



(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

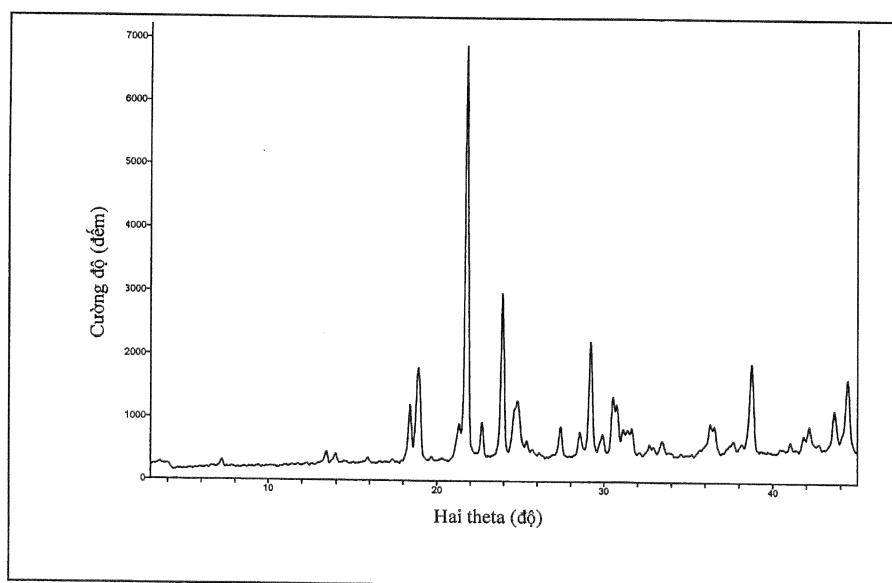
(11) 
1-0019403

(51)⁷ **C07D 271/08, A61K 31/4245, A61P** (13) **B**
1/00, 11/00, 17/00, 19/00, 25/00, 27/00,
29/00, 31/00, 35/00, 37/00, 43/00

-
- (21) 1-2011-00299 (22) 07.07.2009
(86) PCT/US2009/049794 07.07.2009 (87) WO2010/005958 14.01.2010
(30) 61/078,876 08.07.2008 US
61/150,873 09.02.2009 US
(45) 25.07.2018 364 (43) 25.08.2011 281
(73) INCYTE HOLDINGS CORPORATION (US)
1801 Augustine Cut-Off, Wilmington, DE 19803, United States of America
(72) COMBS, Andrew, P. (US), YUE, Eddy, W. (US), SPARKS, Richard, B. (US), ZHU,
Wenyu (CN), ZHOU, Jiacheng (US), LIN, Qiyang (CN), WENG, Linghai (US), YUE,
Tai-Yuen (GB), LIU, Pingli (CN)
(74) Công ty TNHH Tâm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
-

(54) **HỢP CHẤT 1,2,5-OXADIAZOL CÓ TÁC DỤNG LÀM CHẤT ỨC CHẾ INDOLAMIN 2,3-DIOXYGENAZA, HỢP CHẤT NÀY Ở DẠNG RẮN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY**

(57) **Sáng chế đề cập đến hợp chất 1,2,5-oxadiazol và dược phẩm chứa chúng. Các hợp chất này là các chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza và hữu dụng trong việc điều trị bệnh ung thư và các rối loạn khác. Ngoài ra sáng chế còn đề cập đến các quy trình và các chất trung gian để điều chế các hợp chất 1,2,5-oxadiazol này.**



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất 1,2,5-oxadiazol là chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza và hữu ích để điều trị bệnh ung thư và các rối loạn khác, quy trình và các chất trung gian để điều chế hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Tryptophan (Trp) là axit amin thiết yếu cần cho quá trình sinh tổng hợp protein, niacin và chất dẫn truyền thần kinh 5-hydroxytryptamin (serotonin). Enzym indolamin 2,3-dioxygenaza (còn gọi là INDO hoặc IDO) xúc tác bước thứ nhất và bước giới hạn tốc độ trong quá trình phân hủy L-tryptophan thành N-formyl-kynurenin. Ở tế bào người, việc loại bỏ Trp do hoạt tính của IDO là cơ chế tác động kháng khuẩn do interferon gama trội (prominent gamma interferon-IFN- γ) gây ra. Việc kích thích bằng IFN- γ sẽ gây cảm ứng hoạt hóa IDO, dẫn đến việc loại bỏ Trp, do đó làm ngừng sự phát triển của các mầm bệnh phụ thuộc Trp trong tế bào như *Toxoplasma gondii* và *Chlamydia trachomatis*. Hoạt tính của IDO cũng có tác dụng chống tăng sinh ở nhiều tế bào u và sự kích thích IDO đã được quan sát *in vivo* khi loại bỏ các u dị sinh, điều đó cho thấy vai trò có thể có của enzym này trong quá trình loại bỏ u (Daubener, et al, 1999, Adv. Exp. Med. Biol, 467: 517-24; Taylor, et al, 1991, FASEB J., 5: 2516-22).

Đã quan sát thấy rằng các tế bào HeLa được cùng nuôi cấy với các lympho bào trong máu ngoại vi (peripheral blood lymphocyte-PBL) thu nhận kiểu hình ức chế miễn dịch thông qua việc điều biến tăng hoạt tính IDO. Việc giảm mức độ tăng sinh của PBL khi điều trị bằng interleukin-2 (IL2) được cho là do IDO được giải phóng bởi các tế bào u để đáp ứng với việc tiết ra IFNG của các PBL. Tác dụng này được đảo ngược bởi việc điều trị bằng 1-metyl-tryptophan (1MT), một chất ức chế IDO đặc hiệu. Hoạt tính của IDO ở tế bào u đã được cho là có thể đóng vai trò làm suy giảm các đáp ứng kháng u (Logan, et al, 2002, Immunology, 105: 478-87).

Gần đây, vai trò điều biến miễn dịch của việc loại bỏ Trp đã nhận được nhiều chú ý. Một vài bằng chứng đã gợi ý rằngIDO liên quan đến sự kích thích dung nạp miễn dịch. Các thử nghiệm về thời kỳ thai nghén ở động vật có vú, về tính kháng u, tình trạng lây nhiễm mạn tính và các bệnh tự miễn đã cho thấy rằng các tế bào biểu hiệnIDO có thể ức chế các đáp ứng của tế bào T và thúc đẩy sự dung nạp. Đã quan sát thấy sự dị hóa Trp tăng lên ở các bệnh và các rối loạn liên quan đến sự hoạt hóa miễn dịch tế bào, như bệnh nhiễm khuẩn, u ác tính, bệnh tự miễn và bệnh AIDS, cũng như trong thời kỳ thai nghén. Ví dụ, đã quan sát thấy mức IFN tăng và mức sản phẩm chuyển hóa Trp niệu tăng ở các bệnh tự miễn; việc loại bỏ Trp toàn thân hoặc cục bộ xảy ra ở các bệnh tự miễn được cho là có thể liên quan đến các triệu chứng thoái hóa và suy mòn của các bệnh này. Để củng cố thêm cho giả thuyết này, đã quan sát thấy mứcIDO cao ở các tế bào được phân lập từ hoạt dịch của khớp viêm. Các IFN cũng tăng ở các bệnh nhân mang virus gây suy giảm miễn dịch ở người (human immunodeficiency virus-HIV) và việc tăng mức IFN luôn gắn với tiên lượng bệnh xấu. Do đó,IDO được cho là bị kích thích thường xuyên do nhiễm HIV và tiếp tục tăng do các các bệnh lây nhiễm cơ hội và do việc loại bỏ Trp kéo dài sẽ khởi động các cơ chế gây ra chứng suy mòn, chứng sa sút trí tuệ và bệnh tiêu chảy và có thể ức chế hệ miễn dịch ở bệnh nhân AIDS (Brown, et al. 1991, Adv. Exp. Med. Biol, 294: 425-35). Với mục đích này, gần đây đã chứng minh được rằng việc ức chếIDO có thể làm tăng mức tế bào T đặc hiệu virus và, đồng thời, làm giảm số lượng đại thực bào bị nhiễm virus ở mô hình chuột nhiễm HIV (Portula et al. 2005, Blood, 106: 2382-90).

IDO được cho là có vai trò nhất định trong quá trình ức chế hệ miễn dịch mà có tác dụng ngăn chặn việc đào thải bào thai trong tử cung. Hơn 40 năm trước, đã quan sát thấy rằng trong thời kỳ thai nghén, bào thai động vật có vú khác loại về mặt di truyền sống sót không như những gì được tiên đoán bởi miễn dịch học ghép mô (Medawar, 1953, Symp. Soc. Exp. Biol. 7: 320-38). Sự tách biệt về mặt giải phẫu giữa mẹ và bào thai và việc kháng nguyên chưa phát triển đầy đủ của bào thai không thể giải thích đầy đủ việc bào thai dị ghép sống sót. Gần đây sự chú ý đã tập trung vào sự dung nạp miễn dịch học của người mẹ. VìIDO được biểu hiện bởi các tế bào hợp bào của người và nồng độ tryptophan toàn thân giảm trong thời kỳ mang thai bình thường nên đã có giả thuyết cho rằng sự biểu hiệnIDO ở bề mặt chung của mẹ-bào thai là cần thiết để ngăn ngừa sự đào thải miễn dịch của bào thai dị ghép. Để kiểm tra giả thuyết

này, chuột mang thai (mang thai đồng sinh hoặc dị sinh) được tiếp xúc với 1MT và đã quan sát thấy sự đào thải nhanh do tế bào T gây ra đối với tất cả các bào thai dị sinh. Do đó, bằng cách dị hóa tryptophan, bào thai của động vật có vú đường như ức chế hoạt tính của tế bào T và tự bảo vệ chống lại sự đào thải và việc ức chế hiện tượng dị hóa tryptophan trong thời kỳ mang thai của chuột cho phép tế bào T của người mẹ gây ra sự đào thải bào thai dị ghép (Moan, et al. 1998, Science, 281: 1191-3).

Một bằng chứng khác chứng minh cơ chế chống lại hệ miễn dịch của u dựa vào sự phân hủy tryptophan bằngIDO là việc quan sát thấy rằng hầu hết các u ở người đều biểu hiện IDO và việc biểu hiện IDO của các tế bào u chuột được gây miễn dịch ngăn ngừa hiện tượng đào thải được thấy ở chuột trước khi gây miễn dịch. Tác dụng này thường đi cùng với việc không tích tụ tế bào T đặc hiệu ở vị trí u và có thể được khôi phục một phần bằng cách điều trị theo đường toàn thân cho chuột bằng chất ức chế IDO, mà không gây độc đáng chú ý. Do đó, đã có đề xuất cho rằng tác dụng của việc tiêm chủng trong điều trị cho bệnh nhân ung thư được cải thiện bằng cách sử dụng đồng thời chất ức chế IDO (Uyttenhove et al. 2003, Nature Med., 9: 1269-74). Cũng chứng minh được rằng chất ức chế IDO, 1-MT, có thể hiệp đồng với chất hóa trị liệu để cho tác dụng làm giảm sự phát triển u ở chuột, điều này gợi ý rằng việc ức chế IDO cũng có thể làm tăng hoạt tính kháng u của liệu pháp gây độc tế bào thông thường (Muller et al, 2005, Nature Med., 11: 312-9).

Một cơ chế góp phần vào việc hệ miễn dịch không phản ứng với u có thể là sự có mặt của kháng nguyên u do các APC của vật chủ có khả năng dung nạp miễn dịch. Tập con của các tế bào trình diện kháng nguyên (antigen-presenting cell - APC) biểu hiện IDO người mà đồng biểu hiện CD123 (IL3RA) và CCR6 và ức chế quá trình tăng sinh tế bào T cũng được mô tả. Cả tế bào đuôi gai dương tính với CD123 trưởng thành và chưa trưởng thành đều ức chế hoạt tính của tế bào T và hoạt tính ức chế IDO này bị ức chế bởi 1MT (Munn, et al, 2002, Science, 297: 1867-70). Cũng chứng minh được rằng các hạch bạch huyết dẫn lưu u ở chuột (tumor-draining lymph node-TDLN) mang tập con của các tế bào đuôi gai dạng tương bào (plasmacytoid dendritic cell-pDC) mà biểu hiện chủ yếu mức IDO có ức chế miễn dịch. Mặc dù chỉ chứa 0,5% tế bào hạch bạch huyết, *in vitro*, song các pDC này có thể ức chế các đáp ứng của tế bào T với các kháng nguyên được trình diện bằng chính các pDC này và ngoài ra ức chế các đáp ứng

của tế bào T với các kháng nguyên thứ ba được trình diện bằng các APC không ức chế, theo cách chiếm ưu thế. Trong các quần thể pDC, phần lớn hoạt động của các chất qua trung gian ức chế IDO chức năng gián tiếp gây ra tách biệt với quần thể con mới của các pDC mà đồng biểu hiện gen dấu hiệu dòng B, CD19. Do đó, đã có giả thuyết cho rằng sự ức chế qua trung gian IDO bởi pDC trong các TDLN tạo ra vi môi trường tách biệt mà có thể ức chế hiệu quả sự đáp ứng của tế bào T của vật chủ kháng u (Munn, et al. 2004, J. Clin. Invest, 114(2): 280-90).

IDO phân hủy nhóm indol của tryptophan, serotonin và melatonin và kích khởi quá trình sản xuất các chất chuyển hóa có hoạt tính thần kinh và điều hòa miễn dịch, được gọi chung là kynurenin. Bằng cách loại bỏ cục bộ tryptophan và làm tăng các kynurenin tiền gây chết tế bào theo chương trình, IDO được biểu hiện bởi các tế bào đuôi gai (dendritic cell-DC) có thể tác động lớn đến quá trình tăng sinh và sự sống sót của tế bào T. Việc kích thích IDO ở các DC có thể là cơ chế phổ biến để dung nạp loại bỏ được điều khiển bởi các tế bào T điều hòa. Do các đáp ứng dung nạp miễn dịch này có thể được mong đợi là xuất hiện hoạt động trong các điều kiện sinh lý bệnh khác nhau, nên cơ chế chuyển hóa tryptophan và việc sản xuất kynurenin có thể xảy ra ở phần chung chính giữa hệ miễn dịch và hệ thần kinh (Grohmann, et al. 2003, Trends Immunol, 24: 242-8). Trong các trạng thái hoạt hóa miễn dịch liên tục, độ khả dụng của Trp tự do trong huyết thanh bị giảm và, kết quả là quá trình sản xuất serotonin giảm, chức năng tiết serotonin cũng có thể bị ảnh hưởng (Wirleitner, et al. 2003, Curr. Med. Chem., 10: 1581-91).

Điều thú vị là, đã quan sát thấy việc sử dụng interferon- α sẽ tạo ra các tác dụng phụ về thần kinh-tâm thần học, như các triệu chứng trầm cảm và làm thay đổi chức năng nhận thức. Việc ảnh hưởng trực tiếp đối với quá trình dẫn truyền thần kinh tiết serotonin có thể góp phần tạo ra các tác dụng phụ này. Ngoài ra, do việc hoạt hóa IDO làm cho các mức tryptophan giảm, nên tiền chất serotonin (5-HT), IDO có thể đóng vai trò nhất định trong các tác dụng phụ về tâm-thần kinh học này thông qua việc làm giảm sự tổng hợp 5-HT trung tâm. Ngoài ra, các chất chuyển hóa của kynurenin như 3-hydroxy-kynurenin (3-OH-KYN) và axit quinolinic (QUIN) có ảnh hưởng xấu đến các chức năng của não. 3-OH-KYN có thể tạo ra trạng thái oxy hóa bằng cách làm tăng quá trình sản xuất các hợp chất oxy dễ phản ứng (reactive oxygen species-ROS) và

QUIN có thể tạo ra sự kích thích quá mức đối với thụ thể N-metyl-D-aspartat hải mã (NMDA), điều đó dẫn đến quá trình chết tế bào theo chương trình và chứng teo hải mã. Cả quá trình tạo ROS và chứng teo hải mã do sự kích thích quá mức NMDA gây ra đều gắn liền với chứng trầm cảm (Wichers and Maes, 2004, *J. Psychiatry Neurosci.*, 29: 11-17). Do đó, hoạt tính của IDO có thể có vai trò nhất định trong chứng trầm cảm.

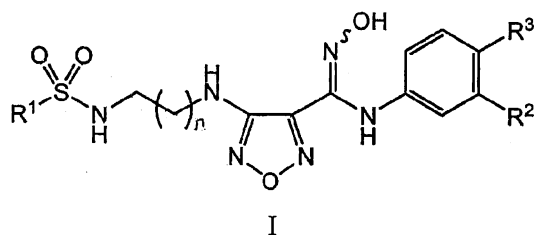
Các chất ức chế IDO phân tử nhỏ đang được phát triển để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh liên quan đến IDO như các bệnh nêu trên. Ví dụ, oxadiazol và các chất ức chế IDO dị vòng khác được bộc lộ trong US 2006/0258719 và US 2007/ 0185165. Công bố quốc tế PCT số WO 99/29310 bộc lộ phương pháp làm thay đổi tính miễn dịch qua trung gian tế bào T bao gồm việc làm thay đổi nồng độ tryptophan và chất chuyển hóa tryptophan ngoại bào, bằng cách sử dụng chất ức chế IDO như 1-metyl-DL-tryptophan, p-(3-benzofuranyl)-DL-alanin, p-[3-benzo(b)-thienyl]-DL-alanin và 6-nitro-L-tryptophan (Munn, 1999). Cũng được bộc lộ trong WO 03/087347, mà cũng được công bố dưới dạng patent châu Âu số 1501918, là các phương pháp tạo ra tế bào trình diện kháng nguyên để làm tăng hoặc làm giảm khả năng dung nạp tế bào T (Munn, 2003). Các hợp chất có hoạt tính ức chế indolamin-2,3-dioxygenaza (IDO) còn được bộc lộ trong WO 2004/094409; và công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2004/0234623 đề cập đến các phương pháp điều trị cho các đối tượng mắc bệnh ung thư hoặc các bệnh lây nhiễm bằng cách sử dụng chất ức chế indolamin-2,3-dioxygenaza kết hợp với các liệu pháp điều trị khác.

Dựa vào số liệu thực nghiệm chỉ ra vai trò của IDO trong sự ức chế hệ miễn dịch, kháng và/hoặc đào thải u, các bệnh lây nhiễm mạn tính, bệnh nhiễm HIV, bệnh AIDS (kể cả các triệu chứng của nó như chứng suy mòn, chứng trầm cảm và bệnh tiêu chảy), bệnh hoặc rối loạn tự miễn (như bệnh viêm đa khớp dạng thấp) và sự dung nạp miễn dịch học và sự ngăn ngừa đào thải bào thai trong tử cung, đang cần tới các chất điều trị đã tập trung vào việc ức chế sự phân hủy tryptophan bằng cách ức chế hoạt tính IDO là được mong muốn. Các chất ức chế IDO có thể được sử dụng để hoạt hóa tế bào T và do đó, làm tăng sự hoạt hóa tế bào T khi tế bào T bị ức chế trong thời kỳ thai nghén, do u ác tính hoặc do virus như HIV. Việc ức chế IDO cũng có thể là chiến lược điều trị quan trọng cho bệnh nhân mắc bệnh hoặc rối loạn thần kinh hoặc tâm

thần-thần kinh học như chứng trầm cảm. Hợp chất, dược phẩm và phương pháp ở đây đáp ứng nhu cầu nêu trên về các chất điều biến IDO.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza (IDO) có công thức I:



hoặc muối dược dụng của chúng, trong đó các gốc được định nghĩa trong bản mô tả này.

Sáng chế còn đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức I và ít nhất một chất mang dược dụng.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp ức chế hoạt tính của indolamin 2,3-dioxygenaza *in vitro* bao gồm bước cho indolamin 2,3-dioxygenaza (IDO) tiếp xúc với hợp chất có công thức I hoặc muối dược dụng của chúng.

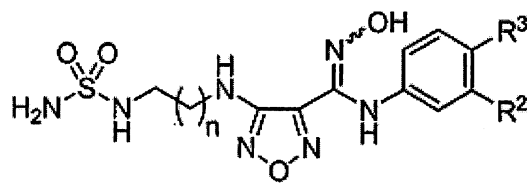
Hợp chất có công thức I theo sáng chế hoặc muối dược dụng của chúng được bệnh nhân sử dụng với lượng cho hiệu quả điều trị để ức chế miễn dịch.

Hợp chất có công thức I theo sáng chế hoặc muối dược dụng của chúng được bệnh nhân sử dụng với lượng cho hiệu quả điều trị để điều trị bệnh ung thư, bệnh nhiễm virus, chứng trầm cảm, rối loạn do thoái hóa thần kinh, chấn thương, bệnh đục thủy tinh thể do tuổi, thải loại mảnh ghép cơ quan hoặc bệnh tự miễn ở bệnh nhân.

Hợp chất có công thức I theo sáng chế hoặc muối dược dụng của chúng được bệnh nhân sử dụng với lượng cho hiệu quả điều trị u ác tính.

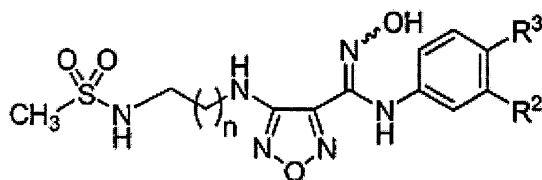
Hợp chất có công thức I theo sáng chế hoặc muối dược dụng của chúng được sử dụng để bào chế chất điều trị bệnh.

Sáng chế còn đề xuất các chất trung gian, quy trình điều chế chúng và được phẩm chứa chúng, hữu ích để điều chế hợp chất có công thức F15:



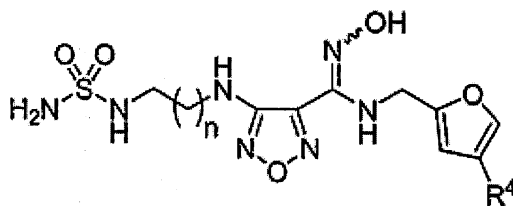
F15

Sáng chế còn đề xuất các chất trung gian, quy trình điều chế chúng và được phẩm chứa chúng, hữu ích để điều chế hợp chất có công thức F19:



F19

Sáng chế còn đề xuất các chất trung gian, quy trình điều chế chúng và được phẩm chứa chúng, hữu ích để điều chế hợp chất có công thức F28:



F28

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

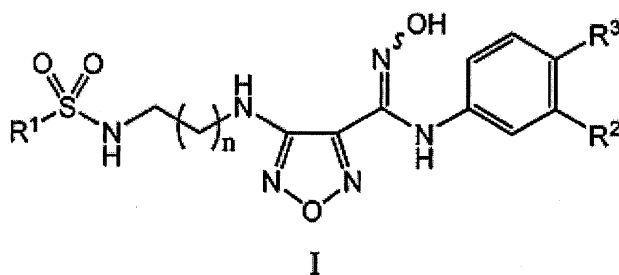
Fig.1 thể hiện mẫu XRPD đặc trưng cho hợp chất theo sáng chế được điều chế trong ví dụ 1.

Fig.2 thể hiện biểu đồ nhiệt DSC đặc trưng cho hợp chất theo sáng chế được điều chế trong ví dụ 1.

Fig.3 thể hiện số liệu TGA đặc trưng cho hợp chất theo sáng chế được điều chế trong ví dụ 1.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất, không kể các đối tượng khác, chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza (IDO) có công thức I:



hoặc muối được dụng của chúng, trong đó:

R^1 là NH_2 hoặc CH_3 ;

R^2 là Cl, Br, CF_3 , CH_3 hoặc CN;

R^3 là H hoặc F; và

n bằng 1 hoặc 2.

Theo một số phương án, R^1 là NH_2 .

Theo một số phương án, R^1 là CH_3 .

Theo một số phương án, R^2 là Cl.

Theo một số phương án, R^2 là Br.

Theo một số phương án, R^2 là CF_3 .

Theo một số phương án, R^2 là CH_3 .

Theo một số phương án, R^2 là CN.

Theo một số phương án, R^3 là H.

Theo một số phương án, R^3 là F.

Theo một số phương án, n bằng 1.

Theo một số phương án, n bằng 2.

Hợp chất theo sáng chế có thể tồn tại ở các dạng rắn khác nhau. Như được sử dụng ở đây “dạng rắn” dùng để chỉ chất rắn được đặc trưng bởi một hoặc nhiều tính chất như, ví dụ, điểm nóng chảy, độ tan, độ ổn định, độ kết tinh, tính hút ẩm, hàm lượng nước, đặc tính TGA, đặc tính DSC, đặc tính DVS, đặc tính XRPD, v.v.. Các dạng rắn này, ví dụ, có thể là dạng vô định hình, tinh thể hoặc hỗn hợp của các dạng này.

Các dạng tinh thể rắn khác nhau có các mạng tinh thể khác nhau (ví dụ, ô đơn vị) và, kết quả là, chúng thường có tính chất vật lý khác nhau. Trong một vài trường hợp, dạng tinh thể rắn khác nhau có hàm lượng nước hoặc dung môi khác nhau. Các mạng tinh thể khác nhau này có thể được xác định bằng phương pháp xác định đặc điểm ở trạng thái rắn như nhiễu xạ bột tia X (XRPD). Các phương pháp xác định khác như phép đo nhiệt lượng quét vi sai (differential scanning calorimetry-DSC), phép phân tích nhiệt trọng (thermogravimetric analysis-TGA), hơi hấp thụ động lực (dynamic vapor sorption-DVS) và các phương pháp tương tự còn dùng để xác định dạng rắn cũng như dùng để xác định độ ổn định và hàm lượng dung môi/nước.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dạng rắn khác nhau của 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit (xem ví dụ 1). Theo một số phương án, dạng rắn này là tinh thể rắn. Theo một số phương án, dạng rắn này gần như khan (ví dụ, chứa nước với lượng nhỏ hơn 1%, nhỏ hơn 0,5%, nhỏ hơn 1,5%, nhỏ hơn 2%). Theo một số phương án, dạng rắn này được đặc trưng bởi điểm nóng chảy của hoặc biểu đồ thu nhiệt DSC tập trung ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 162 đến 166°C. Theo một số phương án, dạng rắn này được đặc trưng bởi điểm nóng chảy của hoặc biểu đồ thu nhiệt DSC tập

trung ở nhiệt độ khoảng 164°C. Theo một số phương án, dạng rắn này có biểu đồ nhiệt DSC gần như được thể hiện trên Fig.2. Theo các phương án khác, dạng rắn này có ít nhất một, hai hoặc ba đỉnh XRPD, tính theo 2-theta, được chọn khoảng 18,4°, khoảng 18,9°, khoảng 21,8°, khoảng 23,9°, khoảng 29,2° và khoảng 38,7°. Theo các phương án khác, dạng rắn này có mẫu XRPD gần như được thể hiện trên Fig.1.

Sáng chế còn đề xuất được phẩm chứa 4-({2-[(aminosurfonyl)-amino]etyl}amino)-N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit dạng rắn (xem ví dụ 1). Dược phẩm này có thể chứa dạng rắn này với lượng ít nhất là khoảng 50%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95% hoặc ít nhất là khoảng 99% khối lượng. Dược phẩm này cũng có thể chứa các tá dược được dụng. Theo một số phương án, dạng rắn này gần như tinh khiết.

Mẫu phản xạ XRPD (đỉnh) thường được coi là dấu ấn của một dạng kết tinh cụ thể. Đã biết rõ là cường độ tương đối của các đỉnh XRPD có thể thay đổi nhiều tùy thuộc trong số các yếu tố khác vào kỹ thuật điều chế mẫu, sự phân bố cỡ tinh thể, các bộ lọc khác nhau được sử dụng, quy trình lắp mẫu và dụng cụ cụ thể được sử dụng. Trong một số trường hợp, các đỉnh mới có thể được quan sát thấy hoặc các đỉnh đã biết có thể biến mất, tùy thuộc vào loại dụng cụ hoặc các thông số cài đặt. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “đỉnh” dùng để chỉ các tia phản xạ có độ cao/cường độ tương đối bằng ít nhất là khoảng 4% độ cao/cường độ đỉnh tối đa. Ngoài ra, các sai số của dụng cụ và các yếu tố khác có thể ảnh hưởng tới giá trị 2-theta. Do đó, việc gán đỉnh, như các quy định nêu ở đây, có thể thay đổi bằng cách cộng hoặc trừ khoảng 0,2° (2-theta) và thuật ngữ “gần như” như được sử dụng trong nội dung XRPD ở đây nghĩa là bao gồm các thay đổi nêu trên.

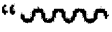
Theo cùng một cách, kết quả đọc nhiệt độ trên DSC, TGA hoặc trong các thử nghiệm nhiệt khác có thể thay đổi khoảng $\pm 3^{\circ}\text{C}$ tùy vào dụng cụ, các thông số cụ thể được cài, điều chế mẫu, v.v.. Do đó, dạng tinh thể được thông báo ở đây có biểu đồ nhiệt DSC “gần như” được thể hiện trên hình vẽ bất kỳ được hiểu là bao hàm các thay đổi này.

Ở các phần khác nhau trong bản mô tả này, các phân tử thể của các hợp chất theo sáng chế có thể được mô tả theo nhóm hoặc theo khoảng. Sáng chế dự định cụ thể

bao gồm mỗi và mọi sự kết hợp phụ riêng lẻ của các thành viên của nhóm và khoảng này.

Hợp chất theo sáng chế được dự định là có tính ổn định. Như được sử dụng ở đây “ổn định” dùng để chỉ hợp chất đủ ổn định để khi phân lập đến độ tinh khiết hữu ích từ hỗn hợp phản ứng và tốt hơn là có thể bào chế thành chất điều trị có hiệu quả.

Cần hiểu thêm rằng, để rõ ràng, một số đặc tính nhất định của sáng chế được mô tả trong nội dung của các phương án riêng biệt, cũng có thể được nêu ở dạng kết hợp trong một phương án riêng lẻ. Ngược lại, để ngắn gọn, các đặc tính khác của sáng chế được mô tả trong nội dung của một phương án riêng lẻ, cũng có thể được nêu riêng lẻ hoặc ở dạng kết hợp khai triển thích hợp bất kỳ.

Các hợp chất theo sáng chế còn được dự định bao gồm tất cả chất đồng phân hình học có thể. Các chất đồng phân hình học cis và trans của các hợp chất theo sáng chế được mô tả và có thể được tách dưới dạng hỗn hợp chứa chất đồng phân hoặc dưới dạng các chất đồng phân riêng biệt. Liên kết trong sơ đồ cấu trúc được thể hiện bởi đường gợn sóng “” được dự định để thể hiện rằng cấu trúc này là chất đồng phân cis hoặc trans hoặc hỗn hợp chứa chất đồng phân cis và trans theo tỷ lệ bất kỳ.

Các hợp chất theo Sáng chế cũng đề cập đến các dạng tautome. Các dạng tautome do sự trao đổi liên kết đơn với liên kết đôi liên kề cùng với sự di chuyển đồng thời của proton.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể bao gồm tất cả đồng vị của nguyên tử tồn tại trong các chất trung gian hoặc các hợp chất cuối cùng. Các chất đồng vị bao gồm các nguyên tử có cùng số nguyên tử nhưng khác về số khối. Ví dụ, các chất đồng vị của hydro bao gồm triti và đơteri.

Theo một số phương án, các hợp chất theo sáng chế và các muối của chúng, về cơ bản là được tách riêng. Thuật ngữ “về cơ bản là được tách riêng” nghĩa là hợp chất được tách riêng ít nhất là một phần hoặc gần như được tách riêng ra khỏi môi trường trong đó hợp chất này được tạo ra hoặc phát hiện. Việc tách riêng một phần có thể bao gồm, ví dụ, chế phẩm được làm giàu hợp chất theo sáng chế. Gần như tách được ra có

thể bao gồm các dược phẩm chứa ít nhất là khoảng 50%, ít nhất là khoảng 60%, ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95%, ít nhất là khoảng 97% hoặc ít nhất là khoảng 99% khối lượng hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó. Các phương pháp tách các hợp chất và muối của nó là đã biết trong lĩnh vực này.

Sáng chế cũng đề cập đến các muối của các hợp chất được mô tả ở đây. Như được sử dụng ở đây, “các muối” dùng để chỉ các dẫn xuất của hợp chất được mô tả trong đó hợp chất gốc được biến đổi bằng cách chuyển hóa gốc axit hoặc bazơ thành dạng muối của nó. Ví dụ về muối này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, muối của axit vô cơ (như HCl, HBr, H_2SO_4) hoặc axit hữu cơ (như axit axetic, axit benzoic, axit trifloaxetic) chứa nhóm bazơ như amin; muối kiềm (như Li, Na, K, Mg, Ca) hoặc hữu cơ (như trialkylamoni) chứa nhóm axit như axit carboxylic; và các muối tương tự. Các muối theo sáng chế có thể được tổng hợp từ hợp chất gốc chứa nhóm bazơ hoặc axit bằng các phương pháp hóa học thông thường. Thông thường, các muối này có thể được điều chế bằng cách cho axit tự do hoặc bazơ của các hợp chất này phản ứng với lượng theo hệ số tỷ lệ lượng của bazơ hoặc axit thích hợp trong nước hoặc trong dung môi hữu cơ hoặc trong hỗn hợp của cả hai chất này; thông thường, môi trường không chứa nước như ete, etyl axetat, etanol, isopropanol hoặc axetonitril (ACN) là được ưu tiên.

“Các muối được dụng” theo Sáng chế cũng đề cập đến tập hợp con của “các muối” nêu trên mà là muối không độc thông thường của hợp chất gốc được tạo ra, ví dụ, từ axit vô cơ hoặc hữu cơ không độc. Danh sách của các muối thích hợp được tìm thấy trong tài liệu: Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 and Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977). Cụm từ “dược dụng” được sử dụng ở đây dùng để chỉ các hợp chất, nguyên liệu, dược phẩm, và/hoặc dạng bào chế dựa trên các quy định hợp lý trong y học, thích hợp để sử dụng để tiếp xúc mô người và động vật mà không gây độc quá mức, gây kích ứng, đáp ứng dị ứng hoặc vấn đề hoặc biến chứng khác, phù hợp với tỷ lệ lợi/hại hợp lý.

Phương pháp tổng hợp

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế theo các cách khác nhau đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực tổng hợp hữu cơ. Các hợp chất theo sáng chế có thể được tổng hợp bằng cách sử dụng các phương pháp như được nêu dưới đây, cùng với các phương pháp tổng hợp đã biết trong lĩnh vực hóa học hữu cơ tổng hợp hoặc các biến thể của chúng mà người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này đã biết.

Các hợp chất theo sáng chế này có thể được điều chế từ các nguyên liệu ban đầu có sẵn bằng cách sử dụng các phương pháp và quy trình thông thường sau đây. Rõ ràng là các điều kiện xử lý thông thường hoặc được ưu tiên (tức là, nhiệt độ phản ứng, thời gian, tỷ lệ mol của chất phản ứng, dung môi, áp suất, v.v.) được nêu; các điều kiện xử lý khác cũng có thể được sử dụng trừ khi được quy định khác. Các điều kiện phản ứng tối ưu có thể thay đổi theo các chất phản ứng hoặc dung môi cụ thể được sử dụng, nhưng các điều kiện này có thể được xác định bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này bằng các quy trình tối ưu hóa thông thường.

Quy trình được mô tả ở đây có thể được theo dõi theo phương pháp thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, sự tạo thành sản phẩm có thể được kiểm tra bằng phương pháp quang phổ, như phổ cộng hưởng từ hạt nhân (ví dụ, ^1H hoặc ^{13}C), phổ hồng ngoại, phép đo phổ (ví dụ, UV-nhìn thấy) hoặc phép đo phổ khối; hoặc bằng phép sắc ký như sắc ký lỏng hiệu năng cao (high performance liquid chromatography-HPLC) hoặc sắc ký lớp mỏng. Các hợp chất thu được bằng các phản ứng này có thể được tinh chế bằng phương pháp thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, sắc ký (áp suất trung bình) trên chất hấp phụ thích hợp (ví dụ, silica gel, alumin và các chất tương tự) HPLC hoặc sắc ký lớp mỏng điều chế; chưng cất; thăng hoa, nghiền hoặc tái kết tinh.

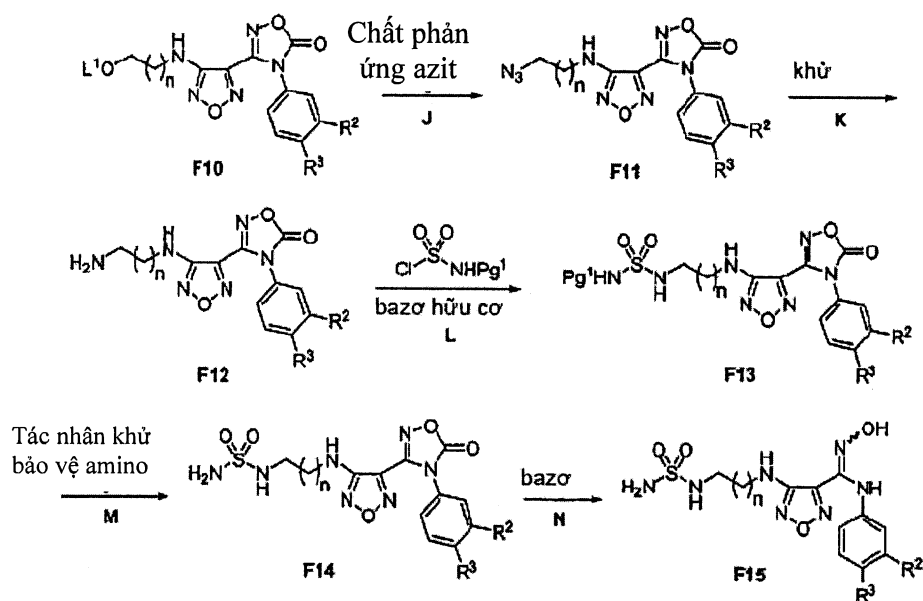
Việc điều chế hợp chất có thể bao gồm sự bảo vệ và khử bảo vệ các nhóm hóa học khác nhau. Nhu cầu bảo vệ và khử bảo vệ và việc chọn nhóm bảo vệ thích hợp có thể được xác định dễ dàng bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này. Kiến thức hóa học về nhóm bảo vệ ví dụ có thể được tìm thấy trong tài liệu: Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., John Wiley & Sons: New York, 2006.

Các phản ứng trong quy trình được mô tả ở đây có thể được thực hiện trong dung môi thích hợp mà có thể được chọn dễ dàng bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực tổng hợp hữu cơ. Các dung môi thích hợp có thể gần như không phản ứng với các nguyên liệu ban đầu (các chất phản ứng), các chất trung gian hoặc các sản phẩm ở các nhiệt độ mà phản ứng được thực hiện, tức là nhiệt độ mà có thể nằm trong khoảng từ nhiệt độ đông lạnh của dung môi đến nhiệt độ sôi của dung môi. Phản ứng đã nêu có thể được thực hiện trong một dung môi hoặc hỗn hợp chứa nhiều hơn một dung môi. Tùy thuộc vào bước phản ứng, (các) dung môi thích hợp cho bước phản ứng cụ thể có thể được chọn. Các dung môi thích hợp bao gồm nước, alkan (như pentan, hexan, heptan, xyclohexan, v.v. hoặc hỗn hợp của chúng), các dung môi thơm (như benzen, toluen, xylen, v.v.), các rượu (như metanol, etanol, isopropanol, v.v.), các ete (như dialkylete, metyl tert-butyl ete (MTBE), tetrahydrofuran (THF), dioxan, v.v.), các este (như etyl axetat, butyl axetat, v.v.), các dung môi đã halogen hóa (như diclometan (DCM), clorofom, dicloetan, tetracloetan), dimetylformamit (DMF), dimetylsulfoxit (DMSO), axeton, axetonitril (ACN), hexametylphosphoramit (HMPA) và N-metylpyrrolidon (NMP). Các dung môi này có thể được sử dụng dưới dạng ướt hoặc dạng khan của chúng.

Việc phân giải hỗn hợp raxemic của các hợp chất có thể được thực hiện bằng một số phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này. Phương pháp ví dụ bao gồm việc tái kết tinh phân đoạn sử dụng “axit phân giải bất đối xứng” mà axit hữu cơ tạo muối là có hoạt tính quang học. Các chất phân giải thích hợp cho phương pháp tái kết tinh phân đoạn là các axit có hoạt tính quang học chẳng hạn, như dạng D và L của axit tartric, axit diaxetyltartric, axit dibenzoyltartric, axit mandelic, axit malic, axit lactic hoặc các axit camphorsulfonic có hoạt tính quang học khác nhau. Việc phân giải hỗn hợp raxemic cũng có thể được thực hiện bằng cách rửa giải bằng cột nhồi chất phân giải có hoạt tính quang học (ví dụ, dinitrobenzoylphenylglyxin). Thành phần dung môi rửa giải thích hợp có thể được xác định bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này.

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách sử dụng sơ đồ phản ứng và các kỹ thuật được nêu dưới đây chẳng hạn.

Các quy trình và các chất trung gian theo sáng chế là hữu ích để điều chế chất ức chế IDO. Sơ đồ chung để điều chế hợp chất có công thức F15 theo sáng chế được mô tả trong sơ đồ 1.



Sơ đồ 1

Đề cập đến sơ đồ 1, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức F15 hoặc muối của nó, trong đó R^2 là Cl, Br, CF_3 , CH_3 hoặc CN; R^3 là H hoặc F; và n bằng 1 hoặc 2, bằng cách cho hợp chất có công thức F13 hoặc muối của nó, trong đó Pg^1 là nhóm bảo vệ amino, phản ứng với chất khử bảo vệ amino (bước M) để tạo ra hợp chất có công thức F14 hoặc muối của nó; và cho hợp chất có công thức F14 phản ứng với bazơ (bước N) để tạo ra hợp chất có công thức F15. Hợp chất có công thức F15 có thể được tinh chế bằng cách nghiền hoặc tái kết tinh bằng cách sử dụng dung môi như nước, etanol, MTBE hoặc hỗn hợp của chúng.

Theo một số phương án, R^2 là Br, R^3 là F và n bằng 1.

Theo một số phương án, R^2 là Br, R^3 là F và n bằng 2.

Theo một số phương án, R^2 là Cl, R^3 là F và n bằng 1.

Theo một số phương án, R^2 là Cl, R^3 là F và n bằng 2.

Theo một số phương án, R^2 là CF_3 , R^3 là F và n bằng 1.

Theo một số phương án, R^2 là CF_3 , R^3 là F và n bằng 2.

Theo một số phương án, R^2 là CF_3 , R^3 là H và n bằng 1.

Theo một số phương án, R^2 là CF_3 , R^3 là H và n bằng 2.

Theo một số phương án, R^2 là CN, R^3 là F và n bằng 1.

Nhóm bảo vệ amino thường được sử dụng trong quy trình tổng hợp hữu cơ để ngăn các phản ứng không mong muốn của nhóm amino trong khi thực hiện sự biến đổi mong muốn. Nhóm bảo vệ amino cho phép liên kết đồng hóa trị dễ dàng với nguyên tử nitơ cũng như phân cắt chọn lọc ra khỏi nguyên tử nitơ. Các nhóm bảo vệ amino khác nhau, được phân loại rộng là alkoxycarbonyl (như etoxycarbonyl, tert-butoxycarbonyl (Boc), benzyloxycarbonyl (Cbz), 9-florenylmethyloxycarbonyl (Fmoc) và các nhóm tương tự), axyl (như axetyl (Ac), benzoyl (Bz) và các nhóm tương tự), sulfonyl (như metansulfonyl, triflometansulfonyl và các nhóm tương tự), arylalkyl (như benzyl, diphenylmetyl, triphenylmetyl (trityl) và các nhóm tương tự), alkenylalkyl (như alyl, prenyl và các nhóm tương tự), diarylmetylenyl (như $(C_6H_5)_2C=N$ và các nhóm tương tự) và silyl (như tert-butyldimetylsilyl, triisopropyl-silyl và các nhóm tương tự), là đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực. Đặc tính hóa học của các nhóm bảo vệ amino có thể được thấy trong tài liệu: Wuts and Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4th Ed., pp 696-926, John Wiley & Sons: New York, 2006. Theo một số phương án, Pg^1 có thể là alkoxycarbonyl (như tert-butoxycarbonyl).

Các nhóm bảo vệ amino nêu trên có thể được loại bỏ một cách thuận lợi bằng cách sử dụng nhiều chất khử bảo vệ amino có sẵn mà đặc hiệu cho từng nhóm khác nhau nêu trên mà không ảnh hưởng đến các phần mong muốn khác của hợp chất. Nhóm tert-butoxycarbonyl có thể được loại bỏ (ví dụ, thủy phân) từ nguyên tử nitơ, ví dụ, bằng cách xử lý bằng axit (như axit trifloaxetic, axit toluensulfonic, axit clohydric và axit tương tự); hỗn hợp của các chất phản ứng (ví dụ, hỗn hợp axetyl clorua và metanol) đã biết để tạo ra axit; hoặc axit Lewis (ví dụ, BF_3-Et_2O). Nhóm benzyloxycarbonyl có thể được loại bỏ (ví dụ, thủy phân) từ nguyên tử nitơ, ví dụ,

bằng cách xử lý bằng hydro và chất xúc tác (như paladi trên cacbon). Theo một số phương án, chất khử bảo vệ amino có thể là axit trifloaxetic. Theo một số phương án, chất khử bảo vệ amino chứa axit trifloaxetic và >0,5% thể tích nước, ví dụ, >1,0% thể tích nước, >1,5% thể tích nước, >2,0% thể tích nước, nằm trong khoảng từ 2% đến 10% thể tích nước, từ 10% đến 20% thể tích nước hoặc từ 20% đến 50% thể tích nước. Theo một số phương án, chất khử bảo vệ amino có thể là hỗn hợp chứa axit trifloaxetic và nước với tỷ lệ thể tích khoảng 98:2. Theo một số phương án, chất khử bảo vệ amino có thể là axit clohydric, tùy ý trong dung môi (như nước, THF hoặc dioxan). Theo các phương án này, axit clohydric có thể có mặt với nồng độ khoảng 4N, ví dụ, khoảng 1N, khoảng 2N, khoảng 3N, khoảng 5N, khoảng 6N, khoảng 7N, khoảng 8N, khoảng 9N hoặc khoảng 10N. Theo một số phương án, việc khử bảo vệ có thể được thực hiện trong rượu (như isopropanol). Theo một số phương án, bước M (sơ đồ 1) có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 60°C, ví dụ, từ -10°C đến 0°C, từ 0°C đến 25°C, từ 25°C đến 45°C hoặc từ 45°C đến 60°C.

Bazơ có thể được sử dụng để chuyển hóa (ví dụ, thủy phân) vòng oxadiazolon trong hợp chất có công thức F14 để tạo ra amidoxim trong hợp chất có công thức F15, tùy ý trong dung môi (bước N, sơ đồ 1). Việc bảo vệ amidoxim dưới dạng oxadiazolon có thể có tác dụng ngăn các phản ứng bất lợi của nhóm hydroxyl hoặc của amidoxim dưới dạng tổng thể. Bazơ có thể là bazơ hữu cơ như amin không vòng (ví dụ, triethylamin, diisopropyletylamin (DIPEA), v.v.) hoặc amin vòng (ví dụ, pyrrolidin, piperidin, v.v.); hoặc bazơ vô cơ như kiềm (ví dụ, NaOH, LiOH, KOH, Mg(OH)₂, v.v.). Bazơ có thể được tạo ra có sẵn dưới dạng nhựa (như Amberlite® và các chất tương tự). Theo một số phương án khác, bazơ có thể được tạo ra dưới dạng dung dịch trong nước như dung dịch 2N (ví dụ, dung dịch 0,5N, dung dịch 1N, dung dịch khoảng 1,5N, dung dịch khoảng 2,5N, dung dịch từ 3N đến 5N, dung dịch từ 5N đến 10N). Theo một số phương án, bazơ là hydroxit kim loại kiềm (như, natri hydroxit). Theo một số phương án, bazơ có thể là dung dịch nước NaOH 2N. Theo một số phương án, dung môi có thể là metanol hoặc tetrahydrofuran (THF). Theo một số phương án, bước N (sơ đồ 1) có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 60°C, ví dụ, từ -10°C đến 0°C, từ 0°C đến 25°C, từ 25°C đến 45°C hoặc từ 45°C đến 60°C.

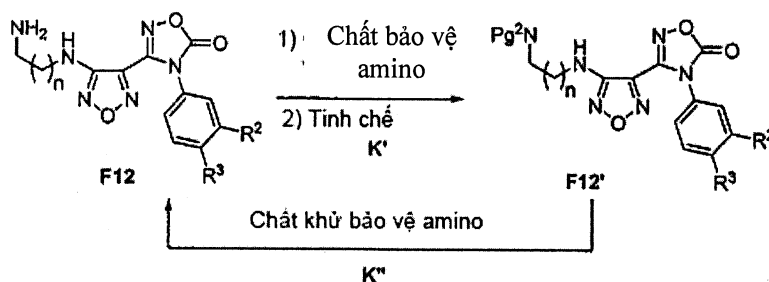
Trong Bước L (sơ đồ 1), hợp chất có công thức F13 có thể thu được bằng cách xử lý hợp chất có công thức F12 hoặc muối của nó, bằng $\text{Pg}^1\text{-NH-sulfonyl}$ clorua, tùy ý trong dung môi, tiếp theo xử lý hỗn hợp thu được bằng bazơ hữu cơ để tạo ra hợp chất có công thức F13. Bước L này (sơ đồ 1) chuyển hóa amin bậc một F12 thành sulfonyl ure có công thức F13 bằng cách sử dụng amino-sulfonyl clorua được bảo vệ ($\text{Pg}^1\text{-NH-SO}_2\text{Cl}$). Amino-sulfonyl clorua được bảo vệ có thể được điều chế và được sử dụng ngay trong phản ứng với hợp chất có công thức F12. Nhóm bảo vệ này có thể được chọn từ nhóm bảo vệ bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này để bảo vệ amin hoặc sulfonamid (nêu trên). Theo một số phương án, Pg^1 có thể là nhóm alkoxycarbonyl (như tert-butoxycarbonyl). Theo các phương án này, alkoxycarbonyl NH-sulfonyl clorua có thể thu được bằng phản ứng của rượu (như, etanol, rượu tert-butylic và các rượu tương tự) với closulfonyl isoxyanat ($\text{ClS(O)}_2\text{NCO}$). Các dung môi thích hợp cho phản ứng này bao gồm nhưng không giới hạn ở, dung môi đã được halogen hóa như diclometan và các dung môi tương tự. Bazơ hữu cơ có thể là bazơ bất kỳ đóng vai trò trung hòa HCl được tạo ra trong phản ứng của amin bậc một như F12 và amino-sulfonyl clorua được bảo vệ. Bazơ hữu cơ cũng có thể bao gồm amin bậc ba không vòng như tri(C_{1-6})alkylamin (ví dụ, triethylamin, diisopropyletylamin (DIPEA) và các amin tương tự), amin bậc ba vòng (ví dụ, N-metyl piperidin, 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO) và các nhóm tương tự). Theo một số phương án, bazơ hữu cơ có thể là triethylamin. Theo một số phương án, bước này có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 60°C , ví dụ, từ -10°C đến 0°C , từ 0°C đến 25°C , từ 25°C đến 45°C hoặc từ 45°C đến 60°C .

Các hợp chất hữu cơ có thể được khử thành trạng thái oxy hóa thấp hơn bằng cách sử dụng chất khử. Việc khử thường liên quan đến việc thêm nguyên tử hydro hoặc loại bỏ nguyên tử oxy khỏi một nhóm. Các azit hữu cơ như F11 có thể được khử thành amin như F12 (bước K, sơ đồ 1) bằng cách thêm hydro, dưới dạng hydro nguyên tố hoặc sử dụng chất phản ứng hydrua (như NaBH_4 , LiAlH_4 và các chất tương tự); sử dụng triphenylphosphin; hoặc sử dụng hỗn hợp của natri iodua, clotrimetylsilan và metanol. Theo một số phương án, hợp chất có công thức F12 có thể thu được bằng cách khử hợp chất có công thức F11 hoặc muối của nó. Theo một số phương án, việc khử có thể được thực hiện với sự có mặt của natri iodua, clotrimetylsilan và metanol. Theo một số phương án, tỷ lệ mol của natri iodua và clotrimetylsilan có thể là khoảng

1,0, ví dụ, khoảng 0,9, khoảng 0,95, khoảng 1,0, khoảng 1,05 hoặc khoảng 1,1. Theo một số phương án, clotrimetylsilan có thể được bổ sung vào hỗn hợp của F11, natri iodua và metanol dưới dạng dung dịch trong metanol. Theo một số phương án, bước K (sơ đồ 1) có thể được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng, ví dụ, nằm trong khoảng từ 10°C đến 50°C, từ 15°C đến 40°C, từ 20°C đến 30°C hoặc từ 25°C đến 30°C.

Hợp chất amino có công thức F12, trong một vài trường hợp, có thể được phân tách để thu được dưới dạng gần như tinh khiết như được xác định bởi HPLC hoặc phổ NMR và các phép đo tương tự. Trong khi không dự định bị ràng buộc bởi lý thuyết bất kỳ, tin rằng một vài amin có thể khó tinh chế bằng sắc ký silicagel do ái lực cao tăng đối với silicagel hoặc do sự phân hủy không mong muốn trong khi tinh chế. Theo các phương án này, đề cập đến sơ đồ 2, hợp chất có công thức F12 có thể được tinh chế bằng cách cho hợp chất có công thức F12 phản ứng với chất bảo vệ amino để tạo ra hợp chất có công thức F12' hoặc muối của nó, trong đó Pg^2N là amin được bảo vệ. Việc bảo vệ này (bước K') có thể là sau bước tinh chế hợp chất có công thức F12' để tạo ra hợp chất có công thức F12' tinh khiết và cho hợp chất có công thức F12' tinh khiết phản ứng với chất khử bảo vệ amino (bước K'') để tạo ra hợp chất có công thức F12 tinh khiết. Chất bảo vệ amino và chất khử bảo vệ amino là đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này, như các chất trong tài liệu: Wuts and Greene (ibid). Theo một số phương án, chất bảo vệ amino là di-t-butyl dicacbonat (Boc_2O). Theo các phương án này, Pg^2N là tert-butoxy carbonyl-NH. Theo các phương án này, chất khử bảo vệ amino là chất có khả năng loại bỏ nhóm bảo vệ Boc (nêu trên). Theo các phương án này, chất khử bảo vệ amino là axit (ví dụ, axit clohydric, axit trifloaxetic và các axit tương tự), tùy ý trong dung môi (như nước, THF hoặc dioxan). Theo một số phương án, axit clohydric có thể có mặt với nồng độ khoảng 4N, ví dụ, khoảng 1N, khoảng 2N, khoảng 3N, khoảng 5N, khoảng 6N, khoảng 7N, khoảng 8N, khoảng 9N hoặc khoảng 10N. Theo một số phương án, việc khử bảo vệ có thể được thực hiện trong rượu (như isopropanol). Theo một số phương án, bước K' hoặc K'' có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 60°C, ví dụ, từ -10°C đến 0°, từ 0°C đến 25°C, từ 25°C đến 45°C hoặc từ 45°C đến 60°C. Các phương pháp tinh chế thích hợp là đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này và có thể bao gồm sắc ký, kết tinh, thăng hoa và các phương pháp tương tự. Theo một số phương án, việc tinh chế có thể được thực hiện bằng cách sắc ký trên silicagel. Độ tinh

khiết của các hợp chất thường được xác định bằng các phương pháp vật lý như xác định điểm nóng chảy (trong trường hợp chất rắn), thu được phổ NMR hoặc thực hiện việc tách bằng HPLC. Nếu điểm nóng chảy giảm, nếu tín hiệu không mong muốn trong phổ NMR bị giảm hoặc nếu đỉnh ngoại lai trong vết HPLC được loại bỏ, thì hợp chất có thể được cho là đã tinh khiết. Theo một số phương án, hợp chất gần như tinh khiết.

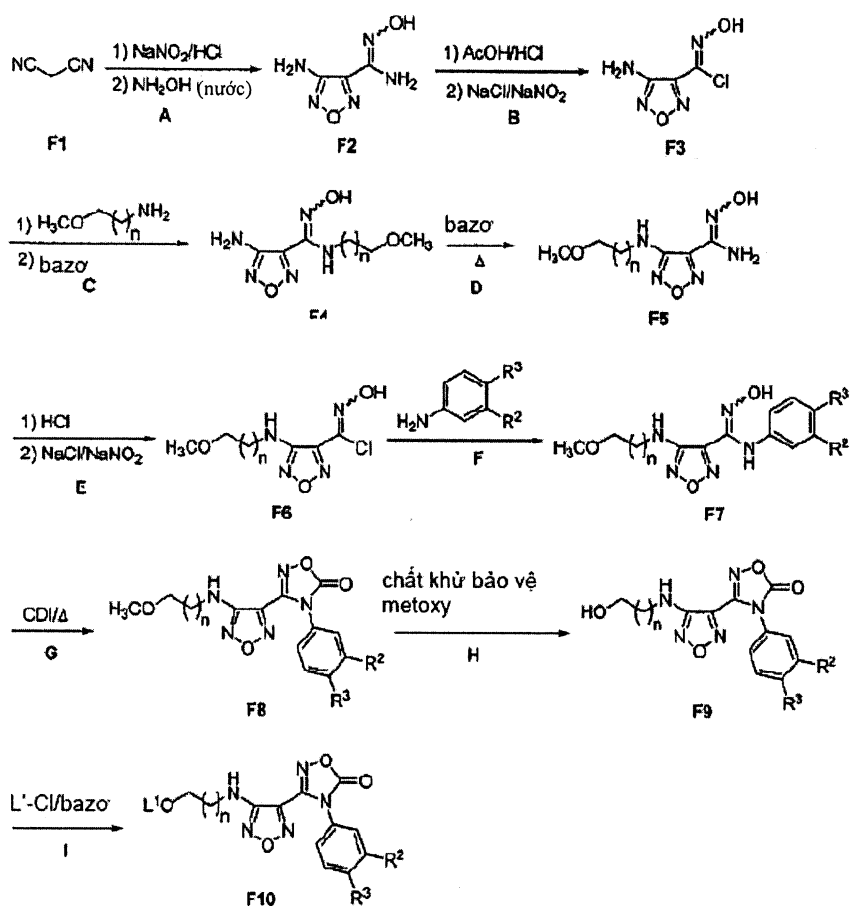


Sơ đồ 2

Theo một số phương án, hợp chất có công thức F11 (sơ đồ 1) có thể thu được bằng cách xử lý hợp chất có công thức F10 hoặc muối của nó, trong đó L¹ có thể được chọn từ alkylsulfonyl (như metansulfonyl), haloalkylsulfonyl (như triflometansulfonyl), arylsulfonyl (như toluensulfonyl) và các nhóm tương tự; bằng chất phản ứng azit để tạo ra hợp chất có công thức F11 (bước J). Theo một số phương án, L¹ là alkylsulfonyl. Các chất phản ứng azit bao gồm chất phản ứng bất kỳ có khả năng tạo ra ion azit ái nhân. Các ví dụ về chất phản ứng azit bao gồm các azit kim loại kiềm (như natri azit, kali azit, v.v.). Theo một số phương án tùy ý, chất phản ứng azit như natri azit có thể được sử dụng kết hợp với natri iodua. Các dung môi thích hợp để thực hiện việc chuyển hóa này là các dung môi phân cực bao gồm DMF, DMSO, NMP và các dung môi tương tự. Theo một số phương án, bước J có thể được thực hiện trong DMF. Bước J có thể được thực hiện ở nhiệt độ cao ví dụ, nằm trong khoảng từ 40°C đến 100°C, từ 50°C đến 90°C hoặc từ 60°C đến 80°C. Theo một số phương án, bước J có thể được thực hiện ở nhiệt độ khoảng 50°C. Theo một số phương án, bước J có thể được thực hiện ở nhiệt độ khoảng 85°C.

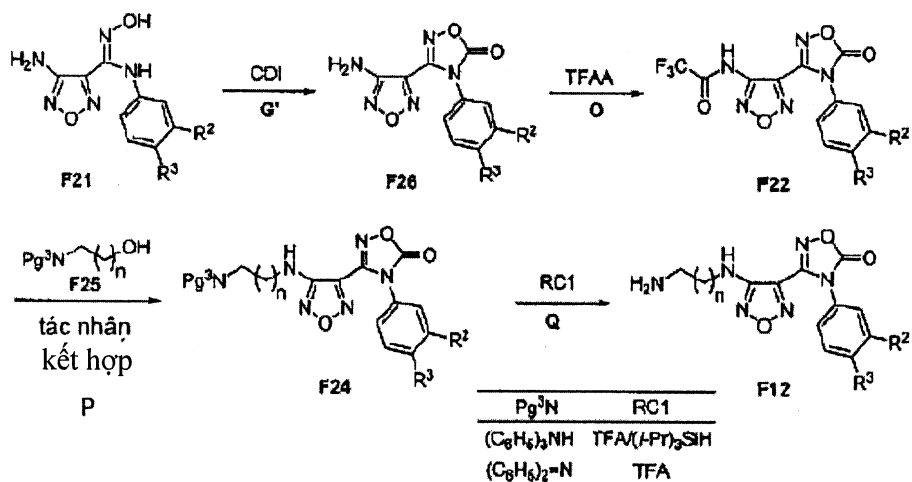
Hợp chất có công thức F10 hoặc muối của nó, có thể thu được theo trình tự các bước được thể hiện trong sơ đồ 3. Việc điều chế các chất trung gian, 4-amino-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit có công thức F2 đã được mô tả trong J. Heterocycl. Chem. (1965), 2, 253, và việc chuyển hóa nó thành clo oxim có công thức F3 đã được mô tả trong tài liệu: Synth. Commun. (1988), 18, 1427. Các amin (như amin bậc một hoặc bậc hai bao gồm các amin chứa các nhóm chức được bảo vệ, ví dụ, etyl amin, 2-metoxyletyl-amin hoặc dimetylamin) có thể được kết hợp với clo oxim có công thức F3, tùy ý trong dung môi (như etyl axetat), tiếp đó thêm bazơ hữu cơ (như trietylamin hoặc DIPEA để trung hòa HCl được tạo ra trong phản ứng) để tạo ra các hợp chất amidoxim có công thức F4. Việc tái cấu trúc đối với các hợp chất như F4, đổi chỗ nhóm amino ở cacbon vòng và nhóm amino ở cacbon của oxim, để tạo ra hợp chất có công thức F5 có thể thực hiện được bằng cách xử lý F4 bằng bazơ (như KOH, NaOH, LiOH, Mg(OH)₂, Al(OH)₃ và các bazơ tương tự), tùy ý trong dung môi (như nước, etanol, etylen glycol và các dung môi tương tự) và hồi lưu hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ cao ví dụ, khoảng 70°C, khoảng 80°C, khoảng 90°C, khoảng 100°C, khoảng 110°C, khoảng 120°C, khoảng 130°C, khoảng 140°C, khoảng 150°C, khoảng 160°C, khoảng 170°C, khoảng 180°C, khoảng 190°C hoặc khoảng 200°C. Amidoxim có công thức F5 có thể lại được hoạt hóa dưới dạng clo oxime có công thức F6 bằng cách thêm hợp chất có công thức F5 vào hỗn hợp axit chứa nước chứa axit clohydric, tùy ý gồm axit axetic. Trong quy trình chuyển hóa hợp chất có công thức F5 thành hợp chất có công thức F6, hỗn hợp axit chứa hợp chất có công thức F5 có thể được đun nóng đến nhiệt độ khoảng 45°C, như khoảng 30°C, khoảng 40°C, khoảng 50°C hoặc khoảng 60°C để thực hiện việc hòa tan. Natri clorua có thể được bổ sung vào dung dịch này và sau đó xử lý bằng chất phản ứng nitrit, mà tùy ý có thể được cung cấp dưới dạng dung dịch chứa nước, ở nhiệt độ dưới 0°C, như dưới -10°C, dưới -5°C, dưới 5°C hoặc dưới 10°C. Chất phản ứng nitrit là chất có khả năng tạo ra nitrit anion. Chất phản ứng nitrit bao gồm nitrit kim loại kiềm (ví dụ, natri nitrit, kali nitrit và các chất tương tự) và nitrit hữu cơ (ví dụ, tetraetylamonit nitrit) mà bao gồm cation hữu cơ. Theo một số phương án, etyl axetat, THF hoặc dioxan có thể được sử dụng làm đồng dung môi. Clo oxim có công thức F6 có thể được kết hợp với amin thơm như anilin, tùy ý trong dung môi phân cực (như metanol, nước, etanol và các dung môi tương tự) ở nhiệt độ cao như khoảng 50°C, khoảng 60°C, khoảng 70°C, khoảng 80°C, khoảng 90°C, khoảng 100°C,

khoảng 110°C hoặc khoảng 120°C, tùy ý với sự có mặt của bazơ vô cơ (như KHCO_3 , NaHCO_3) để tạo ra arylamidoxim có công thức F7. Theo một số phương án, bazơ vô cơ có thể được tạo ra dưới dạng dung dịch chứa nước. Theo một số phương án, bazơ vô cơ có thể được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ cao. Nhóm chức amidoxim của công thức F7 có thể được bảo vệ dưới dạng oxadiazolon sử dụng 1,1'-carbonyl diimidazol (CDI) trong dung môi (như etyl axetat, dioxan, THF và các dung môi tương tự) ở nhiệt độ cao như khoảng 50°C, khoảng 60°C, khoảng 70°C, khoảng 80°C, khoảng 90°C hoặc khoảng 100°C. Nhóm metoxy trong hợp chất có công thức F8 có thể được chuyển hóa thành nhóm hydroxyl trong hợp chất có công thức F9 sử dụng chất khử bảo vệ metoxy đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này, như các chất trong tài liệu: Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., pp 24-30, John Wiley & Sons: New York, 2006. Ví dụ, bằng cách thêm ba tribromua vào dung dịch lạnh của hợp chất có công thức F8 (như ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -78°C đến 25°C, ví dụ, từ -78°C đến 10°C, từ -78°C đến 0°C, từ -78°C đến -10°C, từ 0°C đến 25°C hoặc từ 0°C đến 10°C), tùy ý trong dung môi như dung môi đã halogen hóa (ví dụ, DCM, clorofom và các dung môi tương tự) hoặc etyl axetat. Nhóm hydroxyl bậc một trong hợp chất có công thức F9 sau đó có thể được hoạt hóa dưới dạng nhóm rời chuyển $\text{L}^1\text{O}-$ (xem hợp chất có công thức F10) bằng cách xử lý liên tiếp bằng L^1Cl , tùy ý trong dung môi (như etyl axetat hoặc DCM) và bazơ hữu cơ để trung hòa HCl tạo thành (như triethylamin hoặc DIPEA). Ví dụ, L^1 có thể được chọn từ alkylsulfonyl (ví dụ, metansulfonyl), haloalkylsulfonyl (ví dụ, triflometansulfonyl), arylsulfonyl (ví dụ, toluensulfonyl) và các chất tương tự. Sau đó, hợp chất có công thức F10 có thể được xử lý bằng chất ái nhân bất kỳ để thay thế (như bằng cơ chế $\text{S}_{\text{N}}2$) của nhóm rời chuyển L^1O .



Sơ đồ 3

Theo cách khác, hợp chất có công thức F12 có thể thu được thông qua trình tự các bước được nêu trong sơ đồ 4.



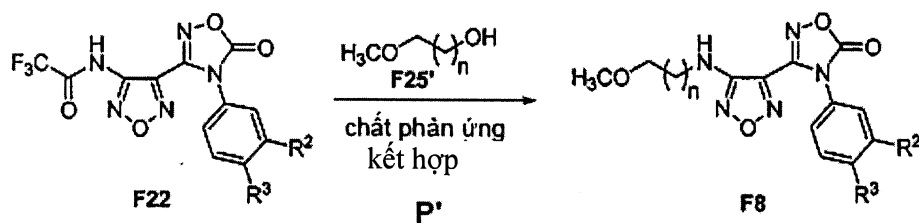
Sơ đồ 4

Đề cập đến sơ đồ 4, theo một số phương án, hợp chất có công thức F12 có thể thu được bằng cách cho hợp chất có công thức F24 hoặc muối của nó, trong đó Pg^3N là amin được bảo vệ (ví dụ, $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C-NH}$, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C=N}$ và các nhóm tương tự), phản ứng với chất khử bảo vệ amino để tạo ra hợp chất có công thức F12. Việc xử lý hợp chất có công thức F24 để thay thế Pg^3N bằng NH_2 (bước Q) có thể được thực hiện bằng các phương pháp khử bảo vệ nhóm bảo vệ amin cụ thể đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này, như các chất trong tài liệu: Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., pp 696-926, John Wiley & Sons: New York, 2006. Theo một số phương án, khi Pg^3N là $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C=N}$, thì nhóm khử bảo vệ có thể là axit như axit hữu cơ (ví dụ, axit trifloaxetic, axit metansulfonic và các axit tương tự) hoặc axit vô cơ (ví dụ, axit clohydric); hydro và paladi; hoặc axit hydroxylamin (NH_2OH). Theo một số phương án, khi Pg^3N là $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C-NH}$, thì nhóm khử bảo vệ có thể bao gồm axit hữu cơ (như axit trifloaxetic, axit metansulfonic và các axit tương tự) và tùy ý là silan hữu cơ; hydro và paladi; hoặc natri trong amoniac lỏng. Các silan hữu cơ là các hợp chất chứa ít nhất một liên kết Si-H và phần còn lại của các nhóm được gắn với silic là alkyl, aryl hoặc dạng kết hợp của chúng. Các ví dụ về các silan hữu cơ bao gồm trialkylsilan (ví dụ, tri(isopropyl)silan)), triarylsilan (ví dụ, triphenylsilan) hoặc diphenylmetylsilan. Bước Q có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 60°C , ví dụ, từ -10°C đến 0°C , từ 0°C đến 25°C , từ 25°C đến 45°C hoặc từ 45°C đến 60°C .

Hợp chất có công thức F24 là amin bậc hai được bảo vệ có thể được điều chế bằng phản ứng Mitsunobu của các rượu có công thức F25 với amin bậc một được bảo vệ có công thức F22 với sự có mặt của chất phản ứng kết hợp (bước P). Chất phản ứng kết hợp có thể là hỗn hợp của phosphin bậc ba như triarylphosphin (ví dụ, triphenylphosphin) hoặc trialkylphosphin (ví dụ, tributylphosphin) và dialkyl azodicarboxylat. Dialkyl azodicarboxylat có cấu tạo chung ROOC-N=N-COOR , trong đó R có thể là nhóm alkyl (ví dụ, diisopropyl azodicarboxylat, diethyl azodicarboxylat hoặc di-p-clobenzyl azodicarboxylat). Trong khi không dự định bị ràng buộc bởi lý thuyết bất kỳ, nhưng tin là việc bảo vệ amin bằng nhóm trifloaxetyl (như trong hợp chất có công thức F22) ngăn các phản ứng phụ và cải thiện hiệu suất của amin bậc hai có công thức F24. Nhóm hydroxyl của các rượu như rượu có công thức F25 có thể được hoạt hóa với sự có mặt của chất phản ứng kết hợp. Chất ái nhân amin có thể đổi

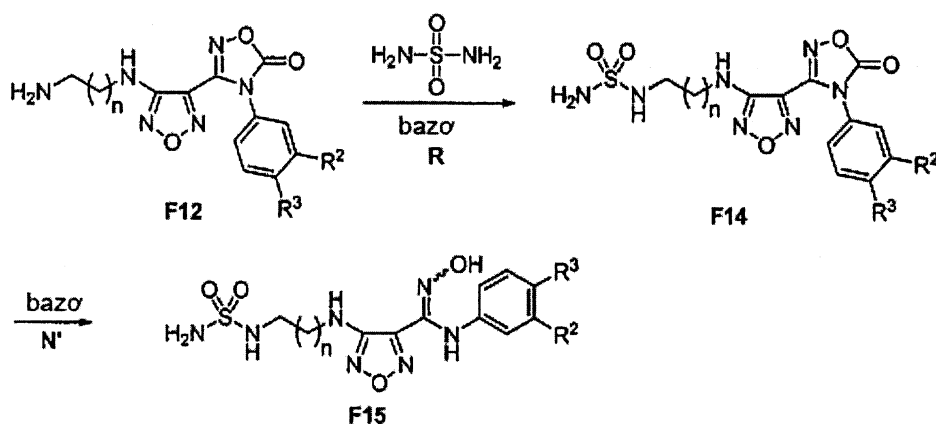
chỗ nhóm hydroxyl đã hoạt hóa để tạo ra amin bậc hai. Phản ứng Mitsunobu có thể được thực hiện trong dung môi như ete, ví dụ, THF, dioxan, dialkyl ete và các dung môi tương tự; các dung môi đã halogen hóa, ví dụ, diclometan, clorofom và các dung môi tương tự; các dung môi không phân cực, ví dụ, benzen, toluen và các dung môi tương tự; dung môi không proton phân cực như DMF, HMPA và các dung môi tương tự. Theo một số phương án, hợp chất có công thức F24 có thể thu được bằng cách xử lý hợp chất có công thức F22 hoặc muối của nó, bằng hợp chất có công thức F25 hoặc muối của nó và chất phản ứng kết hợp để tạo ra hợp chất có công thức F24. Theo một số phương án, bước này có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 60°C , ví dụ, từ -10°C đến 0°C , từ 0°C đến 25°C , từ 25°C đến 45°C hoặc từ 45°C đến 60°C .

Hợp chất có công thức F22 có thể được tạo ra bằng quy trình hai bước (các bước G' và O) từ hợp chất có công thức F21. Hợp chất có công thức F21 có thể được xử lý bằng 1,1'-carbonyl diimidazol (CDI), tùy ý trong dung môi (như etyl axetat hoặc THF), ở nhiệt độ cao như khoảng 50°C , ví dụ, khoảng 60°C , khoảng 65°C , khoảng 70°C , khoảng 80°C hoặc khoảng 90°C , để chuyển hóa amidoxim trong các hợp chất có công thức F21 thành oxadiazolon có trong các hợp chất có công thức F26. Các hợp chất có công thức F26 có thể được xử lý bằng anhydrit trifloaxetic, tùy ý trong dung môi (như DCM, THF, dioxan hoặc etyl axetat) với sự có mặt của bazơ hữu cơ (như pyridin, triethylamin, DIPEA và các bazơ tương tự) để tạo ra các hợp chất có công thức F22. Theo một số phương án, hợp chất có công thức F22 có thể thu được bằng cách xử lý hợp chất có công thức F21 hoặc muối của nó, bằng carbonyl diimidazol (CDI) để tạo ra hợp chất có công thức F26 hoặc muối của nó và xử lý hợp chất có công thức F26 bằng anhydrit trifloaxetic để tạo ra hợp chất có công thức F22.



Sơ đồ 5

Đề cập đến sơ đồ 5 (bước P') và dựa vào phần mô tả nêu trên về phản ứng Mitsunobu, theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức F8 hoặc muối của nó, trong đó, R^2 , R^3 và n được định nghĩa ở đây; bao gồm bước cho hợp chất có công thức F22 hoặc muối của nó và hợp chất có công thức F25' hoặc muối của nó, phản ứng với chất phản ứng kết hợp, tùy ý trong dung môi (như THF, dialkyl ete hoặc diclometan), để tạo ra hợp chất có công thức F8. Theo một số phương án, bước này có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 60°C , ví dụ, từ -10°C đến 0°C , từ 0°C đến 25°C , từ 25°C đến 45°C hoặc từ 45°C đến 60°C .



Sơ đồ 6

Sơ đồ 6 mô tả cách khác để đưa nhóm sulfonamit vào hợp chất amino có công thức F12. Việc xử lý hợp chất có công thức F12 bằng sulfamit với sự có mặt của bazo (bước R) như bazo hữu cơ mà có thể là bazo dị vòng (ví dụ, pyridin) hoặc trialkylamin (ví dụ, triethylamin, DIPEA và các bazo tương tự), mỗi bazo này tùy ý có thể được sử dụng làm dung môi để thực hiện việc chuyển hóa này, có thể tạo ra các sulfonyl ure như hợp chất có công thức F14. Phản ứng này có thể được thực hiện ở nhiệt độ cao như khoảng 130°C , ví dụ, khoảng 100°C , khoảng 110°C , khoảng 120°C , khoảng 130°C hoặc khoảng 140°C . Việc đun nóng này có thể được thực hiện dễ dàng bằng cách chiếu vi sóng. Việc chiếu vi sóng có thể được thực hiện trong lò vi sóng bán trên thị trường (ví dụ, InitiatorTM, do Biotage bán trên thị trường) hoạt động ở chế độ đơn lẻ. Các hợp chất có công thức F14 chứa vòng oxadiazolon có thể được khử bảo vệ (ví dụ, thủy phân) thành các amidoxim mong muốn có công thức F15 với sự có mặt của bazo (bước N'). Bazo có thể là bazo hữu cơ như amin không vòng (ví dụ, triethylamin,

diisopropyletylamin (DIPEA), v.v.) hoặc amin vòng (ví dụ, pyrrolidin, piperidin, v.v.); hoặc bazơ vô cơ như kiềm (ví dụ, NaOH, LiOH, KOH, $Mg(OH)_2$, v.v.). Bazơ có thể được tạo ra có sẵn dưới dạng nhựa (như Amberlite® và các chất tương tự). Theo một số phương án khác, bazơ có thể được tạo ra dưới dạng dung dịch trong nước như dung dịch khoảng 2N (ví dụ, dung dịch khoảng 0,5N, dung dịch khoảng 1N, dung dịch khoảng 1,5N, dung dịch khoảng 2,5N, dung dịch từ 3N đến 5N, dung dịch từ 5N đến 10N). Theo một số phương án, bazơ có thể là hydroxit của kim loại kiềm (như, natri hydroxit). Theo một số phương án, bazơ có thể là dung dịch nước NaOH 2N. Theo một số phương án, dung môi có thể là metanol hoặc tetrahydrofuran (THF). Theo một số phương án, việc khử bảo vệ có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ $-10^{\circ}C$ đến $60^{\circ}C$, ví dụ, từ $-10^{\circ}C$ đến $0^{\circ}C$, từ $0^{\circ}C$ đến $25^{\circ}C$, từ $25^{\circ}C$ đến $45^{\circ}C$ hoặc từ $45^{\circ}C$ đến $60^{\circ}C$. Do đó, khía cạnh này của sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức F15 hoặc muối của nó, trong đó R^2 , R^3 và n , như được định nghĩa ở đây; bao gồm bước cho hợp chất có công thức F12 hoặc muối của nó, phản ứng với sulfamit và bazơ hữu cơ để tạo ra hợp chất có công thức F14 hoặc muối của nó và cho hợp chất có công thức F14 hoặc muối của nó phản ứng với bazơ để tạo ra hợp chất có công thức F15.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức F9, F12 và F14 hoặc muối của nó, trong đó R^2 là Cl, Br, CF_3 , CH_3 hoặc CN; R^3 là H hoặc F; và n bằng 1 hoặc 2.

Theo một số phương án, R^2 là Br, R^3 là F và n bằng 1.

Theo một số phương án, R^2 là Br, R^3 là F và n bằng 2.

Theo một số phương án, R^2 là Cl, R^3 là F và n bằng 1.

Theo một số phương án, R^2 là Cl, R^3 là F và n bằng 2.

Theo một số phương án, R^2 là CF_3 , R^3 là F và n bằng 1.

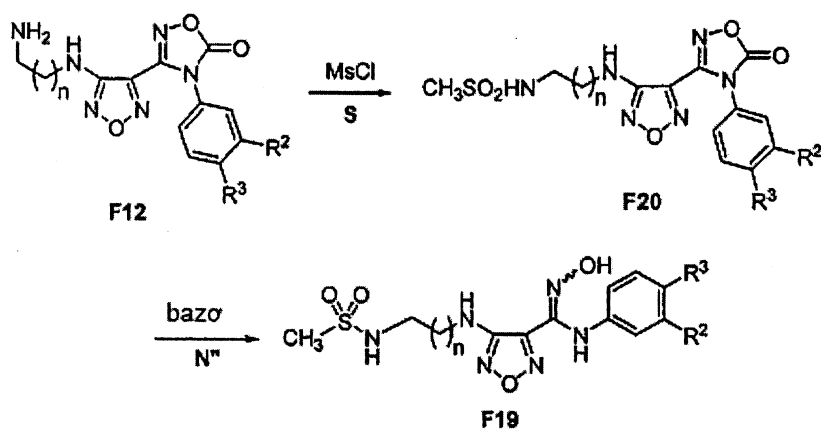
Theo một số phương án, R^2 là CF_3 , R^3 là F và n bằng 2.

Theo một số phương án, R là CF_3 , R^3 là H và n bằng 1.

Theo một số phương án, R^2 là CF_3 , R^3 là H và n bằng 2.

Theo một số phương án, R^2 là CH_3 , R^3 là F và n bằng 1.

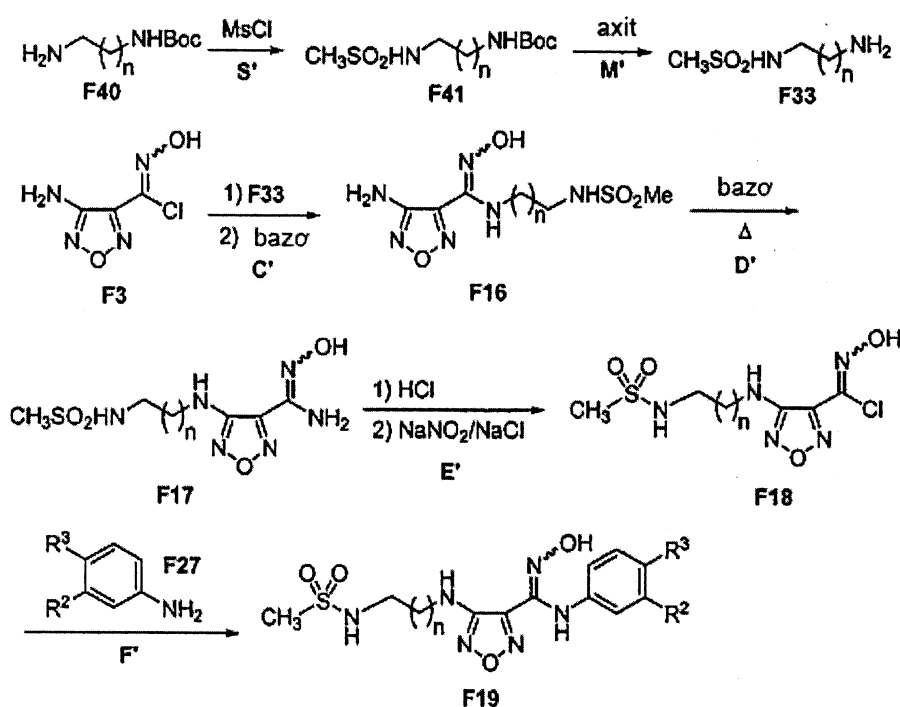
Theo một số phương án, R^2 là CN, R^3 là F và n bằng 1.



Sơ đồ 7

Đề cập đến sơ đồ 7, các hợp chất có công thức F19 có thể thu được từ hợp chất amino bậc một có công thức F12 bằng cách xử lý bằng metansulfonyl clorua (bước S), tùy ý trong dung môi như etyl axetat, các dung môi đã halogen hóa (ví dụ, diclometan, clorofom và các dung môi tương tự) hoặc các dung môi dễ bay hơi (THF, dietyl ete, dioxan và các dung môi tương tự), với sự có mặt của bazơ hữu cơ (trung hòa HCl tạo thành) như tri(C_{1-6})alkylamin (ví dụ, trietylamin, DIPEA và các bazơ tương tự) hoặc pyridin để tạo ra các sulfonamit có công thức F20. Nhóm metan-sulfonyl có thể được thay thế bằng nhóm alkylsulfonyl khác (ví dụ, etylsulfonyl), haloalkylsulfonyl (ví dụ, triflometansulfonyl), arylsulfonyl (ví dụ, toluensulfonyl) và các nhóm tương tự, mà không thay đổi quy trình. Theo một số phương án, bước này có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 60°C , ví dụ, từ -10°C đến 0°C , từ 0°C đến 25°C , từ 25°C đến 45°C hoặc từ 45°C đến 60°C . Các hợp chất sulfonamit có công thức F20 chứa vòng oxadiazolon có thể được khử bảo vệ (ví dụ, thủy phân) thành các amidoxim có công thức F19 mong muốn với sự có mặt của bazơ (bước N''). Bazơ có thể là bazơ hữu cơ như amin không vòng (ví dụ, trietylamin, diisopropyletylamin (DIPEA), v.v.) hoặc amin vòng (ví dụ, pyrrolidin, piperidin, v.v.); hoặc bazơ vô cơ như hydroxit của kim loại kiềm hoặc hydroxit của kim loại kiềm thổ (ví dụ, NaOH, LiOH, KOH, $\text{Mg}(\text{OH})_2$, v.v.). Bazơ có thể được tạo ra có sẵn dưới dạng nhựa (như

Amberlite® và sản phẩm tương tự). Theo một số phương án khác, bazơ có thể được tạo ra dưới dạng dung dịch trong nước như dung dịch khoảng 2N (ví dụ, dung dịch khoảng 0,5N, dung dịch khoảng 1N, dung dịch khoảng 1,5N, dung dịch khoảng 2,5N, dung dịch từ 3N đến 5N, dung dịch từ 5N đến 10N). Theo một số phương án, bazơ là hydroxit của kim loại kiềm (ví dụ, natri hydroxit). Theo một số phương án, bazơ có thể là dung dịch nước NaOH 2N. Theo một số phương án, dung môi có thể là metanol hoặc tetrahydrofuran (THF). Theo một số phương án, việc khử bảo vệ có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 60°C, ví dụ, từ -10°C đến 0°C, từ 0°C đến 25°C, từ 25°C đến 45°C hoặc từ 45°C đến 60°C. Do đó, theo khía cạnh khác sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức F19 hoặc muối của nó, trong đó R², R³ và n, như được định nghĩa ở đây; bao gồm bước cho hợp chất có công thức F12 hoặc muối của nó, phản ứng với metansulfonyl clorua với sự có mặt của bazơ hữu cơ để tạo ra hợp chất có công thức F20 hoặc muối của nó và cho hợp chất có công thức F20 phản ứng với bazơ để tạo ra hợp chất có công thức F19. Theo một số phương án, bazơ có thể là hydroxit của kim loại kiềm như natri hydroxit (ví dụ, NaOH 2N).



Sơ đồ 8

Aryl hoặc alkylsulfonamit (ví dụ, metansulfonamit có công thức F19) có thể thu được bằng trình tự các bước được thể hiện trong sơ đồ 8. Các 1,n-diamin được bảo vệ một lần như hợp chất có công thức F40 (ví dụ, N-(aminoalkyl)(t-butoxy)carboxamit có bán trên thị trường) có thể được xử lý bằng các sulfonyl clorua như arylsulfonyl clorua hoặc alkylsulfonyl clorua (ví dụ, metansulfonyl clorua), tùy ý trong dung môi như etyl axetat, dung môi đã halogen hóa (ví dụ, diclometan, clorofom và các dung môi tương tự) hoặc dung môi dễ bay hơi (THF, dietyl ete, dioxan và các dung môi tương tự), với sự có mặt của bazơ hữu cơ (để trung hòa HCl tạo thành) như trietylamin, pyridin, DIPEA và các bazơ tương tự, để tạo ra các sulfonamit có công thức F41 (bước S'). Nhóm bảo vệ các 1,n-diamin được bảo vệ một lần hợp chất có công thức F40 có thể được chọn từ các nhóm bảo vệ amino khác nhau và các điều kiện khử bảo vệ thích hợp có thể được chọn thích hợp (nêu trên) để tạo ra amin có công thức F33 (bước M'). Theo một số phương án, nhóm bảo vệ có thể là alkoxycarbonyl (như tert-butoxycarbonyl, Boc). Theo các phương án này, chất khử bảo vệ amino có thể là axit, ví dụ, axit clohydric hoặc axit trifloaxetic, tùy ý trong dung môi (như dioxan).

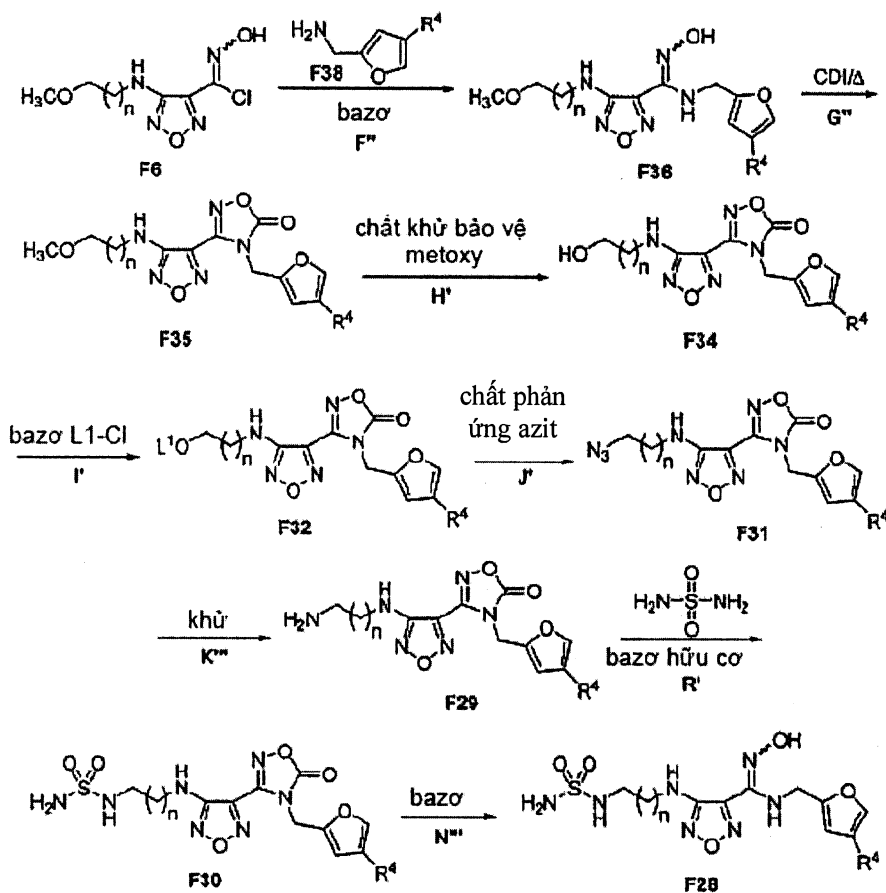
Việc điều chế clo oxim có công thức F3 đã được mô tả trong tài liệu: Synth. Commun. (1988), 18, 1427. Các amin (như amin bậc một hoặc bậc hai bao gồm amin chứa nhóm chức được bảo vệ, ví dụ, etyl amin, 2-metoxyletylamin, dimetylamin hoặc F33) có thể được kết hợp clo oxim có công thức F3, tùy ý trong dung môi (như etyl axetat hoặc etanol), tiếp đó thêm bazơ hữu cơ (như trietylamin hoặc DIPEA để trung hòa HCl được tạo ra trong phản ứng) để tạo ra các hợp chất amidoxim có công thức F16 (bước C'). Theo một số phương án, bước này có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 60°C, ví dụ, từ -10°C đến 0°C, từ 0°C đến 25°C, từ 25°C đến 45°C hoặc từ 45°C đến 60°C. Việc tái cấu trúc đối với hợp chất như F16 để đổi chỗ nhóm amin ở cacbon vòng và nhóm amino ở cacbon oxim để tạo ra các hợp chất như hợp chất có công thức F17 (bước D') có thể được thực hiện bằng cách xử lý hợp chất có công thức F16 bằng bazơ (như KOH, NaOH, LiOH, Mg(OH)₂, Al(OH)₃ và các bazơ tương tự), tùy ý trong dung môi (như nước, etanol, etylen glycol và các dung môi tương tự) và hồi lưu hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ cao, ví dụ, khoảng 70°C, khoảng 80°C, khoảng 90°C, khoảng 100°C, khoảng 110°C, khoảng 120°C, khoảng 130°C, khoảng 140°C, khoảng 150°C, khoảng 160°C, khoảng 170°C, khoảng 180°, khoảng 190°C hoặc khoảng 200°C. Amidoxim có công thức F17 có thể lại được hoạt

hóa dưới dạng clo oxim có công thức F18 bằng cách thêm hợp chất có công thức F17 vào hỗn hợp axit chứa nước chứa axit clohydric, tùy ý bao gồm axit axetic (bước E'). Trong quy trình chuyển hóa hợp chất có công thức F17 thành hợp chất có công thức F18 này, hỗn hợp axit có công thức F17 có thể được đun nóng đến nhiệt độ khoảng 45°C, như khoảng 30°C, khoảng 40°C, khoảng 50°C hoặc khoảng 60°C để thực hiện việc hòa tan. Natri clorua có thể được bổ sung vào dung dịch này và được xử lý bằng chất phản ứng nitrit, mà tùy ý có thể được cung cấp dưới dạng dung dịch chứa nước, ở nhiệt độ dưới 0°C như dưới -10°C, dưới -5°C, dưới 5°C hoặc dưới 10°C. Chất phản ứng nitrit là chất có khả năng tạo ra anion nitrit. Các chất phản ứng nitrit bao gồm nitrit kim loại kiềm (ví dụ, natri nitrit, kali nitrit và các chất tương tự) và nitrit hữu cơ (ví dụ, tetraetylamoni nitrit) mà bao gồm cation hữu cơ. Theo một số phương án, etyl axetat, THF hoặc dioxan có thể được sử dụng làm đồng dung môi. Việc thế clorua trong hợp chất có công thức F18 bằng amin thơm như anilin có công thức F27, tùy ý trong dung môi phân cực (như metanol, nước, etanol và các nhóm tương tự) ở nhiệt độ trong phòng có thể tạo ra metansulfonamit có công thức F19 (bước F'). Theo một số phương án, nhiệt độ như khoảng 10°C, khoảng 20°C, khoảng 30°C, khoảng 40°C hoặc khoảng 50°C có thể được sử dụng. Phản ứng này tùy ý có thể được thực hiện với sự có mặt của bazơ vô cơ (như KHCO_3 , NaHCO_3) mà có thể được cung cấp dưới dạng dung dịch chứa nước.

Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức F19 hoặc muối của nó, trong đó R^2 , R^3 và n, như được định nghĩa ở đây; bao gồm bước cho hợp chất có công thức F17 hoặc muối của nó phản ứng với axit clohydric, tùy ý trong dung môi (như dioxan), tiếp đó xử lý bằng chất phản ứng nitrit (như, natri nitrit), tùy ý dưới dạng dung dịch chứa nước, để tạo ra hợp chất có công thức F18 hoặc muối của nó và cho hợp chất có công thức F18 phản ứng với hợp chất có công thức F27 hoặc muối của nó, để tạo ra hợp chất có công thức F19.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức F17 có thể thu được bằng cách xử lý hợp chất có công thức F16 hoặc muối của nó, bằng bazơ (như kali hydroxit) trong dung môi (như etylen glycol) ở nhiệt độ đủ để hồi lưu dung môi (như 130°C), để tạo ra hợp chất có công thức F17.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức F18 hoặc muối của nó, trong đó n bằng 1 hoặc 2. Theo một số phương án, n bằng 1. Theo một số phương án, n bằng 2.



Sơ đồ 9

Các hợp chất có công thức F28 có thể thu được như được mô tả trong sơ đồ 9. Clo oxim có công thức F6 (nêu trên, sơ đồ 1) có thể được kết hợp với amin dị vòng (như hợp chất có công thức F38), tùy ý trong dung môi phân cực (như metanol, nước, etanol và các dung môi tương tự), với sự có mặt của bazơ như bazơ vô cơ hoặc bazơ hữu cơ (ví dụ, Et₃N, pyridin hoặc DIPEA) để tạo ra arylamidoxim có công thức F36 (bước F''). Theo một số phương án, việc chuyển hóa chất có công thức F6 thành hợp chất có công thức F36 có thể được thực hiện ở nhiệt độ như khoảng 10°C, khoảng 20°C, khoảng 30°C, khoảng 40°C, khoảng 50°C, khoảng 60°C hoặc khoảng 90°C. Theo một số phương án, bazơ vô cơ có thể được tạo ra dưới dạng dung dịch chứa nước. Theo một số phương án, bazơ vô cơ có thể được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ cao. Nhóm chức amidoxim của hợp chất có công thức F36 có thể được bảo vệ

dưới dạng oxadiazolon bằng cách sử dụng 1,1'- carbonyl diimidazol (CDI) trong dung môi (như etyl axetat, dioxan, THF và các dung môi tương tự) ở nhiệt độ cao như khoảng 50°C, khoảng 60°C, khoảng 70°C, khoảng 80°C, khoảng 90°C hoặc khoảng 100°C (bước G''). Nhóm metoxy của hợp chất có công thức F35 có thể được chuyển hóa thành nhóm hydroxyl trong hợp chất có công thức F34 bằng các phương pháp đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này để khử bảo vệ nhóm metoxy (bước H'), như các phương pháp trong tài liệu: Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., pp 24-30, John Wiley & Sons: New York, 2006. Ví dụ, bằng cách thêm bo tribromua vào dung dịch lạnh của hợp chất có công thức F35 (như nằm trong khoảng từ -78°C đến 25°C, ví dụ, từ -78°C đến 10°C, từ -78°C đến 0°C, từ -78°C đến -10°C, từ 0°C đến 25°C hoặc từ 0°C đến 10°C), tùy ý trong dung môi như dung môi đã halogen hóa (ví dụ, DCM, clorofom và các dung môi tương tự) hoặc etyl axetat. Nhóm hydroxyl bậc một trong hợp chất có công thức F34 có thể được hoạt hóa dưới dạng nhóm rời chuyển L¹O- (xem bước I', hợp chất có công thức F32) bằng cách xử lý bằng L¹Cl, tùy ý trong dung môi (như etyl axetat hoặc DCM) và bazơ hữu cơ để trung hòa HCl tạo thành (như triethylamin hoặc DIPEA). Trong hợp chất có công thức F32, L¹ có thể được chọn từ alkylsulfonyl (ví dụ, metansulfonyl), haloalkylsulfonyl (ví dụ, triflometansulfonyl), arylsulfonyl (ví dụ, toluensulfonyl) và các hợp chất tương tự. Hợp chất có công thức F32 có thể được xử lý bằng chất ái nhân bất kỳ để thay thế S_N2 trong nhóm rời chuyển L¹O. Theo một số phương án, bước này có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 60°C, ví dụ, từ -10°C đến 0°C, từ 0°C đến 25°C, từ 25°C đến 45°C hoặc từ 45°C đến 60°C.

Khi chất ái nhân là ion azit, thì hợp chất có công thức F32 tạo ra hợp chất có công thức F31 (bước J'). Các chất phản ứng azit bao gồm chất phản ứng bất kỳ có khả năng tạo ra ion azit ái nhân. Ví dụ về chất phản ứng azit bao gồm azit kim loại kiềm (như natri azit, kali azit). Theo một số phương án tùy ý, chất phản ứng azit như natri azit có thể được sử dụng kết hợp với natri iodua. Các dung môi thích hợp cho sự chuyển hóa này là các dung môi phân cực bao gồm DMF, DMSO, NMP và các dung môi tương tự. Theo một số phương án, bước này có thể được thực hiện trong DMF. Theo một số phương án, bước này có thể được thực hiện ở nhiệt độ cao ví dụ, nằm trong khoảng từ 40°C đến 100°C, từ 50°C đến 90°C hoặc từ 60°C đến 80°C. Theo một

số phương án, bước này có thể được thực hiện ở 50°C. Theo một số phương án, bước này có thể được thực hiện ở nhiệt độ 85°C. Azit hữu cơ như hợp chất có công thức F31 có thể được khử thành amin hữu cơ như hợp chất có công thức F29 bằng cách thêm hydro, dưới dạng hydro nguyên tố; bằng cách sử dụng chất phản ứng hydrua (như NaBH_4 , LiAlH_4 và các chất tương tự); sử dụng triphenylphosphin; hoặc sử dụng hỗn hợp của natri iodua, clotrimetylsilan và metanol (bước K^{''''}). Theo một số phương án, việc khử có thể được thực hiện với sự có mặt của natri iodua, clotrimetylsilan và metanol. Theo một số phương án, việc khử có thể được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng, ví dụ, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10°C đến 50°C, từ 15°C đến 40°C, từ 20°C đến 30°C hoặc từ 25°C đến 30°C. Theo một số phương án, tỷ lệ mol của natri iodua so với clotrimetylsilan có thể vào khoảng 1,0, ví dụ, khoảng 0,9, khoảng 0,95, khoảng 1,0, khoảng 1,05 hoặc khoảng 1,1. Theo một số phương án, clotrimetylsilan có thể được bổ sung vào hỗn hợp của F31, natri iodua và metanol dưới dạng dung dịch trong metanol.

Việc xử lý hợp chất có công thức F29 bằng sulfamid với sự có mặt của bazơ như bazơ hữu cơ mà có thể là bazơ dị vòng (ví dụ, pyridin) hoặc trialkylamin (ví dụ, triethylamin, DIPEA và các bazơ tương tự), mỗi bazơ này tùy ý có thể được sử dụng làm dung môi cho quá trình chuyển hóa này để tạo ra sulfonyl ure như hợp chất có công thức F30 (bước R'). Phản ứng này có thể được thực hiện ở nhiệt độ cao như khoảng 130°C, ví dụ, khoảng 100°C, khoảng 110°C, khoảng 120°C, khoảng 130°C hoặc khoảng 140°C. Việc đun nóng này có thể được thực hiện dễ dàng bằng cách chiếu vi sóng. Việc chiếu vi sóng có thể được thực hiện trong lò vi sóng có sẵn (ví dụ, InitiatorTM, có sẵn từ Biotage) hoạt động ở chế độ đơn lẻ. Hợp chất có công thức F30 chứa vòng oxadiazolon có thể được khử bảo vệ (ví dụ, thủy phân) thành các amidoxim mong muốn có công thức F28 với sự có mặt của bazơ (bước N^{'''}). Bazơ có thể là bazơ hữu cơ như amin không vòng (ví dụ, triethylamin, diisopropyletylamin (DEPEA), v.v.) hoặc amin vòng (ví dụ, pyrrolidin, piperidin, v.v.); hoặc bazơ vô cơ như kiềm (ví dụ, NaOH, LiOH, KOH, $\text{Mg}(\text{OH})_2$, v.v.). Bazơ có thể được tạo ra có sẵn dưới dạng nhựa (như Amberlite[®] và các sản phẩm tương tự). Theo một số phương án khác, bazơ có thể được tạo ra dưới dạng dung dịch trong nước (dung dịch bazơ) như dung dịch khoảng 2N (ví dụ, dung dịch khoảng 0,5N, dung dịch khoảng 1N, dung dịch khoảng 1,5N, dung dịch khoảng 2,5N, dung dịch từ 3N đến 5N, dung dịch từ 5N đến 10N). Theo

một số phương án, bazơ có thể là hydroxit của kim loại kiềm (ví dụ, natri hydroxit). Theo một số phương án, bazơ có thể là dung dịch nước NaOH 2N. Theo một số phương án, dung môi có thể là metanol hoặc tetrahydrofuran (THF). Theo một số phương án, việc khử bảo vệ có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 60°C, ví dụ, từ -10°C đến 0°C, từ 0°C đến 25°C, từ 25°C đến 45°C hoặc từ 45°C đến 60°C.

Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức F28 hoặc muối của nó, trong đó R^4 là F, Cl, Br hoặc I; và n bằng 1 hoặc 2; bao gồm bước cho hợp chất có công thức F29 hoặc muối của nó, phản ứng với sulfamid và bazơ hữu cơ để tạo ra hợp chất có công thức F30 hoặc muối của nó và cho hợp chất có công thức F30 phản ứng với bazơ để tạo ra hợp chất có công thức F28.

Theo một số phương án, R^4 là Cl và n bằng 1.

Theo một số phương án, R^4 là Br và n bằng 1.

Theo một số phương án, phản ứng của hợp chất có công thức F29 còn bao gồm bước đun nóng (như sử dụng chiếu vi sóng).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức F29 bằng cách khử hợp chất có công thức F31 hoặc muối của nó. Theo một số phương án, việc khử có thể được thực hiện bằng hỗn hợp của natri iodua, clotrimetyl-silan và metanol.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất có công thức F31 có thể thu được bằng cách xử lý hợp chất có công thức F32 hoặc muối của nó, trong đó L^1 được chọn từ alkylsulfonyl, haloalkylsulfonyl và arylsulfonyl; bằng chất phản ứng azit để tạo ra hợp chất có công thức F31.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “alkyl” khi được sử dụng một mình hoặc cùng với các thuật ngữ chỉ gốc khác, dùng để chỉ nhóm hydrocacbon no, mạch thẳng hoặc nhánh có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon hoặc từ 1 đến 3 nguyên tử cacbon. Ví dụ về nhóm alkyl bao gồm metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, sec-butyl và các nhóm tương tự.

Như được sử dụng ở đây, “alkenyl” dùng để chỉ nhóm alkyl có một hoặc nhiều liên kết đôi cacbon-cacbon. Ví dụ về nhóm alkenyl bao gồm etenyl (vinyl), propenyl và các nhóm tương tự.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “aryl” dùng để chỉ nhóm hydrocacbon thơm có thể là một vòng hoặc nhiều vòng có từ 6 đến 14 nguyên tử cacbon. Ví dụ về nhóm aryl bao gồm phenyl, naphtyl, antraxenyl, phenantrenyl, indanyl, indenyl và các nhóm tương tự.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “haloalkyl” khi được sử dụng một mình hoặc cùng với gốc khác, dùng để chỉ nhóm alkyl được thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen độc lập được chọn từ F, Cl, Br và I. Ví dụ về nhóm haloalkyl bao gồm CF_3 , CHF_2 , CH_2CF_3 và các nhóm tương tự.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “alkoxy” dùng để chỉ nhóm -O-alkyl. Ví dụ về nhóm alkoxy bao gồm metoxy, etoxy, propoxy (ví dụ, n-propoxy và isopropoxy), t-butoxy và các nhóm tương tự.

Như được sử dụng ở đây, “alkylamin” dùng để chỉ nhóm amino (NH_2) được thế bằng nhóm alkyl. Ví dụ về nhóm alkylamin bao gồm metylamin, hexylamin và các nhóm tương tự.

Như được sử dụng ở đây, “trialkylamin” dùng để chỉ nguyên tử nitơ được thế bằng ba nhóm alkyl. Ví dụ về nhóm trialkylamin bao gồm trimetylamin, trietylamin và các nhóm tương tự.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “alkoxycarbonyl” dùng để chỉ CO được thế bằng nhóm alkoxy: $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{alkyl}$. Ví dụ về nhóm alkoxycarbonyl bao gồm etoxycarbonyl, tert-butoxycarbonyl (Boc), benzyloxycarbonyl (Cbz), 9-florenyl-metyloxycarbonyl (Fmoc) và các nhóm tương tự.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “alkylsulfonyl” dùng để chỉ nhóm sulfonyl được thế bằng nhóm alkyl: $\text{alkylS}(\text{O})_2-$. Ví dụ về nhóm alkylsulfonyl bao gồm metansulfonyl, etansulfonyl và các nhóm tương tự.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “haloalkylsulfonyl” dùng để chỉ nhóm sulfonyl được thế bằng nhóm haloalkyl. Ví dụ về nhóm haloalkylsulfonyl bao gồm, triflometansulfonyl, 1,1,1 -trifloetansulfonyl và các nhóm tương tự.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “arylsulfonyl” dùng để chỉ nhóm sulfonyl được thế bằng nhóm aryl hoặc nhóm aryl được thế, trong đó các phần tử thế ở nhóm aryl được chọn từ halo, nitro, C₁₋₄ alkyl và C₁₋₄ haloalkyl.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “bazơ dị vòng” dùng để chỉ dị vòng có từ 4 đến 14 cạnh, tùy ý được thế trong đó ít nhất là một phần tử tạo vòng là nguyên tử nitơ. Bazơ dị vòng có thể thơm hoặc không thơm. Ví dụ về bazơ dị vòng bao gồm pyridin, pyrrolidin, piperidin, morpholin, v.v.. Ví dụ về các phần tử thế ở dị vòng này bao gồm F, Cl, Br, C₁₋₄ alkyl và C₁₋₄ haloalkyl.

Phương pháp sử dụng

Hợp chất theo sáng chế có thể ức chế hoạt tính của enzym indolamin-2,3-dioxygenaza (IDO). Ví dụ, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để ức chế hoạt tính của IDO trong tế bào hoặc ở đối tượng có nhu cầu điều biến enzym này bằng cách sử dụng lượng cho tác dụng ức chế của hợp chất theo sáng chế.

Sáng chế còn mô tả cách ức chế sự phân hủy của tryptophan ở hệ thống chứa các tế bào biểu hiện IDO như mô, cơ thể sống hoặc môi trường nuôi cấy tế bào. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp làm thay đổi (ví dụ, làm tăng) lượng tryptophan ngoại bào ở động vật có vú bằng cách sử dụng lượng hiệu quả của hợp chất hoặc dược phẩm được đề xuất ở đây. Phương pháp đo các mức tryptophan và mức phân hủy tryptophan là đã biết trong lĩnh vực này.

Sáng chế còn mô tả cách ức chế miễn dịch như ức chế hệ miễn dịch qua trung gian IDO ở bệnh nhân bằng cách cho bệnh nhân này sử dụng lượng hiệu quả của hợp chất hoặc dược phẩm được nêu ở đây. Việc ức chế miễn dịch qua trung gian IDO thường gắn với, ví dụ, bệnh ung thư, sự phát triển u, sự di căn, bệnh nhiễm virus, sự sao chép của virus, v.v..

Sáng chế còn mô tả cách điều trị bệnh liên quan đến hoạt tính hoặc sự biểu hiện, bao gồm hoạt tính và/hoặc sự biểu hiện bất thường của IDO ở cá thể (ví dụ, bệnh nhân) bằng cách cho bệnh nhân có nhu cầu sử dụng lượng cho tác dụng điều trị hoặc liệu cho tác dụng điều trị của hợp chất theo sáng chế hoặc được phẩm chứa chúng. Ví dụ về các bệnh có thể bao gồm bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bất kỳ mà liên quan trực tiếp hoặc gián tiếp đến sự biểu hiện hoặc hoạt tính của enzym IDO, như sự biểu hiện quá mức hoặc hoạt tính bất thường. Bệnh liên quan đến IDO cũng có thể bao gồm bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bất kỳ mà có thể được ngăn ngừa, cải thiện hoặc chữa khỏi bằng cách điều biến hoạt tính của enzym. Ví dụ về các bệnh liên quan đến IDO bao gồm bệnh ung thư, bệnh nhiễm virus như bệnh nhiễm HIV, bệnh nhiễm HCV, chứng trầm cảm, rối loạn thoái hóa thần kinh như bệnh Alzheimer và bệnh Huntington, chấn thương, bệnh đục thủy tinh thể liên quan đến tuổi tác, ghép cơ quan (ví dụ, thải loại ghép cơ quan) và bệnh tự miễn bao gồm bệnh hen, bệnh viêm đa khớp dạng thấp, chứng xơ cứng rải rác, chứng viêm do dị ứng, bệnh viêm ruột, bệnh vẩy nến và chứng luput ban đỏ toàn thân. Ví dụ về bệnh ung thư có thể điều trị bằng các cách ở đây bao gồm bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư não, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư cổ tử cung, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư đầu và bệnh ung thư cổ, u lympho, bệnh bạch cầu, u ác tính và các bệnh tương tự. Hợp chất theo sáng chế cũng có thể hữu ích để điều trị chứng béo phì và chứng thiếu máu cục bộ.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “tế bào” dùng để chỉ tế bào mà *in vitro*, *ex vivo* hoặc *in vivo*. Theo một số phương án, tế bào *ex vivo* có thể là một phần của mẫu mô được cắt ra từ cơ thể như động vật có vú. Theo một số phương án, tế bào *in vitro* có thể là tế bào trong môi trường nuôi cấy tế bào. Theo một số phương án, tế bào *in vivo* là tế bào sống trong cơ thể như động vật có vú.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “tiếp xúc” dùng để chỉ việc đưa các nhóm đã chỉ định lại gần nhau trong hệ *in vitro* hoặc hệ *in vivo*. Ví dụ, sự “tiếp xúc” của enzym IDO với hợp chất theo Sáng chế cũng đề cập đến việc dùng hợp chất theo sáng chế cho cá thể hoặc bệnh nhân, như người, có IDO, cũng như, ví dụ, đưa hợp chất theo sáng chế vào mẫu chứa tế bào hoặc chế phẩm tinh khiết chứa enzym IDO.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “cá thể” hoặc “bệnh nhân” được sử dụng thay thế cho nhau, dùng để chỉ động vật bất kỳ, bao gồm động vật có vú, tốt hơn là chuột, các loài gặm nhấm khác, thỏ, chó, mèo, lợn, gia súc, cừu, ngựa hoặc động vật linh trưởng và tốt nhất là người.

Như được sử dụng ở đây, cụm từ “lượng cho hiệu quả điều trị” dùng để chỉ lượng hoạt chất hoặc dược chất mà tạo ra đáp ứng sinh học hoặc y học ở mô, hệ thống, động vật, cá thể hoặc người mà được các nhà nghiên cứu, bác sĩ thú y, bác sĩ pháp y hoặc thầy thuốc lâm sàng khác nhắm đến.

Như được sử dụng ở đây thuật ngữ “điều trị” hoặc “việc điều trị” dùng để chỉ 1) việc ngăn ngừa bệnh; ví dụ, ngăn ngừa bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn ở cá thể mà có thể bị mắc bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn mà vẫn chưa trải qua hoặc biểu hiện bệnh hoặc triệu chứng của bệnh; 2) ức chế bệnh; ví dụ, ức chế bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn ở cá thể mà trải qua hoặc biểu hiện bệnh hoặc triệu chứng của bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn (cụ thể, làm ngừng sự phát triển thêm của bệnh và/hoặc triệu chứng) hoặc 3) cải thiện bệnh; ví dụ, cải thiện bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn ở cá thể mà trải qua hoặc biểu hiện bệnh hoặc triệu chứng của bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn (cụ thể, đảo chiều bệnh và/hoặc triệu chứng).

Điều trị kết hợp

Một hoặc nhiều dược chất hoặc phương pháp điều trị khác như, ví dụ, thuốc kháng virus, hóa chất trị liệu hoặc các chất chống ung thư khác, thuốc tăng cường miễn dịch, thuốc ức chế miễn dịch, chất phóng xạ, thuốc chống u và vắcxin kháng virus, liệu pháp xytokin (ví dụ, IL2, GM-CSF, v.v.), và/hoặc chất ức chế tyrosin kinaza có thể được sử dụng kết hợp với các hợp chất theo sáng chế để điều trị bệnh, rối loạn hoặc tình trạng liên quan đến IDO. Các thuốc này có thể được kết hợp với hợp chất theo sáng chế dưới dạng liều đơn vị hoặc thuốc này có thể được sử dụng đồng thời hoặc lần lượt dưới dạng liều riêng biệt.

Các chất kháng virus thích hợp được dự định để sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế có thể bao gồm nucleosit và các chất ức chế transcriptaza ngược nucleotit (nucleotide reverse transcriptase inhibitor-NRTI), các chất ức chế

transcriptaza ngược không nucleosit (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor-NNRTI), chất ức chế proteaza và các chất kháng virus khác.

Ví dụ về các NRTI thích hợp bao gồm zidovudin (AZT); didanosin (ddl); zalcitabin (ddC); stavudin (d4T); lamivudin (3TC); abacavir (1592U89); adefovir dipivoxil [bis(POM)-PMEA]; lobucavir (BMS-180194); BCH-10652; emitritabin [(-)-FTC]; beta-L-FD4 (còn gọi là beta-L-D4C và có tên beta-L-2',3'-dicleoxy-5-florixyden); DAPD, ((-)-beta-D-2,6,-diamino-purin dioxolan); và lodenosin (FddA). Các NNRTI thích hợp điển hình bao gồm nevirapin (BI-RG-587); delaviradin (BHAP, U-90152); efavirenz (DMP-266); PNU-142721; AG-1549; MKC-442 (1-(etoxy-metyl)-5-(1-metyletyl)-6-(phenylmetyl)-(2,4(1H,3H)-pyrimidin-dion); và (+)-calanolit A (NSC-675451) và B. Các chất ức chế proteaza thích hợp bao gồm saquinavir (Ro 31-8959); ritonavir (ABT-538); indinavir (MK-639); nelfnavir (AG-1343); amprenavir (141W94); lasinavir (BMS-234475); DMP-450; BMS-2322623; ABT-378; và AG-I 549. Các chất kháng virus khác bao gồm hydroxyure, ribavirin, IL-2, IL-12, pentafusit và Yissum Project No.11607.

Hóa chất trị liệu thích hợp hoặc chất chống ung thư khác bao gồm, ví dụ, chất alkyl hóa (bao gồm nhưng không giới hạn nitơ mù tạt, hợp chất etylenimin, alkyl sulfonat, nitrosoure và triazen) như uraxil mù tạt, clometin, xyclophosphamit (Cytosan™), ifosfamid, melphalan, clorambuxil, pipobroman, trietylen-melamin, trietylenlithiophosphoramin, busulfan, carmustin, lomustin, streptozoxin, dacarbazin và temozolomit.

Để điều trị khối u hắc sắc tố ác tính, chất thích hợp để sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế bao gồm: dacarbazin (DTIC), tùy ý, cùng với hóa chất trị liệu khác như carmustin (BCNU) và cisplatin; “phác đồ Dartmouth” gồm DTIC, BCNU, cisplatin và tamoxifen; hỗn hợp của cisplatin, vinblastin và DTIC; hoặc temozolomit. Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được kết hợp với thuốc dùng trong liệu pháp miễn dịch, bao gồm xytokin như interferon alpha, interleukin 2 và yếu tố hoại tử u (tumor necrosis factor-TNF) để điều trị khối u hắc sắc tố ác tính.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng kết hợp với liệu pháp vắc xin để điều trị khối u ác tính. Về một số mặt nào đó, vắc xin kháng u ác tính giống

với vắc xin kháng virus đã từng được sử dụng để ngăn ngừa bệnh do virus gây ra như bệnh bại liệt, bệnh sởi và bệnh quai bị. Tế bào u ác tính bị làm yếu hoặc một phần tế bào u ác tính mang kháng nguyên có thể được tiêm vào bệnh nhân để kích thích hệ miễn dịch của cơ thể phá hủy tế bào u ác tính.

U ác tính hạn chế trong cánh tay hoặc chân cũng có thể được điều trị xử lý bằng hỗn hợp chất bao gồm một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế, bằng cách sử dụng kỹ thuật truyền vào chi đã biệt lập kèm theo nâng nhiệt độ. Quy trình điều trị này tạm thời tách dòng máu lưu thông trong chi cần điều trị ra khỏi phần còn lại của cơ thể và hóa chất trị liệu được tiêm với liều cao vào động mạch nuôi dưỡng chi này, do đó tạo ra liều cao cho vùng mang u trong khi đó các cơ quan bên trong không tiếp xúc với liều này mà có thể gây ra các tác dụng phụ nghiêm trọng. Thông thường, dịch lỏng này được gia nhiệt đến 39°C đến 40°C. Melphalan là dược chất thường được sử dụng nhất trong quy trình hóa trị liệu này. Quy trình này có thể được thực hiện được chất khác gọi là yếu tố hoại tử u (tumor necrosis factor-TNF) (xem phần xytokin).

Các chất thích hợp dùng trong hóa chất trị liệu hoặc chất chống ung thư khác bao gồm, ví dụ, các chất chống chuyển hóa (bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất đối kháng axit folic, chất tương tự pyrimidin, chất tương tự purin và chất ức chế adenosin deaminaza) như metotrexat, 5-floraxil, floxuridin, xytarabin, 6-mercaptopurin, 6-thioguanin, fludarabin phosphat, pentostatin và gemxitabin.

Hóa chất trị liệu thích hợp hoặc chất chống ung thư khác còn bao gồm, ví dụ, một vài sản phẩm tự nhiên và hợp chất của chúng (ví dụ, alkaloit cây dừa cạn, kháng sinh kháng u, enzym, lymphokin và epipodophyllotoxin) như vinblastin, vincristin, vindesin, bleomycin, dactinomycin, daunorubixin, doxorubixin, epirubixin, idarubixin, ara-C, paclitaxel (TAXOL), mitramycin, deoxycoformycin, mitomycin-C, L-asparaginaza, interferon (đặc biệt là IFN-a), etoposid và teniposit.

Các chất gây độc tế bào khác bao gồm navelben, CPT-11, anastrozol, letrozol, capexitabin, reloxafin, xyclophosphamid, ifosamid và droloxafin.

Cũng thích hợp là các chất gây độc tế bào như epipodophyllotoxin; enzym chống sinh u tân sinh; chất ức chế topoisomeraza; procarbazine; mitoxantron; phức chất phối

trí platin như cis-platin và carboplatin; chất cải biến đáp ứng sinh học; chất ức chế sự phát triển; chất điều trị kháng hormon; leucovorin; tegafur; và yếu tố sinh trưởng tạo máu.

Các chất chống ung thư khác bao gồm các chất điều trị là kháng thể như trastuzumab (Herceptin), kháng thể kháng phân tử cùng kích thích như CTLA-4, 4-IBB và PD-I hoặc kháng thể kháng xytokin (IL-10, TGF- β , v.v.). Các chất chống ung thư khác còn bao gồm chất ức chế sự di trú của tế bào miễn dịch như các chất đối kháng cho thụ thể chemokin, kể cả CCR2 và CCR4.

Các chất chống ung thư khác còn bao gồm các chất tăng hệ miễn dịch như các tá dược hoặc chất di chuyển tế bào T nuôi dưỡng.

Vắc xin chống ung thư bao gồm tế bào đuôi gai, peptit tổng hợp, vắc xin ADN và virus tái tổ hợp.

Các phương pháp để sử dụng an toàn và hiệu quả phần lớn các hóa chất trị liệu này là đã biết đối với các người có trình độ trung bình trong lĩnh vực. Ngoài ra, việc sử dụng chúng được mô tả trong tài liệu chuẩn. Ví dụ, việc sử dụng nhiều hóa chất trị liệu được mô tả trong tài liệu: "Physicians' Desk Reference" (PDR, ví dụ, 1996 edition, Medical Economics Company, Montvale, NJ).

Dược phẩm và dạng liều

Khi được sử dụng làm dược phẩm, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng dưới dạng dược phẩm mà là hỗn hợp của hợp chất theo sáng chế và chất mang dược dụng. Dược phẩm này có thể được bào chế theo cách đã biết rõ trong lĩnh vực dược và có thể được sử dụng bằng các đường khác nhau, tùy vào mong muốn điều trị cục bộ hoặc toàn thân và tùy vào vùng được điều trị. Việc sử dụng có thể là cục bộ (kể cả mắt và cho màng nhầy bao gồm phân phối trong mũi, âm đạo và trực tràng), phổi (ví dụ, bằng cách hít hoặc bơm bột hoặc sol khí, bao gồm bằng máy khí dung; trong khí quản, trong mũi, biểu bì và qua da), trong mắt, qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa. Phương pháp để phân phối trong mắt có thể bao gồm sử dụng cục bộ (thuốc nhỏ mắt), dưới màng kết, quanh mắt hoặc tiêm thủy tinh dịch hoặc đưa vào bằng ống thông có

bóng bóp hoặc phẫu thuật chèn nhãn khoa đặt trong túi màng kết. Việc sử dụng ngoài đường tiêu hóa bao gồm tiêm hoặc truyền trong tĩnh mạch, trong động mạch, dưới da, trong màng bụng hoặc trong bắp; hoặc sử dụng trong sọ, ví dụ, trong vỏ hoặc trong tâm thất. Việc sử dụng ngoài đường tiêu hóa có thể dưới dạng liều lớn dùng 1 lần hoặc có thể bằng bơm truyền liên tục chẳng hạn. Dược phẩm hoặc chế phẩm để sử dụng cục bộ có thể bao gồm miếng dán qua da, thuốc mỡ, thuốc xức, kem, gel, thuốc nhỏ giọt, thuốc đạn, thuốc xịt, thuốc nước và thuốc bột. Chất mang dược dụng thông thường, nền chứa nước, bột hoặc nền chứa dầu, chất làm đặc và các chất tương tự có thể cần thiết hoặc mong muốn.

Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế nêu trên làm hoạt chất kết hợp với một hoặc nhiều chất mang dược dụng. Để bào chế dược phẩm theo sáng chế, hoạt chất thường được trộn với các tá dược, được pha loãng bằng các tá dược hoặc được bao gồm trong chất mang này dưới dạng, ví dụ viên nang, gói nhỏ, giấy hoặc dụng cụ chứa khác. Khi các tá dược đóng vai trò làm chất pha loãng, nó có thể là nguyên liệu rắn, bán rắn hoặc lỏng, mà làm chất dẫn, chất mang hoặc môi trường cho hoạt chất. Do đó, dược phẩm có thể ở dạng viên nén, viên tròn, bột, viên thuốc hình thoi, gói nhỏ, viên nhộng, cốm ngọt, hỗn dịch, nhũ dịch, dung dịch, sirô, sol khí (ở dạng chất rắn hoặc trong môi trường lỏng), thuốc mỡ chứa tối đa 10% khối lượng hoạt chất, viên nang gelatin mềm và cứng, thuốc đạn, dung dịch tiêm vô trùng và bột đóng gói vô trùng.

Để bào chế chế phẩm, hoạt chất có thể được nghiền để tạo ra cỡ hạt thích hợp trước khi kết hợp với các thành phần khác. Nếu hoạt chất gần như không tan, hợp chất này có thể được nghiền thành cỡ hạt nhỏ hơn 200 mesh. Nếu hoạt chất gần như tan được trong nước, cỡ hạt có thể được điều chỉnh bằng cách nghiền để tạo ra sự phân bố trong dược phẩm gần như đồng nhất, ví dụ khoảng 40 mesh.

Một vài ví dụ về các tá dược thích hợp bao gồm lactoza, dextroza, sucroza, sorbitol, manitol, tinh bột, gôm acacia, canxi phosphat, alginat, tragacanth, gelatin, canxi silicat, xenluloza vi tinh thể, polyvinylpyrrolidon, xenluloza, nước, sirô và metyl xenluloza. Ngoài ra, dược phẩm có thể bao gồm: chất làm trơn như bột talc, magie stearat và dầu khoáng; chất tạo ẩm; chất nhũ hóa và chất tạo hỗn dịch; chất bảo quản

như metyl- và propylhydroxy-benzoat; chất tạo ngọt; và chất tạo mùi vị. Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế để tạo ra hoạt chất giải phóng chậm, giải phóng kéo dài hoặc giải phóng nhanh sau khi sử dụng cho bệnh nhân bằng cách sử dụng quy trình đã biết trong lĩnh vực này.

Các dược phẩm này có thể được bào chế dưới dạng liều đơn vị, mỗi liều chứa hoạt chất với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 100mg, thông thường hơn là từ 10 đến 30 mg. Thuật ngữ “dạng liều đơn vị” dùng để chỉ liều riêng biệt về mặt vật lý thích hợp dưới dạng liều đơn vị cho đối tượng là người và các động vật có vú khác, mỗi đơn vị chứa lượng xác định trước của hoạt chất được tính toán để tạo ra tác dụng điều trị mong muốn, kết hợp với các tá dược thích hợp.

Hoạt chất có thể cho hiệu quả trong khoảng liều rộng và thường được sử dụng với lượng cho hiệu quả dược lý. Tuy nhiên, cần hiểu rằng lượng hợp chất được sử dụng thực tế thường được xác định bởi bác sĩ, theo điều kiện liên quan, bao gồm tình trạng cần được điều trị, đường sử dụng được chọn, hợp chất thực tế được sử dụng, tuổi, cân nặng và đáp ứng của từng bệnh nhân, mức độ trầm trọng của triệu chứng của bệnh nhân và các yếu tố tương tự.

Để bào chế dược phẩm dạng rắn như viên nén, hoạt chất chính được trộn với các tá dược để tạo ra tiền chế phẩm dạng rắn chứa hỗn hợp đồng nhất của hợp chất theo sáng chế. Khi đề cập đến tiền chế phẩm dưới dạng đồng nhất, hoạt chất thường được phân tán đều trong toàn bộ dược phẩm sao cho dược phẩm này có thể dễ chia nhỏ thành các dạng liều đơn vị hiệu quả bằng nhau như viên nén, viên tròn và viên nang. Tiền chế phẩm dạng rắn này sau đó được chia thành các dạng liều đơn vị thuộc dạng nêu trên chứa hoạt chất theo sáng chế với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 500 mg.

Viên nén hoặc viên tròn theo sáng chế có thể được bao hoặc mặt khác được kết hợp để tạo ra dạng liều có ưu điểm là tác dụng kéo dài. Ví dụ, viên nén hoặc viên tròn có thể chứa thành phần liều bên trong và thành phần liều bên ngoài, thành phần bên ngoài dưới dạng lớp bao lên thành phần bên trong. Hai thành phần này có thể được phân tách bằng một lớp tan trong ruột mà có thể chống lại sự phân hủy trong dạ dày và cho phép thành phần bên trong đi qua nguyên vẹn vào tá tràng hoặc được giải phóng

chậm. Rất nhiều nguyên liệu khác nhau có thể được sử dụng làm lớp bao lớp phủ tan trong ruột, các nguyên liệu này bao gồm một số axit polymeric và hỗn hợp các axit polymeric với các nguyên liệu này dưới dạng senlắc, rượu xetylic và xenluloza axetat.

Các dạng lỏng trong đó hợp chất và dược phẩm theo sáng chế có thể được đưa vào để sử dụng qua đường miệng hoặc bằng cách tiêm bao gồm dung dịch chứa nước, sirô có mùi vị thích hợp, hỗn dịch chứa nước hoặc chứa dầu và nhũ dịch được bổ sung hương liệu cùng với dầu ăn được như dầu hạt bông, dầu vừng, dầu dừa hoặc dầu lạc, cũng như cồn ngọt và chất dẫn thuốc tương tự.

Dược phẩm để hít hoặc bơm thổi bao gồm dung dịch và hỗn dịch trong dung môi hữu cơ hoặc chứa nước được dùng hoặc các hỗn hợp của chúng và thuốc bột. Dược phẩm lỏng hoặc rắn này có thể chứa các tá dược được dùng như nêu trên. Theo một số phương án, dược phẩm được sử dụng qua đường miệng hoặc đường hô hấp qua mũi để tác dụng cục bộ hoặc toàn thân. Dược phẩm có thể được tạo khí dung bằng cách sử dụng các khí trơ. Dung dịch được tạo khí dung có thể được hít trực tiếp từ dụng cụ khí dung hoặc dụng cụ khí dung có thể được gắn vào mặt nạ hoặc máy thở áp suất dương tính gián đoạn. Dược phẩm dạng dung dịch, hỗn dịch hoặc bột có thể được sử dụng qua đường miệng hoặc đường mũi từ các dụng cụ mà phân phối dược phẩm theo cách thích hợp.

Lượng hợp chất hoặc dược phẩm được sử dụng cho bệnh nhân sẽ thay đổi tùy thuộc vào loại nào được sử dụng, mục đích sử dụng, như phòng ngừa hoặc điều trị, tình trạng bệnh của bệnh nhân, cách sử dụng và các yếu tố tương tự. Để điều trị, dược phẩm có thể được sử dụng cho bệnh nhân đã mắc bệnh với lượng đủ để chữa bệnh hoặc ít nhất là làm ngừng phần nào các triệu chứng của bệnh và các biến chứng của nó. Liều cho hiệu quả sẽ tùy thuộc vào tình trạng bệnh được điều trị cũng như quyết định của thầy thuốc lâm sàng tham gia điều trị tùy vào các yếu tố như mức độ nghiêm trọng của bệnh, tuổi, cân nặng và tình trạng sức khỏe chung của bệnh nhân và các yếu tố tương tự.

Các dược phẩm được sử dụng cho bệnh nhân có thể dưới dạng các dược phẩm nêu trên. Các dược phẩm này có thể được vô trùng bằng các kỹ thuật vô trùng thông thường hoặc có thể được lọc vô trùng. Các dung dịch chứa nước có thể được đóng gói

để sử dụng nguyên dạng được đông khô, các chế phẩm đông khô này được kết hợp với chất mang chứa nước vô trùng trước khi sử dụng. Độ pH của dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế thường nằm trong khoảng từ 3 đến 11, tốt hơn là từ 5 đến 9 và tốt nhất là từ 7 đến 8. Cần hiểu rằng việc sử dụng một số các tá dược, chất mang hoặc chất ổn định nêu trên sẽ tạo ra muối dược dụng.

Liều điều trị của hợp chất theo sáng chế có thể thay đổi theo, ví dụ, việc điều trị cụ thể, cách sử dụng hợp chất, sức khỏe và tình trạng bệnh của bệnh nhân và quyết định của thầy thuốc kê đơn. Tỷ lệ hoặc lượng hợp chất của sáng chế trong dược phẩm có thể thay đổi tùy vào một số yếu tố bao gồm liều, tính chất hóa học (ví dụ, tính kỵ nước) và đường sử dụng. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có thể được cung cấp trong dung dịch đệm sinh lý chứa nước chứa hợp chất để sử dụng ngoài đường tiêu hóa với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 10% khối lượng/thể tích. Một số khoảng liều điển hình nằm trong khoảng từ 1µg/kg đến 1g/kg khối lượng cơ thể mỗi ngày. Theo một số phương án, khoảng liều này nằm trong khoảng từ 0,01mg/kg đến 100mg/kg khối lượng cơ thể mỗi ngày. Liều này có thể tùy thuộc vào các biến số là loại và mức độ tiến triển của bệnh hoặc rối loạn, tình trạng sức khỏe tổng thể của bệnh nhân cụ thể, hiệu quả sinh học tương đối của hợp chất được chọn, công thức tá dược và đường sử dụng của nó. Liều cho hiệu quả có thể được ngoại suy từ đường cong đáp ứng liều thu được từ hệ thử nghiệm trên mô hình *in vitro* hoặc động vật.

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được bào chế kết hợp với một hoặc nhiều hoạt chất khác có thể bao gồm dược chất bất kỳ như chất kháng virus, vắc xin, kháng thể, chất tăng cường miễn dịch, chất ức chế miễn dịch, chất chống viêm và các chất tương tự.

Hợp chất đã đánh dấu và phương pháp thử nghiệm

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất đã đánh dấu bằng thuốc nhuộm huỳnh quang, nhãn quay quang, kim loại nặng phóng xạ, mà hữu ích không chỉ được sử dụng trong việc chụp hình mà còn được sử dụng trong các thử nghiệm, cả *in vitro* và *in vivo*, để định vị và định lượng enzym IDO trong mẫu mô, kể cả người và để xác định dạng phối tử enzym IDO bằng cách ức chế liên kết của hợp chất đã đánh dấu.

Do đó, sáng chế cũng đề cập đến thử nghiệm đối với enzym IDO sử dụng hợp chất đã đánh dấu này.

Sáng chế còn bao gồm các hợp chất có công thức I được đánh dấu bằng chất đồng vị. Hợp chất đã đánh dấu “đồng vị” hoặc “đánh dấu phóng xạ” là hợp chất theo sáng chế trong đó một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế hoặc được thế bằng một nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối khác với khối lượng nguyên tử hoặc số khối thường thấy trong tự nhiên (cụ thể, tồn tại trong tự nhiên). Đồng vị phóng xạ thích hợp mà có thể được kết hợp vào trong các hợp chất theo Sáng chế cũng đề cập đến nhưng không giới hạn ở ^2H (còn được viết là D đối với đơteri), ^3H (còn viết là T đối với triti), ^{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 và ^{131}I . Nuclit phóng xạ mà được kết hợp vào hợp chất đã đánh dấu phóng xạ sẽ tùy thuộc vào ứng dụng cụ thể của hợp chất đã đánh dấu phóng xạ. Ví dụ, đối với thử nghiệm cạnh tranh và đánh dấu enzym IDO *in vitro*, hợp chất được kết hợp ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I hoặc ^{35}S vào sẽ thường là hữu ích nhất. Đối với ứng dụng chụp hình phóng xạ, ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br hoặc ^{77}Br sẽ thường là hữu ích nhất.

Cần hiểu rằng “hợp chất đã đánh dấu phóng xạ” hoặc “hợp chất đã đánh dấu” là hợp chất mà đã được kết hợp ít nhất một nuclit phóng xạ. Theo một số phương án, nuclit phóng xạ được chọn từ nhóm gồm ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S và ^{82}Br .

Phương pháp tổng hợp dùng kết hợp các đồng vị phóng xạ vào các hợp chất hữu cơ có thể áp dụng cho các hợp chất theo sáng chế và đã biết rõ trong lĩnh vực này.

Hợp chất được đánh dấu phóng xạ theo sáng chế có thể được sử dụng trong thử nghiệm sàng lọc để xác định/đánh giá các hợp chất. Trong điều kiện thông thường, một hợp chất mới được tổng hợp hoặc xác định (tức là, hợp chất thử nghiệm) có thể được đánh giá về khả năng của nó làm giảm liên kết của hợp chất đã đánh dấu phóng xạ theo sáng chế với enzym IDO. Do đó, khả năng của hợp chất thử nghiệm cạnh tranh với hợp chất đã đánh dấu phóng xạ để ức chế enzym IDO tương quan trực tiếp với ái lực liên kết của nó.

Kit

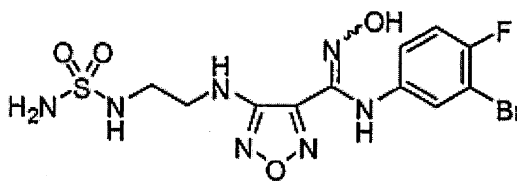
Sáng chế còn bao gồm kit được dụng có thể được sử dụng để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IDO, chứng béo phì, bệnh tiểu đường và các bệnh khác được đề cập ở đây chẳng hạn, kit này bao gồm một hoặc nhiều dụng cụ chứa được phẩm chứa lượng cho hiệu quả điều trị của hợp chất theo sáng chế. Kit này có thể còn bao gồm, nếu muốn, một hoặc nhiều các thành phần của kit được phẩm thông thường khác nhau, như dụng cụ chứa với một hoặc nhiều chất mang được dụng, các dụng cụ chứa khác, v.v., sẽ rõ ràng đối với các người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này. Hướng dẫn sử dụng, dưới dạng tờ in rời hoặc nhãn, chỉ rõ lượng các thành phần được sử dụng, hướng dẫn sử dụng, và/hoặc hướng dẫn trộn các thành phần, cũng có thể có trong kit.

Ví dụ thực hiện sáng chế

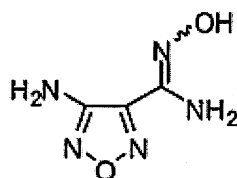
Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn bằng các ví dụ cụ thể. Các ví dụ sau được đưa ra để minh họa và không được dự định giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ. Người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này sẽ dễ dàng hiểu rằng các thông số không quan trọng khác nhau mà có thể được thay đổi hoặc cải biến để thu được các kết quả gần như nhau. Các hợp chất trong các ví dụ được phát hiện thấy là chất ức chế IDO theo một hoặc nhiều thử nghiệm được nêu ở đây.

Ví dụ 1

4-({2-[(aminosulfonyl)amino]ethyl}amino)-N-(3-bromo-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

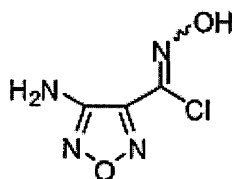


Bước A: 4-amino-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



Bổ sung malononitril [sản phẩm Aldrich số M1407] (320,5g, 5mol) vào nước (7L) được gia nhiệt sơ bộ đến 45°C và khuấy trong 5 phút. Làm lạnh dung dịch thu được trong bể nước đá và bổ sung natri nitrit (380g, 5,5mol). Khi nhiệt độ đạt 10°C, bổ sung axit clohydric 6N (55mL). Thấy phản ứng tỏa nhiệt nhẹ với nhiệt độ đạt 16°C. Sau 15 phút, bể lạnh được lấy ra và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong thời gian 1,5 giờ ở nhiệt độ từ 16 đến 18°C. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến 13°C và dung dịch hydroxylamin 50% (990g, 15mol) được bổ sung vào cùng một lúc. Nhiệt độ được tăng đến 26°C. Khi phản ứng tỏa nhiệt giảm, bể lạnh được lấy ra và khuấy tiếp trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 26 đến 27°C, sau đó phản ứng được hồi lưu từ từ. Sự hồi lưu được duy trì trong thời gian 2 giờ và sau đó hỗn hợp phản ứng được để nguội qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong bể nước đá và axit clohydric 6N (800mL) được bổ sung từng phần trong thời gian 40 phút đến độ pH=7,0. Khuấy tiếp trong bể nước đá ở nhiệt độ 5°C. Kết tủa được thu gom bằng cách lọc, rửa kỹ bằng nước và được làm khô trong lò chân không (50°C) để tạo ra sản phẩm mong muốn (644g, 90%). LCMS đối với C₃H₆N₅O₂ (M+H)⁺: m/z=144,0. ¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD): δ 156,0, 145,9, 141,3.

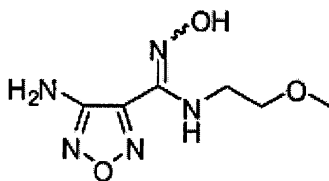
Bước B: 4-amino-N-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua



Bổ sung 4-amino-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit (422g, 2,95mol) vào hỗn hợp chứa nước (5,9L), axit axetic (3L) và axit clohydric 6N (1,475L, 3 đương lượng) và huyền phù này được khuấy ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 42 đến 45°C cho đến khi thu được dung dịch hoàn chỉnh. Bổ sung natri clorua (518g, 3 đương lượng) và dung dịch này được khuấy trong bể nước đá/nước/metanol. Bổ sung dung

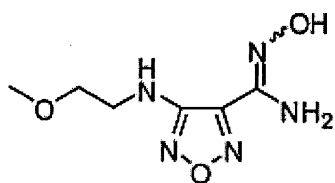
dịch chứa natri nitrit (199,5g, 0,98 đương lượng) trong nước (700mL) trong thời gian 3,5 giờ trong khi giữ nhiệt độ dưới 0°C. Sau khi bổ sung xong, khuấy tiếp trong bể nước đá trong thời gian 1,5 giờ và sau đó hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến 15°C. Kết tủa được thu gom bằng cách lọc, rửa kỹ bằng nước, được cho vào etyl axetat (3,4L), xử lý bằng natri sulfat khan (500g) và khuấy trong thời gian 1 giờ. Huyền phù này được lọc qua natri sulfat (200g) và dịch lọc được cô bằng thiết bị cô quay. Cặn được hòa tan trong metyl t-butyl ete (5,5L), xử lý bằng than (40g), khuấy trong thời gian 40 phút và lọc qua Xelit. Dung môi được loại bỏ trong thiết bị cô quay và sản phẩm thu được được làm khô trong lò chân không (45°C) để tạo ra sản phẩm mong muốn (256g, 53,4%). LCMS đối với $C_3H_4ClN_4O_2$ ($M+H$)⁺: $m/z=162,9$, ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 155,8, 143,4, 129,7.

Bước C: 4-amino-N'-hydroxy-N-(2-metoxyletyl)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



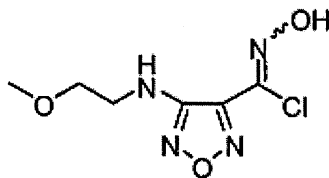
4-amino-N-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua (200,0g, 1,23mol) được trộn với etyl axetat (1,2L). Ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 5°C, bổ sung từng phần 2-metoxyletylamin [sản phẩm Aldrich số 143693] (119,0mL, 1,35mol) kèm theo khuấy. Nhiệt độ phản ứng được tăng đến 41°C. Phản ứng được làm lạnh xuống nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 5°C. Trietylamin (258mL, 1,84mol) được bổ sung. Sau khi khuấy trong thời gian 5 phút, LCMS chỉ ra phản ứng kết thúc. Dung dịch phản ứng được rửa bằng nước (500mL) và nước muối (500mL), được làm khô bằng natri sulfat và cô để tạo ra sản phẩm mong muốn (294g, 119%) dưới dạng dầu thô sẫm màu. LCMS đối với $C_6H_{12}N_5O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=202,3$. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 10,65 (s, 1 H), 6,27 (s, 2 H), 6,10 (t, $J=6,5$ Hz, 1 H), 3,50 (m, 2 H), 3,35 (d, $J=5,8$ Hz, 2 H), 3,08 (s, 3 H).

Bước D: N'-hydroxy-4-[(2-metoxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



4-amino-N'-hydroxy-N-(2-methoxyethyl)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit (248,0g, 1,23mol) được trộn với nước (1L). Bổ sung kali hydroxit (210g, 3,7mol). Phản ứng được hồi lưu ở nhiệt độ 100°C qua đêm (15 giờ). TLC với 50% etyl axetat (chứa 1% amoni hydroxit) trong hexan chỉ ra phản ứng kết thúc (sản phẩm $R_f = 0,6$, nguyên liệu ban đầu $R_f = 0,5$). LCMS cũng chỉ ra phản ứng kết thúc. Phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và chiết bằng etyl axetat (3 x 1L). Dung dịch etyl axetat thu gom được làm khô bằng natri sulfat và cô để tạo ra sản phẩm mong muốn (201g, 81%) dưới dạng chất rắn thô màu trắng nhò. LCMS đối với $C_6H_{12}N_5O_3$ $(M+H)^+$: $m/z = 202,3$ 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,54 (s, 1 H), 6,22 (s, 2 H), 6,15 (t, $J = 5,8$ Hz, 1 H), 3,45 (t, $J = 5,3$ Hz, 2 H), 3,35 (m, 2 H), 3,22 (s, 3 H).

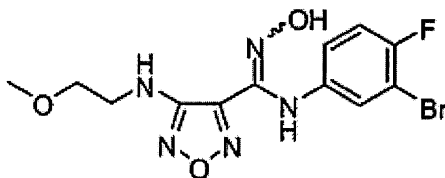
Bước E: N-hydroxy-4-[(2-methoxyethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua



Ở nhiệt độ trong phòng, N'-hydroxy-4-[(2-methoxyethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit (50,0g, 0,226mol) được hòa tan trong dung dịch axit clohydric 6,0M (250mL, 1,5mol). Bổ sung natri clorua (39,5g, 0,676mol), rồi đến nước (250mL) và etyl axetat (250mL). Ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 3 đến 5°C, bổ sung vào từ từ dung dịch chứa nước được điều chế trước đó (100mL) của natri nitrit (15,0g, 0,217mol) trong thời gian 1 giờ. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 3 đến 8°C trong thời gian 2 giờ và sau đó ở nhiệt độ trong phòng trong cuối tuần. LCMS chỉ ra phản ứng kết thúc. Dung dịch phản ứng được chiết bằng etyl axetat (2 x 200mL). Dung dịch etyl axetat thu gom được làm khô bằng natri sulfat và cô để tạo ra sản phẩm mong muốn (49,9g, 126%) dưới dạng chất rắn màu trắng nhò. LCMS đối

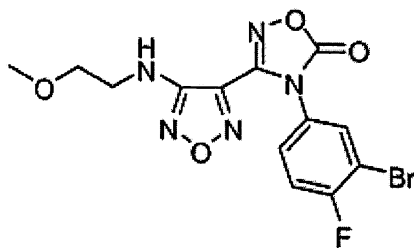
với $C_6H_{10}ClN_4O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=221,0$, 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 13,43 (s, 1 H), 5,85 (t, $J= 5,6$ Hz, 1 H), 3,50 (t, $J= 5,6$ Hz, 2 H), 3,37(dd, $J= 10,8, 5,6$ Hz, 2 H), 3,25 (s, 3 H).

Bước F: N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-[(2-metoxetyl)amino]- 1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



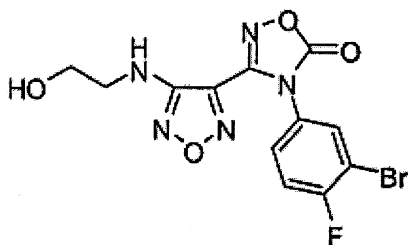
N-hydroxy-4-[(2-metoxetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua (46,0g, 0,208mol) được trộn với nước (300mL). Hỗn hợp được đun nóng đến nhiệt độ 60°C. Bổ sung 3-bromo-4-floanilin [các sản phẩm Oakwood, sản phẩm số 013091] (43,6g, 0,229mol) và khuấy trong thời gian 10 phút. Bổ sung dung dịch natri bicacbonat ẩm (26,3g, 0,313mol) (300mL nước) trong thời gian 15 phút. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 20 phút. LCMS chỉ ra phản ứng kết thúc. Dung dịch phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và chiết bằng etyl axetat (2 x 300mL). Dung dịch etyl axetat thu gom được làm khô bằng natri sulfat và cô để tạo ra sản phẩm mong muốn (76,7g, 98%) dưới dạng chất rắn thô màu nâu. LCMS đối với $C_{12}H_{14}BrFN_5O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=374,0, 376,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,55 (s, 1 H), 8,85 (s, 1 H), 7,16 (t, $J= 8,8$ Hz, 1 H), 7,08 (dd, $J= 6,1, 2,7$ Hz, 1 H), 6,75 (m, 1 H), 6,14 (t, $J= 5,8$ Hz, 1 H), 3,48 (t, $J= 5,2$ Hz, 2 H), 3,35 (dd, $J= 10,8, 5,6$ Hz, 2 H), 3,22 (s, 3 H).

Bước G: 4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-{4-[(2-metoxetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}- 1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



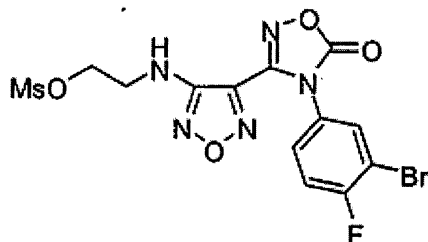
Hỗn hợp chứa N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-[(2-metoxietyl)-amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit (76,5g, 0,204mol), 1,1'-carbonyldi-imidazol (49,7g, 0,307mol) và etyl axetat (720mL) được đun nóng đến nhiệt độ 60°C và khuấy trong thời gian 20 phút. LCMS chỉ ra phản ứng kết thúc. Phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, rửa bằng HCl 1N (2 x 750mL), được làm khô bằng natri sulfat và cô để tạo ra sản phẩm mong muốn (80,4g, 98%) dưới dạng chất rắn thô màu nâu. LCMS đối với $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$ ($M+H$)⁺: m/z=400,0, 402,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,94 (t, J= 8,2 Hz, 1 H), 7,72 (dd, J= 9,1, 2,3 Hz, 1 H), 7,42 (m, 1 H), 6,42 (t, J= 5,7 Hz, 1 H), 3,46 (t, J= 5,4 Hz, 2 H), 3,36 (t, J= 5,8 Hz, 2 H), 3,26 (s, 3 H).

Bước H: 4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-{4-[(2-lihydroxyetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



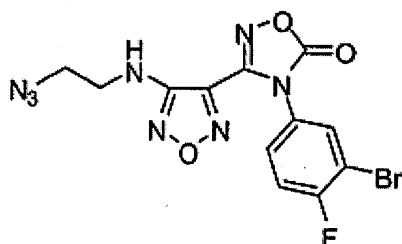
4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-{4-[(2-metoxietyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (78,4g, 0,196mol) được hòa tan trong diclometan (600mL). Ở nhiệt độ -67°C, bổ sung ba tribromua (37mL, 0,392mol) trong thời gian 15 phút. Phản ứng được gia nhiệt đến -10°C trong thời gian 30 phút. LCMS chỉ ra phản ứng kết thúc. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ. Ở nhiệt độ từ 0 đến 5°C, phản ứng được làm ngừng từ từ bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (1,5L) trong thời gian 30 phút. Nhiệt độ phản ứng được tăng đến 25°C. Phản ứng được chiết bằng etyl axetat (2 x 500mL, lớp hữu cơ chiết lần thứ nhất là ở đáy và lớp hữu cơ chiết lần thứ hai ở đỉnh). Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat và cô để tạo ra sản phẩm mong muốn (75g, 99%) dưới dạng chất rắn thô màu nâu. LCMS đối với $C_{12}H_{10}BrFN_5O_4$ ($M+H$)⁺: m/z=386,0, 388,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8,08 (dd, J= 6,2, 2,5 Hz, 1 H), 7,70 (m, 1 H), 7,68 (t, J= 8,7 Hz, 1 H), 6,33 (t, J= 5,6 Hz, 1 H), 4,85 (t, J= 5,0 Hz, 1 H), 3,56 (dd, J= 10,6, 5,6 Hz, 2 H), 3,29 (dd, J= 11,5, 5,9 Hz, 2 H).

Bước I: 2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)etyl metansulfonat



Bổ sung nhỏ giọt metansulfonyl clorua (185mL, 2,4mol) trong dung dịch chứa 4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-{4-[(2-hydroxyetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (1,5kg, 3,9mol, cũng chứa một phần hợp chất bromo tương ứng) trong etyl axetat (12L) trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung nhỏ giọt triethylamin (325mL, 2,3mol) trong thời gian 45 phút, trong khoảng thời gian này, nhiệt độ phản ứng tăng lên 35°C. Sau 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được rửa bằng nước (5L), nước muối (1L), được làm khô bằng natri sulfat, kết hợp với 3 phản ứng nữa có cùng lượng và dung môi được loại bỏ trong chân không để tạo ra sản phẩm mong muốn (7600g, hiệu suất định lượng) dưới dạng chất rắn màu nâu vàng nhạt. LCMS đối với $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$ ($M+Na$)⁺: $m/z=485,9$, $487,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSC- d_6): δ 8,08 (dd, $J= 6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,72 (m, 1 H), 7,58 (t, $J= 8,7$ Hz, 1 H), 6,75 (t, $J= 5,9$ Hz, 1 H), 4,36 (t, $J= 5,3$ Hz, 2 H), 3,58 (dd, $J= 11,2, 5,6$ Hz, 2 H), 3,18 (s, 3 H).

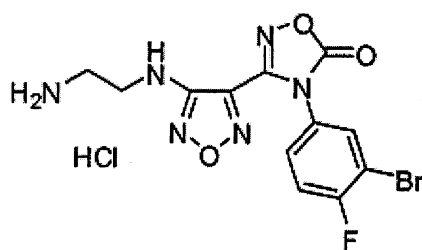
Bước J: 3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Bổ sung natri azit (380g, 5,84mol) vào vào dung dịch chứa 2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-amino)etyl metansulfonat (2,13kg, 4,6mol, cũng chứa một phần hợp chất bromo tương

ứng) trong dimetylformamit (4L) đang khuấy trong bình 22L. Phản ứng được đun nóng ở 50°C trong thời gian 6 giờ, rót vào nước đá/nước (8L) và chiết bằng etyl axetat:heptan tỷ lệ 1:1 (20L). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (5L) và nước muối (5L) và dung môi được loại bỏ trong chân không để tạo ra sản phẩm mong muốn (1464g, 77%) dưới dạng chất rắn màu nâu vàng. LCMS đối với $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: $m/z=433,0$, $435,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,08 (dd, $J=6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,72 (m, 1 H), 7,58 (t, $J=8,7$ Hz, 1 H), 6,75 (t, $J=5,7$ Hz, 1 H), 3,54 (t, $J=5,3$ Hz, 2 H), 3,45 (dd, $J=11,1, 5,2$ Hz, 2 H).

Bước K: 3-{4-[(2-aminoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroclorua

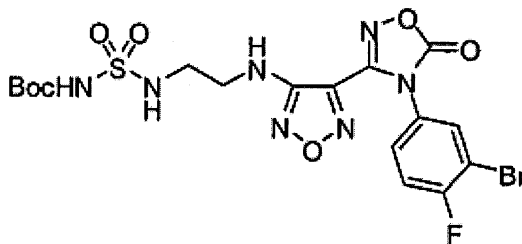


Bổ sung natri iodia (1080g, 7,2mol) vào 3-{4-[(2-azidoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (500g, 1,22mol) trong metanol (6L). Hỗn hợp này được khuấy trong thời gian 30 phút trong khoảng thời gian này quan sát thấy sự tỏa nhiệt nhẹ. Bổ sung nhỏ giọt clotrimetylsilan (930mL, 7,33mol) dưới dạng dung dịch trong metanol (1L) ở tốc độ sao cho nhiệt độ không vượt quá 35°C và phản ứng được khuấy trong thời gian 3,5 giờ ở nhiệt độ môi trường. Phản ứng được trung hòa bằng dung dịch 33% khối lượng chứa natri thiosulfat pentahydrat trong nước (~1,5L), pha loãng bằng nước (4L) và độ pH được điều chỉnh từ từ đến 9 bằng kali cacbonat rắn (250 g – được bổ sung từng phần nhỏ: nhìn thấy tạo bọt). Bổ sung di-tert-butyl dicacbonat (318g, 1,45mol) và phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung thêm kali cacbonat (200g) với từng phần 50g trong thời gian 4 giờ để đảm bảo rằng độ pH vẫn bằng hoặc lớn hơn 9. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, chất rắn được lọc, nghiền với nước (2L) và sau đó MTBE (1,5L). Tổng cộng 11 lần được thực hiện (5,5kg, 13,38mol). Chất rắn thu gom được nghiền với THF:diclometan tỷ lệ 1:1 (24 L, 4 lần trong bình cô quay 20 L, 50°C, 1

giò), lọc và rửa bằng diclometan (3L mỗi lần) để tạo ra chất rắn màu trắng nhò. Nguyên liệu thô được hòa tan ở nhiệt độ 55°C tetrahydrofuran (5mL/g), xử lý bằng cacbon khử màu (2% khối lượng) và silicagel (2% khối lượng) và lọc nóng qua xelit để tạo ra sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng nhò (5122g). Dịch lọc MTBE, THF và diclometan thu gom được cô trong chân không và sắc ký (2kg silicagel, heptan với gradien etyl axetat từ 0 đến 100%, 30L) để tạo ra thêm sản phẩm (262g). Chất rắn thu gom được làm khô đến khối lượng không đổi trong lò đối lưu (5385g, 83%).

Bổ sung từng phần tert-butyl [2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)etyl]carbamát (2315g, 4,77mol) trong bình 22 L được nạp hydro clorua (dung dịch 4N trong 1,4-dioxan, 4L, 16mol) dưới dạng chất rắn trong thời gian 10 phút. Huyền phù đặc được khuấy ở nhiệt độ trong phòng và từ từ trở thành bột nhão sệt mà không được khuấy. Sau khi qua đêm ở nhiệt độ trong phòng, bột nhão được tạo huyền phù đặc trong etyl axetat (10L), lọc, tạo lại huyền phù đặc trong etyl axetat (5L), lọc và được làm khô đến khối lượng không đổi để tạo ra sản phẩm mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (kết hợp với các lần khác, 5kg nguyên liệu ban đầu được nạp, 4113g, 95%). LCMS đối với $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=384,9$, $386,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,12 (m, 4 H), 7,76 (m, 1 H), 7,58 (t, $J=8,7$ Hz, 1 H), 6,78 (t, $J=6,1$ Hz, 1 H), 3,51 (dd, $J=11,8$, $6,1$ Hz, 2 H), 3,02 (m, 2 H).

Bước L: tert-Butyl ({[2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)etyl]amino} sulfonyl)carbamát

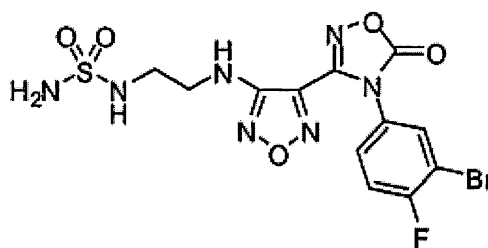


Bình đáy tròn 5L được nạp closulfonyl isoxyanat [sản phẩm Aldrich số 142662] (149mL, 1,72mol) và diclometan (1,5L) và làm lạnh bằng cách sử dụng bể nước đá đến 2°C. Bổ sung nhỏ giọt tert-Butanol (162mL, 1,73mol) trong diclometan (200mL) ở tốc độ sao cho nhiệt độ không vượt quá 10°C. Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt

độ trong phòng trong thời gian từ 30 đến 60 phút để tạo ra tert-butyl[closulfonyl]carbamat.

Bình 22L được nạp 3-{4-[(2-aminoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroclorua (661g, 1,57mol) và 8,5L diclometan. Sau khi làm lạnh đến -15°C bằng bể nước đá/muối, bổ sung dung dịch tert-butyl [closulfonyl]carbamat (được điều chế như trên) ở tốc độ sao cho nhiệt độ không vượt quá -10°C (thêm 7 phút nữa). Sau khi khuấy trong thời gian 10 phút, bổ sung trietylamin (1085mL, 7,78mol) ở tốc độ sao cho nhiệt độ không vượt quá -5°C (thêm 10 phút nữa). Bể lạnh được lấy ra, phản ứng được gia nhiệt đến 10°C , chia thành hai phần và trung hòa bằng HCl đặc 10% (4,5L mỗi phần). Mỗi phần được chuyển vào phễu tách 50L và pha loãng bằng etyl axetat để hòa tan hoàn toàn chất rắn màu trắng (~25L). Các lớp được tách và lớp hữu cơ được rửa bằng nước (5L), nước muối (5L) và dung môi được loại bỏ trong chân không để tạo ra chất rắn màu trắng nhò. Chất rắn này được nghiền với MTBE (2 x 1,5L) và được làm khô đến khối lượng không đổi để tạo ra chất rắn màu trắng. Tổng cộng 4113g nguyên liệu ban đầu được xử lý theo cách này (5409g, 98%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,90 (s, 1 H), 8,08 (dd, J = 6,2, 2,5 Hz, 1 H), 7,72 (m, 1 H), 7,59 (t, J = 8,6 Hz, 1 H), 6,58 (t, J = 5,7 Hz, 1 H), 3,38 (dd, J = 12,7, 6,2 Hz, 2 H), 3,10 (dd, J =12,1, 5,9 Hz, 2 H), 1,41 (s, 9 H).

Bước M: N-[2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)etyl]sulfamit



Bổ sung từng phần tert-butyl ({[2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)etyl]amino}sulfonyl)-carbamat (1931g, 3,42mol) vào bình 22L chứa axit trifloaxetic:nước tỷ lệ 98:2 (8,9L) trong thời gian 10 phút. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1,5 giờ, dung môi được loại bỏ trong chân không và ép xuất với diclometan

(2L). Chất rắn thu được được xử lý lần thứ hai bằng axit trifloaxetic:nước tỷ lệ 98:2 (8,9L), đun nóng trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 50°C, dung môi được loại bỏ trong chân không và ép xuất với diclometan (3 x 2L). Chất rắn màu trắng thu được được làm khô trong tủ sấy chân không ở 500°C qua đêm. Tổng cộng 5409g được xử lý theo cách này (4990g, hiệu suất định lượng). LCMS đối với $C_{12}H_{12}BrFN_7O_5S$ ($M+H$)⁺: $m/z=463,9, 465,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,08 (dd, $J= 6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,72 (m, 1 H), 7,59 (t, $J= 8,7$ Hz, 1 H), 6,67 (t, $J= 5,9$ Hz, 1H), 6,52 (t, $J= 6,0$ Hz, 1 H), 3,38 (dd, $J= 12,7, 6,3$ Hz, 2 H), 3,11 (dd, $J= 12,3, 6,3$ Hz).

Bước N: 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl} amino)-N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

Bổ sung THF (5L) vào hỗn hợp thô chứa N-[2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-amino)etyl]sulfamit (2,4mol) chứa lượng còn lại của axit trifloaxetic đang khuấy trong bình 22L. Dung dịch thu được được làm lạnh đến 0°C sử dụng bể nước đá và bổ sung NaOH 2N (4L) ở tốc độ sao cho nhiệt độ không vượt quá 10°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 3 giờ (LCMS chỉ ra không còn nguyên liệu ban đầu), độ pH được điều chỉnh đến từ 3 đến 4 bằng HCl đặc (~500mL). THF được loại bỏ trong chân không và hỗn hợp thu được được chiết bằng etyl axetat (15L). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (5L), nước muối (5L) và dung môi được loại bỏ trong chân không để tạo ra chất rắn. Chất rắn này được nghiền với MTBE (2 x 2L), kết hợp với ba phản ứng khác có lượng giống nhau và được làm khô qua đêm trong lò đối lưu để tạo ra chất rắn màu trắng (3535g). Chất rắn này được tái kết tinh (3 x bình 22L, nước: etanol tỷ lệ 2: 1, 14,1L mỗi bình) và được làm khô trong lò đối lưu ở nhiệt độ 50°C đến khối lượng không đổi để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng nhò (3290g, 78%). LCMS đối với $C_{11}H_{14}BrFN_7O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z=437,9, 439,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,51 (s, 1 H), 8,90 (s, 1 H), 7,17 (t, $J= 8,8$ Hz, 1 H), 7,11 (dd, $J= 6,1, 2,7$ Hz, 1 H), 6,76 (m, 1 H), 6,71 (t, $J= 6,0$ Hz, 1 H), 6,59 (s, 2 H), 6,23 (t, $J= 6,1$ Hz, 1 H), 3,35 (dd, $J= 10,9, 7,0$ Hz, 2 H), 3,10 (dd, $J= 12,1, 6,2$ Hz, 2 H).

Sản phẩm cuối cùng là tinh thể rắn khan. Hàm lượng nước được xác định là nhỏ hơn 0,1% bằng phương pháp chuẩn độ Karl Fischer. Mẫu nhiễu xạ bột tia X (X-ray powder diffraction - XRPD) được xác định (nhiễu xạ kế bột Rigaku MiniFlex; Cu ở 1,054056Å với bộ lọc K β ; góc bắt đầu =3, góc dừng =45, lấy mẫu =0,02, tốc độ quét =2) và được thể hiện trên Fig.1. Danh sách các đỉnh 2-theta được nêu trong bảng 1 dưới đây. Khoảng nóng chảy của chất rắn này được xác định bằng thiết bị đo nhiệt lượng bằng tia quét vi sai (Differential Scanning Calorimetry-DSC) Mettler Toledo 822. Mẫu được đun nóng đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40°C đến 240°C ở tốc độ đun nóng bằng 10°C/phút. Biểu đồ nhiệt DSC (Fig.2) thể hiện $T_{\text{bắt đầu}}$ ở 162,7°C và $T_{\text{đỉnh}}$ ở 163,8°C. Phân tích nhiệt trọng (Thermogravimetric analysis-TGA) (Fig.3) thể hiện mức giảm khối lượng 0,3%, đun nóng đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 150°C ở tốc độ đun nóng bằng 10°C/phút bằng cách sử dụng dụng cụ TA Q500.

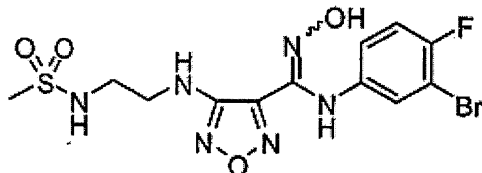
Bảng 1

2-theta	Chiều cao	% chiều cao
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

Ví dụ 2

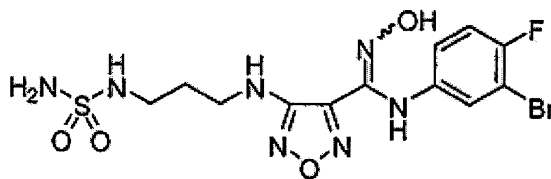
N-(3-bromo-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-4-({2-[(methylsulfonyl)amino]ethyl}-amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



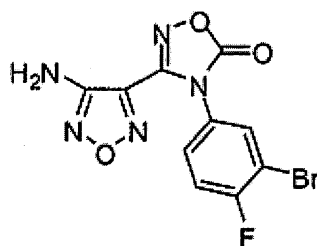
Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình của ví dụ 17 bước E, sử dụng N'-hydroxy-4-({2-[(methylsulfonyl)amino]ethyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit và 3-bromo-4-fluorophenyl [Oakwood Products, Inc., sản phẩm số 013091] làm nguyên liệu ban đầu. LCMS đối với $C_{12}H_{15}BrFN_6O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z=437,0$, $439,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,49 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 7,17 (m, 2H), 7,09 (dd, $J=6,3$, $2,5$ Hz, 1H), 6,26 (t, $J=6,1$ Hz, 1H), 3,33 (m, 2H), 3,13 (q, $J=6,0$ Hz, 2H), 2,89 (s, 3H).

Ví dụ 3

4-({3-[(aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

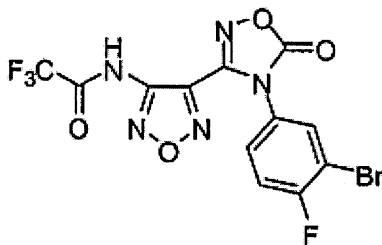


Bước A: 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



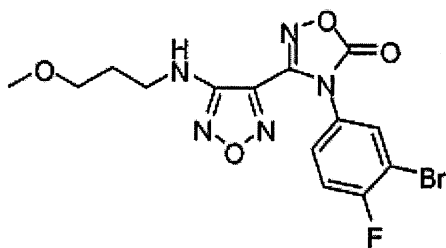
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 5, bước A, sử dụng 4-amino-N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit [xem công bố patent Mỹ số 2006/0258719] làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 98%. LCMS đối với $C_{10}H_6BrFN_5O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=342,0, 344,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,06 (dd, $J=6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,72 - 7,67 (m, 1 H), 7,58 (dd, $J=8,7, 8,7$ Hz, 1 H), 6,60 (s, 2 H).

Bước B: N-{4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-2,2,2-trifloaxetamit



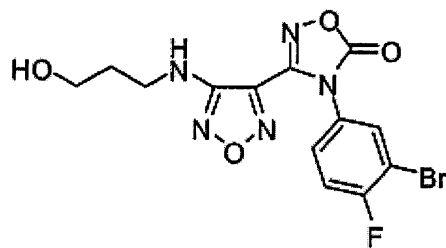
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 5, bước B, sử dụng 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 81%. LCMS đối với $C_{12}H_5BrF_4N_5O_4$ $(M+H)^+$: $m/z=437,9$, $439,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,92 - 7,89 (m, 1 H), 7,54 - 7,52 (m, 2 H).

Bước C: 4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-{4-[(3-metoxypropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



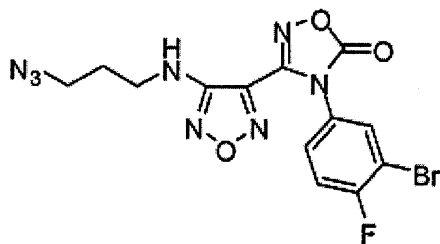
Dung dịch chứa 3-metoxypropan-1-ol [sản phẩm Fluka số 38457] (3,1mL, 32mmol) và triphenylphosphin (8,4g, 32mmol) trong tetrahydrofuran (93mL) ở 0°C được xử lý nhỏ giọt bằng diisopropyl azodicarboxylat (6,7mL, 34mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 15 phút, xử lý bằng dung dịch chứa N-{4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-2,2,2-trifloaxetamit (10g, 23mmol) trong tetrahydrofuran (47mL) và khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 72 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô, pha loãng bằng etyl axetat (200mL), xử lý bằng axit trifloaxetic (20mL) và nước (20mL) và đun nóng ở 50°C trong thời gian 6 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô, pha loãng lại bằng etyl axetat (200mL) và rửa bằng nước (3 x 80mL), natri bicacbonat bão hòa (2 x 80mL) và nước muối (80mL), được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô thành cặn thô. Nguyên liệu này được tinh chế trên silicagel để tạo ra sản phẩm mong muốn (6,4g, 54%) dưới dạng chất rắn màu trắng. LCMS đối với $C_{14}H_{14}BrFN_5O_4$ $(M+H)^+$: $m/z=414,0$, $416,0$.

Bước D: 4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-{4-[(3-hydroxypropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Dung dịch chứa 4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-{4-[(3-metoxypopyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (6,3g, 14mmol) trong diclometan (60mL) ở nhiệt độ -78°C được xử lý bằng bo tribromua 1M trong diclometan (28mL, 28mmol) và được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 0°C và được làm ngừng bằng natri bicacbonat bão hòa (100mL). Lớp nước được tách và chiết bằng diclometan (2 x 150mL). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (100mL), làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô thành chất rắn thô màu trắng nhò. Nguyên liệu này được tinh chế trên silicagel để tạo ra sản phẩm mong muốn (4,0g, 73%) dưới dạng chất rắn màu trắng. LCMS đối với $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{BrFN}_5\text{O}_4$ ($\text{M}+\text{H}^+$): $m/z=400,0$, $402,0$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,07 (dd, $J=6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,72 - 7,68 (m, 1 H), 7,59 (dd, $J=8,8, 8,6$ Hz, 1 H), 6,54 (t, $J=5,7$ Hz, 1 H), 4,60 (t, $J=5,1$ Hz, 1 H), 3,48 - 3,43 (m, 2 H), 3,32 - 3,26 (m, 2 H), 1,74 - 1,67 (m, 2 H).

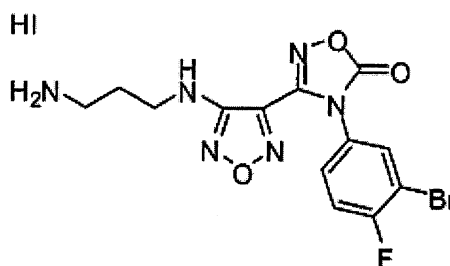
Bước E: 3-{4-[(3-Azidopopyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Dung dịch chứa 4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-{4-[(3-hydroxypopyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (3,0g, 7,5mmol) trong diclometan (27mL) được xử lý bằng metansulfonyl clorua (0,75mL, 9,7mmol) và N,N-diisopropyletylamin (2,6mL, 15mmol) và được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (20mL) và chiết bằng diclometan

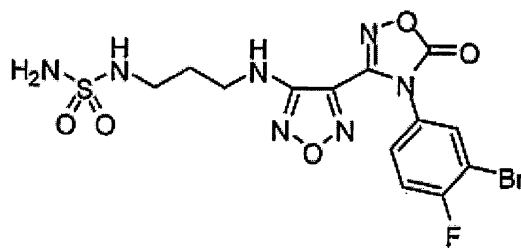
(20mL). Lóp hữu cơ được tách, làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô để tạo ra mesylat, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. Dung dịch chứa mesylat thô trong N,N-dimetylformamit (24mL) được xử lý bằng natri azit (0,73g, 11mmol) và đun nóng ở 85°C trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng etyl axetat (300mL) và rửa bằng nước (100mL), natri bicacbonat bão hòa (100mL) và nước muối (100mL), được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô để tạo ra sản phẩm mong muốn (3,2g, 99%). Nguyên liệu này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. LCMS đối với $C_{13}H_{10}BrFN_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: $m/z=446,9, 448,9$.

Bước F: 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua



Dung dịch chứa 3-{4-[(3-azidopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (2,0g, 4,7mmol) trong metanol (36mL) được xử lý bằng natri iodua (4,2g, 28mmol) và được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 5 phút. Hỗn hợp phản ứng được xử lý nhỏ giọt bằng dung dịch chứa clotrimetylsilan (3,6mL, 28mmol) trong metanol (7mL) và được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 40 phút. Hỗn hợp phản ứng được rót từ từ vào dung dịch chứa natri thiosulfat (5,0g, 32mmol) trong nước (200mL) mà được làm lạnh ở nhiệt độ 0°C. Chất rắn kết tủa được lọc, rửa bằng nước và làm khô để tạo ra sản phẩm mong muốn (2,3g, 93%) dưới dạng chất rắn. LCMS đối với $C_{13}H_{13}BrFN_6O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=399,0, 401,0$. ¹HNMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8,08 (dd, J= 6,1, 2,3 Hz, 1 H), 7,74 - 7,70 (m, 1 H), 7,60 (dd, J= 8,8, 8,6 Hz, 1 H), 7,22 (br s, 2 H), 6,69 (br s, 1 H), 2,81 - 2,77 (m, 2 H), 1,86 - 1,79 (m, 2 H).

Bước G: N-[3-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)propyl]sulfamit



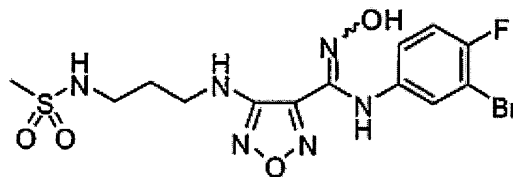
Dung dịch chứa 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua (150mg, 0,28mmol) và sulfamit (160mg, 1,7mmol) trong pyridin (2,5mL) được đun nóng trong lò vi sóng ở nhiệt độ 130°C trong thời gian 10 phút. Hỗn hợp phản ứng được cô để tạo ra cặn thô. Nguyên liệu này được tinh chế bằng LCMS điều chế để tạo ra sản phẩm mong muốn (96mg, 71%) dưới dạng chất rắn. LCMS đối với $C_{13}H_{14}BrFN_7O_5S$ ($M+H$)⁺: $m/z=478,0$, $480,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,07 (dd, $J=6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,73 - 7,69 (m, 1 H), 7,59 (dd, $J=8,8, 8,6$ Hz, 1 H), 6,57 - 6,51 (m, 4 H), 3,31 - 3,26 (m, 2 H), 2,92 - 2,87 (m, 2 H), 1,79 - 1,72 (m, 2 H).

Bước H: 4-({3-[(aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

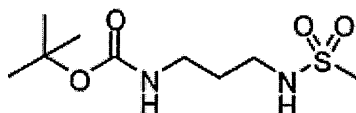
Dung dịch chứa N-[3-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)propyl]sulfamit (35mg, 73 μ mol) trong metanol (1mL) được xử lý bằng NaOH 2M (0,3mL, 0,6mmol) và khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng axit axetic (50 μ L, 0,9mmol), lọc và tinh chế bằng LCMS điều chế để tạo ra sản phẩm mong muốn (14mg, 42%) dưới dạng chất rắn. LCMS đối với $C_{12}H_{16}BrFN_7O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z=451,8$, $453,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,5 (s, 1 H), 8,89 (s, 1 H), 7,17 (dd, $J=8,8, 8,6$ Hz, 1 H), 7,09 (dd, $J=6,1, 2,7$ Hz, 1 H), 6,76 - 6,72 (m, 1 H), 6,56 (dd, $J=6,1, 6,1$ Hz, 1 H), 6,51 (s, 2 H), 6,17 (dd, $J=5,9, 5,9$ Hz, 1 H), 3,27 - 3,21 (m, 2 H), 2,94 - 2,88 (m, 2 H), 1,78 - 1,71 (m, 2 H).

Ví dụ 4

N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}-amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

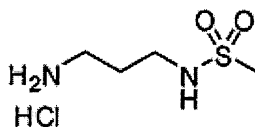


Bước A: tert-Butyl {3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}carbamát



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 17, bước A, sử dụng N-(3-aminopropyl)(tert-butoxy)carboxamid [sản phẩm Aldrich số 436992] làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 70%. LCMS đối với $C_4H_{13}N_2O_2S$ ($[M-Boc+H]^+$): $m/z=153,1$.

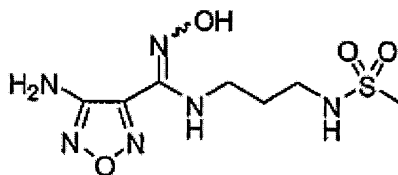
Bước B: N-(3-aminopropyl)metylsulfonamid hydroclorua



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 17, bước B, sử dụng tert-butyl {3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}carbamát làm nguyên liệu ban đầu.

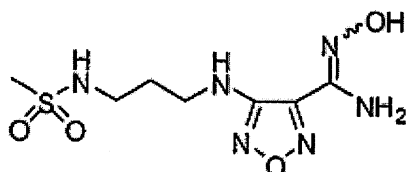
LCMS đối với $C_4H_{13}N_2O_2S$ ($M+H$) $^+$: $m/z=153,1$.

Bước C: 4-amino-N'-hydroxy-N-{3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 17, bước C, sử dụng N-(3-aminopropyl)metansulfonamit hydroclorua và 4-amino-N-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua [được điều chế theo ví dụ 1, các bước từ A đến B] làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 19%.

Bước D: N'-hydroxy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



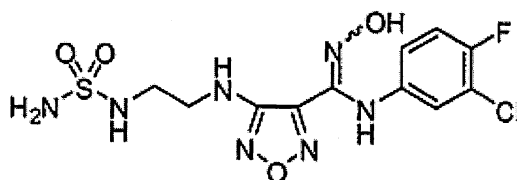
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 17, bước D, sử dụng 4-amino-N'-hydroxy-N-{3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit làm nguyên liệu ban đầu. LCMS đối với $C_7H_{15}N_6O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z=279,0$.

Bước E: N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

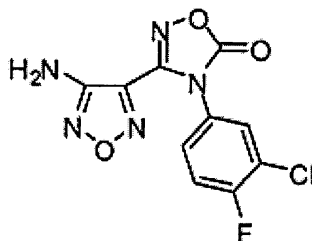
Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình của ví dụ 17, bước E, sử dụng N'-hydroxy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit và 3-bromo-4-floanilin [Oakwood Products, Inc., sản phẩm số 013091] làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 12%. LCMS đối với $C_{13}H_{17}BrFN_6O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z=451,0$, $453,0$. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,12 (dd, $J=5,9, 2,4$ Hz, 1H), 7,05 (t, $J=8,7$ Hz, 1H), 6,83 (m, 1H), 3,39 (t, $J=6,8$ Hz, 2H), 3,14 (t, $J=6,6$ Hz, 2H), 2,94 (s, 3H), 1,87 (m, 2H).

Ví dụ 5

4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-clo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

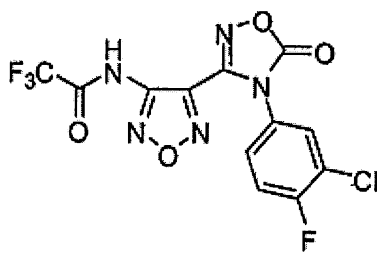


Bước A: 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-(3-chloro-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



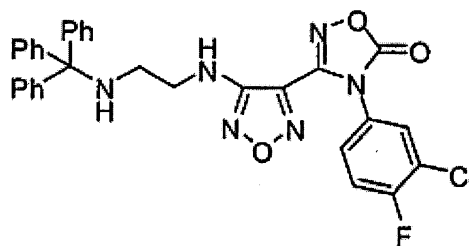
Dung dịch chứa 4-amino-N-(3-chloro-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit (80g, 0,29mol) [xem công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2006/0258719] trong tetrahydrofuran (500mL) được xử lý bằng dung dịch chứa 1,1'-carbonyldiimidazol (53g, 0,32mol) trong tetrahydrofuran (200mL) và đun nóng ở hồi lưu trong thời gian 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 25°C và cô đến điểm mà lượng lớn chất rắn kết tủa. Hỗn hợp không đồng nhất được pha loãng bằng etyl axetat (1,5L) và rửa bằng HCl 1N (2 x 300mL), nước (300mL) và nước muối (200mL). Lớp hữu cơ được tách, được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô để tạo ra sản phẩm mong muốn (88g, định lượng) dưới dạng chất rắn màu trắng nhờ. Nguyên liệu này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. LCMS đối với $C_{10}H_6ClFN_5O_3$ $(M+H)^+$: $m/z=298,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,96 (dd, $J=6,6, 2,3$ Hz, 1 H), 7,69 - 7,60 (m, 2 H), 6,60 (s, 2 H).

Bước B: N-{4-[4-(3-Chloro-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-2,2,2-trifloaxetamit



Dung dịch chứa 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-(3-clo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (15g, 50mmol) trong diclometan (120mL) được xử lý bằng anhydrit trifloaxetic (14mL, 100mmol), được làm lạnh đến 0°C và xử lý bằng pyridin (8,2mL, 100mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 10 phút, làm lạnh đến 0°C và được làm ngừng bằng nước (10mL). Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng etyl axetat (500mL) và rửa bằng HCl 1N (300mL), nước (2 x 200mL) và nước muối (200mL). Lớp hữu cơ được tách, làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô xuống thể tích ~50 mL. Dung dịch này được gia nhiệt (từ ~40 đến 50°C) và xử lý bằng hexan (600mL) có khuấy mạnh, rồi ete dầu mỏ (200mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 30 phút và chất rắn được thu gom bằng cách lọc, rửa bằng hexan và làm khô để tạo ra sản phẩm mong muốn (19,7g, 99%) dưới dạng chất rắn màu trắng. LCMS đối với $C_{12}H_5ClF_4N_5O_4$ (M+H)⁺: m/z=394,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,82 (dd, J= 6,6, 2,5 Hz, 1 H), 7,59 (dd, J= 9,0, 9,0 Hz, 1 H), 7,52 - 7,47 (m, 1 H).

Bước C: 4-(3-Clo-4-flophenyl)-3-(4-{[2-(tritylamino)etyl]amino}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on

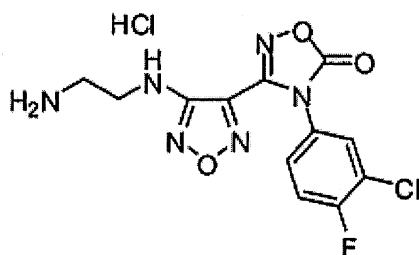


Dung dịch chứa 2-(tritylamino)etanol (10g, 33mmol) [EP599220 and J. Org. Chem. (2001), 66, 7615] và triphenylphosphin (8,7g, 33mmol) trong tetrahydrofuran (65mL) ở 0°C được xử lý nhỏ giọt bằng diisopropyl azodicarboxylat (7,0mL,

35mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 15 phút, xử lý bằng dung dịch chứa N-{4-[4-(3-clo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-2,2,2-trifloaxetamit (9,3g, 24mmol) trong tetrahydrofuran (28mL) và được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô, pha loãng bằng etyl axetat (350mL), làm lạnh đến 0°C, xử lý bằng HCl 1N (200mL) và khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được xử lý thêm bằng HCl 1N (150mL) và khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 3 giờ. Lớp hữu cơ được tách, rửa bằng natri bicacbonat bão hòa (200mL) và nước muối (100mL), làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô thành bột màu vàng mà được cô lại từ hexan để tạo ra chất rắn chứa dầu. Chất rắn chứa dầu này được xử lý bằng metyl tert-butyl ete (50mL) và khuấy để tạo ra hỗn hợp đồng nhất. Chất rắn được lọc, rửa bằng metyl tert-butyl ete (30mL) và làm khô để tạo ra sản phẩm mong muốn (10g, 74%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

LCMS đối với $C_{31}H_{24}ClFN_6O_3Na$ (M+Na)⁺: m/z=605,2, ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 7,97 (dd, J= 6,7, 2,6 Hz, 1 H), 7,71 - 7,66 (m, 1 H), 7,60 (dd, J= 9,1, 8,8 Hz, 1 H), 7,40 - 7,37 (m, 6 H), 7,28 - 7,23 (m, 6 H), 7,18 - 7,12 (m, 3 H), 6,59 (dd, J= 5,9, 5,6 Hz, 1 H), 3,37 - 3,31 (m, 2 H), 2,96 (dd, J= 7,6, 7,6 Hz, 1 H), 2,27 - 2,19 (m, 2 H).

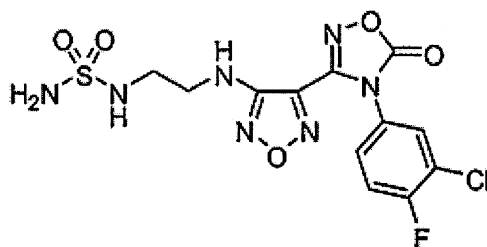
Bước D: 3-{4-[(2-aminoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-clo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroclorua



Bổ sung dung dịch được trộn trước chứa triisopropylsilan (3,4mL, 17mmol) và axit trifloaxetic (44mL, 570mmol) vào 4-(3-clo-4-flophenyl)-3-(4-{[2-(tritylamino)etyl]amino}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (6,5g, 11mmol) và huyền phù thu được được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 30 phút.

Hỗn hợp phản ứng được lọc và rửa bằng axit trifloaxetic. Dịch lọc được cô thành dầu mà được pha loãng bằng metanol (25mL), làm lạnh đến 0°C, xử lý bằng HCl 4M trong 1,4-dioxan (14mL) và khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 15 phút. Hỗn hợp này được cô thành chất rắn mà được xử lý bằng dietyl ete (50mL) và lọc. Chất rắn này được rửa bằng dietyl ete (50mL) và làm khô để tạo ra sản phẩm mong muốn (4,1g, 98%) dưới dạng chất rắn màu trắng. LCMS đối với $C_{12}H_{11}ClFN_6O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=341,1$, 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8,05 - 8,00 (m, 4 H), 7,75 - 7,69 (m, 1 H), 7,64 (dd, $J=9,1, 8,8$ Hz, 1 H), 6,77 (dd, $J=5,9, 5,9$ Hz, 1 H), 3,54 - 3,47 (m, 2 H), 3,04 - 2,99 (m, 2 H).

Bước E: N-[2-({4-[4-(3-Clo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)etyl]sulfamit



Dung dịch chứa closulfonyl isoxyanat (2,0mL, 23mmol) trong diclometan (70mL) được xử lý bằng rượu t-butylic (2,2mL, 23mmol) ở nhiệt độ 0°C và được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 1 giờ. Hỗn hợp này được bổ sung vào huyền phù chứa 3-{4-[2-aminoetyl]amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-clo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroclorua (4,3g, 11mmol) trong diclometan (70mL). Hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng dung dịch chứa trietylamin (6,3mL, 45mmol) trong diclometan (20mL) ở nhiệt độ 0°C và được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng HCl 0,1N và chiết bằng etyl axetat (2 x 100mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (100mL), làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô thành chất rắn màu trắng. Chất rắn màu trắng được pha loãng bằng diclometan (100mL), xử lý bằng axit trifloaxetic (20mL) và khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô thành cặn thô được tinh chế bằng sắc ký silicagel để tạo ra sản phẩm mong muốn (3,7g, 78%) dưới dạng chất rắn màu trắng. LCMS đối với $C_{12}H_{12}ClFN_7O_3S$ ($M+H$)⁺: $m/z=420,0$. 1H NMR (300 MHz,

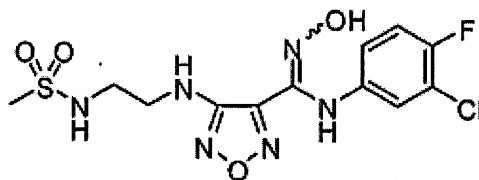
DMSO- d_6): δ 7,98 (dd, J = 6,4, 2,1 Hz, 1 H), 7,70 - 7,60 (m, 2 H), 6,66 (t, J = 5,9 Hz, 1 H), 6,57 (s, 2 H), 6,52 (t, J = 5,9 Hz, 1 H), 3,42 - 3,35 (m, 2 H), 3,13 - 3,06 (m, 2 H).

Bước F: 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-clo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

Dung dịch chứa N-[2-({4-[4-(3-clo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)etyl]sulfamit (3,7g, 8,8mmol) trong metanol (70mL) được xử lý bằng NaOH 2M (18mL, 35mmol) và khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm ngừng bằng HCl 6N đến độ pH~7 và metanol được loại bỏ dưới áp suất giảm. Chất rắn kết tủa được lọc và rửa bằng nước để tạo ra sản phẩm mong muốn (3,2g, 92%) dưới dạng chất rắn màu trắng. LCMS đối với $C_{11}H_{14}ClFN_7O_4S$ (MH $^{+}$): m/z =394,0. 1H NMR (400 MHz, DMSO- J_6): δ 7,96 (dd, J = 6,8, 2,1 Hz, 0,05 H), 7,32 - 7,29 (m, 0,1 H), 7,18 (dd, J = 9,1, 9,1 Hz, 0,95 H), 6,93 (dd, J = 6,4, 2,7 Hz, 0,95 H), 6,71 - 6,66 (m, 0,95 H), 6,33 (br s, 1 H), 3,35 - 3,27 (m, 2 H), 3,10 - 3,06 (m, 2 H).

Ví dụ 6

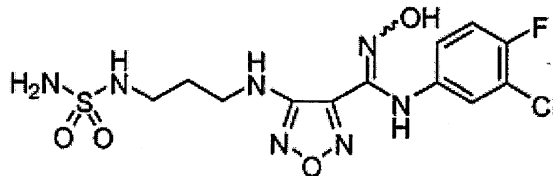
N-(3-Clo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}-amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



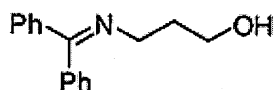
Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình của ví dụ 17, bước E, sử dụng N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit và 3-clo-4-floanilin [sản phẩm Aldrich số 228583] làm nguyên liệu ban đầu. LCMS đối với $C_{12}H_{15}ClFN_6O_4S$ (M+H) $^{+}$: m/z =393,0. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,50 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 7,19 (m, 2H), 6,96 (dd, J = 6,7, 2,5 Hz, 1H), 6,71 (m, 1H), 6,26 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 3,32 (m, 2H), 3,13 (q, J = 5,8 Hz, 2H), 2,89 (s, 3H).

Ví dụ 7

4-({3-[(aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N-(3-clo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

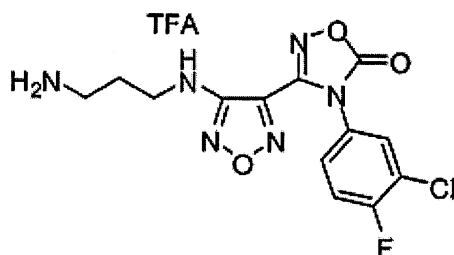


Bước A: 3-[(diphenylmetylen)amino]propan-1-ol



Dung dịch chứa 3-amino-1-propanol [sản phẩm Aldrich số A76400] (2,0mL, 26mmol) trong diclometan (79mL) được xử lý bằng benzophenon imin (4,4mL, 26mmol) và được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và dịch lọc được cô để tạo ra sản phẩm mong muốn (6,3g, định lượng) dưới dạng dầu. Nguyên liệu này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. LCMS đối với $C_{16}H_{18}NO$ (M+H)⁺: m/z=240,2.

Bước B: 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-clo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on trifloaxetat



Dung dịch chứa 3-[(diphenylmetylen)amino]propan-1-ol (80mg, 0,33mmol) và triphenylphosphin (93mg, 0,36mmol) trong tetrahydrofuran (1mL) ở nhiệt độ 0°C được xử lý nhỏ giọt bằng diisopropyl azodicarboxylat (75μL, 0,38mmol). Hỗn hợp

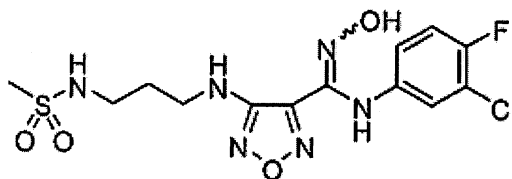
phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 15 phút, xử lý bằng dung dịch chứa N-{4-[4-(3-clo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-2,2,2-trifloaxetamit (100mg, 0,25mmol) trong tetrahydrofuran (0,5mL) và được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng axit trifloaxetic (1mL), khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 3 giờ và cô thành cặn thô. Nguyên liệu này được tinh chế bằng LCMS điều chế để tạo ra sản phẩm mong muốn (18mg, 15%). LCMS đối với $C_{13}H_{13}ClFN_6O_3 (M+H)^+$: $m/z=355,1$

Bước C: 4-({3-[(aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N-(3-clo-4-flo-phenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 15, bước G, sử dụng 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-clo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on trifloaxetat làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 34%. LCMS đối với $C_{12}H_{16}ClFN_7O_4S (M+H)^+$: $m/z=408,1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,90 (s, 1H), 7,20 (dd, $J=9,2, 9,0$ Hz, 1 H), 6,96 (dd, $J=6,4, 2,7$ Hz, 1 H), 6,72 - 6,69 (m, 1 H), 6,55 (t, $J=6,0$ Hz, 1 H), 6,51 (s, 2 H), 6,16 (t, $J=5,9$ Hz, 1 H), 3,28 - 3,21 (m, 2 H), 2,93 - 2,87 (m, 2 H), 1,76 - 1,72 (m, 2 H).

Ví dụ 8

N-(3-Clo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

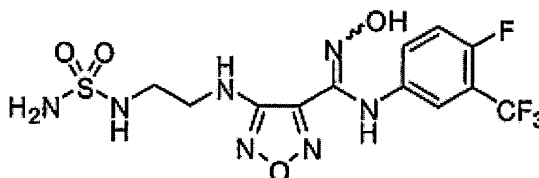


Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình của ví dụ 4, bước E, sử dụng N'-hydroxy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit [được điều chế theo ví dụ 4, các bước từ A đến D] và 3-clo-4-floanilin [sản phẩm Aldrich số 228583] làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 10%. LCMS đối với $C_{13}H_{17}ClFN_6O_4S (M+H)^+$: $m/z=407,1$. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,06 (t, $J=$

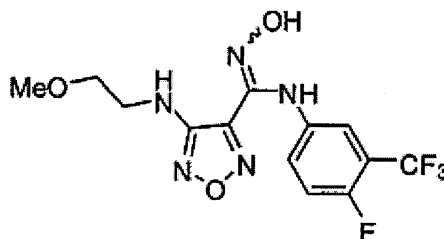
8,9 Hz, 1H), 6,98 (m, 1H), 6,80 (m, 1H), 3,73 (m, 2H), 3,28 (m, 2H), 2,94 (s, 3H), 1,28 (m, 2H).

Ví dụ 9

4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[4-flo-3-(triflometyl)phenyl]-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

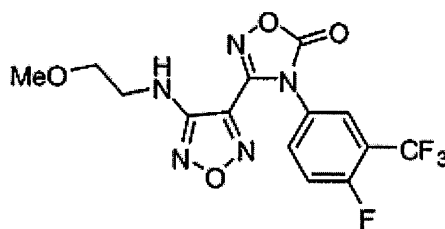


Bước A: N-[4-Flo-3-(triflometyl)phenyl]-N'-hydroxy-4-[(2-metoxetyl)-amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



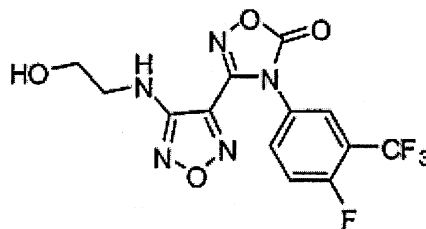
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 13, bước A, sử dụng N-hydroxy-4-[(2-metoxetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua [được điều chế theo ví dụ 1, các bước từ A đến E] và 3-triflometyl-4-floanilin [sản phẩm Aldrich số 217778] làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất định lượng. LCMS đối với $C_{13}H_{14}F_4N_5O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=364,0$, 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,15 (m, 2 H), 7,08 (m, 1H), 3,60 (t, $J=5,3$ Hz, 2 H), 3,46 (t, $J=5,3$ Hz, 2 H), 3,38 (s, 3 H).

Bước B: 4-[4-Flo-3-(triflometyl)phenyl]-3-{4-[(2-metoxetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



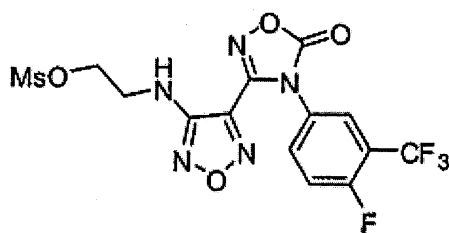
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 13, bước B, sử dụng N-[4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-N'-(2-methoxyethyl)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamide làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 79%. LCMS đối với $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=390,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,20 (dd, $J=6,3, 2,4$ Hz, 1 H), 8,03 (m, 1 H), 7,76 (t, $J=9,5$ Hz, 1 H), 6,41 (t, $J=5,7$ Hz, 1 H), 3,49 (t, $J=5,5$ Hz, 2 H), 3,39 (q, $J=5,7$ Hz, 2 H), 3,25 (s, 3 H).

Bước C: 4-[4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-3-{4-[(2-hydroxyethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



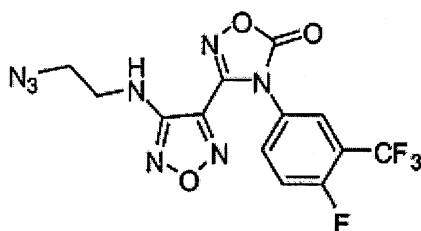
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 13, bước C, sử dụng 4-[4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-3-{4-[(2-methoxyethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 99%. LCMS đối với $C_{13}H_{10}F_4N_5O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=376,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,22 (m, 1 H), 8,05 (m, 1 H), 7,76 (t, $J=9,9$ Hz, 1 H), 6,34 (t, $J=5,7$ Hz, 1 H), 4,87 (t, $J=5,2$ Hz, 1 H), 3,56 (q, $J=5,5$ Hz, 2 H), 3,29 (q, $J=5,7$ Hz, 2 H).

Bước D: 2-[(4-{4-[4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)amino]ethyl metansulfonat



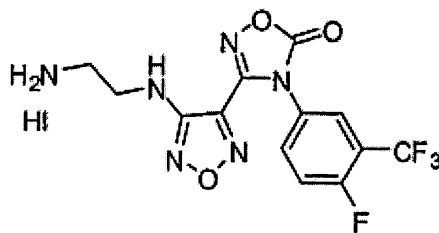
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 13, bước D, sử dụng 4-[4-flo-3-(triflometyl)phenyl]-3-{4-[(2-hydroxyetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 95%. LCMS đối với $C_{14}H_{12}F_4N_5O_6S$ ($M+H$)⁺: $m/z=454,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,23 (dd, $J=6,5, 2,5$ Hz, 1 H), 8,06 (m, 1 H), 7,76 (t, $J=9,6$ Hz, 1 H), 6,76 (t, $J=5,8$ Hz, 1 H), 4,37 (t, $J=5,4$ Hz, 2 H), 3,60 (q, $J=5,5$ Hz, 2 H), 3,17 (s, 3 H).

Bước E: 3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[4-flo-3-(triflo-metyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 13, bước E, sử dụng 2-[(4-{4-[4-flo-3-(triflo-metyl)phenyl]-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)amino]etyl metansulfonat làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 100%. LCMS đối với $C_{13}H_9F_4N_6O_3$ ($M-N_2+H$)⁺: $m/z=372,8$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,22 (dd, $J=6,2, 2,4$ Hz, 1 H), 8,05 (m, 1 H), 7,76 (t, $J=9,6$ Hz, 1 H), 6,75 (t, $J=5,9$ Hz, 1 H), 3,53 (t, $J=5,9$ Hz, 2 H), 3,45 (q, $J=5,6$ Hz, 2 H).

Bước F: 3-{4-[(2-aminoetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[4-flo-3-(triflo-metyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua



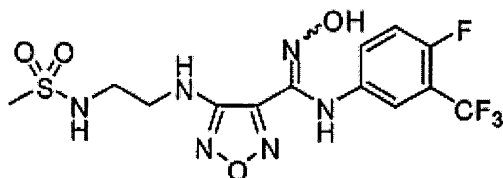
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 13, bước F, sử dụng 3-{4-[(2-azidoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 80%. LCMS đối với $C_{13}H_{11}F_4N_6O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=375,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,20 (dd, $J=6,2, 2,4$ Hz, 1 H), 8,03 (m, 1 H), 7,74 (t, $J=9,8$ Hz, 1 H), 7,10 (br s, 0,4 H), 6,68 (t, $J=5,5$ Hz, 1 H), 3,42 (q, $J=5,8$ Hz, 2 H), 2,95 (t, $J=6,5$ Hz, 2 H).

Bước G: 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình của ví dụ 13, bước G, sử dụng 3-{4-[(2-aminosulfonyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 55%. LCMS đối với $C_{12}H_{14}F_4N_7O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z=428,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,60 (s, 1 H), 9,06 (s, 1 H), 7,30 (t, $J=10,1$ Hz, 1 H), 7,14 (dd, $J=6,1, 2,7$ Hz, 1 H), 7,03 (m, 1 H), 6,71 (t, $J=5,3$ Hz, 1 H), 6,58 (s, 2 H), 6,23 (t, $J=6,2$ Hz, 1 H), 3,36 (q, $J=6,5$ Hz, 2 H), 3,08 (m, 2 H).

Ví dụ 10

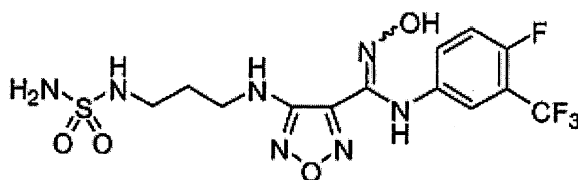
N-[4-Flo-3-(trifluoromethyl)phenyl]-N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



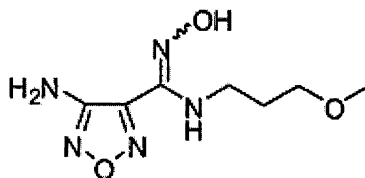
Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình của ví dụ 17, bước E, sử dụng N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit và 3-triflometyl-4-floanilin [sản phẩm Aldrich số 217778] làm nguyên liệu ban đầu. LCMS đối với $C_{13}H_{15}F_4N_6O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z=427,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,60 (s, 1H), 9,07 (s, 1H), 7,30 (t, $J=10,1$ Hz, 1H), 7,18 (t, $J=6,0$ Hz, 1H), 7,13 (dd, $J=6,0, 2,7$ Hz, 1H), 7,03 (m, 1H), 6,27 (t, $J=6,3$ Hz, 1H), 3,32 (m, 2H), 3,13 (q, $J=6,0$ Hz, 2H), 2,89 (s, 3H).

Ví dụ 11

4-({3-[(aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N-[4-flo-3-(triflometyl)-phenyl]-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

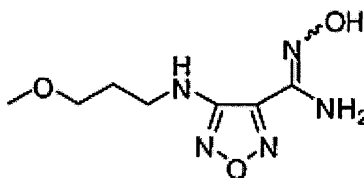


Bước A: 4-amino-N'-hydroxy-N-(3-metoxypopyl)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



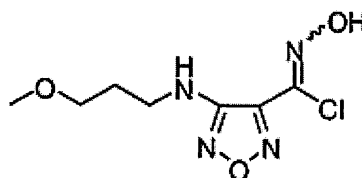
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 1, bước C, sử dụng 3-metoxyl-propanamin làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 93%. LCMS đối với $C_7H_{14}N_5O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=216,1$.

Bước B: N'-hydroxy-4-[(3-metoxypopyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



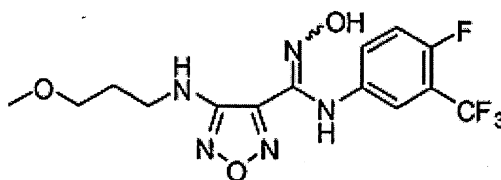
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 1, bước D, sử dụng 4-amino-N'-hydroxy-N-(3-methoxypropyl)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 72%. LCMS đối với $C_7H_{14}N_5O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=216,1$. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 10,4 (s, 1 H), 6,21 - 6,13 (m, 3 H), 3,37 (t, $J=6,1$ Hz, 2 H), 3,28 - 3,21 (m, 5 H), 1,82 - 1,74 (m, 2 H).

Bước C: N-hydroxy-4-[(3-methoxypropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 1, bước E, sử dụng N'-hydroxy-4-[(3-methoxypropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất định lượng. LCMS đối với $C_7H_{12}ClN_4O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=235,1$.

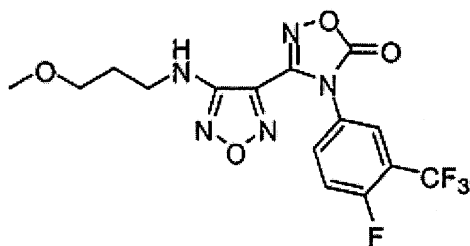
Bước D: N-[4-Flo-3-(triflometyl)phenyl]-N'-hydroxy-4-[(3-methoxypropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 1, bước F, sử dụng N-hydroxy-4-[(3-methoxypropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua

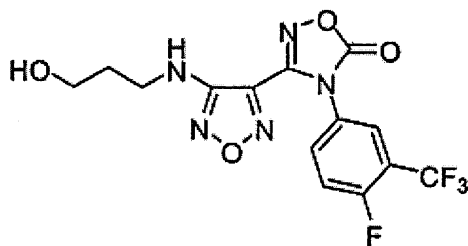
và 4-flo-3-(triflometyl)benzenamin làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 87%. LCMS đối với $C_{14}H_{16}F_4N_5O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=378,1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,5 (s, 1 H), 9,05 (s, 1 H), 7,30 (dd, $J=10,0, 9,6$ Hz, 1 H), 7,13 - 7,11 (m, 1 H), 7,05 - 7,00 (m, 1 H), 6,22 (t, $J=5,7$ Hz, 1 H), 3,35 - 3,32 (m, 2 H), 3,25 - 3,19 (m, 5 H), 1,79 - 1,72 (m, 2 H).

Bước E: 4-[4-Flo-3-(triflometyl)phenyl]-3-{4-[(3-metoxypopyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 1, bước G, sử dụng N-[4-flo-3-(triflometyl)phenyl]-N'-hydroxy-4-[(3-metoxypopyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất định lượng. LCMS đối với $C_{15}H_{14}F_4N_5O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=404,0$.

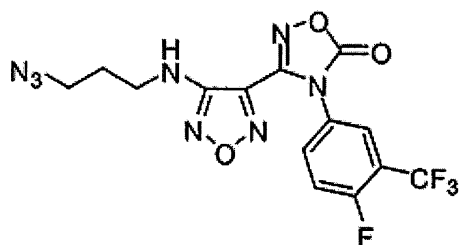
Bước F: 4-[4-Flo-3-(triflometyl)phenyl]-3-{4-[(3-hydroxypopyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 3, bước D, sử dụng 4-[4-flo-3-(triflometyl)phenyl]-3-{4-[(3-metoxypopyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 97%. LCMS đối với $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=390,0$. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8,20 (dd, $J=6,4, 2,6$ Hz, 1 H), 8,06 - 8,01 (m, 1 H), 7,75 (dd, $J=10,0, 9,4$ Hz, 1 H), 6,53 (t,

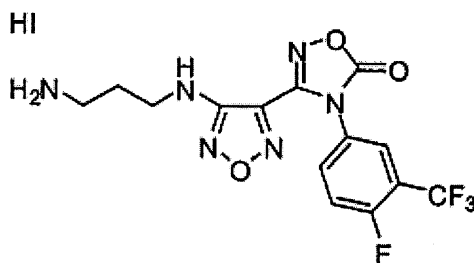
$J = 5,7$ Hz, 1 H), 4,59 (t, $J = 5,0$ Hz, 1 H), 3,51 - 3,42 (m, 2 H), 3,32 - 3,26 (m, 2 H), 1,73 - 1,68 (m, 2 H).

Bước G: 3-{4-[(3-Azidopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[4-fluoro-3-(triflormetyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 3, bước E, sử dụng 4-[4-fluoro-3-(triflormetyl)phenyl]-3-{4-[(3-hydroxypropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất định lượng. LCMS đối với $C_{14}H_{10}F_4N_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: $m/z=437,0$.

Bước H: 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[4-fluoro-3-(triflormetyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua



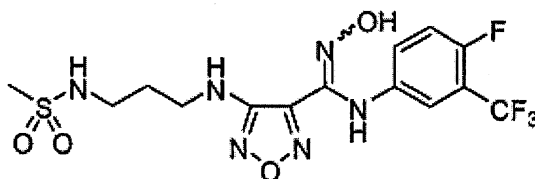
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 3, bước F, sử dụng 3-{4-[(3-azidopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[4-fluoro-3-(triflormetyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 81%. LCMS đối với $C_{14}H_{13}F_4N_6O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=389,1$. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 8,18 (dd, $J = 6,4, 2,3$ Hz, 1 H), 8,06 - 8,01 (m, 1 H), 7,72 (dd, $J = 9,7, 9,4$ Hz, 1 H), 7,34 (br s, 2 H), 6,71 (br s, 1 H), 2,78 - 2,73 (m, 2 H), 1,85 - 1,75 (m, 2 H).

Bước I: 4-({3-[(aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N-[4-flo-3- (triflo-metyl)phenyl]-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 15, bước G, sử dụng 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[4-flo-3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 60%. LCMS đối với $C_{13}H_{16}F_4N_7O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z=442,0$. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11,6 (s, 1 H), 9,08 (s, 1 H), 7,31 (dd, $J=10,0, 9,4$ Hz, 1 H), 7,13 (dd, $J=6,4, 2,9$ Hz, 1 H), 7,05 - 6,99 (m, 1 H), 6,58 (t, $J=6,0$ Hz, 1 H), 6,52 (s, 2 H), 6,17 (t, $J=5,9$ Hz, 1 H), 3,28 - 3,21 (m, 2 H), 2,94 - 2,87 (m, 2 H), 1,79 - 1,72 (m, 2 H).

Ví dụ 12

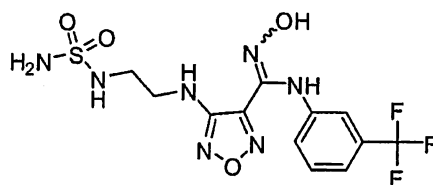
N-[4-Flo-3-(triflometyl)phenyl]-N'-hydroxy-4-({3-[(metyl-sulfonyl)amino]-propyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



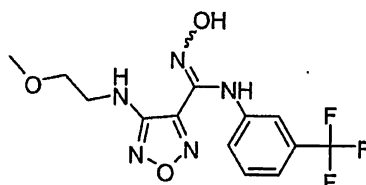
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 16 sử dụng 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[4-flo-3-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 70%. LCMS đối với $C_{14}H_{17}F_4N_6O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z=441,1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,6 (s, 1 H), 9,07 (s, 1 H), 7,30 (dd, $J=10,0, 9,6$ Hz, 1 H), 7,13 (dd, $J=6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,05 - 7,02 (m, 2 H), 6,19 (t, $J=5,8$ Hz, 1 H), 3,27 - 3,21 (m, 2 H), 2,99 - 2,94 (m, 2 H), 2,87 (s, 3 H), 1,76 - 1,72 (m, 2 H).

Ví dụ 13

4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N'-hydroxy-N-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

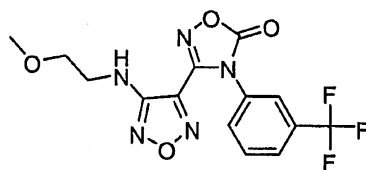


Bước A: N'-hydroxy-4-[(2-methoxyetyl)amino]-N-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



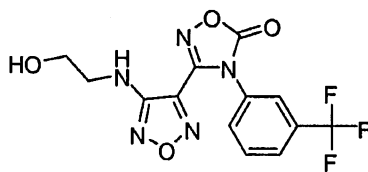
N-hydroxy-4-[(2-methoxyetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua (1,3g, 5,0mmol) [được điều chế theo ví dụ 1, từ bước A đến bước E] được khuấy trong nước (10mL) và làm ấm đến 60°C trong 5 phút. 3-(triflometyl)anilin [sản phẩm Aldrich số A41801] (880mg, 5,5mmol) được bổ sung thành một phần và phản ứng được khuấy trong thời gian 15 phút. Trong khi duy trì ở nhiệt độ 60°C, dung dịch natri bicacbonat (630mg, 7,5mmol) trong nước (10mL) được bổ sung từng giọt trong thời gian 5 phút. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 60°C trong 50 phút nữa và sau đó để nguội đến nhiệt độ trong phòng. Etyl axetat (20mL) và nước muối (30mL) được bổ sung vào bình phản ứng và lớp hữu cơ được thu gom. Lớp nước được chiết bằng etyl axetat (2 x 20mL) và các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat. Dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn dưới dạng chất rắn màu da cam (1,4g, 80%). LCMS tính toán được cho $C_{13}H_{15}F_3N_5O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=346,1$. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,36 (t, $J=8,2$ Hz, 1H), 7,23 (d, $J=7,6$ Hz, 1H), 7,09 (s, 1H), 7,02 (d, $J=8,2$ Hz, 1H), 3,60 (t, $J=5,2$ Hz, 2H), 3,46 (t, $J=5,2$ Hz, 2H), 3,38 (s, 3H).

Bước B: 3-{4-[(2-Metoxetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



N'-hydroxy-4-[(2-metoxyletyl)amino]-N-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit (1,4g, 3,80mmol) và 1,1'-carbonyldiimidazol (1,16g, 7,16mmol) được hòa tan trong etyl axetat (20mL). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 40 phút. Bổ sung thêm 1,1'-carbonyldiimidazol (0,26g, 1,16mmol) vào hỗn hợp. Sau khi khuấy ở nhiệt độ 70°C trong 50 phút nữa, phản ứng được để nguội đến nhiệt độ trong phòng. Etyl axetat (20mL) được bổ sung và sản phẩm phản ứng thô được rửa bằng dung dịch HCl trong nước 1N (2 x 20mL). Nước muối được bổ sung vào để hỗ trợ việc tách phần rửa đầu tiên. Lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat và cô trong chân không. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh trên silicagel với dung môi rửa giải là etyl axetat trong hexan thu được sản phẩm mong muốn (1,3g, 90%). LCMS tính toán được cho $C_{14}H_{13}F_3N_5O_4$ (M+H)⁺: m/z=372,0, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8,07 (s, 1H), 7,92 (m, 2H), 7,79 (t, J= 8,1 Hz, 1H), 6,42 (t, J= 6,0 Hz, 1H), 3,47 (t, J= 5,8 Hz, 2H), 3,38 (q, J= 5,0 Hz, 2H), 3,24 (s, 3H).

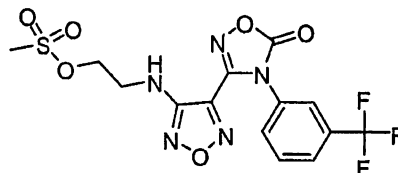
Bước C: 3-{4-[(2-hydroxyetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Trong bình đáy tròn dưới khí quyển nitơ, bổ sung nhỏ giọt 3-{4-[(2-metoxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (1,3g, 3,6 mmol) có khuấy trong diclometan (11mL). Nhiệt độ được giảm xuống -78°C và bổ sung thêm dung dịch bô tribromua 1,0M trong diclometan (7,9mL, 7,9mmol) trong thời gian 15 phút. Phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng trong thời gian 45 phút và khuấy tiếp ở nhiệt độ trong phòng thêm 45 phút nữa. Phản ứng được làm lạnh đến 0°C và bổ sung nhỏ giọt dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (25mL) trong thời gian 15 phút. Sau khi để ấm đến nhiệt độ trong phòng, bổ sung etyl axetat (10mL) và nước (10mL) vào bình. Lớp hữu cơ được thu gom và lớp nước được chiết bằng etyl axetat (2 x 20mL). Sau khi làm khô các lớp hữu cơ kết hợp bằng natri sulfat, dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn (1,0g, 81%). LCMS tính toán được cho $C_{13}H_{11}F_3N_5O_4$ (M+H)⁺:

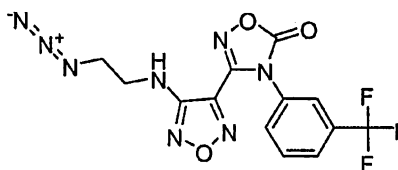
$m/z=358,0$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 8,08 (s, 1H), 7,93 (t, $J=8,2$ Hz, 2H), 7,79 (t, $J=8,2$ Hz, 1H), 6,35 (t, $J=5,7$ Hz, 1H), 4,86 (br s, 1H), 3,55 (t, $J=6,0$ Hz, 2H), 3,28 (m, 2H).

Bước D: 2-[(4-{5-Oxo-4-[3-(triflometyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)amino]etyl metansulfonat



Bổ sung thành một phần metansulfonyl clorua (0,29mL, 3,7mmol) vào dung dịch 3-{4-[(2-hydroxyetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (1,0g, 2,9mmol) trong etyl axetat (8,5mL). Phản ứng được khuấy trong 5 phút và bổ sung trietylamin (0,52mL, 3,7mmol) thành một phần. Sau khi khuấy thêm 10 phút, phản ứng được làm ngừng bằng cách bổ sung nước (5mL). Sản phẩm được chiết bằng etyl axetat (2 x 5mL), làm khô bằng natri sulfat và cô trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn (1,2g, 99%). LCMS tính toán được cho $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: $m/z=436,0$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 8,10 (s, 1H), 7,92 (m, 2H), 7,80 (t, $J=8,2$ Hz, 1H), 6,77 (t, $J=5,9$ Hz, 1H), 4,36 (t, $J=5,5$ Hz, 2H), 3,58 (m, 2H), 3,17 (s, 3H).

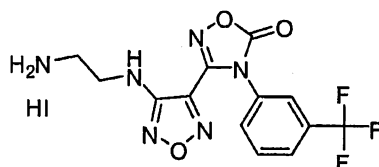
Bước E: 3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Hòa tan 2-[(4-{5-oxo-4-[3-(triflometyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)amino]etyl metansulfonat (1,2g, 2,9mmol) trong N,N-dimetylformamit (2,7mL). Sau khi bổ sung natri azit (280mg, 4,3mmol) thành một phần, nhiệt độ được nâng lên đến 65°C và phản ứng được khuấy trong 6 giờ. Sau khi làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, nước (10mL) được bổ sung vào để trung hòa phản ứng. Sản phẩm được chiết bằng etyl axetat (3 x 10mL) và các lớp hữu cơ kết hợp

được làm khô bằng natri sulfat. Dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn (1,05g, 96%). LCMS tính toán được cho $C_{13}H_{10}F_3N_6O_3$ ($M-N_2+H$)⁺: $m/z=355,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,09 (s, 1H), 7,93 (m, 2H), 7,79 (t, $J=8,2$ Hz, 1H), 6,75 (t, $J=5,8$ Hz, 1H), 3,52 (t, $J=5,7$ Hz, 2H), 3,44 (q, $J=5,5$ Hz, 2H).

Bước F: 3-{4-[(2-aminoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua



Bổ sung natri iodua (2,5g, 17mmol) vào dung dịch 3-{4-[(2-azidoethyl)-amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (1,05g, 2,8mmol) trong metanol (12mL). Sau khi khuấy trong thời gian 10 phút, bổ sung nhỏ giọt dung dịch clotrimetylsilan (2,1mL, 17mmol) trong metanol (1,41mL) trong thời gian 15 phút. Phản ứng được khuấy tiếp trong thời gian 40 phút và sau đó bổ sung dung dịch natri thiosulfat (2,7g, 17mmol) trong nước (12,5mL) thành một phần. Chất rắn màu be kết tủa khi bổ sung dung dịch natri thiosulfat và được thu gom bằng cách lọc chân không. Chất rắn được rửa bằng nước (2 x 10mL) và làm khô trong chân không qua đêm để thu được sản phẩm mong muốn. Phần chất rắn khác cũng kết tủa từ dịch lọc và được thu gom bằng cách lọc chân không. Sau khi rửa bằng nước (3 x 10mL) trong phễu, sản phẩm được làm khô qua đêm trong chân không. Chất rắn này được rửa dạng huyền phù bằng etyl axetat (3,8mL) trong thời gian 1 giờ và được thu kết hợp bằng cách lọc. Sau khi rửa bằng etyl axetat (2 x 2mL) và làm khô qua đêm, thu được sản phẩm bổ sung. Tổng cộng thu được 760mg sản phẩm mong muốn (57%) dưới dạng muối hydroiodua. LCMS tính toán được cho $C_{13}H_{12}F_3N_6O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=357,1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,10 (s, 1H), 7,95 (m, 2H), 7,81 (t, $J=8,1$ Hz, 1H), 7,68 (br s, 2H), 6,74 (t, $J=6,7$ Hz, 1H), 3,49 (m, 2H), 3,03 (t, $J=6,7$ Hz, 2H).

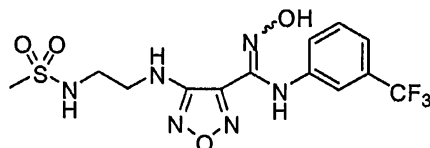
Bước G: 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N'-hydroxy-N-[3-(triflo-metyl)phenyl]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

Bổ sung nhỏ giọt rượu tert-butylic (10 μ L, 0,11mmol) vào dung dịch closulfonyl isoxyanat (9,2 μ L, 0,11mmol) trong diclometan (0,24mL) ở 0°C và dưới khí quyển nitơ. Dung dịch được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ để thu được dung dịch tert-butyl[closulfonyl]carbamate.

Trong bình khác, 3-{4-[(2-aminoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua (26mg, 0,053mmol) được tạo huyền phù trong diclometan (0,5mL). Khí quyển nitơ được thiết lập và nhiệt độ được nâng lên 0°C. Bổ sung dung dịch tert-butyl [closulfonyl]carbamate (được điều chế như trên) vào huyền phù của muối amin có khuấy trong thời gian 5 phút. Sau 10 phút, bổ sung từng giọt triethylamin (37 μ L, 0,27mmol) vào hỗn hợp. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1,5 giờ. Sau khi cô trong chân không, cặn được xử lý bằng axit trifloaxetic (0,5mL, 6mmol). Phần này được khuấy trong thời gian 1 giờ và hỗn hợp được cô lại đến khô trong chân không. Chất rắn được làm khô được tạo huyền phù trong metanol (0,5mL) và dung dịch NaOH 2,0N trong nước (0,53mL, 1,1mmol) được bổ sung thành một phần vào hỗn hợp. Phản ứng được gia nhiệt đến 45°C và khuấy trong thời gian 30 phút. Sau khi trung hòa bằng axit axetic (60 μ L, 1,1mmol), sản phẩm được tinh chế bằng LCMS điều chế để thu được sản phẩm mong muốn (8,5mg, 39%). LCMS tính toán được cho C₁₂H₁₅F₃N₇O₄S (M+H)⁺: m/z=410,0. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,36 (t, J= 7,8 Hz, 1H), 7,23 (d, J= 7,8 Hz, 1H), 7,10 (s, 1H), 7,03 (d, J= 7,8 Hz, 1H), 3,48 (m, 2H), 3,29 (m, 2H).

Ví dụ 14

N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

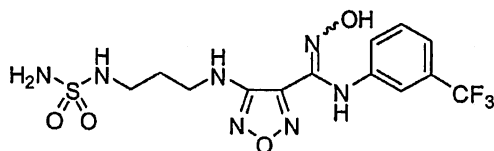


Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình của ví dụ 17, bước E, sử dụng N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit và 3-triflometylanilin [sản phẩm Aldrich số A41801] làm các nguyên liệu ban đầu. LCMS đối với C₁₃H₁₆F₃N₆O₄S (M+H)⁺: m/z=409,1, ¹HNMR (500 MHz, DMSO- d₆): δ 11,63 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,39 (t, J= 7,6 Hz, 1H), 7,21 (m, 2H), 7,10

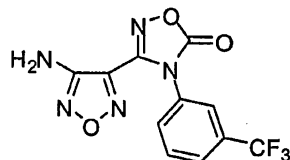
(s, 1H), 6,99 (d, J= 8,1 Hz, 1H), 6,28 (t, J= 5,4 Hz, 1H), 3,36 (q, J= 5,8 Hz, 2H), 3,17 (q, J= 5,8 Hz, 2H), 2,91 (s, 3H).

Ví dụ 15

4-({3-[(aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N'-hydroxy-N-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

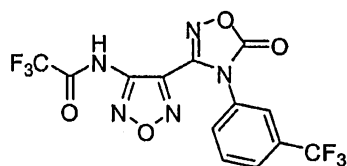


Bước A: 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



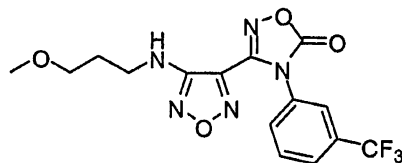
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 5, bước A, sử dụng 4-amino-N'-hydroxy-N-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit [xem công bố đơn sáng chế Mỹ số 2006/0258719] làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 97%. LCMS đối với $C_{11}H_7F_3N_5O_3$ ($M+H$)⁺: m/z=314,1.

Bước B: 2,2,2-triflo-N-(4-{5-oxo-4-[3-(triflometyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)axetamit



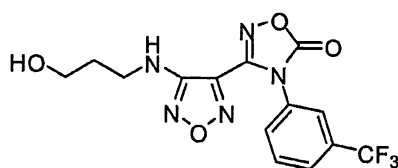
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 5, bước B, sử dụng 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 90%. LCMS đối với $C_{13}H_6F_6N_5O_4$ ($M+H$)⁺: m/z=410,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,91 - 7,88 (m, 2 H), 7,76 - 7,69 (m, 2 H).

Bước C: 3-{4-[(3-Metoxypropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



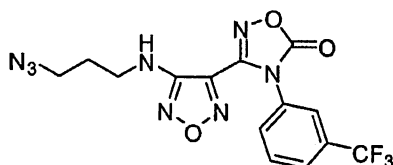
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 3, bước C, sử dụng 2,2,2-triflo-N-(4-{5-oxo-4-[3-(triflometyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)axetamit làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 49%. LCMS đối với $C_{15}H_{15}F_3N_5O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=386,1$. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7,83 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H), 7,72 - 7,67 (m, 2 H), 7,59 (d, $J=7,5$ Hz, 1 H), 6,08 - 6,04 (m, 1 H), 3,57 (t, $J=5,6$ Hz, 2 H), 3,54 - 3,47 (m, 2 H), 3,40 (s, 3 H), 2,01 - 1,93 (m, 2 H).

Bước D: 3-{4-[(3-hydroxypropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



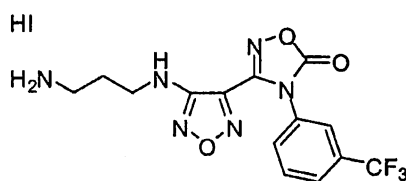
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 3, bước D, sử dụng 3-{4-[(3-metoxypropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 69%. LCMS đối với $C_{14}H_{13}F_3N_5O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=372,1$. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 8,07 (s, 1 H), 7,95 - 7,90 (m, 2 H), 7,79 (dd, $J=7,9, 7,9$ Hz, 1 H), 6,55 (t, $J=5,6$ Hz, 1 H), 4,59 (t, $J=5,1$ Hz, 1 H), 3,47 - 3,42 (m, 2 H), 3,30 - 3,25 (m, 2 H), 1,72 - 1,65 (m, 2 H).

Bước E: 3-{4-[(3-Azidopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 3, bước E, sử dụng 3-{4-[(3-hydroxypropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 92%. LCMS đối với $C_{14}H_{11}F_3N_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: $m/z=419,0$.

Bước F: 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 3, bước F, sử dụng 3-{4-[(3-azidopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 92%. LCMS đối với $C_{14}H_{14}F_3N_6O_3$

($M+H$)⁺: $m/z=371,1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,09 (s, 1 H), 7,96 - 7,92 (m, 2 H), 7,80 (dd, $J=8,0, 7,8$ Hz, 1 H), 7,53 (br s, 2 H), 6,70 - 6,65 (m, 1 H), 4,10 (br s, 1 H), 3,32 - 3,31 (m, 2 H), 2,81 - 2,78 (m, 2 H), 1,85 - 1,82 (m, 2 H).

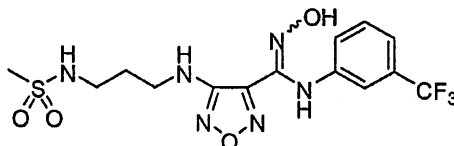
Bước G: 4-({3-[(aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N'-hydroxy-N-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

Dung dịch 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua (1,5g, 3,0mmol) và sulfamit (1,7g, 18mmol) trong pyridin (60mL) được gia nhiệt trong lò vi sóng ở 130°C trong thời gian 10 phút. Hỗn hợp phản ứng được cô để thu được chất trung gian thô N-{3-[(4-{5-oxo-4-[3-(triflometyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)amino]propyl}sulfamit. Dung dịch chất trung gian thô trong metanol (90mL) được xử lý bằng dung dịch NaOH 2N (12mL, 24mmol) và khuấy ở 25°C trong thời gian 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng dung dịch HCl 6M cho đến khi dung dịch có tính axit và chiết bằng etyl axetat (250mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (100mL) và nước muối (100mL), làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô để thu được cặn thô. Nguyên liệu này được tinh chế bằng LCMS điều chế để thu được sản phẩm mong muốn (1,1g, 82%) dưới dạng chất rắn dạng gồm. LCMS đối với

$C_{13}H_{17}F_3N_7O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z=424,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,6 (s, 1 H), 9,12 (s, 1 H), 7,37 (dd, $J=8,0, 8,0$ Hz, 1 H), 7,21 - 7,18 (m, 1 H), 7,07 (s, 1 H), 6,95 (d, $J=10,0$ Hz, 1 H), 6,52 (br s, 3 H), 6,17 (t, $J=6,0$ Hz, 1 H), 3,28 - 3,22 (m, 2 H), 2,93 - 2,89 (m, 2 H), 1,77 - 1,73 (m, 2 H).

Ví dụ 16

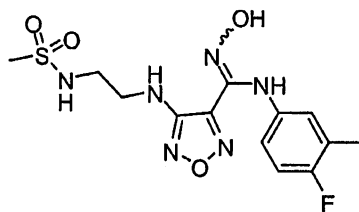
N'-hydroxy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-N-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



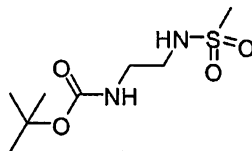
Dung dịch 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua (từ ví dụ 15, bước F; 25mg, 50 μ mol) trong diclometan (1mL) được xử lý bằng trietylamin (17 μ L, 0,12mmol) và metansulfonyl clorua (6 μ L, 70 μ mol) và khuấy ở 25°C trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô để thu được chất trung gian N-{3-[(4-{5-oxo-4-[3-(triflometyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)amino]-propyl}metansulfonamit, dưới dạng cặn thô, cặn này được dùng mà không cần tinh chế thêm. Dung dịch chất trung gian thô trong metanol (1mL) được xử lý bằng dung dịch NaOH 2N (0,25mL, 0,5mmol) và khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng axit axetic (50 μ L, 0,9mmol), lọc và tinh chế bằng LCMS điều chế để thu được sản phẩm mong muốn (13mg, 65%) dưới dạng chất rắn. LCMS đối với $C_{14}H_{18}F_3N_6O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z=423,1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,6 (s, 1 H), 9,11 (s, 1 H), 7,37 (dd, $J=8,0, 8,0$ Hz, 1 H), 7,20 (d, $J=7,8$ Hz, 1 H), 7,07 - 7,01 (m, 2 H), 6,96 (d, $J=8,0$ Hz, 1 H), 6,20 (t, $J=5,9$ Hz, 1 H), 3,27 - 3,22 (m, 2 H), 2,99 - 2,94 (m, 2 H), 2,87 (s, 3 H), 1,78 - 1,71 (m, 2 H).

Ví dụ 17

N-(4-Flo-3-metylphenyl)-N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}ammo)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

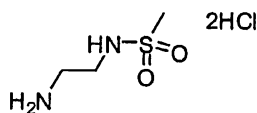


Bước A: tert-Butyl {2-[(methylsulfonyl)amino]ethyl}carbamate



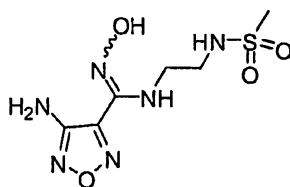
N-(2-aminoethyl)(tert-butoxy)carboxamid (17,5mL, 0,11mol) [Alfa số L19947] được khuấy trong diclometan (320mL) và triethylamin (33mL, bổ sung 0,24mol) được bổ sung vào hỗn hợp. Bổ sung dung dịch metansulfonyl clorua (8,5mL, 0,11mol) trong diclometan (10mL) vào hỗn hợp. Hỗn hợp thu được được khuấy trong thời gian 1 giờ và bổ sung nước (30mL) vào hỗn hợp. Sản phẩm được chiết bằng diclometan (3 x 30mL), làm khô bằng natri sulfat và cô trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn (21g, 81%). LCMS tính toán được cho $C_3H_{11}N_2O_2S$ (M- Boc+H)⁺: m/z=139,1.

Bước B: N-(2-aminoethyl)metansulfonamid dihydroclorua



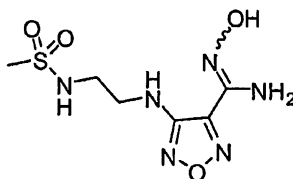
tert-Butyl {2-[(methylsulfonyl)amino]ethyl}carbamate (21g, 88mmol) được khuấy trong dung dịch hydro clorua 4N trong 1,4-dioxan (97mL, 388mmol) trong thời gian 30 phút. Nghiền bằng etyl axetat và hexan sau đó bằng ete dietyl và hexan thu được hợp chất mong muốn dưới dạng gói (19g, 100%). LCMS tính toán được cho $C_3H_{11}N_2O_2S$ (M+H)⁺: m/z: 139,0.

Bước C: 4-amino-N'-hydroxy-N-{2-[(methylsulfonyl)amino]ethyl}-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



4-amino-N-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua (9,7g, 60mmol) được khuấy trong etanol (460mL) và N-(2-aminoetyl)metansulfonamit dihydroclorua (19g, 109mmol) được bổ sung từ từ vào thành từng phần và nhiệt độ tăng lên đến 25°C. Sau khi làm lạnh lại xuống đến nhiệt độ 0°C, trietylamin (53mL, 380mmol) được bổ sung từng giọt trong thời gian 15 phút và phản ứng được khuấy thêm 15 phút nữa. Dung dịch được rửa bằng nước (300mL) và nước muối (300mL). Lốp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat và cô trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn (16g, 100%). LCMS tính toán được cho $C_6H_{13}N_6O_4S$ (M+H)⁺: m/z=265,1. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,16 (s, 1H), 9,07 (m, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,37 (s, 2H), 3,36 (m, 2H), 3,15 (m, 2H), 2,87 (s, 3H).

Bước D: N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



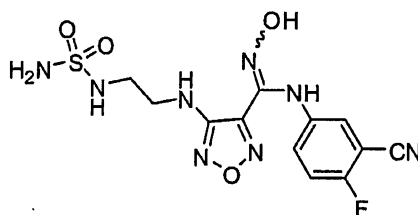
4-amino-N'-hydroxy-N-{2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit (0,47g, 1,8mmol) được khuấy trong 1,2-etandiol (38mL). Kali hydroxit (600g, 11mmol) được bổ sung thành một phần. Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 130°C trong thời gian 4 giờ và để nguội đến nhiệt độ trong phòng. Bổ sung dung dịch HCl 1N (60mL) và sản phẩm được chiết bằng etyl axetat (4 x 40mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat và cô trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn (0,45g, 96%). LCMS tính toán được cho $C_6H_{12}N_6O_4S$ (M+H)⁺: m/z=265,1. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,49 (s, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,20 (m, 3H), 3,36 (m, 2H), 3,15 (m, 2H), 2,87 (s, 3H).

Bước E: N-(4-Flo-3-metylphenyl)-N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}-amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

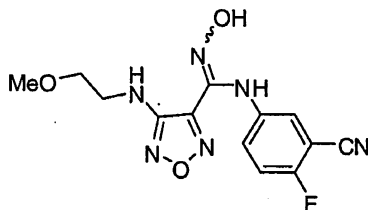
N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit (35mg, 0,13mmol) được khuấy trong 1,4-dioxan (2mL) và dung dịch hydro clorua 6N (4mL) được bổ sung. Dung dịch này được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C và bổ sung từ từ dung dịch natri nitrit (11mg, 0,16mmol) trong nước (3mL). Hỗn hợp được khuấy trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ 0°C và bay hơi. Bổ sung 1,4-dioxan (2mL) khan và hỗn hợp được bay hơi thêm hai lần nữa. Dung dịch 4-flo-3-metylanilin [sản phẩm Aldrich số 559415] (25mg, 0,20mmol) trong etanol (2mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong thời gian 1 giờ. Tinh chế bằng LCMS điều chế (pH=2) thu được sản phẩm mong muốn (17mg, 27%). LCMS tính toán được cho $C_{13}H_{18}FN_6O_4S$ (M+H)⁺: m/z=373,1. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 11,25 (s, 1H), 8,61 (s, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,91 (m, 1H), 6,72 (m, 1H), 6,58 (m, 1H), 6,24 (s, 1H), 3,32 (m, 2H), 3,11 (m, 2H), 2,89 (s, 3H), 2,05 (s, 3H).

Ví dụ 18

4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-xyano-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

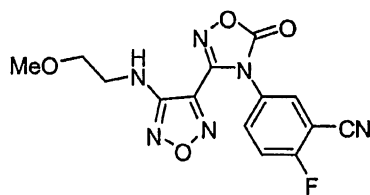


Bước A: N-(3-xyano-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-[(2-metoxetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



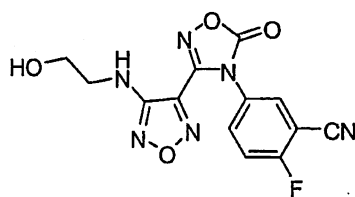
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 13, bước A, sử dụng N-hydroxy-4-[(2-metoxetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua [được điều chế theo ví dụ 1, từ bước A đến bước E] và 5-amino-2-flobenzonitril [sản phẩm Aldrich số 639877] làm các nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 100%. LCMS đối với $C_{13}H_{14}FN_6O_3$ (M+H)⁺: m/z=321,0.

Bước B: 2-Flo-5-[3-{4-[(2-metoxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5H)-yl]benzonitril



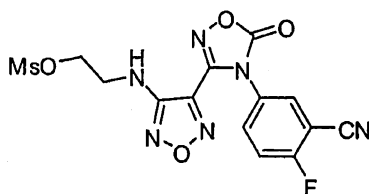
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 13, bước B, sử dụng N-(3-xiano-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-[(2-metoxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 91%. LCMS đối với $C_{14}H_{12}FN_6O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=347,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,25 (dd, $J=5,7, 2,6$ Hz, 1 H), 8,06 (m, 1 H), 7,77 (t, $J=9,2$ Hz, 1 H), 6,41 (t, $J=5,7$ Hz, 1 H), 3,48 (m, 2 H), 3,40 (q, $J=5,4$ Hz, 2 H), 3,25 (s, 3 H).

Bước C: 2-Flo-5-[3-{4-[(2-hydroxyetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5H)-yl]benzonitril



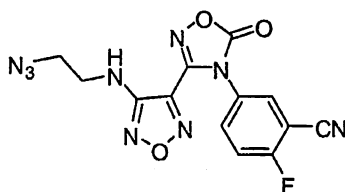
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 13, bước C, sử dụng 2-flo-5-[3-{4-[(2-metoxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5H)-yl]benzonitril làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất định lượng. LCMS đối với $C_{13}H_{10}FN_6O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=333,0$.

Bước D: 2-({4-[4-(3-xiano-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)etyl metansulfonat



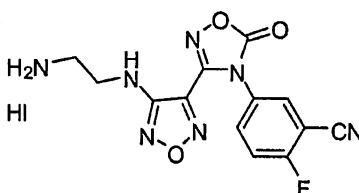
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 13, bước D, sử dụng 2-flo-5-[3-{4-[(2-hydroxyetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5H)-yl]benzonitril làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 88%. LCMS đối với $C_{14}H_{12}FN_6O_6S$ ($M+H$)⁺: $m/z=411,0$.

Bước E: 5-[3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5H)-yl]-2-flobenzonitril



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 13, bước E, sử dụng 2-({4-[4-(3-xyano-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)etyl metansulfonat làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 95%.

Bước F: 5-[3-{4-[(2-aminoetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5H)-yl]-2-flobenzonitril hydroiodua



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 13, bước F, sử dụng 5-[3-{4-[(2-azidoetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5H)-yl]-2-flobenzonitril làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 57%. LCMS đối với $C_{13}H_{11}FN_7O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=332,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,29 (dd, $J=5,8, 2,7$ Hz, 1 H), 8,09 (m, 1 H), 7,83 (br s, 3 H), 7,79 (t, $J=9,0$ Hz, 1 H), 6,77 (t, $J=5,9$ Hz, 1 H), 3,50 (q, $J=6,4$ Hz, 2 H), 3,04 (m, 2 H).

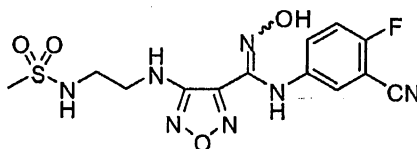
Bước G: 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-xyano-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

Trong lọ vi sóng, 5-[3-{4-[(2-aminoetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-5-oxo-1,2,4-oxadiazol-4(5H)-yl]-2-flobenzonitril hydroiodua (20,0mg, 0,044mmol) và sulfamit (25mg, 0,26mmol) được tạo huyền phù trong pyridin (0,5mL). Phản ứng được

gia nhiệt đến 120°C trong thời gian 10 phút trong thiết bị phản ứng vi sóng. Dung môi được loại bỏ và cặn được hòa tan trong metanol (0,17mL). Bổ sung dung dịch NaOH 2,0N trong nước (0,22mL, 0,44mmol) thành một phần. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Sau khi trung hòa bằng axit axetic (50μL), sản phẩm được tinh chế sử dụng phương pháp LCMS điều chế thu được sản phẩm nêu ở đề mục này (4,9mg, 29%). LCMS đối với $C_{12}H_{14}FN_8O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z=385,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,65 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,34 (t, $J=9,1$ Hz, 1H), 7,22 (dd, $J=5,4, 2,8$ Hz, 1H), 7,13 (m, 1H), 6,70 (t, $J=5,9$ Hz, 1H), 6,59 (s, 2H), 6,20 (t, $J=6,1$ Hz, 1H), 3,34 (m, 2H), 3,09 (m, 2H).

Ví dụ 19

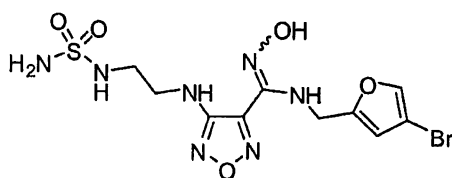
N-(3-xyano-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



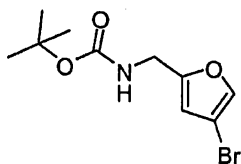
Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình của ví dụ 17, bước E, sử dụng N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit và 3-xyano-4-floanilin [sản phẩm Aldrich số 639877] làm các nguyên liệu ban đầu. LCMS đối với $C_{13}H_{14}FN_7NaO_4S$ ($M+Na$)⁺: $m/z=406,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,65 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,35 (m, 1H), 7,18 (m, 3H), 6,56 (m, 1H), 6,23 (m, 1H), 6,24 (s, 2H), 3,32 (m, 2H), 3,14 (m, 2H), 2,89 (s, 3H).

Ví dụ 20

4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



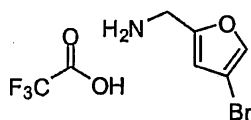
Bước A: tert-Butyl [(4-bromo-2-furyl)metyl]carbamate



4-bromo-2-furaldehyt [sản phẩm Aldrich số 666599] (10,0g, 57,1mmol) được hòa tan trong etanol (50mL) và nước (50mL). Bổ sung lần lượt N-hydroxyamin hydroclorua (7,15g, 103mmol) và natri axetat (8,44g, 103mmol) và hỗn hợp phản ứng được hồi lưu ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 1 giờ. Dung dịch được cô một phần và kết tủa được thu gom và rửa bằng nước lạnh (2 x 10mL). Dịch lọc được chiết bằng etyl axetat (3 x 25mL) và các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (50mL). Sau khi làm khô bằng natri sulfat, dung dịch được cô trong chân không. Cặn được kết hợp với kết tủa và được hòa tan trong axit axetic (70mL). Sau khi đặt trong bể nước đá, bổ sung từng phần kẽm (14,7g, 225mmol) trong thời gian 25 phút. Phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1,5 giờ và lọc qua bộ lọc Xelit. Dung môi được loại bỏ trong chân không.

Cặn được khuấy trong tetrahydrofuran (72mL). Dung dịch NaOH 2,0N trong nước (179mL, 358mmol) được bổ sung từng giọt trong thời gian 45 phút. Sau 5 phút, bổ sung từng giọt di-tert-butylidicacbonat (16,9g, 77,4mmol). Phản ứng được khuấy trong thời gian 2 giờ và tetrahydrofuran được loại bỏ trong chân không. Bổ sung etyl axetat (100mL) và huyền phù được lọc. Lớp hữu cơ được thu gom và sản phẩm được chiết bằng etyl axetat (2 x 50mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (100mL) và nước (100mL), làm khô bằng natri sulfat và cô trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn (15,3g, 79%). LCMS tính toán được cho $C_{10}H_{14}BrNNaO_3$ ($M+Na$)⁺: m/z=298,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,79 (s, 1 H), 7,37 (t, J=5,8 Hz, 1 H), 6,33 (s, 1 H), 4,06 (d, J= 6,1 Hz, 2 H), 1,36 (s, 9 H).

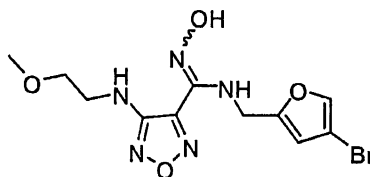
Bước B: 1-(4-bromo-2-furyl)metanamin trifloaxetat



Trong môi trường khí quyển nitơ, dung dịch chứa tert-butyl [(4-bromo-2-furyl)metyl]-carbammat (15,3g, 55,4mmol) trong diclometan (86mL) ở 0°C được xử lý bằng axit trifloaxetic (43mL) trong thời gian 15 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm

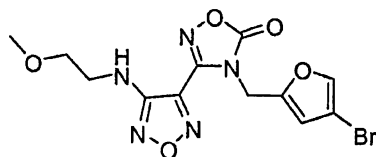
đến nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút. Dung môi được loại bỏ trong chân không và đuổi bằng toluen (3 x 50mL). Sản phẩm được làm khô lạnh trong thời gian 18 giờ để thu được sản phẩm mong muốn dưới dạng chất rắn màu nâu (13,0g, 81%). LCMS tính toán được cho C_5H_4BrO ($M-NH_2$)⁺: $m/z=158,9, 160,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,34 (br s, 3 H), 8,01 (s, 1 H), 6,70 (s, 1 H), 4,08 (s, 1 H).

Bước C: N-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-N'-hydroxy-4-[(2-metoxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



N-hydroxy-4-(2-metoxyletylamino)-1,2,5-oxadiazol-3-carbimidoyl clorua [được điều chế theo quy trình của ví dụ 1, từ bước A đến E] (4,5g, 20,3mmol) được khuấy trong etanol (20mL) ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung dung dịch 1-(4-bromo-2-furyl)metanamin trifloaxetat (6,5g, 22,4mmol) trong etanol (24mL) vào hỗn hợp và hỗn hợp được khuấy trong thời gian 15 phút. Bổ sung từng giọt trietylamin (6,3mL, 44,8mmol) trong thời gian 10 phút và phản ứng được khuấy thêm 15 phút. Dung môi được loại bỏ trong chân không và sau khi bổ sung nước (50mL), sản phẩm được chiết bằng etyl axetat (3 x 50mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (50mL), làm khô bằng natri sulfat và cô để thu được sản phẩm mong muốn (7,5g, 100%). LCMS tính toán được cho $C_{11}H_{15}BrN_5O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=359,9, 361,9$.

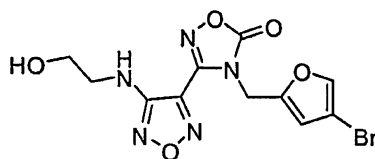
Bước D: 4-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-3-{4-[(2-metoxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



N-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-N'-hydroxy-4-[(2-metoxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit (7,3g, 20,4mmol) và 1,1'-carbonyldiimidazol (5,0g, 30,5mmol) được hòa tan trong etyl axetat (72mL). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 65°C trong thời gian 15 phút. Etyl axetat (70mL) được bổ sung và sản phẩm

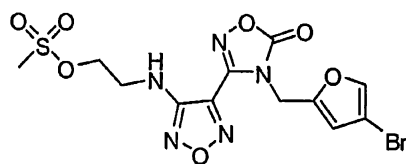
phản ứng thô được rửa bằng dung dịch hydro clorua trong nước 0,1N (2 x 70mL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat và cô trong chân không. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh trên silicagel với dung môi rửa giải là etyl axetat trong hexan thu được sản phẩm mong muốn (4,1g, 90%). LCMS tính toán được cho $C_{12}H_{13}BrN_5O_5$ $(M+H)^+$: $m/z=386,0$, $388,0$. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,88 (s, 1 H), 6,67 (s, 1 H), 6,39 (t, $J=5,7$ Hz, 1 H), 5,07 (s, 2 H), 3,50 (m, 2 H), 3,41 (q, $J=5,7$ Hz, 2 H), 3,25 (s, 3 H).

Bước E: 4-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-3-{4-[(2-hydroxyetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



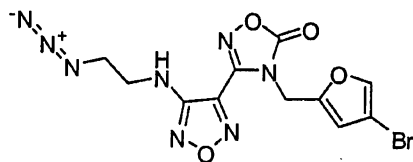
Trong bình đáy tròn dưới khí quyển nitơ, 4-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-3-{4-[(2-metoxyetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (8,2g, 21mmol) được khuấy trong diclometan (68mL). Nhiệt độ được giảm xuống đến $-78^\circ C$ và bổ sung từng giọt dung dịch bo tribromua 1,0M trong diclometan (43mL, 43mmol) trong thời gian 45 phút. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ $-78^\circ C$ trong thời gian 45 phút và khuấy tiếp ở $0^\circ C$ thêm 30 phút. Trong khi duy trì nhiệt độ ở $0^\circ C$, bổ sung từng giọt dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (120mL) trong thời gian 25 phút. Sau khi để ấm đến nhiệt độ trong phòng, lớp hữu cơ được thu gom và lớp nước được chiết bằng etyl axetat (2 x 50mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (100mL), làm khô bằng natri sulfat và cô trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn (7,7g, 97%) cùng với một lượng nhỏ 3-{4-[(2-bromo-etyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on. LCMS tính toán được cho $C_{11}H_{11}BrN_5O_5$ $(M+H)^+$: $m/z=371,7$, $374,0$. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 7,89 (s, 1 H), 6,68 (s, 1 H), 6,31 (t, $J=5,8$ Hz, 1 H), 5,08 (s, 2 H), 4,85 (br s, 1 H), 3,56 (m, 2 H), 3,30 (q, $J=5,6$ Hz, 2 H).

Bước F: 2-[(4-{4-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)amino]etyl metansulfonat



Bổ sung metansulfonyl clorua (0,96mL, 12mmol) vào dung dịch 4-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-3-{4-[(2-hydroxyetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (7,7g, 21mmol thành một phần, cũng chứa một số hợp chất bromo tương ứng) trong etyl axetat (100mL). Phản ứng được khuấy trong thời gian 5 phút và bổ sung trietylamin (1,6mL, 11mmol) thành một phần. Sau khi khuấy trong thời gian 30 phút, bổ sung thêm metansulfonyl clorua (0,4mL, 5mmol), sau đó 5 phút, bổ sung trietylamin (0,58mL, 4,2mmol). Sau 15 phút, phản ứng được chấm dứt bằng cách bổ sung nước (100mL). Sản phẩm được chiết bằng etyl axetat (3 x 50mL) và các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (100mL). Sau khi làm khô bằng natri sulfat, dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn (9,3g, 100%). LCMS tính toán được cho $C_{12}H_{13}BrN_5O_7S$ ($M+H$)⁺: $m/z=449,8$, $451,8$. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 7,88 (s, 1 H), 6,73 (t, $J=6,2$ Hz, 1 H), 6,68 (s, 1 H), 5,08 (s, 2 H), 4,37 (m, 2 H), 3,59 (q, $J=5,8$ Hz, 2 H), 3,16 (s, 3 H).

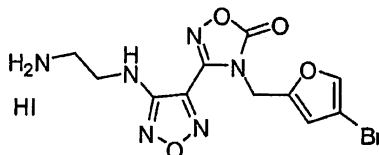
Bước G: 3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[(4-bromo-2-furyl)-metyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



2-[(4-{4-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)amino]etyl metansulfonat (9,1g, 20mmol, cũng chứa một số hợp chất bromo tương ứng) được hòa tan trong dimetylformamit (90mL). Natri azit (1,97g, 30,3mmol) được bổ sung thành một phần và sau 5 phút, nhiệt độ được nâng lên 65°C. Phản ứng được khuấy trong thời gian 2 giờ và để nguội lại xuống nhiệt độ trong phòng. Nước (200mL) được bổ sung để trung hòa phản ứng. Sản phẩm được chiết bằng etyl axetat (3 x 100mL) và các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (2 x 150mL) và nước (150mL). Sau khi làm khô bằng natri sulfat, dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn (7,7g, 96%). LCMS tính toán

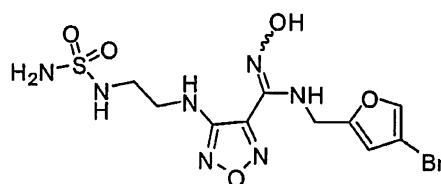
được cho $C_{11}H_9BrN_8NaO_4$ ($M+Na$)⁺: $m/z=418,7, 421,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,88 (s, 1 H), 6,71 (t, $J=5,7$ Hz, 1 H), 6,68 (s, 1 H), 5,08 (s, 2 H), 3,54 (t, $J=5,7$ Hz, 2 H), 3,47 (q, $J=5,7$ Hz, 2 H).

Bước H: 3-{4-[(2-aminoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua



Bổ sung natri iodua (17,4g, 116mmol) vào dung dịch 3-{4-[(2-azidoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (7,7g, 19mmol) trong metanol (80mL). Sau khi khuấy trong thời gian 10 phút, dung dịch clotrimetylsilan (14,8mL, 116mmol) được bổ sung từng giọt trong thời gian 5 phút. Phản ứng được khuấy tiếp trong thời gian 1 giờ, tại thời điểm đó bổ sung từ từ dung dịch natri thiosulfat (23,0g, 145mmol) trong nước (800mL) ở nhiệt độ 0°C, thu được kết tủa. Bình được rửa bằng metanol (10mL) và kết tủa được thu gom bằng cách lọc chân không. Chất rắn được rửa bằng nước lạnh (2 x 25mL) và được làm khô trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn (5,8g, 60%) dưới dạng muối hydroiodua. LCMS tính toán được cho $C_{11}H_{12}BrN_6O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=370,9, 372,8$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,86 (s, 1 H), 7,36 (br s, 3 H), 6,68 (t, $J=5,8$ Hz, 1 H), 6,65 (s, 1 H), 5,07 (s, 2 H), 3,45 (q, $J=5,8$ Hz, 2 H), 2,98 (t, $J=5,8$ Hz, 2 H).

Bước I: 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

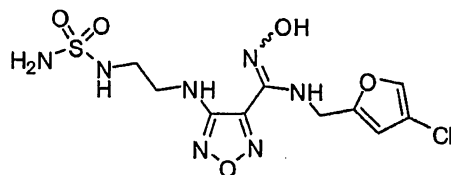


Trong lọ vi sóng, 3-{4-[(2-aminoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua (30mg, 0,060mmol) và sulfamit (29mg, 0,30mmol) được tạo huyền phù trong pyridin (1mL). Hỗn hợp phản ứng được sục khí nitơ và gia nhiệt ở nhiệt độ 130°C trong thời gian 3 phút trong thiết

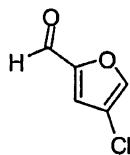
bị phản ứng vi sóng. Dung môi được loại bỏ và chất trung gian thô được tạo huyền phù trong metanol (1mL). Bổ sung dung dịch NaOH trong nước 2,0N (0,30mL, 0,60mmol) thành một phần và phản ứng được gia nhiệt đến 45°C trong thời gian 30 phút. Sau khi trung hòa bằng axit axetic (68μL, 1,2mmol), sản phẩm được tinh chế bằng LCMS điều chế để thu được sản phẩm mong muốn (10,4mg, 41%). LCMS tính toán được cho $C_{10}H_{15}BrN_7O_5S$ (M+H)⁺: m/z=423,9, 426,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,87 (s, 1 H), 7,75 (s, 1 H), 6,83 (t, J= 7,3 Hz, 1 H), 6,68 (t, J= 6,0 Hz, 1 H), 6,56 (s, 2 H), 6,30 (t, J= 6,0 Hz, 1 H), 6,23 (s, 1 H), 4,56 (d, J= 7,0 Hz, 2 H), 3,32 (q, J= 6,3 Hz, 2 H), 3,07 (q, J=6,3 Hz, 2 H).

Ví dụ 21

4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[(4-clo-2-furyl)metyl]-N'-hydroxy- 1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



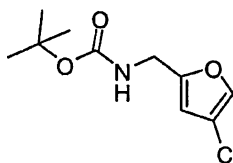
Bước A: 4-clo-2-furaldehyt



Bổ sung 2-furancarboxaldehyt (8,44mL, 0,102mol) vào huyền phù kèm theo khuấy của nhôm trichlorua (29,8g, 0,223mol) trong diclometan (200mL) dưới khí quyển nitơ trong thời gian 15 phút. Sau khi khuấy trong thời gian 30 phút, sục clo vào huyền phù sử dụng pipet trong khoảng thời gian 50 phút. Bình được đậy kín và để khuấy ở nhiệt độ phòng trong thời gian 90 giờ. Hỗn hợp phản ứng được bổ sung từ từ vào hỗn hợp nước đá (500mL) trong dung dịch hydro clorua trong nước 1,0N (300mL). Hỗn hợp được để ấm đến nhiệt độ phòng trong một giờ tiếp. Các lớp được tách và lớp hữu cơ được thu gom. Sản phẩm bổ sung được chiết bằng diclometan (2 x 200mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (250mL) và làm khô bằng natri sulfat. Dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được hỗn hợp thô chứa

sản phẩm mong muốn (14,0g, hiệu suất 100%, độ tinh khiết 60%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 9,56 (s, 1 H), 8,36 (s, 1 H), 7,71 (s, 1 H).

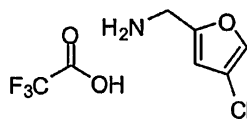
Bước B: tert-Butyl [(4-clo-2-furyl)metyl]carbamat



Hòa tan 4-clo-2-furaldehyt (14,0g, độ tinh khiết 60%, 64mmol) trong etanol (50mL) và nước (50mL). N-hydroxyamin hydroclorua (12,6g, 182mmol) và natri axetat (14,9g, 182mmol) được bổ sung lần lượt và hỗn hợp phản ứng được đem hồi lưu ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 1 giờ. Dung dịch được cô một phần, sau đó bổ sung nước (25mL) và etyl axetat (50mL) vào. Lớp hữu cơ được thu gom và nước được chiết bằng etyl axetat (2 x 25mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (50mL) và nước (50mL). Sau khi làm khô bằng natri sulfat, dung dịch được cô trong chân không. Chất trung gian được tạo huyền phù trong axit axetic (115mL). Dung dịch được làm lạnh trong bể nước đá và bổ sung từng phần kẽm (33,1g, 506mmol) trong thời gian 20 phút. Phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ và được lọc qua bộ lọc Xelit. Dung môi được loại bỏ trong chân không.

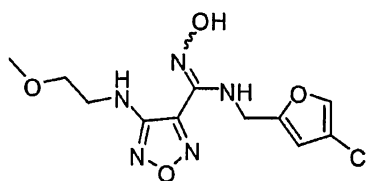
Cặn được khuấy trong tetrahydrofuran (100mL). Bổ sung từng giọt NaOH trong nước 2,0M (152mL, 304mmol) trong thời gian 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được đặt trong bể nước đá và sau 5 phút, bổ sung nhỏ giọt di-tert-butylidicacbonat (24,3g, 111mmol) trong thời gian 15 phút. Phản ứng được để ấm đến nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ nữa và sau đó tetrahydrofuran được loại bỏ trong chân không. Etyl axetat (100mL) được bổ sung và huyền phù được lọc. Lớp hữu cơ được thu gom và lớp nước được chiết bằng etyl axetat (2 x 100mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng hỗn hợp nước/nước muối 1:1 (100mL), làm khô bằng natri sulfat và cô trong chân không. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh trên silicagel với dung môi rửa giải là etyl axetat trong hexan thu được sản phẩm mong muốn (3,05g, 22%). LCMS tính toán được cho $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{ClNNaO}_3$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: $m/z=253,9$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,81 (s, 1 H), 7,37 (t, $J=5,3$ Hz, 1 H), 6,32 (s, 1 H), 4,05 (d, $J=6,0$ Hz, 2 H), 1,36 (s, 9 H).

Bước C: 1-(4-clo-2-furyl)metanamin trifloaxetat



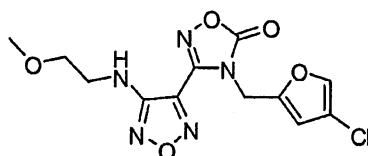
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 20, bước B, sử dụng tert-butyl [(4-clo-2-furyl)metyl]carbamát làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất định lượng. LCMS tính toán được cho C_5H_4ClO ($M-NH_2$)⁺: $m/z=115,0$. ¹R NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,29 (br s, 3 H), 8,04 (s, 1 H), 6,69 (s, 1 H), 4,07 (s, 2 H).

Bước D: N-[(4-Clo-2-furyl)metyl]-N'-hydroxy-4-[(2-metoxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



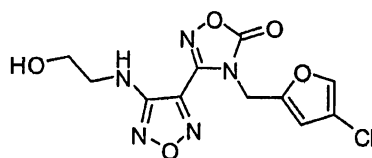
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 20, bước C, sử dụng N-hydroxy-4-(2-metoxyletylamino)-1,2,5-oxadiazol-3-carbimidoyl clorua và 1-(4-clo-2-furyl)metanamin trifloaxetat làm các nguyên liệu ban đầu với hiệu suất định lượng. LCMS tính toán được cho $C_{11}H_{15}ClN_5O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=316,0$.

Bước E: 4-[(4-Clo-2-furyl)metyl]-3-{4-[(2-metoxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



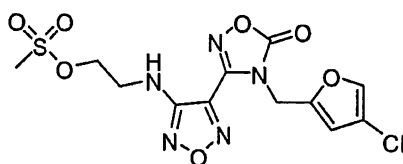
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 20, bước D, sử dụng N-[(4-clo-2-furyl)metyl]-N'-hydroxy-4-[(2-metoxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 51%. LCMS tính toán được cho $C_{12}H_{13}ClN_5O_5$ ($M+H$)⁺: $m/z=342,0$.

Bước F: 4-[(4-Clo-2-furyl)metyl]-3-{4-[(2-hydroxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



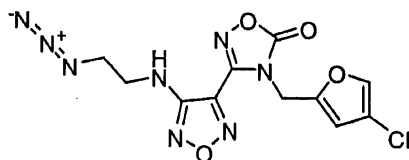
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 20, bước E, sử dụng 4-[(4-clo-2-furyl)metyl]-3-{4-[(2-metoxetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất định lượng. LCMS tính toán được cho $C_{11}H_{10}ClN_5NaO_5$ ($M+Na$)⁺: $m/z=349,9$.

Bước G: 2-[(4-{4-[(4-clo-2-furyl)metyl]-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)amino]etyl metansulfonat



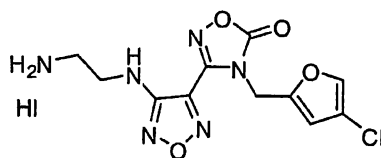
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 20, bước F, sử dụng 4-[(4-clo-2-furyl)metyl]-3-{4-[(2-hydroxyetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 69%. LCMS tính toán được cho $C_{12}H_{13}ClN_5O_7S$ ($M+H$)⁺: $m/z=405,8$.

Bước H: 3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[(4-clo-2-furyl)metyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



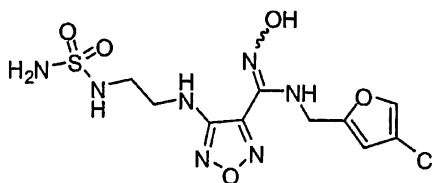
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 20, bước G, sử dụng 2-[(4-{4-[(4-clo-2-furyl)metyl]-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1,2,5-oxadiazol-3-yl)amino]etyl metansulfonat làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất định lượng. LCMS tính toán được cho $C_{11}H_9ClN_8NaO_4$ ($M+Na$)⁺: $m/z=374,9$.

Bước I: 3-{4-[(2-aminoetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[(4-clo-2-furyl)metyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua



Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 20, bước H, sử dụng 3-{4-[(2-azidoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[(4-chloro-2-furyl)methyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 57%. LCMS tính toán được cho $C_{11}H_{12}ClN_6O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=326,9$.

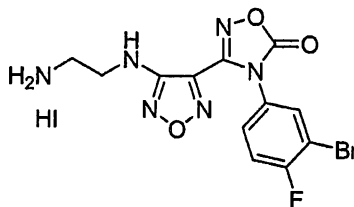
Bước J: 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[(4-chloro-2-furyl)methyl]-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



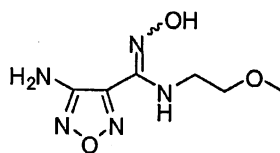
Hợp chất mong muốn được điều chế theo quy trình của ví dụ 20, bước I, sử dụng 3-{4-[(2-aminoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-[(4-chloro-2-furyl)methyl]-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua làm nguyên liệu ban đầu với hiệu suất 53%. LCMS tính toán được cho $C_{10}H_{15}ClN_7O_5S$ ($M+H$)⁺: $m/z=379,9$. ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,88 (s, 1 H), 7,77 (s, 1 H), 6,83 (t, $J=6,8$ Hz, 1 H), 6,68 (t, $J=5,9$ Hz, 1 H), 6,56 (s, 2 H), 6,30 (t, $J=5,9$ Hz, 1 H), 6,22 (s, 1 H), 4,55 (d, 2 H), 3,32 (q, $J=6,3$ Hz, 2 H), 3,06 (q, $J=6,3$ Hz, 2 H).

Ví dụ 22

Cách khác điều chế chất trung gian 3-(4-(2-aminoethylamino)-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-(3-bromo-4-fluorophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua

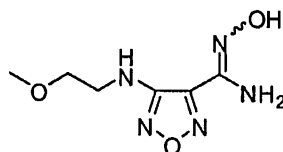


Bước A: 4-amino-N'-hydroxy-N-(2-methoxyetyl)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



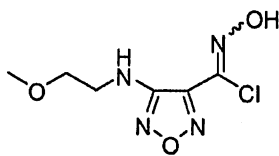
4-amino-N-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua (có thể được điều chế theo ví dụ 1, bước A-B, 200,0g, 1,23mol) được trộn với etyl axetat (1,2L). Ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 5°C, bổ sung 2-metoxyletylamin [sản phẩm Aldrich số 143693] (119,0mL, 1,35mol) thành một phần trong khi khuấy. Nhiệt độ phản ứng tăng lên 41°C. Phản ứng được làm lạnh xuống nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 5°C. Bổ sung trietylamin (258mL, 1,84mol) vào hỗn hợp. Sau khi khuấy trong thời gian 5 phút, LCMS chỉ ra phản ứng đã hoàn thành. Dung dịch phản ứng được rửa bằng nước (500mL) và nước muối (500mL), làm khô bằng natri sulfat và cô để thu được sản phẩm mong muốn (294g, 119%) dưới dạng dầu thô tối màu. LCMS đối với $C_6H_{12}N_5O_3$ $(M+H)^+$: $m/z=202,3$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,65 (s, 1 H), 6,27 (s, 2 H), 6,10 (t, $J=6,5$ Hz, 1 H), 3,50 (m, 2 H), 3,35 (d, $J=5,8$ Hz, 2 H), 3,08 (s, 3 H).

Bước B: N'-hydroxy-4-[(2-metoxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



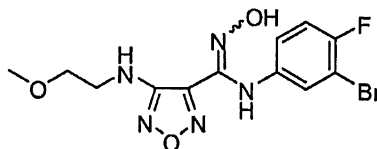
4-amino-N'-hydroxy-N-(2-metoxyletyl)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit (248,0g, 1,23mol) được trộn với nước (1L). Bổ sung kali hydroxit (210g, 3,7mol) vào. Phản ứng được hồi lưu ở 100°C qua đêm (15 giờ). TLC với 50% etyl axetat (chứa amoni hydroxit 1%) trong hexan chỉ ra rằng phản ứng đã hoàn thành (R_f sản phẩm = 0,6, R_f nguyên liệu = 0,5). LCMS cũng chỉ ra phản ứng đã hoàn thành. Phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và chiết bằng etyl axetat (3 x 1L). Dung dịch etyl axetat kết hợp được làm khô bằng natri sulfat và cô để thu được sản phẩm mong muốn (201g, 81%) dưới dạng chất rắn thô màu trắng nhờ. LCMS đối với $C_6H_{12}N_5O_3$ $(M+H)^+$: $m/z=202,3$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,54 (s, 1 H), 6,22 (s, 2 H), 6,15 (t, $J=5,8$ Hz, 1 H), 3,45 (t, $J=5,3$ Hz, 2 H), 3,35 (m, 2 H), 3,22 (s, 3 H).

Bước C: N-hydroxy-4-[(2-metoxyletyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua



Ở nhiệt độ trong phòng, hòa tan N'-hydroxy-4-[(2-methoxyethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit (50,0g, 0,226mol) trong dung dịch axit clohydric trong nước 6,0M (250mL, 1,5mol). Bổ sung natri clorua (39,5g, 0,676mol), sau đó bổ sung nước (250mL) và etyl axetat (250mL). Ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 3 đến 5°C, bổ sung từ từ 100mL dung dịch natri nitrit (15,0g, 0,217mol) trong nước đã được chuẩn bị trước trong thời gian 1 giờ. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 3 đến 8°C trong thời gian 2 giờ và sau đó ở nhiệt độ trong phòng qua cuối tuần. LCMS chỉ ra là phản ứng đã hoàn thành. Dung dịch phản ứng được chiết bằng etyl axetat (2 x 200mL). Dung dịch etyl axetat kết hợp được làm khô bằng natri sulfat và cô để thu được sản phẩm mong muốn (49,9g, 126%) dưới dạng chất rắn thô màu trắng. LCMS đối với $C_6H_{10}ClN_4O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=221,0$. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13,43 (s, 1 H), 5,85 (t, J= 5,6 Hz, 1 H), 3,50 (t, J= 5,6 Hz, 2 H), 3,37(dd, J= 10,8, 5,6 Hz, 2 H), 3,25 (s, 3 H).

Bước D: N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-[(2-methoxyethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

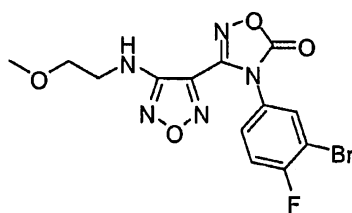


N-hydroxy-4-[(2-methoxyethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidoyl clorua (46,0g, 0,208mol) được trộn với nước (300mL). Hỗn hợp được gia nhiệt đến nhiệt độ 60°C. Bổ sung 3-bromo-4-floanilin [các sản phẩm Oakwood, sản phẩm số 013091] (43,6g, 0,229mol) và khuấy trong thời gian 10 phút. Bổ sung dung dịch natri bicarbonat (26,3g, 0,313mol) ấm (300mL nước) trong thời gian 15 phút. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 20 phút. LCMS chỉ ra phản ứng đã hoàn thành. Dung dịch phản ứng được làm lạnh xuống nhiệt độ trong phòng và chiết bằng etyl axetat (2 x 300mL). Dung dịch etyl axetat kết hợp được làm khô bằng natri sulfat

và cô để thu được sản phẩm mong muốn (76,7g, 98%) dưới dạng chất rắn thô màu nâu.

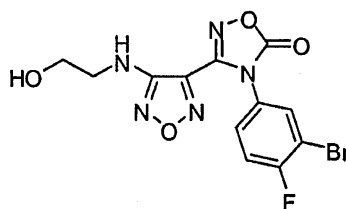
LCMS đối với $C_{12}H_{14}BrFN_5O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=374,0$, $376,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,55 (s, 1 H), 8,85 (s, 1 H), 7,16 (t, $J=8,8$ Hz, 1 H), 7,08 (dd, $J=6,1$, $2,7$ Hz, 1 H), 6,75 (m, 1 H), 6,14 (t, $J=5,8$ Hz, 1 H), 3,48 (t, $J=5,2$ Hz, 2 H), 3,35 (dd, $J=10,8$, $5,6$ Hz, 2 H), 3,22 (s, 3 H).

Bước E: 4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-{4-[(2-metoxetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Hỗn hợp gồm N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-[(2-metoxetyl)-amino]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit (76,5g, 0,204mol), 1,1'-carbonyldiimidazol (49,7g, 0,307mol) và etyl axetat (720mL) được gia nhiệt đến 60°C và khuấy trong thời gian 20 phút. LCMS chỉ ra rằng phản ứng đã hoàn thành. Phản ứng được làm lạnh xuống nhiệt độ trong phòng, rửa bằng dung dịch HCl 1N (2 x 750mL), làm khô bằng natri sulfat và cô để thu được sản phẩm mong muốn (80,4g, 98%) dưới dạng chất rắn thô màu nâu. LCMS đối với $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=400,0$, $402,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,94 (t, $J=8,2$ Hz, 1 H), 7,72 (dd, $J=9,1$, $2,3$ Hz, 1 H), 7,42 (m, 1 H), 6,42 (t, $J=5,7$ Hz, 1 H), 3,46 (t, $J=5,4$ Hz, 2 H), 3,36 (t, $J=5,8$ Hz, 2 H), 3,26 (s, 3 H).

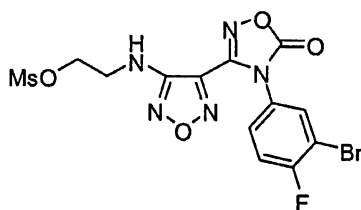
Bước F: 4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-{4-[(2-hydroxyetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Hòa tan 4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-{4-[(2-metoxetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (78,4g, 0,196mol) trong diclometan (600mL). Ở nhiệt độ -67°C, bổ sung bo tribromua (37mL, 0,392mol) trong thời gian 15 phút. Phản ứng

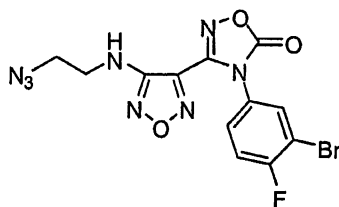
được làm ấm đến nhiệt độ -10°C trong thời gian 30 phút. LCMS chỉ ra rằng phản ứng đã hoàn thành. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ. Ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 5°C , phản ứng được làm ngừng từ từ bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (1,5L) trong thời gian 30 phút. Nhiệt độ phản ứng tăng lên đến 25°C . Phản ứng được chiết bằng etyl axetat (2 x 500mL, lớp hữu cơ chiết đầu tiên ở đáy và lớp hữu cơ chiết thứ hai ở đỉnh). Các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat và cô để thu được sản phẩm mong muốn (75g, 99%) dưới dạng chất rắn thô màu nâu. LCMS đối với $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{BrFN}_5\text{O}_4$ ($\text{M}+\text{H}$) $^{+}$: $m/z=386,0$, $388,0$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,08 (dd, $J=6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,70 (m, 1 H), 7,68 (t, $J=8,7$ Hz, 1 H), 6,33 (t, $J=5,6$ Hz, 1 H), 4,85 (t, $J=5,0$ Hz, 1 H), 3,56 (dd, $J=10,6, 5,6$ Hz, 2 H), 3,29 (dd, $J=11,5, 5,9$ Hz, 2 H).

Bước G: 2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)etyl metansulfonat



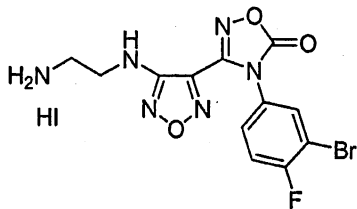
4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-(4-(2-hydroxyetyl-amino)-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (72,2g, 0,188mol) được trộn với etyl axetat (600mL). Metansulfonyl clorua (19,2mL, 0,248mol) được bổ sung, sau đó là trietylamin (34,9mL, 0,250mol). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 5 phút. Khi LCMS chỉ ra là phản ứng đã hoàn thành ($\text{M}+\text{H}=442$), bổ sung 500mL nước vào phản ứng. Phản ứng được chiết bằng etyl axetat (2 x 500mL). Dung dịch etyl axetat kết hợp được rửa bằng nước muối (500mL), làm khô bằng natri sulfat và cô để thu 85,1g chất rắn thô màu nâu. ^1H NMR xác định cấu trúc. Hiệu suất thô là 97%. LCMS đối với $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{BrFN}_5\text{O}_6\text{SNa}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^{+}$: $m/z=485,9$, $487,9$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,08 (dd, $J=6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,72 (m, 1 H), 7,58 (t, $J=8,7$ Hz, 1 H), 6,75 (t, $J=5,9$ Hz, 1 H), 4,36 (t, $J=5,3$ Hz, 2 H), 3,58 (dd, $J=11,2, 5,6$ Hz, 2 H), 3,18 (s, 3 H).

Bước H: 3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-bromo-4-flo-phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Hòa tan 2-(4-(4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-ylamino)etyl metansulfonat (50,0g, 0,108mol) trong N,N-dimetylformamit (83mL). Natri azit (10,5g, 0,162mol) được bổ sung. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 65°C trong thời gian từ 5 đến 6 giờ. LCMS chỉ ra rằng phản ứng đã hoàn thành ($M+Na=435$). Phản ứng được làm ngừng bằng nước (250mL) và chiết bằng etyl axetat (2 x 250mL). Dung dịch etyl axetat kết hợp được rửa bằng nước (250mL, việc tách lớp diễn ra từ từ, 100mL nước muối được bổ sung vào để cải thiện việc tách), làm khô bằng natri sulfat và cô để thu được 49,7g chất rắn thô màu nâu. Hiệu suất thô bằng 112%. LCMS đối với $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: $m/z=433,0$, 435,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8,08 (dd, J= 6,2, 2,5 Hz, 1 H), 7,72 (m, 1 H), 7,58 (t, J= 8,7 Hz, 1 H), 6,75 (t, J= 5,7 Hz, 1 H), 3,54 (t, J= 5,3 Hz, 2 H), 3,45 (dd, J= 11,1, 5,2 Hz, 2 H).

Bước I: 3-(4-(2-aminoethylamino)-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroiodua

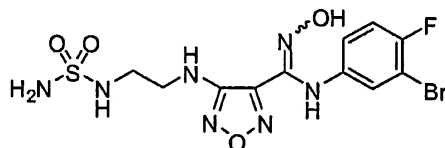


3-(4-(2-azidoethylamino)-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (80,0g, 0,194mol) được trộn với metanol (800mL). Natri iodua (175,0g, 1,17mol) được bổ sung. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 10 phút. Hòa tan clotrimetylsilan (148mL, 1,17mol) trong metanol (100mL) và bổ sung vào phản ứng trong thời gian 30 phút. Nhiệt độ phản ứng tăng lên đến 42°C. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút. LCMS chỉ ra rằng phản ứng đã hoàn thành ($M+H=386$). Phản ứng được làm ngừng bằng dung dịch natri thiosulfat (190,0g, 1,20mol) trong nước (900mL). Lượng lớn chất rắn được

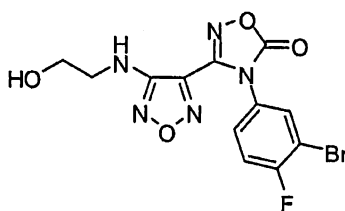
kết tủa. Sản phẩm được thu gom bằng cách lọc (tốc độ lọc chậm), rửa bằng nước (200mL) và làm khô trong chân không qua đêm. Bánh lọc được tạo huyền phù trong etyl axetat (500mL) trong thời gian 30 phút. Sản phẩm được lọc (tốc độ lọc chậm) và làm khô trong chân không qua cuối tuần để thu được 95g chất rắn màu trắng nhạt. LCMS đối với $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=384,9$, $386,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,12 (m, 4 H), 7,76 (m, 1 H), 7,58 (t, $J=8,7$ Hz, 1 H), 6,78 (t, $J=6,1$ Hz, 1 H), 3,51 (dd, $J=11,8, 6,1$ Hz, 2 H), 3,02 (m, 2 H).

Ví dụ 23

Cách khác điều chế 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit



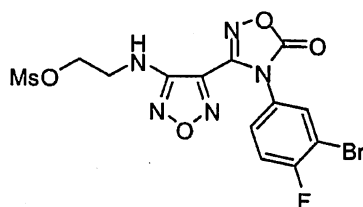
Bước A: 4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-(4-(2-hydroxyetyl-amino)-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on



Bổ sung từng giọt ba tribromua (354mL, 3,67mL) vào dung dịch chứa 4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-(4-(2-metoxetyl-amino)-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (có thể được điều chế theo ví dụ 1, các bước từ A đến G; 1232g, 3,08mol) trong diclometan (12L) đang khuấy trong bình dung tích 22L ở 0°C ở tốc độ bổ sung sao cho nhiệt độ không vượt quá 10°C. Sau khi khuấy trên nước đá trong thời gian 1 giờ, bổ sung cẩn thận dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (2L) vào đó ở tốc độ bổ sung sao cho nhiệt độ không vượt quá 20°C (thời gian bổ sung bằng 10 phút). Hỗn hợp thu được được chuyển vào phễu tách dung tích 50L, pha loãng bằng nước (10L) và độ pH của lớp nước được điều chỉnh từ 1 đến 8 sử dụng natri bicacbonat rắn. Các lớp được tách và lớp hữu cơ được rửa bằng nước (10L) và dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được chất rắn màu nâu vàng (24mol được xử lý trong nhiều

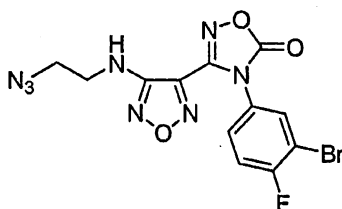
bước, 9,54kg, hiệu suất định lượng). Nguyên liệu thu được này được tạo huyền phù trong 4 thể tích hỗn hợp heptan:ethyl axetat 7:1 (4 bình 22L), lọc và làm khô để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu nâu vàng (8679g, 94%). Sản phẩm là hỗn hợp của các hợp chất hydroxy- và bromo- tương ứng.

Bước B: 2-(4-(4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-ylamino)ethyl metansulfonat



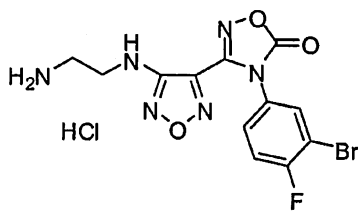
Bổ sung từng giọt metansulfonyl clorua (185mL, 2,4mol) vào dung dịch 4-(3-bromo-4-flophenyl)-3-{4-[(2-hydroxyethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (1,5kg, 3,9mol, cũng chứa một số hợp chất bromo- tương ứng) trong ethyl axetat (12L) trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Triethylamin (325mL, 2,3mol) được bổ sung từng giọt trong thời gian 45 phút, trong suốt khoảng thời gian này, nhiệt độ phản ứng tăng lên đến 35°C. Sau 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được rửa bằng nước (5L), nước muối (1L), làm khô bằng natri sulfat, kết hợp với 3 phản ứng nữa cũng cùng mức độ và dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn (7600g, hiệu suất định lượng, cũng chứa một số hợp chất bromo tương ứng, lưu ý: bụi kích ứng) dưới dạng chất rắn màu nâu vàng. LCMS đối với $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$ ($M+Na$)⁺: $m/z=485,9$, $487,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,08 (dd, $J= 6,2, 2,5$ Hz, 1 H), 7,72 (m, 1 H), 7,58 (t, $J= 8,7$ Hz, 1 H), 6,75 (t, $J= 5,9$ Hz, 1 H), 4,36 (t, $J= 5,3$ Hz, 2 H), 3,58 (dd, $J= 11,2, 5,6$ Hz, 2 H), 3,18 (s, 3 H).

Bước C: 3-(4-(2-azidoethylamino)-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on

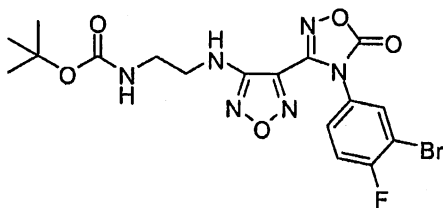


Bổ sung natri azit (380g, 5,84mol) vào dung dịch 2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)ethyl metansulfonat (2,13kg, 4,6mol, cũng chứa một số hợp chất bromo- tương ứng) trong dimetylformamit (4L) đang khuấy trong bình dung tích 22L. Phản ứng được gia nhiệt ở 50°C trong 6 giờ, rót vào nước đá/nước (8L) và chiết bằng hỗn hợp etyl axetat:heptan 1:1 (20L). Lóp hữu cơ được rửa bằng nước (5L) và nước muối (5L) và dung môi được loại bỏ trong chân không thu được sản phẩm mong muốn (1464g, 77%) dưới dạng chất rắn màu nâu vàng. LCMS đối với $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: $m/z=433,0$, $435,0$. 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 8,08(dd, $J= 6,2$, $2,5$ Hz, 1H), 7,72(m, 1H), 7,58(t, $J= 8,7$ Hz, 1H), 6,75(t, $J= 5,7$ Hz, 1H), 3,54(t, $J= 5,3$ Hz, 2H), 3,45(dd, $J= 11,1$, $5,2$ Hz, 2H).

Bước D: 3-{4-[(2-aminoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroclorua



Bước D, Phần 1: tert-Butyl 2-(4-(4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-ylamino)ethylcarbammat



Bổ sung natri iodua (1080g, 7,2mol) vào 3-{4-[(2-azidoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (500g, 1,22mol) trong metanol (6L). Hỗn hợp được khuấy trong thời gian 30 phút, trong khoảng thời gian này quan sát thấy có sự tỏa nhiệt nhẹ. Bổ sung nhỏ giọt clotrimetylsilan (930mL, 7,33mol) vào dung dịch trong metanol (1L) ở tốc độ sao cho nhiệt độ không vượt quá 35°C và phản ứng được khuấy trong thời gian 3,5 giờ ở nhiệt độ môi trường. Phản ứng được trung hòa bằng dung dịch nước natri thiosulfat pentahydrat 33% khối lượng

(~1,5L), pha loãng bằng nước (4L) và điều chỉnh độ pH=9 cẩn thận bằng kali cacbonat (250g – bổ sung thành những phần nhỏ: quan sát có tạo bọt). Di-tert-butyl dicacbonat (318g, 1,45mol) được bổ sung và phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung thêm kali cacbonat (200g) vào thành các phần 50g trong thời gian 4 giờ để đảm bảo rằng độ pH vẫn bằng hoặc lớn hơn 9. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, chất rắn được lọc, nghiền bằng nước (2L) và sau đó MTBE (1,5L). Tổng cộng 11 lần thực hiện (5,5kg, 13,38 mol). Các chất rắn kết hợp được nghiền bằng hỗn hợp THF:diclometan 1:1 (24L, 4 lần trong bình cô quay dung tích 20L, nhiệt độ 50°C, thời gian 1 giờ), lọc và rửa bằng diclometan (3L mỗi lần) thu được chất rắn màu trắng nhạt. Nguyên liệu thô được hòa tan ở 55°C vào tetrahydrofuran (5mL/g), xử lý bằng cacbon khử màu (2% khối lượng) và silicagel (2% khối lượng) và lọc nóng qua bộ lọc Xelit để thu sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt (5122g). Các dịch lọc MTBE, THF và diclometan kết hợp được cô trong chân không và sắc ký (2kg silicagel, heptan với gradien etyl axetat từ 0 đến 100%, 30L) để thu thêm sản phẩm (262g). Các chất rắn tert-butyl 2-(4-(4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-ylamino)ethylcarbamate kết hợp được làm khô đến khối lượng không đổi trong lò đối lưu (5385g, 83%).

Bước D, Phần 2: 3-{4-[(2-aminoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroclorua

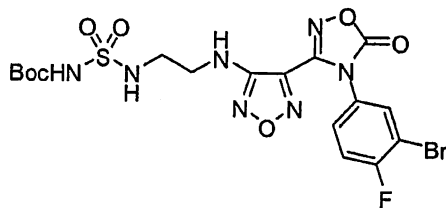
Phương pháp A:

Trong bình dung tích 22L được nạp hydro clorua (dung dịch 4N trong 1,4-dioxan, 4L, 16mol). tert-Butyl [2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)ethyl]carbamate (2315g, 4,77mol) được bổ sung dưới dạng chất rắn thành từng phần trong khoảng 10 phút. Huyền phù được khuấy ở nhiệt độ trong phòng và dần trở thành dạng sệt đặc mà không thể khuấy. Sau khi khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng, dạng sệt này được tạo huyền phù trong etyl axetat (10L), lọc, tạo huyền phù lại trong etyl axetat (5L), lọc và làm khô đến khối lượng không đổi để thu được sản phẩm mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (kết hợp với các lần khác, 5kg nguyên liệu ban đầu được nạp, 4113g, 95%). LCMS đối với $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z=384,9, 386,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,12 (m, 4 H), 7,76 (m, 1 H), 7,58 (t, J= 8,7 Hz, 1 H), 6,78 (t, J= 6,1 Hz, 1 H), 3,51 (dd, J= 11,8, 6,1 Hz, 2 H), 3,02 (m, 2 H).

Phương pháp B:

Tert-butyl [2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)ethyl]carbamate (5000g) được bổ sung vào hỗn hợp gồm isopropanol (20L) và dung dịch HCl 4N trong 1,4-dioxan (10L) ở nhiệt độ trong phòng. Mẻ này được gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 45°C và giữ trong thời gian 1 giờ. Etyl axetat được bổ sung vào mẻ này ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 45°C và giữ trong thời gian 2,5 giờ. Khi hoàn thành phản ứng, như được chỉ ra bằng HPLC, heptan (10L) được bổ sung vào mẻ này. Mẻ này được làm nguội đến 25°C. Sản phẩm được tách ra bằng cách lọc và bánh lọc ướt được rửa bằng etyl axetat (3 x 5,0L). Sản phẩm được làm khô trong chân không, ở 20°C để thu được 4344g (hiệu suất 93,4%) hợp chất nêu ở đề mục này. LC-MS, ^1H và ^{13}C NMR và số liệu HPLC của lô sản phẩm này là giống như số liệu sản phẩm được điều chế bằng phương pháp A.

Bước E: tert-Butyl ({[2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)ethyl]amino}sulfonyl)carbamate

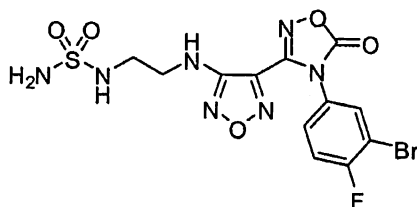


Bình đáy tròn dung tích 5L được nạp closulfonyl isoxyanat [sản phẩm Aldrich số 142662] (149mL, 1,72mol) và diclometan (1,5L) và làm lạnh sử dụng bể nước đá đến nhiệt độ 2°C. Bổ sung từng giọt tert-butanol (162mL, 1,73mol) trong diclometan (200mL) ở tốc độ sao cho nhiệt độ không vượt quá 10°C. Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong khoảng thời gian từ 30 đến 60 phút để tạo ra tert-butyl[closulfonyl]carbamate.

Bình dung tích 22L được nạp 3-{4-[(2-aminoethyl)amino]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}-4-(3-bromo-4-flophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on hydroclorua (661g, 1,57mol) và 8,5L diclometan. Sau khi làm lạnh đến -15°C bằng bể nước đá/muối, dung dịch tert-butyl[closulfonyl]carbamate (được điều chế như trên) được bổ sung ở tốc độ sao cho nhiệt độ không vượt quá -10°C (thời gian bổ sung 7 phút). Sau khi khuấy trong thời gian 10 phút, triethylamin (1085mL, 7,78mol) được bổ sung vào ở tốc độ sao cho nhiệt

độ không vượt quá -5°C (thời gian bổ sung 10 phút). Bể làm lạnh được lấy đi, phản ứng được để ấm đến 10°C , tách thành hai phần và trung hòa bằng dung dịch HCl đặc 10% (4,5L mỗi phần). Mỗi phần được chuyển vào phễu tách dung tích 50L và pha loãng bằng etyl axetat để hòa tan hoàn toàn chất rắn màu trắng (~25L). Các lớp được tách và lớp hữu cơ được rửa bằng nước (5L), nước muối (5L) và dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được chất rắn màu trắng nhạt. Chất rắn được nghiền bằng MTBE (2 x 1,5L) và làm khô đến khối lượng không đổi để thu được chất rắn màu trắng. Tổng cộng 4113g nguyên liệu được xử lý theo cách này (5409g, 98%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,90 (s, 1 H), 8,08 (dd, J = 6,2, 2,5 Hz, 1 H), 7,72 (m, 1 H), 7,59 (t, J = 8,6 Hz, 1 H), 6,58 (t, J = 5,7 Hz, 1 H), 3,38 (dd, J = 12,7, 6,2 Hz, 2 H), 3,10 (dd, J =12,1, 5,9 Hz, 2 H), 1,41 (s, 9 H).

Bước F: N-[2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)ethyl]sulfamid



Phương pháp A: Sử dụng axit trifloaxetic

Bổ sung tert-butyl ({[2-({4-[4-(3-bromo-4-fluorophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)ethyl]amino}sulfonyl)carbamate (1931g, 3,42mol) thành từng phần vào bình dung tích 22L chứa hỗn hợp axit trifloaxetic:nước 98:2 (8,9L) trong thời gian 10 phút. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1,5 giờ, dung môi được loại bỏ trong chân không và đuổi bằng diclometan (2L). Chất rắn thu được được xử lý lần thứ hai bằng hỗn hợp axit trifloaxetic:nước 98:2 (8,9L), gia nhiệt trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 50°C , dung môi được loại bỏ trong chân không và đuổi bằng diclometan (3 x 2L). Chất rắn màu trắng thu được được làm khô trong tủ sấy chân không ở 50°C qua đêm. Tổng cộng 5409g được xử lý theo cách này (4990g, hiệu suất định lượng). LCMS đối với $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{BrFN}_7\text{O}_5\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^{+}$: m/z =463,9, 465,9. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,08 (dd, J = 6,2, 2,5 Hz, 1 H), 7,72 (m, 1 H), 7,59 (t, J = 8,7

Hz, 1 H), 6,67 (t, J= 5,9 Hz, 1H), 6,52 (t, J= 6,0 Hz, 1 H), 3,38 (dd, J= 12,7, 6,3 Hz, 2 H), 3,11 (dd, J= 12,3, 6,3 Hz).

Phương pháp B: Sử dụng axit clohydric

Bổ sung dung dịch HCl trong dioxan 4N (8,0L) vào dung dịch tert-butyl ({[2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)ethyl]amino}sulfonyl)carbammat (4500g) trong isopropanol (9L). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 45°C và được giữ ở nhiệt độ này trong khoảng 5 giờ. Khi hoàn thành phản ứng (như được chỉ ra bằng phân tích HPLC), bổ sung heptan (72L) vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp thu được được gia nhiệt đến 68°C và giữ ở nhiệt độ này trong thời gian 1 giờ. Mẻ này được để nguội xuống khoảng 23°C. Sản phẩm rắn được thu gom bằng cách lọc. Bánh lọc được rửa bằng hỗn hợp heptan (16L) và isopropanol (1,2L) và làm khô bằng cách hút trên phễu lọc. Sản phẩm thô được hòa tan trong etyl axetat (10,8L) ở khoảng 43°C. Heptan (32,4L) được bổ sung vào dung dịch etyl axetat trong thời gian 15 phút. Mẻ này được gia nhiệt đến 70°C và giữ ở nhiệt độ này trong thời gian 1 giờ. Mẻ này được làm nguội đến 21°C và sản phẩm rắn được thu gom bằng cách lọc. Bánh lọc được rửa bằng heptan (14,4L) và làm khô bằng cách hút trên phễu lọc. Lượng sản phẩm là 3034g. LC-MS, ¹H và ¹³C NMR và số liệu HPLC của lô sản phẩm này là giống như số liệu của sản phẩm được điều chế bằng Phương pháp A.

Bước G: (Z)-4-({2-[(aminosulfonyl)amino]ethyl}amino)-N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit

Phương pháp A:

Bổ sung THF (5L) vào hỗn hợp thô gồm N-[2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)ethyl]sulfamit (2,4mol) chứa lượng dư axit trifloaxetic đang khuấy trong bình dung tích 22L. Dung dịch thu được được làm lạnh đến 0°C sử dụng bể nước đá và bổ sung dung dịch NaOH 2N (4L) vào hỗn hợp ở tốc độ sao cho nhiệt độ không vượt quá 10°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 3 giờ (LCMS chỉ ra rằng không còn nguyên liệu), độ pH được điều chỉnh đến độ pH = từ 3 đến 4 bằng HCl đặc (~500mL). THF được loại bỏ trong chân không và hỗn hợp thu được được chiết bằng etyl axetat (15L). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (5L), nước muối (5L) và dung môi được loại bỏ trong

chân không để thu được chất rắn. Chất rắn được nghiền bằng MTBE (2 x 2L), kết hợp với ba phản ứng khác nhau ở cùng mức độ và làm khô qua đêm trong lò đối lưu để thu được chất rắn màu trắng (3535g). Chất rắn này được tái kết tinh (3 lần bình dung tích 22L, nước siêu lọc được khử ion: etanol, 2:1, 14,1L mỗi bình) và làm khô trong lò đối lưu 50°C đến khối lượng không đổi để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt (3290g, 78%). LCMS đối với $C_{11}H_{14}BrFN_7O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z=437,9$, $439,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,51 (s, 1 H), 8,90 (s, 1 H), 7,17 (t, $J=8,8$ Hz, 1 H), 7,11 (dd, $J=6,1$, $2,7$ Hz, 1 H), 6,76 (m, 1 H), 6,71 (t, $J=6,0$ Hz, 1 H), 6,59 (s, 2 H), 6,23 (t, $J=6,1$ Hz, 1 H), 3,35 (dd, $J=10,9$, $7,0$ Hz, 2 H), 3,10 (dd, $J=12,1$, $6,2$ Hz, 2 H). Phân tích tinh thể tia X xác định rằng hợp chất nêu ở đề mục này chấp nhận cấu hình Z (chất đồng phân Z) đối với liên kết đôi cacbon- nitơ (C=N) của nhóm chức oxim.

Phương pháp B:

Bổ sung N-[2-({4-[4-(3-bromo-4-flophenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1,2,5-oxadiazol-3-yl}amino)ethyl]sulfamit (1500g) vào THF (6,0L) và mẻ này được làm lạnh đến 2°C. Bổ sung axit trifloaxetic (0,006L) vào đó ở 2°C sau đó là bổ sung dung dịch natri hydroxit trong nước (384g NaOH rắn trong 4,8L nước) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 2°C. Mẻ này được làm ấm đến khoảng 16°C và giữ trong 5 giờ. Khi hoàn thành phản ứng, như được chỉ ra bằng HPLC, bổ sung axit clohydric đặc (0,7L) vào để điều chỉnh độ pH của mẻ đến độ pH bằng từ 3 đến 4. Khoảng 4 L dung môi được loại bỏ ra khỏi mẻ này bằng cách cất trong điều kiện áp suất giảm. Mẻ này được bổ sung vào etyl axetat (18,0L) và hỗn hợp hai pha được khuấy trong thời gian 15 phút. Lớp hữu cơ được rửa lần lượt bằng nước (6,0L) và nước muối (6,0L). Dung dịch hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat khan. Magie sulfat được lọc và dịch lọc được bay hơi đến khô trong điều kiện áp suất giảm. Bổ sung MTBE (3,0L) vào chất rắn thu được và huyền phù được khuấy trong thời gian 15 phút. Sản phẩm rắn được tách ra bằng cách lọc. Bánh lọc được rửa lần lượt bằng MTBE (1,2L) và heptan (1,2L). Chất rắn được làm khô trên phễu lọc trong điều kiện hút để thu được 1416g (87,9%) sản phẩm. Sản phẩm này (2440g, thu được trong hai mẻ) được tinh chế tiếp bằng cách tạo huyền phù lại trong MTBE (9,6L) ở nhiệt độ 17°C trong thời gian 2 giờ. Mẻ này được làm lạnh đến 6°C trong thời gian 30 phút. Sản phẩm rắn được thu gom bằng cách lọc và bánh lọc ướt được rửa lần lượt bằng MTBE

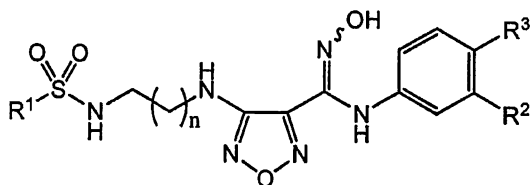
(3,6L) và heptan (1,2L). Sản phẩm được làm khô trong lò chân không ở nhiệt độ 20°C để thu được 1962g hợp chất nêu ở đề mục này với hiệu suất 81,7%. LC-MS, ^1H và ^{13}C NMR và số liệu HPLC của lô sản phẩm này là giống như số liệu của sản phẩm được điều chế bằng Phương pháp A.

Ví dụ 24

Số liệu hợp chất

Số liệu về hoạt tính sinh học và tính chất vật lý của các hợp chất theo các ví dụ từ 1 đến 19 được tóm tắt trong bảng 2 sau đây. Số liệu IC_{50} thu được từ thử nghiệm được cung cấp trong ví dụ A.

Bảng 2



Ví dụ số	R_1	R_2	R_3	n	IDO IC_{50} (nM)	MS [M+H]
1	NH_2	Br	F	1	<200	437,9, 439,9
2	Me	Br	F	1	<200	437,0, 439,0
3	NH_2	Br	F	2	<100	451,8, 453,9
4	Me	Br	F	2	<100	451,0, 453,0
5	NH_2	Cl	F	1	<200	394,0
6	Me	Cl	F	1	<200	393,0
7	NH_2	Cl	F	2	<200	408,1
8	Me	Cl	F	2	<200	407,1
9	NH_2	CF_3	F	1	<100	428,0
10	Me	CF_3	F	1	<100	427,0

11	NH ₂	CF ₃	F	2	<100	442,0
12	Me	CF ₃	F	2	<100	441,1
13	NH ₂	CF ₃	H	1	<500	410,0
14	Me	CF ₃	H	1	<200	409,1
15	NH ₂	CF ₃	H	2	<200	424,0
16	Me	CF ₃	H	2	<200	423,1
17	Me	CH ₃	F	1	<500	373,1
18	NH ₂	CN	F	1	<750	385,0
19	Me	CN	F	1	<500	406,0*

*[M+Na]

Ví dụ 25

Số liệu hợp chất

Số liệu IDO IC₅₀ (xem ví dụ A) của các hợp chất theo ví dụ 20 và 21 được nêu trong bảng 3 sau đây.

Bảng 3

Ví dụ số	IDO IC ₅₀ (nM)
20	< 500
21	< 750

Ví dụ 26

Số liệu NMR

Số liệu ¹H NMR (phổ kế Varian Inova 500, phổ kế Mercury 400 hoặc phổ kế Varian (hoặc Mercury) 300) đối với các hợp chất theo các Ví dụ 1-21 được nêu trong bảng 4 sau đây.

Bảng 4

Ví dụ số	Dung môi	MHz	Phổ ¹ H NMR
1	DMSO-d ₆	400	δ 11,5(s, 1 H), 8,89 (s, 1 H), 7,17 (dd, J= 8,8, 8,6 Hz, 1 H), 7,09 (dd, J= 6,1, 2,7 Hz, 1 H), 6,76 - 6,72 (m, 1 H), 6,56 (dd, J= 6,1, 6,1 Hz, 1 H), 6,51 (s, 2 H), 6,17 (dd, J= 5,9, 5,9 Hz, 1 H), 3,27 - 3,21 (m, 2 H), 2,94 - 2,88 (m, 2 H), 1,78 - 1,71 (m, 2 H)
2	DMSO-d ₆	400	δ 11,49 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 7,17 (m, 2H), 7,09 (dd, J= 6,3, 2,5 Hz, 1H), 6,26 (t, J= 6,1 Hz, 1H), 3,33 (m, 2H), 3,13 (q, J= 6,0 Hz, 2H), 2,89 (s, 3H)

3	DMSO-d ₆	400	δ 11,5 (s, 1 H), 8,89 (s, 1 H), 7,17 (dd, J= 8,8, 8,6 Hz, 1 H), 7,09 (dd, J= 6,1, 2,7 Hz, 1 H), 6,76 - 6,72 (m, 1 H), 6,56 (dd, J= 6,1, 6,1 Hz, 1 H), 6,51 (s, 2 H), 6,17 (dd, J= 5,9, 5,9 Hz, 1 H), 3,27 - 3,21 (m, 2 H), 2,94 - 2,88 (m, 2 H), 1,78- 1,71 (m, 2 H)
4	CD ₃ OD	400	δ 7,12 (dd, J= 5,9, 2,4 Hz, 1H), 7,05 (t, J= 8,7 Hz, 1H), 6,83 (m, 1H), 3,39 (t, J= 6,8 Hz, 2H), 3,14 (t, J= 6,6 Hz, 2H), 2,94 (s, 3H), 1,87 (m, 2H)
5	DMSO-d ₆	400	δ 7,96 (dd, J= 6,8, 2,1 Hz, 0,05 H), 7,32 - 7,29 (m, 0,1 H), 7,18 (dd, J= 9,1, 9,1 Hz, 0,95 H), 6,93 (dd, J= 6,4, 2,7 Hz, 0,95 H), 6,71 - 6,66 (m, 0,95 H), 6,33 (br s, 1 H), 3,35 - 3,27 (m, 2 H), 3,10- 3,06 (m, 2 H)
6	DMSO-d ₆	400	δ 11,50 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 7,19 (m, 2H), 6,96 (dd, J=6,7, 2,5 Hz, 1H), 6,71 (m, 1H), 6,26 (t, J=6,4 Hz, 1H), 3,32 (m, 2H), 3,13 (q, J=5,8 Hz, 2H), 2,89 (s, 3H)
7	DMSO-d ₆	400	δ 8,90 (s, 1 H), 7,20 (dd, J= 9,2, 9,0 Hz, 1 H), 6,96 (dd, J= 6,4, 2,7 Hz, 1 H), 6,72 - 6,69 (m, 1 H), 6,55 (t, J= 6,0 Hz, 1 H), 6,51 (s, 2 H), 6,16 (t, J= 5,9 Hz, 1 H), 3,28 - 3,21 (m, 2 H), 2,93 - 2,87 (m, 2 H), 1,76 - 1,72 (m, 2 H)
8	CD ₃ OD	300	δ 7,06 (t, J=8,9 Hz, 1H), 6,98 (m, 1H), 6,80 (m, 1H), 3,73 (m, 2H), 3,28 (m, 2H), 2,94 (s, 3H), 1,28 (m, 2H)
9	DMSO-d ₆	400	δ 11,60 (s, 1H), 9,06 (s, 1H), 7,30 (t, J=10,1 Hz, 1H), 7,14 (dd, J = 6,1, 2,7 Hz, 1H), 7,03 (m, 1H), 6,71 (t, J=5,3 Hz, 1H), 6,58 (s, 2H), 6,23 (t, J=6,2 Hz, 1H), 3,36 (q, J=6,5 Hz, 2H), 3,08 (m, 2H)
10	DMSO-d ₆	400	δ 11,60 (s, 1H), 9,07 (s, 1H), 7,30 (t, J=10,1 Hz, 1H), 7,18 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 7,13 (dd, J=6,0, 2,7 Hz, 1H), 7,03 (m, 1H), 6,27 (t, J = 6,3 Hz, 1H), 3,32 (m, 2H), 3,13 (q, J=6,0 Hz, 2H), 2,89 (s, 3H)
11	DMSO-d ₆	300	δ 11,6 (s, 1 H), 9,08 (s, 1 H), 7,31 (dd, J= 10,0, 9,4 Hz, 1 H), 7,13 (dd, J= 6,4, 2,9 Hz, 1 H), 7,05 - 6,99 (m, 1H), 6,58 (t, J= 6,0 Hz, 1H), 6,52 (s, 2 H), 6,17 (t, J= 5,9 Hz, 1H), 3,28 - 3,21 (m, 2 H), 2,94 - 2,87 (m, 2 H), 1,79 - 1,72 (m, 2 H)
12	DMSO-d ₆	400	δ 11,6 (s, 1 H), 9,07 (s, 1 H), 7,30 (dd, J= 10,0, 9,6 Hz, 1 H), 7,13 (dd, J= 6,2, 2,5 Hz, 1 H), 7,05 - 7,02 (m, 2 H), 6,19 (t, J= 5,8 Hz, 1 H), 3,27 - 3,21 (m, 2 H), 2,99 - 2,94 (m, 2 H), 2,87 (s, 3 H), 1,76- 1,72 (m, 2 H)
13	CD ₃ OD	400	δ 7,36 (t, J=7,8 Hz, 1H), 7,23 (d, J=7,8 Hz, 1H), 7,10 (s, 1H), 7,03 (d, J=7,8 Hz, 1H), 3,48 (m, 2H), 3,29 (m, 2H)
14	DMSO-d ₆	500	δ 11,63 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,39 (t, J=7,6 Hz, 1H), 7,21 (m, 2H), 7,10 (s, 1H), 6,99 (d, J=8,1 Hz, 1H), 6,28 (t, J=5,4 Hz, 1H), 3,36 (q, J=5,8 Hz, 2H), 3,17 (q, J=5,8 Hz, 2H), 2,91 (s, 3H)
15	DMSO-d ₆	400	δ 11,6 (s, 1 H), 9,12 (s, 1 H), 7,37 (dd, J= 8,0, 8,0 Hz, 1 H), 7,21 - 7,18 (m, 1 H), 7,07 (s, 1 H), 6,95 (d, J= 10,0 Hz, 1 H), 6,52 (br s, 3 H), 6,17 (t, J= 6,0 Hz, 1 H), 3,28 - 3,22 (m, 2 H), 2,93 - 2,89 (m, 2 H), 1,77 - 1,73 (m, 2 H)

16	DMSO-d ₆	400	δ 11,6 (s, 1 H), 9,11 (s, 1 H), 7,37 (dd, J= 8,0, 8,0 Hz, 1 H), 7,20 (d, J= 7,8 Hz, 1 H), 7,07 - 7,01 (m, 2 H), 6,96 (d, J= 8,0 Hz, 1 H), 6,20 (t, J= 5,9 Hz, 1 H), 3,27 - 3,22 (m, 2 H), 2,99 - 2,94 (m, 2H), 2,87 (s, 3 H), 1,78 - 1,71 (m, 2 H)
17	DMSO-d ₆	400	δ 11,25 (s, 1H), 8,61 (s, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,91 (m, 1H), 6,72 (m, 1H), 6,58 (m, 1H), 6,24 (s, 2H), 3,32 (m, 2H), 3,11 (m, 2H), 2,89 (s, 3H), 2,05 (s, 3H).
18	DMSO-d ₆	400	δ 11,65 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,34 (t, J=9,1 Hz, 1H), 7,22 (dd, J = 5,4, 2,8 Hz, 1H), 7,13 (m, 1H), 6,70 (t, J=5,9 Hz, 1H), 6,59 (s, 2H), 6,20 (t, J=6,1 Hz, 1H), 3,34 (m, 2H), 3,09 (m, 2H)
19	DMSO-d ₆	400	δ 11,65 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,35 (m, 1H), 7,18 (m, 3H), 6,56 (m, 1H), 6,23 (m, 1H), 6,24 (s, 2H), 3,32 (m, 2H), 3,14 (m, 2H), 2,89 (s, 3H).
20	DMSO-d ₆	400	δ 10,87 (s, 1 H), 7,75 (s, 1 H), 6,83 (t, J= 7,3 Hz, 1 H), 6,68 (t, J= 6,0 Hz, 1 H), 6,56 (s, 2 H), 6,30 (t, J= 6,0 Hz, 1 H), 6,23 (s, 1 H), 4,56 (d, J= 7,0 Hz, 2 H), 3,32 (q, J= 6,3 Hz, 2 H), 3,07 (q, J= 6,3 Hz, 2 H)
21	DMSO-d ₆	400	δ 10,88 (s, 1 H), 7,77 (s, 1 H), 6,83 (t, J= 6,8 Hz, 1 H), 6,68 (t, J = 5,9 Hz, 1 H), 6,56 (s, 2 H), 6,30 (t, J= 5,9 Hz, 1 H), 6,22 (s, 1 H), 4,55 (d, 2 H), 3,32 (q, J= 6,3 Hz, 2 H), 3,06 (q, J= 6,3 Hz, 2 H)

Ví dụ A: Thử nghiệm đối với enzym indolamin 2,3-dioxygenaza (IDO) của người

Indolamin 2,3-dioxygenaza (IDO) có thể His ở đầu cùng N được biểu hiện trong E.coli và được tinh chế đến đồng nhất. IDO xúc tác quá trình phân cắt oxy hóa của vòng pyrol của nhân indol của tryptophan để tạo thành N'-formylkynurenin. Các thử nghiệm được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng như được mô tả trong tài liệu sử dụng IDO 95 nM và D-Trp 2 mM với sự có mặt của ascorbat 20 mM, xanh metylen 5μM và catalaza 0,2mg/mL trong dung dịch đệm kali phosphat 50mM (độ pH=6,5). Tốc độ phản ứng ban đầu được ghi lại bằng cách theo dõi liên tục độ hấp thụ ở bước sóng 321nm do sự tạo thành N'-formylkynurenin (xem: Sono, M., et al, 1980, J Biol. Chem. 255, 1339-1345).

Ví dụ B: Xác định hoạt tính ức chế trong thử nghiệm indolamin 2,3- dioxygenaza (IDO)/Kynurenin dựa trên tế bào HeLa

Các tế bào HeLa (số CCL-2) thu được từ bộ sưu tập chủng nuôi cấy mô kiểu Mỹ (ATCC: American Type Tissue Culture Collection, Manassas, VA) và được giữ bình thường trong môi trường thiết yếu tối thiểu (eagle) với 2mM L-glutamin 2mM và BSS của Earles được điều chỉnh để chứa natri bicarbonat 1,5 g/L, các axit amin không thiết yếu 0,1mM, natri pyruvat 1mM và huyết thanh bào thai bê 10% (tất cả đều của

nhà sản xuất Invitrogen). Các tế bào được giữ ở 37°C trong tủ ủ được làm ẩm được cấp CO₂ 5%. Thử nghiệm được thực hiện như sau: các tế bào HeLa được gieo cấy trong đĩa nuôi cấy 96 lỗ với mật độ 5×10^3 tế bào/lỗ và để phát triển qua đêm. Vào ngày tiếp theo, IFN- γ (nồng độ cuối cùng là 50ng/mL) và các dịch pha loãng liên tiếp của hợp chất (với tổng thể tích 200 μ L môi trường nuôi cấy) được bổ sung vào các tế bào này. Sau 48 giờ ủ ẩm, 140 μ L dịch nổi trên mỗi lỗ được chuyển vào đĩa 96 lỗ mới. 10 μ L dung dịch axit tricloaxetic 6,1N (số T0699, Sigma) được trộn vào mỗi lỗ và ủ ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 30 phút để thủy phân N-formylkynurenin được tạo ra bởi indolamin 2,3-dioxygenaza thành kynurenin. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được ly tâm trong thời gian 10 phút ở tốc độ 2500 vòng/phút để loại bỏ cặn. 100 μ L dịch nổi trên mỗi lỗ được chuyển vào đĩa 96 lỗ khác và được trộn với 100 μ L p-dimetylaminobenzaldehyt 2% (khối lượng/thể tích) (số 15647-7, Sigma-Aldrich) trong axit axetic. Màu vàng thu được từ Kynurenin được đo ở bước sóng 480nm sử dụng máy đọc vi đĩa SPECTRAMax 250 (Molecular Devices). L-kynurenin (số K8625, Sigma) được sử dụng làm chất chuẩn. Các chất chuẩn (240, 120, 60, 30, 15, 7,5, 3,75, 1,87 μ M) được điều chế trong 100 μ L môi trường nuôi cấy và được trộn với thể tích tương đương p-dimetylaminobenzaldehyt 2% (khối lượng/thể tích). Phản trăm ức chế ở mỗi nồng độ được xác định và giá trị trung bình của hai mẫu giống nhau thu được. Số liệu được phân tích bằng cách sử dụng phép hồi quy không tuyến tính để tạo ra giá trị IC₅₀ (Prism Graphpad). Xem: Takikawa O, et al, 1988, J. Biol. Chem., 263(4): 2041-8.

Ví dụ C: Xác định tác động của các chất ức chế IDO đối với quá trình tăng sinh tế bào T mà được ngăn chặn bằng các tế bào đuôi gai biểu hiện IDO

Các bạch cầu đơn nhân to được thu gom từ các tế bào đơn nhân ngoại vi của người bằng phương pháp điện chuyển bạch cầu. Sau đó các bạch cầu đơn nhân to được gieo cấy với mật độ 1×10^6 tế bào/lỗ trong đĩa 96 lỗ, sử dụng môi trường RPMI 1640 được bổ sung huyết thanh bào thai bê 10% và L-glutamin 2mM (tất cả đều của nhà sản xuất Invitrogen). Các tế bào bám dính được giữ lại trên đĩa sau khi nuôi cấy qua đêm ở 37°C. Sau đó các bạch cầu đơn nhân to bám dính được kích thích trong thời gian từ 5 đến 7 ngày với GM-CSF 100ng/ml (số 300-03, PeproTech) và IL-4 250ng/ml (số 200-04, PeproTech), sau đó hoạt hóa bằng LPS 5 μ g/mL từ *Salmonella typhimuri* (số

437650, Sigma) và IFN- γ 50ng/mL (số 285-IF, R&D Systems) trong thời gian 2 ngày nữa để tế bào đuôi gai trưởng thành.

Sau khi hoạt hóa tế bào đuôi gai, môi trường được thay thế bằng RPMI 1640 hoàn thiện được bổ sung IL-2 100-200 U/mL (số CYT-209, ProSpec-Tany TechnoGene) và kháng thể kháng CD3 100ng/mL (số 555336, PharMingen), tế bào T ($2-3 \times 10^5$ tế bào/lỗ) và dịch pha loãng liên tiếp của hợp chất IDO. Sau khi ủ trong thời gian 2 ngày nữa, mức độ tăng sinh tế bào T được đo bằng thử nghiệm kết hợp BrdU, sử dụng kit ELISA tăng sinh tế bào đo màu theo hướng dẫn của nhà sản xuất (số 1647229, Roche Molecular Biochemicals). Các tế bào được nuôi cấy tiếp trong thời gian từ 16 đến 18 giờ với sự có mặt của dung dịch đánh dấu BrdU 10 μ M. Sau đó, môi trường đánh dấu được loại bỏ và bổ sung vào tế bào nuôi cấy 200 μ L FixDenat cho mỗi lỗ và ủ trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch FixDenat được loại bỏ và bổ sung 100 μ L dung dịch thực hiện liên hợp kháng thể kháng BrdU-POD vào mỗi lỗ. Phản ứng được thực hiện trong 90 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó liên hợp kháng thể được loại bỏ và các tế bào được rửa ba lần bằng 200 μ L dung dịch rửa cho mỗi lỗ. Cuối cùng, bổ sung dung dịch cơ chất 100 μ L/lỗ và kết quả thu được sử dụng máy đọc vi đĩa (Spectra Max PLUS, Molecular Devices) trong suốt quá trình hiện màu. Nhiều kết quả đọc ở các thời điểm khác nhau thu được để đảm bảo số liệu nằm trong khoảng tuyến tính. Số liệu thu được theo cách thông thường từ các thử nghiệm sao chép và số liệu đối chứng thích hợp cũng thu được. Xem: Terness P, et al. 2002, J. Exp. Med., 196(4): 447-57; và Hwu, P, et al. 2000, J. Immunol, 164(7): 3596-9.

Ví dụ D: Thử nghiệm hoạt tính kháng khối u của các chất ức chế IDO *in vivo*

Hiệu lực kháng khối u *in vivo* có thể được thử nghiệm sử dụng phương thức ghép cùng loài/ghép ngoại lai khối u cải tiến. Ví dụ, đã được đề cập trong lĩnh vực kỹ thuật là sự ức chế IDO có thể có tác dụng hiệp đồng với liệu pháp hóa học gây độc tế bào ở chuột có hệ miễn dịch trưởng thành (Muller, AJ., et al. 2005, Nat. Med. 11:312-319). Tác dụng hiệp đồng này được chỉ ra là phụ thuộc vào tế bào T bằng cách so sánh các tác dụng hiệp đồng của chất ức chế IDO được nghiên cứu trong các mẫu ghép ngoại lai khối u chuột (ví dụ B16 và các biến thể có liên quan, CT-26, LLC) được phát triển ở chuột bẩm sinh có hệ miễn dịch trưởng thành đến mức quan sát thấy ở chuột

bẩm sinh được điều trị bằng kháng thể kháng CD4 trung hòa hoặc các khối u tương tự được phát triển ở chuột thỏa hiệp miễn dịch (ví dụ nu/nu).

Khái niệm về các tác dụng kháng khối u biệt hóa ở chuột có hệ miễn dịch trưởng thành so với chuột thỏa hiệp miễn dịch cũng có thể cho phép thử nghiệm các chất ức chế IDO được nghiên cứu như là các chất đơn lẻ. Ví dụ, các khối u LLC phát triển tốt ở giống vật chủ bẩm sinh của chúng, C57B1/6. Tuy nhiên, nếu các con chuột này được điều trị bằng chất ức chế IDO 1-MT (so với giả dược), thì sự tạo thành khối u được trì hoãn một cách rõ rệt, điều này cho thấy rằng sự ức chế IDO là ức chế phát triển (Friberg, M., et al. 2002, Int. J. Cancer 101:151-155). Theo logic này, có thể kiểm tra hiệu lực ức chế IDO ở mẫu khối u ghép ngoại lai LLC được phát triển ở chuột có hệ miễn dịch trưởng thành C57B1/6 và so sánh hiệu lực này với hiệu lực của các chất ức chế IDO đối với sự phát triển khối u LLC ở chuột trụi lông hoặc chuột SCID (hoặc chuột C57B1/6 được điều trị bằng các kháng thể mà trung hòa hoạt tính tế bào T). Vì các tác dụng của việc làm giảm hoạt tính ngăn cản miễn dịch qua trung gian khối u của IDO sẽ có khả năng khác nhau, tùy thuộc vào khả năng miễn dịch của các mẫu khối u khác nhau, các biến đổi di truyền có thể được thực hiện đối với các tế bào khối u để gia tăng khả năng miễn dịch của chúng. Ví dụ, sự biểu hiện của GM-CSF ở tế bào B16.F10 làm gia tăng khả năng miễn dịch của chúng (Dranoff, G., et al. 1993, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 90:3539-3543). Do vậy, ở một số mẫu khối u (ví dụ B16.F10) có thể tạo ra [nhiều] dòng mà biểu hiện protein kích thích miễn dịch như GM-CSF và thử nghiệm hiệu lực ức chế sự phát triển của các chất ức chế IDO chống lại khối u được thiết lập từ các tế bào khối u này ở cả chuột có hệ miễn dịch trưởng thành và chuột thỏa hiệp miễn dịch.

Phương án thứ ba để đánh giá hiệu lực của chất ức chế IDO *in vivo* sử dụng các mẫu ghép u cùng loài/ghép u ngoại lai chuột 'được gây miễn dịch trước'. Trong các mẫu này, chuột có hệ miễn dịch trưởng thành được cảm ứng bằng kháng nguyên hoặc các kháng nguyên khối u cụ thể để bắt chước việc chủng kháng khối u điều trị. Việc này châm mồi cho chuột trong việc đáp ứng kháng khối u được điều chỉnh bởi hệ miễn dịch khi chuột được thử tiếp theo bằng dòng tế bào khối u chuột (có các kháng nguyên khối u tương tự với các kháng nguyên được dùng để gây miễn dịch) ở các thử nghiệm ghép ngoại lai. Việc biểu hiện của IDO đã được chỉ ra là làm cùn đáp ứng kháng khối u và cho phép các phần ghép ngoại lai phát triển nhanh hơn. Quan trọng là, sự phát

triển của các khối u ở mẫu này được ức chế bởi các chất ức chế IDO 1-MT (Uyttenhove, C, et al 2003, Nat. Med. 9:1269-1274). Mẫu này thu hút đặc biệt vì hoạt tính IDO được chấp nhận đối với sự phát triển khối u P815 và do đó sự ức chế đặc hiệu của IDO sẽ là sự ức chế phát triển.

Cuối cùng, việc gây miễn dịch điều trị có thể được dùng để đánh giá tác động của các chất ức chế IDO *in vivo*. Ví dụ, đã chứng minh việc sử dụng tế bào B16-BL6 mà người có trình độ trung bình có thể thử chuột Blk/6 bằng cách tiêm các tế bào khối u vào tĩnh mạch, sau đó điều trị bằng peptit miễn dịch đã biết rõ đặc điểm (ví dụ TRP-2), được biểu hiện bởi tế bào khối u (Ji, et al, 2005, J. Immunol, 175: 1456-63). Quan trọng là, các chất biến đổi hệ miễn dịch, như kháng thể kháng CTL-4, có thể cải thiện đáp ứng đối với việc gây miễn dịch điều trị này. Tác động của các chất ức chế IDO có thể được đánh giá theo cách tương tự - gây miễn dịch khối u bằng peptit có hoặc không có chất ức chế IDO. Hiệu lực được đánh giá bằng sự sống sót của con vật (thời gian mang bệnh) hoặc bằng cách đo sự di căn khối u đến phổi và/hoặc các bộ phận khác ở các thời điểm xác định.

Ở mẫu bất kỳ/tất cả các mẫu trong số các mẫu nêu trên, cũng có thể đo trực tiếp và/hoặc gián tiếp số lượng và/hoặc hoạt tính của các tế bào miễn dịch phản ứng với khối u. Các phương pháp để đo số lượng và/hoặc hoạt tính của các tế bào miễn dịch phản ứng với khối u được thiết lập rõ và có thể được thực hiện sử dụng các kỹ thuật tương tự như các kỹ thuật được nêu trong lĩnh vực kỹ thuật (Current Protocols in Immunology, Vol. 4, Coligan, J. E., et al; Immunotherapy of Cancer, Human Press, 2006, Disis, MX. và các tài liệu viện dẫn trong đó). Về mặt khái niệm, việc giảm hiệu lực ngăn chặn miễn dịch của IDO có thể dẫn đến số lượng hoặc khả năng phản ứng của các tế bào miễn dịch đặc hiệu khối u tăng. Thêm nữa, sự ức chế IDO có thể còn làm gia tăng số lượng hoặc khả năng phản ứng của các tế bào miễn dịch phản ứng với khối u khi được kết hợp với các phương pháp điều trị khác, ví dụ liệu pháp điều trị hóa học và/hoặc sử dụng chất điều biến miễn dịch (ví dụ kháng thể kháng CTLA4).

Tất cả các thử nghiệm ghép cùng loài/ghép ngoại lai đều có thể được thực hiện sử dụng kỹ thuật khối u tiêu chuẩn (được bình duyệt bởi Corbett, et al. trong tài liệu: Cancer Drug Discovery and Development: Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval, 2nd Ed. Teicher, B.A. và Andrews, P.A., Gumana Press Inc.: Totowa, NJ, 2004). Việc tách dòng và đưa các gen

(ví dụ IDO, GM-CSF) vào các dòng tế bào khối u, có thể được thực hiện sử dụng các kỹ thuật tương tự như các kỹ thuật được đề cập trong lĩnh vực kỹ thuật này (được bình duyệt trong tài liệu: Sambrook, J. và Russel, D., Molecular Cloning: A laboratory Manual (3rd edition), Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, NY, 2001).

Ví dụ E: Thử nghiệm chất ức chế IDO *in vivo* ở mẫu viêm não virus-1 (HIV- 1) thiếu hụt miễn dịch ở người

1. Phân lập tế bào và gây nhiễm virus

Bạch cầu đơn nhân to và PBL có thể thu được bằng cách gạn rửa ly tâm ngược dòng các gói điện chuyển bạch cầu từ các thể cho huyết thanh âm tính HIV-1, 2 và viêm gan B. Bạch cầu đơn nhân to được cấy vào môi trường nuôi cấy dạng hỗn dịch sử dụng các bình Teflon trong môi trường của Eagle được cải biến của Dulbecco (DMEM, Sigma- Aldrich) được bổ sung huyết thanh hỗn hợp của người được vô hoạt bằng nhiệt 10%, glutamin 1%, gentamixin 50µg/mL, ciprofloxacin 10µg/mL (Sigma) và yếu tố kích thích khuẩn lạc đại thực bào tái tổ hợp của người có độ tinh khiết cao 1000U/mL. Sau 7 ngày nuôi cấy, MDM được gây nhiễm HIV-1_{ADA} với độ bội nhiễm 0,01.

2. Chuột Hu-PBL-NOD/SCID HIVE

Chuột NOD/C.B-17 SCID bốn tuần tuổi được mua về (từ Jackson Laboratory). Các con chuột này được giữ trong lồng cách ly vi mô vô trùng trong điều kiện không có tác nhân gây bệnh. Tất cả các con chuột này được tiêm kháng thể kháng-CD122 ở chuột (0,25mg/con) trong màng bụng ba ngày trước khi cấy PBL và tiêm hai lần bằng kháng thể asialo-GM1 của thỏ (0,2mg/con) (Wako) một ngày trước và ba ngày sau khi tiêm PBL (20×10^6 tế bào/con). MDM được gây nhiễm HIV-1_{ADA} (3×10^5 tế bào trong 10µL) được tiêm trong sọ (i.c: injected intracranially) tám ngày sau khi chuột hu-PBL-NOD/SCID HIVE phát sinh sự tái tạo PBL. Ngay sau khi tiêm trong sọ MDM được gây nhiễm HIV-1, chuột hu-PBL-NOD/SCID HIVE được cấy dưới da (s.c) với đối chứng (chất dẫn) hoặc viên hợp chất (giải phóng chậm 14 hoặc 28 ngày, Innovative Research). Các thử nghiệm ban đầu được thiết kế để xác nhận sự cảm ứng của CTL đặc hiệu virus ở các con chuột hu PBL-NOD/SCID HIVE được điều trị bằng các hợp chất IDO. Điều này được xác nhận bằng phân tích vết màu tetrame và phân

tích bệnh thần kinh của việc thải MDM từ mô não. Sau đó, thử nghiệm này được thiết kế để phân tích sự tái tạo bạch huyết bào của người, các đáp ứng miễn dịch thể dịch và các thay đổi trong bệnh lý thần kinh. Trong các thử nghiệm này, các con chuột được lấy máu vào ngày thứ 7 và giết vào ngày thứ 14 và 21 sau khi tiêm MDM của người trong sọ. Máu được thu gom trong các ống chứa EDTA được dùng để đếm tế bào và huyết tương được dùng để phát hiện HIV-1 p24 sử dụng ELISA (Beckman Coulter™). Các kháng thể đặc hiệu HIV-1 được phát hiện bằng các thử nghiệm thẩm tách Western theo các hướng dẫn của nhà sản xuất (kit thẩm tách Western HIV-1 Cambridge Biotech, Calypste Biomedical). Lượng kháng thể đặc hiệu với virus tương tự được phát hiện ở chất chuẩn và ở các con vật được điều trị bằng hợp chất. Tổng số ba thử nghiệm độc lập có thể được thực hiện sử dụng ba thể cho bạch cầu khác nhau.

3. FACSscan của máu ngoại vi và lách ở chuột hu PBL-NOD/SCID HIVE

Phép phân tích FACS hai màu có thể được thực hiện đối với máu ngoại vi ở tuần 1-3 và tế bào đơn nhân lá lách ở tuần 2 và 3 sau khi tiêm MDM người trong sọ. Các tế bào được ủ bằng các kháng thể đơn dòng liên hợp flochrom (mAbs) đối với CD4, CD8, CD56, CD3, TFN- γ của người (eBioscience) trong thời gian 30 phút ở 4°C. Để đánh giá đáp ứng miễn dịch tế bào, việc nhuộm màu IFN- γ nội bào được thực hiện kết hợp với kháng thể kháng CD8 của người và kháng thể kháng CD45 của chuột được liên hợp FITC để loại trừ các tế bào chuột. Để xác định CTL đặc hiệu Ag, việc nhuộm màu tetrame liên hợp allophycocyanin cho HIV-1^{gag} (p17 (aa77-85) SLYNTVATL, SL-9) và HIV-1^{p01} [(aa476-485) ILKEPVHGV, IL-9] được thực hiện đối với các tế bào đơn nhân lá lách được kích thích bằng phytohemagglutinin/interleukin-2 (PHA/IL-2). Các tế bào được nhuộm màu theo khuyến nghị của Viện nghiên cứu các bệnh dị ứng và nhiễm trùng quốc gia (NIH: National Institute of Allergy and Infections Disease, National Tetramer Core Facilities). Số liệu được phân tích bằng FACS Calibur™ sử dụng phần mềm CellQuest (Becton Dickinson Immunocytometry System).

4. Phân tích mô bệnh và phân tích hình ảnh

Mô não được thu thập vào ngày thứ 14 và 21 sau khi tiêm MDM trong sọ, được cố định trong dung dịch paraformaldehyt đệm phosphat 4% và được nhúng trong parafin hoặc làm đông lạnh ở -80°C để sử dụng sau này. Các mặt cắt vòng đầu từ các

khối đã nhúng được cắt để xác định vị trí tiêm. Đối với mỗi con chuột, 30-100 các mặt cắt liên tiếp nhau (chiều dày 5µm) được cắt từ vị trí tiêm MDM ở người và 3-7 miếng (10 mặt cắt tách rời) được phân tích. Các mặt cắt não được loại parafin bằng xylen và hydrat hóa trong các rượu gradien. Việc nhuộm màu mô miễn dịch hóa học được thực hiện theo phương thức gián tiếp cơ bản, sử dụng việc thu hồi kháng nguyên bằng cách gia nhiệt đến 95°C trong dung dịch đệm xitrat 0,01mol/L trong thời gian 30 phút để thu hồi kháng nguyên. Để xác định các tế bào của người trong não chuột, mAb đối với vimentin (1:50, dòng 3B4, Dako Corporation), mà xác định được tất cả các bạch cầu của người được sử dụng. MDM và bạch huyết bào CD8⁺ của người được phát hiện lần lượt bằng các kháng thể CD68 (pha loãng 1:50, dòng KP 1) và CD8 (pha loãng 1:50, dòng 144B). Các tế bào nhiễm virus được đánh dấu bằng mAb đối với HIV-1 p24 (1:10, dòng Kal-1, tất cả từ Dako). Các tế bào vi thần kinh đệm của chuột phản ứng được phát hiện bằng kháng thể Iba-1 (1:500, Wako). Sự biểu hiện củaIDO người (huIDO) được trực quan hóa bằng các kháng thể nhận được từ Khoa dược lý tế bào, Viện nghiên cứu trung ương, ngành y, Đại học Hokkaido, Sapporo, Nhật Bản. Các kháng thể đầu tiên được phát hiện bằng các kháng thể thứ cấp được biotinyl hóa thích hợp và được trực quan hóa bằng phức chất avidin-biotin (kit ABC Vectastain Elite, Vector Laboratories) và peroxidaza từ cây cải ngựa (HRP: horseradish peroxidase) kết hợp với polyme dextran (EnVision, Dako Corporation). Các phần đã nhuộm màu miễn dịch được nhuộm ngược bằng hematoxylin của Mayer. Các phần mà từ đó kháng thể đầu tiên được loại bỏ hoặc kiểu tương đương IgG không liên quan được kết hợp vào để làm đối chứng. Hai quan sát viên độc lập trong mô hình mù sẽ đếm số lượng bạch huyết bào MDM dương tính với CD8, dương tính với CD68 và các tế bào HIV-1 dương tính với p24 trong mỗi phần từ mỗi con chuột. Kiểm tra bằng kính hiển vi ánh sáng được thực hiện với kính hiển vi Nikon Eclipse 800 (Nikon Instruments Inc). Phân tích bán định lượng cho Iba1 (phần trăm diện tích bị chiếm giữ bởi vết nhuộm miễn dịch) được thực hiện bằng phép phân tích hình ảnh có sự trợ giúp của máy tính (Image-Pro®Plus, Media Cybernetics) như được mô tả trên đây.

5. Phân tích thống kê

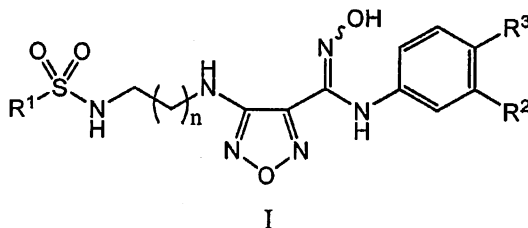
Số liệu có thể được phân tích sử dụng Prism (Graph Pad) với kiểm định t-Student cho các mẫu so sánh và ANOVA. Các giá trị $P < 0,05$ được xem như là có nghĩa.

6. Tài liệu viện dẫn

Poluektova LY, Munn DH, Persidsky Y và 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.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức I:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là NH_2 hoặc CH_3 ;

R^2 là Cl, Br, CF_3 , CH_3 hoặc CN;

R^3 là H hoặc F; và

n bằng 1 hoặc 2.

2. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^1 là NH_2 .

3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^1 là CH_3 .

4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3 hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^2 là Cl.

5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3 hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^2 là Br.

6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3 hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^2 là CF_3 .

7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3 hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^2 là CH_3 .

8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3 hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^2 là CN.

9. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8 hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^3 là H.

10. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8 hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^3 là F.

11. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10 hoặc muối được dụng của nó, trong đó n bằng 1.

12. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10 hoặc muối được dụng của nó, trong đó n bằng 2.

13. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ các hợp chất sau:

4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl} amino)-N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-({2-[(methylsulfonyl)amino]etyl} amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

4-({3-[(aminosulfonyl)amino]propyl} amino)-N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-({3-[(methylsulfonyl)amino]propyl} amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl} amino)-N-(3-clo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

N-(3-clo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-({2-[(methylsulfonyl)amino]etyl} amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

4-({3-[(aminosulfonyl)amino]propyl} amino)-N-(3-clo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

N-(3-clo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-({3-[(methylsulfonyl)amino]propyl} amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl} amino)-N-[4-flo-3-(triflometyl)phenyl]-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

N-[4-flo-3-(triflometyl)phenyl]-N'-hydroxy-4-({2-[(methylsulfonyl)amino]etyl} amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

4-({3-[(aminosulfonyl)amino]propyl} amino)-N-[4-flo-3-(triflometyl)-phenyl]-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

N-[4-flo-3-(triflometyl)phenyl]-N'-hydroxy-4-({3-[(methylsulfonyl)amino]propyl} amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N'-hydroxy-N-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

4-({3-[(aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N'-hydroxy-N-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

N'-hydroxy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-N-[3-(triflometyl)-phenyl]-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

N-(4-flo-3-metylphenyl)-N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-xyano-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit; và

N-(3-xyano-4-flophenyl)-N'-hydroxy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit;

hoặc muối được dụng của chúng.

14. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit hoặc muối được dụng của nó.

15. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-bromo-4-flophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit.

16. Hợp chất theo điểm 15, trong đó hợp chất này ở dạng tinh thể rắn.

17. Hợp chất theo điểm 15, trong đó hợp chất ở dạng rắn này chứa nước với lượng nhỏ hơn 2%.

18. Hợp chất theo điểm 15, trong đó hợp chất ở dạng rắn này có điểm nóng chảy nằm trong khoảng từ 162°C đến 166°C.

19. Hợp chất theo điểm 15, trong đó hợp chất ở dạng rắn này có biểu đồ nhiệt của phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC) như được thể hiện trên Fig.2, $\pm 3^\circ\text{C}$.

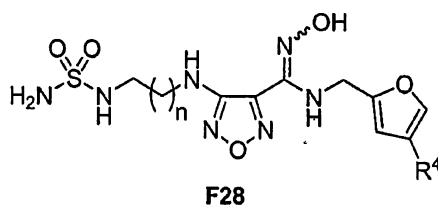
20. Hợp chất theo điểm 15, trong đó hợp chất ở dạng rắn này có ít nhất một đỉnh nhiễu xạ bột tia X (XRPD), tính theo góc 2-theta $\pm 0,2^\circ$, được chọn từ $18,4^\circ$, $18,9^\circ$, $21,8^\circ$, $23,9^\circ$, $29,2^\circ$ và $38,7^\circ$.

21. Hợp chất theo điểm 15, trong đó hợp chất ở dạng rắn này có ít nhất hai đỉnh nhiễu xạ bột tia X (XRPD), tính theo góc 2-theta $\pm 0,2^\circ$, được chọn từ $18,4^\circ$, $18,9^\circ$, $21,8^\circ$, $23,9^\circ$, $29,2^\circ$ và $38,7^\circ$.

22. Hợp chất theo điểm 15, trong đó hợp chất ở dạng rắn này có ít nhất ba đỉnh nhiễu xạ bột tia X (XRPD), tính theo góc 2-theta $\pm 0,2^\circ$, được chọn từ $18,4^\circ$, $18,9^\circ$, $21,8^\circ$, $23,9^\circ$, $29,2^\circ$ và $38,7^\circ$.

23. Hợp chất theo điểm 15, trong đó hợp chất ở dạng rắn này có biểu đồ nhiễu xạ bột tia X (XRPD) như được thể hiện trên Fig.1, trong đó các đỉnh có độ cao/cường độ tương đối bằng ít nhất là 4% độ cao/cường độ tối đa có mặt và giá trị 2-theta có thể thay đổi $\pm 0,2^\circ$.

24. Hợp chất có công thức F28:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^4 là F, Cl, Br hoặc I; và

n bằng 1 hoặc 2.

25. Hợp chất theo điểm 24, trong đó hợp chất này là 4-({2-[(aminosulfonyl)-amino]etyl}amino)-N-[(4-bromo-2-furyl)metyl]-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit hoặc muối được dụng của nó.

26. Hợp chất theo điểm 24, trong đó hợp chất này là 4-({2-[(aminosulfonyl)-amino]etyl}amino)-N-[(4-clo-2-furyl)metyl]-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazol-3-carboximidamit hoặc muối được dụng của nó.

27. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14 và từ 24 đến 26 hoặc muối được dụng của nó và ít nhất một chất mang được dụng.

28. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 15 đến 23 và ít nhất một chất mang dược dụng.
29. Phương pháp ức chế hoạt tính của indolamin 2,3-dioxygenaza *in vitro* bao gồm việc cho indolamin 2,3-dioxygenaza này tiếp xúc với hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14 và từ 24 đến 26 hoặc muối dược dụng của nó.
30. Phương pháp ức chế hoạt tính của indolamin 2,3-dioxygenaza *in vitro* bao gồm bước cho indolamin 2,3-dioxygenaza này tiếp xúc với hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 15 đến 23 ở dạng rắn.

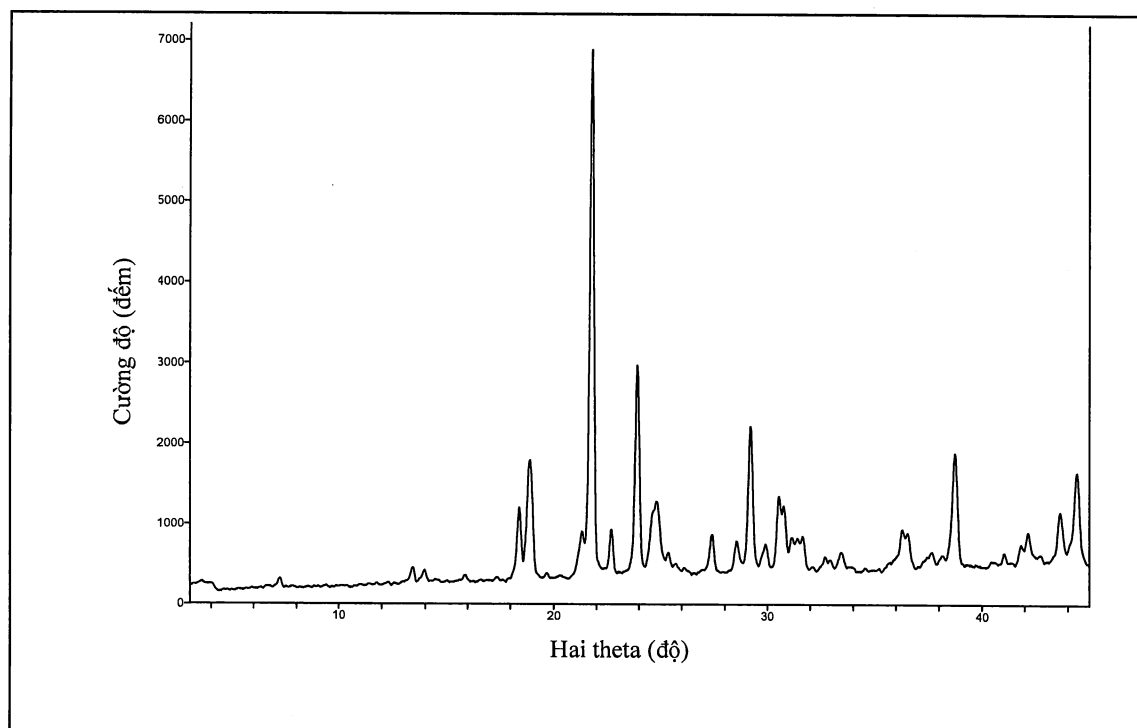
Fig. 1

Fig. 2

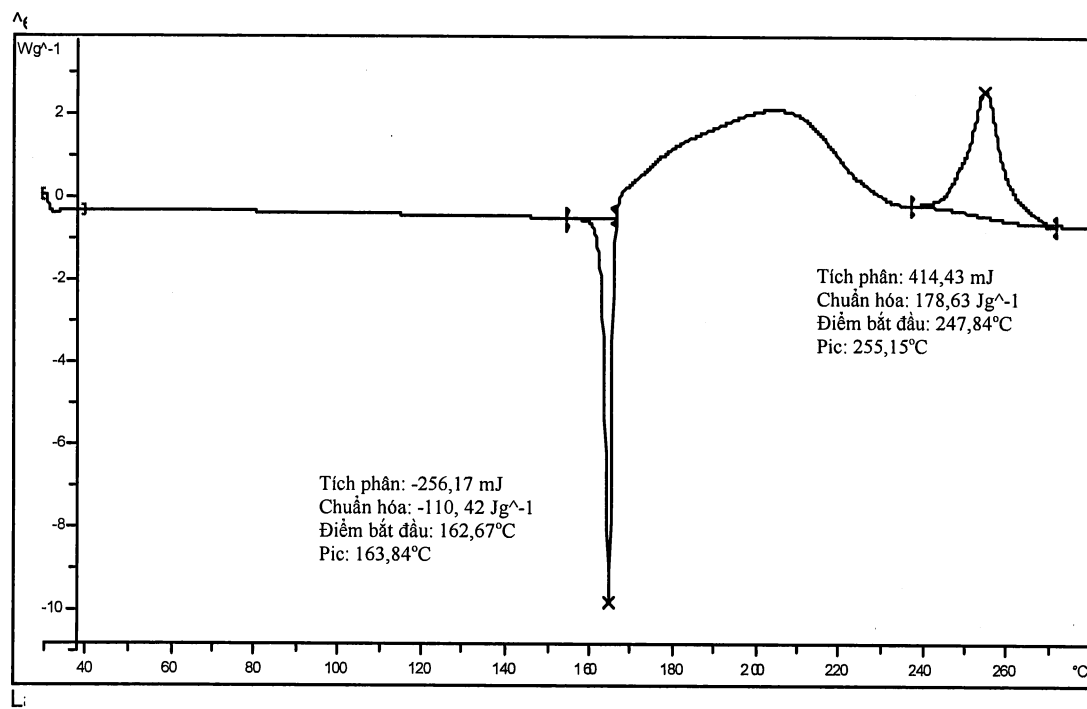


Fig. 3

