

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201890183 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.12.30

(51) Int. Cl. C07D 413/04 (2006.01)
C07D 271/08 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2009.07.07

(54) 1,2,5-ОКСАДИАЗОЛЫ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ ИНДОЛАМИН-2,3-ДИОКСИГЕНАЗЫ

(31) 61/078,876; 61/150,873

(32) 2008.07.08; 2009.02.09

(33) US

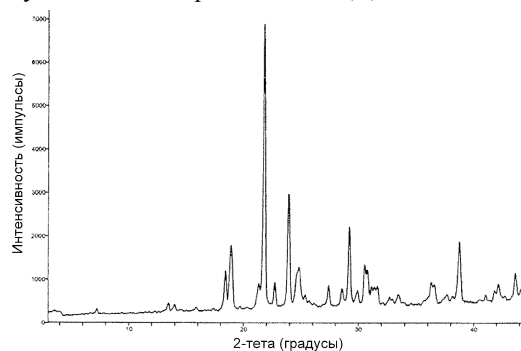
(62) 201500530; 2009.07.07

(71) Заявитель:
ИНСАЙТ ХОЛДИНГС
КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:
Комбс Эндрю П., Юэ Эдди В., Спаркс
Ричард Б., Чжу Вэньюй, Чжоу Цзячэн,
Лин Циянь, Вен Линкай, Юэ Тай-
Юйэнь, Лю Пинли (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение направлено на производные 1,2,5-оксадиазола и их композиции, которые являются ингибиторами индоламин-2,3-диоксигеназы и полезны в лечении рака и других расстройств, а также способы и промежуточные соединения для получения таких производных 1,2,5-оксадиазола.



A1

201890183

201890183

A1

1,2,5-ОКСАДИАЗОЛЫ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ ИНДОЛАМИН-2,3-ДИОКСИГЕНАЗЫ

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится к производным 1,2,5-оксадиазола, которые являются ингибиторами индоламин-2,3-диоксигеназы и пригодные для лечения рака и других расстройств, и к способам и промежуточным соединениям для их получения.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Триптофан (Trp) представляет собой неотъемлемую аминокислоту, необходимую для биосинтеза белков, ниацина и нейромедиатора 5-гидрокситриптамина (серотонин). Фермент индоламин-2,3-диоксигеназа (также известный как INDO или IDO) катализирует первую, ограничивающую скорость стадию разложения L-триптофана до N-формил-кинуренина. В человеческих клетках, истощение Trp в результате действия IDO — это очевидный противомикробный эффекторный механизм, индуцируемый гамма-интерфероном (IFN- γ). Стимуляция IFN- γ индуцирует активацию IDO, что ведет к истощению Trp, таким образом останавливая рост Trp-зависимых внутриклеточных патогенов, таких как *Toxoplasma gondii* и *Chlamydia trachomatis*. Активность IDO также включает антипролиферативное действие на многочисленные опухолевые клетки, и индукция IDO наблюдается *in vivo* в ходе отторжения аллогенных опухолей, указывая на возможную роль данного фермента в процессе отторжения опухоли (Daubener, et al., 1999, Adv. Exp. Med. Biol., 467: 517-24; Taylor, et al., 1991, FASEB J., 5: 2516-22).

Наблюдалось, что клетки HeLa, культивируемые совместно с лимфоцитами периферической крови (PBLs), приобретают ингибирующий иммунитет фенотип путем регуляции активности IDO. Считается, что уменьшение пролиферации PBL при обработке интерлейкином-2 (IL2) является результатом высвобождения IDO клетками опухоли в ответ на секрецию IFNG PBL. Данный эффект изменяли обработкой 1-метил-триптофаном (1MT) — специфическим ингибитором IDO. Допускается, что активность IDO в клетках

опухоли может служить цели ослабления противоопухолевых реакций (Logan, et al., 2002, *Immunology*, 105: 478-87).

В последнее время больше внимания уделяется иммунорегулирующей роли истощения Trp. Несколько линий доказательств свидетельствуют, что IDO вовлечен в индукцию иммунной толерантности. Исследования беременности, резистентности опухоли, хронических инфекций и аутоиммунных заболеваний у млекопитающих показали, что клетки, которые экспрессируют IDO, могут подавлять реакции Т-клеток и способствовать толерантности. Ускоренный катаболизм наблюдается при заболеваниях и расстройствах, связанных с иммунной активацией клеток, например, инфекция, злокачественное новообразование, аутоиммунные заболевания и СПИД, а также в ходе беременности. Например, повышенные уровни интерферонов и повышенные уровни метаболитов Trp в моче наблюдаются при аутоиммунных заболеваниях; был выдвинут постулат, что системное или местное истощение Trp, которое возникает при аутоиммунных заболеваниях, возможно, связано с дегенерацией и симптомами истощения при этих заболеваниях. В подтверждение данной гипотезы, высокие уровни IDO наблюдались в клетках, выделенных из синовия артритных суставов. Уровни интерферонов также повышаются у людей, инфицированных вирусом иммунодефицита (ВИЧ), и повышение уровней интерферона связано с прогнозом ухудшения. Таким образом, допускается, что IDO индуцируется хронической ВИЧ-инфекцией, и, кроме того, его содержание увеличивается при оппортунистических инфекциях, и что хроническая потеря Trp инициирует механизмы, ответственные за кахексию, слабоумие, понос и, возможно, иммуносупрессию у больных СПИДом (Brown, et al., 1991, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 294: 425-35). С этой точки зрения, недавно было продемонстрировано, что ингибирование IDO может увеличивать уровни специфических по отношению к вирусу Т-клеток и одновременно уменьшать количество инфицированных вирусом макрофагов на модели ВИЧ у мышей (Portula et al., 2005, *Blood*, 106: 2382-90).

Считается, что IDO играет роль в процессах угнетения иммунитета, которые предупреждают отторжение эмбриона в матке.

Более 40 лет назад наблюдали, что в ходе беременности генетически незрелое оплодотворенное яйцо млекопитающих выживает, невзирая на прогноз иммунологии пересадки ткани (Medawar, 1953, *Symp. Soc. Exp. Biol.* 7: 320-38). Анатомический отсек матери и утробного плода и антигенная незрелость утробного плода не могут полностью объяснять выживания аллотрансплантированного эмбриона. В последнее время внимание сосредоточено на иммунологической толерантности матери. Поскольку IDO экспрессируется человеческими синцитиотрофобластными клетками, и системная концентрация триптофана снижается на протяжении нормальной беременности, выдвинута гипотеза, что экспрессия IDO в материнско-эмбрионном интерфейсе необходима для предупреждения иммунологического отторжения эмбрионного аллотрансплантата. Чтобы проверить данную гипотезу, беременных мышей (с сингенными или аллогенными утробными плодами) подвергали действию 1MT, и наблюдалось быстрое, индуцируемое Т-клетками отторжение всех аллогенных оплодотворенных яиц. Таким образом, по-видимому, путем катаболизма триптофана оплодотворенное яйцо млекопитающих подавляет активность Т-клеток и защищает себя от отторжения, а блокирование катаболизма триптофана в ходе мышинной беременности позволяет материнским Т-клеткам провоцировать отторжение аллотрансплантированного эмбриона (Munn, et al., 1998, *Science*, 281: 1191-3).

Последующие доказательства механизма иммунорезистентности опухолей, основанной на разложении триптофана под действием IDO, полученные в результате наблюдения, что большинство человеческих опухолей конститутивно экспрессируют IDO, и что экспрессия IDO клетками иммуногенной опухоли мышцы предупреждает их отторжение предварительно иммунизированными мышами. Такое влияние сопровождается отсутствием аккумуляции специфических Т-клеток в месте опухоли и может быть частично обращено системным лечением мышей ингибитором IDO, при отсутствии заметной токсичности. Таким образом, это наводит на мысль, что эффективность терапевтической вакцинации больных раком может быть повышена сопутствующим введением ингибитора IDO

(Uyttenhove *et al.*, 2003, *Nature Med.*, 9: 1269–74). Также продемонстрировано, что ингибитор IDO, 1-MT, может осуществлять синергетическое действие с химиотерапевтическими средствами с целью уменьшения роста опухолей у мышей, указывая на то, что ингибирование IDO также может усиливать противоопухолевую активность обычной цитотоксической терапии (Muller *et al.*, 2005, *Nature Med.*, 11: 312–9).

Один из механизмов, которые способствуют отсутствию иммунологической реакции против опухолей, может заключаться в презентации антигенов опухоли толерогенными хозяина APCs. Также описано подмножество экспрессирующих IDO человеческих антиген-презентирующих клеток (APCs), созэкспрессирующих CD123 (IL3RA) и CCR6 и подавляющих пролиферацию Т-клеток. Как зрелые, так и незрелые CD123-положительные дендритные клетки подавляли активность Т-клеток, и такая подавляющая IDO активность блокировалась 1MT (Munn, *et al.*, 2002, *Science*, 297: 1867–70). Также продемонстрировано, что дренирующие опухоль лимфатические узлы у мышей (TDLNs) содержат подмножество плазмацитоидных дендритных клеток (pDC), которые конститутивно экспрессируют иммуносупрессивные уровни IDO. Несмотря на содержание только 0,5% клеток лимфатического узла, *in vitro* эти pDC мощно подавляют реакции Т-клеток на антигены, презентованные непосредственно pDC, а также доминирующим образом подавляют реакции Т-клеток на антигены третьей стороны, презентованные несупрессорными APCs. В пределах популяции pDC, большая часть опосредствованной функциональным IDO супрессорной активности отделена с новым подмножеством pDC, созэкспрессирующих маркер В-выстилки CD19. Таким образом, выдвинута гипотеза, что опосредствованное IDO угнетение pDCs в TDLNs создает местное микроокружение, которое мощно подавляет противоопухолевые реакции Т-клеток хозяина (Munn, *et al.*, 2004, *J. Clin. Invest.*, 114(2): 280–90).

IDO разлагает индолный фрагмент триптофана, серотонина и мелатонина, и инициирует выработку нейроактивных и иммунорегулирующих метаболитов, коллективно известных как кинуренины. Путем локального истощения триптофана и увеличения

проапоптотических кинуренинов IDO, экспрессирующийся дендритными клетками (DCs), может существенно поражать пролиферацию и выживание Т-клеток. Индукция IDO в DCs может быть распространенным механизмом делеционной толерантности, которой управляют регуляторные Т-клетки. Поскольку можно ожидать, что такие толерогенные реакции действуют при разнообразных физиопатологических состояниях, метаболизм триптофана и продуцирование кинуренина могут представлять критический интерфейс между иммунной и нервной системами (Grohmann, et al., 2003, *Trends Immunol.*, 24: 242-8). При состояниях постоянной иммунной активации, доступность свободного Trp в сыворотке уменьшается и, как результат сниженной выработки серотонина, серотонинергические функции также могут быть нарушены (Wirleitner, et al., 2003, *Curr. Med. Chem.*, 10: 1581-91).

Интересно, что при введении интерферона- α наблюдалась индукция нейропсихиатрических побочных эффектов, таких как депрессивные симптомы и изменения когнитивной функции. Прямое влияние на серотонинергическую нейромедиацию, возможно, способствует таким побочным эффектам. Кроме того, поскольку активация IDO приводит к снижению уровней триптофана, прекурсора серотонина (5-HT), IDO может играть роль в развитии таких нейропсихиатрических побочных эффектов, уменьшая центральный синтез 5-HT. К тому же, метаболиты кинуренинов, например, 3-гидроксикинуренин (3-OH-KYN) и хинолиновая кислота (QUIN) оказывают токсичное действие на функции мозга. 3-OH-KYN может вызывать окислительный стресс, увеличивая выработку реакционноспособных форм кислорода (ROS), и QUIN может вызывать избыточную стимуляцию рецепторов N-метил-D-аспартата (NMDA) в гиппокампе, что приводит к апоптозу и атрофии гиппокампа. Как избыточная выработка ROS, так и атрофия гиппокампа, вызванная избыточной стимуляцией NMDA, связаны с депрессией (Wichers and Maes, 2004, *J. Psychiatry Neurosci.*, 29: 11-17). Таким образом, активность IDO может играть роль в механизме депрессии.

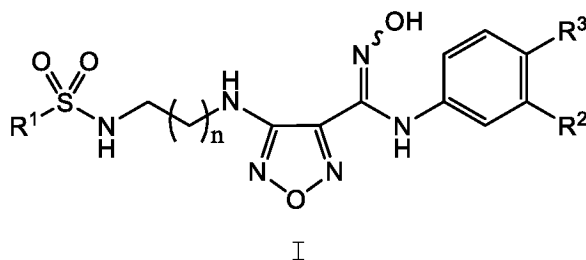
Созданы низкомолекулярные ингибиторы IDO для лечения или предупреждения связанных с IDO заболеваний, таких как описанные

выше. Например, оксадиазол и другие гетероциклические ингибиторы IDO раскрыты в патенте США 2006/0258719 и патенте США 2007/0185165. В публикации РСТ WO 99/29310 раскрыты способы изменения опосредствованного Т-клетками иммунитета, включающие изменение местных внеклеточных концентраций триптофана и метаболитов триптофана, с применением ингибитора IDO, такого как 1-метил-DL-триптофан, п-(3-бензофуранил)-DL-аланин, п-[3-бензо(b) тиенил]-DL-аланин и 6-нитро-L-триптофан) (Munn, 1999). В WO 03/087347, также опубликованной как Европейский Патент 1501918, раскрыты способы получения антиген-презентирующих клеток для увеличения или уменьшения толерантности Т-клеток (Munn, 2003). Соединения, которые обладают ингибирующей индоламин-2,3-диоксигеназу (IDO) активностью, дополнительно раскрыты в WO 2004/094409; и публикация патентной заявки США № 2004/0234623 направлена на способы лечения субъекта с раком или инфекцией путем введения ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы в комбинации с другими схемами лечения.

В свете экспериментальных данных, которые указывают на роль IDO в угнетении иммунитета, резистентности и/или отторжении опухоли, хронических инфекциях, ВИЧ-инфекции, СПИДе (в частности, его проявлениях, таких как кахексия, слабоумие и понос), аутоиммунных заболеваниях или расстройствах (таких как ревматоидный артрит) и иммунологической толерантности и предотвращении отторжения эмбриона *in utero*, желательными являются терапевтические средства, направленные на угнетение разложения триптофана путем ингибирования активности IDO. Ингибиторы IDO могут применяться для активации Т-клеток и, таким образом, усиления активации Т-клеток, когда Т-клетки угнетены беременностью, злокачественным новообразованием или вирусом, например, ВИЧ. Ингибирование IDO может также быть важной стратегией лечения для пациентов с неврологическими или нейропсихиатрическими заболеваниями или расстройствами, такими как депрессия. Соединения, композиции и способы в данном описании помогают удовлетворить существующую потребность в модуляторах IDO.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данном изобретении предлагаются, в частности, ингибиторы IDO Формулы I:



или их фармацевтически приемлемые соли, где переменные определены в данном описании.

В данном изобретении дополнительно предлагается фармацевтическая композиция, содержащая соединение Формулы I и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

В данном изобретении дополнительно предлагается способ ингибирования активности индоламин-2,3-диоксигеназы, включающий контакт индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) с соединением Формулы I или его фармацевтически приемлемой солью.

В данном изобретении дополнительно предлагается способ угнетения иммуносупрессии у пациента, который включает введение указанному пациенту эффективного количества соединения Формулы I или его фармацевтически приемлемой соли.

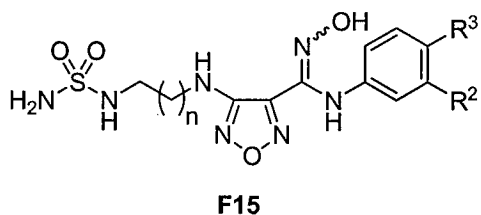
В данном изобретении дополнительно предлагается способ лечения рака, вирусной инфекции, депрессии, нейродегенеративного расстройства, травмы, возрастной катаракты, отторжения пересаженного органа или аутоиммунного заболевания у пациента, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соединения Формулы I или его фармацевтически приемлемой соли.

В данном изобретении дополнительно предлагается способ лечения меланомы у пациента, который включает введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соединения Формулы I или его фармацевтически приемлемой соли.

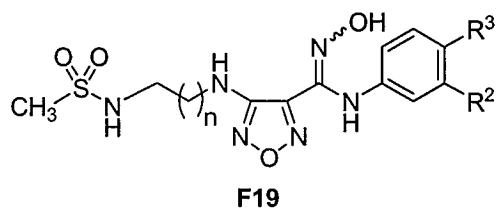
В данном изобретении дополнительно предлагается соединение Формулы I или его фармацевтически приемлемая соль для применения в терапии.

В данном изобретении дополнительно предлагается применение соединения Формулы I, или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства с целью применения в терапии.

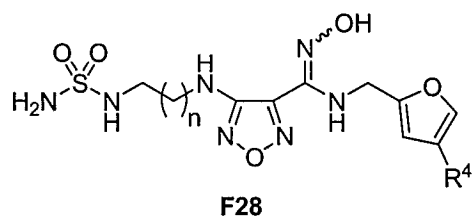
В данном изобретении дополнительно предлагаются промежуточные соединения, способы их получения и содержащие их композиции, пригодные для получения соединения Формулы F15:



В данном изобретении дополнительно предлагаются промежуточные соединения, способы их получения и содержащие их композиции, пригодные для получения соединения Формулы F19:



В данном изобретении дополнительно предлагаются промежуточные соединения, способы их получения и содержащие их композиции, пригодные для получения соединения Формулы F28:



КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

Фиг. 1 демонстрирует пример рентгеноструктурной дифрактограммы, характерной для соединения по изобретению, полученного в Примере 1.

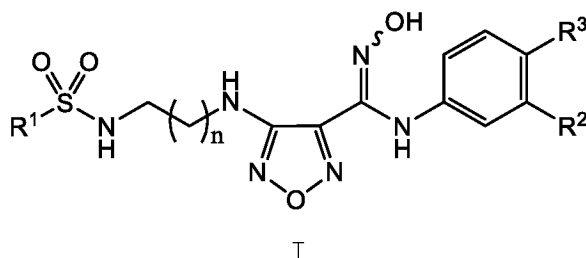
Фиг. 2 демонстрирует термограмму DSC, характерную для соединения по изобретению, полученного в Примере 1.

Фиг. 3 демонстрирует характеристику данных ТГА соединения

по изобретению, полученного в Примере 1.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данном изобретении предлагаются, среди прочего, ингибиторы IDO Формулы I:



или их фармацевтически приемлемые соли, где:

R₁ представляет собой NH₂ или CH₃;

R₂ представляет собой Cl, Br, CF₃, CH₃ или CN;

R₃ представляет собой H или F; и

n равно 1 или 2.

В некоторых вариантах R₁ представляет собой NH₂.

В некоторых вариантах R₁ представляет собой CH₃.

В некоторых вариантах R₂ представляет собой Cl.

В некоторых вариантах R₂ представляет собой Br.

В некоторых вариантах R₂ представляет собой CF₃.

В некоторых вариантах R₂ представляет собой CH₃.

В некоторых вариантах R₂ представляет собой CN.

В некоторых вариантах R₃ представляет собой H.

В некоторых вариантах R₃ представляет собой F.

В некоторых вариантах n равно 1.

В некоторых вариантах n равно 2.

Соединения по данному изобретению могут существовать в различных твердых формах. В данном описании "твердая форма" обозначает твердое вещество, которое характеризуется одним или больше свойствами, например, температурой плавления, растворимостью, стабильностью, кристаллическостью, гигроскопичностью, содержанием воды, показателями ТГА, показателями DSC, показателями ДСВ, показателями РГАДП и т.п. Формы твердых веществ, например, могут быть аморфными, кристаллическими, или могут быть смесями указанных компонентов.

Различным кристаллическим твердым формам обычно

свойственные разные кристаллические решетки (например, единичные ячейки) и, обычно в результате этого, разные физические свойства. В некоторых случаях, разные кристаллические твердые формы содержат разное количество воды или растворителя. Разные кристаллические решетки могут быть идентифицированы методами описания твердого состояния, такими как рентгеноструктурный анализ дифракции порошка (РГАДП). Другие способы описания, такие как дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC), термогравиметрический анализ (ТГА), динамическая сорбция паров (ДСВ) и подобные дополнительно помогают идентифицировать твердую форму, а также помогают определить стабильность и содержание растворителя/воды.

В одном из аспектов данного изобретения предлагаются различные твердые формы 4-({2-[(аминосульфонил)амино]этил}амино)-N-(3-бром-4-фторфенил)-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида (см. Пример 1). В некоторых вариантах твердая форма представляет собой кристаллическое твердое вещество. В некоторых вариантах твердая форма является в существенной мере безводной (например, содержит менее чем приблизительно 1% воды, менее чем приблизительно 0,5% воды, менее чем приблизительно 1,5% воды, менее чем приблизительно 2% воды). В некоторых вариантах твердая форма характеризуется температурой плавления или эндотермой DSC, центрированной в интервале от приблизительно 162 до приблизительно 166°C. В некоторых вариантах твердая форма характеризуется температурой плавления или эндотермой DSC, центрированной при приблизительно 164°C. В некоторых вариантах твердая форма демонстрирует в существенной мере такую же термограмму DSC, как показано на фиг. 2. В других вариантах, на РГАДП твердой формы присутствуют по меньшей мере один, два или три пики, в единицах 2-тета, выбранные из приблизительно 18,4°, приблизительно 18,9°, приблизительно 21,8°, приблизительно 23,9°, приблизительно 29,2° и приблизительно 38,7°. В других вариантах, твердая форма демонстрирует в существенной мере такой же характер РГАДП, как показано на фиг. 1.

В данном изобретении дополнительно предлагается композиция, содержащая твердую форму 4-({2-[(аминосульфонил) амино] этил} амино) -N- (3-бром-4-фторфенил) -N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида (см. Пример 1). Композиция может содержать по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, или по меньшей мере приблизительно 99%, масс. твердой формы. Композиция может также содержать фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. В некоторых вариантах твердая форма является в существенной мере очищенной.

Характер РГАДП отображения (пики) обычно считается «отпечатком пальцев» конкретной кристаллической формы. Хорошо известно, что относительная интенсивность пиков РГАДП может широко варьировать в зависимости от, среди прочего, техники изготовления образца, распределения размера кристаллов, различных применяемых фильтров, методики монтажа образца и конкретного использованного прибора. В некоторых случаях могут наблюдаться новые пики или существующие пики могут исчезать, в зависимости от вида прибора или установленных параметров. В данном описании, термин «пик» обозначает отображение с относительной высотой/интенсивностью по меньшей мере приблизительно 4% от максимальной высоты/интенсивности пика. Кроме того, инструментальная вариация и другие факторы могут влиять на значение 2-тета. Поэтому, отнесения пиков, например, приведенные в данном описании, могут варьировать в пределах приблизительно $\pm 0,2^\circ$ (2-тета), и термин «в существенной мере» в контексте РГАДП в данном описании предназначен охватывать вышеприведенные вариации.

Таким же образом, значения температуры в связи с DSC, ТГА или другими термическими экспериментами могут варьировать в пределах приблизительно $\pm 3^\circ\text{C}$ в зависимости от прибора, конкретных параметров прибора, способа подготовки образцов и т.п. Соответственно, если кристаллическая форма, приведенная в данном описании, демонстрирует термограмму DSC, «в существенной

мере такую же", как показано на любой из фигур, это предусматривает включение данной вариации.

В разных местах данного описания заместители соединений по изобретению, могут быть раскрыты в группах или в интервалах. Конкретно предусматривается, что изобретение включает каждую и любую индивидуальную подкомбинацию членов таких групп и интервалов.

Предусматривается, что соединения по изобретению являются стабильными. В данном описании "стабильный" обозначает соединение, которое является достаточно устойчивым, чтобы выдержать выделение до пригодной степени чистоты из реакционной смеси, и предпочтительно пригодное к введению в рецептуру эффективного терапевтического средства.

Дополнительно предусматривается, что некоторые признаки изобретения, которые с целью ясности описаны в контексте отдельных вариантов, могут также быть приведены в комбинации в одном и том же варианте. С другой стороны, различные признаки изобретения, которые с целью краткости описаны в контексте одного и того же варианта, могут также быть приведены отдельно или в какой-либо подходящей подкомбинации.

Дополнительно предусматривается, что соединения по изобретению включают все возможные геометрические изомеры. Цис- и транс-геометрические изомеры соединений по данному изобретению описаны и могут быть выделены как смесь изомеров, или как отделенные изомерные формы. Предусматривается, что связь, представленная в структурной формуле волнистой линией "", показывает, что структура представляет цис- или транс-изомер, либо смесь цис- и транс-изомеров в любом соотношении.

Соединения по изобретению также включают таутомерные формы. Таутомерные формы образуются в результате миграции одинарной связи и смежной двойной связи с сопутствующей миграцией протона.

Соединения по изобретению могут также включать все изотопы атомов, присутствующих в промежуточных соединениях или конечных соединениях. Изотопы включают атомы с таким же атомным числом, но разной массой. Например, изотопы водорода включают тритий и

дейтерий.

В некоторых вариантах соединения по изобретению и их соли являются в существенной мере выделенными. "В существенной мере выделенный" означает, что соединение по меньшей мере частично или в существенной мере выделено из окружения, в котором оно была образовано или найдено. Частичное выделение может включать, например, композицию, обогащенную соединением по изобретению. Существенное выделение может включать композиции, содержащие по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 97%, или по меньшей мере приблизительно 99%, масс. соединения по изобретению или его соли. Способы выделения соединений и их солей шаблонно описаны в уровне техники.

Данное изобретение также включает соли соединений, описанных в данном описании. В данном описании "соли" обозначают производные раскрытых соединений, где начальное соединение модифицировано путем превращения существующего кислотного или основного фрагмента в его солевую форму. Примеры солей включают, не ограничиваясь ими, соли минеральных кислот (например, HCl , HBr , H_2SO_4) или органических кислот (например, уксусная кислота, бензойная кислота, трифторуксусная кислота) и основных остатков, таких как амины; соли щелочного металла (например, Li , Na , K , Mg , Ca) или органического основания (например, триалкиламмоний) и кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты; и т.п. Соли по данному изобретению могут быть синтезированы из начального соединения, которое содержит основной или кислотный фрагмент, традиционными химическими способами. В целом, такие соли могут быть получены реакцией свободной кислоты или основания указанных соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе, или в смеси двух растворителей; в целом, неводные среды, такие как эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил (ACN), являются предпочтительными.

“Фармацевтически приемлемые соли” по данному изобретению включают подмножество “солей”, описанных выше, которые представляют собой традиционные нетоксичные соли начального соединения, образованные, например, с нетоксичными неорганическими или органическими кислотами. Перечни пригодных солей можно найти у *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 и *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 (1977), каждая из которых включена в данное описание путем ссылки во всей ее полноте. Фраза “фармацевтически приемлемый” используется в данном описании для обозначения таких соединений, материалов, композиций и/или лекарственных форм, которые являются, в пределах контекста звукового медицинского диагноза, пригодными для применения в контакте с тканями человеческого существа и животных без избыточной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, с рациональным соотношением пользы/риска.

Методы синтеза

Соединения по данному изобретению могут быть получены различными путями, известными специалисту в области органического синтеза. Соединения по данному изобретению могут быть синтезированы с применением описанных ниже способов, вместе с синтетическими методами, известными из уровня техники в области синтетической органической химии или их вариаций, как будет понятно специалистам в данной области.

Соединения по данному изобретению могут быть получены из легко доступных начальных материалов, с использованием следующих общих способов и методик. Следует понимать, что в случае указания типичных или предпочтительных условий (т.е., температура реакции, длительность реакции, молярное соотношение реагентов, растворители, давление и т.п.) способа получения, могут также быть использованы другие условия процесса, если не указано противоположное. Оптимальные условия реакции могут варьировать для конкретных используемых реагентов или растворителей, но такие условия могут быть определены специалистом в данной области шаблонными методами оптимизации.

Контроль процессов, описанных в данном описании, может быть осуществлен в соответствии с любым пригодным способом, известным из уровня техники. Например, образование продукта может контролироваться спектроскопическими средствами, например, спектроскопия ядерного магнитного резонанса (например, ^1H или ^{13}C), спектроскопия в инфракрасной области, спектрофотометрия (например, в видимой или УФ-области) или масс-спектрометрия; или хроматографическими методами, например, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) или тонкослойная хроматография. Соединения, полученные в ходе реакций, могут быть очищены любым пригодным способом, известным из уровня техники. Например, хроматография ВЭЖХ (среднее давление) на подходящем адсорбенте (например, силикагель, кремния диоксид и т.п.), или препаративная тонкослойная хроматография; дистилляция; сублимация, растирание или перекристаллизация.

Получение соединений может включать введение и удаление защитных групп для различных химических групп. Потребность во введении и удалении защитной группы, а также выбор соответствующих защитных групп может быть легко осуществлен специалистом в данной области. Химия защитных групп описана, например, в Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., John Wiley & Sons: New York, 2006, которая включена в данное описание путем ссылки во всей ее полноте.

Реакции способов, описанных в данном описании, могут осуществляться в подходящих растворителях, которые могут быть легко выбраны специалистом в области органического синтеза. Подходящие растворители могут в существенной мере не реагировать с начальными материалами (реагентами), промежуточными соединениями или продуктами при температурах, при которых осуществляются реакции, т.е., температурах, которые могут варьировать от температуры замерзания растворителя до температуры кипения растворителя. Реакция получения может быть осуществлена в растворителе или смеси более чем одного растворителя. В зависимости от стадии реакции, может быть

выбран подходящий растворитель (и) для конкретной указанной стадии реакции. Подходящие растворители включают воду, алканы (например, пентан, гексан, гептан, циклогексан и т.п., или смесь указанных растворителей), ароматические растворители (например, бензол, толуол, ксилен и т.п.), спирты (например, метанол, этанол, изопропанол и т.п.), эфиры (например, диалкиловые эфиры, трет-бутилметилловый эфир (МТВЭ), тетрагидрофуран (ТГФ), диоксан и т.п.), сложные эфиры (например, этилацетат, бутилацетат и т.п.), галогенированные растворители (например, дихлорметан (ДХМ), хлороформ, дихлорэтан, тетрахлорэтан), диметилформамид (ДМФА), диметилсульфоксид (ДМСО), ацетон, ацетонитрил (АСН), гексаметилфосфорамид (ГМФА) и N-метилпирролидон (NMP). Такие растворители могут применяться в водных или безводных формах.

Разделение рацемических смесей соединений может быть осуществлено любым из многочисленных способов, известных из уровня техники. Пример способа включает фракционную перекристаллизацию, с использованием "хиральной разделяющей кислоты", которая представляет собой оптически активную органическую кислоту, образующую соль. Подходящие разделяющие агенты для способов фракционной перекристаллизации представляют собой, например, оптически активные кислоты, например, формы D- и L-винной кислоты, диацетилвинной кислоты, дибензоилвинной кислоты, миндальной кислоты, яблочной кислоты, молочной кислоты или различных оптически активных сульфокамфорных кислот. Разделение рацемических смесей может также быть осуществлено элюацией на колонке, заполненной оптически активным разделяющим агентом (например, динитробензоилфенилглицином). Подходящий состав смеси растворителей для элюации может быть определен специалистом в данной области.

Соединения по изобретению могут быть получены, например, с использованием реакционных путей и способов, описанных ниже.

Способы и промежуточные соединения по данному изобретению пригодны для получения ингибиторов IDO. Общая схема получения соединений F15 по изобретению показана на Схеме 1.

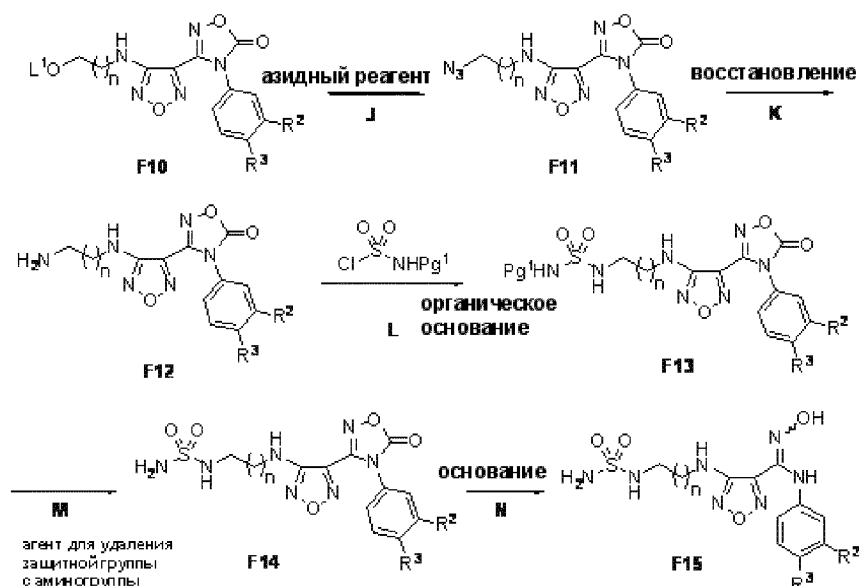


Схема 1

Обращаясь к Схеме 1, в изобретении предлагается способ получения соединений Формулы F15 или их солей, где R_2 представляет собой Cl, Br, CF_3 , CH_3 или CN; R_3 представляет собой H или F; и n равно 1 или 2, путем реакции соединения Формулы F13 или ее солей, где Pg^1 представляет собой защитную группу для аминогруппы, с реагентом для удаления защитной группы с аминогруппы (Стадия M), с получением соединения Формулы F14 или его соли; и реакции соединения Формулы F14 с основанием (Стадия N), с получением соединения Формулы F15. Соединение Формулы F15 может быть очищено растиранием или перекристаллизацией, с использованием таких растворителей, как, например, вода, этанол, МТБЭ или их комбинация.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой Br, R_3 представляет собой F, и n равно 1.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой Br, R_3 представляет собой F, и n равно 2.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой Cl, R_3 представляет собой F, и n равно 1.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой Cl, R_3 представляет собой F, и n равно 2.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой CF_3 , R_3 представляет собой F, и n равно 1.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой CF_3 , R_3

представляет собой F, и n равно 2.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой CF_3 , R_3 представляет собой H, и n равно 1.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой CF_3 , R_3 представляет собой H, и n равно 2.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой CN, R_3 представляет собой F, и n равно 1.

Защитные группы для аминогруппы регулярно применяются в органическом синтезе для предупреждения нежелательных реакций аминогруппы при осуществлении целевого превращения. Защитные группы для аминогруппы позволяют легко осуществить ковалентное присоединение к атому азота, а также селективное отщепление от атома азота. Разнообразные защитные группы для аминогруппы, широко классифицированные как алкоксикарбонил (например, этоксикарбонил, *трет*-бутоксикарбонил (Boc), бензилоксикарбонил (Cbz), 9-флуоренилметилоксикарбонил (Fmoc) и т.п.), ацил (например, ацетил (Ac), бензоил (Bz) и т.п.), сульфонил (например, метансульфонил, трифторметансульфонил и т.п.), арилалкил (например, бензил, дифенилметил, трифенилметил (тритил и т.п.), алкенилалкил (например, аллил, пренил и т.п.), диарилметиленил (например, $(C_6H_5)_2C=N$ и т.п.), и силил (например, *трет*-бутилдиметилсилил, триизопропилсилил и т.п.), известные специалисту в данной области. Химия защитных групп для аминогруппы описана в Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., pp 696-926, John Wiley & Sons: New York, 2006. В некоторых вариантах Rg^1 может представлять собой алкоксикарбонил (например, *трет*-бутоксикарбонил).

Защитные группы для аминогруппы, описанные выше, могут быть подходящим образом удалены с использованием многочисленных доступных реагентов для удаления защитной группы с аминогруппы, которые являются специфическими для разных групп, упомянутых выше, без воздействия на другие целевые фрагменты соединения. Группа *трет*-бутоксикарбонил может быть отщеплена (например, гидролизом) от атома азота, например, обработкой кислотой (например, трифторуксусной кислотой, толуолсульфоновой

кислотой, хлористоводородной кислотой и т.п.); комбинацией реагентов (например, смесь хлорангидрида уксусной кислоты и метанола), которая, как известно, образует кислоту; или кислотой Льюиса (например, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$). Группа бензилоксикарбонил может быть отщеплена (например, гидрогенолизом) от атома азота, например, обработкой водородом и катализатором (например, палладий на угле). В некоторых вариантах реагент для удаления защитной группы с аминогруппы может быть трифторуксусной кислотой. В некоторых вариантах реагент для удаления защитной группы с аминогруппы содержит трифторуксусную кислоту и >0,5%, об. воды, например, >1,0%, об. воды, >1,5%, об. воды, >2,0%, об. воды, от приблизительно 2% до приблизительно 10%, об. воды, от приблизительно 10% до приблизительно 20%, об. воды или от приблизительно 20% до приблизительно 50%, об. воды. В некоторых вариантах реагент для удаления защитной группы с аминогруппы может быть смесью трифторуксусной кислоты и воды в объемном соотношении приблизительно 98:2. В некоторых вариантах реагент для удаления защитной группы с аминогруппы может быть хлористоводородной кислотой, необязательно в растворителе (например, вода, ТГФ или диоксан). В таких вариантах хлористоводородная кислота может быть прибавлена в концентрации приблизительно 4 н, например, приблизительно 1 н, приблизительно 2 н, приблизительно 3 н, приблизительно 5 н, приблизительно 6 н, приблизительно 7 н, приблизительно 8 н, приблизительно 9 н или приблизительно 10 н. В некоторых вариантах удаление защитной группы можно осуществлять в спирте (например, изопропанол). В некоторых вариантах Стадию М (Схема 1) можно осуществлять при температуре от приблизительно -10°C до приблизительно 60°C , например, от приблизительно -10°C до приблизительно 0°C , от приблизительно 0°C до приблизительно 25°C , от приблизительно 25°C до приблизительно 45°C или от приблизительно 45°C до приблизительно 60°C .

Основание может использоваться для превращения (например, гидролизом) оксадиазолонового кольца в F14, чтобы открыть амидоксим в F15, необязательно в растворителе (Стадия N, Схема

1). Защита амидоксима в форме оксадиазолона может быть подходящей для предупреждения побочных реакций гидроксильной группы или амидоксима в целом. Основание может быть или органическим основанием, например, ациклическим амином (например, триэтиламин, диизопропилэтиламин (ДИПЭА) и т.п.) или циклическим амином (например, пирролидин, пиперидин и т.п.); или неорганическим основанием, например, щелочью (например, NaOH, LiOH, KOH, $Mg(OH)_2$ и т.п.). Основание может быть сделано доступным в форме смолы (например, Amberlite® и т.п.). В некоторых других вариантах основание может присутствовать в форме раствора в воде, например, приблизительно 2 н раствора (например, приблизительно 0,5 н раствора, приблизительно 1 н раствора, приблизительно 1,5 н раствора, приблизительно 2,5 н раствора, от приблизительно 3 н до приблизительно 5 н раствора, от приблизительно 5 н до приблизительно 10 н раствора). В некоторых вариантах основание представляет собой гидроксид щелочного металла (например, гидроксид натрия). В некоторых вариантах основание может представлять собой 2 н раствор NaOH в воде. В некоторых вариантах растворитель может быть метанолом или тетрагидрофураном (ТГФ). В некоторых вариантах Стадию N (Схема 1) можно осуществлять при температуре от приблизительно $-10^{\circ}C$ до приблизительно $60^{\circ}C$, например, от приблизительно $-10^{\circ}C$ до приблизительно $0^{\circ}C$, от приблизительно $0^{\circ}C$ до приблизительно $25^{\circ}C$, от приблизительно $25^{\circ}C$ до приблизительно $45^{\circ}C$ или от приблизительно $45^{\circ}C$ до приблизительно $60^{\circ}C$.

На стадии L (Схема 1), соединение Формулы F13 может быть получено путем обработки соединения Формулы F12 или его соли Pg^1-NH -сульфонилхлоридом, необязательно в растворителе, с последующей обработкой полученной смеси органическим основанием, с получением соединения Формулы F13. В ходе указанной Стадии L (Схема 1) первичный амин F12 превращается в сульфонилмочевину F13 с использованием защищенного аминсульфонилхлорида ($Pg^1-NH-SO_2Cl$). Защищенный аминсульфонилхлорид может быть получен и немедленно использован в реакции с F12. Защитная группа может быть выбрана как любая из защитных групп, известных из уровня техники для защиты аминов

или сульфонамидов (выше). В некоторых вариантах Rg^1 может быть алкоксикарбонильной группой (например, *трет*-бутоксикарбонил). В таких вариантах алкоксикарбонил NH-сульфонилхлорид может быть получен реакцией спирта (например, этанол, *трет*-бутиловый спирт и т.п.) с хлорсульфонилизотиоцианатом ($ClS(O)_2NCO$). Подходящие растворители для этой реакции включают, не ограничиваясь ими, галогенированные растворители, например, дихлорметан и т.п. Органическое основание может быть любым основанием, которое служит для нейтрализации HCl , образованного в ходе реакции первичного амина, например, F12, и защищенного аминсульфонилхлорида. Органическое основание может включать ациклические третичные амины, например, три (C_{1-6}) алкиламин (например, триэтиламин, диизопропилэтиламин (ДИПЭА) и т.п.), циклические третичные амины (например, N-метилпиперидин, 1,4-диазабицикло[2.2.2]октан (ДАБЦО) и т.п.). В некоторых вариантах органическим основанием может быть триэтиламин. В некоторых вариантах данную стадию можно осуществлять при температуре от приблизительно $-10^\circ C$ до приблизительно $60^\circ C$, например, от приблизительно $-10^\circ C$ до приблизительно $0^\circ C$, от приблизительно $0^\circ C$ до приблизительно $25^\circ C$, от приблизительно $25^\circ C$ до приблизительно $45^\circ C$ или от приблизительно $45^\circ C$ до приблизительно $60^\circ C$.

Органические соединения могут быть восстановлены до низшей степени окисления с использованием восстанавливающих агентов. Восстановление обычно включает добавление атомов водорода или удаление атомов кислорода из группы. Органические азиды, например, F11 могут быть восстановлены до аминов, например, F12 (Стадия К, Схема 1) добавлением водорода, в форме элементарного водорода или с использованием гидридного реагента (например, $NaBH_4$, $LiAlH_4$ и т.п.); с использованием трифенилфосфина; или с использованием комбинации натрия йодида, хлортриметилсилана и метанола. В некоторых вариантах соединение Формулы F12 может быть получено восстановлением соединения Формулы F11 или его соли. В некоторых вариантах восстановление можно осуществлять в присутствии йодида натрия, хлортриметилсилана и метанола. В некоторых вариантах молярное соотношение йодида натрия и

хлортриметилсилана может составлять приблизительно 1,0, например, приблизительно 0,9, приблизительно 0,95, приблизительно 1,0, приблизительно 1,05 или приблизительно 1,1. В некоторых вариантах хлортриметилсилан может быть прибавлен к смеси F11, йодида натрия и метанола как раствор в метаноле. В некоторых вариантах Стадию К (Схема 1) можно осуществлять при приблизительно комнатной температуре, например, от приблизительно 10°C до приблизительно 50°C, от приблизительно 15°C до приблизительно 40°C, от приблизительно 20°C до приблизительно 30°C или от приблизительно 25°C до приблизительно 30°C.

Аминные соединения F12 в некоторых случаях может быть сложно получить в существенной мере чистой форме по данным ВЭЖХ или ЯМР-спектроскопии и т.п. Без намерения связываться с теорией, считается, что некоторые из указанных аминов, возможно, сложно очищать хроматографией на силикагеле из-за увеличения высокого сродства по отношению к силикагелю или из-за нежелательного разложения в ходе очистки. В таких вариантах обращаясь к Схеме 2, соединение Формулы F12 может быть очищено путем реакции соединения Формулы F12 с защитным агентом для аминогруппы, с получением соединения Формулы F12' или его соли, где Rg^2N представляет собой защищенный амин. За введением защиты (Стадия K') может следовать очистка соединения Формулы F12', с получением очищенного соединения Формулы F12', и реакция очищенного соединения Формулы F12' с агентом для удаления защитной группы с аминогруппы (Стадия K''), с получением очищенного соединения Формулы F12. Защитные агенты для аминогруппы и агенты для удаления защитной группы с аминогруппы известны специалисту в данной области, например, из Wuts и Greene (там же). В некоторых вариантах защитный агент для аминогруппы представляет собой ди-трет-бутилдикарбонат (Boc_2O). В таких вариантах Rg^2N представляет собой трет-бутоксикарбонил-NH. В таких вариантах реагент для удаления защитной группы с аминогруппы представляет собой реагент, пригодный для удаления защитной группы Boc (выше). В таких вариантах реагент для удаления защитной группы с аминогруппы

представляет собой кислоту (например, хлористоводородная кислота, трифторуксусная кислота т.п.), необязательно в растворителе (например, вода, ТГФ или диоксан). В некоторых вариантах хлористоводородная кислота может быть прибавлена в концентрации приблизительно 4 н, например, приблизительно 1 н, приблизительно 2 н, приблизительно 3 н, приблизительно 5 н, приблизительно 6 н, приблизительно 7 н, приблизительно 8 н, приблизительно 9 н или приблизительно 10 н. В некоторых вариантах снятия защиты можно осуществлять в спирте (например, изопропанол). В некоторых вариантах стадию К' или К'' можно осуществлять при температуре от приблизительно -10°C до приблизительно 60°C , например, от приблизительно -10°C до приблизительно 0°C , от приблизительно 0°C до приблизительно 25°C , от приблизительно 25°C до приблизительно 45°C или от приблизительно 45°C до приблизительно 60°C . Подходящие способы очистки известны специалисту в данной области и могут включать хроматографию, кристаллизацию, сублимацию и т.п. В некоторых вариантах очистку можно осуществлять хроматографией на силикагеле. В целом, чистоту соединений определяют физическими способами, например, измерением температуры плавления (в случае твердого вещества), получения ЯМР-спектра или разделения методом ВЭЖХ. Если температура плавления снижается, если нежелательные сигналы в ЯМР-спектре уменьшены или если внешние пики на хроматограмму ВЭЖХ удалены, соединение можно назвать очищенным. В некоторых вариантах соединения являются в существенной мере очищенными.

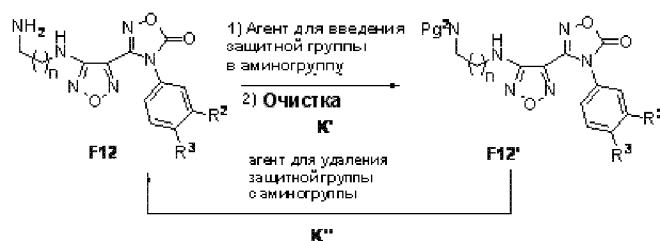


Схема 2

В некоторых вариантах соединение Формулы F11 (Схема 1) может быть получено путем обработки соединения Формулы F10 или его соли, где L1 может быть выбран из алкилсульфонил (например, метансульфонил), галогеналкилсульфонил (например,

трифторметансульфонил), арилсульфонила (например, толуолсульфонил) и т.п.; с азидным реагентом, с получением соединения Формулы F11 (Стадия J). В некоторых вариантах L1 представляет собой алкилсульфонил. Азидные реагенты включают любой реагент, способный к продуцированию нуклеофильного иона азида. Примеры азидных реагентов включают азиды щелочных металлов (например, азид натрия, азид калия и т.п.). В некоторых необязательных вариантах, азидный реагент, например, азид натрия может использоваться в комбинации с йодидом натрия. Пригодными растворителями для такого превращения являются полярные растворители, в том числе ДМФА, ДМСО, NMP и т.п. В некоторых вариантах Стадию J можно осуществлять в ДМФА. Стадию J можно осуществлять при повышенной температуре, например, от приблизительно 40°C до приблизительно 100°C, от приблизительно 50°C до приблизительно 90°C или от приблизительно 60°C до приблизительно 80°C. В некоторых вариантах Стадию J можно осуществлять приблизительно при 50°C. В некоторых вариантах Стадию J можно осуществлять приблизительно при 85 °C.

Соединение Формулы F10 или его соль может быть получено в результате последовательности стадий, показанных на Схеме 3. Получение промежуточного соединения, 4-амино-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида F2 описано в *J. Heterocycl. Chem.* (1965), 2, 253, которая включена в данное описание путем ссылки во всей ее полноте, и его превращение в хлороксим F3 описано в *Synth. Commun.* (1988), 18, 1427, которая включена в данное описание путем ссылки во всей ее полноте. Амины (например, первичные или вторичные амины, в том числе амины, которые содержат защищенную функциональную группу, например, этиламин, 2-метоксиэтиламин или диметиламин) могут сочетаться с хлороксимом F3, необязательно в растворителе (например, этилацетате), со следующим добавлением органического основания (например, триэтиламина или ДИПЭА, для гашения HCl, образующегося в ходе реакции), с получением амидоксима соединения F4. Реорганизация таких соединений, как F4, с целью перемещения аминогруппы на кольцевой атом углерода и аминогруппы на атом углерода оксима, с получением соединений

F5, может быть осуществлена обработкой F4 основанием (например, KOH, NaOH, LiOH, $Mg(OH)_2$, $Al(OH)_3$ и т.п.), необязательно в растворителе (например, вода, этанол, этиленгликоль и т.п.), и кипячением реакционной смеси с обратным холодильником при повышенной температуре например, приблизительно $70^{\circ}C$, приблизительно $80^{\circ}C$, приблизительно $90^{\circ}C$, приблизительно $100^{\circ}C$, приблизительно $110^{\circ}C$, приблизительно $120^{\circ}C$, приблизительно $130^{\circ}C$, приблизительно $140^{\circ}C$, приблизительно $150^{\circ}C$, приблизительно $160^{\circ}C$, приблизительно $170^{\circ}C$, приблизительно $180^{\circ}C$, приблизительно $190^{\circ}C$ или приблизительно $200^{\circ}C$. Амидоксим F5 может быть активирован снова как хлороксим F6 добавлением F5 к кислой водной смеси, содержащей хлористоводородную кислоту и, необязательно, уксусную кислоту. В этом способе превращения F5 на F6, кислая смесь F5 может быть нагрета до температуры приблизительно $45^{\circ}C$, например, приблизительно $30^{\circ}C$, приблизительно $40^{\circ}C$, приблизительно $50^{\circ}C$ или приблизительно $60^{\circ}C$, для растворения. Хлорид натрия может быть прибавлен к полученному раствору, а затем обработан нитритным реагентом, который может необязательно присутствовать как водный раствор, при температуре ниже приблизительно $0^{\circ}C$, например, ниже приблизительно $-10^{\circ}C$, ниже приблизительно $-5^{\circ}C$, ниже приблизительно $5^{\circ}C$ или ниже приблизительно $10^{\circ}C$. Нитритный реагент способен образовывать нитрит-анион. Нитритные реагенты включают нитрит щелочного металла (например, нитрит натрия, нитрит калия и т.п.) и органический нитрит (например, тетраэтиламмония нитрит), который включает органический катион. В некоторых вариантах этилацетат, ТГФ или диоксан может использоваться как соразтворитель. Хлороксим F6 может сочетаться с ароматическими аминами, например, производными анилина, необязательно в полярном растворителе (например, метанол, вода, этанол и т.п.) при повышенной температуре, например, приблизительно $50^{\circ}C$, приблизительно $60^{\circ}C$, приблизительно $70^{\circ}C$, приблизительно $80^{\circ}C$, приблизительно $90^{\circ}C$, приблизительно $100^{\circ}C$, приблизительно $110^{\circ}C$ или приблизительно $120^{\circ}C$, необязательно в присутствии неорганического основания (например, $KHCO_3$, $NaHCO_3$), с получением ариламидоксима F7. В

некоторых вариантах неорганическое основание может присутствовать в форме водного раствора. В некоторых вариантах неорганическое основание может быть прибавлено к реакционной смеси при повышенной температуре. Функциональная группа амидоксим F7 далее может быть защищена как оксадиазолон с использованием 1,1'-карбонилдиимидазолов (КДИ) в растворителе (например, этилацетат, диоксан, ТГФ и т.п.) при повышенной температуре, например, приблизительно 50°C, приблизительно 60°C, приблизительно 70°C, приблизительно 80°C, приблизительно 90°C или приблизительно 100°C. Метоксигруппа F8 далее может быть преобразована в гидроксильную группу в F9 с использованием агента для удаления защитной группы с метоксигруппы, известного специалисту в данной области, например, см. Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., pp 24-30, John Wiley & Sons: New York, 2006. Например, добавлением трибромида бора к холодному (например, от приблизительно -78°C до приблизительно 25°C, например, от приблизительно -78°C до приблизительно 10°C, от приблизительно -78°C до приблизительно 0°C, от приблизительно -78°C до приблизительно -10°C, от приблизительно 0°C до приблизительно 25°C или от приблизительно 0°C до приблизительно 10°C) раствору F8, необязательно в растворителе, например, галогенированном растворителе (например, ДХМ, хлороформ и т.п.) или этилацетате. Первичная гидроксильная группа в F9 далее может быть активирована как группа L1O- (см. F10), которая уходит, последовательной обработкой L1Cl, необязательно в растворителе (например, этилацетат или ДХМ), и органическим основанием, чтобы нейтрализовать образованный HCl (например, триэтиламин или ДИПЭА). L1, например, может быть выбран из алкилсульфонила (например, метансульфонил), галогеналкилсульфонила (например, трифторметансульфонил), арилсульфонила (например, толуолсульфонил) и т.п. Соединение F10 далее может быть обработано каким-либо нуклеофилом для вытеснения (например, по механизму S_N2) группы L¹O, которая уходит.

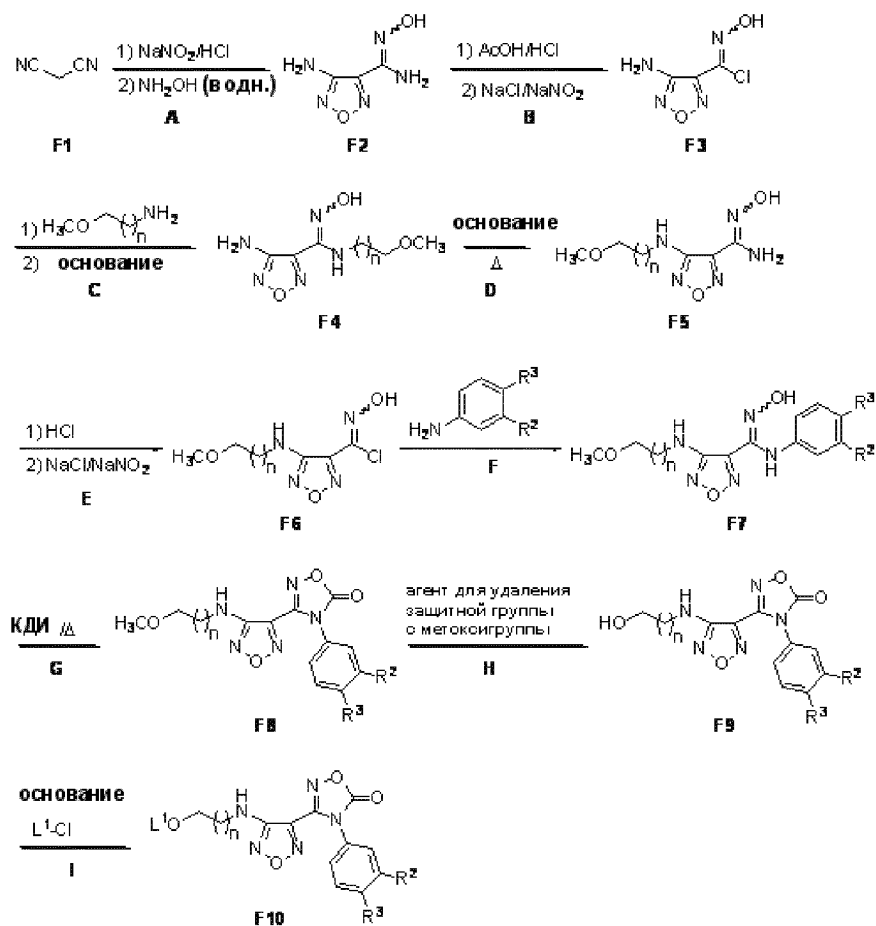


Схема 3

Альтернативно, соединение Формулы F12 может быть получено в результате последовательности стадий, изображенных на Схеме 4.

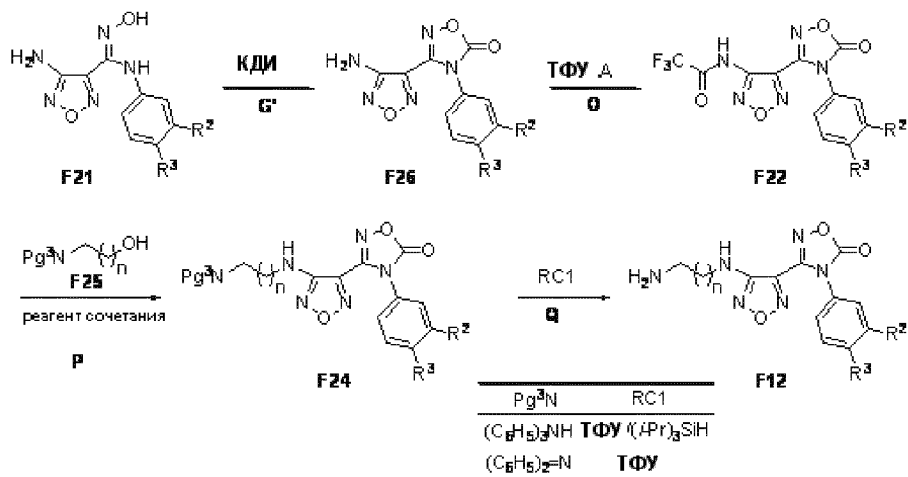


Схема 4

Обращаясь к Схеме 4, в некоторых вариантах соединение Формулы F12 может быть получено путем реакции соединения Формулы F24 или его соли, где Pg^3N представляет собой защищенный амин (например, $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C-NH}$, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C=N}$ и т.п.); с

агентом для удаления защитной группы с аминогруппы, с получением соединения Формулы F12. Обработка соединения F24 с целью замены Pg^3N на NH_2 (Стадия Q) может быть осуществлена способами удаления защитной группы с конкретного амина, известными специалисту в данной области, например, описанными в Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., pp 696-926, John Wiley & Sons: New York, 2006. В некоторых вариантах если Pg^3N представляет собой $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C}=\text{N}$, агент для удаления защитной группы может представлять собой: кислоту, например, органическую кислоту (например, трифторуксусная кислота, метансульфоновая кислота и т.п.) или неорганическую кислоту (например, хлористоводородная кислота); водород и палладий; или кислотный гидроксилламин (NH_2OH). В некоторых вариантах если Pg^3N представляет собой $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C}-\text{NH}$, агент для удаления защитной группы может включать органическую кислоту (например, метансульфоновая кислота, трифторуксусная кислота и т.п.) и необязательно органическое соединение силана; водород и палладий; или натрий в нашатырном спирте. Органические соединения силана представляют собой соединения, которые содержат по меньшей мере одну связь $\text{Si}-\text{H}$, и остальные группы, присоединенные к кремнию, представляют собой алкил, арил или их комбинацию. Примеры органических соединений силана включают триалкилсилан (например, три(изопропил)силан), триарилсилан (например, трифенилсилан) или дифенилметилсилан. Стадию Q можно осуществлять при температуре от приблизительно -10°C до приблизительно 60°C , например, от приблизительно -10°C до приблизительно 0°C , от приблизительно 0°C до приблизительно 25°C , от приблизительно 25°C до приблизительно 45°C или от приблизительно 45°C до приблизительно 60°C .

Соединения F24, которые представляют собой защищенные вторичные амины, могут быть получены реакцией Мицунобу спиртов F25 с защищенными первичными аминами F22 в присутствии реагента сочетания (Стадия P). Реагент сочетания может быть комбинацией третичного фосфина, такого как триарилфосфин (например, трифенилфосфин) или триалкилфосфина (например, трибутилфосфин) и диалкилазодикарбоксилата. Диалкилазодикарбоксилаты имеют

общую структуру: ROOC-N=N-COOR , где R может быть алкильной группой (например, диизопропилазодикарбоксилат, диэтилазодикарбоксилат или ди-*p*-хлорбензилазодикарбоксилат). Без намерения связываться с теорией, считается, что защита аминогруппы с помощью трифторацетильного фрагмента (например, в F22) предупреждает побочные реакции и улучшает выход вторичного амина F24. Гидроксильная группа спиртов, например, F25 может быть активирована в присутствии реагента сочетания. Аминный нуклеофил может вытеснять активированную гидроксильную группу с образованием вторичного амина. Реакцию Мицунобу можно осуществлять в растворителе, например, эфире, таком как ТГФ, диоксан, диалкиловый эфир и т.п.; галогенированных растворителях, например, дихлорметане, хлороформе и т.п.; неполярных растворителях, например, бензоле, толуоле и т.п.; полярных апротонных растворителях, например, ДМФА, ГМФА и т.п. В некоторых вариантах соединение Формулы F24 может быть получено путем обработки соединения Формулы F22 или его соли соединением Формулы F25 или его солью и реагентом сочетания с получением соединения Формулы F24. В некоторых вариантах эту стадию можно осуществлять при температуре от приблизительно -10°C до приблизительно 60°C , например, от приблизительно -10°C до приблизительно 0°C , от приблизительно 0°C до приблизительно 25°C , от приблизительно 25°C до приблизительно 45°C или от приблизительно 45°C до приблизительно 60°C .

Соединения F22 могут быть получены в ходе двухстадийного способа (Стадии G' и O) из соединений F21. Соединения F21 могут быть обработаны 1,1'-карбонилдиимидазолом (КДИ), необязательно в растворителе (например, этилацетате или ТГФ), при повышенной температуре, например, приблизительно 50°C , например, приблизительно 60°C , приблизительно 65°C , приблизительно 70°C , приблизительно 80°C или приблизительно 90°C , для превращения амидоксима в соединениях F21 в оксадиазолон, присутствующий в соединениях F26. Указанные соединения F26, в свою очередь, могут быть обработаны ангидридом трифторуксусной кислоты, необязательно в растворителе (например, ДХМ, ТГФ, диоксане или этилацетате) в присутствии органического основания (например,

пиридин, триэтиламин, ДИПЭА и т.п.), с получением соединений Формулы F22. В некоторых вариантах соединение Формулы F22 может быть получено путем обработки соединения Формулы F21 или его соли карбонилдиимидазолом (КДИ) с образованием соединения Формулы F26 или его соли, с последующей обработкой соединения Формулы F26 ангидридом трифторуксусной кислоты, с получением соединения Формулы F22.

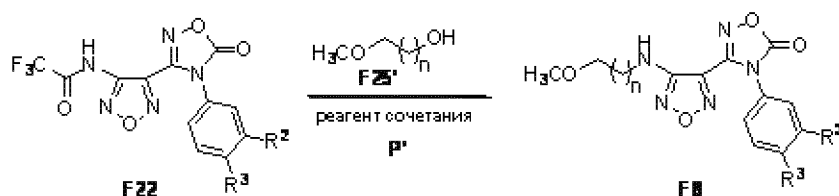


Схема 5

Обращаясь к Схеме 5 (Стадия Р') и базирясь на упомянутом выше описании реакции Мицунобу, в другом аспекте изобретения предлагается способ получения соединений Формулы F8 или их солей, где R₂, R₃ и n определены в данном описании, который включает реакцию соединения Формулы F22 или его соли и соединения Формулы F25' или его соли с реагентом сочетания, необязательно в растворителе (например, ТГФ, диалкиловый эфир или дихлорметан) с образованием соединения Формулы F8. В некоторых вариантах эту стадию можно осуществлять при температуре от приблизительно -10°C до приблизительно 60°C, например, от приблизительно -10°C до приблизительно 0°C, от приблизительно 0°C до приблизительно 25°C, от приблизительно 25°C до приблизительно 45°C или от приблизительно 45°C до приблизительно 60°C.

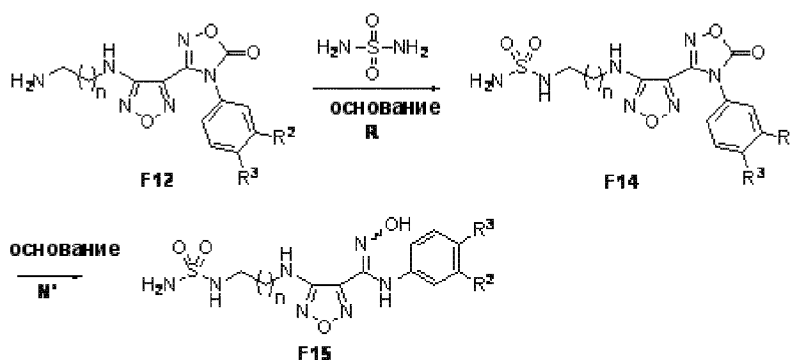


Схема 6

На Схеме 6 показан альтернативный путь введения сульфонамидной группы в аминное соединение F12. Обработка F12

сульфамидом в присутствии основания (Стадия R), например, органического основания, которое может представлять собой гетероциклическое основание (например, пиридин) или триалкиламин (например, триэтиламин, ДИПЭА и т.п.), каждое из которого необязательно может использоваться как растворитель для данного превращения, может давать сульфонилмочевину, например, F14. Указанную реакцию можно осуществлять при повышенной температуре, например, приблизительно 130°C, например, приблизительно 100°C, приблизительно 110°C, приблизительно 120°C, приблизительно 130°C или приблизительно 140°C. Такое нагревание может быть с успехом применено с использованием облучения микроволнами. Облучение микроволнами можно осуществлять в коммерческой микроволновой печи (например, Initiator 3 от Biotage) с одним режимом работы. Из соединений F14, которые содержат оксадиазолоновое кольцо, может быть удалена защитная группа (например, гидролизом) с образованием целевых амидоксимов F15 в присутствии основания (Стадия N'). Основание может быть или органическим основанием, например, ациклическим амином (например, триэтиламин, диизопропилэтиламин (ДИПЭА) и т.п.) или циклическим амином (например, пирролидин, пиперидин и т.п.); или неорганическим основанием, например, щелочью (например, NaOH, LiOH, KOH, Mg(OH)₂ и т.п.). Основание может быть сделано доступным в форме смолы (например, Amberlite® и т.п.). В некоторых других вариантах основание может присутствовать в форме раствора в воде, например, приблизительно 2 н раствора (например, приблизительно 0,5 н раствора, приблизительно 1 н раствора, приблизительно 1,5 н раствора, приблизительно 2,5 н раствора, от приблизительно 3 н до приблизительно 5 н раствора, от приблизительно 5 н до приблизительно 10 н раствора). В некоторых вариантах основание может быть гидроксидом щелочного металла (например, гидроксидом натрия). В некоторых вариантах основание может быть 2 н раствором NaOH в воде. В некоторых вариантах растворитель может быть метанолом или тетрагидрофураном (ТГФ). В некоторых вариантах удаление защитной группы можно осуществлять при

температуре от приблизительно -10°C до приблизительно 60°C , например, от приблизительно -10°C до приблизительно 0°C , от приблизительно 0°C до приблизительно 25°C , от приблизительно 25°C до приблизительно 45°C или от приблизительно 45°C до приблизительно 60°C . Таким образом, в данном аспекте изобретения предлагается способ получения соединений Формулы F15 или их солей, где R_2 , R_3 и n являются такими, как определено в данном описании, который включает реакцию соединения Формулы F12 или его соли с сульфамидом и органическим основанием с образованием соединения Формулы F14 или его соли, и реакцию соединения Формулы F14 или его соли с основанием с получением соединения Формулы F15.

В данном изобретении дополнительно предлагается соединение Формулы F9, F12, и F14 или его соль, где R_2 представляет собой Cl, Br, CF_3 , CH_3 или CN; R_3 представляет собой H или F; и n равно 1 или 2.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой Br, R_3 представляет собой F, и n равно 1.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой Br, R_3 представляет собой F, и n равно 2.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой Cl, R_3 представляет собой F, и n равно 1.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой Cl, R_3 представляет собой F, и n равно 2.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой CF_3 , R_3 представляет собой F, и n равно 1.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой CF_3 , R_3 представляет собой F, и n равно 2.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой CF_3 , R_3 представляет собой H, и n равно 1.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой CF_3 , R_3 представляет собой H, и n равно 2.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой CH_3 , R_3 представляет собой F, и n равно 1.

В некоторых вариантах R_2 представляет собой CN, R_3 представляет собой F, и n равно 1.

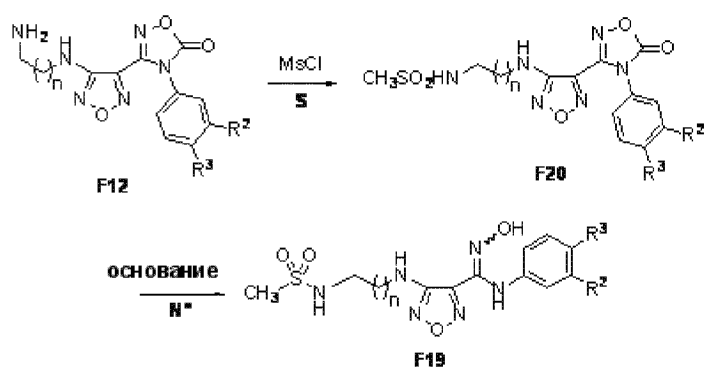


Схема 7

Обращаясь к Схеме 7, соединения F19 могут быть получены из первичных аминов — соединений F12 — обработкой метансульфонилхлоридом (Стадия S), необязательно в растворителе, например, этилацетате, галогенированных растворителях (например, дихлорметан, хлороформ и т.п.) или эфирных растворителях (ТГФ, диэтиловый эфир, диоксан и т.п.), в присутствии органического основания (для нейтрализации образованного HCl), например, три(C₁₋₆) алкиламина (например, триэтиламин, ДИПЭА и т.п.) или пиридина, с образованием сульфонамидов F20. Метансульфонильная группа может быть заменена на другой алкилсульфонил (например, этилсульфонил), галогеналкилсульфонил (например, трифторметансульфонил), арилсульфонил (например, толуолсульфонил) и т.п., без изменения методик. В некоторых вариантах эту стадию можно осуществлять при температуре от приблизительно -10°C до приблизительно 60°C, например, от приблизительно -10°C до приблизительно 0°C, от приблизительно 0°C до приблизительно 25°C, от приблизительно 25°C до приблизительно 45°C или от приблизительно 45°C до приблизительно 60°C. Из сульфонамидных соединений F20, которые содержат оксадиазолоновое кольцо, может быть удалена защитная группа (например, гидролизом) с образованием целевых амидоксимов F19 в присутствии основания (Стадия N''). Основание может быть органическим основанием, например, ациклическим амином (например, триэтиламин, диизопропилэтиламин (ДИПЭА) и т.п.) или циклическим амином (например, пирролидин, пиперидин и т.п.); или неорганическим основанием, например, гидроксидом щелочного металла или гидроксидом щелочноземельного металла (например, NaOH, LiOH, KOH, Mg(OH)₂ и т.п.). Основание может

быть сделано доступным в форме смолы (например, Amberlite® и т.п.). В некоторых других вариантах основание может присутствовать в форме раствора в воде, например, приблизительно 2 н раствора (например, приблизительно 0,5 н раствора, приблизительно 1 н раствора, приблизительно 1,5 н раствора, приблизительно 2,5 н раствора, от приблизительно 3 н до приблизительно 5 н раствора, от приблизительно 5 н до приблизительно 10 н раствора). В некоторых вариантах основание представляет собой гидроксид щелочного металла (например, гидроксид натрия). В некоторых вариантах основание может быть 2 н раствором NaOH в воде. В некоторых вариантах растворитель может быть метанолом или тетрагидрофураном (ТГФ). В некоторых вариантах удаление защитной группы можно осуществлять при температуре от приблизительно -10°C до приблизительно 60°C , например, от приблизительно -10°C до приблизительно 0°C , от приблизительно 0°C до приблизительно 25°C , от приблизительно 25°C до приблизительно 45°C или от приблизительно 45°C до приблизительно 60°C . Соответственно, в другом аспекте изобретения предлагается способ получения соединения Формулы F19 или его соли, где R_2 , R_3 и n являются такими, как определено в данном описании, который включает реакцию соединения Формулы F12 или его соли с метансульфонилхлоридом в присутствии органического основания, с получением соединения Формулы F20 или его соли, и реакцию соединения Формулы F20 с основанием, с получением соединения Формулы F19. В некоторых вариантах основание может быть гидроксидом щелочного металла, например, гидроксидом натрия (например, 2 н раствор NaOH).

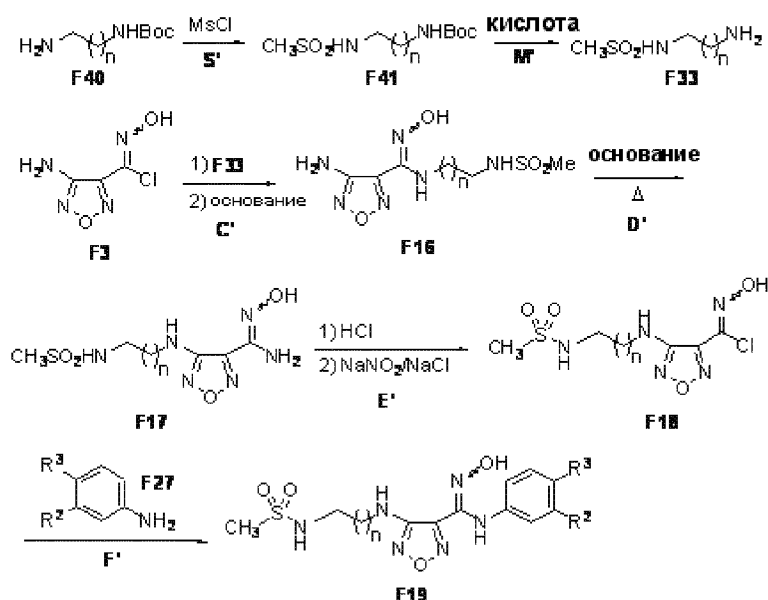


Схема 8

Арил- или алкилсульфонамиды (например, метансульфонамиды F19) могут быть получены в результате последовательности стадий, показанных на Схеме 8. Моно-защищенные 1,n-диамины, например, F40 (например, коммерчески доступный N-(аминоалкил) (трет-бутоксикарбоксамид), могут быть обработаны сульфонилхлоридами, например, арилсульфонилхлоридами или алкилсульфонилхлоридами (такими как метансульфонилхлорид), необязательно в растворителе, например, этилацетате, галогенированных растворителях (например, дихлорметан, хлороформ и т.п.) или эфирных растворителях (ТГФ, диэтиловый эфир, диоксан и т.п.), в присутствии органического основания (для нейтрализации образовавшегося HCl), например, триэтиламина, пиридина, ДИПЭА и т.п., с образованием сульфонамидов F41 (Стадия S'). Защитная группа на моно-защищенных 1,n-диаминах F40 может быть выбрана из различных защитных групп для аминогруппы, и подходящие условия удаления защитной группы могут быть выбраны соответствующим образом (выше), с получением амина F33 (Стадия M'). В некоторых вариантах защитная группа может представлять собой алкоксикарбонил (например, трет-бутоксикарбонил, Boc). В таких вариантах реагент для удаления защитной группы с аминогруппы может быть кислотой, например, хлористоводородной кислотой или трифторуксусной кислотой, необязательно в растворителе

(например, диоксане).

Получение хлороксима F3 описано в *Synth. Commun.* (1988), 18, 1427, которая включена в данное описание путем ссылки во всей ее полноте. Амины (например, первичные или вторичные амины, в том числе амины, которые содержат защищенную функциональную группу, например, этиламин, 2-метоксиэтиламин, диметиламин или F33) могут сочетаться с хлороксимом F3, необязательно в растворителе (например, этилацетате или этаноле), с последующим добавлением органического основания (например, триэтиламина или ДИПЭА, для нейтрализации HCl, образующегося в ходе реакции), с получением амидоксимовых соединений F16 (Стадия C'). В некоторых вариантах эту стадию можно осуществлять при температуре от приблизительно -10°C до приблизительно 60°C, например, от приблизительно -10°C до приблизительно 0°C, от приблизительно 0°C до приблизительно 25°C, от приблизительно 25°C до приблизительно 45°C или от приблизительно 45°C до приблизительно 60°C. Реорганизация соединений, например, F16, с целью перемещения аминогруппы к кольцевому атому углероду и аминогруппы к атому углерода оксима, с получением таких соединений, как F17 (Стадия D') может быть осуществлена обработкой F16 основанием (например, KOH, NaOH, LiOH, Mg(OH)₂, Al(OH)₃ и т.п.), необязательно в растворителе (например, воде, этаноле, этиленгликоле и т.п.), при кипячении реакционной смеси с обратным холодильником при повышенной температуре, например, приблизительно 70°C, приблизительно 80°C, приблизительно 90°C, приблизительно 100°C, приблизительно 110°C, приблизительно 120°C, приблизительно 130°C, приблизительно 140°C, приблизительно 150°C, приблизительно 160°C, приблизительно 170°C, приблизительно 180°C, приблизительно 190°C или приблизительно 200°C. Амидоксим F17 может быть активирован как хлороксим F18 добавлением F17 к водной кислотной смеси, содержащей хлористоводородную кислоту, в том числе необязательно уксусную кислоту (Стадия E'). В этом способе превращения F17 в F18, кислотная смесь F17 может быть нагрета до температуры приблизительно 45°C, например, приблизительно 30°C, приблизительно 40°C, приблизительно 50°C

или приблизительно 60°C , для растворения. Хлорид натрия может быть прибавлен к полученному раствору и обработан нитритным реагентом, который может необязательно быть обеспечен в виде водного раствора, при температуре ниже приблизительно 0°C , например, ниже приблизительно -10°C , ниже приблизительно -5°C , ниже приблизительно 5°C или ниже приблизительно 10°C . Нитритный реагент способен к образованию нитрит-аниона. Нитритные реагенты включают нитрит щелочного металла (например, нитрит натрия, нитрит калия и т.п.) и органический нитрит (например, триэтиламмония нитрит), который включает органический катион. В некоторых вариантах этилацетат, ТГФ или диоксан может использоваться как соразтворитель. Замена хлорида в F18 на ароматические амины, например, анилин F27, необязательно в полярном растворителе (например, метанол, вода, этанол и т.п.) при комнатной температуре может давать метансульфонамиды F19 (Стадия F'). В некоторых вариантах может применяться такая температура, как приблизительно 10°C , приблизительно 20°C , приблизительно 30°C , приблизительно 40°C или приблизительно 50°C . Указанную реакцию необязательно можно осуществлять в присутствии неорганического основания (например, KHCO_3 , NaHCO_3), которое может присутствовать в форме водного раствора.

Соответственно, в другом аспекте изобретения предлагается способ получения соединения Формулы F19 или его соли, где R_2 , R_3 и n являются такими, как определено в данном описании, который включает реакцию соединения Формулы F17 или его соли с хлористоводородной кислотой, необязательно в растворителе (например, диоксане), с последующей обработкой нитритным реагентом (например, нитритом натрия), необязательно в форме водного раствора, с образованием соединения Формулы F18 или его соли, и реакцию соединения Формулы F18 с соединением Формулы F27 или его солью с получением соединения Формулы F19.

В некоторых вариантах соединение Формулы F17 может быть получено путем обработки соединения Формулы F16 или его соли основанием (например, калия гидроксидом) в растворителе (например, этиленгликоле) при температуре, достаточной для кипения растворителя с обратным холодильником (например,

130°C), с получением соединения Формулы F17.

В данном изобретении дополнительно предлагается соединение Формулы F18 или его соль, где n равно 1 или 2. В некоторых вариантах n равно 1. В некоторых вариантах n равно 2.

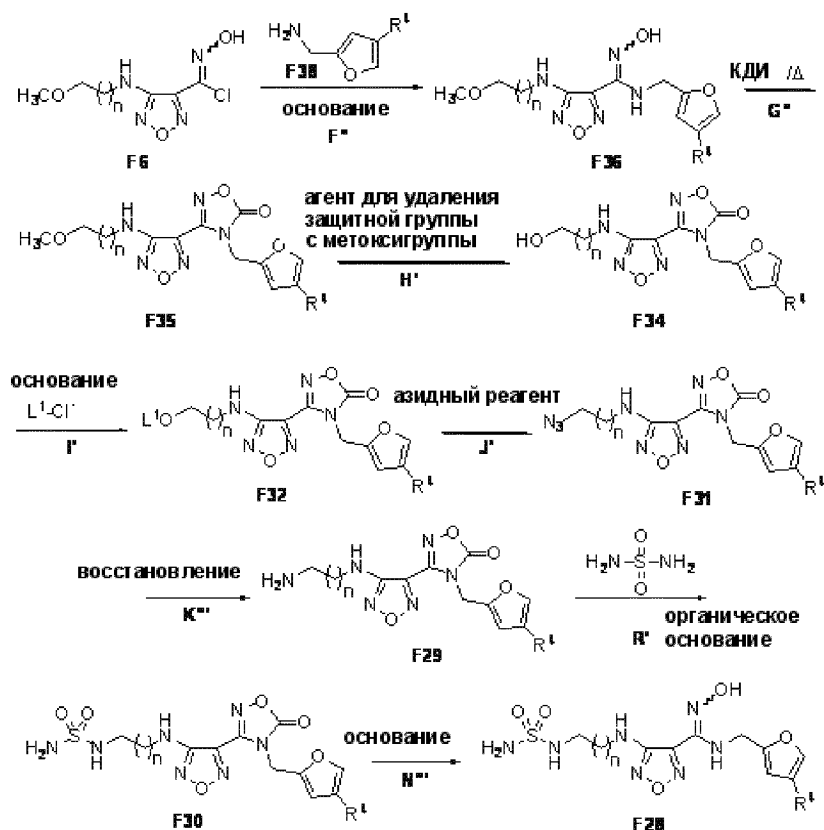


Схема 9

Соединение F28 может быть получено, как описано на Схеме 9. Хлороксим F6 (Схема 1, выше) может сочетаться с гетероциклическими аминами (например, соединение Формулы F38), необязательно в полярном растворителе (например, метанол, вода, этанол и т.п.), в присутствии основания, например, неорганического основания или органического основания (например, Et₃N, пиридин или ДИПЭА), с получением ариламидоксима F36 (Стадия F''). В некоторых вариантах превращение F6 в F36 можно осуществлять при таких температурах, как, например, приблизительно 10 °C, приблизительно 20°C, приблизительно 30°C, приблизительно 40°C, приблизительно 50°C, приблизительно 60°C или приблизительно 90°C. В некоторых вариантах неорганическое основание может присутствовать в форме водного раствора. В некоторых вариантах неорганическое основание может быть прибавлено к реакционной смеси при

повышенной температуре. Амидоксимовая функциональная группа F36 далее может быть защищена как оксадиазолон с использованием 1,1'-карбонилдиимидазолов (КДИ) в растворителе (например, этилацетате, диоксане, ТГФ и т.п.) при повышенной температуре, например, приблизительно 50°C, приблизительно 60°C, приблизительно 70°C, приблизительно 80°C, приблизительно 90°C или приблизительно 100°C (Стадия G''). Метоксигруппа F35 далее может быть преобразована в гидроксильную группу в F34 способами, известными специалисту в данной области для удаления защитной группы с метоксигруппы (Стадия H'), например, как описано в Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., pp 24-30, John Wiley & Sons: New York, 2006. Например, добавлением трибромида бора к холодному (например, от приблизительно -78°C до приблизительно 25°C, например, от приблизительно -78°C до приблизительно 10°C, от приблизительно -78°C до приблизительно 0°C, от приблизительно -78°C до приблизительно -10°C, от приблизительно 0°C до приблизительно 25°C или от приблизительно 0°C до приблизительно 10°C) раствору F35, необязательно в растворителе, например, галогенированном растворителе (например, ДХМ, хлороформ и т.п.) или этилацетате. Первичная гидроксильная группа в F34 далее может быть активирована как группа L1O- (см. Стадию I', F32), которая уходит, последовательной обработкой L1Cl, необязательно в растворителе (например, этилацетат или ДХМ), и органической основой для нейтрализации образующегося HCl (например, триэтиламин или ДИПЭА). В соединениях F32, L1 может быть выбран из алкилсульфонила (например, метансульфонил), галогеналкилсульфонила (например, трифторметансульфонил), арилсульфонила (например, толуолсульфонил) и т.п. Соединение F32 далее может быть обработано каким-либо нуклеофилом для вытеснения S_N2 группы L1O, которая уходит. В некоторых вариантах эту стадию можно осуществлять при температуре от приблизительно -10°C до приблизительно 60°C, например, от приблизительно -10°C до приблизительно 0°C, от приблизительно 0°C до приблизительно 25°C, от приблизительно 25°C до приблизительно 45°C или от приблизительно 45°C до

приблизительно 60°C.

Если нуклеофил представляет собой ион азидата, F32 дает F31 (Стадия J'). Азидные реагенты включают любой реагент, способный к продуцированию нуклеофильного иона азидата. Примеры азидных реагентов включают азиды щелочных металлов (например, азид натрия, азид калия). В некоторых необязательных вариантах, азидный реагент, например, азид натрия может использоваться в комбинации с йодидом натрия. Подходящими растворителями для такого превращения являются полярные растворители, в том числе ДМФА, ДМСО, NMP и т.п. В некоторых вариантах эту стадию можно осуществлять в ДМФА. В некоторых вариантах эту стадию можно осуществлять при повышенной температуре, например, от приблизительно 40°C до приблизительно 100°C, от приблизительно 50°C до приблизительно 90°C или от приблизительно 60°C до приблизительно 80°C. В некоторых вариантах эту стадию можно осуществлять при 50°C. В некоторых вариантах эту стадию можно осуществлять при 85°C. Органические азиды, например, F31 могут быть восстановлены до органических аминов, таких как F29, добавлением водорода, в форме элементарного водорода; с использованием гидридного реагента (например, NaBH_4 , LiAlH_4 и т.п.); с использованием трифенилфосфина; или с использованием комбинации йодида натрия, хлортриметилсилана и метанола (Стадия K''). В некоторых вариантах восстановление можно осуществлять в присутствии йодида натрия, хлортриметилсилана и метанола. В некоторых вариантах восстановление можно осуществлять приблизительно при комнатной температуре, например, от приблизительно 10°C до приблизительно 50°C, от приблизительно 15°C до приблизительно 40°C, от приблизительно 20°C до приблизительно 30°C или от приблизительно 25°C до приблизительно 30°C. В некоторых вариантах молярное соотношение йодида натрия и хлортриметилсилана может составлять приблизительно 1,0 например, приблизительно 0,9, приблизительно 0,95, приблизительно 1,0, приблизительно 1,05 или приблизительно 1,1. В некоторых вариантах хлортриметилсилан может быть прибавлен к смеси F31, йодида натрия и метанола в виде раствора в метаноле.

Обработка F29 сульфамидом в присутствии основания, например, органического основания, которое может быть гетероциклическим основанием (например, пиридин) или триалкиламином (например, триэтиламин, ДИПЭА и т.п.), каждое из которых может необязательно использоваться как растворитель для данного превращения, дает сульфонилмочевину, такую как F30 (Стадия R'). Указанную реакцию можно осуществлять при повышенной температуре, например, приблизительно 130°C, например, приблизительно 100°C, приблизительно 110°C, приблизительно 120°C, приблизительно 130°C или приблизительно 140°C. Такое нагревание может быть соответствующим образом осуществлено с использованием облучения микроволнами. Облучение микроволнами можно осуществлять в коммерческой микроволновой печи (например, Initiator 3 от Biotage), которая работает в одном режиме. Из соединений F30, которые содержат оксадиазолоновое кольцо, может быть удалена защитная группа (например, гидролизом) с образованием целевых амидоксимов F28 в присутствии основания (Стадия N'''). Основание может быть или органическим основанием, таким как ациклические амины (например, триэтиламин, диизопропилэтиламин (ДИПЭА) и т.п.) или циклические амины (например, пирролидин, пиперидин и т.п.); или неорганическим основанием, таким как щелочь (например, NaOH, LiOH, KOH, Mg(OH)₂ и т.п.). Основание может быть сделано доступным в форме смолы (например, Amberlite® и т.п.). В некоторых других вариантах основание может присутствовать в форме раствора в воде (водное основание), например, приблизительно 2 н раствора (например, приблизительно 0,5 н раствора, приблизительно 1 н раствора, приблизительно 1,5 н раствора, приблизительно 2,5 н раствора, от приблизительно 3 н до приблизительно 5 н раствора, от приблизительно 5 н до приблизительно 10 н раствора). В некоторых вариантах основание может быть гидроксидом щелочного металла (например, гидроксид натрия). В некоторых вариантах основание может быть 2 н раствором NaOH в воде. В некоторых вариантах растворитель может быть метанолом или тетрагидрофураном (ТГФ). В некоторых

вариантах удаление защитной группы можно осуществлять при температуре от приблизительно -10°C до приблизительно 60°C , например, от приблизительно -10°C до приблизительно 0°C , от приблизительно 0°C до приблизительно 25°C , от приблизительно 25°C до приблизительно 45°C или от приблизительно 45°C до приблизительно 60°C .

Соответственно, в другом аспекте изобретения предлагается способ получения соединений Формулы F28 или их солей, где R_4 представляет собой F, Cl, Br или I; и n равно 1 или 2, который включает реакцию соединения Формулы F29 или его соли с сульфамидом и органическим основанием, с образованием соединения Формулы F30 или его соли, и реакцию соединения Формулы F30 с основанием, с получением соединения Формулы F28.

В некоторых вариантах R_4 представляет собой Cl, и n равно 1.

В некоторых вариантах R_4 представляет собой Br, и n равно 1.

В некоторых вариантах реакция соединения Формулы F29 дополнительно включает нагревание реакционной смеси (например, с использованием облучения микроволнами).

В другом аспекте изобретения предлагается способ получения соединения Формулы F29 восстановлением соединения Формулы F31 или его соли. В некоторых вариантах восстановление можно осуществлять с использованием комбинации йодида натрия, хлортриметилсилана и метанола.

В другом аспекте изобретения соединение Формулы F31 может быть получено путем обработки соединения Формулы F32 или его соли, где L1 выбран из алкилсульфонила, галогеналкилсульфонила и арилсульфонила; азидным реагентом, с получением соединения Формулы F31.

В данном описании термин "алкил", при использовании отдельно или вместе с дополнительными терминами, которые обозначают фрагменты, обозначает насыщенную углеводородную, линейную или разветвленную группу, содержащую от 1 до 6 атомов углерода, от 1 до 4 атомов углерода или от 1 до 3 атомов углерода. Примеры алкильных групп включают метил, этил, n-

пропил, изопропил, *н*-бутил, изобутил, *втор*-бутил и т.п.

В данном описании термин "алкенил" обозначает алкильную группу, содержащую одну или больше двойных углерод-углеродных связей. Примеры алкенильных групп включают этенил (винил), пропенил и т.п.

В данном описании термин "арил" обозначает ароматическую углеводородную группу, которая может быть моно- или полициклической и содержит от 6 до 14 атомов углерода. Примеры арильной группы включают фенил, нафтил, антраценил, фенантренил, инданил, инденил и т.п.

В данном описании термин "галогеналкил" при использовании отдельно или вместе с дополнительным фрагментом, обозначает алкильную группу, замещенную одним или больше атомами галогена, независимо выбранными из F, Cl, Br и I. Примеры галогеналкильных групп включают CF₃, CHF₂, CH₂CF₃ и т.п.

В данном описании термин "алкокси" обозначает группу -O-алкил. Примеры алкоксильных групп включают метокси, этокси, пропокси (например, *н*-пропокси и изопропокси), *трет*-бутокси и т.п.

В данном описании "алкиламин" обозначает аминогруппу (NH₂), замещенную алкильной группой. Примеры алкиламинных групп включают метиламин, гексиламин и т.п.

В данном описании "триалкиламин" обозначает атом азота, замещенный тремя алкильными группами. Примеры триалкиламинных групп включают триметиламин, триэтиламин и т.п.

В данном описании термин "алкоксикарбонил" обозначает CO, замещенный алкоксильной группой: -C(O)-O-алкил. Примеры алкоксикарбонильных групп включают этоксикарбонил, *трет*-бутоксикарбонил (Boc), бензилоксикарбонил (Cbz), 9-флуоренилметилоксикарбонил (Fmoc) и т.п.

В данном описании термин "алкилсульфонил" обозначает сульфонильную группу, замещенную алкильной группой: алкил-S(O)₂-. Примеры алкилсульфонильных групп включают метансульфонил, этансульфонил и т.п.

В данном описании термин "галогеналкилсульфонил" обозначает сульфонильную группу, замещенную галогеналкильной

группой. Примеры галогеналкилсульфонильных групп включают трифторметансульфонил, 1,1,1-трифторэтансульфонил и т.п.

В данном описании термин "арилсульфонил" обозначает сульфонильную группу, замещенную арильной группой или замещенной арильной группой, где заместители в арильной группе выбраны из галогена, нитро, C₁₋₄ алкила и C₁₋₄ галогеналкила.

В данном описании, термин "гетероциклическое основание" обозначает 4-14-членный, необязательно замещенный гетероцикл, где по меньшей мере один атом кольца представляет собой атом азота. Гетероциклическое основание может быть ароматическим или неароматическим. Примеры гетероциклических оснований включают пиридин, пирролидин, пиперидин, морфолин и т.п. Примеры заместителей в гетероцикле включают F, Cl, Br, C₁₋₄ алкил и C₁₋₄ галогеналкил.

Способы применения

Соединения по изобретению могут ингибировать активность фермента индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO). Например, соединения по изобретению могут быть применены для ингибирования активности IDO в клетке или в организме индивидуума, который нуждается в модуляции фермента, путем введения ингибирующего количества соединения по изобретению.

В данном изобретении дополнительно предлагаются способы ингибирования разложения триптофана в системе, содержащей клетки, которые экспрессируют IDO, например, в ткани, живом организме или культуре клеток. В некоторых вариантах данного изобретения предлагаются способы изменения (например, увеличения) внеклеточных уровней триптофана у млекопитающего путем введения эффективного количества соединения или композиции, предложенной в данном описании. Способы измерения уровней триптофана и разложения триптофана шаблонно известные из уровня техники.

В данном изобретении дополнительно предлагаются способы ингибирования иммуносупрессии, например, опосредствованной IDO иммуносупрессии у больного путем введения больному эффективного количества соединения или композиции, заявленной в данном изобретении. Опосредствованная IDO иммуносупрессия связана,

например, с различными видами рака, ростом опухоли, метастазом, вирусной инфекцией, репликацией вируса и т.п.

В данном изобретении дополнительно предлагаются способы лечения заболеваний, связанных с активностью или экспрессией, в том числе аномальной активностью и/или избыточной экспрессией IDO у индивидуума (например, больного) путем введения индивидууму, который нуждается в таком лечении, терапевтически эффективного количества или дозы соединения по данному изобретению или его фармацевтической композиции. Примеры заболеваний могут включать любое заболевание, расстройство или состояние, которое прямо или косвенно связано с экспрессией или активностью фермента IDO, например, избыточной экспрессией или аномальной активностью. Связанное с IDO заболевание может также включать какое-либо заболевание, расстройство или состояние, которое может быть предупреждено, облегчено или излечено путем модуляции активности фермента. Примеры связанных с IDO заболеваний включают рак, вирусную инфекцию, например, ВИЧ-инфекцию, инфекцию вирусом гепатита С, депрессию, нейродегенеративные расстройства, например, болезнь Альцгеймера и болезнь Хантингтона, травму, возрастную катаракту, пересадку органа (например, отторжение пересаженного органа), и аутоиммунные заболевания, в том числе астму, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, аллергическое воспаление, воспалительное заболевание кишечника, псориаз и красную системную волчанку. Примеры разных видов рака, которые поддаются лечению способами по данному изобретению, включают рак ободочной и прямой кишки, поджелудочной железы, молочной железы, предстательной железы, легкого, мозга, яичника, шейки матки, яичка, почки, головы и шеи, лимфому, лейкоз, меланому и т.п. Соединения по изобретению могут также быть пригодными для лечения ожирения и ишемии.

В данном описании термин "клетка" обозначает клетку, которая находится *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*. В некоторых вариантах клетка *ex vivo* может быть частью образца ткани, полученного из организма, например, млекопитающего. В некоторых вариантах клетка *in vivo* может быть клеткой в культуре клеток.

В некоторых вариантах клетка *in vivo* представляет собой клетку, живущую в организме, например, млекопитающего.

В данном описании термин «обеспечение контакта» («контакт») обозначает сочетание указанных фрагментов в системе *in vitro* или в системе *in vivo*. Например, «контакт» фермента IDO с соединением по изобретению включает введение соединения по данному изобретению индивидууму или больному, например, человеку, организм которого содержит IDO, а также, например, введение соединения по изобретению в образец, содержащий клеточный или очищенный препарат, который содержит фермент IDO.

В данном описании термины «индивидуум» или «больной» («пациент») употребляются равнозначным образом и обозначают любое животное, в том числе млекопитающих, предпочтительно, мышей, крыс, других грызунов, кроликов, собак, кошек, свиней, крупный рогатый скот, овец, коней или приматов, и, наиболее предпочтительно, человека.

В данном описании фраза «терапевтически эффективное количество» обозначает количество активного соединения или фармацевтического средства, которое вызывает биологический или медицинский ответ в ткани, системе, организме животного, индивидууму или человека, предусмотренный исследователем, ветеринаром, врачом или другим клиническим специалистом.

В данном описании термин «лечение» обозначает: 1) профилактику заболевания; например, профилактику заболевания, состояния или расстройства у индивидуума, который может быть склонным к заболеванию, состоянию или расстройству, но еще не испытывает или у которого не проявляется патология или симптомы заболевания; 2) подавление заболевания; например, подавление заболевания, состояния или расстройства у индивидуума, который испытывает или у которого проявляется патология или симптомы заболевания, состояния или расстройства (т.е., остановка последующего развития патологии и/или симптомов заболевания); или 3) улучшение состояния при заболевании; например, облегчение заболевания, состояния или расстройства у индивидуума, который испытывает или у которого проявляется патология или симптомы заболевания, состояния или расстройства

(т.е., обращение патологии и/или симптомов).

Комбинированная терапия

Одно или больше дополнительных фармацевтических средств или способов лечения, таких как, например, противовирусные агенты, химиотерапевтические средства или другие противораковые средства, средства для усиления иммунитета, иммуносупрессанты, излучение, противоопухолевые и противовирусные вакцины, терапия цитокинами (например, IL2, GM-CSF и т.п.), и/или ингибиторы тирозинкиназы могут применяться в комбинации с соединениями по данному изобретению для лечения связанных с IDO заболеваний, расстройств или состояний. Средства могут быть объединены с данными соединениями в однократной лекарственной форме, или средства могут быть введены одновременно или последовательно в виде отдельных лекарственных форм.

Подходящие противовирусные агенты, предусмотренные для применения в комбинации с соединениями по данному изобретению, могут включать нуклеозидные и нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ), ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (ННИОТ), ингибиторы протеазы и другие противовирусные лекарственные средства.

Примеры пригодных НИОТ включают зидовудин (АЗТ); диданозин (ddl); зальцитабин (ddC); ставудин (d4T); ламивудин (3TC); абакавир (1592U89); адефовир дипивоксил [бис(РОМ) -PMEA]; лобукавир (BMS-180194); BSH-10652; эмитрицитабин [(-)-FTC]; бета-L-FD4 (также носит название бета-L-D4C и бета-L-2',3'-диклеокси-5-фтор-цитидин); ДАФД, ((-)-бета-D-2,6,-диамино-пурина диоксолан); и лоденозин (FddA). Типичные подходящие ННИОТ включают невирапин (BI-RG-587); делавирдин (BNAF, U-90152); эфавиренц (DMP-266); PNU-142721; AG-1549; MKC-442 (1-(этокси-метил)-5-(1-метилэтил)-6-(фенилметил)-(2,4(1H,3H)-пиримидиндион); и (+)-каланолид А (NSC-675451) и В. Типичные подходящие ингибиторы протеазы включают саквинавир (Ro 31-8959); ритонавир (ABT-538); индинавир (MK-639); нелфинавир (AG-1343); ампренавир (141W94); лазинавир (BMS-234475); DMP-450; BMS-2322623; ABT-378; и AG-1 549. Другие противовирусные агенты включают гидроксимочевину, рибавирин, IL-2, IL-12,

пентафузид и Yissum Project No.11607.

Подходящие химиотерапевтические и другие противораковые средства включают, например, алкилирующие средства (в том числе, не ограничиваясь ими, ипритный азот, производные этиленimina, алкилсульфонаты, производные нитрозомочевины и триазены), например, ипритный урацил, хлорметин, циклофосфамид (CytosanTM), ифосфамид, мелфалан, хлорамбуцил, пипоброман, триэтилен-меламин, триэтилентифосфорамин, бусульфан, кармустин, ломустин, стрептозоцин, дакарбазин и темозоломид.

При лечении меланомы, подходящие средства для применения в комбинации с соединениями по данному изобретению включают: дакарбазин (DTIC), необязательно, вместе с другими химиотерапевтическими лекарственными средствами, например, кармустином (BCNU) и цисплатином; «Дартмутскую схему», которая состоит из DTIC, BCNU, цисплатина и тамоксифена; комбинацию цисплатина, винбластина и DTIC; или темозоломид. В лечении меланомы соединения по изобретению также могут быть объединены с иммунотерапевтическими лекарственными средствами, в том числе цитокинами, например, интерфероном альфа, интерлейкином 2 и фактором некроза опухоли (ФНО).

При лечении меланомы соединения по изобретению также могут применяться в комбинации с терапией вакцинами. Вакцины против меланомы определенным образом подобны противовирусным вакцинам, которые применяются для предупреждения заболеваний, вызванных вирусами, таких как полиомиелит, корь и свинка. Ослабленные клетки меланомы или части клеток меланомы под названием антигены могут быть введены инъекционно больному с целью стимуляции иммунной системы организма для уничтожения клеток меланомы.

Меланому, распространенность которой ограничена руками или ногами, также можно лечить комбинацией средств, в том числе одного или больше соединений по изобретению, с применением техники гипертермической перфузии изолированной конечности. Этот протокол лечения позволяет временно изолировать кровообращение в пораженной конечности от остальной части

организма и осуществить инъекционное введение высоких доз химиотерапевтических препаратов в артерию, снабжающую конечность, таким образом обеспечивая высокие дозы для участка опухоли без влияния указанных доз на внутренние органы, что могло бы вызвать тяжелые побочные реакции. В целом, жидкость нагревают до 102–104°F. Мелфалан представляет собой лекарственное средство, которое чаще всего применяют в данной методике химиотерапии. Он может быть введен с другим средством, которое носит название фактора некроза опухоли (ФНО) (см. раздел относительно цитокинов).

Подходящие химиотерапевтические или другие противораковые средства включают, например, антиметаболиты (в том числе, не ограничиваясь ими, антагонисты фолиевой кислоты, аналоги пиримидина, аналоги пурина и ингибиторы аденозиндезаминазы), например, метотрексат, 5-фторурацил, флоксуридин, цитарабин, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, флударабина фосфат, пентостатин и гемцитабин.

Подходящие химиотерапевтические или другие противораковые средства дополнительно включают, например, некоторые природные продукты и их производные (например, алкалоиды барвинка, противоопухолевые антибиотики, ферменты, лимфокины и эпиподофиллотоксин), например, винбластин, винкристин, виндезин, блеомицин, дактиномицин, даунорубин, доксорубин, эпирубин, идарубин, ара-С, паклитаксел (Таксол™), митрамицин, дезоксикоформицин, митомицин-С, L-аспарагиназу, интерфероны (особенно IFN-α), этопозид и тенипозид.

Другие цитотоксические средства включают навельбин, СРТ-11, анастрозол, летрозол, капецитабин, релоксафин, циклофосфамид, ифосфамид и дролоксафин.

Также пригодными являются цитотоксические средства, например, эпиподофиллотоксин; антинеопластический фермент; ингибитор топоизомеразы; прокарбазин; митоксантрон; координационные комплексы платины, например, цисплатин и карбоплатин; модификаторы биологического ответа; ингибиторы роста; антигормональные терапевтические средства; лейковорин;

тегафур; и гемопоэтические факторы роста.

Другое противораковое средство(а) включает терапевтические антитела, например, трастузумаб (Герцептин), антитела к костимулирующим молекулам, например, CTLA-4, 4-1BB и PD-1, или антитела к цитокину (IL-10, TGF- β и т.п.).

Другие противораковые средства также включают блокирующие миграцию иммунных клеток, например, антагонисты рецепторов хемокинов, в том числе CCR2 и CCR4.

Другие противораковые средства также включают усиливающие иммунную систему, например, адъюванты или адаптивный перенос Т-клеток.

Противораковые вакцины включают дендритные клетки, синтетические пептиды, ДНК вакцины и рекомбинантные вирусы.

Способы безопасного и эффективного введения большинства указанных химиотерапевтических средств известны специалистам в данной области. Кроме того, их введение описано в стандартной литературе. Например, введение многих химиотерапевтических средств описано в "Physicians' Desk Reference" (PDR, например, издание 1996 г., Medical Economics Company, Montvale, NJ), которая включена в данное описание путем ссылки во всей ее полноте.

Фармацевтические композиции и лекарственные формы

При применении в качестве фармацевтических средств, соединения по изобретению можно вводить в форме фармацевтических композиций, которые представляют собой комбинацию соединения по изобретению и фармацевтически приемлемого носителя. Указанные композиции в известной степени могут быть получены хорошо известными в фармацевтической области способами, и могут быть введены различными способами, в зависимости от предусмотренного местного или системного лечения, и от участка, который подлежит лечению. Введение может быть местным нанесением (в том числе в глаза и на слизистые оболочки, в том числе интраназальное, вагинальное и ректальное введение), легочным (например, ингаляцией или инсуффляцией порошков или аэрозолей, в том числе с помощью небулайзера; интратрахеальным, интраназальным, эпидермальным и

трансдермальным), глазным, пероральным или парентеральным введением. Способы введения в глаза могут включать местное нанесение (глазные капли), субконъюнктивальную, периокулярную или интравитреальную инъекцию или введение с помощью баллонного катетера или глазных вставок, хирургически размещенных в конъюнктивальном мешочке. Парентеральное введение включает внутривенную, внутриартериальную, подкожную, внутрибрюшную или внутримышечную инъекцию или инфузию; или интракраниальное, например, интратекальное или интравентрикулярное введение. Парентеральное введение может осуществляться в форме однократного большого болюса или может осуществляться, например, насосом для непрерывной перфузии. Фармацевтические композиции и препараты для местного применения могут включать трансдермальные пластыри, мази, лосьоны, кремы, гели, капли, суппозитории, спреи, жидкости и порошки. Традиционные фармацевтические носители, водные, порошкообразные или масляные основы, загустители и т.п. могут быть необходимыми или желательными.

Данное изобретение также включает фармацевтические композиции, содержащие в качестве активного ингредиента одно или больше соединений по изобретению, описанных выше, в комбинации с одним или больше фармацевтически приемлемых носителей. При изготовлении композиций по изобретению, активный ингредиент обычно смешивают со вспомогательным веществом, разбавляют вспомогательным веществом или помещают в пределы такого носителя в форме, например, капсулы, саше, бумажной или другой емкости. Если вспомогательное вещество служит разбавителем, она может быть твердым, полутвердым или жидким материалом, который действует как растворитель, носитель или среда для активного ингредиента. Таким образом, композиции могут приобретать форму таблеток, пилюль, порошков, леденцов, саше, каше, эликсиров, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (в виде твердого вещества или в жидкой среде), мазей с содержанием, например, до 10%, масс. активного соединения, мягких и твердых желатиновых капсул, суппозитория, стерильных инъекционных растворов и стерильных расфасованных порошков.

В ходе изготовления препарата активное соединение может быть смолото для получения соответствующего размера частиц перед объединением с другими ингредиентами. Если активное соединение является в существенной мере нерастворимым, оно может быть смолото до размера частиц меньше 200 меш. Если активное соединение является в существенной мере растворимым в воде, размер частиц может быть скорректирован путем помола, для получения в существенной мере однородного распределения в препарате, например, приблизительно 40 меш.

Некоторые примеры подходящих вспомогательных веществ включают лактозу, глюкозу, сахарозу, сорбит, маннит, различные виды крахмала, акациевую камедь, фосфат кальция, альгинат, трагакантовую камедь, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, сироп и метилцеллюлозу. Рецептуры могут дополнительно включать: смазывающие средства, например, тальк, стеарат магния и минеральное масло; увлажняющие средства; эмульгирующие и суспендирующие средства; консерванты, например, метил- и пропилгидроксibenзоаты; подсластители; и вкусовые добавки. Композиции по изобретению могут быть разработаны таким образом, чтобы обеспечивать быстрое, пролонгированное или замедленное высвобождение активного ингредиента после введения больному, с применением методик, известных из уровня техники.

Композиции могут быть разработаны в дозированной лекарственной форме, где каждая единица дозированной формы содержит от приблизительно 5 до приблизительно 100 мг, чаще от приблизительно 10 до приблизительно 30 мг активного ингредиента. Термин «дозированная лекарственная форма» обозначает подходящие физически дискретные единицы как единицы дозированной лекарственной формы для субъекта-человека и других млекопитающих, где каждая единица содержит предварительно определенное количество активного материала, вычисленное таким образом, чтобы осуществлять целевое терапевтическое воздействие, в сочетании с подходящим фармацевтическим вспомогательным веществом.

Активное соединение может быть эффективным в широком

интервале доз, и в общем вводится в фармацевтически эффективном количестве. Однако, следует понимать, что количество соединения, которое фактически вводят, обычно будет определяться врачом в соответствии с существующими обстоятельствами, в том числе состоянием, которое подлежит лечению, выбранного способа введения, конкретного соединения, которое вводят, возраста, массы тела и ответа конкретного больного, тяжести симптомов у больного и т.п.

Для получения твердых композиций, например, таблеток, основной активный ингредиент смешивают с фармацевтическим вспомогательным веществом для образования твердой композиции премикса, содержащей гомогенную смесь соединения по данному изобретению. Если считать указанные композиции премикса гомогенными, активный ингредиент обычно диспергирован равномерно в композиции таким образом, что композиция может быть легко разделена на одинаково эффективные единицы лекарственной формы, например, таблетки, пилюли и капсулы. Такой твердый премикс далее разделяют на единицы лекарственной формы описанного выше типа, содержащие, например, от 0,1 до приблизительно 500 мг активного ингредиента по данному изобретению.

Таблетки или пилюли по данному изобретению могут быть покрыты покрытиями или в другой способ изготовлены таким образом, чтобы получить лекарственную форму, обеспечивающую преимущество пролонгированного действия. Например, таблетка или пилюля может включать внутреннюю дозу и внешний компонент дозы, где последний присутствует в форме оболочки над первым. Два компонента могут быть разделены кишечнорастворимым слоем, который служит для защиты от разложения в желудке и позволяет прохождение внутреннего компонента в неповрежденном виде в двенадцатиперстную кишку или его замедленное высвобождение. Различные материалы могут применяться для такого кишечнорастворимого слоя или покрытия, среди таких материалов целый ряд полимерных кислот и смесей полимерных кислот с такими материалами как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

Жидкие формы, в которые соединения и композиции по данному

изобретению могут быть введены с целью введения путем приема внутрь или инъекции, включают водные растворы, сиропы с подходящими вкусовыми добавками, водные или масляные суспензии, и ароматизированные эмульсии со съедобными маслами, такими как хлопковое масло, кунжутное масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также и эликсиры и т.п. фармацевтические носители.

Композиции для ингаляции или инсуффляции включают растворы и суспензии в фармацевтически приемлемых, водных или органических растворителях или их смесях, и порошки. Жидкие или твердые композиции могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, как описано выше. В некоторых вариантах композиции вводят перорально или интраназально в дыхательные пути для местного или системного воздействия. Композиции могут быть распылены с использованием небулайзера и инертных газов. Распыленные растворы можно вдыхать непосредственно из устройства для распыления, или устройство для распыления может быть присоединено к палатке, маскам или вентилятору с перемежающимся положительным давлением. Раствор, суспензию или композиции в форме порошка можно вводить через рот или интраназально из устройств, которые доставляют препарат соответствующим образом.

Количество соединения или композиции для введения больному будет варьировать в зависимости от состава композиции для введения, цели введения, например, профилактика или терапия, состояния больного, способа введения и т.п. При терапевтическом применении композиции можно вводить пациенту, который уже страдает заболеванием, в количестве, достаточном для излечения или, по меньшей мере частично, для остановки симптомов заболевания и его осложнений. Эффективные дозы будут зависеть от патологического состояния, подлежащего лечению, а также от решения клинициста, которое будет зависеть от таких факторов, как тяжесть заболевания, возраст, масса тела, общее состояние больного и т.п.

Композиции, которые вводят больному, могут приобретать форму фармацевтических композиций, описанных выше. Указанные

композиции могут быть стерилизованы традиционными методами стерилизации или стерилизующей фильтрацией. Водные растворы могут быть расфасованы для применения в форме растворов или лиофилизированы, лиофилизированный препарат объединяют со стерильным водным носителем перед введением. pH препаратов соединения обычно будет составлять от 3 до 11, более предпочтительно, от 5 до 9, и наиболее предпочтительно, от 7 до 8. Следует понимать, что применение некоторых упомянутых выше вспомогательных веществ, носителей или стабилизаторов будет приводить к образованию фармацевтических солей.

Терапевтические дозы соединений по данному изобретению могут варьировать в соответствии, например, с конкретным показанием, для которого назначено лечение, способом введения соединения, состоянием здоровья и патологическим состоянием больного и решением врача. Доля или концентрация соединения по изобретению в фармацевтической композиции может варьировать в зависимости от целого ряда факторов, в том числе дозировки, химических свойств (например, гидрофобность) и способа введения. Например, соединения по изобретению могут быть предоставлены в водном буферизованном физиологическом растворе, содержащем от приблизительно 0,1 до приблизительно 10%, масс/об соединения для парентерального введения. Некоторые типичные интервалы дозы составляют от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 1 г/кг массы тела в сутки. В некоторых вариантах интервал дозы составляет от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 100 мг/кг массы тела в сутки. Вероятно, дозы будут зависеть от таких переменных, как вид и степень прогрессирования заболевания или расстройства, общее состояние здоровья конкретного пациента, относительная биологическая эффективность выбранного соединения, состав вспомогательных веществ и способ введения. Эффективные дозы могут быть экстраполированы на базе кривых «доза-реакция», полученных в результате исследований *in vitro* или на животных моделях.

Соединения по изобретению могут также быть введены в комбинации с одним или больше дополнительных активных ингредиентов, которые могут включать какое-либо

фармацевтическое средство, например, противовирусные средства, вакцины, антитела, средства для усиления иммунитета, иммуносупрессанты, противовоспалительные средства и т.п.

Меченые соединения и методы анализа

Другой аспект данного изобретения касается флуоресцентного красителя, спиновой метки, меченых тяжелыми металлами или радиоактивными изотопами соединений по изобретению, пригодных не только для визуализации, но и для анализов, как *in vitro*, так и *in vivo* с целью локализации и количественного определения фермента IDO в образцах ткани, в том числе человека, и для идентификации лигандов фермента IDO путем ингибирования связывания меченых соединений. Соответственно, данное изобретение включает анализы фермента IDO, которые включают такие меченые соединения.

Данное изобретение дополнительно включает меченые изотопами соединения Формулы I. «Меченое изотопом» или «меченое радиоактивным изотопом» соединение представляет собой соединение по изобретению, где один или больше атомов заменены или замещены атомом, атомная масса или атомное число которого отличны от атомной массы или атомного числа, обычно встречающихся в природе (т.е., естественных). Подходящие радионуклиды, которые могут быть введены в соединения по данному изобретению, включают, не ограничиваясь ими, ^2H (также обозначается как D для дейтерия), ^3H (также обозначается как T для трития), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I и ^{131}I . Вид радионуклида, введенного в данные меченые радиоактивными изотопами соединения, будет зависеть от конкретного применения такого меченого радиоизотопом соединения. Например, для введения метки в фермент IDO *in vitro* и конкурентного анализа, наиболее пригодными в целом будут соединения, которые содержат ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I или ^{35}S . Для радиовизуализации наиболее пригодными в целом будут ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br или ^{77}Br .

Следует понимать, что «меченое радиоизотопом» или «меченое соединение» представляет собой соединение, содержащее по меньшей мере один радионуклид. В некоторых вариантах

радионуклид выбран из группы, состоящей из ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S и ^{82}Br .

Методы синтеза для инкорпорации радиоактивных изотопов в органические соединения пригодны для соединений по изобретению и хорошо известны из уровня техники.

Меченое радиоизотопом соединение по изобретению может применяться в скрининговом анализе с целью идентификации/оценки соединения. В общих терминах, недавно синтезированное или идентифицированное соединение (т.е., исследуемое соединение) может быть оценено относительно способности уменьшать связывание меченого радиоизотопом соединения по изобретению с ферментом IDO. Соответственно, способность исследуемого соединения конкурировать с меченым радиоизотопом соединением за связывание с ферментом IDO непосредственно коррелирует с его сродством связывания.

Наборы

Данное изобретение также включает фармацевтические наборы, пригодные, например, для лечения или профилактики связанных с IDO заболеваний или расстройств, ожирения, диабета и других заболеваний, перечисленных в данном описании, которые включают одну или больше емкостей, содержащих фармацевтическую композицию, которая содержит терапевтически эффективное количество соединения по изобретению. Такие наборы могут дополнительно включать, по желанию, один или больше различных традиционных фармацевтических компонентов набора, таких как, например, емкости с одним или больше фармацевтически приемлемыми носителями, дополнительные емкости и т.п., что будет очевидно для специалистов в данной области. Инструкции, в виде вкладыша или этикетки, где указаны количества компонентов для введения, приведены указания относительно введения и/или указания относительно смешивания компонентов, могут также входить в набор.

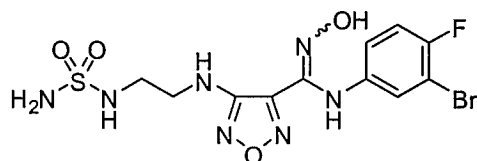
Изобретение будет описано более подробно с помощью конкретных примеров. Следующие примеры приведены для целей иллюстрации и не предназначены для ограничения изобретения каким-либо образом. Для специалистов в данной области будут

очевидными различные некритические параметры, которые могут быть изменены или модифицированы с получением по существу таких же результатов. Обнаружено, что соединения из Примеров являются ингибиторами IDO по результатам одного или больше анализов, описанных в данном описании.

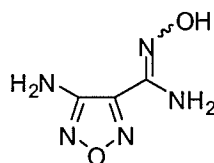
ПРИМЕРЫ

Пример 1

4-({2-[(Аминосульфонил)амино]этил}амино)-N-(3-бром-4-фторфенил)-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



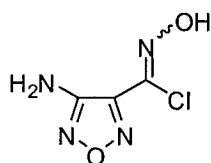
Стадия А: 4-Амино-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



Малононитрил [Aldrich, продукт № M1407] (320,5 г, 5 моль) добавляют к воде (7 л) нагревают до 45°C и перемешивают в течение 5 мин. Полученный раствор охлаждают на ледяной бане и добавляют натрия нитрит (380 г, 5,5 моль). Когда температура достигает 10° С, добавляют 6 н раствор хлористоводородной кислоты (55 мл). Происходит умеренно экзотермическая реакция, и температура достигает 16°C. После 15 мин охлаждающую баню удаляют и реакцию смесь перемешивают в течение 1,5 час при 16-18°C. Реакционную смесь охлаждают до 13°C и добавляют 50% водный раствор гидроксиламина (990 г, 15 моль) в виде одной порции. Температуру увеличивают до 26°C. После окончания экзотермической реакции охлаждающую баню удаляют и перемешивание продолжают в течение 1 час при 26-27°C, затем реакцию смесь медленно нагревают до кипения с обратным холодильником. Кипячение с обратным холодильником продолжают в течение 2 часов и затем реакцию смесь охлаждают в течение ночи. Реакционную смесь перемешивают на ледяной бане и

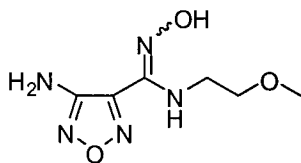
добавляют порциями 6 н раствор хлористоводородной кислоты (800 мл) в течение 40 мин до достижения pH 7,0. Перемешивание продолжают на ледяной бане при 5°C. Остаток собирают фильтрованием, тщательно промывают водой и сушат под вакуумом (50°C) с получением целевого продукта (644 г, 90%). ЖХМС для $C_3H_6N_5O_2$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 144,0. ¹³C ЯМР (75 МГц, CD₃OD): δ 156,0, 145,9, 141,3.

Стадия В: 4-Амино-N-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидоила хлорид



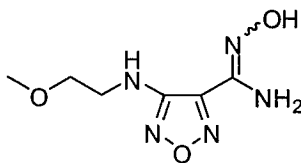
4-Амино-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид (422 г, 2,95 моль) добавляют к смеси воды (5,9 л), уксусной кислоты (3 л) и 6 н раствору хлористоводородной кислоты (1,475 л, 3 экв.) и суспензию перемешивают при 42-45°C до полного растворения. Добавляют натрия хлорид (518 г, 3 экв.) и раствор перемешивают на бане, которая содержит смесь лед/вода/метанол. Добавляют раствор натрия нитрита (199,5 г, 0,98 экв.) в воде (700 мл) в течение 3,5 час, поддерживая температуру ниже 0°C. После окончания добавления перемешивание продолжают на ледяной бане в течение 1,5 час и затем реакционную смесь нагревают до 15°C. Осадок собирают фильтрованием, тщательно промывают водой, помещают в этилацетат (3,4 л), обрабатывают безводным натрия сульфатом (500 г) и перемешивают в течение 1 часа. Суспензию фильтруют сквозь натрия сульфат (200 г) и фильтрат упаривают на роторном вращающемся испарителе. Остаток растворяют в метил трет-бутиловом эфире (5,5 л), обрабатывают углем (40 г), перемешивают в течение 40 мин и фильтруют сквозь б्रोунмиллерит. Растворитель удаляют с помощью роторного испарителя, и полученный продукт сушат под вакуумом (45°C) с получением целевого продукта (256 г, 53,4%). ЖХМС для $C_3H_4ClN_4O_2$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 162,9. ¹³C ЯМР (100 МГц, CD₃OD): δ 155,8, 143,4, 129,7.

Стадия С: 4-Амино-*N'*-гидрокси-*N*-(2-метоксиэтил)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



4-Амино-*N'*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидоилхлорид (200,0 г, 1,23 моль) смешивают с этилацетатом (1,2 л). При 0–5° С 2-метоксиэтиламин [Aldrich, продукт № 143693] (119,0 мл, 1,35 моль) добавляют в виде одной порции при перемешивании. Температуру реакционной смеси увеличивают до 41°С. Реакционную смесь охлаждают до 0–5°С. Добавляют триэтиламин (258 мл, 1,84 моль). После перемешивания в течение 5 мин, ЖХМС показывает завершение реакции. Реакционную смесь промывают водой (500 мл) и рассолом (500 мл), сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением целевого продукта (294 г, 119%) в виде темного неочищенного масла. ЖХМС для $C_6H_{12}N_5O_3$ ($M+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 202,3. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 10,65 (с, 1H), 6,27 (с, 2H), 6,10 (т, *J*=6,5 Гц, 1 H), 3,50 (м, 2H), 3,35 (д, *J*=5,8 Гц, 2H), 3,08 (с, 3H).

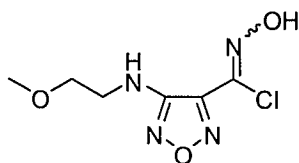
Стадия D: *N'*-Гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



4-Амино-*N'*-гидрокси-*N*-(2-метоксиэтил)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид (248,0 г, 1,23 моль) смешивают с водой (1 л). Добавляют калия гидроксид (210 г, 3,7 моль). Реакционную смесь кипятят с обратным холодильником при 100°С, выдерживая при этой температуре в течение ночи (15 час). Данные ТСХ с использованием 50% раствора этилацетата (содержащего 1% аммония гидроксида) в гексане показывают завершение реакции (для продукта *R*_f=0,6, для исходного материала *R*_f=0,5). ЖХМС также показывает завершение реакции. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и экстрагируют этилацетатом (3×1 л).

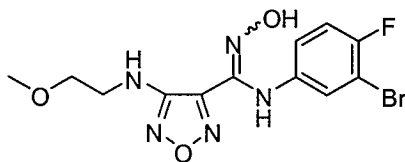
Объединенные растворы этилацетата сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением целевого продукта (201 г, 81%) в виде неочищенного твердого вещества практически белого цвета. ЖХМС для $C_6H_{12}N_5O_3$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 202,3 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 10,54 (с, 1H), 6,22 (с, 2H), 6,15 (т, $J=5,8$ Гц, 1H), 3,45 (т, $J=5,3$ Гц, 2H), 3,35 (м, 2H), 3,22 (с, 3H).

Стадия Е: N-Гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидоила хлорид



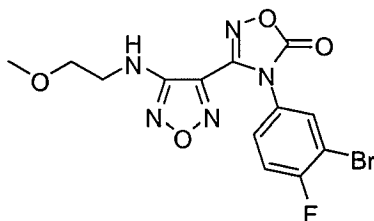
При комнатной температуре N' -гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид (50,0 г, 0,226 моль) растворяют в 6,0 М водном растворе хлористоводородной кислоты (250 мл, 1,5 моль). Добавляют натрия хлорид (39,5 г, 0,676 моль) с последующим добавлением воды (250 мл) и этилацетата (250 мл). При 3-5°C предварительно подготовленный водный раствор (100 мл) натрия нитрита (15,0 г, 0,217 моль) медленно добавляют в течение 1 час. Реакционную смесь перемешивают при 3-8°C, выдерживая при этой температуре в течение 2 часов и затем при комнатной температуре в течение уик-энда. ЖХМС показывает завершение реакции. Реакционную смесь экстрагируют этилацетатом (2x200 мл). Объединенные растворы этилацетата сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением целевого продукта (49,9 г, 126%) в виде неочищенного твердого вещества белого цвета. ЖХМС для $C_6H_{10}ClN_4O_3$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 221,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 13,43 (с, 1H), 5,85 (т, $J=5,6$ Гц, 1H), 3,50 (т, $J=5,6$ Гц, 2H), 3,37 (дд, $J=10,8, 5,6$ Гц, 2H), 3,25 (с, 3H).

Стадия F: N-(3-Бром-4-фторфенил)- N' -гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



N-Гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидоилхлорид (46,0 г, 0,208 моль) смешивают с водой (300 мл). Смесь нагревают до 60°C. Добавляют 3-бром-4-фторанилин [Oakwood products, продукт № 013091] (43,6 г, 0,229 моль) и перемешивают в течение 10 мин. Добавляют нагретый раствор (300 мл воды) натрия бикарбоната (26,3 г, 0,313 моль) в течение 15 мин. Реакционную смесь перемешивают при 60°C, выдерживая при этой температуре в течение 20 мин. ЖХМС показывает завершение реакции. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и экстрагируют этилацетатом (2х300 мл). Объединенные растворы этилацетата сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением целевого продукта (76,7 г, 98%) в виде неочищенного твердого вещества коричневого цвета. ЖХМС для $C_{12}H_{14}BrFN_5O_3$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 374,0, 376,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 11,55 (с, 1H), 8,85 (с, 1H), 7,16 (т, *J*=8,8 Гц, 1H), 7,08 (дд, *J*=6,1, 2,7 Гц, 1H), 6,75 (м, 1H), 6,14 (т, *J*=5,8 Гц, 1H), 3,48 (т, *J*=5,2 Гц, 2H), 3,35 (дд, *J*=10,8, 5,6 Гц, 2H), 3,22 (с, 3H).

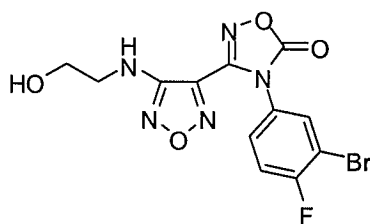
Стадия G: 4-(3-Бром-4-фторфенил)-3-{4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



Смесь *N*-(3-бром-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида (76,5 г, 0,204 моль), 1,1'-карбонилдидиимдазола (49,7 г, 0,307 моль) и этилацетата (720 мл) нагревают до 60° С и перемешивают в течение 20 мин. ЖХМС показывает завершение реакции. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, промывают 1 н

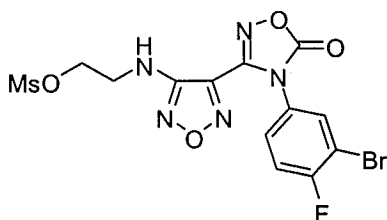
раствором HCl (2x750 мл), сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением целевого продукта (80,4 г, 98%) в виде неочищенного твердого вещества коричневого цвета. ЖХМС для $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$ ($M+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 400,0, 402,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 7,94 (т, *J*=8,2 Гц, 1H), 7,72 (дд, *J*=9,1, 2,3 Гц, 1H), 7,42 (м, 1H), 6,42 (т, *J*=5,7 Гц, 1H), 3,46 (т, *J*=5,4 Гц, 2H), 3,36 (т, *J*=5,8 Гц, 2H), 3,26 (с, 3H).

Стадия Н: 4-(3-Бром-4-фторфенил)-3-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



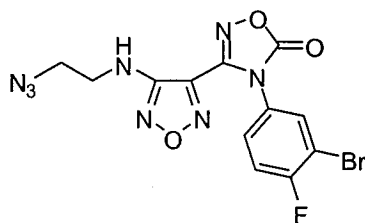
4-(3-Бром-4-фторфенил)-3-{4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он (78,4 г, 0,196 моль) растворяют в дихлорметане (600 мл). При -67°C добавляют бора трибромид (37 мл, 0,392 моль) в течение 15 мин. Реакционную смесь нагревают до -10°C в течение 30 мин. ЖХМС показывает завершение реакции. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 1 час. При 0-5°C реакционную смесь медленно гасят насыщенным раствором натрия бикарбоната (1,5 л) в течение 30 мин. Температуру реакционной смеси повышают до 25°C. Реакционную смесь экстрагируют этилацетатом (2x500 мл, органическая фракция, которая экстрагируется первой, - на дне, и органическая фракция, которая экстрагируется второй, - вверху). Объединенные органические фракции сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением целевого продукта (75 г, 99%) в виде неочищенного твердого вещества коричневого цвета. ЖХМС для $C_{12}H_{10}BrFN_5O_4$ ($M+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 386,0, 388,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8,08 (дд, *J*=6,2, 2,5 Гц, 1H), 7,70 (м, 1H), 7,68 (т, *J*=8,7 Гц, 1H), 6,33 (т, *J*=5,6 Гц, 1H), 4,85 (т, *J*=5,0 Гц, 1H), 3,56 (дд, *J*=10,6, 5,6 Гц, 2H), 3,29 (дд, *J*=11,5, 5,9 Гц, 2H).

Стадия I: 2-({4-[4-(3-Бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этилметансульфонат



К раствору 4-(3-бром-4-фторфенил)-3-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она (1,5 кг, 3,9 моль, содержит также некоторое количество бромсодержащего соединения) в этилацетате (12 л) добавляют метансульфонилхлорид (185 мл, 2,4 моль) по каплям в течение 1 час при комнатной температуре. Триэтиламин (325 мл, 2,3 моль) добавляют по каплям в течение 45 мин, во время чего температуру реакционной смеси повышают до 35°C. По прохождении 2 час реакционную смесь промывают водой (5 л), раствором соли (1 л), сушат над натрия сульфатом, объединяют еще с тремя объемами такой же реакционной смеси и растворители удаляют под вакуумом с получением целевого продукта (7600 г, количественный выход) в виде твердого вещества рыжевато-коричневого цвета. ЖХМС для $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$ (M+Na)⁺: соотношение массы к заряду = 485,9, 487,9. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8,08 (дд, J=6,2, 2,5 Гц, 1H), 7,72 (м, 1H), 7,58 (т, J=8,7 Гц, 1H), 6,75 (т, J=5,9 Гц, 1H), 4,36 (т, J=5,3 Гц, 2H), 3,58 (дд, J=11,2, 5,6 Гц, 2H), 3,18 (с, 3H).

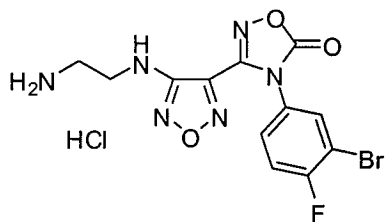
Стадия J: 3-{4-[(2-Азидоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



К раствору 2-({4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил

метансульфоната (2,13 кг, 4,6 моль, который содержит также некоторое количество бромсодержащего соединения) в диметилформамиде (4 л) при перемешивании в 22 л колбе добавляют натрия азид (380 г, 5,84 моль). Реакционную смесь нагревают до 50°C, выдерживая при этой температуре в течение 6 час, выливают в смесь лед/вода (8 л) и экстрагируют смесью этилацетат/гептан (20 л, 1:1). Органическую фракцию промывают водой (5 л) и раствором соли (5 л) и растворители удаляют под вакуумом с получением целевого продукта (1464 г, 77%) в виде твердого вещества рыжевато-коричневого цвета. ЖХМС для $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$ (M+Na)⁺: соотношение массы к заряду = 433,0, 435,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8,08 (дд, *J*=6,2, 2,5 Гц, 1H), 7,72 (м, 1H), 7,58 (т, *J*=8,7 Гц, 1H), 6,75 (т, *J*=5,7 Гц, 1H), 3,54 (т, *J*=5,3 Гц, 2H), 3,45 (дд, *J*=11,1, 5,2 Гц, 2H).

Стадия К: 3-{4-[(2-Аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он гидрохлорид



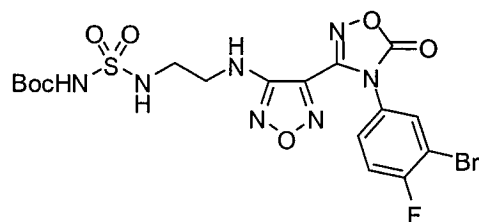
Натрия йодид (1080 г, 7,2 моль) добавляют к 3-{4-[(2-азидоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он (500 г, 1,22 моль) в метаноле (6 л). Смесь перемешивают в течение 30 мин, и в ходе этого периода происходит умеренное выделение тепла. Добавляют по каплям хлортриметилсилан (930 мл, 7,33 моль) в виде раствора в метаноле (1 л) с такой скоростью, чтобы температура не превышала 35°C, и реакционную смесь перемешивают в течение 3,5 час при комнатной температуре. Реакционную смесь нейтрализуют 33%, масс. раствором натрия тиосульфата пентагидрата в воде (~1,5 л), разбавляют водой (4 л) и pH доводят до 9 осторожным добавлением твердого калия карбоната (250 г добавляют маленькими порциями: наблюдается образование пены). Добавляют

ди-трет-бутилдикарбонат (318 г, 1,45 моль) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре. Дополнительное количество калия карбоната (200 г) добавляют порциями по 50 г в течение 4 час, чтобы убедиться, что рН составляет приблизительно или выше 9. После перемешивания при комнатной температуре в течение ночи, твердое вещество фильтруют, растирают с водой (2 л) и затем с МТВЭ (1,5 л). Всего осуществляют 11 таких циклов (5,5 кг, 13,38 моль). Объединенные твердые вещества растирают со смесью ТГФ/дихлорметан (24 л, 1:1, 4 цикла в колбе роторного испарителя объемом 20 л, 50°C, 1 час), фильтруют и промывают дихлорметаном (по 3 л каждый цикл) с получением твердого вещества практически белого цвета. Неочищенный материал растворяют при 55°C тетрагидрофураном (5 мл/г), обрабатывают обесцвечивающим углем (2% масс.) и силикагелем (2% масс.) и фильтруют в горячем состоянии сквозь б्रोунмиллерит с получением продукта в виде твердого вещества практически белого цвета (5122 г). Объединенные фильтраты МТВЭ, ТГФ и дихлорметан упаривают под вакуумом и хроматографируют (2 кг силикагеля, гептан с градиентом 0-100% этилацетата, 30 л) с получением дополнительной порции продукта (262 г). Объединенные твердые вещества сушат до получения требуемой массы в конвекционной печи (5385 г, 83%).

В колбу объемом 22 л помещают водорода хлорид (4 н раствор в 1,4-диоксане, 4 л, 16 моль). Добавляют порциями трет-бутил-[2-({4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил]карбамат (2315 г, 4,77 моль) в виде твердого вещества в течение 10 мин. Суспензию перемешивают при комнатной температуре, и она постепенно превращается в густую пасту, которую невозможно перемешивать. После стояния в течение ночи при комнатной температуре, пасту суспендируют в этилацетате (10 л), фильтруют, повторно суспендируют в этилацетате (5 л), фильтруют и сушат до получения требуемой массы, с получением целевого продукта в виде твердого вещества белого цвета (объединяют с продуктами других циклов, использовали 5 кг исходного материала, 4113 г, 95%). ЖХМС для $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$ (M+H)⁺:

соотношение массы к заряду = 384,9, 386,9. ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6): δ 8,12 (м, 4H), 7,76 (м, 1 час), 7,58 (т, $J=8,7$ Гц, 1 час), 6,78 (т, $J=6,1$ Гц, 1 час), 3,51 (дд, $J=11,8, 6,1$ Гц, 2H), 3,02 (м, 2H).

Стадия L: трет-Бутил-([2-([4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил]амино)этил]амино)сульфонил)карбамат

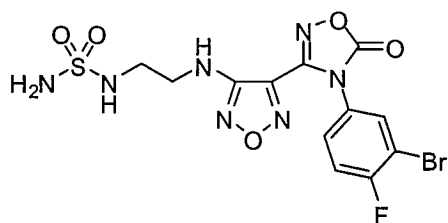


Круглодонную колбу объемом 5 л помещают хлорсульфонилизотиоцианат [Aldrich, продукт № 142662] (149 мл, 1,72 моль) и дихлорметан (1,5 л) и охлаждают с использованием ледяной бани до 2°C . Добавляют по каплям трет-бутанол (162 мл, 1,73 моль) в дихлорметане (200 мл) с такой скоростью, чтобы температура не превысила 10°C . Полученный раствор перемешивают при комнатной температуре в течение 30-60 мин с получением трет-бутил-[хлорсульфонил]карбамата.

В колбу объемом 22 л помещают 3-{4-[(2-аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидрохлорид (661 г, 1,57 моль) и 8,5 л дихлорметана. После охлаждения до -15°C на бане лед/соль, добавляют раствор трет-бутил [хлорсульфонил]карбамата (полученный, как описано выше) с такой скоростью, чтобы температура не превысила -10°C (вреда добавления 7 мин). После перемешивания в течение 10 мин, добавляют триэтиламин (1085 мл, 7,78 моль) с такой скоростью, чтобы температура не превысила -5°C (время добавления 10 мин). Охлаждающую баню удаляют, реакционную смесь нагревают до 10°C , делят на две порции и нейтрализуют 10% конц. раствором HCl (4,5 л каждая порция). Каждую порцию переносят в делительную лейку объемом 50 л и разбавляют этилацетатом до образования раствора твердого вещества белого цвета (~25 л). Слои разделяют и органическую фракцию промывают водой (5 л), раствором соли (5

л) и растворители удаляют под вакуумом с получением твердого вещества практически белого цвета. Твердое вещество растирают с МТБЭ (2х1,5 л) и сушат до получения требуемой массы с получением твердого вещества белого цвета. Таким же образом обрабатывают общее количество исходного материала 4113 г (5409 г, 98 %). ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 10,90 (с, 1H), 8,08 (дд, $J=6,2, 2,5$ Гц, 1H), 7,72 (м, 1H), 7,59 (т, $J=8,6$ Гц, 1H), 6,58 (т, $J=5,7$ Гц, 1H), 3,38 (дд, $J=12,7, 6,2$ Гц, 2H), 3,10 (дд, $J=12,1, 5,9$ Гц, 2H), 1,41 (с, 9H).

Стадия М: N-[2-({4-[4-(3-Бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил]сульфамид



В колбу объемом 22 л, содержащую смесь трифторуксусная кислота/вода (8,9 л, 98:2), порциями добавляют *трет*-бутил ({[2-({4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил]амино}сульфонил)карбамат (1931 г, 3,42 моль) в течение 10 минут. Полученную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 1,5 час, растворители удаляют под вакуумом и перегоняют дихлорметаном (2 л). Полученное твердое вещество обрабатывают второй раз новой смесью трифторуксусная кислота/вода (8,9 л, 98:2), нагревают в течение 1 час до 40-50°C, растворители удаляют под вакуумом и перегоняют дихлорметаном (3х2 л). Полученное твердое вещество белого цвета сушат под вакуумом при 50°C, выдерживая при этой температуре в течение ночи. Всего таким способом было обработано 5409 г (4990 г, количественный выход). ЖХМС для $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{BrFN}_7\text{O}_5\text{S}$ $(\text{M}+\text{H})^+$: соотношение массы к заряду = 463,9, 465,9. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,08 (дд, $J=6,2, 2,5$ Гц, 1H), 7,72 (м, 1H), 7,59 (т, $J=8,7$ Гц, 1H), 6,67 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 6,52 (т, $J=6,0$ Гц,

1H), 3,38 (дд, $J=12,7, 6,3$ Гц, 2H), 3,11 (дд, $J=12,3, 6,3$ Гц).

Стадия N: 4-({2-[(Аминосульфонил)амино]этил}амино)-N-(3-бром-4-фторфенил)-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

К неочищенной смеси N-[2-({4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил]сульфамида (2,4 моль), содержащей остаточное количество трифторуксусной кислоты, при перемешивании в колбу объемом 22 л добавляют ТГФ (5 л). Полученный раствор охлаждают до 0°C с использованием ледяной бани, добавляют 2 н раствор NaOH (4 л) с такой скоростью, чтобы температура не превысила 10°C . После перемешивания при комнатной температуре в течение 3 час (ЖХМС показывает отсутствие исходного материала), pH доводят до 3-4 концентрированием HCl (~500 мл). ТГФ удаляют под вакуумом и полученную смесь экстрагируют этилацетатом (15 л). Органическую фракцию промывают водой (5 л), раствором соли (5 л) и растворители удаляют под вакуумом с получением твердого вещества. Твердое вещество растирают с МТБЭ (2x2 л), объединяют с тремя другими реакционными смесями такого ж объема и сушат в течение ночи в конвекционной печи с получением твердого вещества белого цвета (3535 г). Твердое вещество перекристаллизируют (3x22 л колба, смесь вода/этанол, 2:1, 14,1 л каждая колба) и сушат в конвекционной печи при температуре 50°C до получения требуемой массы названного в заголовке соединения в виде твердого вещества практически белого цвета (3290 г, 78%). ЖХМС для $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{BrFN}_7\text{O}_4\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}^+$): соотношение массы к заряду = 437,9, 439,9. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 11,51 (с, 1H), 8,90 (с, 1H), 7,17 (т, $J=8,8$ Гц, 1H), 7,11 (дд, $J=6,1, 2,7$ Гц, 1H), 6,76 (м, 1H), 6,71 (т, $J=6,0$ Гц, 1H), 6,59 (с, 2 H), 6,23 (т, $J=6,1$ Гц, 1H), 3,35 (дд, $J=10,9, 7,0$ Гц, 2H), 3,10 (дд, $J=12,1, 6,2$ Гц, 2H).

Конечный продукт представляет собой безводное кристаллическое твердое вещество. Определенное содержание воды меньше 0,1% титрования по методу Карла Фишера. Получены данные рентгеноструктурного анализа порошка (РГАП) (дифрактометр для

порошков Rigaku MiniFlex; Cu при $1,054056\text{\AA}$ с фильтром K β ; начальный угол = 3, угол остановки = 45, отбор образца = 0,02, скорость сканирования = 2) и представлены на фиг.1. Перечень 2-тета пиков приведен в таблице 1 ниже. Интервал температуры плавления твердого вещества определен на приборе Mettler Toledo Differential Scanning Calorimetry (DSC, DSC) 822. Образец нагревали от 40°C до 240°C со скоростью нагревания 10°C на мин. Термограмма DSC (фиг. 2) демонстрирует T_{onset} при 162,7°C и T_{peak} при 163,8°C. Термогравиметрический анализ (ТГА, TGA) (фиг. 3) показывает потери в массе 0,3% при нагревании от 20°C до 150°C при скорости нагревания 10°C/мин с использованием прибора TA Q500.

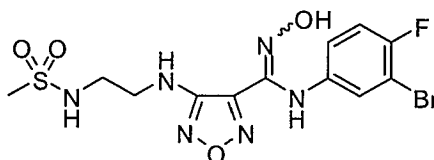
Таблица 1

2-Тета	Высота	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

Пример 2

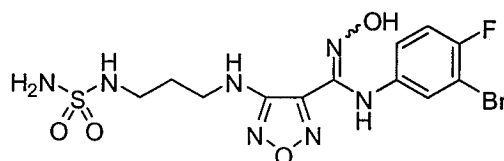
N-(3-Бром-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-4-({2-[(метилсульфонил) амино] этил} амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



Названное в заголовке соединение получают в соответствии с методикой из Примера 17 стадия Е, с использованием *N'*-гидрокси-4-({2-[(метилсульфонил) амино] этил} амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидама и 3-бром-4-фторанилина [Oakwood Products, Inc., продукт № 013091] как исходных материалов. ЖХМС для $C_{12}H_{15}BrFN_6O_4S$ ($M+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 437,0, 439,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 11,49 (с, 1H), 8,90 (с, 1H), 7,17 (м, 2H), 7,09 (дд, *J*=6,3, 2,5 Гц, 1H), 6,26 (т, *J*=6,1 Гц, 1H), 3,33 (м, 2H), 3,13 (к, *J*=6,0 Гц, 2H), 2,89 (с, 3H).

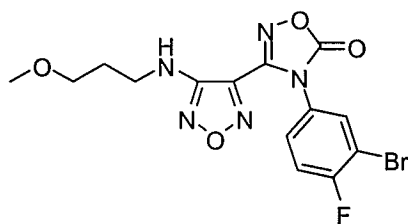
Пример 3

4-({3-[(Аминосульфонил) амино] пропил} амино)-*N*-(3-бром-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



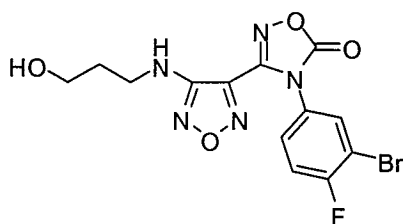
Стадия А: 3-(4-Амино-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-4-(3-бром-4-

Стадия С: 4-(3-Бром-4-фторфенил)-3-{4-[(3-метоксипропил) амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



Раствор 3-метоксипропан-1-ола [Fluka продукт № 38457] (3,1 мл, 32 ммоль) и трифенилфосфина (8,4 г, 32 ммоль) в тетрагидрофуране (93 мл) при 0°C обрабатывают диизопропилазодикарбоксилатом (6,7 мл, 34 ммоль) по каплям. Реакционную смесь перемешивают при 0°C, выдерживая при этой температуре в течение 15 мин, обрабатывают раствор N-{4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-2,2,2-трифторацетамидом (10 г, 23 ммоль) в тетрагидрофуране (47 мл) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 72 час. Реакционную смесь упаривают, разбавляют этилацетатом (200 мл), обрабатывают трифторуксусной кислотой (20 мл) и водой (20 мл) и нагревают до 50°C, выдерживая при этой температуре в течение 6 час. Реакционную смесь упаривают, разбавляют этилацетатом (200 мл) и промывают водой (3x80 мл), насыщенным раствором натрия бикарбоната (2x80 мл) и раствором соли (80 мл), сушат над безводным натрия сульфатом, фильтруют и упаривают до неочищенного остатка. Полученный материал очищают на силикагеле с получением целевого продукта (6,4 г, 54%) в виде твердого вещества белого цвета. ЖХМС для $C_{14}H_{14}BrFN_5O_4$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 414,0, 416,0.

Стадия D: 4-(3-Бром-4-фторфенил)-3-{4-[(3-гидроксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он

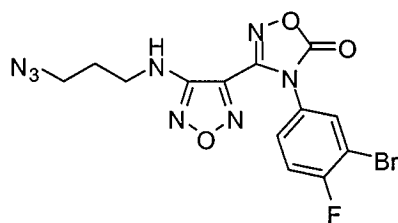


Раствор

4-(3-бром-4-фторфенил)-3-{4-[(3-

метоксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-она (6,3 г, 14 ммоль) в дихлорметане (60 мл) при -78°C обрабатывают 1 М раствором бора трибромида в дихлорметане (28 мл, 28 ммоль) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 2 час. Реакционную смесь охлаждают до 0°C и гасят насыщенным раствором натрия бикарбоната (100 мл). Водную фракцию отделяют и экстрагируют дихлорметаном (2x150 мл). Объединенные органические фракции промывают раствором соли (100 мл), сушат над безводным натрия сульфатом, фильтруют и упаривают до неочищенного твердого вещества практически белого цвета. Полученный материал очищают на силикагеле с получением целевого продукта (4,0 г, 73%) в виде твердого вещества белого цвета. ЖХМС для C₁₃H₁₂BrFN₅O₄ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 400,0, 402,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8,07 (дд, *J*=6,2, 2,5 Гц, 1H), 7,72-7,68 (м, 1H), 7,59 (дд, *J*=8,8, 8,6 Гц, 1H), 6,54 (т, *J*=5,7 Гц, 1H), 4,60 (т, *J*=5,1 Гц, 1H), 3,48-3,43 (м, 2 H), 3,32-3,26 (м, 2 H), 1,74-1,67 (м, 2H).

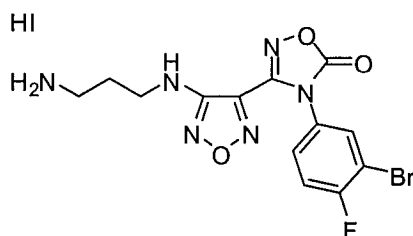
Стадия Е: 3-{4-[(3-Азидопропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-он



Раствор 4-(3-бром-4-фторфенил)-3-{4-[(3-гидроксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-она (3,0 г, 7,5 ммоль) в дихлорметане (27 мл) обрабатывают метансульфонилхлоридом (0,75 мл, 9,7 ммоль) и *N,N*-диизопропилэтиламином (2,6 мл, 15 ммоль) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 2 час. Реакционную смесь разбавляют водой (20 мл) и экстрагируют дихлорметаном (20 мл). Органическую фракцию отделяют, сушат над безводным натрия сульфатом, фильтруют и упаривают с получением мезилата, который используют без дальнейшей очистки. Раствор неочищенного мезилата в *N,N*-диметилформамиде (24 мл)

обрабатывают натрия азидом (0,73 г, 11 ммоль) и нагревают до 85°C, выдерживая при этой температуре в течение 2 час. Реакционную смесь разбавляют этилацетатом (300 мл) и промывают водой (100 мл), насыщенным раствором натрия бикарбоната (100 мл) и раствором соли (100 мл), сушат над безводным натрия сульфатом, фильтруют и упаривают с получением целевого продукта (3,2 г, 99%). Полученный материал используют без дополнительной очистки. ЖХМС для $C_{13}H_{10}BrFN_8O_3Na$ $(M+Na)^+$: соотношение массы к заряду = 446,9, 448,9.

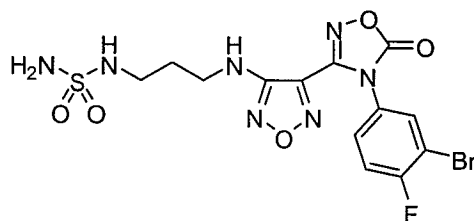
Стадия F: 3-{4-[(3-Аминопропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидройодид



Раствор 3-{4-[(3-азидопропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она (2,0 г, 4,7 ммоль) в метаноле (36 мл) обрабатывают натрия йодидом (4,2 г, 28 ммоль) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 5 мин. Реакционную смесь обрабатывают раствором хлортриметилсилана (3,6 мл, 28 ммоль) в метаноле (7 мл) по каплям и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 40 мин. Реакционную смесь медленно выливают в раствор натрия тиосульфата (5,0 г, 32 ммоль) в воде (200 мл) охлажденного до 0°C. Осажденное твердое вещество отфильтровывают, промывают водой и сушат с получением целевого продукта (2,3 г, 93%) в виде твердого вещества. ЖХМС для $C_{13}H_{13}BrFN_6O_3$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 399,0, 401,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,08 (дд, $J=6,1, 2,3$ Гц, 1H), 7,74-7,70 (м, 1H), 7,60 (дд, $J=8,8, 8,6$ Гц, 1H), 7,22 (шс, 2 H), 6,69 (шс, 1H), 2,81-2,77 (м, 2H), 1,86-1,79 (м, 2H).

Стадия G: N-[3-({4-[4-(3-Бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-

ил}амино)пропил]сульфамид



Раствор 3-{4-[(3-аминопропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидройодида (150 мг, 0,28 ммоль) и сульфамида (160 мг, 1,7 ммоль) в пиридине (2,5 мл) нагревают в микроволновом реакторе при 130°C, выдерживая при этой температуре в течение 10 мин. Реакционную смесь упаривают с получением неочищенного остатка. Полученный материал очищают препаративной ЖХМС с получением целевого продукта (96 мг, 71%) в виде твердого вещества. ЖХМС для $C_{13}H_{14}BrFN_7O_5S$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 478,0, 480,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 8,07 (дд, J=6,2, 2,5 Гц, 1H), 7,73-7,69 (м, 1H), 7,59 (дд, J=8,8, 8,6 Гц, 1H), 6,57-6,51 (м, 4 H), 3,31-3,26 (м, 2H), 2,92-2,87 (м, 2H), 1,79-1,72 (м, 2H).

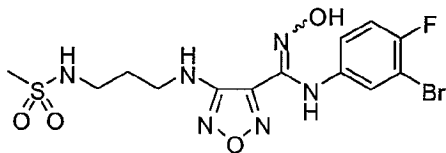
Стадия Н: 4-({3-[(Аминосульфонил)амино]пропил}амино)-N-(3-бром-4-фторфенил)-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

Раствор N-[3-({4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)пропил]сульфамида (35 мг, 73 мкмоль) в метаноле (1 мл) обрабатывают 2 М раствором NaOH (0,3 мл, 0,6 ммоль) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь обрабатывают уксусной кислотой (50 мкл, 0,9 ммоль), фильтруют и очищают препаративной ЖХМС с получением целевого продукта (14 мг, 42%) в виде твердого вещества. ЖХМС для $C_{12}H_{16}BrFN_7O_4S$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 451,8, 453,9. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 11,5 (с, 1H), 8,89 (с, 1H), 7,17 (дд, J=8,8, 8,6 Гц, 1H), 7,09 (дд, J=6,1, 2,7 Гц, 1H), 6,76-6,72 (м, 1H), 6,56 (дд, J=6,1, 6,1 Гц, 1H), 6,51 (с, 2H), 6,17 (дд, J=5,9, 5,9 Гц, 1H), 3,27-3,21 (м,

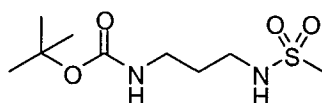
2H), 2,94-2,88 (м, 2H), 1,78-1,71 (м, 2H).

Пример 4

N-(3-Бром-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-4-({3-[(метилсульфонил)амино]пропил}амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

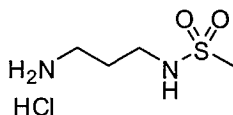


Стадия А: *трет*-Бутил {3-[(метилсульфонил)амино]пропил}карбамат



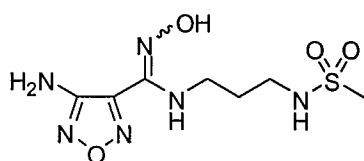
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 17, стадия А, с использованием *N*-(3-аминопропил) (*трет*-бутоксикарбоксамид [Aldrich продукт № 436992] как исходного материала, с выходом 70%. ЖХМС для $C_4H_{13}N_2O_2S$ ($[M+H]^+$): соотношение массы к заряду = 153,1.

Стадия В: *N*-(3-Аминопропил)метансульфонамид гидрохлорид



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 17, стадия В, с использованием *трет*-бутил {3-[(метилсульфонил)амино]пропил}карбамата как исходного материала. ЖХМС для $C_4H_{13}N_2O_2S$ ($[M+H]^+$): соотношение массы к заряду = 153,1.

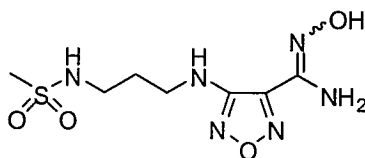
Стадия С: 4-Амино-*N'*-гидрокси-*N*-(3-[(метилсульфонил)амино]пропил)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



Названное соединение получают в соответствии с методикой

из Примера 17, стадия С, с использованием *N*-(3-аминопропил)метансульфонамид гидрохлорида и 4-амино-*N*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидоилхлорида [приготовленного в соответствии с Примером 1, стадии А-В] как исходных материалов, с выходом 19 %

Стадия D: *N'*-Гидрокси-4-({3-[(метилсульфонил)амино]пропил}амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



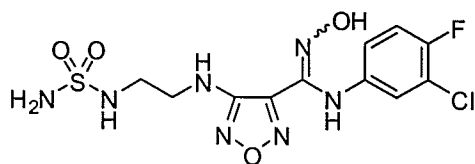
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 17, стадия D, с использованием 4-амино-*N'*-гидрокси-*N*-(3-[(метилсульфонил)амино]пропил)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида как исходного материала. ЖХМС для $C_7H_{15}N_6O_4S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 279,0.

Стадия E: *N*-(3-Бром-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-4-({3-[(метилсульфонил)амино]пропил}амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

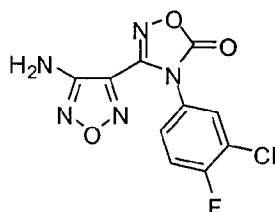
Названное в заголовке соединение получают в соответствии с методикой из Примера 17, стадия E, с использованием *N'*-гидрокси-4-({3-[(метилсульфонил)амино]пропил}амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида и 3-бром-4-фторанилина [Oakwood Products, Inc., продукт № 013091] как исходных материалов, с выходом 12%. ЖХМС для $C_{13}H_{17}BrFN_6O_4S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 451,0, 453,0. 1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD): δ 7,12 (дд, $J=5,9, 2,4$ Гц, 1H), 7,05 (т, $J=8,7$ Гц, 1H), 6,83 (м, 1H), 3,39 (т, $J=6,8$ Гц, 2H), 3,14 (т, $J=6,6$ Гц, 2H), 2,94 (с, 3H), 1,87 (м, 2H).

Пример 5

4-({2-[(Аминосульфонил)амино]этил}амино)-*N*-(3-хлор-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

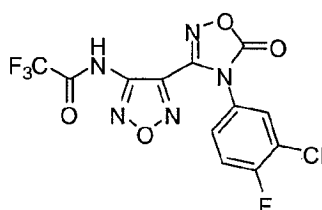


Стадия А: 3-(4-Амино-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-4-(3-хлор-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



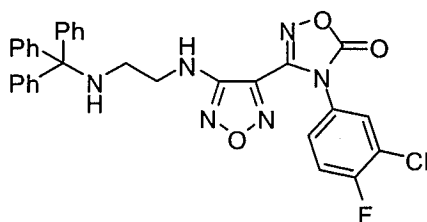
Раствор 4-амино-*N*-(3-хлор-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида (80 г, 0,29 моль) [см. публикацию Патентной заявки США № 2006/0258719] в тетрагидрофуране (500 мл) обрабатывают раствором 1,1'-карбонилдимидазола (53 г, 0,32 моль) в тетрагидрофуране (200 мл) и кипятят с обратным холодильником в течение 1 час. Реакционную смесь охлаждают до 25°C и упаривают до точки, где осаждается большое количество твердого вещества. Гетерогенную смесь разбавляют этилацетатом (1,5 л) и промывают 1 н раствором HCl (2x300 мл), водой (300 мл) и раствором соли (200 мл). Органическую фракцию отделяют, сушат над безводным натрия сульфатом, фильтруют и упаривают с получением целевого продукта (88 г, количественный выход) в виде твердого вещества практически белого цвета. Полученный материал используют без дальнейшей очистки. ЖХМС для C₁₀H₆ClF₂N₅O₃ (M+N)⁺: соотношение массы к заряду = 298,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 7,96 (дд, *J*=6,6, 2,3 Гц, 1H), 7,69-7,60 (м, 2H), 6,60 (с, 2H).

Стадия В: *N*-{4-[4-(3-Хлор-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-2,2,2-трифторацетамид



Раствор 3-(4-амино-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-4-(3-хлор-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она (15 г, 50 ммоль) в дихлорметане (120 мл) обрабатывают трифторуксусным ангидридом (14 мл, 100 ммоль), охлаждают до 0°C и обрабатывают пиридином (8,2 мл, 100 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 10 мин, охлаждают до 0°C и гасят водой (10 мл). Реакционную смесь разбавляют этилацетатом (500 мл) и промывают 1 н раствором HCl (300 мл), водой (2x200 мл) и раствором соли (200 мл). Органическую фракцию отделяют, сушат над безводным натрия сульфатом, фильтруют и упаривают до объема ~50 мл. Полученный раствор нагревают (~40-50°C) и обрабатывают гексаном (600 мл) при энергичном перемешивании, и затем петролейным эфиром (200 мл). Смесь перемешивают при 0°C, выдерживая при этой температуре в течение 30 мин, и твердое вещество отделяют фильтрацией, промывают гексаном и сушат с получением целевого продукта (19,7 г, 99%) в виде твердого вещества белого цвета. ЖХМС для C₁₂H₅ClF₄N₅O₄ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 394,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 7,82 (дд, J=6,6, 2,5 Гц, 1H), 7,59 (дд, J=9,0, 9,0 Гц, 1H), 7,52-7,47 (м, 1H).

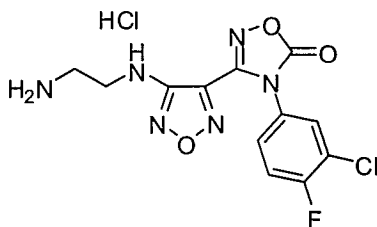
Стадия С: 4-(3-Хлор-4-фторфенил)-3-(4-{[2-(третиламино)этил]амино}-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



Раствор 2-(третиламино)этанола (10 г, 33 ммоль) [EP599220 и *J. Org. Chem.* (2001), 66, 7615] и трифенилфосфина (8,7 г, 33 ммоль) в тетрагидрофуране (65 мл) при 0°C обрабатывают диизопропилазодикарбоксилатом (7,0 мл, 35 ммоль) по каплям. Реакционную смесь перемешивают при 0°C, выдерживая при этой температуре в течение 15 мин, обрабатывают раствором N-{4-[4-(3-хлор-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-

1,2,5-оксадиазол-3-ил}-2,2,2-трифторацетамида (9,3 г, 24 ммоль) в тетрагидрофуране (28 мл) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 16 час. Реакционную смесь упаривают, разбавляют этилацетатом (350 мл), охлаждают до 0°C, обрабатывают 1 н раствором HCl (200 мл) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 1 час. Реакционную смесь обрабатывают дополнительно 1 н раствором HCl (150 мл) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 3 час. Органическую фракцию отделяют, промывают насыщенным раствором натрия бикарбоната (200 мл) и раствором соли (100 мл), сушат над безводным натрия сульфатом, фильтруют и упаривают до желтой пены, которую повторно упаривают с гексаном с получением маслянистого твердого вещества. Маслянистое твердое вещество обрабатывают метил трет-бутил эфиром (50 мл) и перемешивают с получением гетерогенной смеси. Твердое вещество отфильтровывают, промывают метил трет-бутил эфиром (30 мл) и сушат с получением целевого продукта (10 г, 74%) в виде белого твердого вещества. ЖХМС для $C_{31}H_{24}ClFN_6O_3Na$ $(M+Na)^+$: соотношение массы к заряду = 605,2. 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6): δ 7,97 (дд, $J=6,7$, 2,6 Гц, 1H), 7,71-7,66 (м, 1H), 7,60 (дд, $J=9,1$, 8,8 Гц, 1H), 7,40-7,37 (м, 6H), 7,28-7,23 (м, 6 H), 7,18-7,12 (м, 3H), 6,59 (дд, $J=5,9$, 5,6 Гц, 1H), 3,37-3,31 (м, 2H), 2,96 (дд, $J=7,6$, 7,6 Гц, 1H), 2,27-2,19 (м, 2H).

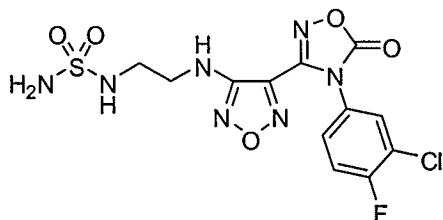
Стадия D: 3-{4-[(2-Аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-хлор-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидрохлорид



Предварительно подготовленный раствор триизопропилсилана (3,4 мл, 17 ммоль) и трифторуксусной кислоты (44 мл, 570 ммоль) добавляют к 4-(3-хлор-4-фторфенил)-3-{4-[[2-(третиламино)этил]амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-

оксадиазол-5(4*H*)-она (6,5 г, 11 ммоль) и полученную суспензию перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь фильтруют и промывают трифторуксусной кислотой. Фильтрат упаривают до состояния масла, которое разбавляют метанолом (25 мл), охлаждают до 0°C, обрабатывают 4 М раствором HCl в 1,4-диоксане (14 мл) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 15 мин. Смесь упаривают до твердого вещества, которое обрабатывают диэтиловым эфиром (50 мл) и фильтруют. Твердое вещество промывают диэтиловым эфиром (50 мл) и сушат с получением целевого продукта (4,1 г, 98%) в виде твердого вещества белого цвета. ЖХМС для C₁₂H₁₁ClFN₆O₃ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 341,1. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆): δ 8,05-8,00 (м, 4 Н), 7,75-7,69 (м, 1Н), 7,64 (дд, *J*=9,1, 8,8 Гц, 1Н), 6,77 (дд, *J*=5,9, 5,9 Гц, 1Н), 3,54-3,47 (м, 2Н), 3,04-2,99 (м, 2Н).

Стадия Е: N-[2-({4-[4-(3-Хлор-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил]сульфамид



Раствор хлорсульфонилизотиоцианата (2,0 мл, 23 ммоль) в дихлорметане (70 мл) обрабатывают *трет*-бутиловым спиртом (2,2 мл, 23 ммоль) при 0°C и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 1 час. Полученную смесь добавляют к суспензии 3-{4-[(2-аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-хлор-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-она гидрохлорида (4,3 г, 11 ммоль) в дихлорметане (70 мл). Реакционную смесь обрабатывают раствором триэтиламина (6,3 мл, 45 ммоль) в дихлорметане (20 мл) при 0°C и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 3 час. Реакционную смесь разбавляют 0,1 н раствором HCl и экстрагируют этилацетатом (2x100 мл). Объединенные органические фракции

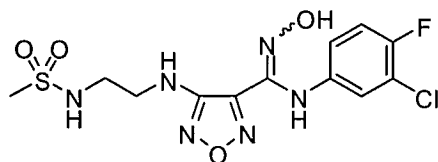
промывают раствором соли (100 мл), сушат над безводным натрием сульфатом, фильтруют и упаривают до твердого вещества белого цвета. Твердое вещество белого цвета разбавляют дихлорметаном (100 мл), обрабатывают трифторуксусной кислотой (20 мл) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 3 час. Реакционную смесь упаривают до неочищенного остатка, который очищают хроматографией на силикагеле с получением целевого продукта (3,7 г, 78%) в виде твердого вещества белого цвета. ЖХМС для $C_{12}H_{12}ClFN_7O_5S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 420,0. 1H ЯМР (300 МГц, $DMCO-d_6$): δ 7,98 (дд, $J=6,4, 2,1$ Гц, 1H), 7,70-7,60 (м, 2H), 6,66 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 6,57 (с, 2H), 6,52 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 3,42-3,35 (м, 2H), 3,13-3,06 (м, 2H).

Стадия F: 4-({2-[(Аминосульфонил) амино] этил} амино) -N- (3-хлор-4-фторфенил) -N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

Раствор N- [2- ({4- [4- (3-хлор-4-фторфенил) -5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил] -1,2,5-оксадиазол-3-ил} амино) этил] сульфида (3,7 г, 8,8 ммоль) в метаноле (70 мл) обрабатывают 2 М раствором NaOH (18 мл, 35 ммоль) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 2 час. Реакционную смесь гасят с помощью 6 н раствора HCl до pH~7 и удаляют метанол при сниженном давлении. Осажденное твердое вещество фильтруют и промывают водой с получением целевого продукта (3,2 г, 92%) в виде твердого вещества белого цвета. ЖХМС для $C_{11}H_{14}ClFN_7O_4S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 394,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 7,96 (дд, $J=6,8, 2,1$ Гц, 0,05H), 7,32-7,29 (м, 0, 1H), 7,18 (дд, $J=9,1, 9,1$ Гц, 0,95H), 6,93 (дд, $J=6,4, 2,7$ Гц, 0,95H), 6,71-6,66 (м, 0,95H), 6,33 (шс, 1H), 3,35-3,27 (м, 2H), 3,10-3,06 (м, 2 H).

Пример 6

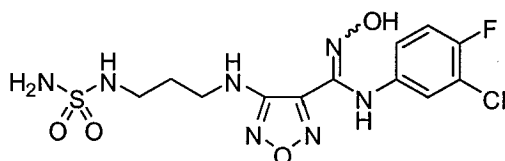
N- (3-Хлор-4-фторфенил) -N'-гидрокси-4- ({2- [(метилсульфонил) амино] этил} амино) -1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



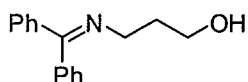
Названное в заголовке соединение получают в соответствии с методикой из Примера 17, стадия Е, с использованием *N'*-гидрокси-4-({2-[(метилсульфонил)амино]этил}амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидаида и 3-хлор-4-фторанилина [Aldrich, продукт № 228583] как исходных материалов. ЖХМС для $C_{12}H_{15}ClFN_6O_4S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 393,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 11,50 (с, 1H), 8,91 (с, 1H), 7,19 (м, 2H), 6,96 (дд, $J=6,7, 2,5$ Гц, 1H), 6,71 (м, 1H), 6,26 (т, $J=6,4$ Гц, 1H), 3,32 (м, 2H), 3,13 (к, $J=5,8$ Гц, 2H), 2,89 (с, 3H).

Пример 7

4-({3-[(Аминосульфони́л)амино]пропил}амино)-*N*-(3-хлор-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидаид

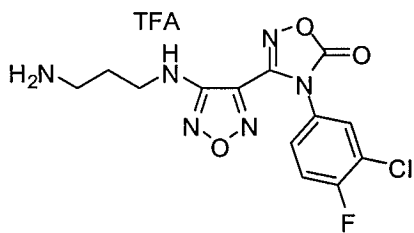


Стадия А: 3-[(Дифенилметиле́н)амино]пропан-1-ол



Раствор 3-амино-1-пропанола [Aldrich продукт № A76400] (2,0 мл, 26 ммоль) в дихлорметане (79 мл) обрабатывают бензофенонимином (4,4 мл, 26 ммоль) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 16 час. Реакционную смесь фильтруют, и фильтрат упаривают с получением целевого продукта (6,3 г, количественный выход) в виде масла. Полученный материал используют без дальнейшей очистки. ЖХМС для $C_{16}H_{18}NO$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 240,2.

Стадия В: 3-{4-[(3-Аминопропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-хлор-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-она трифторацетат



Раствор 3-[(дифенилметилден)амино]пропан-1-ола (80 мг, 0,33 ммоль) и трифенилфосфина (93 мг, 0,36 ммоль) в тетрагидрофуране (1 мл) при 0°C обрабатывают диизопропилазодикарбоксилатом (75 мкл, 0,38 ммоль) по каплям. Реакционную смесь перемешивают при 0°C, выдерживая при этой температуре в течение 15 мин, обрабатывают раствором *N*-{4-[4-(3-хлор-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-2,2,2-трифторацетамида (100 мг, 0,25 ммоль) в тетрагидрофуране (0,5 мл) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 16 час. Реакционную смесь обрабатывают трифторуксусной кислотой (1 мл), перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 3 час, и упаривают до неочищенного остатка. Полученный материал очищают препаративной ЖХМС с получением целевого продукта (18 мг, 15%). ЖХМС для $C_{13}H_{13}ClFN_6O_3$ $(M+N)^+$: соотношение массы к заряду = 355,1

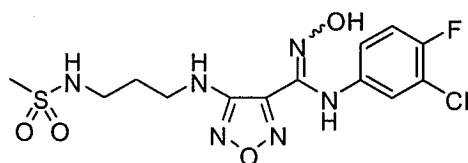
Стадия С: 4-({3-[(Аминосульфони́л)амино]пропил}амино)-*N*-(3-хлор-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 15, стадия G, с использованием 3-{4-[(3-аминопропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-хлор-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-она трифторацетата как исходного материала, с выходом 34%. ЖХМС для $C_{12}H_{16}ClFN_7O_4S$ $(M+N)^+$: соотношение массы к заряду = 408,1. 1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6): δ 8,90 (с, 1H), 7,20 (дд, $J=9,2, 9,0$ Гц, 1H), 6,96 (дд, $J=6,4, 2,7$ Гц, 1H), 6,72-6,69 (м, 1H), 6,55 (т, $J=6,0$ Гц, 1H), 6,51 (с, 2H), 6,16 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 3,28-3,21 (м, 2 H), 2,93-2,87 (м, 2H), 1,76-1,72 (м, 2H).

Пример 8

N-(3-Хлор-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-4-({3-

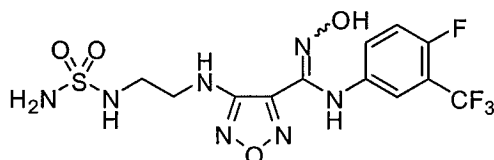
[(метилсульфонил) амино] пропил}амино) -1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



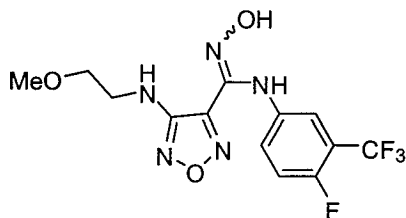
Названное в заголовке соединение получают в соответствии с методикой из Примера 4, стадия Е, с использованием *N'*-гидрокси-4-({3-[(метилсульфонил) амино] пропил}амино) -1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида [приготовленного в соответствии с Примером 4, стадии А-Д] и 3-хлор-4-фторанилина [Aldrich, продукт № 228583] как исходных материалов, с выходом 10 %. ЖХМС для $C_{13}H_{17}ClFN_6O_4S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 407,1· 1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD): δ 7,06 (т, $J=8,9$ Гц, 1H), 6,98 (м, 1H), 6,80 (м, 1H), 3,73 (м, 2H), 3,28 (м, 2H), 2,94 (с, 3H), 1,28 (м, 2H).

Пример 9

4-({2-[(Аминосульфонил) амино] этил}амино) -*N*-[4-фтор-3-(трифторметил) фенил] -*N'*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



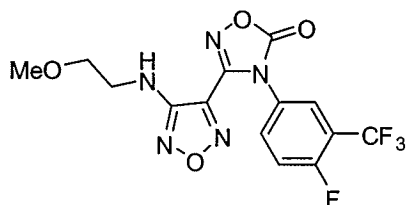
Стадия А: *N*-[4-Фтор-3-(трифторметил) фенил] -*N'*-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил) амино] -1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 13, стадия А, с использованием *N*-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил) амино] -1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидоилхлорида [приготовленного в соответствии с Примером 1, стадии А-Е] и 3-трифторметил-4-фторанилина [Aldrich, продукт № 217778] как исходных материалов, с количественным выходом. ЖХМС для

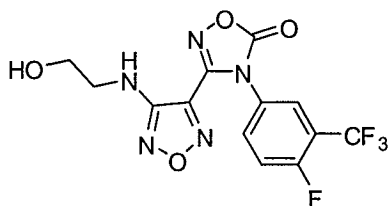
$C_{13}H_{14}F_4N_5O_3$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 364,0. 1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD): δ 7,15 (м, 2H), 7,08 (м, 1H), 3,60 (т, $J=5,3$ Гц, 2H), 3,46 (т, $J=5,3$ Гц, 2H), 3,38 (с, 3H).

Стадия В: 4-[4-Фтор-3-(трифторметил)фенил]-3-{4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 13, стадия В, с использованием *N*-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-*N'*-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида как исходного материала, с выходом 79 %. ЖХМС для $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 390,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,20 (дд, $J=6,3$, 2,4 Гц, 1H), 8,03 (м, 1H), 7,76 (т, $J=9,5$ Гц, 1H), 6,41 (т, $J=5,7$ Гц, 1H), 3,49 (т, $J=5,5$ Гц, 2H), 3,39 (к, $J=5,7$ Гц, 2H), 3,25 (с, 3H).

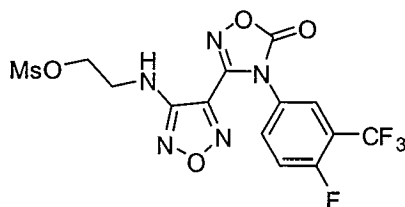
Стадия С: 4-[4-Фтор-3-(трифторметил)фенил]-3-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 13, стадия С, с использованием 4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-3-{4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она как исходного материала, с выходом 99 %. ЖХМС для $C_{13}H_{10}F_4N_5O_4$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 376,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,22 (м, 1H), 8,05 (м, 1H), 7,76 (т, $J=9,9$ Гц, 1H), 6,34 (т,

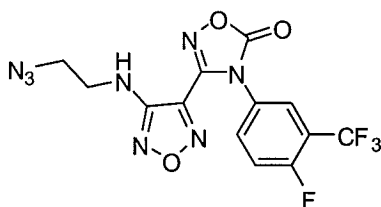
$J=5,7$ Гц, 1H), 4,87 (т, $J=5,2$ Гц, 1H), 3,56 (к, $J=5,5$ Гц, 2H), 3,29 (к, $J=5,7$ Гц, 2H).

Стадия D: 2-[(4-{4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил}-1,2,5-оксадиазол-3-ил)амино]этилметансульфонат



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 13, стадия D, с использованием 4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-3-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она как исходного материала, с выходом 95 %. ЖХМС для $C_{14}H_{12}F_4N_5O_6S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 454,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,23 (дд, $J=6,5, 2,5$ Гц, 1H), 8,06 (м, 1H), 7,76 (т, $J=9,6$ Гц, 1H), 6,76 (т, $J=5,8$ Гц, 1H), 4,37 (т, $J=5,4$ Гц, 2H), 3,60 (к, $J=5,5$ Гц, 2H), 3,17 (с, 3H).

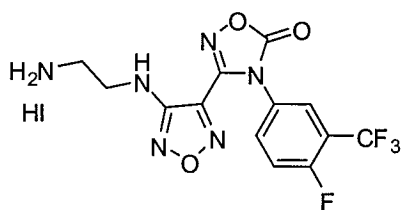
Стадия E: 3-{4-[(2-Азидоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 13, стадия E, с использованием 2-[(4-{4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил}-1,2,5-оксадиазол-3-ил)амино]этилметансульфоната как исходного материала, с выходом 100%. ЖХМС для $C_{13}H_9F_4N_6O_3$ $(M-N_2+H)^+$: соотношение массы к заряду = 372,8. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,22 (дд, $J=6,2, 2,4$ Гц, 1H), 8,05 (м, 1H), 7,76 (т, $J=9,6$ Гц, 1H), 6,75 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 3,53 (т, $J=5,9$ Гц, 2H), 3,45 (к, $J=5,6$ Гц, 2H).

Стадия F: 3-{4-[(2-Аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он

ил}-4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидройодид



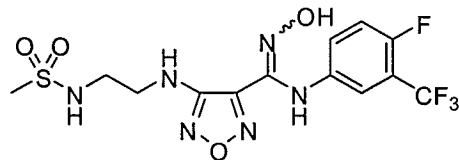
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 13, стадия F, с использованием 3-{4-[(2-азидоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она как исходного материала, с выходом 80%. ЖХМС для $C_{13}H_{11}F_4N_6O_3$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 375,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,20 (дд, $J=6,2, 2,4$ Гц, 1H), 8,03 (м, 1H), 7,74 (т, $J=9,8$ Гц, 1H), 7,10 (ш с, 0,4H), 6,68 (т, $J=5,5$ Гц, 1H), 3,42 (к, $J=5,8$ Гц, 2H), 2,95 (т, $J=6,5$ Гц, 2H).

Стадия G: 4-({2-[(Аминосульфонил)амино]этил}амино)-N-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

Названное в заголовке соединение получают в соответствии с методикой из Примера 13, стадия G, с использованием 3-{4-[(2-аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидройодида как исходного материала, с выходом 55 %. ЖХМС для $C_{12}H_{14}F_4N_7O_4S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 428,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 11,60 (с, 1H), 9,06 (с, 1H), 7,30 (т, $J=10,1$ Гц, 1H), 7,14 (дд, $J=6,1, 2,7$ Гц, 1H), 7,03 (м, 1H), 6,71 (т, $J=5,3$ Гц, 1H), 6,58 (с, 2H), 6,23 (т, $J=6,2$ Гц, 1H), 3,36 (к, $J=6,5$ Гц, 2H), 3,08 (м, 2H).

Пример 10

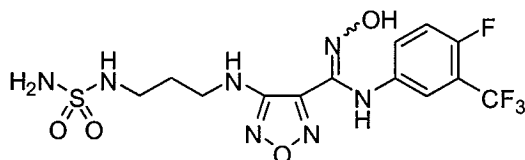
N-[4-Фтор-3-(трифторметил)фенил]-N'-гидрокси-4-({2-[(метилсульфонил)амино]этил}амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



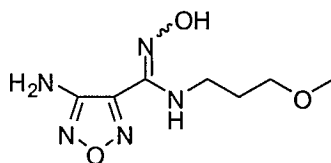
Названное в заголовке соединение получают в соответствии с методикой из Примера 17 стадия Е, с использованием *N'*-гидрокси-4-({2-[(метилсульфонил)амино]этил}амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида и 3-трифторметил-4-фторанилина [Aldrich, продукт № 217778] как исходных материалов. ЖХМС для $C_{13}H_{15}F_4N_6O_4S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 427,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 11,60 (с, 1H), 9,07 (с, 1H), 7,30 (т, $J=10,1$ Гц, 1H), 7,18 (т, $J=6,0$ Гц, 1H), 7,13 (дд, $J=6,0, 2,7$ Гц, 1H), 7,03 (м, 1H), 6,27 (т, $J=6,3$ Гц, 1H), 3,32 (м, 2H), 3,13 (к, $J=6,0$ Гц, 2H), 2,89 (с, 3H).

Пример 11

4-({3-[(Аминосульфонил)амино]пропил}амино)-*N*-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-*N'*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

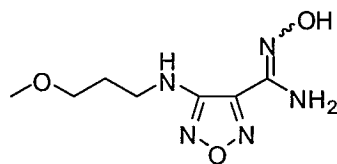


Стадия А: 4-Амино-*N'*-гидрокси-*N*-(3-метоксипропил)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



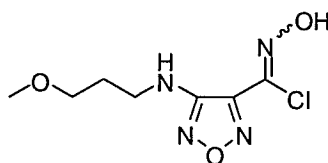
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 1, стадия С, с использованием 3-метокси-1-пропанамина как исходного материала, с выходом 93%. ЖХМС для $C_7H_{14}N_5O_3$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 216,1.

Стадия В: *N'*-Гидрокси-4-[(3-метоксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



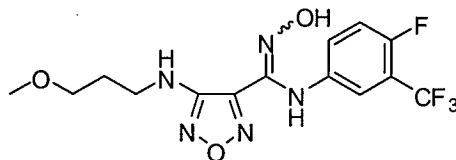
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 1, стадия D, с использованием 4-амино-*N'*-гидрокси-*N*-(3-метоксипропил)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида как исходного материала, с выходом 72%. ЖХМС для $C_7H_{14}N_5O_3$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 216,1. 1H ЯМР (300 МГц, $DMCO-d_6$): δ 10,4 (с, 1H), 6,21-6,13 (м, 3H), 3,37 (т, $J=6,1$ Гц, 2H), 3,28-3,21 (м, 5H), 1,82-1,74 (м, 2H).

Стадия С: *N*-Гидрокси-4-[(3-метоксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидаилхлорид



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 1, стадия Е, с использованием *N'*-Гидрокси-4-[(3-метоксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида как исходного материала, с количественным выходом. ЖХМС для $C_7H_{12}ClN_4O_3$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 235,1.

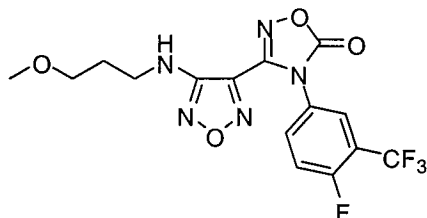
Стадия D: *N*-[4-Фтор-3-(трифторметил)фенил]-*N'*-гидрокси-4-[(3-метоксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 1, стадия F, с использованием *N*-гидрокси-4-[(3-метоксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидаилхлорида и 4-фтор-3-(трифторметил)бензоламина как исходных материалов, с выходом 87 %. ЖХМС для $C_{14}H_{16}F_4N_5O_3$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 378,1. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 11,5 (с, 1H), 9,05 (с, 1H), 7,30 (дд, $J=10,0$, 9,6 Гц, 1H), 7,13-7,11 (м, 1H),

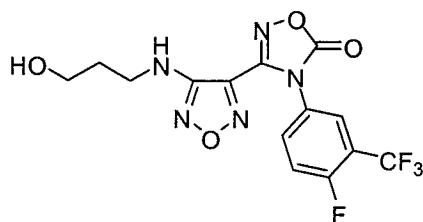
7,05-7,00 (м, 1H), 6,22 (т, $J=5,7$ Гц, 1H), 3,35-3,32 (м, 2H), 3,25-3,19 (м, 5H), 1,79-1,72 (м, 2H).

Стадия Е: 4-[4-Фтор-3-(трифторметил)фенил]-3-{4-[(3-метоксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



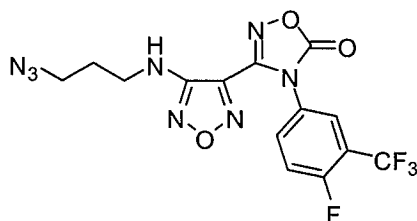
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 1, стадия G, с использованием *N*-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-*N'*-гидрокси-4-[(3-метоксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидама как исходного материала, с количественным выходом. ЖХМС для $C_{15}H_{14}F_4N_5O_4$ ($M+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 404,0.

Стадия F: 4-[4-Фтор-3-(трифторметил)фенил]-3-{4-[(3-гидроксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



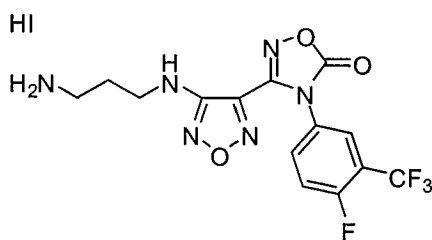
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 3, стадия D, с использованием 4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-3-{4-[(3-метоксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она как исходного материала, с выходом 97 %. ЖХМС для $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4$ ($M+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 390,0. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8,20 (дд, $J=6,4$, 2,6 Гц, 1H), 8,06-8,01 (м, 1H), 7,75 (дд, $J=10,0$, 9,4 Гц, 1H), 6,53 (т, $J=5,7$ Гц, 1H), 4,59 (т, $J=5,0$ Гц, 1H), 3,51-3,42 (м, 2H), 3,32-3,26 (м, 2H), 1,73-1,68 (м, 2H).

Стадия G: 3-{4-[(3-Азидопропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 3, стадия Е, с использованием 4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-3-{4-[(3-гидроксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-она как исходного материала, с количественным выходом. ЖХМС для $C_{14}H_{10}F_4N_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: соотношение массы к заряду = 437,0.

Стадия Н: 3-{4-[(3-Аминопропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-она гидроидид



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 3, стадия F, с использованием 3-{4-[(3-азидопропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-она как исходного материала, с выходом 81%. ЖХМС для $C_{14}H_{13}F_4N_6O_3$ ($M+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 389,1. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8,18 (дд, *J*=6,4, 2,3 Гц, 1H), 8,06-8,01 (м, 1H), 7,72 (дд, *J*=9,7, 9,4 Гц, 1H), 7,34 (шс, 2H), 6,71 (шс, 1H), 2,78-2,73 (м, 2H), 1,85-1,75 (м, 2H).

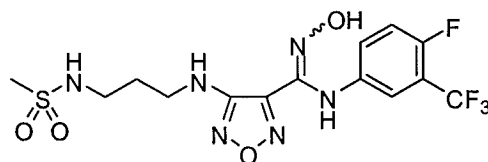
Стадия I: 4-({3-[(Аминосульфони)амино]пропил}амино)-*N*-[4-фтор-3-(трифторметил)фенил]-*N'*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 15, стадия G, с использованием 3-{4-[(3-аминопропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[4-фтор-3-

(трифторметил) фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-она гидройодида как исходного материала, с выходом 60%. ЖХМС для $C_{13}H_{16}F_4N_7O_4S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 442,0. 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6): δ 11,6 (с, 1H), 9,08 (с, 1H), 7,31 (дд, $J=10,0$, 9,4 Гц, 1H), 7,13 (дд, $J=6,4$, 2,9 Гц, 1H), 7,05-6,99 (м, 1H), 6,58 (т, $J=6,0$ Гц, 1H), 6,52 (с, 2H), 6,17 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 3,28-3,21 (м, 2H), 2,94-2,87 (м, 2H), 1,79-1,72 (м, 2H).

Пример 12

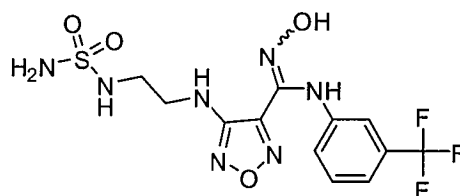
N-[4-Фтор-3-(трифторметил) фенил]-*N'*-гидрокси-4-({3-[(метилсульфонил) амино]пропил}амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



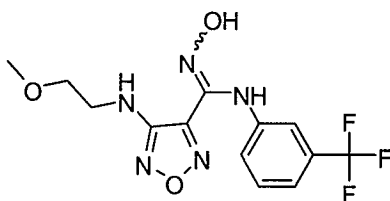
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 16 с использованием 3-{4-[(3-аминопропил) амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[4-фтор-3-(трифторметил) фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-она гидройодида как исходного материала, с выходом 70%. ЖХМС для $C_{14}H_{17}F_4N_6O_4S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 441,1. 1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6): δ 11,6 (с, 1H), 9,07 (с, 1H), 7,30 (дд, $J=10,0$, 9,6 Гц, 1H), 7,13 (дд, $J=6,2$, 2,5 Гц, 1H), 7,05-7,02 (м, 2H), 6,19 (т, $J=5,8$ Гц, 1H), 3,27-3,21 (м, 2H), 2,99-2,94 (м, 2H), 2,87 (с, 3H), 1,76-1,72 (м, 2H).

Пример 13

4-({2-[(Аминосульфонил) амино] этил}амино)-*N'*-гидрокси-*N*-[3-(трифторметил) фенил]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

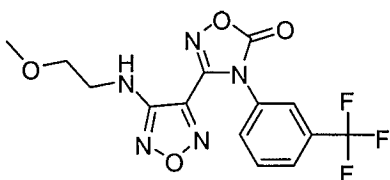


Стадия А: *N'*-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил) амино]-*N*-[3-(трифторметил) фенил]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



N-Гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидоилхлорид (1,3 г, 5,0 ммоль) [приготовленный в соответствии с Примером 1, стадии А-Е] перемешивают в воде (10 мл) и нагревают до 60°C, выдерживая при этой температуре в течение 5 минут. Добавляют 3-(трифторметил)анилин [Aldrich, продукт № А41801] (880 мг, 5,5 ммоль) в виде одной порции и реакцию смесь перемешивают в течение 15 минут. При температуре 60°C добавляют по каплям раствор натрия бикарбоната (630 мг, 7,5 ммоль) в воде (10 мл) в течение 5 минут. Реакционную смесь перемешивают при 60°C, выдерживая при этой температуре еще в течение 50 минут и затем охлаждают до комнатной температуры. В колбу добавляют этилацетат (20 мл) и раствор соли (30 мл) и органическую фракцию собирают. Водную фракцию экстрагируют этилацетатом (2x20 мл) и объединенные органические фракции сушат над натрия сульфатом. Растворитель удаляют под вакуумом с получением целевого продукта в виде твердого вещества оранжевого цвета (1,4 г, 80%). ЖХМС вычислено для $C_{13}H_{15}F_3N_5O_3$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 346,1. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,36 (т, J=8,2 Гц, 1H), 7,23 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,09 (с, 1H), 7,02 (д, J=8,2 Гц, 1H), 3,60 (т, J=5,2 Гц, 2H), 3,46 (т, J=5,2 Гц, 2H), 3,38 (с, 3H).

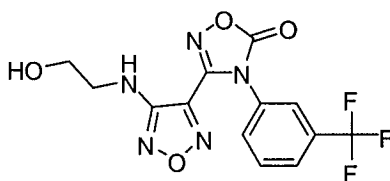
Стадия В: 3-{4-[(2-Метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



N'-Гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-*N*-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид (1,4 г, 3,80 ммоль) и 1,1'-карбонилдиимидазол (1,16 г, 7,16 ммоль) растворяют в этилацетате (20 мл). Реакционную смесь нагревают

до 70° С, выдерживая при этой температуре в течение 40 минут. Добавляют дополнительное количество 1,1'-карбонилдидиимдазола (0,26 г, 1,16 ммоль). После перемешивания при 70°С еще в течение 50 минут, реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры. Добавляют этилацетат (20 мл) и неочищенную реакционную смесь промывают 1 н раствором HCl в воде (2x20 мл). Добавляют солевой раствор, чтобы способствовать разделению первой промывной жидкости. Органическую фракцию сушат над натрия сульфатом и упаривают под вакуумом. Очистка флеш-хроматографией на силикагеле с элюированием этилацетатом в гексане дает целевой продукт (1,3 г, 90%). ЖХМС вычислено для C₁₄H₁₃F₃N₅O₄ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 372,0. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 8,07 (с, 1H), 7,92 (м, 2H), 7,79 (т, J=8,1 Гц, 1H), 6,42 (т, J=6,0 Гц, 1H), 3,47 (т, J=5,8 Гц, 2H), 3,38 (к, J=5,0 Гц, 2H), 3,24 (с, 3H).

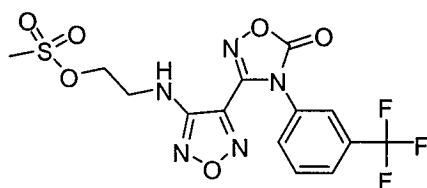
Стадия С: 3-{4-[(2-Гидроксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



В круглодонной колбе в атмосфере азота 3-{4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он (1,3 г, 3,6 ммоль) перемешивают в дихлорметане (11 мл). Температуру доводят до -78°С и добавляют по каплям 1,0 М раствор бора трибромида в дихлорметане (7,9 мл, 7,9 ммоль) в течение 15 минут. Реакционную смесь нагревают до комнатной температуры в течение 45 минут и продолжают перемешивание при комнатной температуре в течение дополнительных 45 минут. Реакционную смесь охлаждают до 0°С и добавляют по каплям насыщенный раствор натрия бикарбоната в воде (25 мл) в течение 15 минут. После нагревания до комнатной температуры, в колбу добавляют этилацетат (10 мл) и воду (10 мл). Органическую фракцию собирают и водную фракцию экстрагируют этилацетатом (2x20 мл). После сушки над натрия

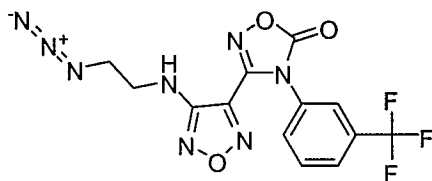
сульфатом объединенных органических фракций, растворитель удаляют под вакуумом с получением целевого продукта (1,0 г, 81 %). ЖХМС вычислено для $C_{13}H_{11}F_3N_5O_4$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 358,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8,08 (с, 1H), 7,93 (т, *J*=8,2 Гц, 2H), 7,79 (т, *J*=8,2 Гц, 1H), 6,35 (т, *J*=5,7 Гц, 1H), 4,86 (ш с, 1H), 3,55 (т, *J*=6,0 Гц, 2H), 3,28 (м, 2H).

Стадия D: 2-[(4-{5-Оксо-4-[3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил}-1,2,5-оксадиазол-3-ил)амино]этилметансульфонат



К раствору 3-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она (1,0 г, 2,9 ммоль) в этилацетате (8,5 мл) добавляют метансульфонилхлорид (0,29 мл, 3,7 ммоль) в виде одной порции. Реакционную смесь перемешивают в течение 5 минут и добавляют триэтиламин (0,52 мл, 3,7 ммоль), также в виде одной порции. После перемешивания в течение дополнительных 10 минут, реакционную смесь гасят добавлением воды (5 мл). Продукт экстрагируют этилацетатом (2x5 мл), сушат над натрия сульфатом и упаривают под вакуумом с получением целевого продукта (1,2 г, 99 %). ЖХМС вычислено для $C_{14}H_{13}F_3N_5O_6S$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 436,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8,10 (с, 1H), 7,92 (м, 2H), 7,80 (т, *J*=8,2 Гц, 1H), 6,77 (т, *J*=5,9 Гц, 1H), 4,36 (т, *J*=5,5 Гц, 2H), 3,58 (м, 2H), 3,17 (с, 3H).

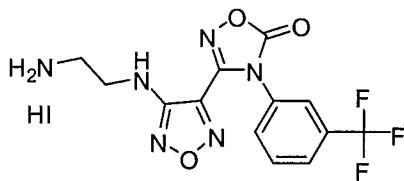
Стадия E: 3-{4-[(2-Азидоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



2-[(4-{5-Оксо-4-[3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил}-1,2,5-оксадиазол-3-ил)амино]этилметансульфонат

(1,2 г, 2,9 ммоль) растворяют в *N,N*-диметилформамиде (2,7 мл). Далее натрия азид (280 мг, 4,3 ммоль) добавляют в виде одной порции, температуру доводят до 65°C и реакционную смесь перемешивают в течение 6 час. После охлаждения до комнатной температуры, добавляют воду (10 мл) для гашения реакции. Продукт экстрагируют этилацетатом (3x10 мл) и объединенные органические фракции сушат над натрия сульфатом. Растворитель удаляют под вакуумом с получением целевого продукта (1,05 г, 96 %). ЖХМС вычислено для $C_{13}H_{10}F_3N_6O_3$ (M-N₂+H)⁺: соотношение массы к заряду = 355,0. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆): δ 8,09 (с, 1H), 7,93 (м, 2H), 7,79 (т, *J*=8,2 Гц, 1H), 6,75 (т, *J*=5,8 Гц, 1H), 3,52 (т, *J*=5,7 Гц, 2H), 3,44 (к, *J*=5,5 Гц, 2H).

Стадия F: 3-{4-[(2-Аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидройодид



К раствору 3-{4-[(2-азидоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она (1,05 г, 2,8 ммоль) в метаноле (12 мл) добавляют натрия йодид (2,5 г, 17 ммоль). После перемешивания в течение 10 мин, добавляют по каплям раствор хлортриметилсилана (2,1 мл, 17 ммоль) в метаноле (1,41 мл) в течение 15 минут. Реакционную смесь продолжают перемешивать в течение 40 минут и затем добавляют раствор натрия тиосульфата (2,7 г, 17 ммоль) в воде (12,5 мл) в виде одной порции. Твердое вещество бежевого цвета осаждают добавлением раствора натрия тиосульфата и собирают вакуумной фильтрацией. Твердое вещество промывают водой (2x10 мл) и сушат под вакуумом в течение ночи с получением целевого продукта. Твердое вещество также осаждают из фильтрата и отделяют вакуумной фильтрацией. После промывания водой (3x10 мл) в лейке, продукт сушат в течение ночи под вакуумом. Твердое вещество суспендируют промыванием этилацетатом (3,8 мл) в

течение 1 час и повторно отделяют фильтрацией. После промывания этилацетатом (2x2 мл) и сушки в течение ночи, получают дополнительный продукт. В общем, 760 мг названного продукта (57 %) получают в виде соли гидройодида. ЖХМС вычислено для $C_{13}H_{12}F_3N_6O_3$ (M+N)⁺: соотношение массы к заряду = 357,1. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8,10 (с, 1H), 7,95 (м, 2H), 7,81 (т, J=8,1 Гц, 1H), 7,68 (ш с, 2H), 6,74 (т, J=6,7 Гц, 1H), 3,49 (м, 2H), 3,03 (т, J=6,7 Гц, 2H).

Стадия G: 4-({2-[(Аминосульфонил)амино]этил}амино)-N'-гидрокси-N-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

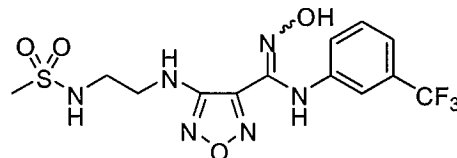
К раствору хлорсульфонилизотиоцианата (9,2 мкл, 0,11 ммоль) в дихлорметане (0,24 мл), при 0°C и в атмосфере азота добавляют *трет*-бутиловый спирт (10 мкл, 0,11 ммоль) по каплям. Раствор перемешивают при комнатной температуре в течение 1 час до получения раствора *трет*-бутил [хлорсульфонил]карбамата.

В отдельной колбе 3-{4-[(2-аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидройодид (26 мг, 0,053 ммоль) суспендируют в дихлорметане (0,5 мл). Помещают в атмосферу азота, и температуру доводят до 0°C. Раствор *трет*-бутил [хлорсульфонил]карбамата (подготовленный, как описано выше) добавляют в течение 5 минут при перемешивании к суспензии соли амина. Через 10 минут добавляют по каплям триэтиламин (37 мкл, 0,27 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 1,5 час. После упаривания *под вакуумом*, остаток обрабатывают трифторуксусной кислотой (0,5 мл, 6 ммоль). Полученную смесь перемешивают в течение 1 час и смесь снова упаривают до сухого состояния *под вакуумом*. Сухие твердые вещества суспендируют в метаноле (0,5 мл) и добавляют 2,0 н раствор NaOH в воде (0,53 мл, 1,1 ммоль) в виде одной порции. Реакционную смесь нагревают до 45° С и перемешивают в течение 30 минут. После нейтрализации уксусной кислотой (60 мкл, 1,1 ммоль), продукт очищают препаративной ЖХМС с получением целевого продукта (8,5 мг, 39%). ЖХМС вычислено для $C_{12}H_{15}F_3N_7O_4S$

(M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 410,0. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,36 (т, J=7,8 Гц, 1H), 7,23 (д, J=7,8 Гц, 1H), 7,10 (с, 1H), 7,03 (д, J=7,8 Гц, 1H), 3,48 (м, 2H), 3,29 (м, 2H).

Пример 14

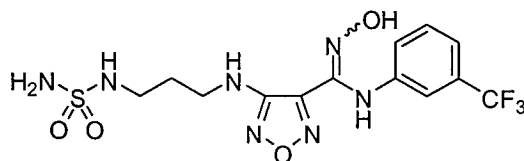
N'-Гидрокси-4-({2-[(метилсульфонил)амино]этил}амино)-*N*-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



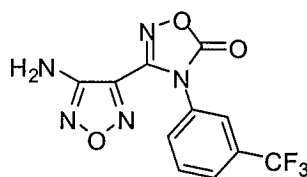
Названное в заголовке соединение получают в соответствии с методикой из Примера 17, стадия Е, с использованием *N'*-гидрокси-4-({2-[(метилсульфонил)амино]этил}амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида и 3-трифторметиланилина [Aldrich, продукт № А41801] как исходных материалов. ЖХМС для C₁₃H₁₆F₃N₆O₄S (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 409,1. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 11,63 (с, 1H), 9,08 (с, 1H), 7,39 (т, J=7,6 Гц, 1H), 7,21 (м, 2H), 7,10 (с, 1H), 6,99 (д, J=8,1 Гц, 1H), 6,28 (т, J=5,4 Гц, 1H), 3,36 (к, J=5,8 Гц, 2H), 3,17 (к, J=5,8 Гц, 2H), 2,91 (с, 3H).

Пример 15

4-({3-[(Аминосульфонил)амино]пропил}амино)-*N'*-гидрокси-*N*-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



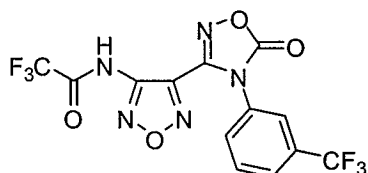
Стадия А: 3-(4-Амино-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 5, стадия А, с использованием 4-амино-*N'*-гидрокси-*N*-

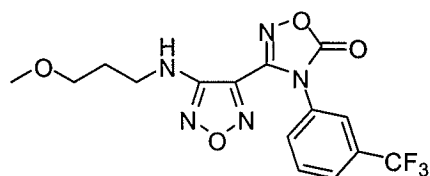
[3-(трифторметил)фенил]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида [см. публикацию Патентной заявки США № 2006/0258719] как исходного материала, с выходом 97%. ЖХМС для $C_{11}HF_3N_5O_3$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 314,1.

Стадия В: 2,2,2-Трифтор-N-(4-{5-оксо-4-[3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил}-1,2,5-оксадиазол-3-ил)ацетамид



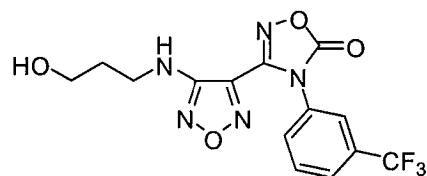
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 5, стадия В, с использованием 3-(4-амино-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она как исходного материала, с выходом 90%. ЖХМС для $C_{13}H_6F_6N_5O_4$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 410,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 7,91-7,88 (м, 2 Н), 7,76-7,69 (м, 2Н).

Стадия С: 3-{4-[3-(Метоксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



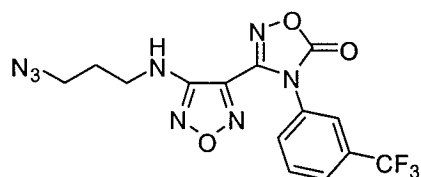
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 3, стадия С, с использованием 2,2,2-трифтор-N-(4-{5-оксо-4-[3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил}-1,2,5-оксадиазол-3-ил)ацетамида как исходного материала, с выходом 49 %. ЖХМС для $C_{15}H_{15}F_3N_5O_4$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 386,1. 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$): δ 7,83 (д, $J=8,1$ Гц, 1Н), 7,72-7,67 (м, 2 Н), 7,59 (д, $J=7,5$ Гц, 1Н), 6,08-6,04 (м, 1Н), 3,57 (т, $J=5,6$ Гц, 2 Н), 3,54-3,47 (м, 2 Н), 3,40 (с, 3 Н), 2,01-1,93 (м, 2Н).

Стадия D: 3-{4-[3-(Гидроксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



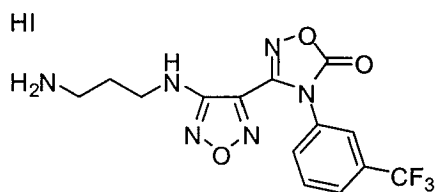
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 3, стадия D, с использованием 3-{4-[(3-метоксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-она как исходного материала, с выходом 69 %. ЖХМС для $C_{14}H_{13}F_3N_5O_4$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 372,1. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,07 (с, 1H), 7,95-7,90 (м, 2 H), 7,79 (дд, $J=7,9, 7,9$ Гц, 1H), 6,55 (т, $J=5,6$ Гц, 1H), 4,59 (т, $J=5,1$ Гц, 1H), 3,47-3,42 (м, 2H), 3,30-3,25 (м, 2H), 1,72-1,65 (м, 2H).

Стадия E: 3-{4-[(3-Азидопропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-он



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 3, стадия E, с использованием 3-{4-[(3-гидроксипропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-она как исходного материала, с выходом 92%. ЖХМС для $C_{14}H_{11}F_3N_8O_3Na$ $(M+Na)^+$: соотношение массы к заряду = 419,0.

Стадия F: 3-{4-[(3-Аминопропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4*H*)-она гидройодид



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 3, стадия F, с использованием 3-{4-[(3-

азидопропил) амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил) фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она как исходного материала, с выходом 92%. ЖХМС для $C_{14}H_{14}F_3N_6O_3$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 371,1. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,09 (с, 1H), 7,96-7,92 (м, 2 H), 7,80 (дд, $J=8,0$, 7,8 Гц, 1H), 7,53 (шс, 2 H), 6,70-6,65 (м, 1H), 4,10 (шс, 1H), 3,32-3,31 (м, 2H), 2,81-2,78 (м, 2H), 1,85-1,82 (м, 2H).

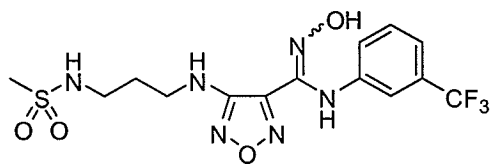
Стадия G: 4-({3-[(Аминосульфонил) амино]пропил}амино)-N'-гидрокси-N-[3-(трифторметил) фенил]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

Раствор 3-{4-[(3-аминопропил) амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил) фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидройодида (1,5 г, 3,0 ммоль) и сульфонамида (1,7 г, 18 ммоль) в пиридине (60 мл) нагревают в микроволновом реакторе при 130°C, выдерживая при этой температуре в течение 10 мин. Реакционную смесь упаривают с получением неочищенного промежуточного соединения N-{3-[(4-{5-оксо-4-[3-(трифторметил) фенил]-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил}-1,2,5-оксадиазол-3-ил)амино]пропил}сульфонамид. Раствор неочищенного полупродукта в метаноле (90 мл) обрабатывают 2 н раствором NaOH (12 мл, 24 ммоль) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь обрабатывают 6 М раствором HCl до кислой реакции раствора и экстрагируют этилацетатом (250 мл). Органическую фракцию промывают водой (100 мл) и раствором соли (100 мл), сушат над безводным натрия сульфатом, фильтруют и упаривают с получением неочищенного остатка. Полученный материал очищают препаративной ЖХМС с получением целевого продукта (1,1 г, 82%) в виде смолоподобного твердого вещества. ЖХМС для $C_{13}H_{17}F_3N_7O_4S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 424,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 11,6 (с, 1H), 9,12 (с, 1H), 7,37 (дд, $J=8,0$, 8,0 Гц, 1H), 7,21-7,18 (м, 1H), 7,07 (с, 1H), 6,95 (д, $J=10,0$ Гц, 1H), 6,52 (ш с, 3H), 6,17 (т, $J=6,0$ Гц, 1H), 3,28-3,22 (м, 2H), 2,93-2,89 (м, 2H), 1,77-1,73 (м, 2H).

Пример 16

N'-Гидрокси-4-({3-[(метилсульфонил) амино]пропил}амино)-N-

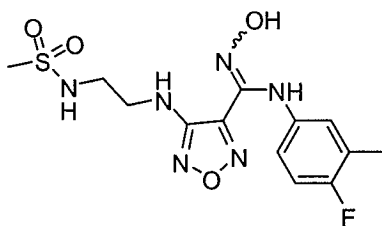
[3-(трифторметил)фенил]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



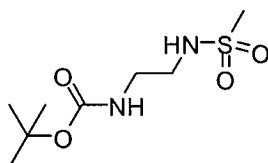
Раствор 3-{4-[(3-аминопропил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[3-(трифторметил)фенил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидройодида (из Примера 15, стадия F; 25 мг, 50 мкмоль) в дихлорметане (1 мл) обрабатывают триэтиламино (17 мкл, 0,12 ммоль) и метансульфонилхлоридом (6 мкл, 70 мкмоль) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 2 час. Реакционную смесь упаривают с получением промежуточного соединения, N-{3-[(4-{5-оксо-4-[3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил}-1,2,5-оксадиазол-3-ил)амино]пропил}метансульфонамид, в виде неочищенного остатка, который используют без дальнейшей очистки. Раствор неочищенного полупродукта в метаноле (1 мл) обрабатывают 2 н раствором NaOH (0,25 мл, 0,5 ммоль) и перемешивают при 25°C, выдерживая при этой температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь обрабатывают уксусной кислотой (50 мкл, 0,9 ммоль), фильтруют и очищают препаративной ЖХМС с получением целевого продукта (13 мг, 65%) в виде твердого вещества. ЖХМС для $C_{14}H_{18}F_3N_6O_4S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 423,1. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 11,6 (с, 1H), 9,11 (с, 1H), 7,37 (дд, $J=8,0, 8,0$ Гц, 1H), 7,20 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 7,07-7,01 (м, 2 H), 6,96 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 6,20 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 3,27-3,22 (м, 2H), 2,99-2,94 (м, 2H), 2,87 (с, 3 H), 1,78-1,71 (м, 2H).

Пример 17

N-(4-Фтор-3-метилфенил)-N'-гидрокси-4-({2-[(метилсульфонил)амино]этил}амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

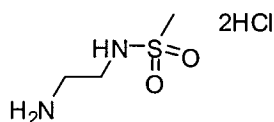


Стадия А: *трет*-Бутил {2-[(метилсульфонил) амино] этил} карбамат



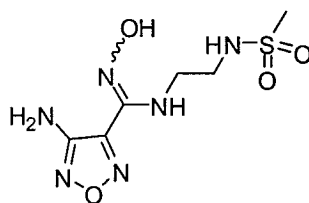
N-(2-Аминоэтил) (*трет*-бутокси) карбоксамид (17,5 мл, 0,11 моль) [Alfa № L19947] перемешивают в дихлорметане (320 мл) и добавляют триэтиламин (33 мл, 0,24 моль). Добавляют раствор метансульфонилхлорида (8,5 мл, 0,11 моль) в дихлорметане (10 мл). Полученную смесь перемешивают в течение 1 час и добавляют воду (30 мл). Продукт экстрагируют дихлорметаном (3x30 мл), сушат над натрия сульфатом и упаривают под вакуумом с получением целевого продукта (21 г, 81%). ЖХМС вычислено для $C_3H_{11}N_2O_2S$ ($M-H+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 139,1.

Стадия В: *N*-(2-Аминоэтил)метансульфонамида дигидрохлорид



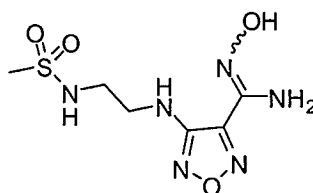
трет-Бутил {2-[(метилсульфонил) амино] этил} карбамат (21 г, 88 ммоль) перемешивают в 4 н растворе хлороводорода в 1,4-диоксане (97 мл, 388 ммоль) в течение 30 минут. Растирание с этилацетатом и гексаном с последующим добавлением диэтилового эфира и гексана дает целевое соединение в виде смолы (19 г, 100 %). ЖХМС вычислено для $C_3H_{11}N_2O_2S$ ($M+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 139,0.

Стадия С: 4-Амино-*N'*-гидрокси-*N*-(2-[(метилсульфонил) амино] этил)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



4-Амино-*N*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидоила хлорид (9,7 г, 60 ммоль) перемешивают в этаноле (460 мл) и медленно добавляют порциями *N*-(2-аминоэтил)метансульфонамида дигидрохлорид (19 г, 109 ммоль) и увеличивают температуру до 25°C. После охлаждения до 0°C, добавляют по каплям триэтиламин (53 мл, 380 ммоль) в течение 15 минут и реакционную смесь перемешивают еще в течение 15 минут. Раствор промывают водой (300 мл) и раствором соли (300 мл). Органическую фракцию сушат над натрия сульфатом и упаривают под вакуумом с получением целевого продукта (16 г, 100%). ЖХМС вычислено для C₆H₁₃N₆O₄S (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 265,1. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 10,16 (с, 1H), 9,07 (м, 1H), 7,18 (м, 1H), 6,37 (с, 2H), 3,36 (м, 2H), 3,15 (м, 2H), 2,87 (с, 3H).

Стадия D: *N'*-Гидрокси-4-({2-[(метилсульфонил)амино]этил}амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



4-Амино-*N'*-гидрокси-*N*-{2-[(метилсульфонил)амино]этил}-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид (0,47 г, 1,8 ммоль) перемешивают в 1,2-этандиоле (38 мл). Калия гидроксид (600 г, 11 ммоль) добавляют в виде одной порции. Реакционную смесь нагревают до 130° С, выдерживая при этой температуре в течение 4 час, и охлаждают до комнатной температуры. Добавляют 1 н раствор HCl (60 мл) и продукт экстрагируют этилацетатом (4x40 мл). Объединенные органические фракции сушат над натрия сульфатом и упаривают под вакуумом с получением целевого продукта (0,45 г, 96%). ЖХМС вычислено для C₆H₁₂N₆O₄S (M+H)⁺:

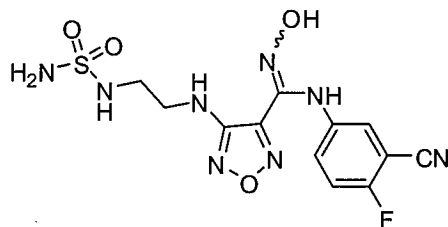
соотношение массы к заряду = 265,1. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMCO}-d_6$): δ 10,49 (с, 1H), 7,18 (м, 1H), 6,20 (м, 3H), 3,36 (м, 2H), 3,15 (м, 2H), 2,87 (с, 3H).

Стадия Е: N-(4-Фтор-3-метилфенил)-N'-гидрокси-4-({2-[(метилсульфонил)амино]этил}амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

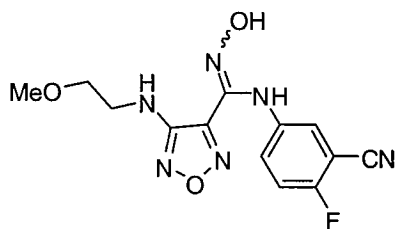
N'-Гидрокси-4-({2-[(метилсульфонил)амино]этил}амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид (35 мг, 0,13 ммоль) перемешивают в 1,4-диоксане (2 мл) и добавляют 6 н раствор хлороводорода (4 мл). Раствор охлаждают до 0°C и медленно добавляют раствор натрия нитрита (11 мг, 0,16 ммоль) в воде (3 мл). Смесь перемешивают в течение 1 часа при 0°C и выпаривают. Добавляют сухой 1,4-диоксан (2 мл) и смесь выпаривают в течение в два раза большего времени. Добавляют раствор 4-фтор-3-метиланилина [Aldrich, продукт № 559415] (25 мг, 0,20 ммоль) в этаноле (2 мл) и смесь перемешивают в течение 1 час. Очистка препаративной ЖХМС (pH 2) дает названное соединение (17 мг, 27%). ЖХМС вычислено для $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{FN}_6\text{O}_4\text{S}$ $(\text{M}+\text{H})^+$: соотношение массы к заряду = 373,1. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMCO}-d_6$): δ 11,25 (с, 1H), 8,61 (с, 1H), 7,18 (м, 1H), 6,91 (м, 1H), 6,72 (м, 1H), 6,58 (м, 1H), 6,24 (с, 1H), 3,32 (м, 2H), 3,11 (м, 2H), 2,89 (с, 3H), 2,05 (с, 3H).

Пример 18

4-({2-[(Аминосульфонил)амино]этил}амино)-N-(3-циано-4-фторфенил)-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

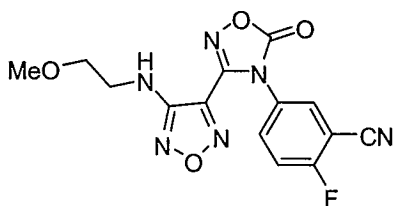


Стадия А: N-(3-Циано-4-фторфенил)-N'-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



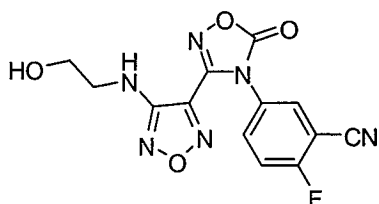
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 13, стадия А, с использованием *N*-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимида хлорида [полученного в соответствии с Примером 1, стадии А-Е] и 5-амино-2-фторбензонитрила [Aldrich, продукт № 639877] как исходных материалов, с выходом 100%. ЖХМС для $C_{13}H_{14}FN_6O_3$ ($M+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 321,0.

Стадия В: 2-Фтор-5-[3-{4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-5-оксо-1,2,4-оксадиазол-4(5*H*)-ил]бензонитрил



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 13, стадия В, с использованием *N*-(3-циано-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида как исходного материала, с выходом 91 %. ЖХМС для $C_{14}H_{12}FN_6O_4$ ($M+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 347,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8,25 (дд, *J*=5,7, 2,6 Гц, 1H), 8,06 (м, 1H), 7,77 (т, *J*=9,2 Гц, 1H), 6,41 (т, *J*=5,7 Гц, 1H), 3,48 (м, 2H), 3,40 (к, *J*=5,4 Гц, 2H), 3,25 (с, 3H).

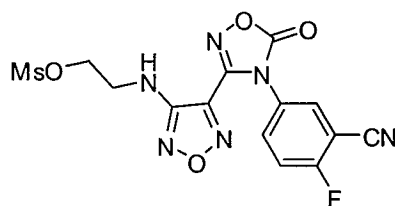
Стадия С: 2-Фтор-5-[3-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-5-оксо-1,2,4-оксадиазол-4(5*H*)-ил]бензонитрил



Названное соединение получают в соответствии с методикой

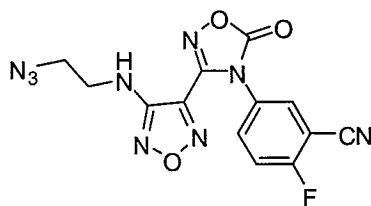
из Примера 13, стадия С, с использованием 2-фтор-5-[3-{4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-5-оксо-1,2,4-оксадиазол-4(5*H*)-ил]бензонитрила как исходного материала, с количественным выходом. ЖХМС для $C_{13}H_{10}FN_6O_4$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 333,0.

Стадия D: 2-({4-[4-(3-Циано-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этилметансульфонат



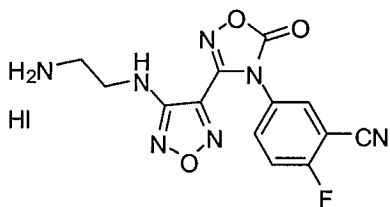
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 13, стадия D, с использованием 2-фтор-5-[3-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-5-оксо-1,2,4-оксадиазол-4(5*H*)-ил]бензонитрила как исходного материала, с выходом 88%. ЖХМС для $C_{14}H_{12}FN_6O_6S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 411,0.

Стадия E: 5-[3-{4-[(2-Азидоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-5-оксо-1,2,4-оксадиазол-4(5*H*)-ил]-2-фторбензонитрил



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 13, стадия E, с использованием 2-({4-[4-(3-циано-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этилметансульфоната как исходного материала, с выходом 95%.

Стадия F: 5-[3-{4-[(2-Аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-5-оксо-1,2,4-оксадиазол-4(5*H*)-ил]-2-фторбензонитрила гидройодид



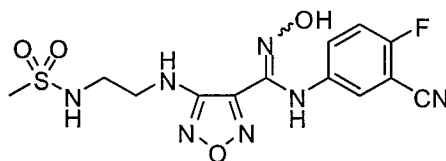
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 13, стадия F, с использованием 5-[3-{4-[(2-азидоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-5-оксо-1,2,4-оксадиазол-4(5*H*)-ил]-2-фторбензонитрила как исходного материала, с выходом 57%. ЖХМС для $C_{13}H_{11}FN_7O_3$ ($M+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 332,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8,29 (дд, *J*=5,8, 2,7 Гц, 1H), 8,09 (м, 1H), 7,83 (ш с, 3H), 7,79 (т, *J*=9,0 Гц, 1H), 6,77 (т, *J*=5,9 Гц, 1H), 3,50 (к, *J*=6,4 Гц, 2H), 3,04 (м, 2H).

Стадия G: 4-({2-[(Аминосульфонил)амино]этил}амино)-*N*-(3-циано-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

Во флаконе для обработки микроволнами, 5-[3-{4-[(2-аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-5-оксо-1,2,4-оксадиазол-4(5*H*)-ил]-2-фторбензонитрила гидройодид (20,0 мг, 0,044 ммоль) и сульфамид (25 мг, 0,26 ммоль) суспендируют в пиридине (0,5 мл). Реакционную смесь нагревают до 120°C, выдерживая при этой температуре в течение 10 минут в микроволновом реакторе. Растворитель удаляют и остаток растворяют в метаноле (0,17 мл). Добавляют 2,0 н раствор NaOH в воде (0,22 мл, 0,44 ммоль) в виде одной порции. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение ночи. После нейтрализации уксусной кислотой (50 мкл), продукт очищают с использованием препаративной ЖХМС с получением названного в заголовке соединения (4,9 мг, 29%). ЖХМС для $C_{12}H_{14}FN_8O_4S$ ($M+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 385,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 11,65 (с, 1H), 9,08 (с, 1H), 7,34 (т, *J*=9,1 Гц, 1H), 7,22 (дд, *J*=5,4, 2,8 Гц, 1H), 7,13 (м, 1H), 6,70 (т, *J*=5,9 Гц, 1H), 6,59 (с, 2H), 6,20 (т, *J*=6,1 Гц, 1H), 3,34 (м, 2H), 3,09 (м, 2H).

Пример 19

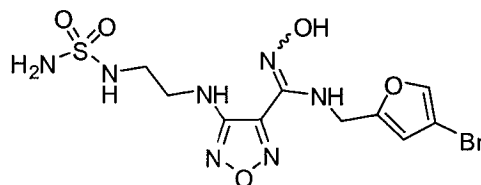
N-(3-Циано-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-4-({2-[(метилсульфонил) амино] этил} амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



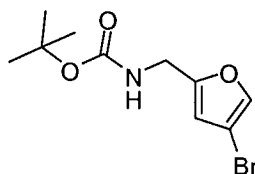
Названное в заголовке соединение получают в соответствии с методикой из Примера 17, стадия Е, с использованием *N'*-гидрокси-4-({2-[(метилсульфонил) амино] этил} амино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида и 3-циано-4-фторанилина [Aldrich, продукт № 639877] как исходных материалов. ЖХМС для $C_{13}H_{14}FN_7NaO_4S$ ($M+Na$)⁺: соотношение массы к заряду = 406,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 11,65 (с, 1H), 9,08 (с, 1H), 7,35 (м, 1H), 7,18 (м, 3H), 6,56 (м, 1H), 6,23 (м, 1H), 6,24 (с, 2H), 3,32 (м, 2H), 3,14 (м, 2H), 2,89 (с, 3H).

Пример 20

4-({2-[(Аминосульфонил) амино] этил} амино)-*N*-[(4-бром-2-фурил) метил]-*N'*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



Стадия А: трет-Бутил [(4-бром-2-фурил) метил] карбамат

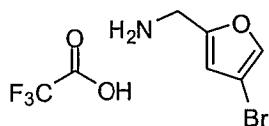


4-Бром-2-фуральдегид [Aldrich, продукт №666599] (10,0 г, 57,1 ммоль) растворяют в этаноле (50 мл) и воде (50 мл). *N*-Гидроксиамингидрохлорид (7,15 г, 103 ммоль) и натрия ацетат (8,44 г, 103 ммоль) добавляют последовательно и реакционную смесь доводят до кипения с обратным холодильником при 100°C, выдерживая при этой температуре в течение 1 час. Раствор

частично упаривают и осадок собирают и промывают холодной водой (2 x 10 мл). Фильтрат экстрагируют этилацетатом (3x25 мл) и объединенные органические фракции промывают раствором соли (50 мл). После сушки над натрия сульфатом, раствор упаривают под вакуумом. Остаток объединяют с осадком и растворяют в уксусной кислоте (70 мл). После помещения на ледяную баню, порциями добавляют цинк (14,7 г, 225 ммоль) в течение 25 минут. Реакционную смесь нагревают до комнатной температуры в течение 1,5 час и фильтруют сквозь броммиллерит. Растворитель удаляют под вакуумом.

Остаток перемешивают в тетрагидрофуране (72 мл). Добавляют по каплям 2,0 н раствор NaOH в воде (179 мл, 358 ммоль) в течение 45 минут. Через 5 минут, добавляют по каплям ди-трет-бутилдикарбонат (16,9 г, 77,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 2 час, и тетрагидрофуран удаляют под вакуумом. Добавляют этилацетат (100 мл) и суспензию фильтруют. Органическую фракцию собирают, и продукт экстрагируют этилацетатом (2x50 мл). Объединенные органические фракции промывают раствором соли (100 мл) и водой (100 мл), сушат над натрия сульфатом и упаривают под вакуумом с получением целевого продукта (15,3 г, 79%). ЖХМС вычислено для $C_{10}H_{14}BrNNaO_3$ (M+Na)⁺: соотношение массы к заряду = 298,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 7,79 (с, 1H), 7,37 (т, J=5,8 Гц, 1H), 6,33 (с, 1H), 4,06 (д, J=6,1 Гц, 2 H), 1,36 (с, 9H).

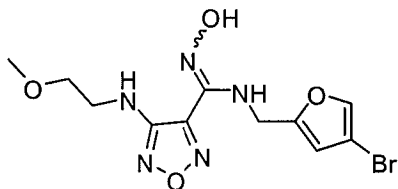
Стадия В: 1-(4-Бром-2-фурил)метанамин трифторацетат



В атмосфере азота раствор трет-бутил [(4-бром-2-фурил)метил]карбамата (15,3 г, 55,4 ммоль) в дихлорметане (86 мл) при 0° С обрабатывают трифторуксусной кислотой (43 мл) в течение 15 минут. Реакционную смесь нагревают до комнатной температуры в течение 30 минут. Растворитель удаляют под вакуумом и перегоняют толуолом (3x50 мл). Продукт лиофилизируют в течение 18 час с получением целевого продукта в виде твердого

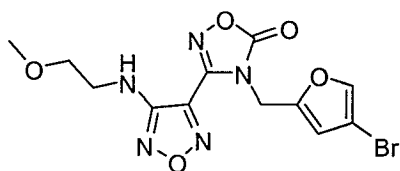
вещества коричневого цвета (13,0 г, 81%). ЖХМС вычислено для C_5H_4BrO ($M-NH_2$)⁺: соотношение массы к заряду = 158,9, 160,9. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8,34 (ш с, 3 Н), 8,01 (с, 1Н), 6,70 (с, 1Н), 4,08 (с, 1Н).

Стадия С: N-[(4-Бром-2-фурил)метил]-N'-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



N-Гидрокси-4-(2-метоксиэтиламино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбимидоилхлорид [приготовленный в соответствии с методикой Примера 1, стадии А-Е] (4,5 г, 20,3 ммоль) перемешивают в этаноле (20 мл) при комнатной температуре. Добавляют раствор 1-(4-бром-2-фурил)метанамина трифторацетата (6,5 г, 22,4 ммоль) в этаноле (24 мл) и смесь перемешивают в течение 15 минут. Триэтиламин (6,3 мл, 44,8 ммоль) добавляют по каплям в течение 10 минут и реакционную смесь еще перемешивают в течение 15 минут. Растворитель удаляют под вакуумом и после добавления воды (50 мл), продукт экстрагируют этилацетатом (3x50 мл). Объединенные органические фракции промывают раствором соли (50 мл), сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением целевого продукта (7,5 г, 100%). ЖХМС вычислено для $C_{11}H_{15}BrN_5O_4$ ($M+H$)⁺: соотношение массы к заряду = 359,9, 361,9.

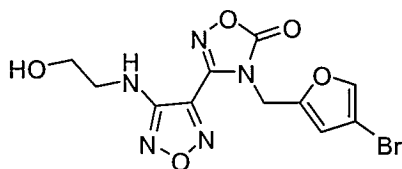
Стадия D: 4-[(4-Бром-2-фурил)метил]-3-{4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4Н)-он



N-[(4-Бром-2-фурил)метил]-N'-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид (7,3 г, 20,4 ммоль) и 1,1'-карбонилдиимидазол (5,0 г, 30,5 ммоль) растворяют в этилацетате (72 мл). Реакционную смесь нагревают

до 65° С, выдерживая при этой температуре в течение 15 мин. Добавляют этилацетат (70 мл) и неочищенную реакционную смесь промывают 0,1 н раствором хлороводорода в воде (2х70 мл). Органическую фракцию сушат над натрия сульфатом и упаривают под вакуумом. Очистка флеш-хроматографией на силикагеле с элюированием этилацетатом в гексане дает целевой продукт (4,1 г, 90%). ЖХМС вычислено для $C_{12}H_{13}BrN_5O_5$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 386,0, 388,0. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,88 (с, 1H), 6,67 (с, 1H), 6,39 (т, J=5,7 Гц, 1H), 5,07 (с, 2H), 3,50 (м, 2H), 3,41 (к, J=5,7 Гц, 2H), 3,25 (с, 3H).

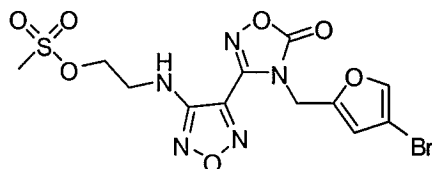
Стадия Е: 4-[(4-Бром-2-фурил) метил] -3-{4-[(2-гидроксиэтил) амино] -1,2,5-оксадиазол-3-ил} -1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



В круглодонной колбе в атмосфере азота перемешивают 4-[(4-бром-2-фурил) метил] -3-{4-[(2-метоксиэтил) амино] -1,2,5-оксадиазол-3-ил} -1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он (8,2 г, 21 ммоль) в дихлорметане (68 мл). Температуру доводят до -78° С и 1,0 М раствор бора трибромида в дихлорметане (43 мл, 43 ммоль) добавляют по каплям в течение 45 минут. Реакционную смесь перемешивают при -78°С, выдерживая при этой температуре в течение 45 минут, и продолжают перемешивание при 0°С, выдерживая при этой температуре еще в течение 30 мин. При 0°С добавляют по каплям насыщенный раствор натрия бикарбоната в воде (120 мл) в течение 25 мин. После нагревания до комнатной температуры, органическую фракцию собирают и водную фракцию экстрагируют этилацетатом (2х50 мл). Объединенные органические фракции промывают раствором соли (100 мл), сушат над натрия сульфатом и упаривают под вакуумом с получением целевого продукта (7,7 г, 97%) вместе с небольшим количеством 3-{4-[(2-бромэтил) амино] -1,2,5-оксадиазол-3-ил} -4-[(4-бром-2-фурил) метил] -1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она. ЖХМС вычислено для

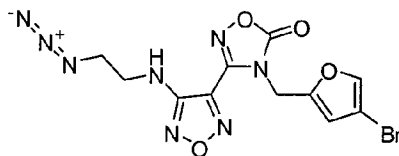
$C_{11}H_{11}BrN_5O_5$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 371,7, 374,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 7,89 (с, 1H), 6,68 (с, 1H), 6,31 (т, *J*=5,8 Гц, 1H), 5,08 (с, 2H), 4,85 (ш с, 1H), 3,56 (м, 2H), 3,30 (к, *J*=5,6 Гц, 2H).

Стадия F: 2-[(4-{4-[(4-Бром-2-фурил) метил]-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил}-1,2,5-оксадиазол-3-ил) амино] этил метансульфонат



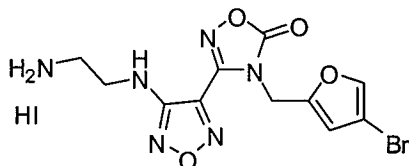
К раствору 4-[(4-бром-2-фурил) метил]-3-{4-[(2-гидроксиэтил) амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она (7,7 г, 21 ммоль, содержит также некоторое количество бромсодержащего соединения) в этилацетате (100 мл) добавляют метансульфонилхлорид (0,96 мл, 12 ммоль) в виде одной порции. Реакционную смесь перемешивают в течение 5 мин. и добавляют триэтиламин (1,6 мл, 11 ммоль), также в виде одной порции. После перемешивания в течение 30 мин., дополнительно добавляют метансульфонилхлорид (0,4 мл, 5 ммоль), с последующим, после 5 мин., добавлением триэтиламина (0,58 мл, 4,2 ммоль). По истечении 15 мин., реакционную смесь гасят с помощью добавления воды (100 мл). Продукт экстрагируют этилацетатом (3x50 мл) и объединенные органические фракции промывают раствором соли (100 мл). После высушивания над натрия сульфатом, растворитель удаляют под вакуумом с получением целевого продукта (9,3 г, 100%). ЖХМС вычислено для $C_{12}H_{13}BrN_5O_7S$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 449,8, 451,8. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 7,88 (с, 1H), 6,73 (т, *J*=6,2 Гц, 1H), 6,68 (с, 1H), 5,08 (с, 2H), 4,37 (м, 2H), 3,59 (к, *J*=5,8 Гц, 2H), 3,16 (с, 3H).

Стадия G: 3-{4-[(2-Азидоэтил) амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[(4-бром-2-фурил) метил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



2-[(4-{4-[(4-Бром-2-фурил) метил]-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил}-1,2,5-оксадиазол-3-ил) амино] этилметансульфонат (9,1 г, 20 ммоль, содержит также некоторое количество бромсодержащего соединения) растворяют в диметилформамиде (90 мл). Добавляют натрия азид (1,97 г, 30,3 ммоль) в виде одной порции и, после прохождения 5 минут, температуру доводят до 65°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 2 час и охлаждают до комнатной температуры. Добавляют воду (200 мл) для гашения реакции. Продукт экстрагируют этилацетатом (3x100 мл) и объединенные органические фракции промывают раствором соли (2x150 мл) и водой (150 мл). После просушивания над натрия сульфатом растворитель удаляют под вакуумом с получением целевого продукта (7,7 г, 96%). ЖХМС вычислено для $C_{11}H_9BrN_8NaO_4$ $(M+Na)^+$: соотношение массы к заряду = 418,7, 421,0. 1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6): δ 7,88 (с, 1H), 6,71 (т, $J=5,7$ Гц, 1H), 6,68 (с, 1H), 5,08 (с, 2H), 3,54 (т, $J=5,7$ Гц, 2H), 3,47 (к, $J=5,7$ Гц, 2H).

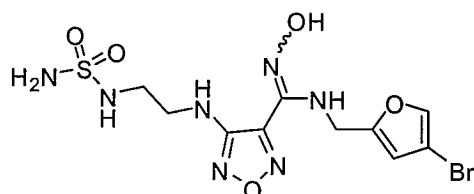
Стадия Н: 3-{4-[(2-Аминоэтил) амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[(4-бром-2-фурил) метил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидроидид



К раствору 3-{4-[(2-азидоэтил) амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[(4-бром-2-фурил) метил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она (7,7 г, 19 ммоль) в метаноле (80 мл) добавляют натрия йодид (17,4 г, 116 ммоль). После перемешивания в течение 10 минут, добавляют по каплям раствор хлортриметилсилана (14,8 мл, 116 ммоль) в течение 5 минут. Реакционную смесь продолжают перемешивать в течение 1 час, во время чего медленно добавляют к раствору натрия тиосульфата (23,0 г, 145 ммоль) в воде (800 мл) при 0°C, получая осадок. Колбу промывают метанолом (10 мл) и осадок собирают фильтрованием под вакуумом. Твердое вещество промывают холодной водой (2x25 мл) и сушат под вакуумом с получением

целевого продукта (5,8 г, 60%) в виде соли гидройодида. ЖХМС вычислено для $C_{11}H_{12}BrN_6O_4$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 370,9, 372,8. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 7,86 (с, 1H), 7,36 (шс, 3 H), 6,68 (т, J=5,8 Гц, 1H), 6,65 (с, 1H), 5,07 (с, 2H), 3,45 (к, J=5,8 Гц, 2H), 2,98 (т, J=5,8 Гц, 2H).

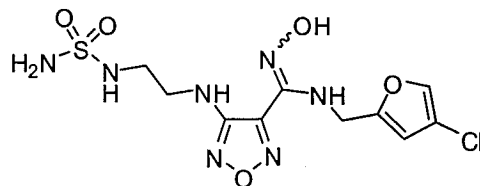
Стадия I: 4-({2-[(Аминосульфонил)амино]этил}амино)-N-[(4-бром-2-фурил)метил]-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



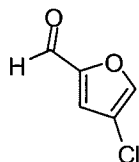
Во флаконе для обработки микроволнами 3-{4-[(2-аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[(4-бром-2-фурил)метил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидройодид (30 мг, 0,060 ммоль) и сульфамид (29 мг, 0,30 ммоль) суспендируют в пиридине (1 мл). Реакционную смесь продувают азотом и нагревают до 130°C, выдерживая при этой температуре в течение 3 минут в микроволновом реакторе. Растворитель удаляют и неочищенное промежуточное соединение суспендируют в метаноле (1 мл). Добавляют 2,0 н раствор NaOH в воде (0,30 мл, 0,60 ммоль) в виде одной порции и реакционную смесь нагревают до 45°C, выдерживая при этой температуре в течение 30 минут. После нейтрализации уксусной кислотой (68 мкл, 1,2 ммоль), продукт очищают препаративной ЖХМС с получением целевого продукта (10,4 мг, 41%). ЖХМС вычислено для $C_{10}H_{15}BrN_7O_5S$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 423,9, 426,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 10,87 (с, 1H), 7,75 (с, 1H), 6,83 (т, J=7,3 Гц, 1H), 6,68 (т, J=6,0 Гц, 1H), 6,56 (с, 2H), 6,30 (т, J=6,0 Гц, 1H), 6,23 (с, 1H), 4,56 (д, J=7,0 Гц, 2H), 3,32 (к, J=6,3 Гц, 2H), 3,07 (к, J=6,3 Гц, 2H).

Пример 21

4-({2-[(Аминосульфонил)амино]этил}амино)-N-[(4-хлор-2-фурил)метил]-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

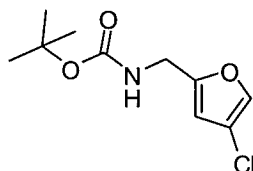


Стадия А: 4-Хлор-2-фуральдегид



При перемешивании к суспензии алюминия трихлорида (29,8 г, 0,223 моль) в дихлорметане (200 мл) в атмосфере азота добавляют 2-фуранкарбоксальдегид (8,44 мл, 0,102 моль) в течение 15 минут. После перемешивания на протяжении 30 минут, хлор пропускают сквозь суспензию с использованием пипетки в течение 50 минут. Колбу укупоривают и перемешивают при комнатной температуре в течение 90 час. Реакционную смесь медленно добавляют к смеси льда (500 мл) в 1,0 н растворе HCl в воде (300 мл). Смеси позволяют нагреться до комнатной температуры в течение следующего часа. Слои отделяют и органическую фракцию собирают. Дополнительное количество продукта экстрагируют дихлорметаном (2x200 мл). Объединенные органические фракции промывают водой (250 мл) и сушат над натрия сульфатом. Растворитель удаляют под вакуумом с получением неочищенной смеси, содержащей целевой продукт (14,0 г, 100%, чистота 60%). ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9,56 (с, 1H), 8,36 (с, 1H), 7,71 (с, 1H).

Стадия В: трет-Бутил [(4-хлор-2-фурил)метил]карбамат

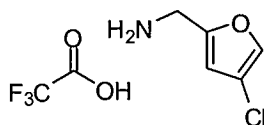


4-Хлор-2-фуральдегид (14,0 г, чистота 60%, 64 ммоль) растворяют в этаноле (50 мл) и воде (50 мл). N-Гидроксиамина гидрохлорид (12,6 г, 182 ммоль) и натрия ацетат (14,9 г, 182 ммоль) добавляют последовательно и реакционную смесь кипятят с

обратным холодильником при 100°C , выдерживая при этой температуре в течение 1 час. Раствор частично упаривают, затем добавляют воду (25 мл) и этилацетат (50 мл). Органическую фракцию собирают и водную фракцию экстрагируют этилацетатом (2x25 мл). Объединенные органические фракции промывают раствором соли (50 мл) и водой (50 мл). После просушивания над натрия сульфатом, раствор упаривают под вакуумом. Промежуточное соединение суспендируют в уксусной кислоте (115 мл). Раствор охлаждают на ледяной бане и порциями добавляют цинк (33,1 г, 506 ммоль) в течение 20 минут. Реакционную смесь нагревают до комнатной температуры в течение 2 час и фильтруют сквозь бромиллерит. Растворитель удаляют под вакуумом.

Остаток перемешивают в тетрагидрофуране (100 мл). Добавляют по каплям 2,0 М раствор NaOH в воде (152 мл, 304 ммоль) в течение 30 минут. Реакционную смесь помещают на ледяную баню и, после 5 минут, добавляют по каплям ди-трет-бутилдикарбонат (24,3 г, 111 ммоль) в течение 15 минут. Реакционную смесь нагревают до комнатной температуры в течение следующих 2 час и затем тетрагидрофуран удаляют под вакуумом. Добавляют этилацетат (100 мл) и суспензию фильтруют. Органическую фракцию собирают и водную фракцию экстрагируют этилацетатом (2x100 мл). Объединенные органические фракции промывают смесью вода/солевой раствор (100 мл, 1:1), сушат над натрия сульфатом и упаривают под вакуумом. Очистка флеш-хроматографией на силикагеле с элюированием этилацетатом в гексане дает целевой продукт (3,05 г, 22%). ЖХМС вычислено для $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{ClNNaO}_3$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺: соотношение массы к заряду = 253,9. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,81 (с, 1H), 7,37 (т, $J=5,3$ Гц, 1H), 6,32 (с, 1H), 4,05 (д, $J=6,0$ Гц, 2H), 1,36 (с, 9H).

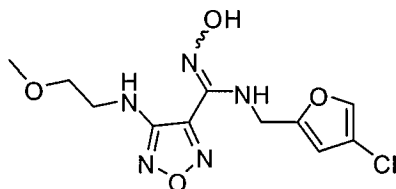
Стадия С: 1-(4-Хлор-2-фурил)метанамина трифторацетат



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 20, стадия В, с использованием трет-бутил [(4-хлор-

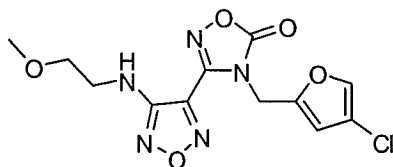
2-фурил) метил] карбамата как исходного материала, с количественным выходом. ЖХМС вычислено для $C_5H_4ClO (M-NH_2)^+$: соотношение массы к заряду = 115,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,29 (шс, 3 H), 8,04 (с, 1H), 6,69 (с, 1H), 4,07 (с, 2H).

Стадия D: N-[(4-Хлор-2-фурил) метил]-N'-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил) амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



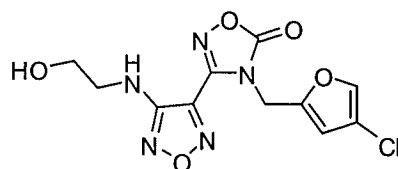
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 20, стадия С, с использованием N-гидрокси-4-(2-метоксиэтиламино)-1,2,5-оксадиазол-3-карбимидоилхлорида и 1-(4-хлор-2-фурил)метанамина трифторацетата как исходных материалов, с количественным выходом. ЖХМС вычислено для $C_{11}H_{15}ClN_5O_4 (M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 316,0.

Стадия E: 4-[(4-Хлор-2-фурил) метил]-3-{4-[(2-метоксиэтил) амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



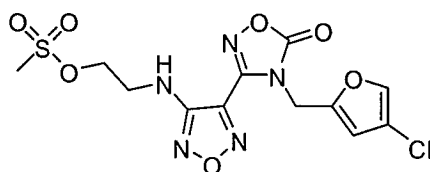
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 20, стадия D, с использованием N-[(4-хлор-2-фурил) метил]-N'-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил) амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида как исходного материала, с выходом 51%. ЖХМС вычислено для $C_{12}H_{13}ClN_5O_5 (M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 342,0.

Стадия F: 4-[(4-Хлор-2-фурил) метил]-3-{4-[(2-гидроксиэтил) амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



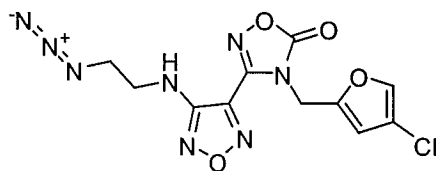
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 20, стадия Е, с использованием 4-[(4-хлор-2-фурил)метил]-3-{4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она как исходного материала, с количественным выходом. ЖХМС вычислено для $C_{11}H_{10}ClN_5NaO_5$ $(M+Na)^+$: соотношение массы к заряду = 349,9.

Стадия G: 2-[(4-{4-[(4-Хлор-2-фурил)метил]-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил}-1,2,5-оксадиазол-3-ил)амино]этилметансульфонат



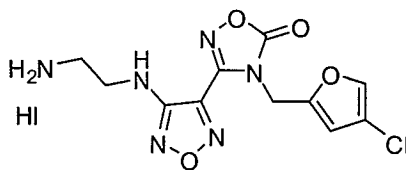
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 20, стадия F, с использованием 4-[(4-хлор-2-фурил)метил]-3-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она как исходного материала, с выходом 69%. ЖХМС вычислено для $C_{12}H_{13}ClN_5O_7S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 405,8.

Стадия H: 3-{4-[(2-Азидоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[(4-хлор-2-фурил)метил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



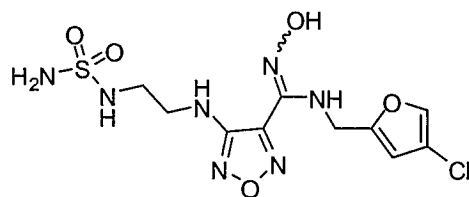
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 20, стадия G, с использованием 2-[(4-{4-[(4-хлор-2-фурил)метил]-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил}-1,2,5-оксадиазол-3-ил)амино]этилметансульфоната как исходного материала, с количественным выходом. ЖХМС вычислено для $C_{11}H_9ClN_8NaO_4$ $(M+Na)^+$: соотношение массы к заряду = 374,9.

Стадия I: 3-{4-[(2-Аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[(4-хлор-2-фурил)метил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидройодид



Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 20, стадия H, с использованием 3-{4-[(2-азидоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[(4-хлор-2-фурил)метил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она как исходного материала, с выходом 57%. ЖХМС вычислено для $C_{11}H_{12}ClN_6O_4$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 326,9.

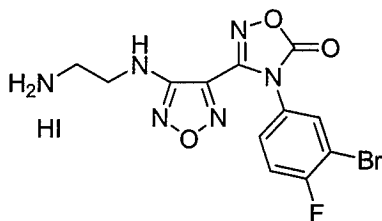
Стадия J: 4-({2-[(Аминосульфони́л)амино]этил}амино)-N-[(4-хлор-2-фурил)метил]-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



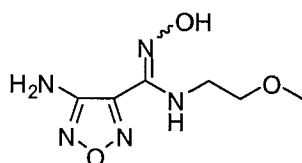
Названное соединение получают в соответствии с методикой из Примера 20, стадия I, с использованием 3-{4-[(2-аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-[(4-хлор-2-фурил)метил]-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидройодида как исходного материала, с выходом 53%. ЖХМС вычислено для $C_{10}H_{15}ClN_7O_5S$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 379,9. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 10,88 (с, 1H), 7,77 (с, 1H), 6,83 (т, $J=6,8$ Гц, 1H), 6,68 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 6,56 (с, 2H), 6,30 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 6,22 (с, 1H), 4,55 (д, 2H), 3,32 (к, $J=6,3$ Гц, 2H), 3,06 (к, $J=6,3$ Гц, 2H).

Пример 22

Альтернативное получение промежуточного соединения 3-(4-(2-аминоэтиламино)-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидройодида

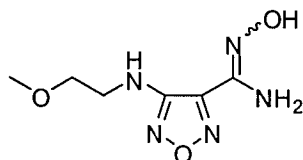


Стадия А: 4-Амино-*N'*-гидрокси-*N*-(2-метоксиэтил)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



4-Амино-*N*-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидоила хлорид (может быть получен в соответствии с Примером 1, стадии А-В, 200,0 г, 1,23 моль) смешивают с этилацетатом (1,2 л). При 0–5°C 2-метоксиэтиламин [Aldrich, продукт № 143693] (119,0 мл, 1,35 моль) добавляют в виде одной порции при перемешивании. Температуру реакционной смеси увеличивают до 41°C. Реакционную смесь охлаждают до 0–5°C. Добавляют триэтиламин (258 мл, 1,84 моль). После перемешивания в течение 5 мин, ЖХМС показывает завершение реакции. Реакционную смесь промывают водой (500 мл) и раствором соли (500 мл), сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением целевого продукта (294 г, 119%) в виде неочищенного темного масла. ЖХМС для $C_6H_{12}N_5O_3$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 202,3. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆): δ 10,65 (с, 1H), 6,27 (с, 2 H), 6,10 (т, *J*=6,5 Гц, 1H), 3,50 (м, 2H), 3,35 (д, *J*=5,8 Гц, 2H), 3,08 (с, 3H).

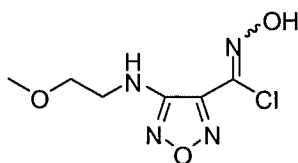
Стадия В: *N'*-Гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



4-Амино-*N'*-гидрокси-*N*-(2-метоксиэтил)-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид (248,0 г, 1,23 моль) смешивают с водой (1 л). Добавляют калия гидроксид (210 г, 3,7 моль). Реакционную смесь

кипятят с обратным холодильником при 100°C, выдерживая при этой температуре в течение ночи (15 час). Данные ТСХ с использованием 50% этилацетата (который содержит 1% аммония гидроксида) в гексане показывают завершение реакции (для продукта $R_f=0,6$, для исходного материала $R_f=0,5$). ЖХМС также показывает завершение реакции. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и экстрагируют этилацетатом (3x1 л). Объединенные растворы этилацетата сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением целевого продукта (201 г, 81%) в виде неочищенного твердого вещества практически белого цвета. ЖХМС для $C_6H_{12}N_5O_3$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 202,3 ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 10,54 (с, 1H), 6,22 (с, 2 H), 6,15 (т, $J=5,8$ Гц, 1H), 3,45 (т, $J=5,3$ Гц, 2H), 3,35 (м, 2 H), 3,22 (с, 3H).

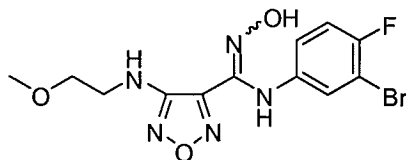
Стадия С: N-Гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидоил хлорид



При комнатной температуре N'-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид (50,0 г, 0,226 моль) растворяют в 6,0 М водном растворе хлористоводородной кислоты (250 мл, 1,5 моль). Добавляют натрия хлорид (39,5 г, 0,676 моль) с последующим добавлением воды (250 мл) и этилацетата (250 мл). При 3-5°C предварительно подготовленный водный раствор (100 мл) натрия нитрита (15,0 г, 0,217 моль) медленно добавляют в течение 1 час. Реакционную смесь перемешивают при 3-8°C, выдерживая при этой температуре в течение 2 час и затем при комнатной температуре в течение уик-энда. ЖХМС показывает завершение реакции. Реакционную смесь экстрагируют этилацетатом (2x200 мл). Объединенные растворы этилацетата сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением целевого продукта (49,9 г, 126%) в виде неочищенного твердого вещества белого цвета. ЖХМС для $C_6H_{10}ClN_4O_3$ (M+H)⁺: соотношение

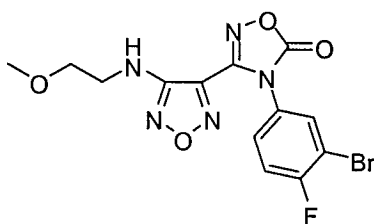
массы к заряду = 221,0. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 13,43 (с, 1H), 5,85 (т, $J=5,6$ Гц, 1H), 3,50 (т, $J=5,6$ Гц, 2 H), 3,37 (дд, $J=10,8$, 5,6 Гц, 2H), 3,25 (с, 3H).

Стадия D: N-(3-Бром-4-фторфенил)-N'-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид



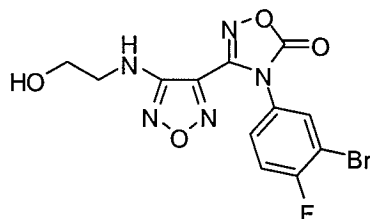
N-Гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидоила хлорид (46,0 г, 0,208 моль) смешивают с водой (300 мл). Смесь нагревают до 60°C . Добавляют 3-Бром-4-фторанилин [Oakwood products, продукт № 013091] (43,6 г, 0,229 моль) и перемешивают в течение 10 мин. Нагретый раствор натрия бикарбоната (26,3 г, 0,313 моль) (300 мл вода) добавляют в течение 15 мин. Реакционную смесь перемешивают при 60°C , выдерживая при этой температуре в течение 20 мин. ЖХМС показывает завершение реакции. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и экстрагируют этилацетатом (2x300 мл). Объединенные растворы этилацетата сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением целевого продукта (76,7 г, 98%) в виде неочищенного твердого вещества коричневого цвета. ЖХМС для $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{BrFN}_5\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: соотношение массы к заряду = 374,0, 376,0. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 11,55 (с, 1H), 8,85 (с, 1H), 7,16 (т, $J=8,8$ Гц, 1H), 7,08 (дд, $J=6,1$, 2,7 Гц, 1H), 6,75 (м, 1H), 6,14 (т, $J=5,8$ Гц, 1H), 3,48 (т, $J=5,2$ Гц, 2 H), 3,35 (дд, $J=10,8$, 5,6 Гц, 2H), 3,22 (с, 3H).

Стадия E: 4-(3-Бром-4-фторфенил)-3-{4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



Смесь *N*-(3-бром-4-фторфенил)-*N'*-гидрокси-4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида (76,5 г, 0,204 моль), 1,1'-карбонилдимидазола (49,7 г, 0,307 моль) и этилацетата (720 мл) нагревают до 60°C и перемешивают в течение 20 мин. ЖХМС показывает завершение реакции. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, промывают 1 н раствором HCl (2x750 мл), сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением целевого продукта (80,4 г, 98%) в виде неочищенного твердого вещества коричневого цвета. ЖХМС для C₁₃H₁₂BrFN₅O₄ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 400,0, 402,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 7,94 (т, *J*=8,2 Гц, 1H), 7,72 (дд, *J*=9,1, 2,3 Гц, 1H), 7,42 (м, 1H), 6,42 (т, *J*=5,7 Гц, 1H), 3,46 (т, *J*=5,4 Гц, 2H), 3,36 (т, *J*=5,8 Гц, 2H), 3,26 (с, 3H).

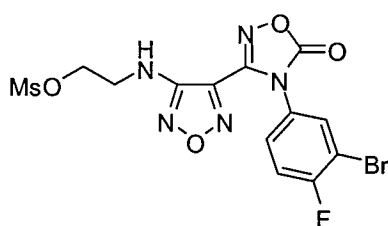
Стадия F: 4-(3-Бром-4-фторфенил)-3-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



4-(3-Бром-4-фторфенил)-3-{4-[(2-метоксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он (78,4 г, 0,196 моль) растворяют в дихлорметане (600 мл). При -67°C добавляют бора трибромид (37 мл, 0,392 моль) в течение 15 мин. Реакционную смесь нагревают до -10°C в течение 30 мин. ЖХМС показывает завершение реакции. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 1 час. При 0-5°C реакционную смесь медленно гасят насыщенным раствором натрия бикарбоната (1,5 л) в течение 30 мин. Температуру реакционной смеси увеличивают до 25°C. Реакционную смесь экстрагируют этилацетатом (2x500 мл, органическая фракция, которая экстрагируется первой, — на дне, и органическая фракция, которая экстрагируется второй, — сверху). Объединенные органические фракции сушат над натрия сульфатом и упаривают с

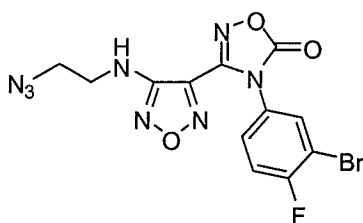
получением целевого продукта (75 г, 99%) в виде неочищенного твердого вещества коричневого цвета. ЖХМС для $C_{12}H_{10}BrFN_5O_4$ $(M+H)^+$: соотношение массы к заряду = 386,0, 388,0. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,08 (дд, $J=6,2, 2,5$ Гц, 1H), 7,70 (м, 1H), 7,68 (т, $J=8,7$ Гц, 1H), 6,33 (т, $J=5,6$ Гц, 1H), 4,85 (т, $J=5,0$ Гц, 1H), 3,56 (дд, $J=10,6, 5,6$ Гц, 2H), 3,29 (дд, $J=11,5, 5,9$ Гц, 2H).

Стадия G: 2-({4-[4-(3-Бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этилметансульфонат



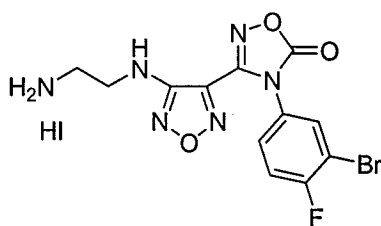
4-(3-бром-4-фторфенил)-3-(4-(2-гидроксиэтиламино)-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он (72,2 г, 0,188 моль) смешивают с этилацетатом (600 мл). Добавляют метансульфонилхлорид (19,2 мл, 0,248 моль) с последующим добавлением триэтиламина (34,9 мл, 0,250 моль). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 5 мин. Когда ЖХМС показывает завершение реакции ($M+H=442$), добавляют 500 мл воды к реакционной смеси. Реакционную смесь экстрагируют этилацетатом (2x500 мл). Объединенные растворы этилацетата промывают раствором соли (500 мл), сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением 85,1 г неочищенного твердого вещества коричневого цвета. По данным 1H ЯМР проверяют структуру. Выход неочищенного продукта 97%. ЖХМС для $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$ $(M+Na)^+$: соотношение массы к заряду = 485,9, 487,9. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,08 (дд, $J=6,2, 2,5$ Гц, 1H), 7,72 (м, 1H), 7,58 (т, $J=8,7$ Гц, 1H), 6,75 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 4,36 (т, $J=5,3$ Гц, 2H), 3,58 (дд, $J=11,2, 5,6$ Гц, 2H), 3,18 (с, 3H).

Стадия H: 3-{4-[(2-Азидоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он



2-(4-(4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил)-1,2,5-оксадиазол-3-иламино)этилметансульфонат (50,0 г, 0,108 моль) растворяют в *N,N*-диметилформамиде (83 мл). Добавляют натрия азид (10,5 г, 0,162 моль). Реакционную смесь перемешивают при 65°C, выдерживая при этой температуре в течение 5-6 час. ЖХМС показывает завершение реакции ($M+Na=435$). Реакцию гасят водой (250 мл) и экстрагируют этилацетатом (2x250 мл). Объединенные растворы этилацетата промывают водой (250 мл, разделение слоев медленное, добавляют 100 мл раствора соли для содействия разделению), сушат над натрия сульфатом и упаривают с получением 49,7 г неочищенного твердого вещества коричневого цвета. Выход неочищенного продукта 112%. ЖХМС для $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: соотношение массы к заряду = 433,0, 435,0. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ 8,08 (дд, $J=6,2, 2,5$ Гц, 1H), 7,72 (м, 1H), 7,58 (т, $J=8,7$ Гц, 1H), 6,75 (т, $J=5,7$ Гц, 1H), 3,54 (т, $J=5,3$ Гц, 2H), 3,45 (дд, $J=11,1, 5,2$ Гц, 2H).

Стадия I: 3-(4-(2-аминоэтиламино)-,2,5-оксадиазол-3-ил)-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидроидид

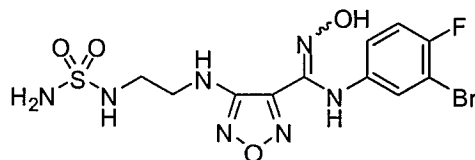


3-(4-(2-азидоэтиламино)-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он (80,0 г, 0,194 моль) смешивают с метанолом (800 мл). Добавляют натрия йодид (175,0 г, 1,17 моль). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 10 мин. Хлортриметилсилан (148 мл, 1,17 моль) растворяют в метаноле (100 мл) и добавляют к реакционной смеси в течение 30 мин. Температуру реакционной смеси увеличивают до 42°C. Реакционную смесь перемешивают при

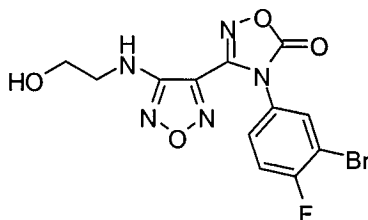
комнатной температуре в течение 30 мин. ЖХМС показывает завершение реакции ($M+N=386$). Реакцию гасят с помощью натрия тиосульфата (190,0 г, 1,20 моль) в воде (900 мл). Осаждается большое количество твердого вещества. Продукт собирают фильтрацией (скорость фильтрации медленная), промывают водой (200 мл) и сушат под вакуумом в течение ночи. Остаток на фильтре суспендируют в этилацетате (500 мл) в течение 30 мин. Продукт фильтруют (скорость фильтрации медленная) и сушат под вакуумом в течение уик-энда с получением 95 г твердого вещества практически белого цвета. ЖХМС для $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$ ($M+N$)⁺: соотношение массы к заряду = 384,9, 386,9. 1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6): δ 8,12 (м, 4 Н), 7,76 (м, 1Н), 7,58 (т, $J=8,7$ Гц, 1Н), 6,78 (т, $J=6,1$ Гц, 1Н), 3,51 (дд, $J=11,8, 6,1$ Гц, 2 Н), 3,02 (м, 2Н).

Пример 23

Альтернативный способ получения 4-({2-[(Аминосульфонил)амино]этил}амино)-N-(3-бром-4-фторфенил)-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамида



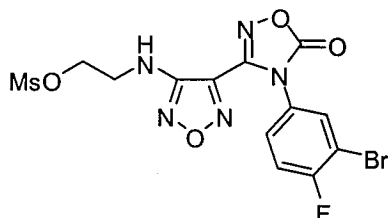
Стадия А: 4-(3-бром-4-фторфенил)-3-(4-(2-гидроксиэтиламино)-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-1,2,4-оксадиазол-5(4Н)-он



К раствору 4-(3-бром-4-фторфенил)-3-(4-(2-метоксиэтиламино)-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-1,2,4-оксадиазол-5(4Н)-она (может быть подготовленный в соответствии с Примером 1, стадии А-Г; 1232 г, 3,08 моль) в дихлорметане (12 л) при перемешивании в колбу объемом 22 л при 0°C добавляют бора трибромид (354 мл, 3,67 мл) по каплям с такой скоростью, чтобы

не превысить температуру 10°C. После перемешивания на льду в течение 1 час, осторожно добавляют насыщенный водный раствор натрия бикарбоната (2 л) с такой скоростью, чтобы не превысить температуру 20°C (время добавления 10 мин). Полученную смесь переносят в делительную лейку объемом 50 л, разбавляют водой (10 л) и pH водных слоев доводят от 1 до 8 с использованием твердого натрия бикарбоната. Фракции отделяют, органическую фракцию промывают водой (10 л) и растворители удаляют под вакуумом с получением твердого вещества рыжевато-коричневого цвета (24 моль обрабатывают несколькими циклами, 9,54 кг, количественный выход). Материал суспендируют в 4 объемах смеси гептан/этилацетат (4x22 л колбы, 7:1), фильтруют и сушат с получением названного соединения в виде твердого вещества рыжевато-коричневого цвета (8679 г, 94%). Продукт представляет собой смесь соответствующих гидроксид- и бром-производных.

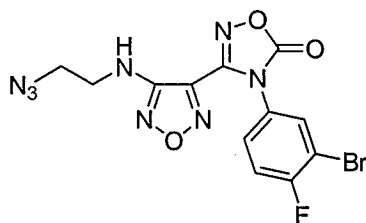
Стадия В: 2-(4-(4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил)-1,2,5-оксадиазол-3-иламино)этилметансульфонат



К раствору 4-(3-бром-4-фторфенил)-3-{4-[(2-гидроксиэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она (1,5 кг, 3,9 моль, содержит также некоторое количество бромсодержащего соединения) в этилацетате (12 л) добавляют метансульфонилхлорид (185 мл, 2,4 моль) по каплям в течение 1 час при комнатной температуре. По каплям добавляют триэтиламин (325 мл, 2,3 моль) в течение 45 мин, во время чего температуру реакционной смеси повышают до 35°C. По прохождении 2 час реакционную смесь промывают водой (5 л), раствором соли (1 л), сушат над натрия сульфатом, объединяют с втрое большим объемом такой же реакционной смеси и растворители удаляют под вакуумом с получением целевого продукта (7600 г, количественный

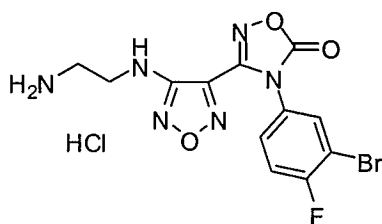
выход, содержит также некоторое количество соответствующего бромсодержащего соединения. Осторожно: раздражающая пыль) в виде твердого вещества рыжевато-коричневого цвета. ЖХМС для $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$ ($M+Na$)⁺: соотношение массы к заряду = 485,9, 487,9. 1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6): δ 8,08 (дд, $J=6,2, 2,5$ Гц, 1H), 7,72 (м, 1H), 7,58 (т, $J=8,7$ Гц, 1H), 6,75 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 4,36 (т, $J=5,3$ Гц, 2H), 3,58 (дд, $J=11,2, 5,6$ Гц, 2H), 3,18 (с, 3H).

Стадия С: 3-(4-(2-азидоэтиламино)-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он

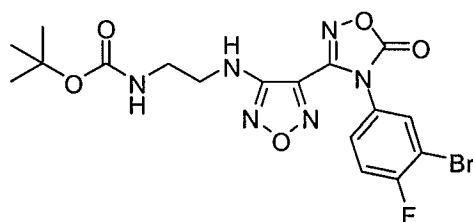


К раствору 2-({4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этилметансульфоната (2,13 кг, 4,6 моль, содержит также некоторое количество бромсодержащего соединения) в диметилформамиде (4 л) при перемешивании в колбе объемом 22 л добавляют натрия азид (380 г, 5,84 моль). Реакционную смесь нагревают до 50°C, выдерживая при этой температуре в течение 6 час, выливают в смесь лед/вода (8 л) и экстрагируют смесью этилацетат/гептан (20 л, 1:1). Органическую фракцию промывают водой (5 л) и раствором соли (5 л) и растворители удаляют под вакуумом с получением целевого продукта (1464 г, 77%) в виде твердого вещества рыжевато-коричневого цвета. ЖХМС для $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: соотношение массы к заряду = 433,0, 435,0. 1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц): δ 8,08 (дд, $J=6,2, 2,5$ Гц, 1H), 7,72 (м, 1H), 7,58 (т, $J=8,7$ Гц, 1H), 6,75 (т, $J=5,7$ Гц, 1H), 3,54 (т, $J=5,3$ Гц, 2H), 3,45 (дд, $J=11,1, 5,2$ Гц, 2H).

Стадия D: 3-{4-[(2-Аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он гидрохлорид



Стадия D, Часть 1: трет-Бутил 2-(4-(4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил)-1,2,5-оксадиазол-3-иламино)этилкарбамат



Натрия йодид (1080 г, 7,2 моль) добавляют к 3-{4-[(2-азидоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она (500 г, 1,22 моль) в метаноле (6 л). Смесь перемешивают в течение 30 мин, в течение которых наблюдается незначительное выделение тепла. Добавляют по каплям хлортриметилсилан (930 мл, 7,33 моль) в виде раствора в метаноле (1 л) с такой скоростью, чтобы температура не превышала 35°C, и реакционную смесь перемешивают в течение 3,5 час при комнатной температуре. Реакционную смесь нейтрализуют 33%, масс. раствором натрия тиосульфата пентагидрата в воде (~1,5 л), разбавляют водой (4 л) и pH осторожно доводят до 9 твердым калия карбонатом (250 г – добавляют маленькими порциями: наблюдается пенообразование). Добавляют ди-трет-бутилдикарбонат (318 г, 1,45 моль), и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре. Добавляют дополнительное количество калия карбоната (200 г) порциями по 50 г в течение 4 час, чтобы pH не изменилось или стало больше 9. После перемешивания при комнатной температуре в течение ночи, твердое вещество фильтруют, растирают водой (2 л) и затем МТБЭ (1,5 л). Всего производят 11 циклов (5,5 кг, 13,38 моль). Объединенные твердые вещества растирают со смесью ТГФ/дихлорметан (24 л, 1:1, 4 цикла в колбе роторного

испарителя объемом 20 л, 50°C, 1 час), фильтруют и промывают дихлорметаном (3 л каждый цикл) с получением твердого вещества практически белого цвета. Неочищенный материал растворяют при 55°C тетрагидрофураном (5 мл/г), обрабатывают обесцвечивающим углем (2%, масс.) и силикагелем (2%, масс.) и фильтруют в горячем виде сквозь броунмиллерит с получением продукта в виде твердого вещества практически белого цвета (5122 г). Объединенные МТВЭ, ТГФ и дихлорметан фильтраты упаривают под вакуумом и хроматографируют (2 кг силикагеля, градиент 0-100% этилацетата в гептане, 30 л) с получением дополнительной порции продукта (262 г). Объединенные твердые вещества трет-бутил 2-(4-(4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил)-1,2,5-оксадиазол-3-иламино)этилкарбамата сушат до получения требуемой массы в конвекционной печи (5385 г, 83%).

Стадия D, Часть 2: 3-{4-[(2-Аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидрохлорид

Метод А:

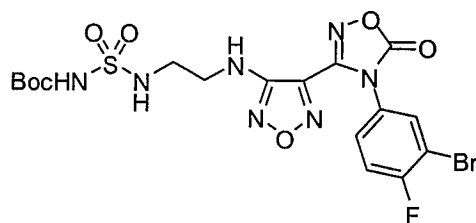
В колбу объемом 22 л помещают хлороводорода (4 н раствор в 1,4-диоксане, 4 л, 16 моль). Добавляют порциями трет-бутил [2-({4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил]карбамат (2315 г, 4,77 моль) в виде твердого вещества в течение 10 мин. Суспензию перемешивают при комнатной температуре, и она постепенно превращается в густую пасту, которую невозможно перемешивать. После стояния в течение ночи при комнатной температуре, пасту суспендируют в этилацетате (10 л), фильтруют, повторно суспендируют в этилацетате (5 л), фильтруют и сушат до получения требуемой массы с получением целевого продукта в виде твердого вещества белого цвета (объединяют с продуктами других циклов, использовали 5 кг исходного материала, 4113 г, 95%). ЖХМС для $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$ (M+H)⁺: соотношение массы к заряду = 384,9, 386,9. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 8,12 (м, 4 H), 7,76 (м, 1H), 7,58 (т, J=8,7 Гц, 1H), 6,78 (т, J=6,1 Гц, 1H), 3,51 (дд, J=11,8, 6,1 Гц, 2H),

3,02 (м, 2H).

Метод В:

трет-Бутил [2-({4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил]карбамат (5000 г) добавляют к смеси изопропанола (20 л) и 4 н раствора HCl в 1,4-диоксане (10 л) при комнатной температуре. Партию нагревают до 40-45°C и выдерживают в течение 1 час. Этилацетат добавляют к партии при 40-45°C и выдерживают в течение 2,5 час. После завершения реакции, что проверяется с помощью ВЭЖХ, добавляют гептан (10 л) к партии. Партию охлаждают до 25°C. Продукт отделяют фильтрацией и влажный остаток на фильтре промывают этилацетатом (3x5,0 л). Продукт сушат в вакуумной печи при 20° С с получением 4344 г (93,4%) названного в заголовке соединения. Данные ЖХ-МС, ¹H, ¹³C ЯМР и ВЭЖХ для этой партии идентичны данным продукта, полученного Способом А.

Стадия Е: *трет*-Бутил ({[2-({4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил]амино}сульфонил)карбамат

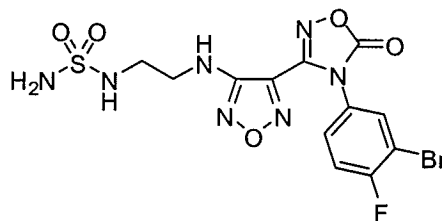


Круглодонную колбу объемом 5 л заполняют хлорсульфонилизотиоцианатом [Aldrich, продукт № 142662] (149 мл, 1,72 моль) и дихлорметаном (1,5 л) и охлаждают с использованием ледяной бани до 2°C. *трет*-Бутанол (162 мл, 1,73 моль) в дихлорметане (200 мл) добавляют по каплям с такой скоростью, чтобы температура не превысила 10°C. Полученный раствор перемешивают при комнатной температуре в течение 30-60 мин с получением *трет*-бутил [хлорсульфонил]карбамата.

Колбу объемом 22 л заполняют 3-{4-[(2-аминоэтил)амино]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}-4-(3-бром-4-фторфенил)-1,2,4-оксадиазол-5(4H)-она гидрохлоридом (661 г, 1,57 моль) и 8,5 л

дихлорметана. После охлаждения до -15°C на бане лед/соль, раствор *трет*-бутил [хлорсульфонил]карбамата (подготовленный, как описано выше) добавляют с такой скоростью, чтобы температура не превысила -10°C (время добавления 7 мин). После перемешивания в течение 10 мин, добавляют триэтиламин (1085 мл, 7,78 моль) с такой скоростью, чтобы температура не превысила -5°C (время добавления 10 мин). Охлаждающую баню убирают, реакционную смесь нагревают до 10°C , разделяют на две порции и нейтрализуют 10 % конц. раствором HCl (4,5 л каждая порция). Каждую порцию переносят в делительную лейку объемом 50 л и разбавляют этилацетатом до полного растворения твердого вещества белого цвета (~ 25 л). Фракции отделяют и органическую фракцию промывают водой (5 л), раствором соли (5 л), и растворители удаляют под вакуумом с получением твердого вещества практически белого цвета. Твердое вещество растирают с МТБЭ (2х1,5 л) и сушат до получения требуемой массы с получением твердого вещества белого цвета. Таким образом, обрабатывают все 4113 г исходного материала (5409 г, 98%). ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 10,90 (с, 1H), 8,08 (дд, $J=6,2, 2,5$ Гц, 1H), 7,72 (м, 1H), 7,59 (т, $J=8,6$ Гц, 1H), 6,58 (т, $J=5,7$ Гц, 1H), 3,38 (дд, $J=12,7, 6,2$ Гц, 2H), 3,10 (дд, $J=12,1, 5,9$ Гц, 2H), 1,41 (с, 9H).

Стадия F: N-[2-({4-[4-(3-Бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил]сульфамид



Метод А: с использованием трифторуксусной кислоты

В колбу объемом 22 л, содержащую смесь трифторуксусная кислота/вода (8,9 л, 98:2), добавляют порциями *трет*-бутил ({[2-({4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил]сульфамид

ил}амино)этил]амино}сульфонил)карбамат (1931 г, 3,42 моль) в течение 10 минут. Полученную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 1,5 час, растворители удаляют под вакуумом и перегоняют дихлорметаном (2 л). Полученное твердое вещество обрабатывают второй раз свежеприготовленной смесью трифторуксусная кислота/вода (8,9 л, 98:2), нагревают в течение 1 час до 40–50°C, растворители удаляют под вакуумом и перегоняют дихлорметаном (3x2 л). Полученное твердое вещество белого цвета сушат в вакуумной печи при 50°C, выдерживая при этой температуре в течение ночи. Таким образом обрабатывают все 5409 г (4990 г, количественный выход). ЖХМС для $C_{12}H_{12}BrFN_7O_5S$ $(M+N)^+$: соотношение массы к заряду = 463,9, 465,9. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,08 (дд, $J=6,2, 2,5$ Гц, 1H), 7,72 (м, 1H), 7,59 (т, $J=8,7$ Гц, 1H), 6,67 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 6,52 (т, $J=6,0$ Гц, 1H), 3,38 (дд, $J=12,7, 6,3$ Гц, 2 H), 3,11 (дд, $J=12,3, 6,3$ Гц).

Метод В: с использованием хлористоводородной кислоты

К раствору трет-бутил ({[2-(4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил]амино}сульфонил)карбамата (4500 г) в изопропанол (9 л) добавляют 4 н раствор HCl в диоксане (8,0 л). Реакционную смесь нагревают до 40–45°C и выдерживают при этой температуре приблизительно 5 час. После завершения реакции (проверяется по данным ВЭЖХ), к реакционной смеси добавляют гептан (72 л). Полученную смесь нагревают до 68°C и выдерживают при этой температуре в течение 1 час. Партию охлаждают до приблизительно 23°C. Продукт в виде твердого вещества собирают фильтрацией. Влажный остаток на фильтре промывают смесью гептана (16 л) и изопропанола (1,2 л) и сушат на фильтровальной лейке под вакуумом. Сырой продукт растворяют в этилацетате (10,8 л) при приблизительно 43°C. Гептан (32,4 л) добавляют к раствору этилацетата в течение 15 мин. Партию нагревают до 70°C и выдерживают при этой температуре в течение 1 час. Партию охлаждают до 21°C и твердый продукт собирают фильтрацией. Влажный остаток на фильтре промывают гептаном (14,4 л) и сушат

на фильтровальной лейке под вакуумом. Выход продукта составляет 3034 г. Данные ЖХ-МС, ^1H и ^{13}C ЯМР и ВЭЖХ для данной партии идентичны данным продукта, полученного Способом А.

Стадия G: (Z)-4-({2-[(Аминосульфонил)амино]этил}амино)-N-(3-бром-4-фторфенил)-N'-гидрокси-1,2,5-оксадиазол-3-карбоксимидамид

Метод А:

К неочищенной смеси N-[2-({4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил]сульфамида (2,4 моль), содержащей остаточное количество трифторуксусной кислоты, при перемешивании добавляют в 22 л колбу ТГФ (5 л). Полученный раствор охлаждают до 0°C с использованием ледяной бани и добавляют 2 н раствор NaOH (4 л) с такой скоростью, чтобы температура не превысила 10°C . После перемешивания при комнатной температуре в течение 3 час (ЖХМС показывает отсутствие исходного материала), pH доводят до 3-4 упариванием HCl (~500 мл). ТГФ удаляют под вакуумом и полученную смесь экстрагируют этилацетатом (15 л). Органическую фракцию промывают водой (5 л), раствором соли (5 л) и растворители удаляют под вакуумом с получением твердого вещества. Твердое вещество растирают с МТВЭ (2x2 л), объединяют с тремя другими реакционными смесями такого же объема и сушат в течение ночи в конвекционной печи с получением твердого вещества белого цвета (3535 г). Твердое вещество перекристаллизируют (3x22 л колбы, обработка ультрафильтрацией смесью вода/этанол 2:1, 14,1 л каждая колба) и сушат при 50°C в конвекционной печи до получения требуемой массы названного соединения в виде твердого вещества практически белого цвета (3290 г, 78%). ЖХМС для $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{BrFN}_7\text{O}_4\text{S}$ (M+H) $^+$: соотношение массы к заряду = 437,9, 439,9. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 11,51 (с, 1H), 8,90 (с, 1H), 7,17 (т, $J=8,8$ Гц, 1H), 7,11 (дд, $J=6,1, 2,7$ Гц, 1H), 6,76 (м, 1H), 6,71 (т, $J=6,0$ Гц, 1H), 6,59 (с, 2H), 6,23 (т, $J=6,1$ Гц, 1H), 3,35 (дд, $J=10,9, 7,0$ Гц, 2H), 3,10 (дд, $J=12,1, 6,2$ Гц, 2H). С помощью рентгеноструктурного кристаллографического анализа определено, что названное

соединение находится в Z-конфигурации (Z-изомер), с учетом двойной связи углерод-азот (C=N) оксимовой функциональной группы.

Метод В:

N-[2-({4-[4-(3-бром-4-фторфенил)-5-оксо-4,5-дигидро-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1,2,5-оксадиазол-3-ил}амино)этил]сульфамид (1500 г) добавляют к ТГФ (6,0 л) и партию охлаждают до 2°C. Трифторуксусную кислоту (0,006 л) добавляют к партии при 2°C с последующим добавлением водного раствора натрия гидроксида (384 г твердого вещества NaOH в 4,8 л воды) при 0-2°C. Партию нагревают до приблизительно 16°C и выдерживают в течение 5 час. После завершения реакции, что проверяется с помощью ВЭЖХ, добавляют концентрированную хлористоводородную кислоту (0,7 л) до доведения pH партии до 3-4. Около 4 л растворителя удаляют из партии дистилляцией при сниженном давлении. Партию добавляют к этилацетату (18,0 л) и двухфазную смесь перемешивают в течение 15 мин. Органическую фракцию последовательно промывают водой (6,0 л) и раствором соли (6,0 л). Органический раствор сушат над безводным магния сульфатом. Магния сульфат фильтруют и фильтрат выпаривают до сухого состояния при сниженном давлении. К полученному твердому веществу добавляют МТВЭ (3,0 л) и суспензию перемешивают в течение 15 мин. Твердое вещество продукта отделяют фильтрацией. Остаток на фильтре промывают последовательно МТВЭ (1,2 л) и гептаном (1,2 л). Твердое вещество сушат на фильтровальной лейке под вакуумом с получением 1416 г (87,9%) продукта. Продукт (2440г, полученный в виде двух партий) дополнительно очищают повторным суспендированием в МТВЭ (9,6 л) при 17°C, выдерживая при этой температуре в течение 2 час. Партию охлаждают до 6° С, выдерживая при этой температуре в течение 30 мин. Твердое вещество продукта собирают фильтрацией и влажный остаток на фильтре последовательно промывают МТВЭ (3,6 л) и гептаном (1,2 л). Продукт сушат в вакуумной печи при 20°C с получением 1962 г названного соединения, с выходом 81,7%. Данные ЖХ-МС, ¹H и ¹³C ЯМР и ВЭЖХ для данной партии идентичны данным продукта,

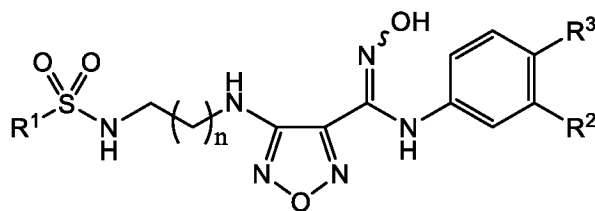
полученного Способом А.

Пример 24

Данные Соединений

Некоторые физические характеристики и данные биологической активности для соединений из Примеров 1-19 представлены в таблице 2 ниже. Данные IC₅₀ получены в результате анализа, описанного в Примере А.

Таблица 2



Пример №	R ¹	R ²	R ³	n	IDO IC ₅₀ (нМ)	МС [M+H]
1	NH ₂	Br	F	1	<200	437,9, 439,9
2	Me	Br	F	1	<200	437,0, 439,0
3	NH ₂	Br	F	2	<100	451,8, 453,9
4	Me	Br	F	2	<100	451,0, 453,0
5	NH ₂	Cl	F	1	<200	394,0
6	Me	Cl	F	1	<200	393,0
7	NH ₂	Cl	F	2	<200	408,1
8	Me	Cl	F	2	<200	407,1
9	NH ₂	CF ₃	F	1	<100	428,0
10	Me	CF ₃	F	1	<100	427,0
11	NH ₂	CF ₃	F	2	<100	442,0
12	Me	CF ₃	F	2	<100	441,1
13	NH ₂	CF ₃	H	1	<500	410,0
14	Me	CF ₃	H	1	<200	409,1
15	NH ₂	CF ₃	H	2	<200	424,0
16	Me	CF ₃	H	2	<200	423,1
17	Me	CH ₃	F	1	<500	373,1

18	NH ₂	CN	F	1	<750	385,0
19	Me	CN	F	1	<500	406,0*

* [M+Na]

Пример 25

Данные Соединений

Данные IDO IC₅₀ (см. Пример А) для соединений из Примеров 20 и 21 представлены в таблице 3 ниже.

Таблица 3

Пример №	IDO IC ₅₀ (нМ)
20	<500
21	<750

Пример 26

Данные ЯМР

Данные ¹H ЯМР (спектрометр Varian Inova 500, спектрометр Mercury 400 или спектрометр Varian (или Mercury) 300) для соединений из Примеров 1-21 представлены в табл. 4 ниже.

Таблица 4

Пример №	Растворитель	МГц	Спектры ¹ H ЯМР
1	DMCO-d ₆	400	δ 11,5 (с, 1H), 8,89 (с, 1H), 7,17 (дд, J=8,8, 8,6 Гц, 1H), 7,09 (дд, J=6,1, 2,7 Гц, 1H), 6,76-6,72 (м, 1H), 6,56 (дд, J=6,1, 6,1 Гц, 1H), 6,51 (с, 2 H), 6,17 (дд, J=5,9, 5,9 Гц, 1H), 3,27-3,21 (м, 2H), 2,94-2,88 (м, 2H), 1,78-1,71 (м, 2H)
2	DMCO-d ₆	400	δ 11,49 (с, 1H), 8,90 (с, 1H), 7,17 (м, 2H), 7,09 (дд, J=6,3, 2,5 Гц, 1H), 6,26 (т, J=6,1 Гц, 1H), 3,33 (м, 2H), 3,13 (к, J=6,0 Гц, 2H), 2,89 (с, 3H)
3	DMCO-d ₆	400	δ 11,5 (с, 1H), 8,89 (с, 1H), 7,17 (дд, J=8,8, 8,6 Гц, 1H), 7,09 (дд, J=6,1, 2,7 Гц, 1H), 6,76-6,72 (м, 1H), 6,56 (дд, J=6,1, 6,1 Гц, 1H), 6,51 (с, 2H), 6,17 (дд, J=5,9, 5,9 Гц, 1H), 3,27-3,21 (м, 2 H), 2,94-2,88 (м, 2 H), 1,78-1,71 (м, 2 H)

4	CD ₃ OD	400	δ 7,12 (дд, $J=5,9, 2,4$ Гц, 1H), 7,05 (т, $J=8,7$ Гц, 1H), 6,83 (м, 1H), 3,39 (т, $J=6,8$ Гц, 2H), 3,14 (т, $J=6,6$ Гц, 2H), 2,94 (с, 3H), 1,87 (м, 2H)
5	DMCO- d_6	400	δ 7,96 (дд, $J=6,8, 2,1$ Гц, 0,05 H), 7,32-7,29 (м, 0, 1H), 7,18 (дд, $J=9,1, 9,1$ Гц, 0,95H), 6,93 (дд, $J=6,4, 2,7$ Гц, 0,95H), 6,71-6,66 (м, 0,95H), 6,33 (ш с, 1H), 3,35-3,27 (м, 2H), 3,10-3,06 (м, 2H)
6	DMCO- d_6	400	δ 11,50 (с, 1H), 8,91 (с, 1H), 7,19 (м, 2H), 6,96 (дд, $J=6,7, 2,5$ Гц, 1H), 6,71 (м, 1H), 6,26 (т, $J=6,4$ Гц, 1H), 3,32 (м, 2H), 3,13 (к, $J=5,8$ Гц, 2H), 2,89 (с, 3H)
7	DMCO- d_6	400	δ 8,90 (с, 1H), 7,20 (дд, $J=9,2, 9,0$ Гц, 1H), 6,96 (дд, $J=6,4, 2,7$ Гц, 1H), 6,72-6,69 (м, 1H), 6,55 (т, $J=6,0$ Гц, 1H), 6,51 (с, 2 H), 6,16 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 3,28-3,21 (м, 2 H), 2,93-2,87 (м, 2 H), 1,76-1,72 (м, 2 H)
8	CD ₃ OD	300	δ 7,06 (т, $J=8,9$ Гц, 1H), 6,98 (м, 1H), 6,80 (м, 1H), 3,73 (м, 2H), 3,28 (м, 2H), 2,94 (с, 3H), 1,28 (м, 2H)
9	DMCO- d_6	400	δ 11,60 (с, 1H), 9,06 (с, 1H), 7,30 (т, $J=10,1$ Гц, 1H), 7,14 (дд, $J=6,1, 2,7$ Гц, 1H), 7,03 (м, 1H), 6,71 (т, $J=5,3$ Гц, 1H), 6,58 (с, 2H), 6,23 (т, $J=6,2$ Гц, 1H), 3,36 (к, $J=6,5$ Гц, 2H), 3,08 (м, 2H)
10	DMCO- d_6	400	δ 11,60 (с, 1H), 9,07 (с, 1H), 7,30 (т, $J=10,1$ Гц, 1H), 7,18 (т, $J=6,0$ Гц, 1H), 7,13 (дд, $J=6,0, 2,7$ Гц, 1H), 7,03 (м, 1H), 6,27 (т, $J=6,3$ Гц, 1H), 3,32 (м, 2H), 3,13 (к, $J=6,0$ Гц, 2H), 2,89 (с, 3H)
11	DMCO- d_6	300	δ 11,6 (с, 1H), 9,08 (с, 1H), 7,31 (дд, $J=10,0, 9,4$ Гц, 1H), 7,13 (дд, $J=6,4, 2,9$ Гц, 1H), 7,05-6,99 (м, 1H), 6,58 (т, $J=6,0$ Гц, 1H), 6,52 (с, 2 H), 6,17 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 3,28-3,21 (м, 2H), 2,94-2,87 (м, 2H),

			1,79-1,72 (м, 2H)
12	DMCO- d_6	400	δ 11,6 (с, 1H), 9,07 (с, 1H), 7,30 (дд, $J=10,0$, 9,6 Гц, 1H), 7,13 (дд, $J=6,2$, 2,5 Гц, 1H), 7,05-7,02 (м, 2H), 6,19 (т, $J=5,8$ Гц, 1H), 3,27-3,21 (м, 2H), 2,99-2,94 (м, 2H), 2,87 (с, 3H), 1,76-1,72 (м, 2H)
13	CD ₃ OD	400	δ 7,36 (т, $J=7,8$ Гц, 1H), 7,23 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 7,10 (с, 1H), 7,03 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 3,48 (м, 2H), 3,29 (м, 2H)
14	DMCO- d_6	500	δ 11,63 (с, 1H), 9,08 (с, 1H), 7,39 (т, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,21 (м, 2H), 7,10 (с, 1H), 6,99 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 6,28 (т, $J=5,4$ Гц, 1H), 3,36 (к, $J=5,8$ Гц, 2H), 3,17 (к, $J=5,8$ Гц, 2H), 2,91 (с, 3H)
15	DMCO- d_6	400	δ 11,6 (с, 1H), 9,12 (с, 1H), 7,37 (дд, $J=8,0$, 8,0 Гц, 1H), 7,21-7,18 (м, 1H), 7,07 (с, 1H), 6,95 (д, $J=10,0$ Гц, 1H), 6,52 (ш с, 3 H), 6,17 (т, $J=6,0$ Гц, 1H), 3,28-3,22 (м, 2 H), 2,93-2,89 (м, 2 H), 1,77-1,73 (м, 2H)
16	DMCO- d_6	400	δ 11,6 (с, 1H), 9,11 (с, 1H), 7,37 (дд, $J=8,0$, 8,0 Гц, 1H), 7,20 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 7,07-7,01 (м, 2 H), 6,96 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 6,20 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 3,27-3,22 (м, 2 H), 2,99-2,94 (м, 2H), 2,87 (с, 3 H), 1,78-1,71 (м, 2H)
17	DMCO- d_6	400	δ 11,25 (с, 1H), 8,61 (с, 1H), 7,18 (м, 1H), 6,91 (м, 1H), 6,72 (м, 1H), 6,58 (м, 1H), 6,24 (с, 2H), 3,32 (м, 2H), 3,11 (м, 2H), 2,89 (с, 3H), 2,05 (с, 3H).
18	DMCO- d_6	400	δ 11,65 (с, 1H), 9,08 (с, 1H), 7,34 (т, $J=9,1$ Гц, 1H), 7,22 (дд, $J=5,4$, 2,8 Гц, 1H), 7,13 (м, 1H), 6,70 (т, $J=5,9$ Гц, 1H), 6,59 (с, 2H), 6,20 (т, $J=6,1$ Гц, 1H), 3,34 (м, 2H), 3,09 (м, 2H)
19	DMCO- d_6	400	δ 11,65 (с, 1H), 9,08 (с, 1H), 7,35 (м, 1H), 7,18 (м, 3H), 6,56 (м, 1H), 6,23 (м,

			1H), 6,24 (с, 2H), 3,32 (м, 2H), 3,14 (м, 2H), 2,89 (с, 3H).
20	DMCO-d ₆	400	δ 10,87 (с, 1H), 7,75 (с, 1H), 6,83 (т, J=7,3 Гц, 1H), 6,68 (т, J=6,0 Гц, 1H), 6,56 (с, 2H), 6,30 (т, J=6,0 Гц, 1H), 6,23 (с, 1H), 4,56 (д, J=7,0 Гц, 2H), 3,32 (к, J=6,3 Гц, 2H), 3,07 (к, J=6,3 Гц, 2H)
21	DMCO-d ₆	400	δ 10,88 (с, 1H), 7,77 (с, 1H), 6,83 (т, J=6,8 Гц, 1H), 6,68 (т, J=5,9 Гц, 1H), 6,56 (с, 2H), 6,30 (т, J=5,9 Гц, 1H), 6,22 (с, 1H), 4,55 (д, 2H), 3,32 (к, J=6,3 Гц, 2H), 3,06 (к, J=6,3 Гц, 2H)

Пример А: Анализ человеческого фермента индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO)

Человеческую индоламин-2,3-диоксигеназу (IDO) с N-концевой меткой His экспрессируют в *E. coli* и очищают до гомогенного состояния. IDO катализирует окислительное расщепление пиррольного кольца индольного ядра триптофана с образованием N'-формилкинурина. Анализы осуществляют при комнатной температуре, как описано в литературе, с использованием 95 нМ IDO и 2 мМ D-Trp в присутствии 20 мМ аскорбата, 5 мМ метиленового синего и 0,2 мг/мл каталазы в 50 мМ калий-фосфатном буфере (pH 6,5). Начальные скорости реакции регистрируют, непрерывно измеряя рост оптической плотности на длине волны 321 нм за счет образования N'-формилкинурина (см.: Sono, M., et al., 1980, *J. Biol. Chem.* 255, 1339-1345).

Пример Б: Определение ингибирующей активности в клеточном анализе индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO)/кинурина с использованием клеток HeLa

Клетки HeLa (#CCL-2) были получены от Американской Коллекции типичных культур ткани (ATCC, Manassas, VA), их шаблонно содержат в минимальной эссенциальной среде (Игла), содержащей 2 мМ L-глутамин, и осуществляют коррекцию сбалансированного солевого раствора Эрла до концентрации 1,5 г/л натрия бикарбоната, 0,1 мМ заменимых аминокислот, 1 мМ натрия пирувата и 10% сыворотки телячьего эмбриона (все от

Invitrogen). Клетки содержат при температуре 37°C в увлажненном инкубаторе, содержащем 5% CO₂. Анализ осуществляют, как указано ниже. Клетки HeLa высевают на 96-луночные планшеты для культивирования с плотностью 5x10³/лунку и культивируют на протяжении ночи. На следующий день IFN-γ (конечная концентрация 50 нг/мл) и серийные разведения соединений (в общем объеме 200 мл питательной среды) добавляют к клеткам. Через 48 часов инкубации, 140 мл супернатанта из каждой лунки переносят на новые 96-луночные планшеты. 10 мл 6,1 н раствора трихлоруксусной кислоты (#T0699, Sigma) смешивают с содержимым каждой лунки и инкубируют при 50°C на протяжении 30 мин для гидролиза N-формилкинуренина, образованного под действием индоламин-2,3-диоксигеназы, до кинуренина. Реакционную смесь далее центрифугируют на протяжении 10 минут при 2500 об/мин для удаления осадка. 100 мл супернатанта из каждой лунки переносят на другие 96-луночные планшеты и смешивают с 100 мл 2% (масс/об) л-диметиламинобензальдегида (#15647-7, Sigma-Aldrich) в уксусной кислоте. Оптическую плотность в результате желтого цвета кинуренина измеряют на длине волны 480 нм с использованием устройства для считывания микропланшетов SPECTRAmax 250 (Molecular Devices). L-Кинуренин (#K8625, Sigma) используют как стандартный образец. Стандартные растворы (240; 120; 60; 30; 15; 7,5; 3,75; 1,87 мМ) готовят в 100 мл питательной среды и смешивают с равным объемом 2% (масс/об) л-диметиламинобензальдегида. Определяют процент ингибирования для отдельных концентраций, и вычисляют средние значения для двойных повторений. Данные были проанализированы с применением нелинейной регрессии для получения значений IC₅₀ (Prism Graphpad). См.: Takikawa O, et al., 1988, *J. Biol. Chem.*, 263(4): 2041-8.

Пример В: Определение влияния ингибиторов IDO на пролиферацию Т-клеток, подавляемую дендритными клетками, экспрессирующими IDO

Моноциты получают лейкоферезом из моноядерных клеток периферической крови человека. Далее моноциты высевают с

плотностью 1×10^6 клеток/лунку в 96-луночные планшете, используя среду RPMI 1640 с добавлением 10% сыворотки телячьего эмбриона и 2 mM L-глутамин (все от Invitrogen). Прикрепленные клетки содержат на планшете после культивирования в течение ночи при температуре 37°C. Прикрепленные моноциты далее стимулируют на протяжении 5–7 дней с помощью 100 нг/мл GM-CSF (# 300-03, PeproTech) и 250 нг/мл IL-4 (#200-04, PeproTech), с последующей активацией 5 мкг/мл липополисахарида *Salmonella typhimurium* (#437650, Sigma) и 50 нг/мл IFN- γ (# 285-IF, R&D Systems) на протяжении дополнительных 2 дней для индукции созревания дендритных клеток.

После активации дендритных клеток, среду заменяют на полную среду RPMI 1640 с добавлением 100–200 Ед IL-2 (#CUT-209, ProSpec-Tany TechnoGene) и 100 нг/мл анти-CD3 антитела (#555336, PharMingen), Т-клеток ($2-3 \times 10^5$ клеток/лунку) и серийных разведений соединений IDO. После инкубации еще на протяжении 2 дней пролиферацию Т-клеток измеряют анализом инкорпорации BrdU с помощью колориметрического набора ELISA для определения пролиферации клеток в соответствии с инструкцией производителя (#1647229, Roche Molecular Biochemicals). Клетки непрерывно культивируют на протяжении 16–18 час в присутствии 10 mM раствора метки BrdU. Далее, среду с меткой удаляют, 200 мл FixDenat/лунку добавляют к клеткам и инкубируют на протяжении 30 мин при комнатной температуре. Раствор FixDenat удаляют, и добавляют 100 мл/лунку рабочего раствора конъюгата анти-BRDU антитела/POD. Реакцию осуществляют на протяжении 90 мин при комнатной температуре. Конъюгированное антитело далее удаляют, и клетки трижды споласкивают 200 мл/лунку раствора для промывания. В конце добавляют 100 мл/лунку раствора субстрата, и результаты считывают с помощью прибора для считывания микропланшетов (Spectra Max PLUS, Molecular Devices) в ходе развития окрашивания. Множественные значения в разных точках времени получают для гарантии того, что данные находятся в пределах линейного интервала. Данные были шаблонно получены в результате повторяемых экспериментов, и были включены

соответствующие средства контроля. См.: Terness P, et al. 2002, *J. Exp. Med.*, 196(4): 447-57; и Hwu, P, et al. 2000, *J. Immunol.*, 164(7): 3596-9.

Пример Г: Тестирование *in vivo* ингибиторов IDO на предмет противоопухолевой активности

Противоопухолевая эффективность *in vivo* может быть проверена с применением модифицированных протоколов аллотрансплантата/ксенотрансплантата опухоли. Например, в литературе описано, что эффект ингибирования IDO может быть синергетическим с цитотоксической химиотерапией у иммунокомпетентных мышей (Muller, A.J., et al. 2005, *Nat. Med.* 11:312-319). Было показано, что такой синергизм зависит от Т-клеток, путем сравнения синергетического действия исследуемого ингибитора IDO на мышинных моделях ксенотрансплантата опухолей (например, B16 и родственные варианты, CT-26, LLC), выращенных в организме сингенных иммунокомпетентных мышей, с действием, наблюдающимся у сингенных мышей, которых лечат нейтрализующими анти-CD4 антителами, или таких же опухолей, выращенных у иммуноскомпрометированных мышей (например, nu/nu).

Концепция дифференциального противоопухолевого действия у иммунокомпетентных против иммуноскомпрометированных мышей также может позволять проверку исследуемых ингибиторов IDO как монотерапии. Например, опухоли LLC хорошо растут у сингенной породы хозяев, C57Bl/6. Однако, если таких мышей лечат ингибитором IDO 1-MT (по сравнению с плацебо), образование опухолей заметно замедляется, показывая, что ингибирование IDO задерживает рост (Friberg, M., et al. 2002, *Int. J. Cancer* 101:151-155). Следуя данной логике, можно исследовать эффективность ингибирования IDO на модели ксенотрансплантата опухоли LLC, выращенной у иммунокомпетентных мышей C57Bl/6, и сравнивать с влиянием ингибиторов IDO на рост опухоли LLC у голых или SCID мышей (или мышей C57Bl/6, которые получают антитела, нейтрализующие активность Т-клеток). Поскольку эффект уменьшения опосредствованной опухолью иммуносупрессорной активности IDO, вероятно, будет различаться в зависимости от иммуногенного потенциала разных моделей опухоли, генетические

модификации могут быть осуществлены в клетках опухоли, чтобы увеличить их иммуногенный потенциал. Например, экспрессия GM-CSF в клетках B16.F10 увеличивает их иммуногенный потенциал (Dranoff, G., et al. 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 90:3539-3543). Таким образом, в некоторых моделях опухолей (например, B16.F10) можно генерировать [поли]клоны, которые экспрессируют иммуностимулирующие белки, такие как GM-CSF, и проверять тормозящее рост влияние ингибиторов IDO против опухолей, образованных из таких опухолевых клеток как у иммунокомпетентных, так и иммуносупрессивных мышей.

Третья магистраль для оценки эффективности ингибиторов IDO *in vivo* заключается в использовании «доиммунизационных» мышинных моделей аллотрансплантата опухоли. В таких моделях иммунокомпетентных мышей сенсibiliзируют к специфическому антигену или антигенам опухоли, чтобы имитировать терапевтическую противоопухолевую вакцинацию. Это обуславливает опосредствованную иммунной системой противоопухолевую реакцию у мышей при последующей нагрузке линиями клеток мышинных опухолей (содержащих опухолевые антигены, сходные с примененными для иммунизации) в экспериментах с использованием ксенотрансплантатов. Показано, что экспрессия IDO подавляет противоопухолевую реакцию и позволяет ксенотрансплантатам расти быстрее. Важно, что рост опухолей в данной модели тормозится ингибитором IDO 1-MT (Uyttenhove, C., et al. 2003, *Nat. Med.* 9:1269-1274). Данная модель является особенно привлекательной, поскольку активность IDO позволяет рост опухоли P815, и, таким образом, специфическое ингибирование IDO должно тормозить рост.

Наконец, терапевтическая иммунизация может быть использована для оценки влияния ингибиторов IDO *in vivo*. Например, это продемонстрировано с использованием клеток B16-BL6, при нагрузке мышей Blk/6 внутривенной инъекцией клеток опухоли, с последующим лечением хорошо описанным иммуногенным пептидом (например, TRP-2), который экспрессируется клетками опухоли (Ji, et al., 2005, *J. Immunol.* 175: 1456-63). Важно, что модификаторы иммунной системы, такие как анти-CTL-4 антитело, могут улучшать реакцию на такую терапевтическую

иммунизацию. Влияние ингибиторов IDO может быть оценено подобным образом — иммунизацией опухолевым пептидом с или без ингибитора IDO. Эффективность оценивают по продолжительности жизни животных (период до возникновения заболевания) или по измерению метастазов опухоли в легких и/или других органах в определенной точке времени.

В любой/всех из вышеупомянутых моделей также может быть возможным непосредственное и/или не прямое измерение количества и/или активности реагирующих на опухоль иммунных клеток. Способы измерения количества и/или активности реагирующих на опухоль иммунных клеток хорошо описаны и могут выполняться с применением способов, известных специалистам в данной области (Current Protocols in Immunology, Vol. 4, Coligan, J. E., et al.; Immunotherapy of Cancer, Human Press, 2006, Disis, M.L. и процитированные в ней ссылки). Концептуально, уменьшение иммуносупрессорного влияния IDO может приводить к увеличению количества или реакционной способности специфических по отношению к опухоли иммунных клеток. Кроме того, ингибирование IDO может дополнительно увеличивать количество или реакционную способность реагирующих на опухоль иммунных клеток при сочетании с другим видом лечения, например химиотерапевтическими средствами и/или иммуномодуляторами (например, анти-CTLA4 антитело).

Все эксперименты с применением аллотрансплантатов могут выполняться с применением стандартных методов работы с опухолями (рассмотрены в Corbett, et al., In Cancer Drug Discovery and Development: Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval, 2nd Ed. Teicher, B.A. and Andrews, P.A., Humana Press Inc.: Totowa, NJ, 2004). Клонирование и введение генов (например, IDO, GM-CSF) в линии опухолевых клеток может быть осуществлено с применением способов, известных специалистам в данной области (рассмотрены в Sambrook, J. and Russell, D., Molecular Cloning: A laboratory Manual (3rd edition), Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, NY, 2001).

Пример Д: Проверка *in vivo* ингибиторов IDO на модели энцефалита, вызванного вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-1)

1. Выделение клеток и инфицирование вирусом

Моноциты и лейкоциты периферической крови могут быть получены центробежным сцеживанием пакетов для лейкофереза, полученных от серонегативных относительно ВИЧ-1, ВИЧ-2 и гепатита В доноров. Моноциты культивируют в суспензионной культуре с использованием колб Teflon в модифицированной Дульбекко среде Игла (МДСИ, Sigma-Aldrich) с добавлением 10% пула человеческой сыворотки, инактивированной нагреванием, 1% глутамина, 50 мг/мл гентамицина, 10 мг/мл ципрофлоксацина (Sigma) и 1000 Ед рекомбинантного человеческого колониестимулирующего макрофагального фактора с высокой степенью чистоты. Через 7 дней культивирования, MDM инфицируют ВИЧ-1_{ADA} с кратностью инфекции 0,01.

2. Мыши *Hu-PBL-NOD/SCID HIVE*

Мыши-самцы NOD/C.B-17 SCID возрастом 4 недели могут быть приобретены (Jackson Laboratory). Животных содержат в стерильных клетках микроизолятора в свободных от патогенов условиях. Всем животным вводят инъекционным способом интраперитонеально крысиные анти-CD122 (0,25 мг/мышь) за 3 дня перед пересадкой PBL, и дважды вводят кроличьи асиало-GM1 антитела (0,2 мг/мышь) (Wako) за 1 день перед и через 3 дня после инъекции PBL (20×10^6 клеток/мышь). Инфицированные ВИЧ-1_{ADA} MDM (3×10^5 клеток в 10 мл) вводят инъекционным способом интракраниально через 8 дней после восстановления PBL, что дает мышей *hu-PBL-NOD/SCID HIVE*. Немедленно после интракраниальной инъекции инфицированные ВИЧ-1 MDM имплантируют мышам *hu-PBL-NOD/SCID HIVE* подкожно с контролем (растворитель) или гранулами соединения (замедленное высвобождение на протяжении 14 или 28 дней, Innovative Research). Начальные эксперименты разработаны таким образом, чтобы подтвердить индукцию специфического для вируса CTL у животных *hu PBL-NOD/SCID HIVE*, которых лечат соединениями IDO. Это подтверждают окрашиванием тетрамера и нейropатологическими анализами элиминации MDM из ткани мозга. Далее эксперимент разработан таким образом, чтобы проанализировать восстановление лимфоцитов человека,

гуморальные иммунные реакции и невропатологические изменения. В этих экспериментах у животных берут образцы крови на 7-й день и забивают на 14-й и 21-й дни после интракраниальной инъекции MDM человека. Кровь собирают в пробирки, содержащие ЭДТА и используют для проточной цитометрии, а плазму используют для выявления ВИЧ-1 p24 с помощью ELISA (Beckman Coulter™). Специфические антитела против ВИЧ-1 найдены методом Вестерн-блоттинга согласно инструкциям производителя (набор Western blot HIV-1 Cambridge Biotech, Calypte Biomedical). Подобное количество специфических антител против вируса найдено у контрольных и леченых соединением животных. Всего три независимых эксперимента могут быть выполнены с применением трех разных доноров человеческих лейкоцитов.

*3. FACSscan периферической крови и селезенки мышей *hu PBL-NOD/SCID HIVE**

Двухцветный анализ FACS может выполняться на периферической крови на неделях 1-3 и на спленоцитах на неделях 2 и 3 после интракраниальной инъекции человеческих MDM. Клетки инкубируют с конъюгированными с флуорохромом моноклональными антителами (mAb) против человеческих CD4, CD8, CD56, CD3, IFN-γ (eBioscience) на протяжении 30 мин при температуре 4°C. Для оценки клеточной иммунной реакции, внутриклеточное окрашивание IFN-γ осуществляют в комбинации с анти-человеческим CD8 и конъюгированным с FITC анти-мышинным CD45, чтобы исключить мышинные клетки. Для определения Ag-специфического CTL, окрашивание конъюгированного с аллофикоцианином тетрамера для ВИЧ-1GAG (p17 (aa77-85) SLYNTVATL, SL-9) и ВИЧ-1POL [(aa476-485) ILKEPVHGV, IL-9] выполняется на стимулированных фитогемагглютинином/интерлейкином-2 (PHA/IL-2) спленоцитах. Клетки окрашивают в соответствии с рекомендацией NIH/National Institute of Allergy and Infections Disease, National Tetramer Core Facilities. Данные проанализированные с помощью FACS Calibur™ с применением программного обеспечения CellQuest (система иммуноцитометрии Becton Dickinson).

4. Гистопатологические анализы и анализы изображений

Ткань мозга собирают через 14 и 21 день после интракраниальной инъекции MDM, фиксируют в 4% буферизованном фосфатом растворе параформальдегиде и монтируют в парафине или замораживают при -80°C для более позднего использования. Коронарные секции монтируемых блоков вырезают для идентификации места инъекции. Для каждой мыши, 30–100 (толщина 5 мкм) серийных секций вырезают из места инъекции человеческих MDM, и 3–7 срезов (с промежутком 10 секций) анализируют. Секции мозга депарафинизируют с помощью ксилена и гидратируют в градиентах спиртов. Иммуногистохимическое окрашивание выполняют в соответствии с основным непрямым протоколом, применяя демаскирование антигена нагреванием до 95°C в 0,01 моль/л цитратном буфере на протяжении 30 мин для демаскирования антигена. Для идентификации человеческих клеток в мозге мыши, применяют mAb против виментина (1:50, клон 3B4, Dako Corporation), которые позволяют идентифицировать все человеческие лейкоциты. Человеческие лимфоциты MDM и CD8+ обнаруживают с помощью антител против CD68 (разведение 1:50, клон KP 1) и CD8 (разведение 1:50, клон 144B), соответственно. Инфицированные вирусом клетки метят mAb против ВИЧ-1 p24 (1:10, клон Kal-1, все от Dako). Реакционноспособные мышинные клетки микроглии обнаруживают с помощью антитела Iba-1 (1:500, Wako). Экспрессию человеческого IDO (huIDO) визуализируют с помощью Ab, полученных из Департамента фармакологии клетки, Центрального исследовательского института Аспирантуры в области медицины, Университета Хокайдо, Саппоро, Япония. Первичные антитела обнаруживают с помощью соответствующих биотинилированных вторичных антител и визуализируют с помощью комплексов авидин-биотин (набор Vectastain Elite ABC, Vector Laboratories) и пероксидазы хрена (HRP), сочетанной с полимером декстрана (EnVision, Dako). Иммуноокрашенные секции противоположно окрашивают гематоксилином Mayer. Секции, из которых первичное антитело удалено или инкорпорирован иррелевантный изотип IgG, служат средствами контроля. Два независимых наблюдателя вслепую пересчитывают количества

лимфоцитов CD8+, CD68+ MDM и клеток p24+ ВИЧ-1 в каждой секции от каждой мыши. Осмотр с помощью светового микроскопа выполняют с использованием микроскопа Nikon Eclipse 800 (Nikon Instruments Inc). Полуколичественный анализ Iba1 (процент области, занятой иммуноокрашиванием) получают путем анализа изображения (Image-Pro® Plus, Media Cybernetics) с помощью компьютера, как описано выше.

5. Статистический анализ

Данные могут быть проанализированы с применением Prism (Graph Pad) с t-тестом Стьюдента для сравнения и ANOVA. Значение $P < 0,05$ считалось значимым.

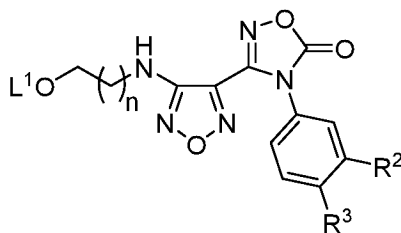
6. Ссылка

Poluektova LY, Munn DH, Persidsky B, 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.

Различные модификации изобретения, в дополнение к описанным в данном описании, будут очевидными для специалистов в данной области на базе вышеизложенного описания. Предусматривается, что такие модификации также находятся в пределах контекста приложенной формулы изобретения. Каждая ссылка, в том числе все патенты, патентные заявки и публикации, процитированные в данной заявке, включены в данное описание путем ссылки во всей их полноте.

ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение Формулы F10:



F10

или его фармацевтически приемлемая соль, где:

L¹ представляет собой алкилсульфонил, галогеналкилсульфонил или арилсульфонил;

R² представляет собой Cl, Br, CF₃, CH₃ или CN;

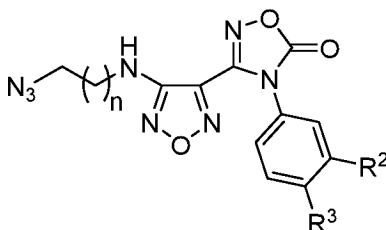
R³ представляет собой H или F; и

n равно 1 или 2.

2. Соединение по п.1, где R² представляет собой Br, R³ представляет собой F и n равно 2.

3. Соединение по п.1, где L¹ представляет собой метансульфонил.

4. Соединение Формулы F11:



F11

или его фармацевтически приемлемая соль, где:

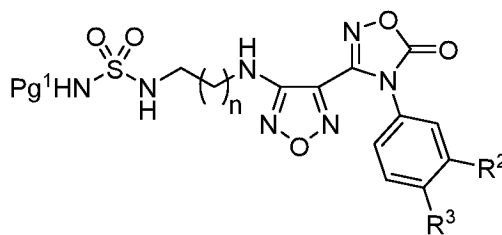
R² представляет собой Cl, Br, CF₃, CH₃ или CN;

R³ представляет собой H или F; и

n равно 1 или 2.

5. Соединение по п.4, где R₂ представляет собой Br, R₃ представляет собой F, и n равно 2.

6. Соединение Формулы F13:



F13

или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Pg¹ представляет собой защитную группу для аминогруппы;

R² представляет собой Cl, Br, CF₃, CH₃ или CN;

R³ представляет собой H или F; и

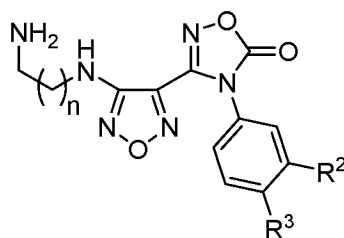
n равно 1 или 2.

7. Соединение по п.6, где R₂ представляет собой Br, R₃ представляет собой F, и n равно 2.

8. Соединение по п.6, где Pg¹ представляет собой алкоксикарбонил.

9. Соединение по п.6, где Pg¹ представляет собой трет-бутоксикарбонил.

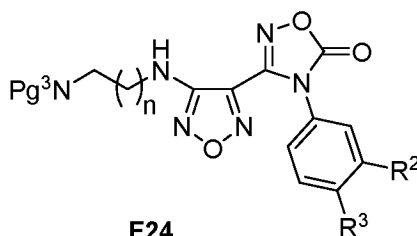
10. Способ получения соединения Формулы F12:



F12

или его соли, где R² представляет собой Cl, Br, CF₃, CH₃, или CN; R³ представляет собой H или F; и n равно 1 или 2,

включающий реакцию соединения Формулы F24:



F24

или его соли, где Pg³N представляет собой защищенный амин;

с агентом для удаления защитной группы с аминогруппы, с получением соединения Формулы F12.

11. Способ по п.10, где защищенный амин представляет собой

$(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C}-\text{NH}$.

12. Способ по п.10, где защищенный амин представляет собой $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C}=\text{N}$.

13. Способ по любому из п.п.10-12, где агент для удаления защитной группы представляет собой органическую кислоту.

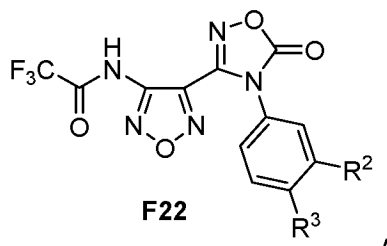
14. Способ по любому из п.п.10-11, где агент для удаления защитной группы содержит органическую кислоту и органическое соединение силана.

15. Способ по п.14, где органическая кислота представляет собой трифторуксусную кислоту, и органическое соединение силана включает триалкилсилан.

16. Способ по п.15, где триалкилсилан представляет собой три (изопропил) силан.

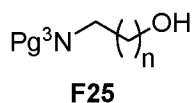
17. Способ по п.13, где органическая кислота представляет собой трифторуксусную кислоту.

18. Способ по п.10, где соединение Формулы F24 получают реакцией соединения Формулы F22:



или его соли,

с соединением Формулы F25:



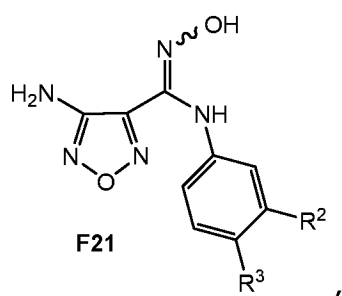
или его соль, где Pg^3N защищенный амин; и реагентом сочетания с получением соединения Формулы F24.

19. Способ по п.18, где защищенный амин представляет собой $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C}-\text{NH}$.

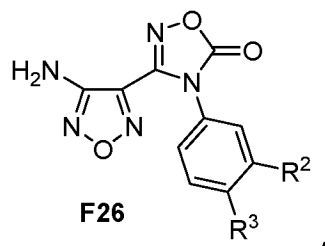
20. Способ по п.18, где защищенный амин представляет собой $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C}=\text{N}$.

21. Способ по п.18, где соединение Формулы F22 получают

а) обработкой соединения Формулы F21:



или его соли, карбонилдидиимдазолом с получением соединения Формулы F26:

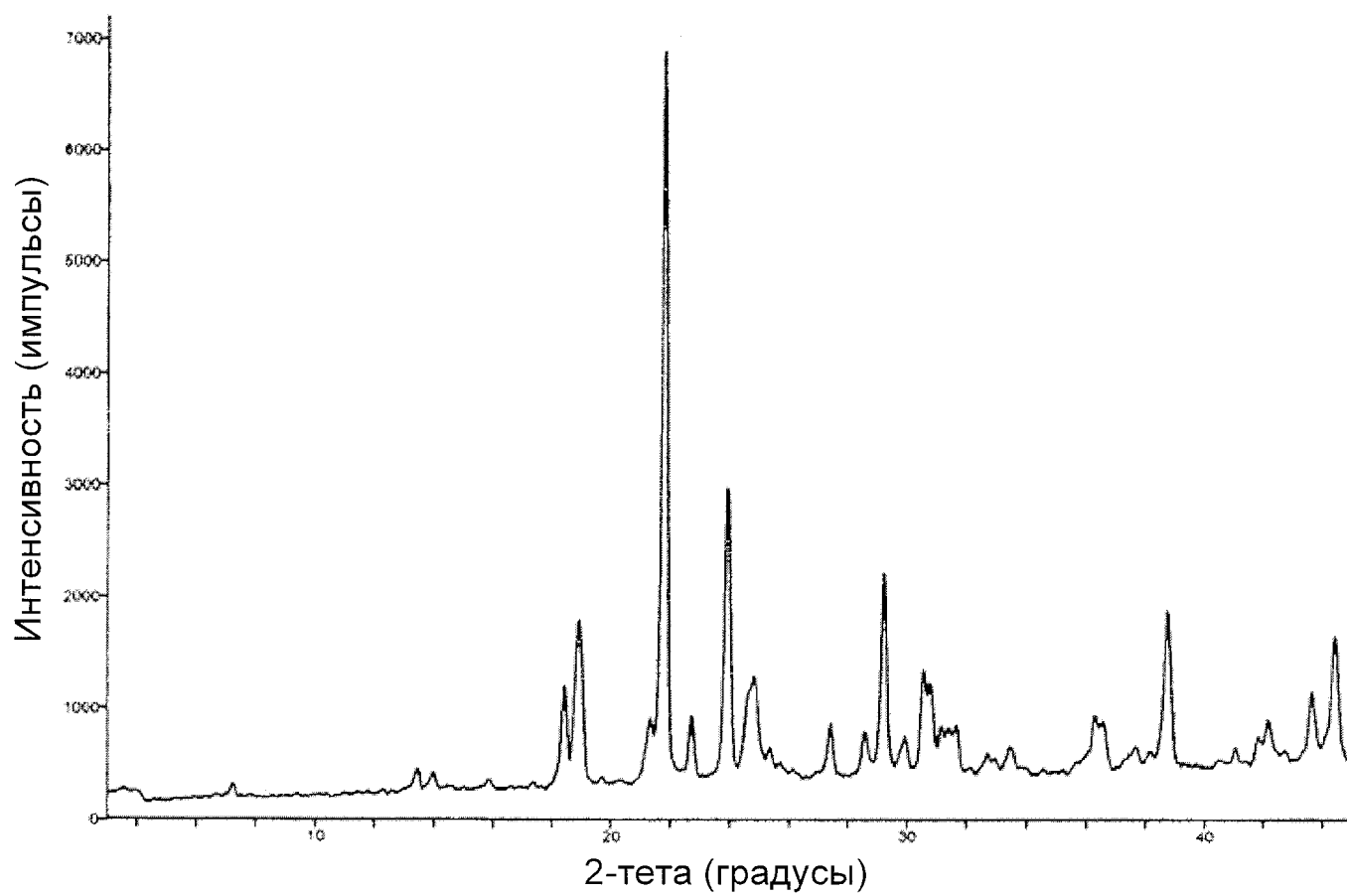


или его соли; и

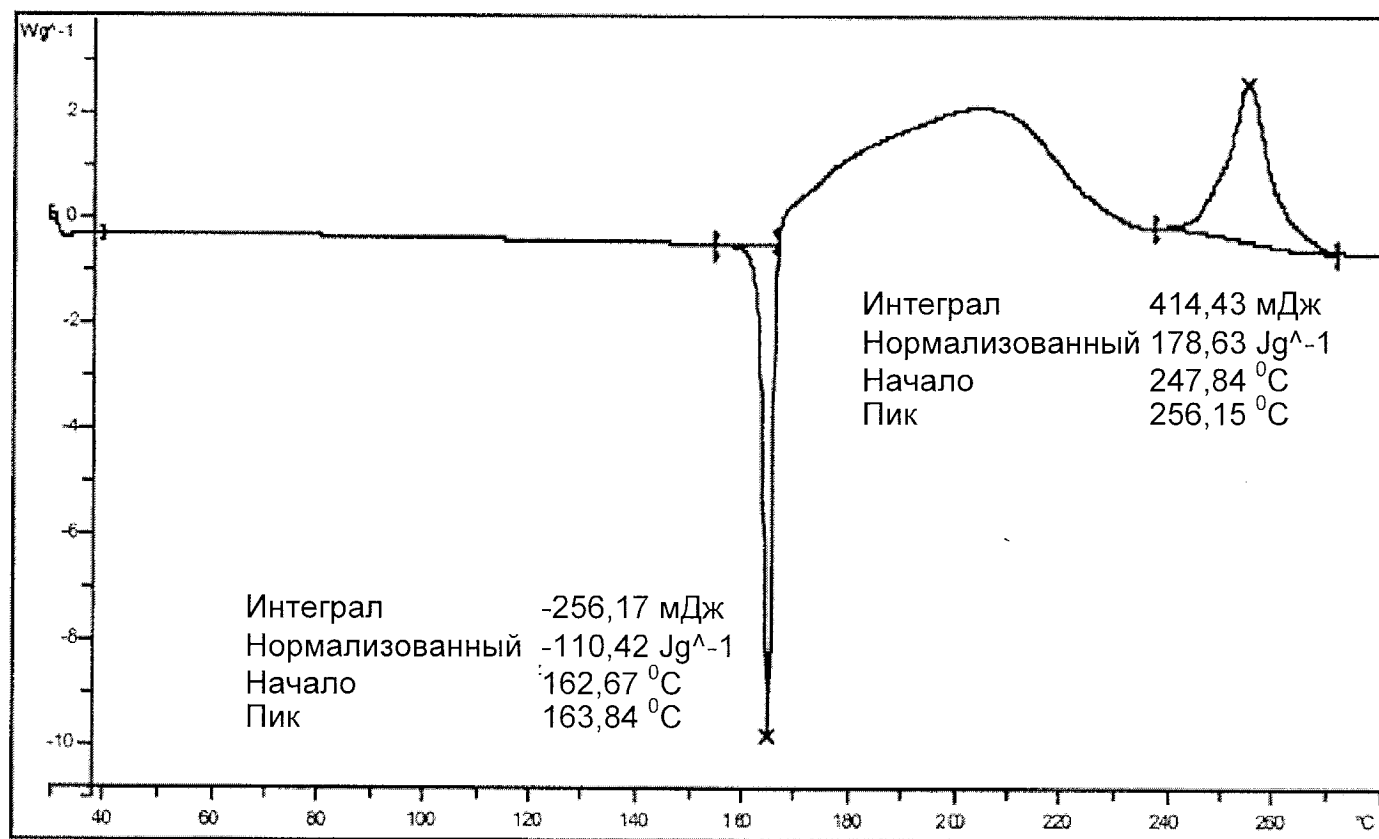
b) обработкой соединения Формулы F26 ангидридом трифторуксусной кислоты, с получением соединения Формулы F22.

По доверенности

ФИГ. 1

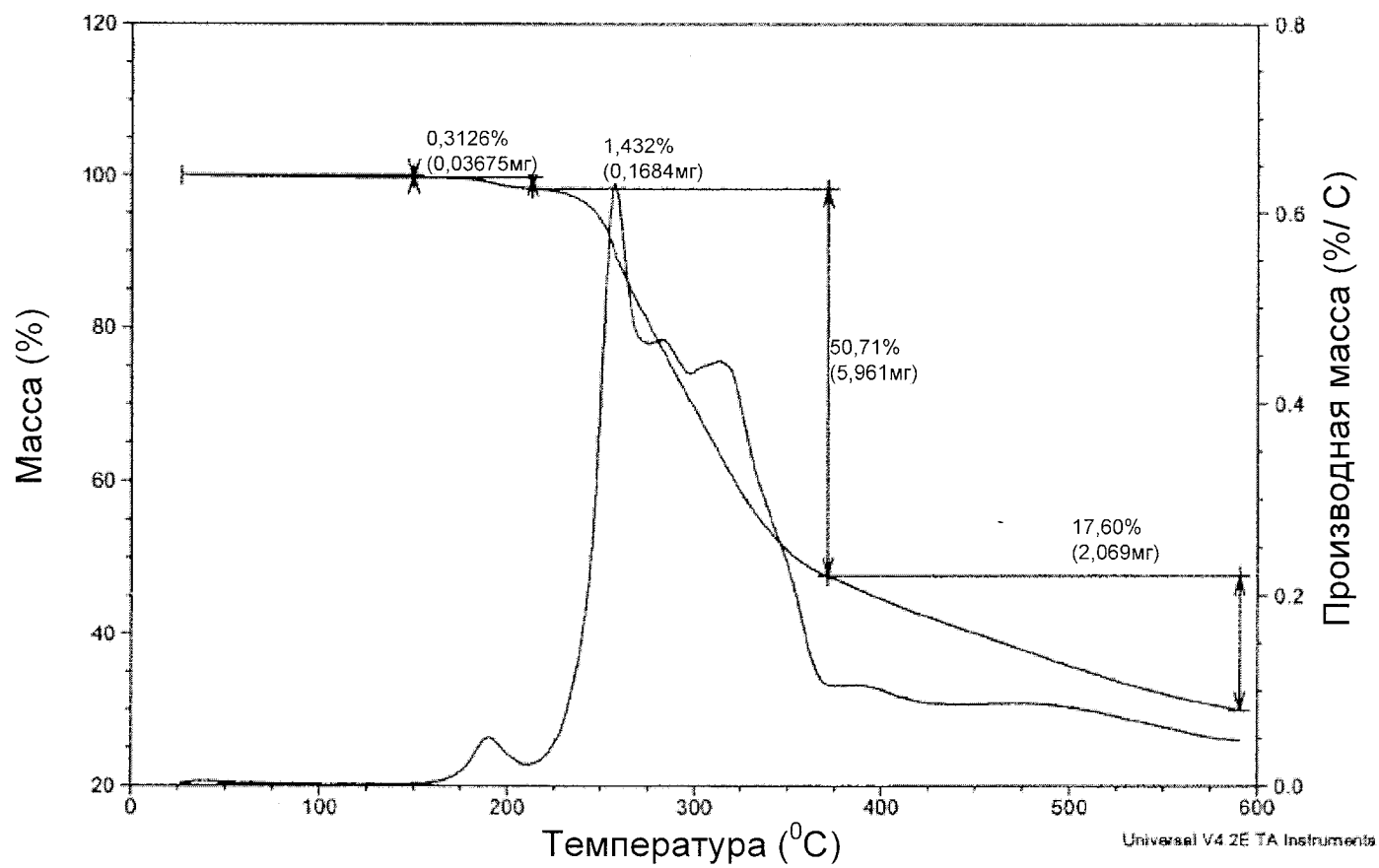


ФИГ. 2



ФИГ. 3

ТГА



ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ
ПОИСКЕ**
(статья 15(3) ЕАПК и правило 42
Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:
201890183

Дата подачи: 07 июля 2009 (07.07.2009) | Дата испрашиваемого приоритета: 08 июля 2008 (08.07.2008)

Название изобретения: 1,2,5-ОКСАДИАЗОЛЫ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ ИНДОЛАМИН-2,3-ДИОКСИГЕНАЗЫ

Заявитель: ИНСАЙТ ХОЛДИНГС КОРПОРЕЙШЕН

☐ Некоторые пункты формулы не подлежат поиску (см. раздел I дополнительного листа)

☐ Единство изобретения не соблюдено (см. раздел II дополнительного листа)

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

МПК: C07D 413/04 (2006.01) СПК: C07D 413/04 (2013-01)
C07D 271/08 (2006.01) C07D 271/08 (2013-01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК) или национальной классификации и МПК

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Минимум просмотренной документации (система классификации и индексы МПК)

C07D 413/04, 271/08

Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в область поиска:

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	WO 2007/075598 A2 (INCYTE CORPORATION) 05.06.2007	1-21
A	US 2006/0258719 A1 (ANDREW P. COMBS и др.) 16.11.2006	1-21

☐ последующие документы указаны в продолжении графы В

☐ данные о патентах-аналогах указаны в приложении

* Особые категории ссылочных документов:

"А" документ, определяющий общий уровень техники

"Е" более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

"О" документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"Р" документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета

"D" документ, приведенный в евразийской заявке

"Т" более поздний документ, опубликованный после даты

приоритета и приведенный для понимания изобретения

"Х" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

"У" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

"&" документ, являющийся патентом-аналогом

"L" документ, приведенный в других целях

Дата действительного завершения патентного поиска: 23 августа 2019 (23.08.2019)

Наименование и адрес Международного поискового органа:

Федеральный институт

промышленной собственности

РФ, 125993, Москва, Г-59, ГСП-3, Бережковская наб., д. 30-1. Факс: (499) 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА

Уполномоченное лицо:



Т. Ф. Владимирова

Телефон № (499) 240-25-91