적 생성물(1.2g, 99%)을 제공했다.  $C_{14}H_{13}F_3N_5O_6S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS: m/z = 436.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

[0421]

단계 E: 3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



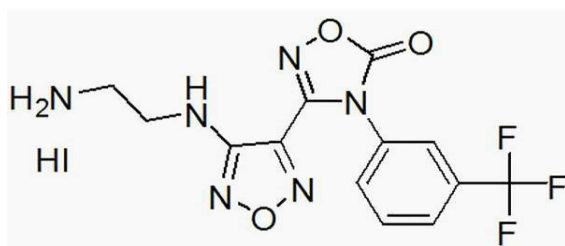
[0422]

[0423]

2-[(4-{5-옥소-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일}-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아미노]에틸 메탄설포네이트(1.2g, 2.9mmol)를 N,N-디메틸포름아미드(2.7mL)에 용해시켰다. 아지드화나트륨(280mg, 4.3mmol)을 한번에 첨가한 후, 온도를 65℃에 이르게 하고, 반응물을 6시간 동안 교반했다. 실온으로 다시 냉각한 후, 물(10mL)을 첨가하여 반응물을 급랭시켰다. 생성물을 에틸 아세테이트(3×10mL)로 추출하고, 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 용매를 진공에서 제거하여 목적 생성물(1.05g, 96%)을 제공했다.  $C_{13}H_{10}F_3N_6O_3(M-N_2+H)^+$ 에 대해 계산된 LCMS: m/z = 355.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

[0424]

단계 F: 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로요오다이드



[0425]

[0426]

메탄올(12mL) 중의 3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(1.05g, 2.8mmol)의 용액에 요오드화나트륨(2.5g, 17mmol)를 첨가했다. 10분 동안 교반한 후, 메탄올(1.41mL) 중의 클로로트리메틸실란(2.1mL, 17mmol)의 용액을 15분에 걸쳐 적가했다. 반응물을 40분 동안 계속 교반하고, 그 다음, 물(12.5mL) 중의 티오황산나트륨(2.7g, 17mmol)의 용액을 한번에 첨가했

다. 베이지색 고형물은 티오황산나트륨 용액의 첨가시 침전하고, 진공 여과로 수집했다. 고형물을 물( $2 \times 10\text{mL}$ )로 행구고, 진공 하에 밤새 건조시켜 목적 생성물을 제공했다. 고형물은 또한 여과물로부터 침전했고, 진공 여과로 수집했다. 갈때기에서 물( $3 \times 10\text{mL}$ )로 세정한 후, 생성물을 밤새 진공 하에 건조시켰다. 고형 슬러리를 에틸 아세테이트( $3.8\text{mL}$ )로 1시간 동안 세정하고, 여과로 재수집했다. 에틸 아세테이트( $2 \times 2\text{mL}$ )로 행구고 밤새 건조시킨 후, 추가 생성물을 제공했다. 전체로,  $760\text{ mg}$ 의 목적 생성물( $57\%$ )을 히드로요오다이드 염으로서 제공했다.  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{F}_3\text{N}_6\text{O}_3 (\text{MH})^+$ 에 대해 계산된 LCMS:  $m/z = 357.1$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $400\text{MHz}$ ,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  8.10 (s, 1H), 7.95 (m, 2H), 7.81 (t,  $J = 8.1\text{Hz}$ , 1H), 7.68 (br s, 2H), 6.74 (t,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 1H), 3.49 (m, 2H), 3.03 (t,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 2H).

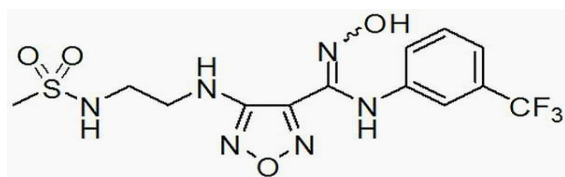
[0427] 단계 G: 4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N'*-히드록시-*N*-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드

[0428] 디클로로메탄( $0.24\text{mL}$ ) 중의 클로로설포닐 이소시아네이트( $9.2\mu\text{L}$ ,  $0.11\text{mmol}$ )의 용액에,  $0^\circ\text{C}$ 에서 및 질소 분위기 하에, *tert*-부틸 알콜( $10\mu\text{L}$ ,  $0.11\text{mmol}$ )을 적가 방식으로 첨가했다. 용액을 실온에서 1시간 동안 교반하여 *tert*-부틸 [클로로설포닐]카바메이트의 용액을 제공했다.

[0429] 분별 플라스크에서, 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온 히드로요오다이드( $26\text{mg}$ ,  $0.053\text{mmol}$ )을 디클로로메탄( $0.5\text{mL}$ )에서 현탁시켰다. 질소 분위기를 확립하고, 온도를  $0^\circ\text{C}$ 가 되게 했다. *tert*-부틸 [클로로설포닐]카바메이트 용액 (상기와 같이 제조됨)을 5분에 걸쳐 아민 염의 교반된 현탁액에 첨가했다. 10분 후, 트리에틸아민( $37\mu\text{L}$ ,  $0.27\text{mmol}$ )을 적가했다. 반응 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반했다. 진공에서 농축한 후, 잔류물을 트리플루오로아세트산( $0.5\text{mL}$ ,  $6\text{mmol}$ )으로 처리했다. 이를 1시간 동안 교반하고, 혼합물을 다시 농축하여 진공에서 건조했다. 건조된 고형물을 메탄올( $0.5\text{mL}$ )에 현탁시키고, 물( $0.53\text{mL}$ ,  $1.1\text{mmol}$ ) 중의  $2.0\text{N}$  NaOH를 한번에 첨가했다. 반응물을  $45^\circ\text{C}$ 로 가열하고, 30분 동안 교반했다. 아세트산( $60\mu\text{L}$ ,  $1.1\text{mmol}$ )으로 중화시킨 후, 생성물을 제조용 LCMS로 정제하여 목적 생성물( $8.5\text{mg}$ ,  $39\%$ )을 제공했다.  $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_7\text{O}_4\text{S} (\text{MH})^+$ 에 대해 계산된 LCMS:  $m/z = 410.0$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $400\text{MHz}$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.36 (t,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 1H), 7.23 (d,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 1H), 7.10 (s, 1H), 7.03 (d,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 1H), 3.48 (m, 2H), 3.29 (m, 2H).

[0430] 실시예 14

[0431] *N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N*-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드

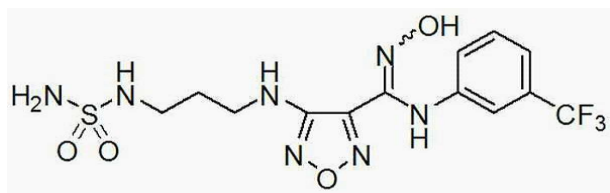


[0432]

[0433] 표제 화합물을, *N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드 및 3-트리플루오로메틸아닐린[Aldrich, 제품 번호 A41801]를 개시 물질로서 사용하여 실시예 17, 단계 E의 절차에 따라 제조했다.  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_6\text{O}_4\text{S} (\text{MH})^+$ 에 대한 LCMS:  $m/z = 409.1$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $500\text{MHz}$ ,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  11.63 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.39 (t,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 1H), 7.21 (m, 2H), 7.10 (s, 1H), 6.99 (d,  $J = 8.1\text{Hz}$ , 1H), 6.28 (t,  $J = 5.4\text{Hz}$ , 1H), 3.36 (q,  $J = 5.8\text{Hz}$ , 2H), 3.17 (q,  $J = 5.8\text{Hz}$ , 2H), 2.91 (s, 3H).

[0434] 실시예 15

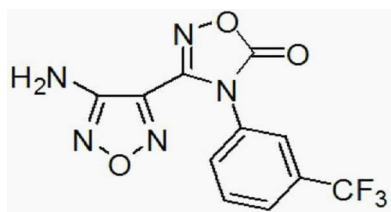
[0435] 4-({3-[(아미노설포닐)아미노]프로필}아미노)-*N'*-히드록시-*N*-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드



[0436]

[0437]

단계 A: 3-(4-아미노-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



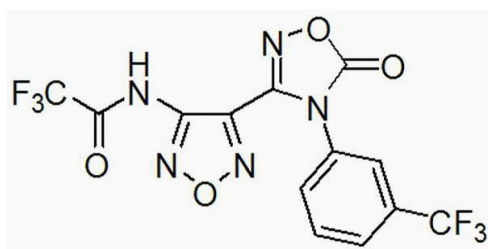
[0438]

[0439]

목적 화합물을, 4-아미노-*N'*-히드록시-*N*-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드 [참조 US 특허출원 공개 No. 2006/0258719]를 개시 물질로서 사용하여 **실시예 5**, **단계 A**의 절차에 따라 97% 수율로 제조했다.  $C_{11}H_7F_3N_5O_3$  (M<sup>+</sup>)에 대한 LCMS: m/z = 314.1.

[0440]

단계 B: 2,2,2-트리플루오로-*N*-(4-{5-옥소-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일}-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아세트아미드



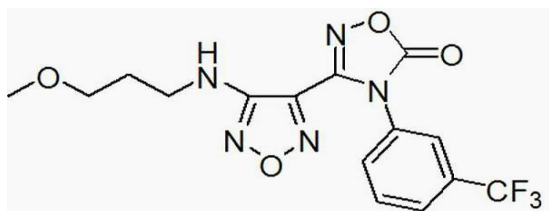
[0441]

[0442]

목적 화합물을, 3-(4-아미노-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온을 개시 물질로서 사용하여 **실시예 5**, **단계 B**의 절차에 따라 90% 수율로 제조했다.  $C_{13}H_6F_6N_5O_4$  (M<sup>+</sup>)에 대한 LCMS: m/z = 410.0.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.91-7.88 (m, 2H), 7.76-7.69 (m, 2H).

[0443]

단계 C: 3-{4-[3-(메톡시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온

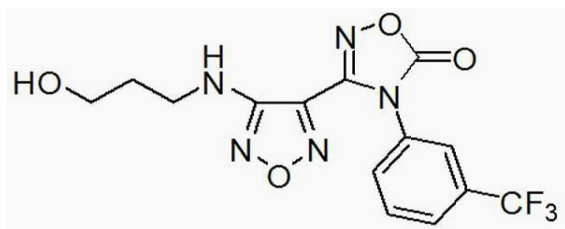


[0444]

[0445]

목적 화합물을, 2,2,2-트리플루오로-*N*-(4-{5-옥소-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일}-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아세트아미드를 개시 물질로서 사용하여 **실시예 3**, **단계 C**의 절차에 따라 49% 수율로 제조했다.  $C_{15}H_{15}F_3N_5O_4$  (M<sup>+</sup>)에 대한 LCMS: m/z = 386.1.  $^1H$  NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): 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).

[0446] 단계 D: 3-{4-[(3-히드록시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



[0447]

[0448] 목적 화합물을, 3-{4-[(3-메톡시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온을 개시 물질로서 사용하여 실시예 3, 단계 D의 절차에 따라 69% 수율로 제조했다.  $C_{14}H_{13}F_3N_5O_4$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 372.1. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

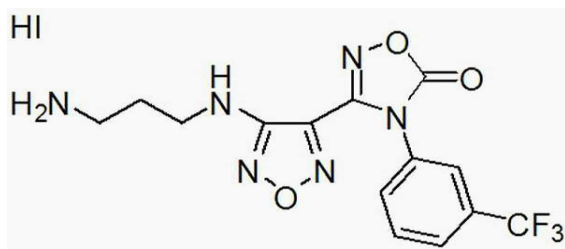
[0449] 단계 E: 3-{4-[(3-아지도프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



[0450]

[0451] 목적 화합물을, 3-{4-[(3-히드록시프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온을 개시 물질로서 사용하여 실시예 3, 단계 E의 절차에 따라 92% 수율로 제조했다.  $C_{14}H_{11}F_3N_5O_3Na$  (M+Na)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 419.0.

[0452] 단계 F: 3-{4-[(3-아미노프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로요오다이드



[0453]

[0454] 목적 화합물을, 3-{4-[(3-아지도프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온을 개시 물질로서 사용하여 실시예 3, 단계 F의 절차에 따라 92% 수율로 제조했다.  $C_{14}H_{14}F_3N_6O_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 371.1. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

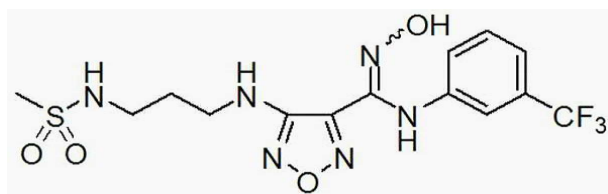


[0455] 단계 G: 4-({3-[(아미노설포닐)아미노]프로필}아미노)-*N'*-히드록시-*N*-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드

[0456] 피리딘(60mL) 중의 3-{4-[(3-아미노프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온 히드록시옥사이드(1.5g, 3.0mmol) 및 설파미드(1.7g, 18mmol)의 용액을 130℃에서 10분 동안 마이크로파로 가열했다. 반응 혼합물을 농축하여 조 중간체 *N*-{3-[(4-{5-옥소-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일}-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아미노]프로필}설파미드를 제공했다. 메탄올(90mL) 중의 조 중간체의 용액을 2N NaOH(12mL, 24mmol)로 처리하고, 25℃에서 30분 동안 교반했다. 반응 혼합물을, 용액이 산성이 될 때까지 6 M HCl로 처리하고, 에틸 아세테이트(250mL)로 추출했다. 유기 층을 물(100mL) 및 염수(100mL)로 세정하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하여 조 잔류물을 제공했다. 이 물질을 제조용 LCMS로 정제하여 목적 생성물(1.1g, 82%)을 점착성 고형물로서 제공했다.  $C_{13}H_{17}F_3N_7O_4S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 424.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

[0457] 실시예 16

[0458] *N'*-히드록시-4-({3-[(메틸설포닐)아미노]프로필}아미노)-*N*-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드

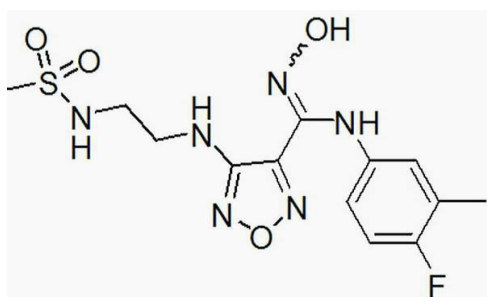


[0459]

[0460] 디클로로메탄(1mL) 중의 3-{4-[(3-아미노프로필)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온 히드록시옥사이드(실시예 15, 단계 F로부터의 생성물; 25mg, 50 μmol)의 용액을 트리에틸아민(17 μL, 0.12mmol) 및 메탄설포닐 클로라이드(6 μL, 70 μmol)로 처리하고, 25℃에서 2시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 농축하여 중간체, *N*-{3-[(4-{5-옥소-4-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일}-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아미노]프로필}메탄설포나미드를 조 잔류물로서 얻고, 이를 추가 정제없이 사용했다. 메탄올(1mL) 중의 조 중간체의 용액을 2N NaOH(0.25mL, 0.5mmol)로 처리하고, 25℃에서 30분 동안 교반했다. 반응 혼합물을 아세트산(50 μL, 0.9mmol)으로 처리하고, 여과하고, 제조용 LCMS로 정제하여 목적 생성물(13mg, 65%)을 고형물로서 제공했다.  $C_{14}H_{18}F_3N_6O_4S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 423.1. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

[0461] 실시예 17

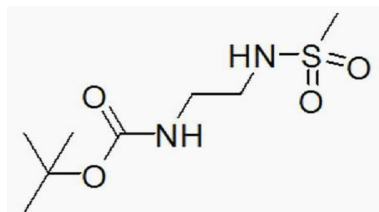
[0462] *N*-(4-플루오로-3-메틸페닐)-*N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드



[0463]



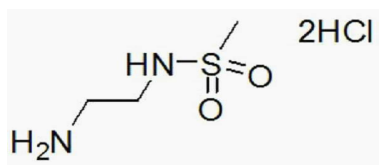
[0464] 단계 A: *tert*-부틸 {2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}카바메이트



[0465]

[0466] *N*-(2-아미노에틸)(*tert*-부톡시)카르복사미드(17.5mL, 0.11mol) [Alfa #L19947]를 디클로로메탄(320mL)에서 교반하고, 트리에틸아민(33mL, 0.24mol)을 첨가했다. 디클로로메탄(10mL) 중의 메탄설포닐 클로라이드(8.5mL, 0.11mol)의 용액을 첨가했다. 수득한 혼합물을 1시간 동안 교반하고, 물(30mL)를 첨가했다. 생성물을 디클로로메탄(3×30mL)으로 추출하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 진공에서 농축하여 목적 생성물(21g, 81%)을 제공했다.  $C_3H_{11}N_2O_2S(M-Boc+H)^+$ 에 대해 계산된 LCMS:  $m/z = 139.1$ .

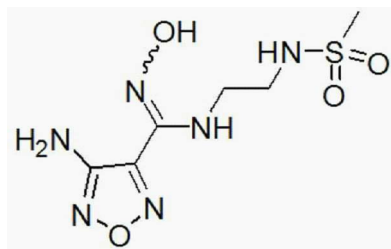
[0467] 단계 B: *N*-(2-아미노에틸)메탄설포아미드 디히드로클로라이드



[0468]

[0469] *tert*-부틸 {2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}카바메이트(21g, 88mmol)를 1,4-디옥산(97mL, 388mmol) 중의 4N 염화수소의 용액에서 30분 동안 교반했다. 에틸 아세테이트 및 헥산, 그 다음, 디에틸 에테르 및 헥산으로 분쇄하여 목적 화합물을 검(19g, 100%)으로서 제공했다.  $C_3H_{11}N_2O_2S (M+H)^+$ 에 대해 계산된 LCMS:  $m/z = 139.0$ .

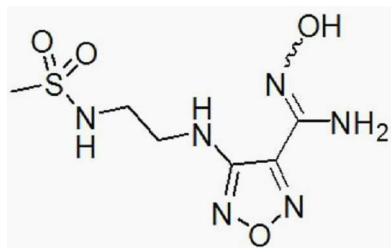
[0470] 단계 C: 4-아미노-*N'*-히드록시-*N*'-{2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미도아미드



[0471]

[0472] 4-아미노-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미도아미드 클로라이드(9.7g, 60mmol)을 에탄올(460mL)에서 교반하고, *N*-(2-아미노에틸)메탄설포아미드 디히드로클로라이드(19g, 109mmol)을 천천히 부분적으로 첨가하고, 온도는 25℃로 상승되었다. 0℃로 다시 냉각한 후, 트리에틸아민(53mL, 380mmol)을 15분에 걸쳐 적가하고, 반응물을 추가 15분 동안 교반했다. 용액을 물(300mL) 및 염수(300mL)로 세정했다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조하고, 진공에서 농축하여 목적 생성물(16g, 100%)을 제공했다.  $C_6H_{13}N_6O_4S (M+H)^+$ 에 대해 계산된 LCMS:  $m/z = 265.1$ .  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

[0473] 단계 D: *N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드



[0474]

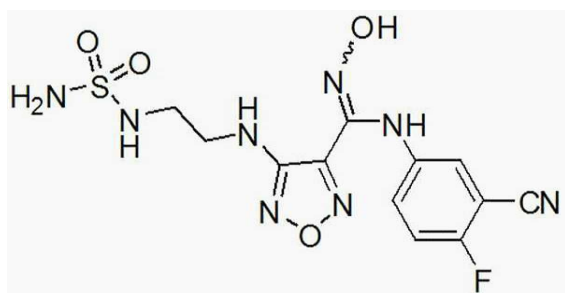
[0475] 4-아미노-*N'*-히드록시-*N*-{2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드(0.47g, 1.8mmol)을 1,2-에탄디올(38mL)에서 교반했다. 수산화칼륨(600g, 11mmol)을 한번에 첨가했다. 반응물을 130℃에서 4시간 동안 가열하고, 실온으로 냉각했다. 1N HCl 용액(60mL)를 첨가하고, 생성물을 에틸 아세테이트(4×40mL)로 추출했다. 합한 유기물을 황산나트륨 상에서 건조하고, 진공에서 농축하여 목적 생성물(0.45g, 96%)을 제공했다.  $C_6H_{12}N_6O_4S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS: m/z = 265.1. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

[0476] 단계 E: *N*-(4-플루오로-3-메틸페닐)-*N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드

[0477] *N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드(35mg, 0.13mmol)을 1,4-디옥산(2mL)에서 교반하고, 6N 염화수소 용액(4mL)를 첨가했다. 용액을 0℃로 냉각하고, 물(3mL) 중의 아질산나트륨(11mg, 0.16mmol)의 용액을 천천히 첨가했다. 혼합물을 1시간 동안 0℃에서 교반하고, 증발시켰다. 건조된 1,4-디옥산(2mL)을 첨가하고, 혼합물을 2회 초과 증발시켰다. 에탄올(2mL) 중의 4-플루오로-3-메틸아닐린[Aldrich, 제품 번호 559415](25mg, 0.20mmol)의 용액을 첨가하고, 혼합물을 1시간 동안 교반했다. 제조용 LCMS(pH 2)에 의한 정제로 목적 화합물(17mg, 27%)을 제공했다.  $C_{13}H_{18}FN_6O_4S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS: m/z = 373.1. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

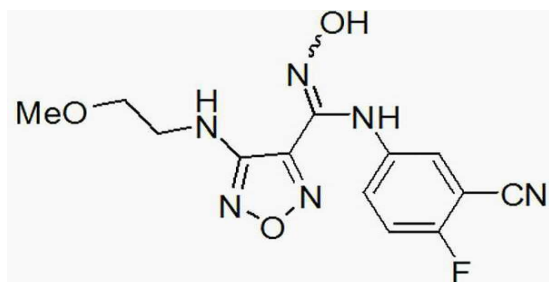
[0478] 실시예 18

[0479] 4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N*-(3-시아노-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드



[0480]

[0481] 단계 A: *N*-(3-시아노-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드



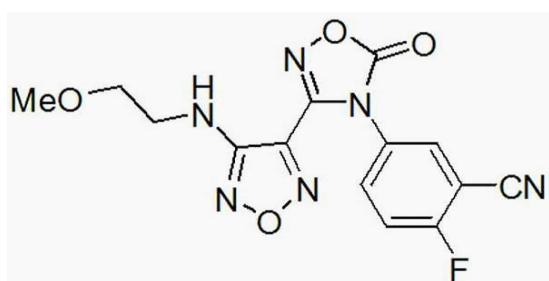
[0482]

[0483]

목적 화합물을, *N*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미도일 클로라이드 [실시예 1, 단계 A 내지 E에 따라 제조] 및 5-아미노-2-플루오로벤조니트릴[Aldrich, 제품 번호 639877]를 개시 물질로서 사용하여 실시예 13, 단계 A의 절차에 따라 100% 수율로 제조했다.  $C_{13}H_{14}FN_6O_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 321.0.

[0484]

단계 B: 2-플루오로-5-[3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-5-옥소-1,2,4-옥사디아졸-4(5*H*)-일]벤조니트릴



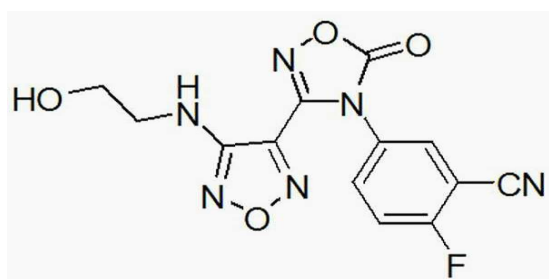
[0485]

[0486]

목적 화합물을, *N*-(3-시아노-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드를 개시 물질로서 사용하여 실시예 13, 단계 B의 절차에 따라 91% 수율로 제조했다.  $C_{14}H_{12}FN_6O_4$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 347.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

[0487]

단계 C: 2-플루오로-5-[3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-5-옥소-1,2,4-옥사디아졸-4(5*H*)-일]벤조니트릴



[0488]

[0489]

목적 화합물을, 2-플루오로-5-[3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-5-옥소-1,2,4-옥사디아졸-4(5*H*)-일]벤조니트릴을 개시 물질로서 사용하여 실시예 13, 단계 C의 절차에 따라 정량 수율로 제조했다.  $C_{13}H_{10}FN_6O_4$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 333.0.

[0490]

단계 D: 2-({4-[4-(3-시아노-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸 메탄설포네이트



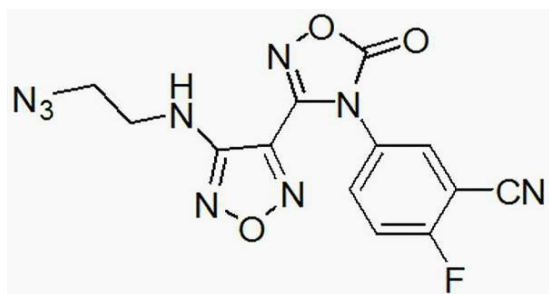
[0491]

[0492]

목적 화합물을, 2-플루오로-5-[3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-5-옥소-1,2,4-옥사디아졸-4(5*H*)-일]벤조니트릴을 개시 물질로서 사용하여 실시예 13, 단계 D의 절차에 따라 88% 수율로 제조했다.  $C_{14}H_{12}FN_6O_6S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 411.0.

[0493]

단계 E: 5-[3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-5-옥소-1,2,4-옥사디아졸-4(5*H*)-일]-2-플루오로벤조니트릴



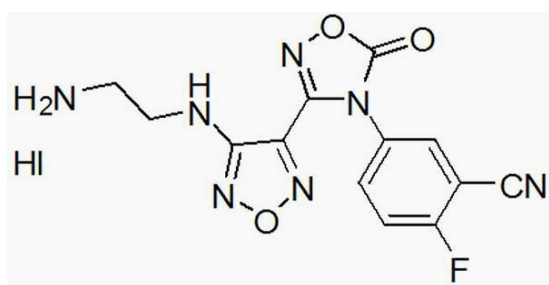
[0494]

[0495]

목적 화합물을, 2-({4-[4-(3-시아노-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸 메탄설포네이트를 개시 물질로서 사용하여 실시예 13, 단계 E의 절차에 따라 95% 수율로 제조했다.

[0496]

단계 F: 5-[3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-5-옥소-1,2,4-옥사디아졸-4(5*H*)-일]-2-플루오로벤조니트릴 히드로요오다이드



[0497]

[0498]

목적 화합물을, 5-[3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-5-옥소-1,2,4-옥사디아졸-4(5*H*)-일]-2-플루오로벤조니트릴을 개시 물질로서 사용하여 실시예 13, 단계 F의 절차에 따라 57% 수율로 제조했다.  $C_{13}H_{11}FN_7O_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 332.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

[0499]

단계 G: 4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N*-(3-시아노-4-플루오로페닐)-*N*'-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드

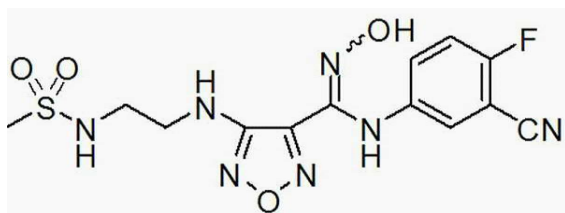
[0500]

마이크로파 비알에서, 5-[3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-5-옥소-1,2,4-옥사디아졸-

4(5*H*)-일]-2-플루오로벤조니트릴 히드로요오다이드(20.0mg, 0.044mmol) 및 설파미드(25mg, 0.26mmol)을 피리딘(0.5mL)에 현탁시켰다. 반응물을 10분 동안 마이크로파 반응기에서 120℃로 가열했다. 용매를 제거하고, 잔류물 메탄올(0.17mL)에 용해시켰다. 물(0.22mL, 0.44mmol) 중의 2.0N NaOH의 용액을 한번에 첨가했다. 반응물을 실온에서 밤새 교반했다. 아세트산(50 μL)에 의한 중화 후, 생성물을, 제조용 LCMS를 사용하여 정제하여 표제 화합물(4.9mg, 29%)을 제공했다.  $C_{12}H_{14}FN_8O_4S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 385.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

[0501] 실시예 19

[0502] *N*-(3-시아노-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드

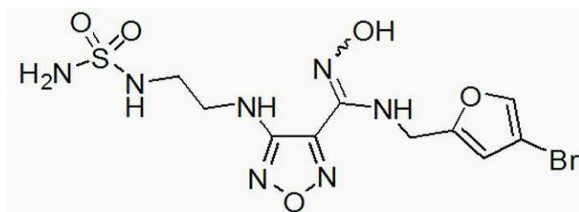


[0503]

[0504] 표제 화합물을, *N'*-히드록시-4-({2-[(메틸설포닐)아미노]에틸}아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드 및 3-시아노-4-플루오로아닐린[Aldrich, 제품 번호 639877]를 개시 물질로서 사용하여 실시예 17, 단계 E의 절차에 따라 제조했다.  $C_{13}H_{14}FN_7NaO_4S$  (M+Na)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 406.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

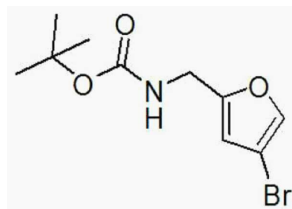
[0505] 실시예 20

[0506] 4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N*-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드



[0507]

[0508] 단계 A: tert-부틸 [(4-브로모-2-푸릴)메틸]카바메이트



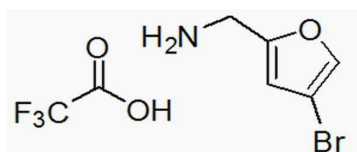
[0509]

[0510] 4-브로모-2-푸르알데히드[Aldrich, 제품 번호666599](10.0g, 57.1mmol)을 에탄올(50mL) 및 물(50mL)에 용해시켰다. *N*-히드록시아민 히드로클로라이드(7.15g, 103mmol) 및 아세트산나트륨(8.44g, 103mmol)을 순차적으로 첨가하고, 반응 혼합물을 100℃에서 1시간 동안 환류시켰다. 용액을 부분적으로 농축시키고, 침전물을 수집하고, 냉수(2×10mL)로 세정했다. 여과물을 에틸 아세테이트(3×25mL)로 추출하고, 합한 유기 층을 염수(50mL)로 세정했다. 황산나트륨 상에서 건조시킨 후, 용액을 진공에서 농축했다. 잔류물을 침전물과 합하고, 아세트산

(70mL)에 용해시켰다. 빙욕에 넣은 후, 아연(14.7g, 225mmol)을 25분에 걸쳐 적가했다. 반응물을 1.5시간에 걸쳐 실온으로 가온하고, 셀라이트를 통해 여과했다. 용매를 진공에서 제거했다.

[0511] 잔류물을 테트라히드로푸란(72mL)에서 교반했다. 물(179mL, 358mmol) 중의 2.0N NaOH의 용액을 45분에 걸쳐 적가했다. 5분 후, 디-*tert*-부틸 디카보네이트(16.9g, 77.4mmol)를 적가했다. 반응물을 2시간 동안 교반하고, 테트라히드로푸란을 진공에서 제거했다. 에틸 아세테이트(100mL)를 첨가하고, 현탁액을 여과했다. 유기 층을 수집하고, 생성물 에틸 아세테이트(2×50mL)로 추출했다. 합한 유기 층을 염수(100mL) 및 물(100mL)로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 진공에서 농축하여 목적 생성물(15.3g, 79%)을 제공했다.  $C_{10}H_{14}BrNNaO_3$  (M+Na)<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS: m/z = 298.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

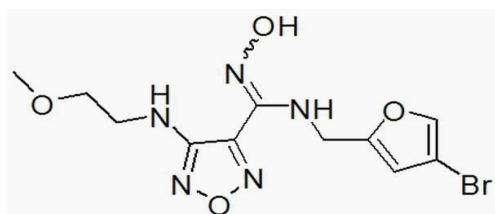
[0512] 단계 B: 1-(4-브로모-2-푸릴)메탄아민 트리플루오로아세테이트



[0513]

[0514] 질소 분위기하에, 디클로로메탄(86mL) 중의 *tert*-부틸 [(4-브로모-2-푸릴)메틸]카바메이트(15.3g, 55.4mmol)의 용액을 0°C에서 트리플루오로아세트산(43mL)으로 15분에 걸쳐 처리했다. 반응 혼합물을 30분에 걸쳐 실온으로 가온했다. 용매를 진공에서 제거하고, 톨루엔(3×50mL)으로 추출했다. 생성물을 18시간 동안 동결건조시켜 목적 생성물을 갈색 고형물(13.0g, 81%)로서 제공했다.  $C_5H_4BrO(M-NH_2)^+$ 에 대해 계산된 LCMS: m/z = 158.9, 160.9. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8.34 (br s, 3H), 8.01 (s, 1H), 6.70 (s, 1H), 4.08 (s, 1H).

[0515] 단계 C: N-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-N'-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드 아미드

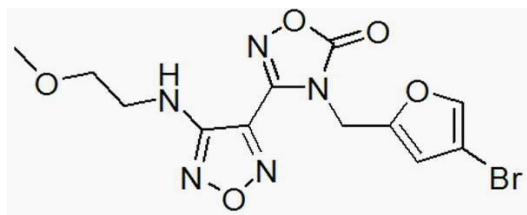


[0516]

[0517] *N*-히드록시-4-(2-메톡시에틸아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르보이미도일 클로라이드[실시예 1, 단계 A 내지 E]의 절차에 따라 제조(4.5g, 20.3mmol)를 에탄올(20mL)에서 실온에서 교반했다. 이에, 에탄올(24mL) 중의 1-(4-브로모-2-푸릴)메탄아민 트리플루오로아세테이트(6.5g, 22.4mmol)의 용액을 첨가하고, 혼합물을 15분 동안 교반했다. 트리에틸아민(6.3mL, 44.8mmol)을 10분에 걸쳐 적가하고, 반응물을 추가 15분 동안 교반했다. 용매를 진공에서 제거하고, 물(50mL)을 첨가한 후, 생성물을 에틸 아세테이트(3×50mL)로 추출했다. 합한 유기 층을 염수(50mL)로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 목적 생성물(7.5g, 100%)을 제공했다.  $C_{11}H_{13}BrN_5O_4$  (M+H)<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS: m/z = 359.9, 361.9.

[0518] 단계 D: 4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온





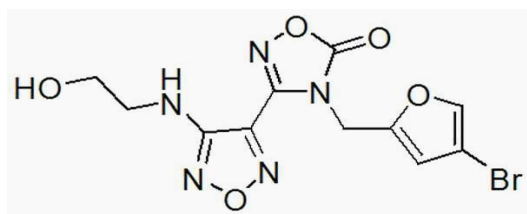
[0519]

[0520]

*N*-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-*N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드 (7.3g, 20.4mmol) 및 1,1'-카르보닐디이미다졸(5.0g, 30.5mmol)을 에틸 아세테이트(72mL)에 용해시켰다. 반응 혼합물을 65℃에서 15분 동안 가열했다. 에틸 아세테이트(70mL)를 첨가하고, 조 반응물을 물(2×70mL) 중의 0.1N 염화수소로 세정했다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조하고, 진공에서 농축했다. 헥산 중 에틸 아세테이트의 용리액을 갖는 실리카겔 상의 플래시 크로마토그래피에 의한 정제로 목적 생성물(4.1g, 90%)을 제공했다.  $C_{12}H_{13}BrN_5O_5$  (MH)<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z$  = 386.0, 388.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): 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).

[0521]

단계 E: 4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



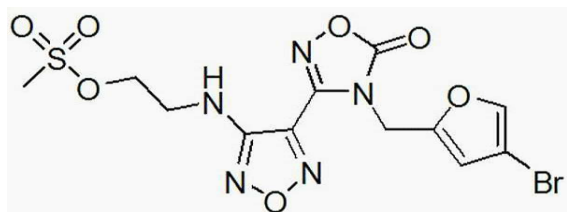
[0522]

[0523]

질소 분위기하에 환저 플라스크에서, 4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(8.2g, 21mmol)을 디클로로메탄(68mL)에서 교반했다. 온도를 -78℃에 이르게 하고, 디클로로메탄(43mL, 43mmol) 중의 1.0M 삼브롬화붕소의 용액을 45분에 걸쳐 적가했다. 반응물을 -78℃에서 45분 동안 교반하고, 0℃에서 추가 30분 동안 교반을 계속했다. 0℃에서 유지하면서, 물(120mL) 중의 중탄산나트륨의 포화 용액을 25분에 걸쳐 적가했다. 실온으로 따뜻하게 한 후, 유기 층을 수집하고, 수성 층을 에틸 아세테이트(2×50mL)로 추출했다. 합한 유기 층을 염수(100mL)로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 진공에서 농축하여 소량의 3-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온과 함께 목적 생성물(7.7g, 97%)을 제공했다.  $C_{11}H_{11}BrN_5O_5$  (MH)<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z$  = 371.7, 374.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.89 (s, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.31 (t,  $J$  = 5.8Hz, 1H), 5.08 (s, 2H), 4.85 (br s, 1H), 3.56 (m, 2H), 3.30 (q,  $J$  = 5.6Hz, 2H).

[0524]

단계 F: 2-[(4-{4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일}-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아미노]에틸 메탄설포네이트



[0525]

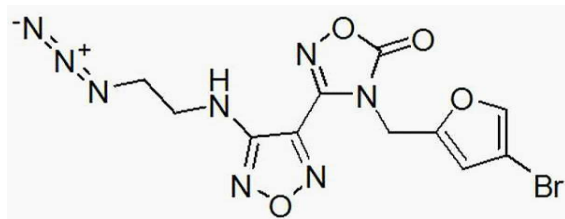
[0526]

에틸 아세테이트(100mL) 중의 4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(7.7g, 21mmol, 상응하는 브로모-화합물의 일부도 함유)의 용액에 메탄설포닐 클로라이드(0.96mL, 12mmol)을 한번에 첨가했다. 반응물을 5분 동안 교반하고, 트리에틸아민(1.6mL, 11mmol)을

또한 한번에 첨가했다. 30분 동안 교반한 후, 추가 메탄설폰일 클로라이드(0.4mL, 5mmol)을 첨가하고, 5분 후에 트리에틸아민(0.58mL, 4.2mmol)을 첨가했다. 15분 후, 반응물을 물(100mL)의 첨가로 급랭시켰다. 생성물을 에틸 아세테이트(3×50mL)로 추출하고, 합한 유기 층을 염수(100mL)로 세정했다. 황산나트륨 상에서 건조시킨 후, 용매를 진공에서 제거하여 목적 생성물(9.3g, 100%)을 제공했다.  $C_{12}H_{13}BrN_5O_7S$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z$  = 449.8, 451.8.  $^1H$  NMR (300MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.88 (s, 1H), 6.73 (t,  $J$  = 6.2Hz, 1H), 6.68 (s, 1H), 5.08 (s, 2H), 4.37 (m, 2H), 3.59 (q,  $J$  = 5.8Hz, 2H), 3.16 (s, 3H).

[0527]

단계 G: 3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



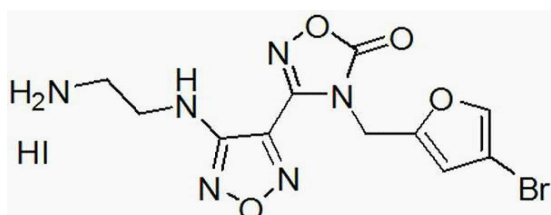
[0528]

[0529]

2-[(4-{4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일}-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아미노]에틸 메탄설포네이트(9.1g, 20mmol, 상응하는 브로모-화합물의 일부도 함유)를 디메틸포름아미드(90mL)에서 용해시켰다. 아지드화나트륨(1.97g, 30.3mmol)을 한번에 첨가하고, 5분 후, 온도를 65℃가 되게 했다. 반응 2 시간 동안 교반하고, 실온으로 다시 냉각했다. 물(200mL)를 첨가하여 반응물을 급랭시켰다. 생성물을 에틸 아세테이트(3×100mL)로 추출하고, 합한 유기 층을 염수(2×150mL) 및 물(150mL)로 세정했다. 황산나트륨 상에서 건조시킨 후, 용매를 진공에서 제거하여 목적 생성물(7.7g, 96%)을 제공했다.  $C_{11}H_9BrN_8NaO_4$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z$  = 418.7, 421.0.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

[0530]

단계 H: 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로요오다이드



[0531]

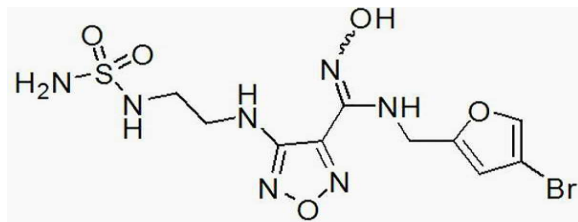
[0532]

메탄올(80mL) 중의 3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(7.7g, 19mmol)의 용액에 요오드화나트륨(17.4g, 116mmol)을 첨가했다. 10분 동안 교반한 후, 클로로트리메틸실란(14.8mL, 116mmol)의 용액을 5분에 걸쳐 적가했다. 반응물을 1시간 동안 계속 교반하고, 이때, 물(800mL) 중의 티오황산나트륨(23.0g, 145mmol)의 용액에 0℃에서 천천히 첨가하고, 그 결과, 침전물이 생겼다. 플라스크를 메탄올(10mL)로 행구고, 침전물을 진공 여과를 통해 수집했다. 고형물을 냉수(2×25mL)로 행구고, 진공 하에 건조시켜 목적 생성물(5.8g, 60%)을 히드로요오다이드 염으로서 제공했다.  $C_{11}H_{12}BrN_6O_4$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z$  = 370.9, 372.8.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

[0533]

단계 I: 4-({2-[(아미노설폰일)아미노]에틸}아미노)-N-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-N'-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-

3-카르복스이미드아미드



[0534]

[0535]

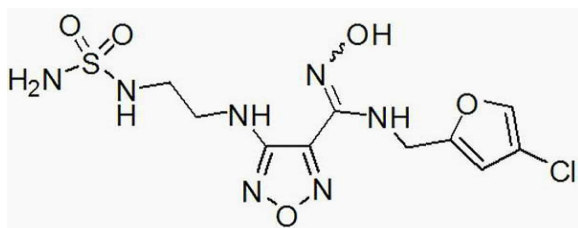
마이크로파 비알에서, 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[(4-브로모-2-푸릴)메틸]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로요오다이드(30mg, 0.060mmol) 및 설파미드(29mg, 0.30mmol)을 피리딘(1mL)에서 현탁시켰다. 반응 혼합물을 질소로 플러시(flush)하고, 130℃에서 3분 동안 마이크로파 반응기에서 가열했다. 용매를 제거하고, 조 중간체를 메탄올(1mL)에서 현탁시켰다. 물(0.30mL, 0.60mmol) 중의 NaOH의 2.0N의 용액을 한번에 첨가하고, 반응물을 30분 동안 45℃로 가열했다. 아세트산(68 μL, 1.2mmol)으로 중화한 후, 생성물을 제조용 LCMS로 정제하여 목적 생성물(10.4mg, 41%)을 제공했다.  $C_{10}H_{15}BrN_7O_5S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS: m/z = 423.9, 426.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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* = 7.0Hz, 2H), 3.32 (q, *J* = 6.3Hz, 2H), 3.07 (q, *J* = 6.3Hz, 2H).

[0536]

실시예 21

[0537]

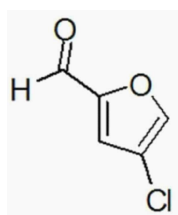
4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N*'-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-*N*'-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드



[0538]

[0539]

단계 A: 4-클로로-2-푸르알데히드

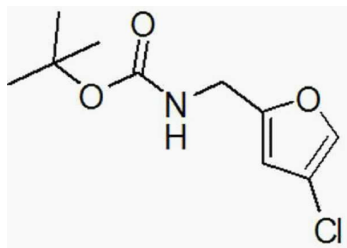


[0540]

[0541]

디클로로메탄(200mL) 중의 알루미늄 트리클로라이드(29.8g, 0.223mol)의 교반된 현탁액에 질소 분위기 하에 2-푸란카르복스알데히드(8.44mL, 0.102mol)를 15분에 걸쳐 첨가했다. 30분 동안 교반한 후, 염소로, 50분의 시간에 걸쳐 피펫을 사용하여 현탁액에 거품을 일으켰다. 플라스크를 밀봉하고, 실온에서 90시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 물(300mL) 중의 1.0N 염화수소의 용액 중 얼음(500mL)의 혼합물에 천천히 첨가했다. 혼합물을 추가 1시간에 걸쳐 실온으로 가온했다. 층을 분리하고, 유기 층을 수집했다. 추가 생성물을 디클로로메탄(2×200mL)로 추출했다. 합한 유기 층을 물(250mL)로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 용매를 진공에서 제거하여 목적 생성물(14.0g, 100%, 60% 순도)을 함유하는 조 혼합물을 제공했다. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.56 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.71 (s, 1H).

[0542] 단계 B: *tert*-부틸 [(4-클로로-2-푸릴)메틸]카바메이트

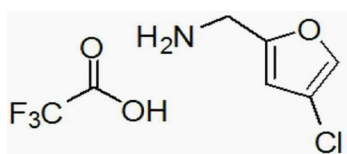


[0543]

[0544] 4-클로로-2-푸르알데히드(14.0g, 60% 순도, 64mmol)을 에탄올(50mL) 및 물(50mL)에 용해시켰다. *N*-히드록시아민 히드로클로라이드(12.6g, 182mmol) 및 아세트산나트륨(14.9g, 182mmol)을 순차적으로 첨가하고, 반응 혼합물을 100℃에서 1시간 동안 환류시켰다. 용액을 부분적으로 농축한 다음, 물(25mL) 및 에틸 아세테이트(50mL)를 첨가했다. 유기 층을 수집하고, 수성물을 에틸 아세테이트(2×25mL)로 추출했다. 합한 유기 층을 염수(50mL) 및 물(50mL)로 세정했다. 황산나트륨 상에서 건조시킨 후, 용액을 진공에서 농축했다. 중간체를 아세트산(115mL)에서 현탁시켰다. 용액을 빙욕에서 냉각시키고, 아연(33.1g, 506mmol)을 20분에 걸쳐 적가했다. 반응물을 2시간에 걸쳐 실온으로 가온하고 셀라이트를 통해 여과했다. 용매를 진공에서 제거했다.

[0545] 잔류물을 테트라히드로푸란(100mL)에서 교반했다. 물(152mL, 304mmol) 중의 2.0M NaOH의 용액을 30분에 걸쳐 적가했다. 반응 혼합물을 빙욕에 넣고, 5분 후, 디-*tert*-부틸 디카보네이트(24.3g, 111mmol)를 15분에 걸쳐 적가했다. 반응물을 추가 2시간에 걸쳐 실온으로 가온하고, 그 다음, 테트라히드로푸란을 진공에서 제거했다. 에틸 아세테이트(100mL)를 첨가하고, 현탁액을 여과했다. 유기 층을 수집하고, 수성 층을 에틸 아세테이트(2×100mL)로 추출했다. 합한 유기 층을 물/염수(100mL)의 1:1 혼합물로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 진공에서 농축했다. 헥산 중 에틸 아세테이트의 용리액을 갖는 실리카겔 상의 플래시 크로마토그래피에 의한 정제로 목적 생성물(3.05g, 22%)을 제공했다.  $C_{10}H_{14}ClNNaO_3$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z$  = 253.9.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

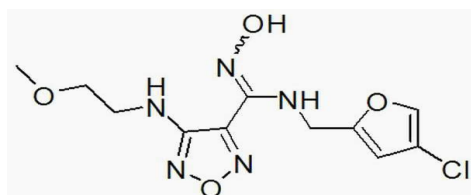
[0546] 단계 C: 1-(4-클로로-2-푸릴)메탄아민 트리플루오로아세테이트



[0547]

[0548] 목적 화합물을, *tert*-부틸 [(4-클로로-2-푸릴)메틸]카바메이트를 개시 물질로서 사용하여 실시예 20, 단계 B의 절차에 따라 정량 수율로 제조했다.  $C_9H_9ClNO$ ( $M-NH_2$ )<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z$  = 115.0.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.29 (br s, 3H), 8.04 (s, 1H), 6.69 (s, 1H), 4.07 (s, 2H).

[0549] 단계 D: *N*-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-*N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드 아미드



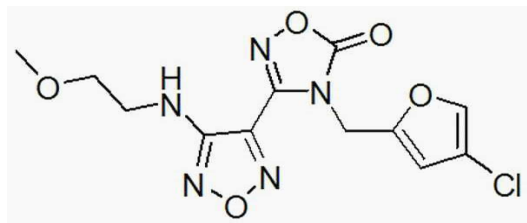
[0550]

[0551] 목적 화합물을, *N*-히드록시-4-(2-메톡시에틸아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르보이미도일 클로라이드 및 1-(4-클로로-2-푸릴)메탄아민 트리플루오로아세테이트를 개시 물질로서 사용하여 실시예 20, 단계 C의 절차에 따라 정량

수율로 제조했다.  $C_{11}H_{15}ClN_5O_4$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z = 316.0$ .

[0552]

단계 E: 4-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



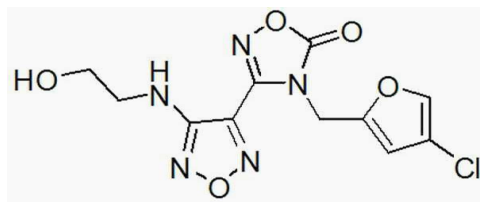
[0553]

[0554]

목적 화합물을, *N*-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-*N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드를 개시 물질로서 사용하여 실시예 20, 단계 D의 절차에 따라 51% 수율로 제조했다.  $C_{12}H_{13}ClN_5O_5$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z = 342.0$ .

[0555]

단계 F: 4-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



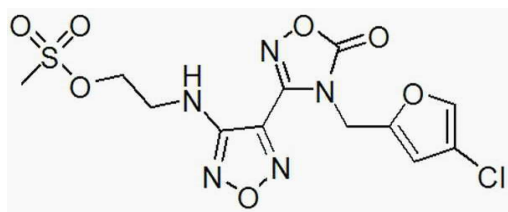
[0556]

[0557]

목적 화합물을, 4-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온을 개시 물질로서 사용하여 실시예 20, 단계 E의 절차에 따라 정량 수율로 제조했다.  $C_{11}H_{10}ClN_5NaO_5$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z = 349.9$ .

[0558]

단계 G: 2-[(4-{4-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일}-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아미노]에틸 메탄설포네이트



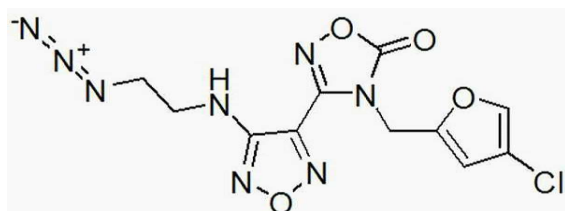
[0559]

[0560]

목적 화합물을, 4-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온을 개시 물질로서 사용하여 실시예 20, 단계 F의 절차에 따라 69% 수율로 제조했다.  $C_{12}H_{13}ClN_5O_7S$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z = 405.8$ .

[0561]

단계 H: 3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



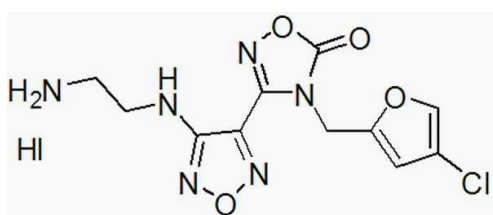
[0562]

[0563]

목적 화합물을, 2-[(4-{4-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일}-1,2,5-옥사디아졸-3-일)아미노]에틸 메탄설포네이트를 개시 물질로서 사용하여 실시예 20, 단계 G의 절차에 따라 정량 수율로 제조했다.  $C_{11}H_9ClN_8NaO_4$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z = 374.9$ .

[0564]

단계 I: 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로요오다이드



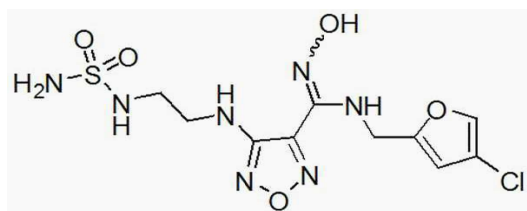
[0565]

[0566]

목적 화합물을, 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온을 개시 물질로서 사용하여 실시예 20, 단계 H의 절차에 따라 57% 수율로 제조했다.  $C_{11}H_{12}ClN_6O_4$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z = 326.9$ .

[0567]

단계 J: 4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-N-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-N'-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복사이미드아미드



[0568]

[0569]

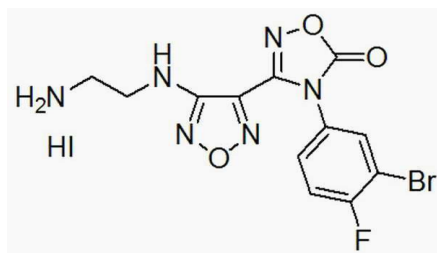
목적 화합물을, 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-[(4-클로로-2-푸릴)메틸]-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로요오다이드를 개시 물질로서 사용하여 실시예 20, 단계 I의 절차에 따라 53% 수율로 제조했다.  $C_{10}H_{15}ClN_7O_5S$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대해 계산된 LCMS:  $m/z = 379.9$ .  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  10.88 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 6.83 (t,  $J = 6.8Hz$ , 1H), 6.68 (t,  $J = 5.9Hz$ , 1H), 6.56 (s, 2H), 6.30 (t,  $J = 5.9Hz$ , 1H), 6.22 (s, 1H), 4.55 (d, 2H), 3.32 (q,  $J = 6.3Hz$ , 2H), 3.06 (q,  $J = 6.3Hz$ , 2H).

[0570]

실시예 22

[0571]

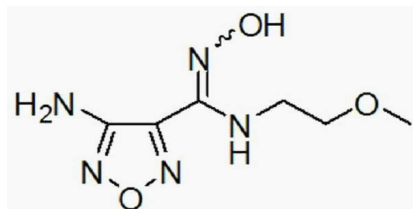
중간체 3-(4-(2-아미노에틸아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로요오다이드의 대안적인 제조



[0572]

[0573]

단계 A: 4-아미노-*N'*-히드록시-*N*-(2-메톡시에틸)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드



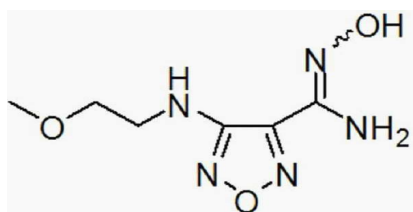
[0574]

[0575]

4-아미노-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미도일 클로라이드(이는 실시예 1, 단계 A-B에 따라 제조될 수 있음, 200.0g, 1.23mol)을 에틸 아세테이트(1.2L)와 혼합했다. 0 내지 5℃에서 2-메톡시에틸아민[Aldrich, 제품 번호 143693](119.0mL, 1.35mol)을, 교반하면서 한번에 첨가했다. 반응 온도는 41℃로 상승했다. 반응물을 0 내지 5℃로 냉각했다. 트리에틸아민(258mL, 1.84mol)을 첨가했다. 5분 동안 교반한 후, LCMS는 반응 완료를 나타냈었다. 반응 용액을 물(500mL)과 염수(500mL)로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 목적 생성물(294g, 119%)을 조 흑색 오일로서 제공했다.  $C_6H_{12}N_5O_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 202.3. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

[0576]

단계 B: *N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드



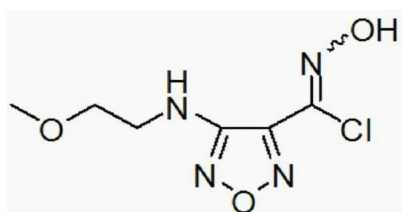
[0577]

[0578]

4-아미노-*N'*-히드록시-*N*-(2-메톡시에틸)-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드(248.0g, 1.23mol)을 물(1L)과 혼합했다. 수산화칼륨(210g, 3.7mol)을 첨가했다. 반응물을 100℃에서 밤새(15시간) 환류했다. Hexan 중 50% 에틸 아세테이트(1% 수산화암모늄 함유)를 갖는 TLC는 반응 완료를 나타내었다(생성물 R<sub>f</sub> = 0.6, 개시 물질 R<sub>f</sub> = 0.5). LCMS는 또한 반응의 완료를 나타내었다. 반응물을 실온에서 냉각하고, 에틸 아세테이트(3×1L)로 추출했다. 합한 에틸 아세테이트 용액을 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 목적 생성물(201g, 81%)을 조 회백색 고형물로서 제공했다.  $C_6H_{12}N_5O_3$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 202.3 <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

[0579]

단계 C: *N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미도일 클로라이드

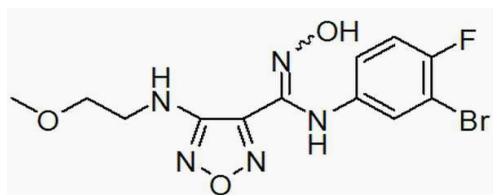


[0580]



[0581] 실온에서 *N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드(50.0g, 0.226mol)을 6.0M 염산 수용액(250mL, 1.5mol)에 용해시켰다. 염화나트륨(39.5g, 0.676mol)을 첨가한 다음, 물(250mL) 및 에틸 아세테이트(250mL)를 첨가했다. 3 내지 5℃에서, 미리 제조된 수용액(100mL)의 아질산나트륨(15.0g, 0.217mol)을 1시간에 걸쳐 천천히 첨가했다. 반응물을 3 내지 8℃에서 2시간 동안, 그 다음, 실온에서 주말에 걸쳐 첨가했다. LCMS는 반응 완료를 나타내었다. 반응 용액을 에틸 아세테이트(2×200mL)로 추출했다. 합한 에틸 아세테이트 용액을 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 목적 생성물(49.9g, 126%)을 조 백색 고형물로서 제공했다.  $C_6H_{10}ClN_4O_3$  (MH)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 221.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

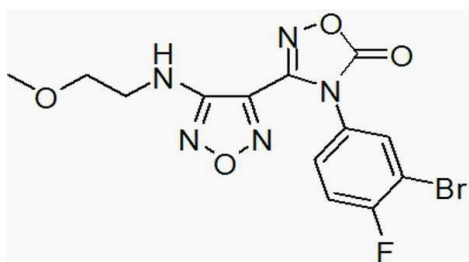
[0582] 단계 D: *N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드



[0583]

[0584] *N*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미도일 클로라이드(46.0g, 0.208mol)을 물(300mL)로 추출했다. 혼합물을 60℃로 가열했다. 3-브로모-4-플루오로아닐린[Oakwood 제품, 제품 번호 013091](43.6g, 0.229mol)을 첨가하고, 10분 동안 교반했다. 따뜻한 중탄산나트륨(26.3g, 0.313mol) 용액(300mL 물)을 15분에 걸쳐 첨가했다. 반응물을 60℃에서 20분 동안 교반했다. LCMS는 반응 완료를 나타내었다. 반응 용액을 실온에서 냉각하고, 에틸 아세테이트(2×300mL)로 추출했다. 합한 에틸 아세테이트 용액을 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 목적 생성물(76.7g, 98%)을 조 갈색 고형물로서 제공했다.  $C_{12}H_{14}BrFN_5O_3$  (MH)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 374.0, 376.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

[0585] 단계 E: 4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온

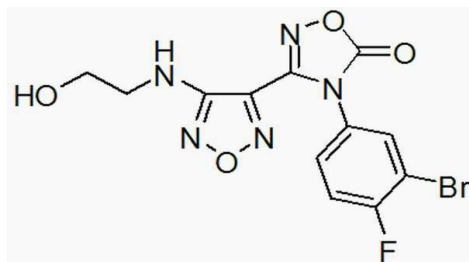


[0586]

[0587] *N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시이미드아미드(76.5g, 0.204mol), 1,1'-카르보닐디이미다졸(49.7g, 0.307mol), 및 에틸 아세테이트(720mL)의 혼합물을 60℃로 가열하고, 20분 동안 교반했다. LCMS는 반응 완료를 나타내었다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 1N HCl(2×750mL)로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 목적 생성물(80.4g, 98%)을 조 갈색 고형물로서 제공했다.  $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$  (MH)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 400.0, 402.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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).

[0588] 단계 F: 4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아

졸-5(4H)-온



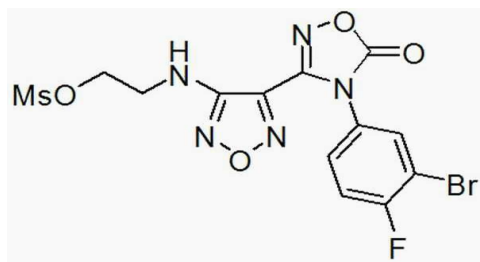
[0589]

[0590]

4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-{4-[(2-메톡시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(78.4g, 0.196mol)을 디클로로메탄(600mL)에 용해시켰다. -67℃에서 삼브롬화붕소(37mL, 0.392mol)를 15분에 걸쳐 첨가했다. 반응물을 30분 내에 -10℃로 가온했다. LCMS는 반응 완료를 나타내었다. 반응물을 실온에서 1시간 동안 교반했다. 0 내지 5℃에서, 반응물을 천천히 포화 중탄산나트륨 용액(1.5L)으로 30분에 걸쳐 급랭시켰다. 반응 온도는 25℃로 상승되었다. 반응물을 에틸 아세테이트(2×500mL, 제1 추출 유기 층은 하부에 있고, 제2 추출 유기 층은 상부에 있다)로 추출했다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 목적 생성물(75g, 99%)을 조 갈색 고형물로서 제공했다.  $C_{12}H_{10}BrFN_5O_4$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 386.0, 388.0. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

[0591]

단계 G: 2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸 메탄설포네이트



[0592]

[0593]

4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-(4-(2-히드록시에틸아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(72.2g, 0.188mol)을 에틸 아세테이트(600mL)와 혼합했다. 메탄설포닐 클로라이드(19.2mL, 0.248mol)을 첨가한 다음, 트리에틸아민(34.9mL, 0.250mol)을 첨가했다. 반응물을 실온에서 5분 동안 교반했다. LCMS가 반응 완료를 나타내었을 때 (M+H = 442), 500mL의 물을 반응물에 첨가했다. 반응물을 에틸 아세테이트(2×500mL)로 추출했다. 합한 에틸 아세테이트 용액을 염수(500mL)로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 85.1g의 조 갈색 고형물을 제공했다. <sup>1</sup>H NMR로 구조를 확인했다. 조 수율은 97%였다.  $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$  (M+Na)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 485.9, 487.9. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

[0594]

단계 H: 3-{4-[(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



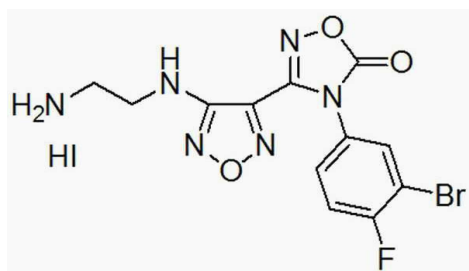
[0595]

[0596]

2-(4-(4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일)-1,2,5-옥사디아졸-3-일아미노)에틸 메탄설포네이트(50.0g, 0.108mol)를 *N*, *N*-디메틸포름아미드(83mL)에서 용해시켰다. 아지드화나트륨(10.5g, 0.162mol)을 첨가했다. 반응물을 65℃에서 5 내지 6시간 동안 교반했다. LCMS는 반응 완료를 나타내었다 ( $M+Na = 435$ ). 반응물을 물(250mL)로 급랭시키고, 에틸 아세테이트( $2 \times 250$ mL)로 추출했다. 합한 에틸 아세테이트 용액을 물(250mL, 층 분리는 느리고, 100mL의 염수를 첨가하여 분리를 개선함)로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축하여 49.7g의 조 갈색 고형물을 제공했다. 조 수율은 112%였다.  $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 433.0, 435.0$ .  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.08 (dd,  $J = 6.2, 2.5$ Hz, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.58 (t,  $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.75 (t,  $J = 5.7$ Hz, 1H), 3.54 (t,  $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.45 (dd,  $J = 11.1, 5.2$ Hz, 2H).

[0597]

단계 I: 3-(4-(2-아미노에틸아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로요오다이드



[0598]

[0599]

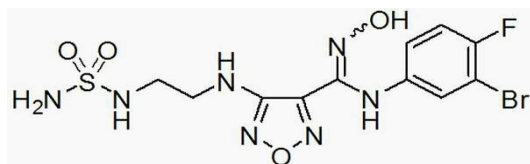
3-(4-(2-아지도에틸아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 (80.0g, 0.194mol)을 메탄올(800mL)와 혼합했다. 요오드화나트륨(175.0g, 1.17mol)을 첨가했다. 반응물을 실온에서 10분 동안 교반했다. 클로로트리메틸실란(148mL, 1.17mol)을 메탄올(100mL)에서 용해시키고, 30분에 걸쳐 반응물에 첨가했다. 반응 온도는 42℃로 상승했다. 반응물을 실온에서 30분 동안 교반했다. LCMS는 반응 완료를 나타내었다 ( $M+H = 386$ ). 반응물을 물(900mL) 중의 티오황산나트륨(190.0g, 1.20mol)로 급랭시켰다. 다량의 고형물이 침전했다. 생성물을 여과로 수집하고 (여과 속도는 느리다), 물(200mL)로 행구고, 밤새 진공 상에서 건조시켰다. 필터 케이크를 에틸 아세테이트(500mL)에서 30분 동안 슬러리화했다. 생성물을 여과하고 (여과 속도는 느리다), 진공 하에 주말에 걸쳐 건조시켜 **95g의** 회백색 고형물을 제공했다.  $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z = 384.9, 386.9$ .  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

[0600]

실시예 23

[0601]

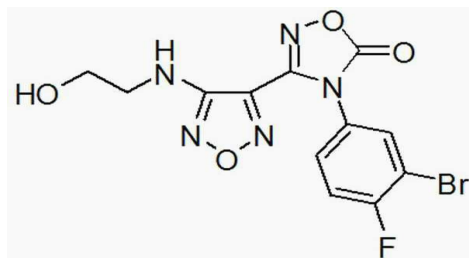
4-({2-[(아미노설포닐)아미노]에틸}아미노)-*N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N*'-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복스이미드아미드의 대안적인 제조



[0602]

[0603]

단계 A: 4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-(4-(2-히드록시에틸아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



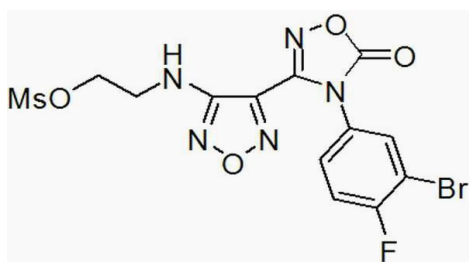
[0604]

[0605]

0℃에서 22L 플라스크에서 교반하면서, 디클로로메탄(12L) 중의 4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-(4-(2-메톡시에틸아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 (이는 실시예 1, 단계 A-G의 따라 제조됨; 1232g, 3.08mol)의 용액에, 온도가 10℃를 초과하지 않을 정도로 삼브롬화붕소(354mL, 3.67mL)를 적가했다. 1 시간 동안 얼음 상에서 교반한 후, 포화 수성 중탄산나트륨(2L)의 용액을, 온도가 20℃ (추가 시간 10분)를 초과하지 않을 정도로 주의깊게 첨가했다. 수득한 혼합물을 50L 분별 깔때기로 옮기고, 물(10L)로 희석하고, 수성 층의 pH를, 고형 중탄산나트륨을 사용하여 1 내지 8로 조정했다. 층을 분리하고, 유기 층을 물(10L)로 세정하고, 용매를 진공에서 제거하여 황갈색 고형물(다중 시행으로 가공된 24mol, 9.54kg, 정량 수율)을 제공했다. 물질을 4 용적의 7:1 헵탄:에틸 아세테이트(4×22L 플라스크)에서 슬러리화하고, 여과하고, 건조시켜 표제 화합물을 황갈색 고형물(8679g, 94%)로서 제공했다. 생성물은 히드록시- 및 상응하는 브로모-종의 혼합물이었다.

[0606]

단계 B: 2-(4-(4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일)-1,2,5-옥사디아졸-3-일아미노)에틸 메탄설포네이트



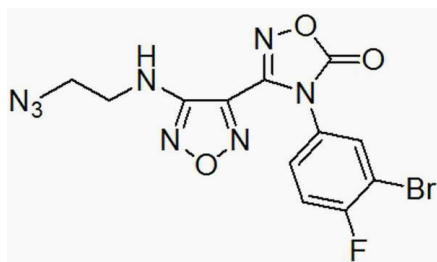
[0607]

[0608]

에틸 아세테이트(12L) 중의 4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-3-{4-[(2-히드록시에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(1.5kg, 3.9mol, 상응하는 브로모-화합물의 일부도 함유)의 용액에 메탄설포닐 클로라이드(185mL, 2.4mol)를 1시간에 걸쳐 실온에서 적가했다. 트리에틸아민(325mL, 2.3mol)을 45분에 걸쳐 적가하고, 이 시간 동안에 반응 온도는 35℃로 상승했다. 2시간 후, 반응 혼합물을 물(5L) 및 염수(1L)로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 동일한 크기의 3개 초과와 혼합물과 합하고, 용매를 진공에서 제거하여 목 적 생성물(7600g, 정량 수율, 상응하는 브로모-화합물의 일부를 함유함, 주의: 성가신 먼지×)을 황갈색 고형물로서 제공했다.  $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6Na$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 485.9, 487.9.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

[0609]

단계 C: 3-(4-(2-아지도에틸아미노)-1,2,5-옥사디아졸-3-일)-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온



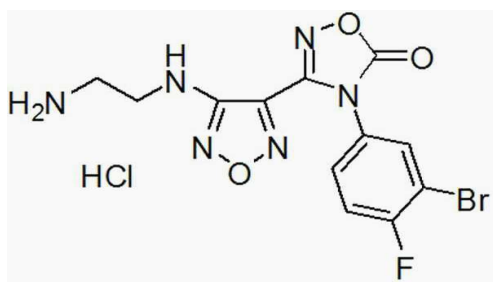
[0610]

[0611]

22L 플라스크에서 교반하면서, 디메틸포름아미드(4L) 중의 2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸 메탄설포네이트(2.13kg, 4.6mol, 상응하는 브로모-화합물의 일부도 함유)의 용액에 아지드화나트륨(380g, 5.84mol)을 첨가했다. 반응물을 50℃에서 6시간 동안 가열하고, 얼음/물(8L)에 붓고, 1:1 에틸 아세테이트:헵탄(20L)으로 추출했다. 유기 층을 물(5L)과 염수(5L)로 세정하고, 용매를 진공에서 제거하여 목적 생성물(1464g, 77%)을 황갈색 고형물로서 제공했다.  $C_{12}H_8BrFN_3O_3Na$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 433.0, 435.0.  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400MHz):  $\delta$  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).

[0612]

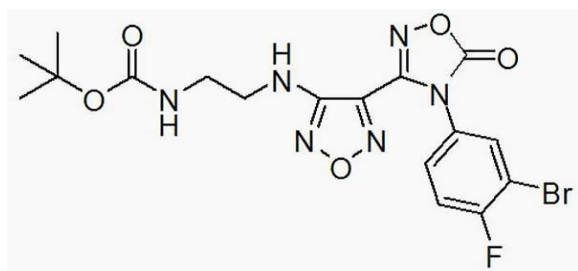
단계 D: 3-{4-[4-(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온 히드로클로라이드



[0613]

[0614]

단계 D, 파트 1: tert-부틸 2-(4-(4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일)-1,2,5-옥사디아졸-3-일아미노)에틸카바메이트



[0615]

[0616]

요오드화나트륨(1080g, 7.2mol)을 메탄올(6L) 중의 3-{4-[4-(2-아지도에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4H)-온(500g, 1.22mol)에 첨가했다. 혼합물을 30분 동안 교반하고, 이 시간 동안에 가벼운 발열이 관찰되었다. 클로로트리메틸실란(930mL, 7.33mol)을, 온도가 35℃를 초과하지 않을 정도로 메탄올(1L) 중의 용액으로서 적가했고, 반응물을 3.5시간 동안 실온에서 교반했다. 반응물을 물(~1.5L) 중의 티오황산나트륨 5수화물의 33중량% 용액으로 중화시키고, 물(4L)로 희석하고, pH를, 고형 탄산칼륨(250g - 소량으로 첨가됨: 거품 관찰)로 주의깊게 9로 조정했다. 디-tert-부틸 디카보네이트(318g, 1.45mol)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 교반했다. 추가 탄산칼륨(200g)을 50g 씩 4시간에 걸쳐 첨가하여, pH를 여전히 9 이상으로 보장했다. 실온에서 밤새 교반한 후, 고형물을 여과하고, 물(2L)로 분쇄하고, 그 다음, MTBE(1.5L)로 분쇄했다. 총 11회 시행을 수행했다(5.5kg, 13.38mol). 합한 고형물을 1:1 THF:디클로로메탄(24L, 20L 회전식 증발기 플라스크에서 4회 시행, 50℃, 1시간)로 분쇄하고, 여과하고, 디클로로메탄(3L 각각 시행)으로 세정하여 회백색 고형물을 제공했다. 조 물질을 55℃ 테트라히드로푸란(5mL/g)에 용해시키고, 탈색 탄소(2중량%) 및 실리카겔(2중량%)로 처리하고, 셀라이트를 통해 뜨겁게 여과하여 생성물을 회백색 고형물

(5122g)로서 제공했다. 합한 MTBE, THF, 및 디클로로메탄 여과물을 진공에서 농축하고, 크로마토그래피(2kg 실리카겔, 0 내지 100% 에틸 아세테이트 구배를 갖는 헵탄, 30L)를 수행하여 더 많은 생성물(262g)을 제공했다. *tert*-부틸 2-(4-(4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일)-1,2,5-옥사디아졸-3-일아미노)에틸카바메이트의 합한 고형물을 대류 오븐에서 일정 중량으로 건조시켰다(5385g, 83%).

[0617] 단계 D, 파트 2: 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온 히드로클로라이드

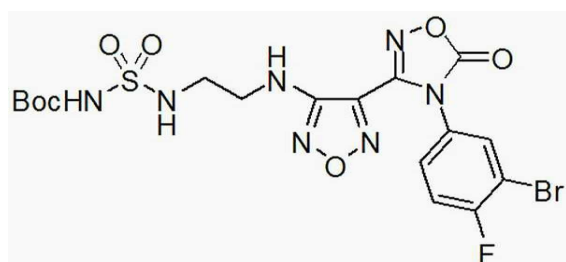
[0618] 방법 A:

[0619] 22L 플라스크에 염화수소(1,4-디옥산 중 4N의 용액, 4L, 16mol)를 충전했다. *tert*-부틸 [2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸]카바메이트 (2315g, 4.77mol)를 부분적으로 10분에 걸쳐 고형물로서 첨가했다. 슬러리를 실온에서 교반하고, 이는 교반될 수 있는 증점된 페이스트로 천천히 되었다. 밤새 실온에서 교반한 후, 페이스트를 에틸 아세테이트(10L)에서 슬러리화하고, 여과하고, 에틸 아세테이트(5L)에서 재슬러리화하고, 여과하고, 일정 중량으로 건조시켜 목적 생성물을 백색 고형물(다른 시행과 조합, 5kg 개시 물질 충전, 4113g, 95%)로서 제공했다.  $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$  (MH)<sup>+</sup>에 대한 LCMS:  $m/z$  = 384.9, 386.9.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

[0620] 방법 B:

[0621] *tert*-부틸 [2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸]카바메이트(5000g)를 1,4-디옥산(10L) 중의 이소프로판올(20L) 및 4N HCl의 혼합물에 실온에서 첨가했다. 배치를 40 내지 45℃로 가열하고, 1시간 동안 유지했다. 에틸 아세테이트를 40 내지 45℃에서 배치에 첨가하고, 2.5시간 동안 유지했다. 반응 완료시에, HPLC로 나타난 바와 같이, 헵탄(10L)을 배치에 첨가했다. 배치를 25℃로 냉각시켰다. 생성물을 여과로 분리하고, 습윤 케이크를 에틸 아세테이트(3×5.0L)로 세정했다. 생성물을 진공 오븐에서 20℃에서 건조시켜 4344g(93.4% 수율)의 표제 화합물을 제공했다. 이 로트(lot)의 LC-MS,  $^1H$  및  $^{13}C$  NMR, 및 HPLC 데이터는 방법 A로 제조한 생성물과 동일하였다.

[0622] 단계 E: *tert*-부틸 ({[2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸]아미노}설포닐)카바메이트



[0623]

[0624] 5L 환저 플라스크에 클로로설포닐 이소시아네이트[Aldrich, 제품 번호 142662](149mL, 1.72mol) 및 디클로로메탄(1.5L)를 충전하고, 빙욕을 사용하여 2℃로 냉각했다. 디클로로메탄(200mL) 중의 *tert*-부탄올(162mL, 1.73mol)을, 온도가 10℃를 초과하지 않을 정도로 적가했다. 수득한 용액을 실온에서 30 내지 60분 동안 교반하여 *tert*-부틸 [클로로설포닐]카바메이트를 제공했다.

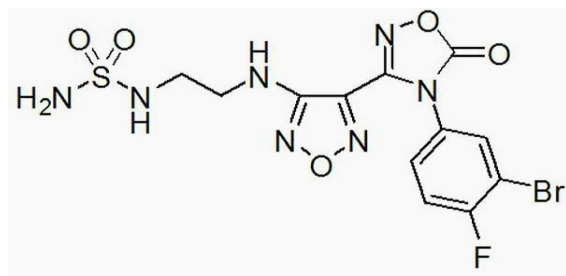
[0625] 22L 플라스크에 3-{4-[(2-아미노에틸)아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}-4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5(4*H*)-온 히드로클로라이드(661g, 1.57mol) 및 8.5L 디클로로메탄을 충전했다. 얼음/염 배쓰로 -15℃로 냉각한 후, *tert*-부틸 [클로로설포닐]카바메이트 (상기와 같이 제조됨)의 용액을, 온도가 -10℃를 초과하지 않을 정도로 (추가 시간 7분) 첨가했다. 10분 동안 교반한 후, 트리에틸아민(1085mL, 7.78mol)을, 온도가 -5℃를 초과하지 않을 정도로 (추가 시간 10분) 첨가했다. 냉욕을 제거하고, 반응물을 10℃로 가온하고, 2부분으로 분리하고, 10% 농축 HCl(4.5L 각각 부분)로 중화시켰다. 각각 부분을 50L 분별 깔때기로 옮기고, 에틸 아세테이트



트로 희석하고 백색 고형물(~25L)을 완전히 용해시켰다. 층을 분리하고, 유기 층을 물(5L)과 염수(5L)로 세정하고, 용매를 진공에서 제거하여 회백색 고형물을 제공했다. 고형물을 MTBE(2×1.5L)로 분쇄하고, 일정 중량으로 건조시켜 백색 고형물을 제공했다. 총 4113g의 개시 물질을 이러한 방식으로 가공했다(5409g, 98%).  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

[0626]

단계 F: *N*-[2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸]설퍼미드



[0627]

[0628]

방법 A: 트리플루오로아세트산 사용

[0629]

98:2 트리플루오로아세트산:물(8.9L)를 함유하는 22L 플라스크에 *tert*-부틸 ({[2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸]아미노}설폰닐)카바메이트(1931g, 3.42mol)를 부분적으로 10분에 걸쳐 첨가했다. 수득한 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반하고, 용매를 진공에서 제거하고, 디클로로메탄(2L)로 추출했다. 수득한 고형물을 새로운 98:2 트리플루오로아세트산:물(8.9L)로 2회 처리하고, 1시간 동안 40 내지 50°C에서 가열하고, 용매를 진공에서 제거하고, 디클로로메탄(3×2L)으로 추출했다. 수득한 백색 고형물을 진공 건조 오븐에서 50°C에서 밤새 건조시켰다. 총 5409g을 이러한 방식으로 가공했다(4990g, 정량 수율).  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{BrFN}_7\text{O}_5\text{S}$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ )에 대한 LCMS:  $m/z$  = 463.9, 465.9.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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, 6.3 Hz).

[0630]

방법 B: 염산 사용

[0631]

이소프로판올(9L) 중의 *tert*-부틸 ({[2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸]아미노}설폰닐)카바메이트(4500g)의 용액에 디옥산(8.0L) 중의 4N HCl을 첨가했다. 반응 혼합물을 40 내지 45°C로 가열하고, 이 온도에서 약 5시간 동안 유지했다. 반응의 완료시(HPLC 분석으로 나타냄), 헵탄(72L)를 반응 혼합물에 첨가했다. 수득한 혼합물을 68°C로 가열하고, 이 온도에서 1시간 동안 유지했다. 배치를 약 23°C로 냉각했다. 고형 생성물을 여과로 수집했다. 습윤 케이크를 헵탄(16L) 및 이소프로판올(1.2L)의 혼합물로 세정하고, 필터 깔때기 상에서 흡입 하 건조시켰다. 조 생성물을 에틸 아세테이트(10.8L)에서 약 43°C에서 용해시켰다. 헵탄(32.4L)를 에틸 아세테이트 용액에 15분에 걸쳐 첨가했다. 배치를 70°C로 가열하고, 이 온도에서 1시간 동안 유지했다. 배치를 21°C로 냉각하고, 고형 생성물을 여과로 수집했다. 습윤 케이크를 헵탄(14.4L)으로 세정하고, 필터 깔때기 상에서 흡입 하 건조시켰다. 생성물의 수율은 3034g였다. 이 로트의 LC-MS,  $^1\text{H}$  및  $^{13}\text{C}$  NMR, 및 HPLC 데이터는 방법 A로 제조한 생성물과 동일했다.

[0632]

단계 G: (*Z*)-4-({2-[(아미노설폰닐)아미노]에틸}아미노)-*N*-(3-브로모-4-플루오로페닐)-*N'*-히드록시-1,2,5-옥사디아졸-3-카르복시미드아미드

[0633]

방법 A:

[0634]

22L 플라스크에서 교반하면서, 잔류량의 트리플루오로아세트산을 함유하는 *N*-[2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페



닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸]설파미드(2.4mol)의 혼합물에 THF(5L)를 첨가했다. 수득한 용액을 빙욕으로 0℃로 냉각하고, 2N NaOH(4L)를, 온도가 10℃를 초과하지 않을 정도로 첨가했다. 실온에서 3시간 동안 교반한 후 (LCMS는 개시 물질이 남아있지 않다는 것을 나타내었다), pH를, 농축 HCl(~500mL)로 3 내지 4로 조정했다. THF를 진공에서 제거하고, 수득한 혼합물을 에틸 아세테이트(15L)로 추출했다. 유기 층을 물(5L)과 염수(5L)로 세정하고, 용매를 진공에서 제거하여 고형물을 제공했다. 고형물을 MTBE(2×2L)로 분쇄하고, 동일한 크기의 3개의 다른 반응물과 합하고, 대류 오븐에서 밤새 건조시켜 백색 고형물(3535g)을 제공했다. 고형물을 재결정화하고(3×22L 플라스크, 2:1 탈이온된 초여과 물:에탄올, 14.1L 각각 플라스크), 50℃ 대류 오븐에서 일정 중량으로 건조시켜 표제 화합물을 회백색 고형물(3290g, 78%)로서 제공했다.  $C_{11}H_{14}BrFN_7O_4S$  (M+H)<sup>+</sup>에 대한 LCMS: m/z = 437.9, 439.9. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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-선 결정학적 분석은, 옥심 관능기의 탄소-질소 이중결합 (C=N)에 대해 Z-배열(Z-이성질체)을 채택한다는 것을 측정했다.

[0635] 방법 B:

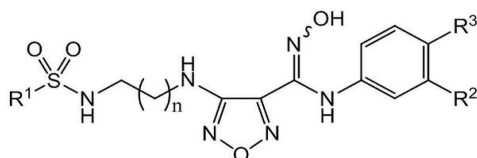
[0636] N-[2-({4-[4-(3-브로모-4-플루오로페닐)-5-옥소-4,5-디히드로-1,2,4-옥사디아졸-3-일]-1,2,5-옥사디아졸-3-일}아미노)에틸]설파미드(1500g)을 THF(6.0L)에 첨가하고, 배치를 2℃로 냉각했다. 트리플루오로아세트산(0.006L)을 2℃에서 배치에 첨가하고, 그 다음, 수성 수산화나트륨 용액(4.8L의 물 중의 384g의 고형 NaOH)을 0 내지 2℃에서 첨가했다. 배치를 약 16℃까지 가온하고, 5시간 동안 유지했다. 반응의 완료 시에, HPLC로 나타낸 바와 같이, 농축 염산(0.7L)을 첨가하여, 배치의 pH를 3 내지 4로 조정했다. 약 4L의 용매를 감압하에 증류로 배치로부터 제거했다. 배치를 에틸 아세테이트(18.0L)에 첨가하고, 2염기성 혼합물을 15분 동안 교반했다. 유기 층을 물(6.0L) 및 염수(6.0L)로 순차적으로 세정했다. 유기 용액을 무수 황산마그네슘 상에서 건조시켰다. 황산마그네슘을 여과하고, 여과물을 감압하에 증발 건조시켰다. 수득한 고형물에 MTBE(3.0L)를 첨가하고, 슬러리를 15분 동안 교반했다. 고형 생성물을 여과로 분리했다. 필터 케이크를 MTBE(1.2L) 및 헵탄(1.2L)로 순차적으로 세정했다. 고형물을 필터 깔때기 상에서 흡입 하 건조시켜 1416g(87.9%)의 생성물을 제공했다. 생성물(2440g, 2개의 배치로 연음)을, MTBE(9.6L)에서 17℃에서 2시간 동안 재슬러리화하여 추가 정제했다. 배치를 30분 동안 6℃로 냉각했다. 고형 생성물을 여과로 수집하고, 습윤 케이크를 MTBE(3.6L) 및 헵탄(1.2L)로 순차적으로 세정했다. 생성물을 진공 오븐에서 20℃에서 건조시켜 1962g의 표제 화합물을 81.7% 수율로 제공했다. 이 로트의 LC-MS, <sup>1</sup>H 및 <sup>13</sup>C NMR, 및 HPLC 데이터는 방법 A에 의해 제조된 생성물과 동일했다.

[0637] 실시예 24

[0638] 화합물 데이터

[0639] 실시예 1 내지 19의 화합물에 대한 물리적 및 생물학적 활성 데이터를 선택하는 것은 하기의 표 2에 요약되어 있다. IC<sub>50</sub> 데이터는 실시예 A에 제공된 분석물로부터이다.

표 2



[0640]

실시예 번호	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	n	IDO IC <sub>50</sub> (nM)	MS [M+H]
1	NH <sub>2</sub>	Br	F	1	<200	437.9, 439.9
2	Me	Br	F	1	<200	437.0, 439.0
3	NH <sub>2</sub>	Br	F	2	<100	451.8, 453.9
4	Me	Br	F	2	<100	451.0, 453.0
5	NH <sub>2</sub>	Cl	F	1	<200	394.0
6	Me	Cl	F	1	<200	393.0
7	NH <sub>2</sub>	Cl	F	2	<200	408.1
8	Me	Cl	F	2	<200	407.1
9	NH <sub>2</sub>	CF <sub>3</sub>	F	1	<100	428.0
10	Me	CF <sub>3</sub>	F	1	<100	427.0
11	NH <sub>2</sub>	CF <sub>3</sub>	F	2	<100	442.0
12	Me	CF <sub>3</sub>	F	2	<100	441.1
13	NH <sub>2</sub>	CF <sub>3</sub>	H	1	<500	410.0
14	Me	CF <sub>3</sub>	H	1	<200	409.1
15	NH <sub>2</sub>	CF <sub>3</sub>	H	2	<200	424.0
16	Me	CF <sub>3</sub>	H	2	<200	423.1
17	Me	CH <sub>3</sub>	F	1	<500	373.1
18	NH <sub>2</sub>	CN	F	1	<750	385.0
19	Me	CN	F	1	<500	406.0*

\*[M + Na]

[0641]

[0642] 실시예 25

[0643] 화합물 데이터

[0644] 실시예 20 및 21의 화합물에 대한 IDO IC<sub>50</sub> 데이터(실시예 A 참조)는 하기의 표 3에 제공된다.

표 3

실시예 번호	IDO IC <sub>50</sub> (nM)
20	<500
21	<750

[0645]

[0646] 실시예 26

[0647] NMR 데이터

[0648] 실시예 1-21의 화합물에 대한 <sup>1</sup>H NMR 데이터(Varian Inova 500 분광분석기, Mercury 400 분광분석기, 또는 Varian(또는 Mercury) 300 분광분석기)는 하기의 표 4에 제공된다.

표 4

실시예 번호	용매	MHz	<sup>1</sup> H NMR 스펙트럼
1	DMSO-d <sub>6</sub>	400	δ 11.5 (s, 1 H), 8.89 (s, 1 H), 7.17 (dd, J = 8.8, 8.6 Hz, 1 H), 7.09 (dd, J = 6.1, 2.7 Hz, 1 H), 6.76 - 6.72 (m, 1 H), 6.56 (dd, J = 6.1, 6.1 Hz, 1 H), 6.51 (s, 2 H), 6.17 (dd, J = 5.9, 5.9 Hz, 1 H), 3.27 - 3.21 (m, 2 H), 2.94 - 2.88 (m, 2 H), 1.78 - 1.71 (m, 2 H)
2	DMSO-d <sub>6</sub>	400	δ 11.49 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 7.17 (m, 2H), 7.09 (dd, J = 6.3, 2.5 Hz, 1H), 6.26 (t, J = 6.1 Hz, 1H), 3.33 (m, 2H), 3.13 (q, J = 6.0 Hz, 2H), 2.89 (s, 3H)
3	DMSO-d <sub>6</sub>	400	δ 11.5 (s, 1 H), 8.89 (s, 1 H), 7.17 (dd, J = 8.8, 8.6 Hz, 1 H), 7.09 (dd, J = 6.1, 2.7 Hz, 1 H), 6.76 - 6.72 (m, 1 H), 6.56 (dd, J = 6.1, 6.1 Hz, 1 H), 6.51 (s, 2 H), 6.17 (dd, J = 5.9, 5.9 Hz, 1 H), 3.27 - 3.21 (m, 2 H), 2.94 - 2.88 (m, 2 H), 1.78 - 1.71 (m, 2 H)
4	CD <sub>3</sub> OD	400	δ 7.12 (dd, J = 5.9, 2.4 Hz, 1H), 7.05 (t, J = 8.7 Hz, 1H), 6.83 (m, 1H), 3.39 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.14 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 2.94 (s, 3H), 1.87 (m, 2H)
5	DMSO-d <sub>6</sub>	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 <sub>6</sub>	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 <sub>6</sub>	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 <sub>3</sub> 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 <sub>6</sub>	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 <sub>6</sub>	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 <sub>6</sub>	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 <sub>6</sub>	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 <sub>3</sub> 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)

[0649]



14	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	500	δ 11.63 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.39 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 7.21 (m, 2H), 7.10 (s, 1H), 6.99 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 1H), 6.28 (t, <i>J</i> = 5.4 Hz, 1H), 3.36 (q, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H), 3.17 (q, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H), 2.91 (s, 3H)
15	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	400	δ 11.6 (s, 1 H), 9.12 (s, 1 H), 7.37 (dd, <i>J</i> = 8.0, 8.0 Hz, 1 H), 7.21 - 7.18 (m, 1 H), 7.07 (s, 1 H), 6.95 (d, <i>J</i> = 10.0 Hz, 1 H), 6.52 (br s, 3 H), 6.17 (t, <i>J</i> = 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- <i>d</i> <sub>6</sub>	400	δ 11.6 (s, 1 H), 9.11 (s, 1 H), 7.37 (dd, <i>J</i> = 8.0, 8.0 Hz, 1 H), 7.20 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1 H), 7.07 - 7.01 (m, 2 H), 6.96 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1 H), 6.20 (t, <i>J</i> = 5.9 Hz, 1 H), 3.27 - 3.22 (m, 2 H), 2.99 - 2.94 (m, 2 H), 2.87 (s, 3 H), 1.78 - 1.71 (m, 2 H)
17	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	400	δ 11.25 (s, 1H), 8.61 (s, 1H), 7.18 (m, 1H), 6.91 (m, 1H), 6.72 (m, 1H), 6.58 (m, 1H), 6.24 (s, 2H), 3.32 (m, 2H), 3.11 (m, 2H), 2.89 (s, 3H), 2.05 (s, 3H).
18	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	400	δ 11.65 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.34 (t, <i>J</i> = 9.1 Hz, 1H), 7.22 (dd, <i>J</i> = 5.4, 2.8 Hz, 1H), 7.13 (m, 1H), 6.70 (t, <i>J</i> = 5.9 Hz, 1H), 6.59 (s, 2H), 6.20 (t, <i>J</i> = 6.1 Hz, 1H), 3.34 (m, 2H), 3.09 (m, 2H)
19	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	400	δ 11.65 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.35 (m, 1H), 7.18 (m, 3H), 6.56 (m, 1H), 6.23 (m, 1H), 6.24 (s, 2H), 3.32 (m, 2H), 3.14 (m, 2H), 2.89 (s, 3H).
20	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	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> <sub>6</sub>	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)

[0650]

**실시예 A: 인간 인돌아민 2,3-디옥시게나아제(IDO) 효소 분석**

[0651]

[0652]

N-말단 히스 태그(His tag)를 갖는 인간 인돌아민 2,3-디옥시게나아제(IDO)를 이. 콜라이에서 발현시키고 정제하여 균질하게 했다. IDO는 트립토판의 인돌핵의 피롤(pyrrole) 환의 산화적 절단(cleavage)에 촉매작용을 하여 N'-포르밀키누레닌을 생성한다. 50mM 인산칼륨 완충액(pH 6.5) 중에 20mM 아스코베이트, 5 μM 메틸렌 블루 및 0.2 mg/mL 카탈라아제(catalase)의 존재하에 95nM IDO 및 2mM D-Trp를 사용하여 문헌에 기술된 바와 같이 실온에서 분석을 수행하였다. N'-포르밀키누레닌의 형성으로 인한 321nm에서의 흡광도 증가를 지속적으로 관찰함으로써 초기 반응 속도를 기록하였다(Sono, M., *et al.*, 1980, *J. Biol. Chem.* 255, 1339-1345).

[0653]

**실시예 B: HeLa 세포에 기초한 인돌아민 2,3-디옥시게나아제(IDO)/키누레닌 분석에서의 억제제 활성의 결정**

[0654]

HeLa 세포(#CCL-2)를 미국 미생물보존센터(American Type Culture Collection; ATCC)(미국 버지니아주 매너스 소재)로부터 구입하여 1.5g/L 탄산수소나트륨, 0.1mM 비필수 아미노산, 1mM 피루브산나트륨 및 10% 우태아혈청(모두 Invitrogen 제품)을 함유하도록 조정된 2mM L-글루타민 및 얼스 BSS(Earle's BSS)를 갖는 최소 필수 배지(eagle)에서 일상적으로 유지시켰다. 세포를 5% CO<sub>2</sub>가 공급된 습식 항온배양기에서 37°C에 두었다. 하기와 같이 분석을 수행하였다: HeLa 세포를 96웰 배양 플레이트에 웰당 5×10<sup>3</sup>의 밀도로 씨딩하고 밤새 성장시켰다. 다음날, 세포에 IFN-γ (50ng/mL 최종 농도) 및 연속 희석된 화합물(총 부피 200 μL 배양 배지)을 첨가하였다. 항온배양 48시간 후, 웰당 140 μL의 상청액을 새로운 96웰 플레이트로 옮겼다. 10 μL의 6.1N 트리클로로아세트산(#T0699, Sigma)을 각각 웰에 혼합하고 50°C에서 30분 동안 배양하여, 인돌아민 2,3-디옥시게나아제에 의해 생성된 N-포르밀키누레닌을 키누레닌으로 가수분해하였다. 그 다음, 상기 반응 혼합물을 2500rpm에서 10분 동안 원심분리하여 침전물을 제거하였다. 웰당 100 μL의 상청액을 또 다른 96웰 플레이트로 옮기고 아세트산 중에서 2%(w/v) p-디메틸-아미노벤즈알데하이드(# 15647-7, Sigma-Aldrich) 100 μL와 혼합하였다. 키누레닌으로부터 비롯된 황색을 SPECTRAMax 250 마이크로플레이트 리더(Molecular Devices)를 사용하여 480nm에서 측정하였다. L-키누레닌(#K8625, Sigma)을 표준물질로 사용하였다. 상기 표준물질(240 μL, 120 μL, 60 μL,

30  $\mu$ L, 15  $\mu$ L, 7.5  $\mu$ L, 3.75  $\mu$ L, 1.87  $\mu$ L)을 100  $\mu$ L 배양 배지에서 제조하고, 동일한 부피의 2%(w/v) *p*-디메틸 아미노벤즈알데하이드와 혼합하였다. 각각의 농도에서의 억제 백분율을 결정하고 2회 반복의 평균값을 제공했다. 상기 데이터를 비선형 회귀에 의해 분석하여 IC<sub>50</sub> 값을 생성하였다(Prism Graphpad)(참조: Takikawa O, *et al.*, 1988, *J. Biol. Chem.*, 263(4): 2041-8).

[0655] 실시예 C: IDO 발현 수지상 세포에 의해 억제되는 T-세포 증식에 대한 IDO 억제제의 효과의 결정

[0656] 단핵구를 루코포레시스(leukophoresis)에 의해 인간 말초 단핵세포로부터 회수하였다. 그 다음, 단핵구를, 10% 우태아혈청 및 2mM L-글루타민이 첨가된 RPMI 1640 배지(모두 Invitrogen 제품)를 사용하여, 96웰 플레이트에  $1 \times 10^6$  세포/웰의 밀도로 씨딩하였다. 부착 세포를 37°C에서 밤새 배양한 후 상기 플레이트에 유지시켰다. 그 다음, 부착 단핵구를 100ng/ml GM-CSF(# 300-03, PeproTech) 및 250ng/ml IL-4(#200-04, PeproTech)로 5 내지 7일 동안 자극한 후, 살모넬라 티피무리움(*Salmonella typhimurium*)으로부터의 5  $\mu$ g/mL LPS(#437650, Sigma) 및 50ng/mL IFN- $\gamma$  (# 285-IF, R&D Systems)로 추가로 2일간 활성화시켜서 수지상 세포 성숙을 유도하였다.

[0657] 수지상 세포 활성화 후, 상기 배지를 100 내지 200U/mL IL-2(#CYT-209, ProSpec-Tany TechnoGene) 및 100ng/mL 항-CD3 항체(#555336, PharMingen), T-세포(2 내지  $3 \times 10^5$  세포/웰), 및 연속 희석된 IDO 화합물이 보충된 완전한 RPMI 1640으로 교체하였다. 2일 동안 더 항온배양한 후, 제조사의 지침에 따라 비색 세포 증식(colorimetric Cell Proliferation) ELISA 키트(#1647229, Rochemolecular Biochemicals)를 사용하여, BrdU 혼입 분석에 의해, T-세포 증식을 측정하였다. 세포를 10  $\mu$ M BrdU 라벨링 용액의 존재하에 16 내지 18시간 동안 연속해서 배양하였다. 그 다음, 라벨링 배지를 제거하고, 세포에 웰당 200  $\mu$ L FixDenat를 첨가하고 실온에서 30분 동안 항온배양하였다. 상기 FixDenat 용액을 제거하고 100  $\mu$ L/웰 항-BrdU-POD 항체 컨쥬게이트(conjugate) 작업 용액을 첨가하였다. 실온에서 90분 동안 반응을 수행하였다. 그 다음, 상기 항체 컨쥬게이트를 제거하고, 세포를 200  $\mu$ L/웰 세척 용액으로 3회 린스하였다. 마지막으로, 100  $\mu$ L/웰의 기질 용액을 첨가하고, 발색 과정에서 마이크로플레이트 리더(Spectra Max PLUS, Molecular Devices)를 사용하여 결과를 수득하였다. 다양한 시점에서 다수의 측정치를 수득하여, 상기 데이터가 선형 범위 내였음을 확인하였다. 상기 데이터를 반복 실험을 통해 일상적으로 수득하였으며, 적절한 대조군이 포함되었다(참조: Terness P, *et al.* 2002, *J. Exp. Med.*, 196(4): 447-57; and Hwu, P, *et al.* 2000, *J. Immunol.*, 164(7): 3596-9).

[0658] 실시예 D: IDO 억제제의 생체내 항종양 활성 시험

[0659] 생체내 항종양 효능은 변형된 종양 동종이식/이종이식 프로토콜을 사용하여 시험할 수 있다. 예를 들어, 면역 감응성(immune-competent) 마우스에서 IDO 억제가 세포독성 화학치료법과 함께 상승효과를 나타낼 수 있다고 문헌에 기술되어 왔다(Muller, A.J., *et al.* 2005, *Nat. Med.* 11:312-319). 이 상승효과는, 면역 감응성 동계(syngenic) 마우스에서 성장한 뮤린의 종양 이종이식 모델(예컨대 B16 및 연관 변이체, CT-26, LLC)에서의 시험용 IDO 억제제의 상승 효과를, 중화 항-CD4 항체로 처리한 동계 마우스 또는 면역 불감응성(immune-compromised) 마우스(예컨대 nu/nu)에서 성장한 동일한 종양에서 관찰된 상승 효과와 비교함으로써, T-세포에 좌우되는 것으로 나타났다.

[0660] 면역 감응성 마우스와 면역 불감응성 마우스에서의 차별적인 항종양 효과의 개념은 단일 제제로서의 시험용 IDO 억제제의 시험을 허용할 수도 있다. 예를 들어, LLC 종양은 이들의 동계 숙주 계통인 C57B1/6에서 잘 성장한다. 하지만, 이들 마우스를 IDO 억제제인 1-MT(위약(placebo) 대비)로 처리하는 경우, 종양의 형성이 현저하게 지연되는데, 이는 IDO 억제가 성장을 억제하였음을 의미한다(Friberg, M., *et al.* 2002, *Int. J. Cancer* 101:151-155). 이 논리에 따라, C57B1/6 면역 감응성 마우스에서 성장한 LLC 이종이식 종양 모델에서의 IDO 억제제의 효능을 조사할 수 있으며, 이를 누드(nude) 또는 SCID 마우스(또는 T-세포 활성을 중화시키는, 항체 처리된 C57B1/6 마우스)에서의 LLC 종양 성장에 대한 IDO 억제제의 효과와 비교할 수 있다. IDO의 종양 매개된 면역 억제 활성을 제거하는 효과가, 상이한 종양 모델의 면역원성 잠재력에 따라 달라질 것이기 때문에, 종양 세포를 유전적으로 변형시켜 이들의 면역원성 잠재력을 증가시킬 수 있다. 예를 들어, B16.F10 세포에서의 GM-CSF의 발현은 이들의 면역원성 잠재력을 증가시킨다(Dranoff, G., *et al.* 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 90:3539-3543). 이러한 것으로서, 일부 종양 모델(예컨대 B16.F10)에서, GM-CSF와 같은 면역 자극 단백질을 발현하는 [다]클론을 생성할 수 있으며, 면역 감응성 마우스 및 면역 불감응성 마우스 모두에서, 이들 종양 세포

로부터 확립된 종양에 대한 IDO 억제제의 성장 억제 효과를 시험할 수 있다.

[0661] 생체내 IDO 억제제의 효능을 평가하기 위한 제3의 방법은 '전면역화(preimmunization)' 무린의 종양 동종이식/이종이식 모델을 사용한다. 이들 모델에서, 면역 감응성 마우스는 특정 종양 항원에 또는 치료적 항종양 백신 접종을 모방하는 항원에 민감해진다. 이는 그 이후에 이종이식 실험에서 마우스를 무린의 종양 세포주(면역화에 사용된 것과 유사한 종양 항원을 가짐)로 면역 시험할 때, 면역계에 의한 항종양 반응 매개를 위해 마우스를 준비시킨다. IDO의 발현이 항종양 반응을 둔화시키고 이종이식편이 보다 빠르게 성장하게 해주는 것으로 나타났다. 중요하게도, 이 모델에서의 종양 성장은 IDO 억제제인 1-MT에 의해 억제된다(Uyttenhove, C., *et al.* 2003, *Nat. Med.* 9:1269-1274). 이 모델은 IDO 활성이 P815 종양 성장을 위해 허용되기 때문에 특히 매력적이며, 따라서 IDO의 특이적 억제가 성장을 억제해야 한다.

[0662] 마지막으로, 치료적 면역화가 생체내 IDO 억제제의 영향을 평가하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, Blk/6 마우스를 종양 세포의 정맥내 주사로 시험한 후, 종양세포에 의해 발현된 잘 특성화된 면역원성 펩타이드(예컨대 TRP-2)로 처리할 수 있음이, B16-BL6 세포를 사용하여 입증되어 왔다(Ji, *et al.*, 2005, *J. Immunol.* 175: 1456-63). 중요하게도, 면역계 변형물질, 예컨대 항-CTL-4 항체는 이러한 치료적 면역화에 대한 반응을 개선시킬 수 있다. IDO 억제제의 영향은, 유사한 방식-IDO 억제제를 갖거나 갖지 않는 종양 펩타이드 면역화로 평가될 수 있다. 효능은 동물 생존(사망 시간)에 의해 평가되거나 또는 정해진 시점에서의 폐 및/또는 다른 기관들의 종양 전이의 측정에 의해 평가된다.

[0663] 상기 언급된 모델의 일부/모두에서, 직접적 및/또는 간접적으로 종양 반응성 면역 세포의 수 및/또는 활성을 측정할 수도 있다. 종양 반응성 면역 세포의 수 및/또는 활성을 측정하는 방법은 잘 확립되어 있으며, 본 기술분야의 숙련자에게 익숙한 기술을 사용하여 수행될 수 있다(Current protocols in Immunology, Vol. 4, Coligan, J. E., *et al.*; *Immunotherapy of cancer*, human Press, 2006, Disis, M.L. 및 본 명세서 내의 참고문헌). 개념적으로, IDO의 면역 억제 효과의 감소는 종양 특이적 면역 세포의 수 또는 반응성을 증가시킬 수 있다. 또한, IDO 억제는 다른 치료제, 예를 들어 화학치료제 및/또는 면역 조절제(예컨대 항-CTLA4 항체)와 병용될 때 종양 반응성 면역 세포의 수 또는 반응성을 추가로 증가시킬 수 있다.

[0664] 모든 동종이식/이종이식 실험은 표준 종양 기술을 사용하여 수행될 수 있다(Corbett, *et al.*, *Cancer Drug Discovery and Development: Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval*, 2<sup>nd</sup> Ed. Teicher, B.A. and Andrews, P.A., Gumana Press Inc.: Totowa, NJ, 2004에 의해 검토됨). 종양 세포주 내로의 유전자(예컨대 IDO, GM-CSF)의 클로닝 및 도입은 본 기술분야의 숙련자에게 익숙한 기술을 사용하여 수행될 수 있다(Sambrook, J. and Russel, D., *molecular Cloning: A laboratory Manual*(3<sup>rd</sup> edition), Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, NY, 2001에서 검토됨).

## [0665] 실시예 E: 인간 면역결핍 바이러스-1(HIV-1) 뇌염 모델에서의 IDO 억제제의 생체내 시험

### [0666] 1. 세포 분리 및 바이러스 감염

[0667] 단핵구 및 PBL을 HIV-1, 2 및 B형 간염 혈청반응 음성의(seronegative) 공여자로부터 백혈구성분채집술(leukapheresis) 팩의 역류 원심 현탁분리(elutriation)에 의해 수득할 수 있다. 단핵구를, 10% 열 불활화 혼주(heat-inactivated pooled) 인간 혈청, 1% 글루타민, 50 µg/mL 젠타마이신, 10 µg/mL 시프로플록사신(Sigma), 및 1000U/mL 고도 정제된 재조합 인간 대식세포 콜로니 자극 인자가 보충된 돌베코 변형 이글 배지(Dulbecco's modified Eagle's Medium; DMEM)(Sigma-Aldrich) 중에서, 테프론 플라스크를 사용하여 현탁 배양으로 배양한다. 배양 7일 후, MDM을 감염 다중도 0.01의 HIV-1<sub>ADA</sub>로 감염시킨다.

### [0668] 2. Hu-PBL-NOD/SCID HIVE 마우스

[0669] 4주령 웅성 NOD/C.B-17 SCID 마우스를 구입할 수 있다(Jackson Laboratory). 동물을 병원균이 없는 조건하에 멸균 미세분리 케이지(microisolator cage)에서 유지한다. PBL 이식 3일 전 모든 동물에 랫트 항-CD122(0.25mg/마우스)와 PBL 주사( $20 \times 10^6$  세포/마우스) 하루 전과 3일 후 래빗 아시알로(asialo)-GM1 항체(0.2mg/마우스)(Wako)를 복강내로 주사한다. HIV-1<sub>ADA</sub> 감염된 MDM( $10 \mu\text{L}$  중의  $3 \times 10^5$  세포)을 hu-PBL-NOD/SCID



HIVE 마우스를 생성시키는 PBL 재구성(reconstitution) 8일 후 두개내(i.c)로 주사한다. HIV-1 감염된 MDM을 두개내로 주사한 후 즉시 상기 hu-PBL-NOD/SCID HIV 마우스에 대조군(비히클) 또는 화합물 펠렛(14 또는 28일 서방형, Innovative Research)을 피하(s.c)로 이식한다. 초기 실험을 IDO 화합물로 처리한 hu PBL-NOD/SCID HIV 동물에서 바이러스 특이적 CTL의 유도를 확인하도록 설계한다. 이는 4합체(tetramer) 염색 및 뇌 조직으로부터의 MDM 제거의 신경병리학적 분석에 의해 확인된다. 그 다음, 상기 실험을 인간 림프구 재구성, 체액성 면역 반응, 및 신경병리학적 변화를 분석하도록 설계한다. 이들 실험에서, 동물을 7일째에 출혈시키고 인간 MDM의 두개내 주사 후 14일 및 21일째에 희생시킨다. EDTA 함유 튜브에 회수한 혈액을 유세포 분석에 사용하고 혈장을 ELISA(Beckman Coulter™)를 사용한 HIV-1 p24의 검출에 사용한다. HIV-1 특이적 항체를 제조사의 지침(Cambridge Biotech HIV-1 Western blot kit, Calypte Biomedical)에 따라 웨스턴 블롯 시험에 의해 검출한다. 유사한 양의 바이러스 특이적 항체를 대조군과 화합물 처리 동물에서 검출한다. 총 세 가지 독립 실험을 세 가지 상이한 인간 백혈구 공여자를 사용하여 수행할 수 있다.

[0670] 3. hu PBL-NOD/SCID HIV 마우스에서의 말초 혈액 및 비장의 FACScan

[0671] 인간 MDM의 두개내 주사 후 1 내지 3주가 지난 후에 말초 혈액에 대해 2색 FACS 분석을 수행할 수 있으며 2주와 3주가 지난 후에 비장세포에 대해 2색(two-color) FACS 분석을 수행할 수 있다. 세포들을 인간 CD4, CD8, CD56, CD3, IFN- $\gamma$ 에 대한 형광색소-컨쥬게이트된 단일클론 항체(mAbs)(eBioscience)와 함께 4°C에서 30분 동안 항온배양한다. 세포성 면역 반응을 평가하기 위하여, 항-인간 CD8 및 FITC-컨쥬게이트된 항-마우스 CD45와 조합하여 IFN- $\gamma$  세포내 염색을 수행하여, 뮤린 세포들을 배제한다. Ag-특이적 CTL을 결정하기 위하여, HIV-1<sup>gag</sup>(p17(aa77-85) SLYNTVATL, SL-9) 및 HIV-1<sup>pol</sup>[(aa476-485) ILKEPVHGV, IL-9]에 대한 알로피코시아닌(allophycocyanin)-컨쥬게이트된 4합체 염색을, 식물성 혈구응집소(phytohemagglutinin)/인터류킨-2(pHA/IL-2) 자극된 비장세포에 대해 수행한다. 세포들을, NIH/미국 국립 알레르기 및 감염성 질병 연구소, 국립 4합체 핵심 기관의 권고에 따라 염색한다. 데이터를 셀퀘스트(CellQuest) 소프트웨어를 사용하는 FACS Calibur™(Becton Dickinson Immunocytometry System)로 분석하였다.

[0672] 4. 조직병리학 및 영상 분석

[0673] MDM의 두개내 주사 후 14일 및 21일이 지난 후에 뇌 조직을 회수하고, 4% 인산완충 파라포름알데하이드에서 고정하여, 추후 사용을 위해 파라핀에 포매하거나 -80°C에서 동결시킨다. 주사 부위를 확인하기 위하여, 포매된 블록으로부터 관상 단면(coronal section)을 절개한다. 각각 마우스의 경우, 인간 MDM 주사 부위로부터 30 내지 100개(5 $\mu$ m 두께)의 연속 단면을 절개하고, 3 내지 7개의 슬라이드(10 단면 떨어져 있음)를 분석한다. 뇌 단면을 자일렌으로 파라핀을 제거하고 경사(gradient) 알콜에서 수화시킨다. 면역조직화학적 염색은, 항원 회복을 위하여 0.01mol/L 구연산 완충액에서의 95°C까지의 가열에 의한 항원 회복을 사용하여, 기초적인 간접 프로토콜을 따른다. 마우스 뇌에서 인간 세포를 확인하기 위하여, 모든 인간 백혈구를 확인하는, 비메틴(vimentin)에 대한 mAb(1:50, clone 3B4, Dako Corporation)를 사용한다. 인간 MDM 및 CD8<sup>+</sup> 림프구를 각각 CD68(1:50 희석, clone KP 1) 항체 및 CD8(1:50 희석, clone 144B) 항체로 검출한다. 바이러스 감염된 세포를 HIV-1 p24에 대한 mAb(1:10, clone Kal-1, 모두 Dako 제조)로 라벨링한다. 반응성 뮤린 미세아교 세포를 Iba-1 항체(1:500, Wako)로 검출한다. 인간 IDO(huIDO)의 발현을 핫카이드 대학 의학 대학원 중앙 연구소 세포 약리학부(일본 삿포로 소재)로부터 수득한 Abs로 시각화한다. 일차 항체를 적절한 바이오틴화 이차 항체로 검출하고, 아비딘-바이오틴 복합체(Vectastain Elite ABC kit, Vector Laboratories) 및 호스래디시 퍼옥시다아제(HRP) 커플링된 텍스트란 중합체(EnVision, Dako Corporation)로 시각화한다. 면역 염색된 단면을 마이어 헤마톡실린(Mayer's hematoxylin)으로 대비염색한다. 일차 항체가 제거되거나 관련없는 IgG 이소타입(isotype)이 유입된 단면이 대조군으로 제공하였다. 블라인드(blind) 방식으로 두 명의 독립된 관찰자가 각각 마우스로부터 얻은 각각 단면 내 CD8<sup>+</sup> 림프구, CD68<sup>+</sup> MDM 및 HIV-1 p24<sup>+</sup> 세포의 수를 센다. 니콘 이클립스 800 현미경(Nikon Eclipse 800 microscope)(Nikon Instruments Inc)으로 광학 현미경 검사를 수행한다. 앞서 기술한 바와 같이, 컴퓨터 활용 영상 분석(Image-Pro® Plus, Media Cybernetics)에 의해 Iba1에 대한 반정량적 분석(면역염색이 차지하는 면적의 백분율)을 수행한다.



[0674] 5. 통계학적 분석

[0675] 데이터를, 비교용 스튜던트 t-검정 및 ANOVA를 갖는 프리즘(Prism)(Graph Pad)을 사용하여 분석할 수 있다. 0.05 미만의 P 값을 유의한 것으로 간주하였다.

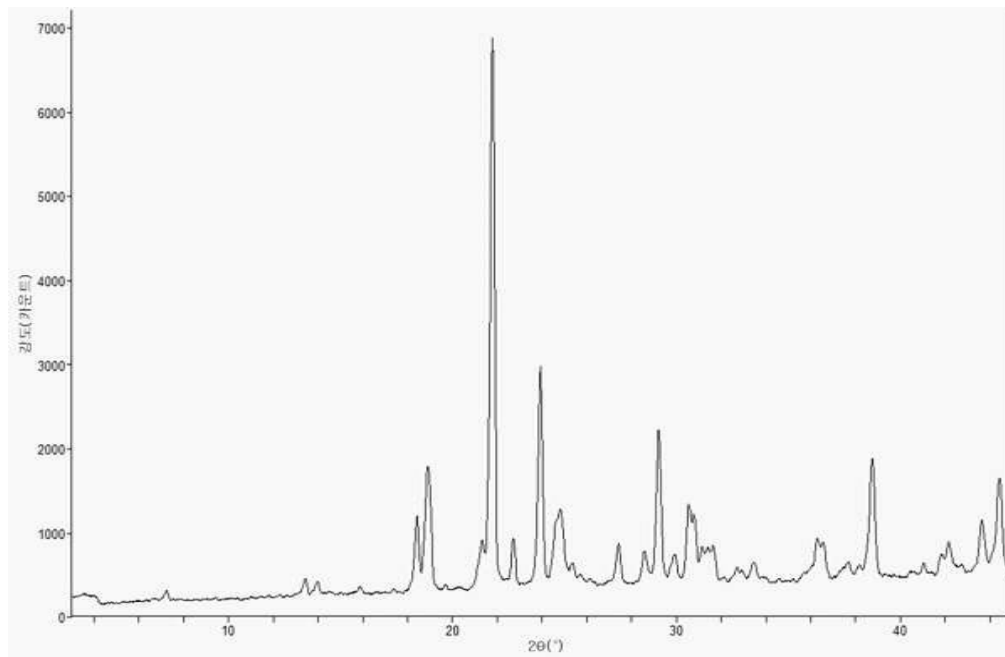
[0676] 6. 참고문헌

[0677] Poluektova LY, Munn DH, Persidsky Y, and 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.

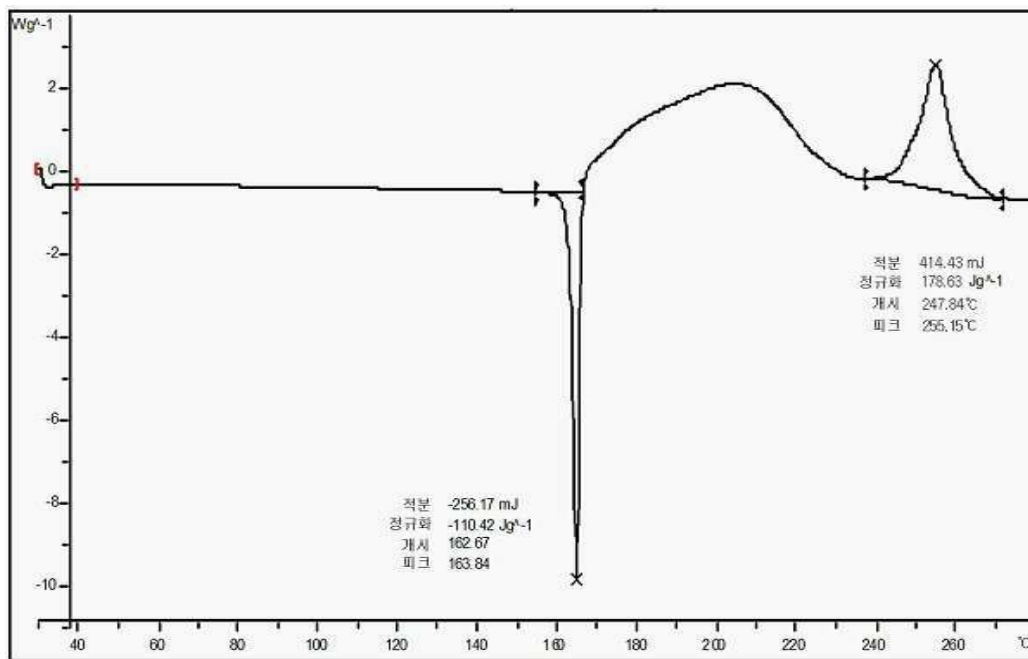
[0678] 본 명세서에 설명된 것 이외의, 본 발명의 다양한 변형은 상기 언급한 설명으로부터 본 기술분야의 숙련자에게 자명할 것이다. 이러한 변형은 또한 첨부된 청구항의 범주에 속하는 것으로 의도된다. 본 출원에 언급된 특허, 특허 출원 및 공개 모두를 포함하는 각각의 참고문헌은 전체가 참조로서 본 발명에 포함된다.

도면

도면1



도면2



도면3

