



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2315756 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.

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

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2015.01.26
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2014.09.03
(86)	Europeisk søknadsnr	09790108.6
(86)	Europeisk innleveringsdag	2009.07.07
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2011.05.04
(30)	Prioritet	2008.07.08, US, 78876 P 2009.02.09, US, 150873 P
(84)	Utpekte stater	AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO SE SI SK SM TR
	Utpekte samarbeidende stater	AL BA RS
(73)	Innehaver	Incyte Corporation, 1801 Augustine Cut-Off, Wilmington, DE 19803, US-USA
(72)	Oppfinner	COMBS, Andrew, P., 329 East Doe Run Road, Kennett SquarePA 19348, US-USA YUE, Eddy, W., 9 Altemus Drive, LandenbergPA 19350, US-USA SPARKS, Richard, B., 2616 Larkin Road, BoothwynPA 19061, US-USA ZHU, Wenyu, 21 Abel Place, MediaPA 19063, US-USA ZHOU, Jiacheng, 46 Bay Boulevard, NewarkDE 19702, US-USA LIN, Qiyang, 6 Henlopen Court, NewarkDE 19711, US-USA WENG, Linghai, 28 Landmark Drive, MalvernPA 19355, US-USA YUE, Tai-Yuen, 501 Blackbird Drive, HockessinDE 19707, US-USA LIU, Pingli, 205 Pilot Court, NewarkDE 19702, US-USA
(74)	Fullmektig	Oslo Patentkontor AS, Postboks 7007 Majorstua , 0306 OSLO, Norge

(54) **Benevnelse** **1,2,5-oksadiazoler som hemmere av indolamin-2,3-dioksygenase**

(56) **Anførte publikasjoner** WO-A-2007/075598
WO-A-2008/036652

WO-A-2008/058178
US-A1- 2006 258 719
US-A1- 2007 185 165

OMRÅDE FOR OPPFINNELSEN

[0001] Foreliggende oppfinnelse vedrører 1,2,5-oksadiazol-derivater som er inhibitorer av indolamin-2,3-dioksygenase og er anvendelige ved behandling av kreft og andre sykdommer. Det er også beskrevet prosesser og mellomprodukter for fremstilling av det samme.

BAKGRUNN FOR OPPFINNELSEN

[0002] Tryptofan (Trp) er en essensiell aminosyre som er nødvendig for biosyntesen av proteiner, niacin og neurotransmitteren 5-hydroksytryptamin (serotonin). Enzymet indolamin-2,3-dioksygenase (også kjent som INDO eller IDO) katalyserer det første og hastighetsbegrensende trinn i nedbrytningen av L-tryptofan til N-formyl-kynurenin. I humane celler er uttømming av Trp som følge av IDO aktivitet, en fremtredende gammainterferon (IFN- γ)-inducible antimikrobielle effectormechanism. IFN- γ stimulering induserer aktivering av IDO, noe som fører til en uttømming av Trp, derved å stanse veksten av Trp-avhengige intracellulære patogener som *Toxoplasma gondii* og *Chlamydia trachomatis*. IDO-aktivitet har også en antiproliferativ effekt på mange tumorceller, og IDO-induksjon er blitt observert *in vivo* i avvisning av allogene tumorer, noe som indikerer en mulig rolle for dette enzym i tumor avvisning prosessen (Daubener, et al., 1999, Adv. Exp. Med Biol, 467: 517-24; Taylor, et al., 1991, FASEB J., 5: 2516-22).

[0003] Det har blitt observert at HeLa-celler ko-dyrket med perifere blodlymfocytter (PBLs) anskaffer en immunhemmende fenotype gjennom oppregulering av IDO aktivitet. En reduksjon i PBL proliferasjon ved behandling med interleukin-2 (IL2) ble antatt å resultere fra IDO utgitt av tumorcellene som en respons på IFNG sekresjon i PBLs. Denne effekten ble reversert ved behandling med 1-metyl-tryptofan (1MT), en inhibitor spesifikk for IDO. Det ble foreslått at IDO aktivitet i tumorceller kan tjene på å svekke antitumor responser (Logan, et al., 2002, Immunology, 105: 478-87).

[0004] Nylig har en immunoregulatorisk rolle av Trp uttømming, fått mye oppmerksomhet. Flere linjer av bevis tyder på at IDO er involvert i induksjonen av immuntoleranse. Studier av pattedyr graviditet, tumor resistens, kroniske infeksjoner og autoimmune sykdommer har vist at celler som uttrykker IDO, kan undertrykke T-celleresponser og fremme toleranse. Akselerert Trp katabolisme har blitt observert i sykdommer og lidelser assosiert med cellulær aktivering av immunsystemet, slik som infeksjoner, ondartet sykdom, autoimmunsykdommer og AIDS, så vel som under graviditet. For eksempel, økte nivåer av IFN γ og forhøyede nivåer av urin Trp metabolitter er observert i autoimmune sykdommer; Det er postulert at systemisk eller lokal uttømming av Trp i autoimmune sykdommer kan relatere til degenerasjon og wasting symptomer på disse sykdommene. Til støtte for denne hypotesen, ble høye nivåer av IDO observert i celler isolert fra synovia av leddgikt ledd. IFN γ er også forhøyet i human immunsviktivirus (HIV) pasienter og IFN økende nivåer er assosiert med en forverring prognose. Derfor ble det foreslått at IDO induseres ved kronisk HIV-infeksjon, og økes ytterligere ved opportunistiske infeksjoner, og at kronisk tapet av Trp utløser mekanismer som er ansvarlige for kakeksi, demens og diaré og eventuelt immunsuppresjon i AIDS-pasienter (Brown, et al. 1991, Adv Exp Med Biol, 294: 425-35). Det har nylig blitt vist at IDO inhibering kan forbedre nivåene av virus-spesifikke T-celler, og, samtidig, redusere antall

viralt infiserte makrofager i en musemodell av HIV (portula et al., 2005, Blood, 106: 2382-90).

[0005] IDO antas å spille en rolle i immundempende prosesser som hindrer fosterets avvisning *in utero*. Mer enn 40 år siden, ble det observert at under graviditet, overlever den genetisk uensartet pattedyr conceptus på tross av hva som ville blitt spådd av vev transplan-
 5 tasjon immunologi (Medawar, 1953, Soc Exp Biol 7 Symp: 320-38). Anatomisk separasjon av mor og foster og antigen umodenhet av fosteret kan ikke forklare foster allograft overle-
 velse helt. Nylig oppmerksomhet har fokusert på immunologisk toleranse av moren. Siden IDO er uttrykt av menneskelige syncytiotrophoblast celler og systemisk tryptofan konsentra-
 10 sjonen faller under normal graviditet, ble det hypotesert at IDO ekspresjon ved maternal-føtal grensesnittet er nødvendig for å hindre immunologisk avvisning av føtal allografter. For å teste denne hypotesen, ble gravide mus (bærer syngeniske eller allogene fostre) utsatt for 1MT, og en rask, T-celle indusert avvisning av alle allogen concepti ble observert. Ved å nedbryte tryptofan, undertrykker pattedyr conceptus T-celle-aktivitet og forsvarer seg mot
 15 avvisning, og blokkering av tryptofan katabolisme under graviditet tillater maternelle murine T-celler til å provosere føtalt allograft-avvisning (Munn, et al., 1998, Science, 281: 1191-3).

[0006] Ytterligere bevis for en tumoral immun resistens mekanisme basert på trypto-
 fan nedbrytning av IDO kommer fra observasjonen, at de fleste humane tumorer konstitutivt uttrykker IDO, og at uttrykk av IDO i immunogenisk musetumorer hindrer deres avvis-
 20 ning av forhånds immunisert mus. Denne virkningen er ledsaget av en mangel på akkumule-
 ring av spesifikke T-celler på tumorstedet, og kan delvis reverseres ved systemisk behand-
 ling av mus med en inhibitor av IDO, i fravær av toksisitet merkbar. Dermed ble det foreslått at effektiviteten av terapeutisk vaksinerings av kreftpasienter kan forbedres ved samtidig
 administrering av en IDO inhibitor (Uyttenhove et al., 2003, Nature Med, 9: 1269-1274). Det
 25 har også blitt vist at IDO-inhibitor, 1-MT, kan virke synergistisk sammen med kjemoterapeu-
 tiske midler for å redusere tumorvekst i mus, noe som tyder på at IDO inhibering kan også
 forbedre anti-tumor aktivitet av konvensjonelle cytotoxiske terapier (Muller et al., 2005, Nature Med, 11: 312-9).

[0007] En mekanisme som bidrar til immunologisk manglende respons mot tumorer
 30 kan være presentasjon av tumorantigener ved tolerogene verts APCer. En undergruppe av
 humane IDO-uttrykkende antigenpresenterende celler (APC) som kouttrykte CD123 (IL3RA)
 og CCR6, og inhiberte T-celleformering er også blitt beskrevet. Både modne og umodne
 CD123-positive dendritiske celler undertrykte T-celle aktivitet, og dette IDO undertrykkende
 aktivitet ble blokkert av 1MT (Munn, et al, 2002, Science, 297: 1867-1870). Det har også
 35 blitt vist at musetumor-drenerende lymfeknuter (TDLNs) inneholder et undersett av plas-
 macytoid dendritiske celler (pDCs) som konstitutivt uttrykker immunosuppressive nivåer av
 IDO. Til tross, bestående kun 0,5 % av lymfeknute celler, *in vitro*, disse undertrykte pDCs T-
 celler responderer til tredje parti antigener presentert av pDCs selv og også, i en domineren-
 de måte, undertrykte T-celler til tredjeparts antigener presentert av ikke-undertrykkende
 40 APC. Innenfor befolkningen i pDCs, flertallet av den funksjonelle IDO-mediert supressor akti-
 viteten segregerte med en novel undergruppe av pDCs som viste co-ekspresjon av B-
 avstamning markør CD19. Dermed ble det en hypotese at IDO mediert undertrykkelse av
 pDCs i TDLNs skaper et lokalt mikromiljø som er potent undertrykkende av hostantitumor T-
 celleresponser (Munn, et al, 2004, J. Clin Invest, 114 (2): 280-90).

[0008] IDO degraderer indolenheten av tryptofan, serotonin og melatonin, og initierer produksjonen av neuroaktive og immunoregulatoriske metabolitter, kollektivt kjent som kynureniner. Ved å uttømme tryptofan lokalt og økende proapoptotiske kynureniner, IDO uttrykt av dendritiske celler (DC), kan i stor grad påvirke T-celleproliferasjon og overlevelse. IDO induksjon i DCer kan være en felles mekanisme for delesjons toleranse drevet av regulatoriske T-celler. Fordi slike tolerogene responser kan forventes å operere i en rekke fysiopatologiske forhold, kan tryptofan metabolisme og kynurenine produksjon representere en avgjørende grenseflate mellom immunsystemet og nervesystemet (Grohmann, et al., 2003, Trends Immunol, 24: 242-8). I delstatene (stadiene/tilstand) vedvarende immunaktivering, tilgjengeligheten av fritt serum Trp er redusert, og som en konsekvens av redusert serotoninproduksjon, kan serotonerge funksjoner også bli påvirket (Wirleitner, et al., 2003, Curr Med Chem, 10: 1581- 91).

[0009] Interessant nok har administrasjon av interferon- α blitt observert å indusere nevropsykiatriske bivirkninger, f.eks. depressive symptomer og endringer i kognitiv funksjon. Direkte innvirkning på serotonerg neurotransmisjon kan bidra til disse bivirkningene. I tillegg, fordi IDO aktivering fører til reduserte nivåer av tryptofan, forløperen til serotonin (5-HT), kan IDO spille en rolle i disse nevropsykiatriske bivirkninger ved å redusere sentrale 5-HT syntese. Videre kynurenine metabolitter slik som 3-hydroksy-kynurenin (3-OH-KYN) og kinolinsyre (QUIN) har toksiske virkninger på hjernefunksjonen. 3-OH-KYN kan produsere oksidativt stress ved å øke produksjon av reaktive oksygen forbindelser (ROS), og QUIN kan frembringe overstimulering av hippocampal N-metyl-D-aspartat (NMDA) reseptorer, som fører til apoptose og hippocampus atrofi. Både ROS overproduksjon og hippocampus atrofi, forårsaket av NMDA overstimulering, har blitt assosiert med depresjon (Wichers og Maes, 2004, J. Psychiatry Neurosci, 29: 11-17). Dermed kan IDO-aktivitet spille en rolle ved depresjon.

[0010] Småmolekylære inhibitorer av IDO blir utviklet for å behandle eller forebygge IDO relaterte sykdommer slik som de som er beskrevet ovenfor. For eksempel er oksadiazol og andre heterosykliske IDO-hemmere rapportert i US 2006/0258719 og US 2007/0185165. PCT publikasjon WO 99/29310 rapporterer fremgangsmåter for å endre T-celle-mediert immunitet som omfatter å endre lokale ekstracellulære konsentrasjoner av tryptofan og tryptofan metabolitter, ved hjelp av en inhibitor av IDO slik som 1-metyl-DL-tryptofan, p-(3-benzofuranyl)-DL - alanin, p-[3-benzo (b) tienyl]-DL-alanin og 6-nitro-L-tryptofan (Munn, 1999). Rapportert i WO 03/087347, også utgitt som European Patent 1501918, finnes det metoder for å lage antigenpresenterende celler for å øke eller redusere T-celle-toleranse (Munn, 2003). Forbindelser som har indolamin-2,3-dioksygenase (IDO) inhiberende aktivitet er videre rapportert i WO 2004/094409; og US patentsøknad med publikasjonsnummer 2004/0234623 er rettet mot fremgangsmåter for behandling av et individ med kreft eller en infeksjon ved administrering av en inhibitor av indolamin-2,3-dioksygenase i kombinasjon med andre terapeutiske modaliteter. WO 2008/058178 og WO 2007/075598 beskriver modulatorer av indolamin-2,3-dioksygenase (IDO), så vel som farmasøytiske preparater som inneholdt det samme og derav fremgangsmåter til behandling av kreft og andre sykdommer.

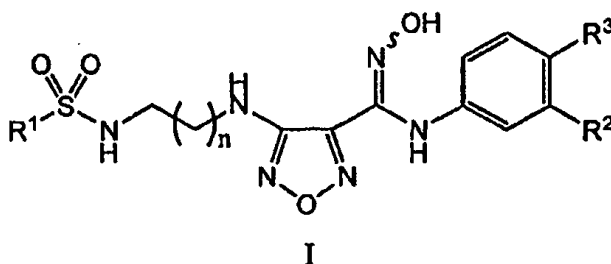
[0011] I lys av eksperimentelle data som indikerer en rolle for IDO i immunsuppresjon, tumorresistens og/eller avstøtning, kroniske infeksjoner, HIV-infeksjon, AIDS (inkludert dens manifestasjoner som kakeksi, demens og diare), autoimmune sykdommer eller lidelser (f.eks. reumatoid artritt), og immunologisk toleranse og forhindring av føtalt avvisning in

utero, terapeutiske midler rettet mot suppresjon av tryptofan nedbrytning ved inhibering av IDO-aktivitet, er ønskelig. Inhibitorer av IDO kan brukes til å aktivere T-celler og derfor til å forbedre T-celleaktivering når T-cellene blir undertrykt av graviditet, malignitet eller et virus, slik som HIV. Hemming av IDO kan også være en viktig behandlingsstrategi for pasienter med nevrologiske eller nevropsykiatriske sykdommer eller lidelser som depresjon. Forbindel-

5 sene, preparater og metoder her bidrar til å dekke dagens behov for IDO modulatorer.

SAMMENFATNING AV OPPFINNELSEN

[0012] Denne oppfinnelsen tilveiebringer blant annet IDO inhibitorer med Formel I:



10 eller farmasøytisk akseptable salter, hvor konstituerende variablene er definert her.

[0013] Denne oppfinnelsen tilveiebringer videre et farmasøytisk preparat som omfatter en forbindelse med Formel I, og minst en farmasøytisk akseptabel bærer.

[0014] Denne oppfinnelsen tilveiebringer videre en fremgangsmåte for å inhibere aktiviteten av indolamin-2,3-dioksygenase som omfatter å kontakte indolamin-2,3-dioksygenase (IDO) *in vitro* med en forbindelse med Formel I, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

15

[0015] Denne oppfinnelsen tilveiebringer videre en forbindelse med Formel I, eller et farmasøytisk akseptabelt salt, for anvendelse i en fremgangsmåte for inhibering av immunosuppresjon hos en pasient.

20 **[0016]** Denne oppfinnelsen tilveiebringer en forbindelse med Formel I, eller et farmasøytisk akseptabelt salt, for anvendelse i en metode ved behandling av kreft, virale infeksjoner, depresjon, en nevrodegenerativ lidelse, traumer, aldersrelaterte katarakter, organtransplantasjon avvisning, eller en autoimmun sykdom i en pasient.

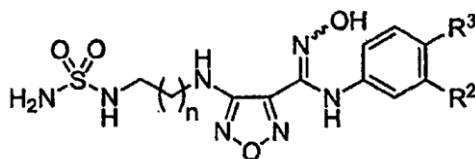
25 **[0017]** Denne oppfinnelsen tilveiebringer videre en forbindelse med Formel I, eller et farmasøytisk akseptabelt salt, for anvendelse i en fremgangsmåte ved behandling av melanom hos en pasient.

[0018] Denne oppfinnelsen tilveiebringer videre en forbindelse med Formel I, eller et farmasøytisk akseptabelt salt, for anvendelse i terapi.

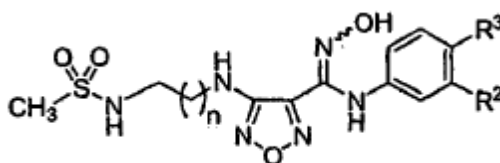
30 **[0019]** Denne oppfinnelsen tilveiebringer videre anvendelse av en forbindelse med Formel I, eller et farmasøytisk akseptabelt salt, for fremstilling av et medikament for anvendelse i terapi.

[0020] Det beskrives også mellomprodukter, fremgangsmåter for fremstilling av det samme, og preparater som inneholder disse, som er nyttige i fremstillingen av en forbindelse med Formel F15:

5

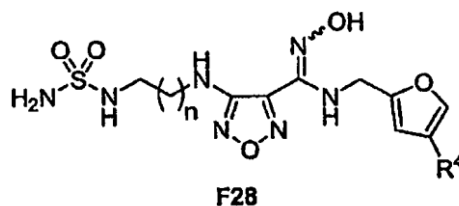
**F15**

[0021] Det beskrives også mellomprodukter, fremgangsmåter for fremstilling av det samme, og preparater som inneholder disse, som er nyttige i fremstillingen av en forbindelse med formel F19:

**F19**

5

[0022] Det beskrives også mellomprodukter, fremgangsmåter for fremstilling av det samme, og preparater som inneholder disse, som er nyttige i fremstillingen av en forbindelse med formel F28:

**F28**

10 KORT BESKRIVELSE AV TEGNINGENE

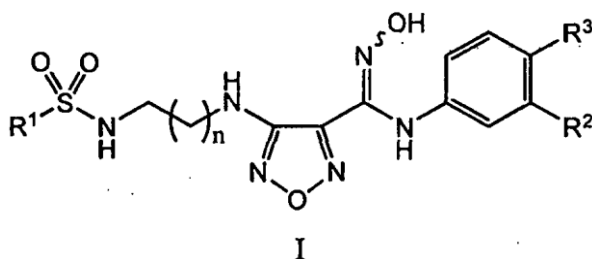
[0023] Figur 1 viser et XRPD-mønster karakteristisk for forbindelsen av denne oppfinnelsen fremstilt i Eksempel 1.

Figur 2 viser et DSC-termogram karakteristisk for forbindelsen av denne oppfinnelsen fremstilt i Eksempel 1.

15 Figur 3 viser TGA-data karakteristisk for forbindelsen av denne oppfinnelsen fremstilt i Eksempel 1.

DETALJERT BESKRIVELSE

[0024] Denne oppfinnelsen tilveiebringer, blant annet, IDO-inhibitorer med Formel I:



eller farmasøytisk akseptable salter, hvor:

R^1 er NH_2 eller CH_3 ;

R^2 er Cl, Br, CF_3 , CH_3 eller CN;

5 R^3 er H eller F; og

n er 1 eller 2.

[0025] I noen utførelsesformer er R^1 NH_2 .

[0026] I noen utførelsesformer er R^1 CH_3 .

[0027] I noen utførelsesformer er R^2 Cl.

10 **[0028]** I noen utførelsesformer er R^2 Br.

[0029] I noen utførelsesformer er R^2 CF_3 .

[0030] I noen utførelsesformer er R^2 CH_3 .

[0031] I noen utførelsesformer er R^2 CN.

[0032] I noen utførelsesformer er R^3 H.

15 **[0033]** I noen utførelsesformer er R^3 F.

[0034] I noen utførelsesformer er n 1.

[0035] I noen utførelsesformer er n 2.

[0036] Forbindelsene av denne oppfinnelsen kan eksistere i forskjellige faste former.

Som anvendt her refererer "fast form" til et faststoff, karakterisert ved en eller flere egenskaper, som f.eks. smeltepunkt, oppløselighet, stabilitet, krystalliniteten, hygroskopisiteten, vanninnhold, TGA funksjoner, DSC funksjoner, DVS-funksjoner, XRPD funksjoner, osv. Faste former, f.eks., kan være amorf, krystallinsk eller blandinger.

[0037] Forskjellige krystallinske faste former har vanligvis forskjellige krystallinske gitterverk (f.eks. enhetsceller) og vanligvis som et resultat, har forskjellige fysiske egenskaper. I noen tilfeller har forskjellige krystallinske faste former forskjellige vann eller løsningsmiddelinnhold. De forskjellige krystallinske gitterverk kan identifiseres ved fastfasekarakteriseringsmetoder slik som ved Xray pulverdiffraksjon (XRPD). Andre karakteriseringsmetoder som differensial-skanning-kalorimetri (DSC), termogravimetrisk analyse (TGA), dynamisk damp sorpsjon (DVS), og lignende, bidrar ytterligere til å identifisere fast form, og bidrar til å bestemme stabilitet og oppløsningsmiddel/vann-innhold.

[0038] I ett aspekt tilveiebringer denne oppfinnelsen forskjellige faste former av 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-brom-4-fluorfenyl)-N'-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboximidamid (se Eksempel 1). I noen utførelsesformer er fast form et krystallinsk fast stoff. I noen utførelsesformer er fast form i det vesentlige vannfritt (f.eks. inneholder mindre enn ca. 1 % vann, mindre enn ca. 0,5 % vann, mindre enn ca. 1,5 % vann, mindre enn ca. 2 % vann). I noen utførelsesformer er den faste formen karakterisert ved et smeltepunkt, eller en DSC-endoterm sentrert ved ca. 162 til ca. 166°C. I noen utførelsesformer er den faste formen karakterisert ved et smeltepunkt, eller en DSC-endoterm sentrert ved ca. 164°C. I noen utførelsesformer har fast form et DSC-termogram i det vesentlige som

vist i Figur 2. I ytterligere utførelsesformer, har fast form i det minste en, to eller tre XRPD-topper, i form av 2-theta, valgt fra omtrent 18,4°, ca. 18,9°, ca. 21,8°, ca. 23,9°, ca. 29,2°, og ca. 38,7°. I ytterligere utførelsesformer har fast form et XRPD-mønster hovedsakelig som vist i Figur 1.

5 **[0039]** Denne oppfinnelsen tilveiebringer ytterligere et preparat som omfatter en fast form av 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-brom-4-fluorfenyl)-N'-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid (se Eksempel 1). Sammensetningen kan omfatte minst omtrent 50 %, minst 75 %, minst 90 %, minst 95 %, eller minst omtrent 99 % vekt av den faste form. Sammensetningen kan også inneholde en farmasøytisk akseptabel eksipient. I
10 noen utførelser blir fast form i det vesentlige renset.

[0040] En XRPD mønster av refleksjoner (topper) er vanligvis betraktet som et fingeravtrykk av en spesiell krystallinsk form. Det er velkjent at relative intensiteter av XRPD-toppene kan allment variere avhengig av blant annet prøveprepareringsteknikk, krystallstørrelsesfordeling, en rekke filtre som brukes, prøven monteringsprosedyren, og det spesielle
15 instrumentet som anvendes. I noen tilfeller kan nye topper observeres eller eksisterende topper kan forsvinne, avhengig av typen av instrumentet eller innstillingene. Som anvendt her, refererer betegnelsen "peak" til en refleksjon som har en relativ høyde/intensitet på minst omtrent 4 % av den maksimale topphøyde/intensitet. Videre kan instrument variasjon og andre faktorer påvirker 2-theta-verdier. Dermed kan topp oppgaver, slik som de som er
20 rapportert her, variere med pluss eller minus 0,2° (2-theta), og betegnelsen "i det vesentlige" som anvendt i sammenheng med XRPD er ment å omfatte de ovennevnte variasjonene.

[0041] På samme måte, temperaturavlesninger i forbindelse med DSC, TGA, eller andre termiske eksperimenter kan variere ca. $\pm 3^{\circ}\text{C}$, avhengig av instrumentet, spesielle innstillinger, prøvepreparering, osv. Følgelig er en krystallinsk form som er rapportert her og
25 har en DSC termogram "i det vesentlige", som vist i noen av figurene, forstått å romme en slik variasjon.

[0042] På forskjellige steder i den foreliggende spesifikasjon, kan substituentene av forbindelsene av oppfinnelsen bli beskrevet i grupper eller i serier. Det er spesielt tiltenkt at oppfinnelsen inkluderer hvert enkelt individ underkombinasjon av medlemmene av slike
30 grupper og områder.

[0043] Det er ment at forbindelsene av oppfinnelsen er stabile. Som anvendt her refererer "stabil" til en forbindelse som er nok robust til å overleve isolering til en nyttig renhetsgrad fra en reaksjonsblanding, og fortrinnsvis i stand til formulering til et effektivt terapeutisk middel.

35 **[0044]** Det er videre forstått at visse egenskaper av oppfinnelsen, som er, for klarhets skyld, beskrevet i sammenheng med separate utførelsesformer, kan også bli gitt i kombinasjon i en enkelt utførelsesform. Omvendt, forskjellige egenskaper av oppfinnelsen som er, for korthets skyld, beskrevet i sammenheng av en enkelt utførelsesform, kan også være anordnet separat eller i en hvilken som helst egnet underkombinasjon.

40 **[0045]** Forbindelsene av denne oppfinnelsen er videre ment å omfatte alle mulige geometriske isomerer. Cis- og trans-geometriske isomerer av forbindelsene i denne oppfinnelsen, er beskrevet og kan isoleres som en blanding av isomerer eller som separerte isomerer former. En binding i et strukturdiagram representert ved en bølget linje. " " er ment å indikere at strukturen representerer cis- eller trans-isomeren, eller en blanding av
45 cis- og trans-isomerer i ethvert forhold.

[0046] Forbindelsene av oppfinnelsen inkluderer også tautomere former. Tautomere former resulterer fra bytting av en enkeltbinding med en tilstøtende dobbeltbinding sammen med samtidig overføring av et proton.

5 **[0047]** Forbindelser av oppfinnelsen kan også omfatte alle isotoper av atomer som forekommer i mellomprodukter eller sluttforbindelser. Isotoper omfatter de atomene som har samme atomtall men forskjellig massetall. For eksempel, isotoper av hydrogen inkluderer tritium og deuterium.

10 **[0048]** I noen utførelsesformer er forbindelsene av oppfinnelsen og saltene derav, er isolert i det vesentlige. Som "vesentlig isolert", menes det at forbindelsen er i det minste delvis eller i det vesentlige separert fra miljøet der det ble dannet eller detektert. Delvis separasjon kan inkludere, f.eks., et preparat anrikt på forbindelsen av oppfinnelsen. Betydelig separasjon kan omfatte blandinger som inneholder minst ca. 50%, minst 60%, minst 70%, minst 80%, minst 90%, minst 95%, minst omtrent 97%, eller i minst omtrent 99 vekt% av forbindelsen av oppfinnelsen, eller et salt derav. Fremgangsmåter for isolering av forbindelser og deres salter er en vanlig rutine innen faget.

15 **[0049]** Denne oppfinnelsen inkluderer også salter av forbindelsene beskrevet her. Som anvendt her refererer "salter" til derivater av beskrevne forbindelser hvor stamforbindelsen er modifisert ved å omdanne et eksisterende syre- eller basedel til dens saltform. Eksempler på salter inkluderer, men er ikke begrenset til, mineralsyre (så som HCl, HBr, H₂SO₄) eller organisk syre (slik som eddiksyre, benzo-syre, trifluoreddiksyre) salter av basiske rester slik som aminer; alkalimetall-(så som Li, Na, K, Mg, Ca) eller organisk (f.eks. trialkylammonium) salter av sure rester så som karboksylsyrer; og lignende. Saltene av denne oppfinnelsen kan syntetiseres fra stamforbindelsen som inneholder en basisk eller sur gruppe ved konvensjonelle kjemiske metoder. Generelt kan slike salter fremstilles ved å omsette frie

20 syre- eller baseformer av disse forbindelser med en støkiometrisk mengde av den passende base eller syre i vann eller i et organisk oppløsningsmiddel, eller i en blanding av de to; generelt er ikke-vandige medier som eter, etylacetat, etanol, isopropanol eller acetonitril (ACN) foretrukket.

25 **[0050]** "Farmasøytisk akseptable salter" av denne nåværende oppfinnelsen inkluderer en delmengde av "salter" som er beskrevet ovenfor og som er konvensjonelle ikke-toksiske salter av den nåværende dannede stamforbindelsen, f.eks. fra ikke-toksiske uorganiske eller organiske syrer. Lister over egnede salter finnes i Remingtons Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 and Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977). Betegnelsen "farmasøytisk akseptable" blir anvendt her for å referere

30 til forbindelser, materialer, preparater og/eller doseformer som er, innenfor omfanget av sunn medisinsk bedømmelse, egnet for anvendelse i kontakt med vevet til mennesker og dyr uten for mye toksisitet, irritasjon, allergisk respons eller annet problem eller komplikasjon, samsvar med et rimelig nytte/risiko-forhold.

Fremgangsmåter for syntese

40 **[0051]** Forbindelsene av denne oppfinnelsen kan fremstilles på en rekke måter som er kjent for en fagmann på området organisk syntese. Forbindelsene av denne oppfinnelsen kan syntetiseres ved hjelp av metodene som heretter beskrevet nedenfor sammen med syn-

tetiske metoder som er kjent i faget syntetisk organisk kjemi eller variasjoner derav som forstås av fagfolk innen teknikken.

5 **[0052]** Forbindelsene av denne oppfinnelsen kan fremstilles fra lett tilgjengelige utgangsmaterialer ved å bruke følgende generelle fremgangsmåter og prosedyrer. Det vil forstås at hvor typiske eller foretrukne prosessbetingelser (dvs. reaksjons temperaturer, tider, molforhold av reaktanter, løsningsmidler, trykk, osv.) er gitt; andre prosessbetingelser kan også brukes med mindre annet er oppgitt. Optimale reaksjonsbetingelser kan variere med de spesielle reaktantene eller oppløsningsmidlet som anvendes, men slike betingelser kan bestemmes av en fagmann på området ved rutinemessige optimaliseringsprosedyrer.

10 **[0053]** Fremgangsmåtene beskrevet her kan overvåkes i henhold til en hvilken som helst egnet fremgangsmåte kjent i faget. For eksempel kan produkt dannelse overvåkes ved spektroskopiske midler, slik som kjernemagnetisk resonansspektroskopi (f.eks. ^1H eller ^{13}C), infrarød spektroskopi, spektrofotometri (f.eks. UV-synlig), eller massespektrometri; eller ved kromatografi, f.eks. høytrykks-væske-kromatografi (HPLC) eller tynnsjikt-kromatografi. Forbindelsene oppnådd ved reaksjonene kan renses ved en hvilken som helst egnet fremgangsmåte kjent i faget. For eksempel kromatografi (middels trykk) i et egnet adsorpsjonsmiddel (f.eks. silikagel, aluminiumoksyd og lignende) HPLC, eller preparativ tynnsjikt-kromatografi; destillasjon; sublimering, finmaling, eller rekrySTALLISERING.

20 **[0054]** Fremstilling av forbindelser kan innebære beskyttelse og avbeskyttelse av ulike kjemiske grupper. Behovet for beskyttelse og avbeskyttelse, og valget av passende beskyttelsesgrupper kan lett bestemmes av en fagmann på området. Kjemien av beskyttelsesgrupper kan finnes, f.eks. i Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., John Wiley & Sons: New York, 2006.

25 **[0055]** Reaksjoner av de prosessene som er beskrevet her, kan utføres i egnede løsningsmidler som lett kan velges av en fagmann på området organisk syntese. Egnede oppløsningsmidler kan være i det vesentlige ikke-reaktivt med utgangsmaterialene (reaktanter), mellomproduktene eller produkter ved temperaturer ved reaksjonene blir utført, dvs. temperaturer som kan variere fra løsningsmidlets frysetemperatur til løsningsmidlets koketemperatur. En gitt reaksjon kan utføres i et oppløsningsmiddel eller en blanding av mer enn ett oppløsningsmiddel. Avhengig av reaksjonstrinn, kan passende oppløsningsmiddel(er) for det bestemte reaksjonstrinnet velges. Egnede oppløsningsmidler omfatter vann, alkaner (f.eks. pentaner, heksaner, heptaner, cykloheksan, osv., eller en blanding derav), aromatiske løsningsmidler (som f.eks. benzen, toluen, xylen, osv), alkoholer (f.eks. metanol, etanol, isopropanol, osv.), etere (f.eks. dialkyleter, metyl-tert.-butyleter (MTBE), tetrahydrofuran (THF), dioksan, osv.), estere (f.eks. etylacetat, butylacetat, osv), halogenerte løsningsmidler (som f.eks. diklormetan (DCM), kloroform, dikloretan, tetrakloretan), dimetylformamid (DMF), dimetylsulfoksyd (DMSO), aceton, acetonitril (ACN), heksametylfosforamid (HMPA) og N-metylpyrrolidon (NMP). Slike løsningsmidler kan anvendes enten i våt eller deres vannfrie former.

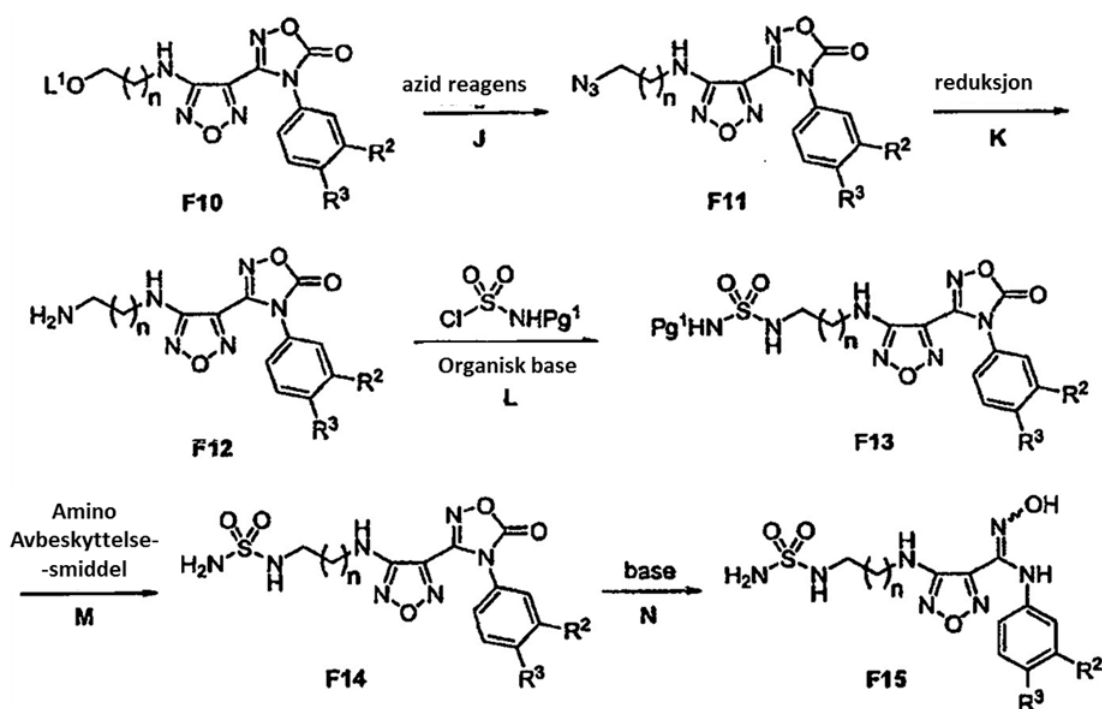
40 **[0056]** Separering av racemiske blandinger av forbindelsene, kan utføres ved en hvilken som helst av en rekke metoder som er kjent innen teknikken. Et eksempel på fremgangsmåte inkluderer fraksjonert omkrystallisering ved anvendelse av en "chiral oppløsende syre", som er en optisk aktiv, saltdannende organisk syre. Egnede oppløsningsmidler for fraksjonelle omkrystallisering metoder er f.eks. optisk aktive syrer, som D- og L-formene av vinsyre, diacetylvinsyre, dibenzoylvinsyre, mandelsyre, eplesyre, melkesyre eller forskjellige

45

optisk aktive kamfersulfonsyrer. Separering av racemiske blandinger kan også utføres ved eluering på en kolonne fylt med et optisk aktivt oppløsningsmiddel (f.eks. dinitrobenzoylphenylglycin). Egnede elueringsløsningsmiddel sammensetning kan bestemmes av en fagmann på området.

5 **[0057]** Forbindelsene av denne oppfinnelsen kan fremstilles, f.eks. ved hjelp av reaksjonsveier og teknikker som beskrevet nedenfor.

[0058] Fremgangsmåtene og mellomproduktene som beskrevet her, er nyttige i fremstillingen av IDO-inhibitorer. Et generelt skjema for fremstillingen av forbindelser F15 av oppfinnelsen er beskrevet i Skjema 1.



Skjema 1

10

[0059] Refereres til Skjema 1, er beskrevet en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med Formel F15, eller et salt derav, hvor R² er Cl, Br, CF₃, CH₃ eller CN; R³ er H eller F; og n er 1 eller 2, ved å omsette en forbindelse med formel F13, eller et salt derav, hvor Pg¹ er en amino-beskyttende gruppe, med en amino-avbeskyttende middel (Trinn M) for å gi en forbindelse med formel F14, eller et salt derav; og omsetning av forbindelsen med Formel F14 med en base (Trinn N) for å gi forbindelsen med formel F15. Forbindelsen med Formel F15 kan renses ved triturering eller omkrystallisering ved hjelp av oppløsningsmidler så som vann, etanol, MTBE eller en kombinasjon derav.

[0060] I noen utførelsesformer er R² Br, R³ er F, og n er 1.

20 **[0061]** I noen utførelsesformer er R² Br, R³ er F, og n er 2.

[0062] I noen utførelsesformer er R² Cl, R³ er F, og n er 1.

[0063] I noen utførelsesformer er R² Cl, R³ er F, og n er 2.

[0064] I noen utførelsesformer, R² er CF₃, R³ er F, og n er 1.

[0065] I noen utførelsesformer, R² er CF₃, R³ er F, og n er 2.

25 **[0066]** I noen utførelsesformer, R² er CF₃, R³ er H, og n er 1.

[0067] I noen utførelsesformer, R^2 er CF_3 , R^3 er H, og n er 2.

[0068] I noen utførelsesformer, R^2 er CN, R^3 er F, og n er 1.

[0069] Amino-beskyttende grupper er regelmessig brukt i organisk syntese for å forhindre uønskede reaksjoner av en aminogruppe ved utføring av en ønsket transformasjon.

5 Amino-beskyttende grupper tillater enkel kovalent binding til et nitrogen atom, så vel som selektive spalting fra nitrogen atomet. Forskjellige aminobeskyttende grupper, som klassifiseres som grovt alkoksykarbonyl-(så som etoksykarbonyl, tert-butoksykarbonyl-(Boc), benzyloksykarbonyl-(Cbz), 9-fluorenylmetyloksy-karbonyl-(Fmoc) og lignende), acyl-(så som acetyl-(Ac), benzoyl-(Bz), og lignende), sulfonyl-(f.eks. metansulfonyl, trifluormetansulfonyl og lignende), arylalkyl-(så som benzyl, difenylmetyl, trifenylmetyl-(trityl) og lignende), alkenylalkyl-(slik som allyl, prenyl, og lignende), diarylmetyleneyl-(slik som $(C_6H_5)_2C=N$, og lignende), og silyl-(slik som tert-butyldimetylsilyl, triisopropylsilyl og lignende), er kjent for en fagmann på området. Kjemien av aminobeskyttende grupper finnes i Wuts and Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4th Ed., pp 696-926, John Wiley & Sons: 10 og lignende), arylalkyl-(så som benzyl, difenylmetyl, trifenylmetyl-(trityl) og lignende), alkenylalkyl-(slik som allyl, prenyl, og lignende), diarylmetyleneyl-(slik som $(C_6H_5)_2C=N$, og lignende), og silyl-(slik som tert-butyldimetylsilyl, triisopropylsilyl og lignende), er kjent for en fagmann på området. Kjemien av aminobeskyttende grupper finnes i Wuts and Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4th Ed., pp 696-926, John Wiley & Sons: 15 New York, 2006. I noen aspekter kan Pg1 være alkoksykarbonyl-(f.eks som tert-butoksykarbonyl).

[0070] De amino-beskyttende grupper som beskrevet ovenfor, kan enkelt fjernes ved anvendelse av mange tilgjengelige amino-avbeskyttelse midler som er spesifikke for de ulike gruppene som er nevnt ovenfor, uten å påvirke andre ønskede deler av forbindelsen. Tert-butoksykarbonyl gruppen kan fjernes (f.eks. hydrolysert) fra nitrogen atom, f.eks. ved behandling med en syre (slik som trifluoreddiksyre, toluensulfonsyre, saltsyre, og lignende); en kombinasjon av reagenser (f.eks. blanding av acetylchlorid og metanol) kjent for å generere en syre; eller en Lewis-syre (f.eks. $BF_3 \cdot Et_2O$). Benzyloksykarbonyl gruppen kan fjernes (f.eks. hydrogenolysert) fra nitrogen atom, f.eks. ved behandling med hydrogen og en katalysator (slik som palladium på karbon). I noen aspekter, kan amino-avbeskyttende middel være trifluoreddiksyre. I noen aspekter, inneholder amino avbeskyttelsesmiddel trifluoreddiksyre og > 0,5 volum% av vann, f.eks., > 1,0 volum% av vann, > 1,5 volum% av vann, > 2,0 volum% vann, fra omtrent 2 % til omtrent 10 volum% vann, fra omtrent 10 % til omtrent 20 volum% vann, eller fra omtrent 20% til omtrent 50 volum% vann. I noen aspekter, kan det amino-avbeskyttelse midlet være en blanding av trifluoreddiksyre og vann i et volumetrisk forhold på ca. 98: 2. I noen aspekter, kan det amino-avbeskyttende midlet være saltsyre, eventuelt i et løsningsmiddel (slik som vann, THF eller dioksan). Under slike aspekter, kan saltsyre være tilstede i en konsentrasjon på omtrent 4 N, f.eks, ca. 1 N, ca. 2 N, ca. 3 N, omtrent 5 N, ca. 6 N, ca. 7 N, omtrent 8 N, ca. 9 N, eller omtrent 10 N. I noen aspekter, kan avbeskyttelsen bli utført i en alkohol (f.eks. isopropanol). I noen aspekter, kan Trinn M (Skjema 1) utføres ved en temperatur fra ca. $-10^\circ C$ til omtrent $60^\circ C$, f.eks. fra ca. $-10^\circ C$ til omtrent $0^\circ C$, fra omtrent $0^\circ C$ til ca. $25^\circ C$, fra ca. $25^\circ C$ til omtrent $45^\circ C$, eller fra omtrent $45^\circ C$ til omtrent $60^\circ C$. 20 25 30 35

[0071] En base kan anvendes for omdanningen (f.eks. hydrolyse) av oxadiazolon ring i F14 for å avdekke amidoksim i F15, eventuelt i et løsningsmiddel (Trinn N, Skjema 1). Beskyttelsen av amidoksimet som oxadiazolon kan være nyttig for å forhindre uønskede reaksjoner av hydroksylgruppen eller som av amidoksimet som helhet. Basen kan enten være en organisk base slik som et acyklisk amin (f.eks. trietylamin, diisopropyletylamin (DIPEA), osv.), eller et cyklisk amin (f.eks. pyrrolidin, piperidin, osv.); eller en uorganisk base slik som alkalimetall (f.eks. NaOH, LiOH, KOH, $Mg(OH)_2$, osv.). Basen kan bli tilgjengelig i form 40 45

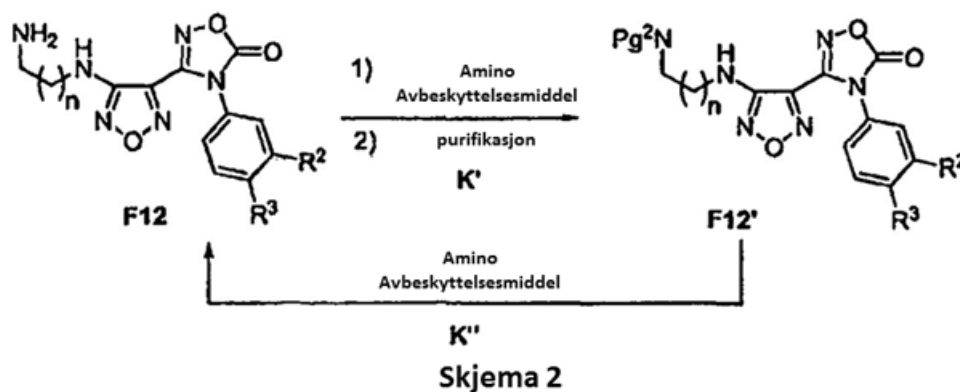
av en harpiks (f.eks. Amberlite og lignende). I noen ytterligere aspekter, kan basen være gitt i form av en oppløsning i vann, slik som ca. 2N løsning (f.eks. ca. 0,5 N løsning, ca. 1N løsning, ca. 1,5N løsning, ca. 2,5N løsning, fra ca. 3N til ca. 5 N oppløsning, fra ca. 5N til omtrent 10 N oppløsning). I noen aspekter, er basen et alkalimetallhydroksyd (f.eks., natriumhydroksyd). I noen aspekter, kan basen være 2N NaOH-oppløsning i vann. I noen aspekter, kan oppløsningsmidlet være metanol eller tetrahydrofuran (THF). I noen aspekter, kan Trinn N (Skjema 1) utføres ved en temperatur fra ca. -10°C til omtrent 60°C, f.eks. fra ca. -10°C til omtrent 0°C, fra omtrent 0°C til ca. 25°C, fra ca. 25°C til omtrent 45°C, eller fra omtrent 45°C til omtrent 60°C.

- 10 **[0072]** I Trinn L (Skjema 1), forbindelsen med Formel F13, kan oppnås ved å behandle en forbindelse med formel F12, eller et salt derav, med $\text{Pg}^1\text{-NH-sulfonyl-klorid}$, eventuelt i et løsningsmiddel, etterfulgt ved behandling av resulterende blanding med en organisk base for å gi forbindelsen med Formel F13. Trinn L (Skjema 1) transformerer et primært amin F12 til et sulfonyl urea F13 ved anvendelse av en beskyttet amino-sulfonyl-klorid ($\text{Pg}^1\text{-NH-SO}_2\text{Cl}$). Den beskyttede amino-sulfonylklorid kan fremstilles og anvendes umiddelbart i reaksjonen med F12. Beskyttende gruppen kan velges fra hvilken som helst av de beskyttende grupper som er kjent innen teknikken for beskyttelse av aminer eller sulfonamider (supra). I noen aspekter, kan Pg^1 være en alkoksykarbonylgruppe (f.eks. tert-butoksykarbonyl). Under slike aspekter, kan den alkoksykarbonyl NH-sulfonylklorid oppnås ved om-
- 20 setning av en alkohol (f.eks. etanol, tert.-butylalkohol og lignende) med klorsulfonylisocyanat ($\text{Cl-SO}_2\text{NCO}$). Egnede oppløsningsmidler for denne reaksjon innbefatter, men er ikke begrenset til, halogenerte løsningsmidler slik som diklormetan og lignende. Organiske base kan være en hvilken som helst base som tjener til å nøytralisere HCl som genereres under reaksjonen med det primære amin, f.eks. F12 og det beskyttede amino-sulfonyl-
- 25 klorid. Den organiske base kan omfatte acykliske tertiære aminer så som tri (C_{1-6}) alkylamin (f.eks. trietylamin, diisopropyletylamin (DIPEA) og lignende), cykliske tertiære aminer (f.eks. N-metyl-piperidin, 1,4-diazabicyclo [2.2. 2] oktan (DABCO) og lignende). I noen aspekter, kan den organiske basen være trietylamin. I noen aspekter, kan dette trinnet utføres ved en temperatur fra omtrent -10°C til omtrent 60°C, f.eks. fra ca. -10°C til omtrent 0°C, fra omtrent 0°C til omtrent 25°C, fra omtrent 25°C til omtrent 45°C, eller fra omtrent 45°C til omtrent 60°C.

- [0073]** Organiske forbindelser kan reduseres til en lavere oksidasjons tilstand ved hjelp av reduksjonsmidler. Reduksjon innebærer vanligvis tilsetning av hydrogenatomer eller fjerning av oksygenatomer fra en gruppe. Organiske azider så som F11 kan bli redusert til
- 35 aminer slik som F12 (Trinn K, Skjema 1) ved tilsetning av hydrogen, enten i form av elementært hydrogen eller ved hjelp av et hydrid-reagens (så som NaBH_4 , LiAlH_4 og lignende); tri-fenylfosfin; eller ved anvendelse av en kombinasjon av natriumjodid, klortrimetylsilan, og metanol. I noen aspekter, kan forbindelsen med Formel F12 bli oppnådd ved å redusere en forbindelse med formel F11, eller et salt derav. I noen aspekter, kan reduksjon utføres i
- 40 nærvær av natriumjodid, klortrimetylsilan, og metanol. I noen aspekter, kan molar ratio av natrium jodid og klortrimetylsilan være omtrent 1,0, f.eks., omtrent 0,9, ca. 0,95, ca. 1,0, 1,05, eller ca. 1,1. I noen aspekter, kan klortrimetylsilan tilsettes til blandingen av F11, natriumjodid og metanol som en løsning i metanol. I noen aspekter, kan Trinn K (Skjema 1) utføres ved omtrent romtemperatur, f.eks. fra omtrent 10°C til omtrent 50°C, fra omtrent

15°C til omtrent 40°C, fra omtrent 20°C til omtrent 30°C, eller fra omtrent 25°C til omtrent 30°C.

- [0074]**aminoforbindelser F12, i noen tilfeller, kan være vanskelig å oppnå i den vesentlige rene form, som er bestemt ved hjelp av HPLC eller NMR-spektroskopi og lignende.
- 5 Mens man ikke ønsker å være bundet av teori, antas det at noen av disse aminer kan være vanskelig å rense ved silikagelkromatografi på grunn av økt høy affinitet til silikagel eller på grunn av uønsket nedbrytning under rensingen. I slike aspekter, refereres nå til Skjema 2, blir forbindelsen med Formel F12 kan renses ved å omsette forbindelsen med formel F12 med en amino-beskyttende middel for å gi en forbindelse med formel F12', eller et salt der-
- 10 av, hvor Pg²N er et beskyttet amin. Denne beskyttelsen (Trinn K') kan bli etterfulgt av rensing av forbindelsen med Formel F12' for å tilveiebringe en rensset forbindelse med Formel F12 'og omsetning av den rensede forbindelse med Formel F12' med en amino-
- 15 avbeskyttende middel (Trinn K'') for å tilveiebringe en rensset forbindelsen med Formel F12. Aminobeskyttende midler og amino avbeskyttelse midler er kjent for fagfolk innen teknikken, slik som er i Wuts og Greene (*ibid*). I noen aspekter, er amino-beskyttende middel di-*t*-butyldikarbonat (Boc₂O). Under slike aspekter, er Pg²N tert-butoksy-karbonyl-NH. I slike utførelsesformer er amino avbeskyttelsesmiddel en reagens som er i stand til å fjerne Boc-
- 20 beskyttende gruppe (*supra*). I slike utførelsesformer er amino avbeskyttelsesmiddel en syre (f.eks. saltsyre, trifluoreddiksyre og lignende), eventuelt i et løsningsmiddel (slik som vann, THF eller dioksan). I noen aspekter, kan saltsyren være i en konsentrasjon på ca. 4N, f.eks. ca. 1N, ca. 2N, ca. 3N, ca. 5N, ca. 6N, ca. 7N, ca. 8N, ca. 9N, eller ca. 10N. I noen utførelsesformer, kan avbeskyttelsen utføres i en alkohol (f.eks. isopropanol). I noen aspekter kan trinn K'eller K'' utføres ved en temperatur fra ca. -10°C til omtrent 60°C, f.eks. fra ca. -10°C til omtrent 0°C, fra omtrent 0°C til omtrent 25°C, fra ca. 25°C til omtrent 45°C, eller fra
- 25 omtrent 45°C til omtrent 60°C. Egnede rensemetoder er kjent for fagfolk innen teknikken, og kan omfatte kromatografi, krystallisasjon, sublimasjon og lignende. I noen aspekter, kan rensing utføres ved kromatografi på kiselgel. Renheten av forbindelsene, generelt, blir bestemt ved fysikalske metoder, så som å måle smeltepunktet (i tilfelle av et fast stoff), å oppnå en NMR-spektrum, eller utfører en HPLC separasjon. Hvis smeltepunktet reduseres, hvis
- 30 uønskede signaler i NMR-spektret er redusert, eller hvis utenforliggende topper i et HPLC-trase blir fjernet, forbindelsen kan sies å ha blitt rensset. I noen aspekter, er forbindelsene i det vesentlige rensset.



[0075] I noen aspekter, kan forbindelsen med formel F11 (Skjema 1) bli oppnådd ved å behandle en forbindelse med formel F10, eller et salt derav, hvor ved at L¹ kan velges fra alkylsulfonyl-(f.eks. metansulfonyl), haloalkylsulfonyl-(slik som trifluormetansulfonyl), arylsulfonyl-(slik som toluensulfonyl) og lignende; med et azid reagens for å gi forbindelsen med formel F11 (Trinn J). I noen aspekter, er L¹ alkylsulfonyl. Azid-reagenser innbefatter en hvilken som helst reagens som kan produsere en nukleofil azid-ion. Eksempler på azid-reagenser innbefatter alkalimetall-azider (som f.eks. natriumazid, kalium- azid, osv.). I noen valgfrie aspekter, kan azidet reagens så som natriumazid anvendes i kombinasjon med natriumjodid. Egnede oppløsningsmidler for denne transformasjonen er polare oppløsningsmidler som inkluderer DMF, DMSO, NMP og lignende. I noen aspekter kan Trinn J utføres i DMF. Trinn J kan utføres ved en forhøyet temperatur f.eks. fra omtrent 40°C til omtrent 100°C, fra ca. 50°C til omtrent 90°C, eller fra omtrent 60°C til omtrent 80°C. I noen aspekter kan Trinn J utføres ved ca. 50°C. I noen aspekter kan Trinn J utføres ved omtrent 85°C.

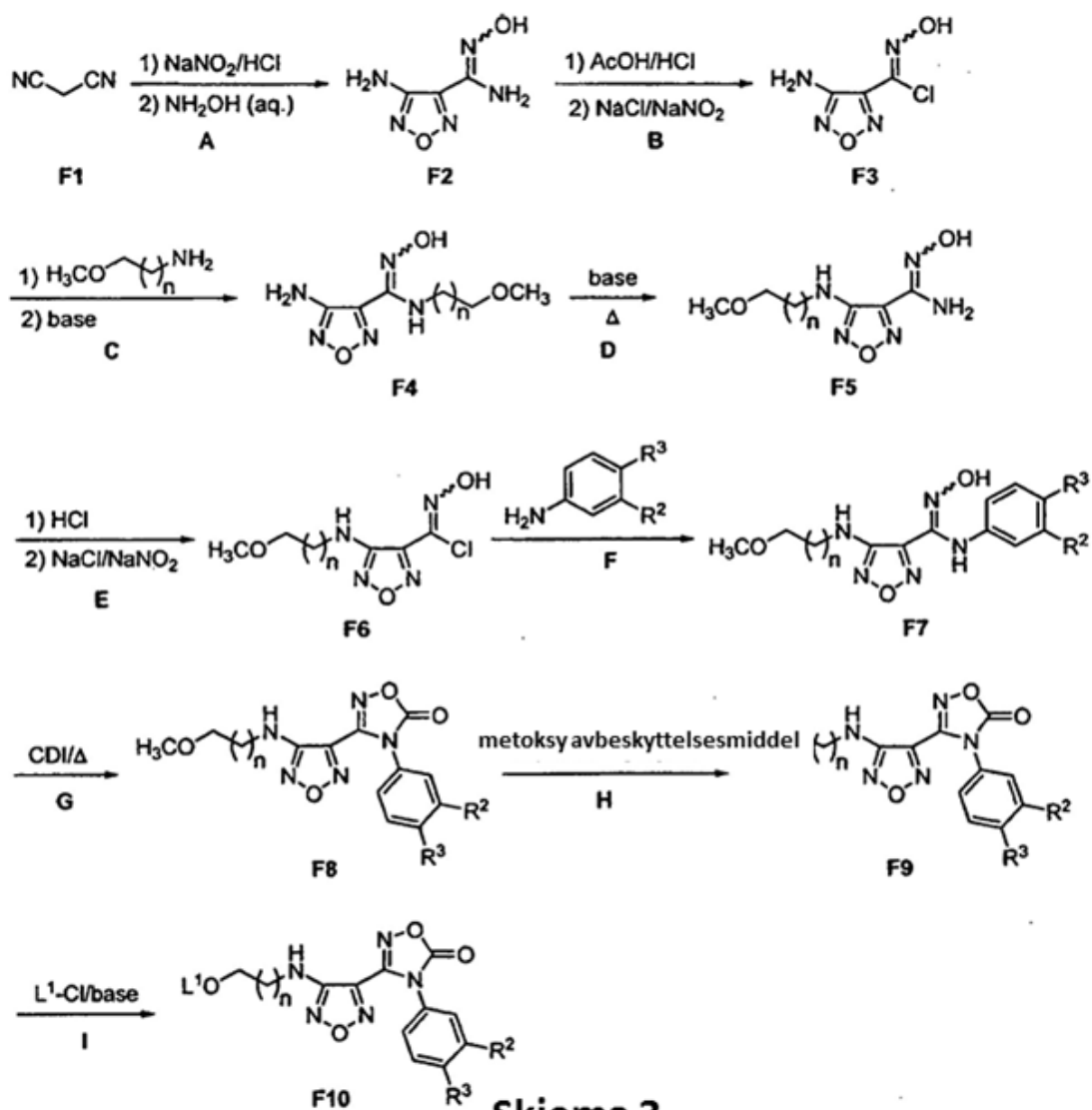
[0076] Forbindelsen med formel F10, eller et salt derav, kan oppnås i en sekvens av trinn som er vist i Skjema 3. Fremstillingen av mellomproduktet, 4-amino-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol- 3-karboksimidamid F2, har blitt beskrevet i J. Heterocycl. Chem. (1965), 2, 253, og dens omdannelse til klor oksim F3 er blitt beskrevet i Synth. Commun. (1988), 18, 1427. Aminene (f.eks. primære eller sekundære aminer, inkludert aminer som inneholder beskyttede funksjoner, f.eks. etyl-amin, 2-metoksyetylamin eller dimetylamin) kan være koplet til klor oksim F3, eventuelt i et løsningsmiddel (så som etylacetat), etterfulgt ved tilsetning av en organisk base (f.eks. trietylamin eller DIPEA for å slukke HCl generert i reaksjonen) for å tilveiebringe forbindelser amidoksim F4. Omorganisering av forbindelsene som F4, for å transponere aminogruppen på ringen karbon og aminogruppen på oksim karbon, for å gi forbindelser F5 kan oppnås ved behandling av F4 med en base (slik som KOH, NaOH, LiOH, Mg(OH)₂, Al (OH)₃ og lignende), eventuelt i et løsningsmiddel (slik som vann, etanol, etylenglykol og lignende), og tilbakeløpsbehandling av reaksjonsblandingen ved forhøyet temperatur f.eks. omtrent 70°C, ca. 80°C, ca. 90°C, 100°C, ca. 110°C ca. 120°C ca. 130°C ca. 140°C, 150°C, 160°C, 170°C, ca. 180°C, ca. 190°C, eller omtrent 200°C. Amidoksimet F5 kan igjen bli aktivert som et klor- oksim F6 ved tilsetning av F5 til en vandig sur blanding som inneholder saltsyre, eventuelt innbefattende eddiksyre. I denne fremgangsmåten for omdannelse av F5 til F6, kan den sure blanding av F5 oppvarmes til en temperatur på ca. 45°C, slik som ca. 30°C, ca. 40°C, 50°C, eller omtrent 60°C for å oppnå oppløsning. Natriumklorid kan tilsettes til denne oppløsning, og deretter bli behandlet med et nitritt-reagens, som eventuelt kan være tilgjengelig som en vandig oppløsning, ved en temperatur under omtrent 0°C, f.eks. under ca. -10°C, under omtrent -5°C, under omtrent 5°C, eller under omtrent 10°C. Nitritt reagens kan være en som kan tilveiebringe et nitritt anion. Nitritt reagenser innbefatter alkalimetall-nitrit (f.eks. natriumnitritt, kaliumnitritt og lignende) og organo nitritt (f.eks. tetraetylammonium-nitritt) som inkluderer et organisk kation. I noen aspekter, kan etyl-acetat, THF eller dioksan anvendes som et ko-løsningsmiddel. Klor oksim F6 kan være kombinert med aromatiske aminer slik som aniliner, eventuelt i et polart løsningsmiddel (slik som metanol, vann, etanol og lignende) ved forhøyede temperaturer slik som ca. 50°C, ca. 60°C, omtrent 70°C, ca. 80°C, ca. 90°C, 100°C, ca. 110°C, eller omtrent 120°C, eventuelt i nærvær av en uorganisk base (slik som KHCO₃, NaHCO₃) for å tilveiebringe arylamidoxime F7. I noen aspekter, kan den uorganiske basen være gitt i form av en vandig oppløsning. I noen aspekter kan den uorganiske basen tilsettes til reaksjonsblan-

dingen ved en forhøyet temperatur. Amidoksimet funksjonaliteten til F7 kan deretter bli beskyttet som et oksadiazolone ved bruk av 1,1'-karbonyl-diimidazol (CDI) i en oppløsning (slik som etylacetat, dioksan, THF og lignende) ved forhøyet temperatur så som 50°C, ca. 60°C, omtrent 70°C, ca. 80°C, ca. 90°C, eller omtrent 100°C. Metoksygruppen i F8 kan deretter bli

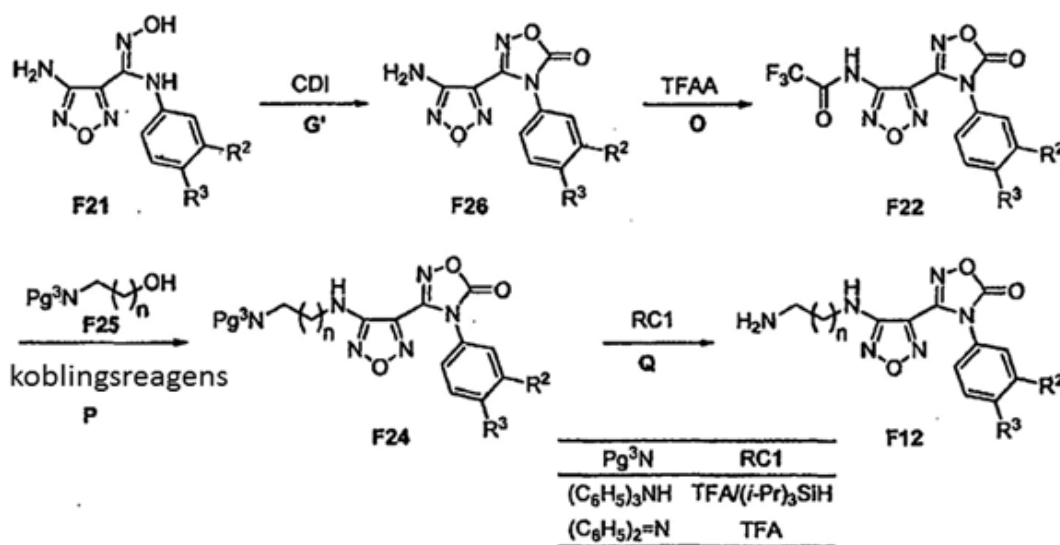
5 omdannet til en hydroksylgruppe i F9 ved hjelp av en metoksygruppe avbeskyttende middel som er kjent for fagfolk innen teknikken, slik som er i Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., pp 24-30, John Wiley & Sons: New York, 2006. For eksempel, ved tilsetning av borttribromid til en kald (slik som fra omkring -78°C til omtrent 25°C, f.eks. fra omtrent -78°C til omtrent 10°C, fra omtrent -78°C til omtrent 0°C, fra -78°C

10 til omtrent -10°C, fra omtrent 0°C til omtrent 25°C, eller fra omtrent 0°C til ca. 10°C) oppløsning av F8, eventuelt i et løsningsmiddel så som et halogenert løsningsmiddel (f.eks. DCM, kloroform og lignende) eller etylacetat. Primære hydroksylgruppe i F9 kan aktiveres etterfølgende som en utgående gruppe L' O- (se F10) ved sekvensiell behandling med L¹Cl, eventuelt i et løsningsmiddel (slik som etylacetat eller DCM), og en organisk base for å tørke

15 opp generert HCl (slik som trietylamin eller DIPEA). L¹, f.eks., kan være valgt blant alkylsulfonyl- (f.eks. metansulfonyl), haloalkylsulfonyl- (f.eks. trifluormetansulfonyl), arylsulfonyl- (f.eks. toluensulfonyl) og lignende. Forbindelsen F10 kan deretter behandles med en hvilken som helst nukleofil for forskyvning (slik som ved S_N2-mekanisme) av den utgående gruppe L¹O.



[0077] Alternativt kan forbindelsen oppnås med formel F12 gjennom en sekvens av trinn som er vist i Skjema 4.



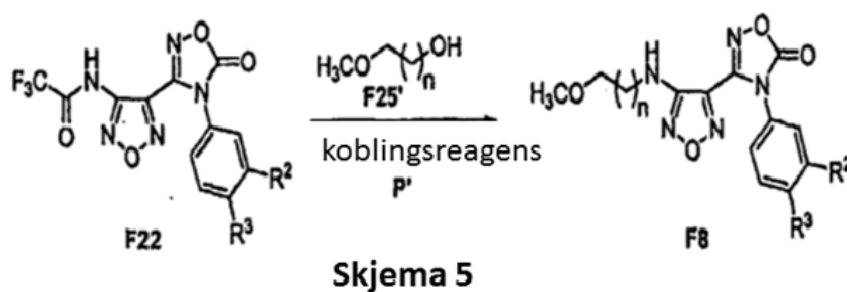
Skjema 4

- [0078]** Det refereres nå til Skjema 4; I noen aspekter, kan forbindelsen oppnås med formel F12 ved å omsette en forbindelse med formel F24, eller et salt derav, hvor at Pg³N er et beskyttet amin (f.eks. (C₆H₅)₃C-NH, (C₆H₅)₂C = N og lignende); med en amino-
- 5 avbeskyttende middel for å gi forbindelsen med formel F12. Behandling av en forbindelse F24 for å erstatte Pg³N med NH₂ (Trinn Q) kan utføres ved fremgangsmåter for avbeskyttelse av spesielle amin-beskyttende grupper som er kjent for en fagmann på området, slik som er i Wuts and Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4th Ed., pp 696-926, John Wiley & Sons: New York, 2006. I noen aspekter, når Pg³N er (C₆H₅)₂C = N, kan avbe-
- 10 skyttende middel være: en syre så som en organisk syre (f.eks. trifluoreddiksyre, metansulfonsyre og lignende) eller en uorganisk syre (f.eks. saltsyre); hydrogen og palladium; eller surt hydroksylamin (NH₂OH). I noen aspekter, når Pg³N er (C₆H₅)₃C-NH, kan det avbeskyttende middelet omfatte en organisk syre (slik som trifluoreddiksyre, metansulfonsyre og lignende) og eventuelt et organosilan; hydrogen og palladium; eller natrium i flytende am-
- 15 moniak. Organosilaner er forbindelser som inneholder minst en Si-H-binding og resten av gruppene bundet til silisium er alkyl, aryl eller en kombinasjon derav. Eksempler på organosilaner omfatter trialkylsilan (f.eks. tri (isopropyl) silan)), triarylsilane (f.eks. trifenylsilan) eller difenylmetylsilan. Trinnet Q kan utføres ved en temperatur fra ca. -10°C til omtrent 60°C, f.eks. fra ca. -10°C til omtrent 0°C, fra omtrent 0°C til omtrent 25°C, fra ca 25°C til
- 20 omtrent 45°C, eller fra omtrent 45°C til omtrent 60°C.

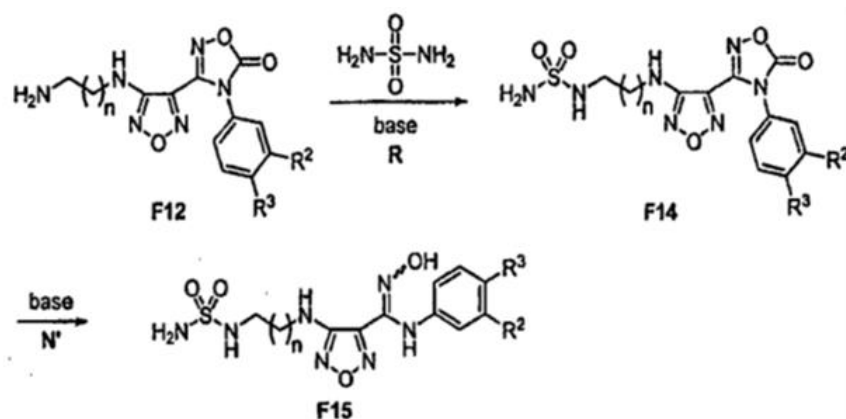
- [0079]** Forbindelser F24 som er beskyttet sekundære aminer, kan fremstilles ved Mitsunobu-reaksjon av alkoholer F25 med beskyttede primære aminer F22 i nærvær av et koblingsreagens (Trinn P). Koblingsreagens kan være en kombinasjon av et tertiært fosfin, f.eks. triarylfosfin (f.eks. trifenylfosfin), eller trialkylfosfin (f.eks. tributylfosfin) og et dialkyl-
- 25 azodikarboksylat. Dialkyl azodikarboksylater har en generell struktur: ROOC-N = NCOOR, hvor R kan være en alkylgruppe (f.eks. diisopropylazodikarboksylat, dietylazodikarboksylat, eller di-p-klorobenzylazodi-karboksylat). Mens man ikke ønsker å være bundet av teori, er det antatt at aminbeskyttelse med trifluoracetyl-del (f.eks. i F22) forhindrer sidereaksjoner og forbedrer utbyttet av sekundære amin F24. Hydroksyl-gruppen av alkoholer slik som F25,

kan aktiveres i nærvær av koblingsreagens. Aminet nukleofil kan forskyve aktiverte hydrok-sylgrupper for å danne sekundære amin. Mitsunobu-reaksjonen kan utføres i et oppløs-ningsmiddel så som en eter f.eks. THF, dioksan, dialkyleter og lignende; halogenerte løs-ningsmidler, f.eks. diklormetan, kloroform og lignende; ikke-polare oppløsningsmidler f.eks. 5 benzen, toluen og lignende; polar-aprotiske oppløsningsmidler slik som DMF, HMPA, og lig-nende. I noen aspekter kan forbindelsen med formel F24 bli oppnådd ved å behandle en forbindelse med formel F22, eller et salt derav, med en forbindelse med formel F25, eller et salt derav, og en koblingsreagens for å tilveiebringe forbindelsen med formel F24. I noen aspekter, kan dette trinnet utføres ved en temperatur fra omtrent -10°C til omtrent 60°C, 10 f.eks. fra ca. -10°C til omtrent 0°C, fra omtrent 0°C til omtrent 25°C, fra omtrent 25°C til omtrent 45°C, eller fra omtrent 45°C til omtrent 60°C.

[0080] Forbindelser F22 kan fremstilles ved en to-trinnsprosess (trinn G 'og O) fra forbindelser F21. Forbindelser F21 kan behandles med 1,1'-karbonyl-diimidazol (CDI), even-tuelt i et løsningsmiddel (slik som etylacetat eller THF), ved en forhøyet temperatur, slik som 15 ca. 50°C, f.eks. ca. 60°C, omtrent 65°C, omtrent 70°C, ca. 80°C, eller omtrent 90°C, for å konvertere amidoksim i forbindelser F21 til oksadiazolon i forbindelsene F26. Disse forbindel-ser F26 kan deretter bli behandlet med trifluoreddiksyreanhydrid, eventuelt i et løsningsmid-del (slik som DCM, THF, dioksan eller etylacetat) i nærvær av en organisk base (slik som pyridin, trietylamin, DIPEA og lignende) for å gi forbindelser F22. I noen aspekter kan forbin-delsen med Formel F22 bli oppnådd ved å behandle en forbindelse med Formel F21, eller et salt derav, med karbonyldiimidazol (CDI) for å gi en forbindelse med Formel F26, eller et salt 20 derav, og ved å behandle forbindelsen med Formel F26 med trifluoreddiksyreanhydrid for å gi forbindelsen med Formel F22.



[0081] Det refereres nå til Skjema 5 (Trinn P') og basert på den ovenstående beskri-velsen av Mitsunobu-reaksjon; et annet aspekt gir en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med Formel F8, eller et salt derav, hvor R^2 , R^3 og n definert her; inkludert om-setning av en forbindelse med Formel F22, eller et salt derav, og en forbindelse med Formel F25', eller et salt derav, med et koblingsreagens, eventuelt i et oppløsningsmiddel (f.eks. 25 THF, dialkyleter eller diklormetan), for å gi forbindelsen med Formel F8. I noen aspekter, kan dette trinnet utføres ved en temperatur fra omtrent -10°C til omtrent 60°C, f.eks. fra ca. -10°C til omtrent 0°C, fra omtrent 0°C til omtrent 25°C, fra omtrent 25°C til omtrent 45°C, eller fra omtrent 45°C til omtrent 60°C.



Skjema 6

[0082] Skjema 6 skisserer en alternativ rute for innføring av sulfonamidgruppen til aminoforbindelsen F12. Behandling av F12 med sulfamid i nærvær av en base (Trinn R), f.eks. en organisk base som kan være en heterocyklisk base (f.eks. pyridin), eller et trialkylamin (f.eks. trietylamin, DIPEA og lignende), som hver enkelt kan eventuelt benyttes som et oppløsningsmiddel for denne transformasjonen, og kan gi sulfonyl ureaer så som F14. Denne reaksjonen kan utføres ved forhøyede temperaturer slik som ca. 130°C, f.eks. ca. 100°C, ca. 110°C, ca. 120°C, ca. 130°C, eller omtrent 140°C. En slik oppvarming kan gunstig påføres ved hjelp av mikrobølgestråling. Mikrobølgebestråling kan utføres i en kommersiell mikrobølgeovn (f.eks. Initiator™, som er tilgjengelig fra Biotage) som opererer i en enkelt modus måte. Forbindelser F14 som inneholder oksadiazolon ring kan avbeskyttes (f.eks. hydrolysert) til ønskede amidoksimer F15, i nærvær av en base (trinn N). Basen kan enten være en organisk base slik som et acyklisk amin (f.eks. trietylamin, diisopropyletylamin (DIPEA), osv.), eller et cyklisk amin (f.eks. pyrrolidin, piperidin, osv.); eller en uorganisk base slik som alkali (f.eks. NaOH, LiOH, KOH, Mg (OH)₂, osv.). Basen kan bli gjort tilgjengelig i form av en harpiks (f.eks. Amberlite og lignende). I noen ytterligere aspekter, kan basen være gitt i form av en oppløsning i vann, slik som ca. 2N løsning (f.eks. ca. 0,5 N løsning, ca. 1N løsning, ca. 1,5N løsning, ca. 2,5N løsning, fra ca. 3N til ca. 5 N oppløsning, fra ca. 5N til omtrent 10 N oppløsning). I noen aspekter kan basen være et alkalimetallhydroksyd (f.eks. natrium-hydroksyd). I noen aspekter kan basen være en 2N NaOH-oppløsning i vann. I noen aspekter kan oppløsningsmidlet være metanol eller tetrahydrofuran (THF). I noen aspekter kan avbeskyttelsen bli utført ved en temperatur fra ca. -10°C til omtrent 60°C, f.eks. fra ca. -10°C til omtrent 0°C, fra omtrent 0°C til omtrent 25°C, fra omtrent 25°C til omtrent 45°C, eller fra omtrent 45°C til omtrent 60°C. Derfor gir dette aspektet en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med Formel F15, eller et salt derav, hvor R², R³, og n, som definert her; inkludert omsetning av en forbindelse med Formel F12, eller et salt derav, med sulfamid og en organisk base til å gi en forbindelse med Formel F14, eller et salt derav, og omsetning av forbindelsen med Formel F14, eller et salt derav, med en base for å tilveie forbindelsen av Formel F15.

[0083] Det er beskrevet også en forbindelse med Formel F9, F12, F14 og, eller et salt derav, hvor R² er Cl, Br, CF₃, CH₃ eller CN; R³ er H eller F; og n er 1 eller 2.

[0084] I noen aspekter er R² Br, R³ er F, og n er 1.

[0085] I noen aspekter er R² Br, R³ er F, og n er 2.

[0086] I noen aspekter er R^2 Cl, R^3 er F, og n er 1.

[0087] I noen aspekter er R^2 Cl, R^3 er F, og n er 2.

[0088] I noen aspekter er R^2 CF_3 , R^3 er F, og n er 1.

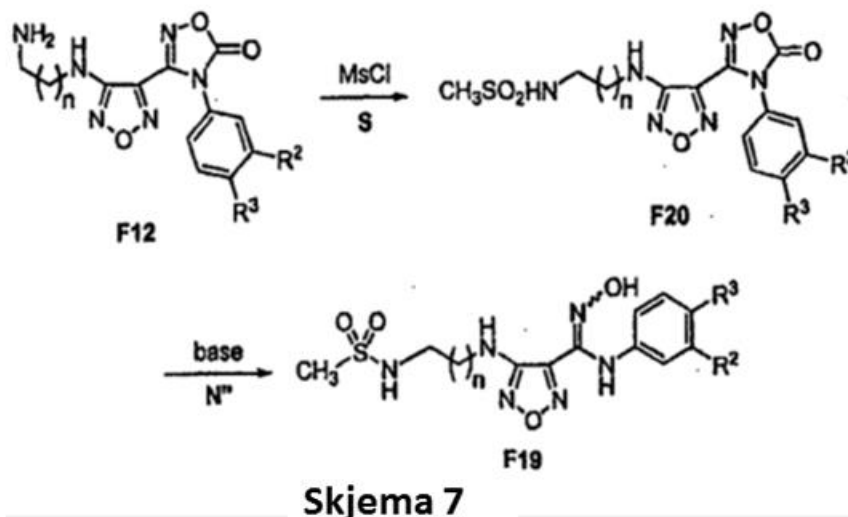
[0089] I noen aspekter er R^2 CF_3 , R^3 er F, og n er 2.

5 **[0090]** I noen aspekter er R^2 CF_3 , R^3 er H, og n er 1.

[0091] I noen aspekter er R^2 CF_3 , R^3 er H, og n er 2.

[0092] I noen aspekter er R^2 CH_3 , R^3 er F, og n er 1.

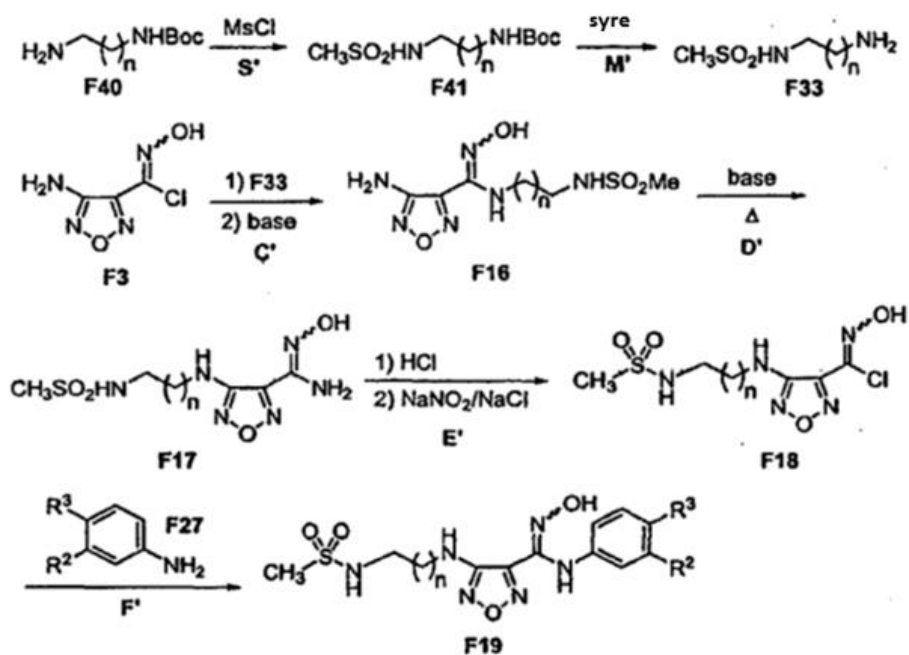
[0093] I noen aspekter er R^2 CN, R^3 er F, og n er 1.



10 **[0094]** Det refereres nå til skjema 7; F19 forbindelser kan oppnås fra primære
aminoforbindelser F12 ved behandling med metansulfonylchlorid (Trinn S), eventuelt i et løsningsmiddel så som etylacetat, halogenerte løsningsmidler (f.eks. diklormetan, kloroform og lignende) eller eteroppløsningsmidler (THF, dietyleter, dioksan og lignende), i nærvær av en organisk base (for å samle opp den genererte HCl), slik som tri (C_{1-6}) alkylamin (f.eks. trietylamin, DIPEA og lignende), eller pyridin til å ha rådd sulfonamider F20. Metansulfonyl-gruppen kan erstattes med andre alkylsulfonyl- (f.eks. etylsulfonyl), haloalkylsulfonyl- (f.eks. trifluor-
15 metansulfonyl), arylsulfonyl- (f.eks. toluensulfonyl) og lignende, uten å endre fremgangsmåten. I noen aspekter kan dette trinnet utføres ved en temperatur fra omtrent $-10^{\circ}C$ til omtrent $60^{\circ}C$, f.eks. fra ca. $-10^{\circ}C$ til omtrent $0^{\circ}C$, fra omtrent $0^{\circ}C$ til omtrent $25^{\circ}C$, fra omtrent $25^{\circ}C$ til omtrent $45^{\circ}C$, eller fra omtrent $45^{\circ}C$ til omtrent $60^{\circ}C$. Sulfonamid forbindelser F20 inneholdende oksadiazolon ring kan avbeskyttes (f.eks. hydrolysert) til ønskede amidoksimer F19 i nærvær av en base (Trinn N"). Basen kan enten være en organisk base slik som et acyklisk amin (f.eks. trietylamin, diisopropyletylamin (DIPEA), osv.), eller et cyklisk amin (f.eks. pyrrolidin, piperidin, osv.); eller en uorganisk base så som alkalimetallhydroksyd eller jordalkalimetallhydroksyd (f.eks. NaOH, LiOH, KOH, $Mg(OH)_2$, osv.). Basen kan bli gjort
25 tilgjengelig i form av en harpiks (f.eks. Amberlite og lignende). I noen ytterligere aspekter, kan basen være gitt i form av en oppløsning i vann, slik som ca. 2N-oppløsning (f.eks. ca. 0,5 N løsning, ca. 1N løsning, ca. 1,5N løsning, ca. 2,5N løsning, fra ca. 3N til omtrent 5N-oppløsning, fra ca. 5N til omtrent 10 N-oppløsning). I noen aspekter, er basen et alkali metallhydroksyd (f.eks. natrium-hydroksyd). I noen aspekter kan basen være 2N NaOH-oppløsning i vann. I noen utførelsesformer kan løsningsmidlet være metanol eller tetrahydro-

30

furan (THF). I noen utførelsesformer, kan avbeskyttelsen bli utført ved en temperatur fra ca. -10°C til omtrent 60°C, f.eks. fra ca. -10°C til omtrent 0°C, fra omtrent 0°C til omtrent 25°C, fra omtrent 25°C til omtrent 45°C, eller fra omtrent 45°C til omtrent 60°C. Følgelig er et annet aspekt en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med Formel F19, eller et salt derav, hvor R², R³, og n, som definert her; inkludert omsetning av en forbindelse med Formel F12, eller et salt derav, med metansulfonylchlorid i nærvær av en organisk base til å gi en forbindelse med Formel F20, eller et salt derav, og omsetning av forbindelsen med Formel F20 med en base for å gi forbindelsen av Formula F19. I noen aspekter kan basen være et alkalimetallhydroksid slik som natriumhydroksid (f.eks. 2N NaOH).



Skjema 8

10

[0095] Aryl- eller alkylsulfonamider (f.eks metanesulfonamider F19) kan oppnås ved rekkefølge av trinn som er vist i Skjema 8. Mono-beskyttede 1, n-diaminer som f.eks. F40 (f.eks. kommersielt tilgjengelig N-(aminoalkyl)(t-butoksy)karboksamid) kan behandles med sulfonylchlorider som arysulfonylchlorider eller alkylsulfonylchlorider (f.eks. metansulfonylchlorid), eventuelt i et løsningsmiddel så som etylacetat, halogenerte løsningsmidler (f.eks. diklormetan, kloroform og lignende) eller eteroppløsningsmidler (THF, dietyleter, dioksan og lignende), i nærvær av en organisk base (for å samle opp den genererte HCl), slik som trietylamin, pyridin, DIPEA og lignende, for å tilveiebringe sulfonamider F41 (Trinn S'). Beskyttende gruppen på mono-beskyttede 1, n-diaminer F40, kan være valgt fra ulike amino-beskyttende grupper og passende avbeskyttelsesbetingelser kan hensiktsmessig velges (*supra*) for å gi amin F33 (Trinn M'). I noen aspekter kan beskyttelsesgruppen være alkoksylkarbonyl-(f.eks. tert-butoksykarbonyl, Boc). I slike aspekter, kan det amino-avbeskyttelse midlet være f.eks. en syre, saltsyre eller trifluoreddiksyre, eventuelt i et oppløsningsmiddel (f.eks. dioksan).

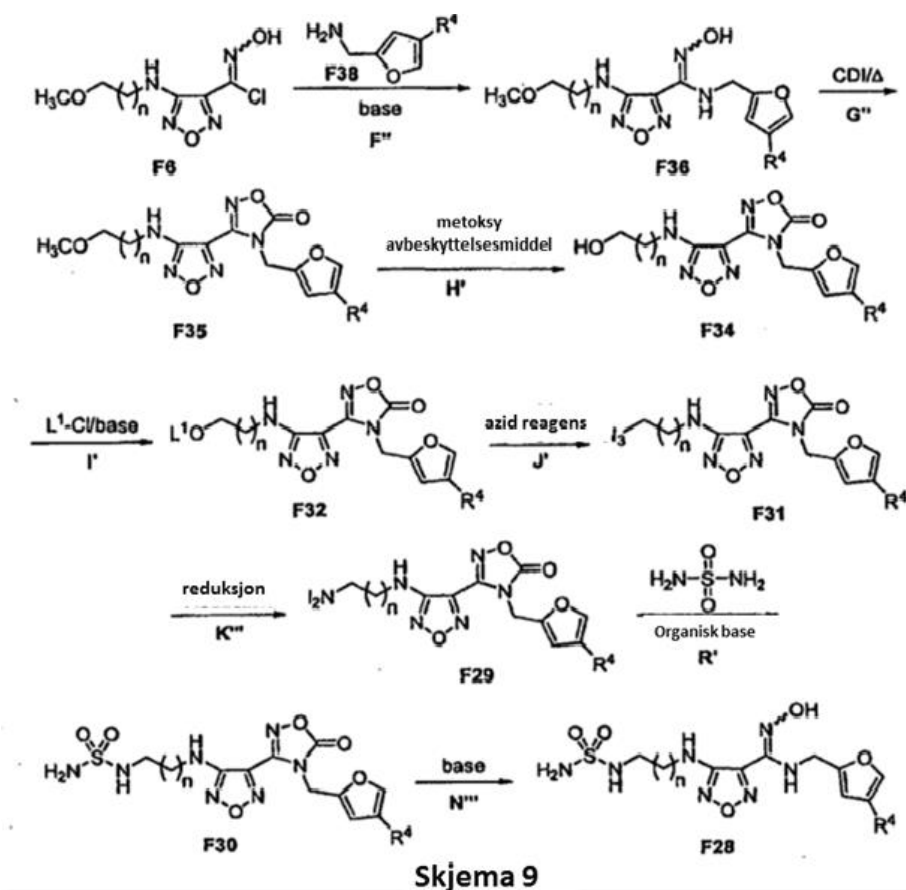
[0096] Fremstillingen av klor oksim F3 har blitt beskrevet i Synth. Commun. (1988), 18, 1427. Aminene (f.eks. primære eller sekundære aminer, inkludert aminer som innehol-

der beskyttede funksjoner, f.eks, etyl-amin, 2-metoksyetylamin, dimetylamin eller F33) kan være koplet til klor oksim F3, eventuelt i et oppløsningsmiddel (slik som etylacetat eller etanol), fulgt av tilsetning av en organisk base (f.eks. trietylamin eller DIPEA for å slukke HCl generert i reaksjonen) for å tilveiebringe forbindelser amidoksim F16 (Trinn C'). I noen aspekter, kan dette trinnet utføres ved en temperatur fra omtrent -10°C til omtrent 60°C, f.eks. fra ca. -10°C til omtrent 0°C, fra omtrent 0°C til omtrent 25°C, fra omtrent 25°C til omtrent 45°C, eller fra omtrent 45°C til omtrent 60°C. Omorganisering av forbindelsene som f.eks. F16 for å transponere aminogruppen på ringen karbon og aminogruppen på oksim karbon, for å tilveiebringe forbindelser som f.eks. F17 (Trinn D'), kan oppnås ved behandling av F16 med en base (f.eks. KOH, NaOH, LiOH, Mg (OH)₂, Al (OH)₃ og lignende), eventuelt i et løsningsmiddel (slik som vann, etanol, etylenglykol og lignende), og tilbakeløpsbehandling av reaksjonsblandingen ved forhøyet temperatur, f.eks. ca. 70°C, ca. 80°C, ca. 90°C, 100°C, ca. 110°C ca. 120°C ca. 130°C ca. 140°C, 150°C, 160°C, ca. 170°C, 180°C, ca. 190°C, eller omtrent 200°C. Amidoksimet F17 kan igjen bli aktivert som et klor- oksim F18 ved tilsetning av F17 til en vandig sur blanding inneholdende saltsyre, eventuelt innbefattende eddiksyre (Trinn E'). I denne fremgangsmåten for konvertering av F17 til F18, kan sure blanding av F17 bli oppvarmet til temperaturer rundt 45°C, slik som ca. 30°C, ca. 40°C, 50°C, eller omtrent 60°C, for å oppnå oppløsning. Natriumklorid kan tilsettes til denne oppløsningen og behandles med et nitritt-reagens, som eventuelt kan være tilgjengelig som en vandig oppløsning, ved en temperatur under omtrent 0°C, f.eks. under ca. -10°C, under omtrent -5°C, nedenfor omtrent 5°C, eller under omtrent 10°C. Nitritt reagens kan tilveiebringe et nitritt anion. Nitritt reagenser innbefatter alkalimetall-nitrit (f.eks. natriumnitritt, kaliumnitritt og lignende) og organo nitritt (f.eks. tetraetylammonium-nitritt) som inkluderer et organisk kation. I noen utførelsesformer, etylacetat, THF eller dioksan, kan anvendes som ko-løsningsmiddel. Substitusjonen av kloridet i F18 med aromatiske aminer slik som aniliner F27, eventuelt i et polart løsningsmiddel (slik som metanol, vann, etanol og lignende), ved rom temperatur kan gi methanesulfonamides F19 (Trinn F'). I noen aspekter kan temperaturer som ca. 10°C, ca. 20°C, ca. 30°C, ca. 40°C, eller omtrent 50°C bli anvendt. Denne reaksjonen kan eventuelt utføres i nærvær av en uorganisk base (slik som KHCO₃, NaHCO₃) som kan være gitt i form av en vandig oppløsning.

[0097] Følgelig, i et annet aspekt, er en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med Formel F19, eller et salt derav, hvor R², R³, og n, som definert her, inkluderer omsetning av en forbindelse med Formel F17, eller et salt derav, med saltsyre, eventuelt i et oppløsningsmiddel (f.eks. dioksan), etterfulgt av behandling med et nitritt-reagens (f.eks. natrium-nitritt), eventuelt i form av en vandig oppløsning, for å gi en forbindelse med Formel F18, eller et salt derav, og omsetning av forbindelsen med Formel F18 med en forbindelse med Formel F27, eller et salt derav, for å gi forbindelsen med Formel F19.

[0098] I noen aspekter kan forbindelsen med Formel F17 oppnås ved å behandle en forbindelse med Formel F16, eller et salt derav, med en base (så som kaliumhy-droksyd) i et oppløsningsmiddel (så som etylenglykol) ved en temperatur som er nok til reflux av løsningsmidlet (f.eks. 130°C), for å gi en forbindelse med Formel F17.

[0099] Det er også beskrevet en forbindelse med Formel F18, eller et salt derav, hvor n er 1 eller 2. I noen aspekter, n er 1. I noen aspekter, n er 2.



- [0100]** Forbindelser F28 kan oppnås som beskrevet i Skjema 9. Klor oksim F6 (*supra*, Skjema 1) kan være kombinert med heterosykliske aminer (f.eks. forbindelsen med Formel F38), eventuelt i et polart løsningsmiddel (slik som metanol, vann, etanol og lignende), i nærvær av en base så som en uorganisk base eller en organisk base (f.eks. Et₃N, pyridin eller DIPEA) for å tilveiebringe arylamidoksime F36 (Trinn F''). I noen aspekter, konvertering av F6 til F36 kan utføres ved temperaturer som ca. 10°C, ca. 20°C, ca. 30°C, ca. 40°C, 50°C, ca. 60°C, eller omtrent 90°C. I noen aspekter kan uorganisk base tilveiebringes i form av en vandig oppløsning. I noen aspekter kan uorganiske basen tilsettes til reaksjonsblandingen ved en forhøyet temperatur. Amidoksimet funksjonaliteten til F36 kan deretter bli beskyttet som et oksadiazolone ved bruk av 1,1'-karbonyldiimidazol (CDI) i et løsningsmiddel (slik som etylacetat, dioksan, THF og lignende) ved forhøyet temperatur så som 50°C, ca. 60°C, omtrent 70°C, ca. 80°C, ca. 90°C eller omtrent 100°C (Trinn G''). Metoksygruppen i F35 kan deretter bli konvertert til en hydroksylgruppe i F34 ved metoder kjent for en fagmann på området for avbeskyttelsen av metoksygruppen (Trinn H'), slik som i Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Syntheses*, 4th Ed., pp 24-30, John Wiley & Sons: New York, 2006. For eksempel, ved tilsetning av borttribromid til en kald (slik som fra omkring -78°C til omtrent 25°C, f.eks. fra ca. -78°C til omtrent 10°C, fra omtrent -78°C til omtrent 0°C, fra -78°C til omtrent -10°C, fra omtrent 0°C til omtrent 25°C, eller fra omtrent 0°C til ca. 10°C) løsning av F35, eventuelt i et løsningsmiddel så som et halogenert løsningsmiddel (f.eks, DCM, kloroform og lignende) eller etylacetat. Den primære hydroksylgruppen i F34 kan etterfølgende aktiveres som en utgående gruppe L¹O- (se Trinn I', F32) ved sekvensiell behandling med L¹Cl, eventuelt i et løsningsmiddel (slik som etylacetat eller

DCM), og en organisk base for å moppe opp den genererte HCl (slik som trietylamin eller DIPEA). I forbindelsene F32, kan L¹ velges fra alkylsulfonyl-(f.eks. metansulfonyl), haloalkylsulfonyl-(f.eks. trifluormetansulfonyl), arylsulfonyl-(f.eks. toluensulfonyl) og lignende. Forbindelsen F32 kan deretter behandles med en hvilken som helst nukleofil for S_N2 forskyvning av forlatende gruppe L¹O. I noen utførelsesformer, kan dette trinnet utføres ved en temperatur fra omtrent -10°C til omtrent 60°C, f.eks. fra ca. -10°C til omtrent 0°C, fra omtrent 0°C til omtrent 25°C, fra omtrent 25°C til omtrent 45°C, eller fra omtrent 45°C til omtrent 60°C.

[0101] Når nukleofilen er et azid-ion, gir F32 F31 (Trinn J'). Azid-reagenser innbefatter en hvilken som helst reagens som kan produsere en nukleofil azid-ion. Eksempler på azid-reagenser innbefatter alkalimetall-azider (som f.eks. natriumazid, kalium-azid). I noen valgfrie aspekter, kan azidet reagens så som natriumazid anvendes i kombinasjon med natriumjodid. Egnede oppløsningsmidler for denne transformasjonen er polare oppløsningsmidler inkludert DMF, DMSO, NMP og lignende. I noen aspekter kan dette trinnet utføres i DMF. I noen utførelsesformer kan dette trinnet utføres ved en forhøyet temperatur f.eks. fra omtrent 40°C til omtrent 100°C, fra 50°C til omtrent 90°C, eller fra omtrent 60°C til omtrent 80°C. I noen utførelsesformer kan dette trinnet utføres ved 50°C. I noen aspekter kan dette trinnet utføres ved 85°C. Organiske azider så som F31 kan reduseres til organiske aminer slik som F29 ved tilsetning av hydrogen, enten i form av elementært hydrogen; ved hjelp av et hydrid-reagens (så som NaBH₄, LiAlH₄ og lignende); hjelp trifenylfosfin; eller ved bruk av en kombinasjon av natriumjodid, klortrimetylsilan, og metanol (Trinn K'''). I noen aspekter kan reduksjon utføres i nærvær av natriumjodid, klortrimetylsilan, og metanol. I noen aspekter kan reduksjonen bli utført ved omtrent romtemperatur f.eks. fra omtrent 10°C til omtrent 50°C, fra omtrent 15°C til omtrent 40°C, fra omtrent 20°C til omtrent 30°C, eller fra omtrent 25°C til omtrent 30°C. I noen utførelsesformer kan det molar ratio av natrium jodid og klortrimetylsilan være f.eks. ca. 1,0, ca. 0,9, ca. 0,95, ca. 1,0, 1,05, eller ca. 1,1. I noen aspekter kan klortrimetylsilan tilsettes til blandingen av F31, natrium jodid og metanol som en løsning i metanol.

[0102] Behandlingen av F29 med sulfamid i nærvær av en base som en organisk base som kan være en heterocyklisk base (f.eks. pyridin), eller et trialkylamin (f.eks. trietylamin, DIPEA og lignende), som eventuelt kan brukes som et oppløsningsmiddel for denne transformasjonen, for å tilveiebringe sulfonyl ureaer såsom F30 (Trinn R'). Denne reaksjonen kan utføres ved forhøyede temperaturer slik som ca. 130°C, f.eks. ca. 100°C, ca. 110°C, ca. 120°C, ca. 130°C eller omtrent 140°C. En slik oppvarming kan gunstig påføres ved hjelp av mikrobølgestråling. Mikrobølgebestråling kan utføres i en kommersiell mikrobølgeovn (f.eks. Initiator™, som er tilgjengelig fra Biotage) som opererer i en enkelt modus måte. Forbindelser F30 som inneholder oksadiazolone ring kan avbeskyttes (f.eks. hydrolysert) til ønskede amidoksimer F28, i nærvær av en base (Trinn N'''). Basen kan enten være en organisk base slik som acykliske aminer (f.eks. trietylamin, diisopropyletylamin (DIPEA), osv.), eller cykliske aminer (f.eks. pyrrolidin, piperidin, osv.), eller en uorganisk base slik som alkalimetall (f.eks. NaOH, LiOH, KOH, Mg (OH)₂, etc.) Basen kan bli gjort tilgjengelig i form av en harpiks (f.eks. Amberlite og lignende). I noen ytterligere aspekt, kan basen være gitt i form av en løsning i vann (en vandig base) slik som ca. 2N løsning (f.eks. ca. 0,5N løsning, ca. 1N løsning, ca. 1,5N løsning, ca. 2,5N løsning, fra ca. 3N til omtrent 5N-oppløsning, fra ca. 5N til omtrent 10 N-oppløsning). I noen aspekter kan basen være et alkalimetall-hydroksyd (f.eks.

natriumhydroksyd). I noen aspekter kan basen være en 2N NaOH-oppløsning i vann. I noen aspekter kan oppløsningsmidlet være metanol eller tetrahydrofuran (THF). I noen aspekter kan avbeskyttelsen bli utført ved en temperatur fra ca. -10°C til omtrent 60°C, f.eks. fra ca. -10°C til omtrent 0°C, fra omtrent 0°C til omtrent 25°C, fra omtrent 25°C for ca. 45°C, eller fra omtrent 45°C til omtrent 60°C.

[0103] Følgelig, er også beskrevet en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med Formel F28, eller et salt derav, hvori R^4 er F, Cl, Br, eller I; og n er 1 eller 2; inkludert omsetning av en forbindelse med Formel F29, eller et salt derav, med sulfamid og en organisk base til å gi en forbindelse med Formel F30, eller et salt derav, og omsetning av forbindelsen med Formel F30 med en base for å gi forbindelsen med Formel F28.

[0104] I noen utførelsesformer, er R^4 Cl, og n er 1,

[0105] I noen utførelsesformer er R^4 Br og n er 1.

[0106] I noen aspekter, å omsette en forbindelse med formel F29, innbefatter det videre å oppvarme reaksjonen (f.eks. ved hjelp av mikrobølgebestråling).

[0107] I et annet aspekt, er en prosess for å oppnå forbindelsen med Formel F29 ved å redusere en forbindelse med Formel F31, eller et salt derav. I noen aspekter kan reduksjonen bli utført med en kombinasjon av natriumjodid, klortrimetylsilan, og metanol.

[0108] I et annet aspekt kan forbindelsen med Formel F31 oppnås ved å behandle en forbindelse med Formel F32, eller et salt derav, hvor L^1 er valgt blant alkylsulfonyl, haloalkylsulfonyl, og arylsulfonyl; med et azid reagens for å gi forbindelsen med Formel F31.

[0109] Som anvendt her, refererer betegnelsen "alkyl" når det brukes alene eller sammen med ytterligere moiety betingelser, til et rettkjede eller forgrenet, mettet hydrokarbongruppe som har 1 til 6 karbonatomer, 1 til 4 karbonatomer, eller 1 til 3 karbonatomer. Eksempler på alkylgrupper omfatter metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, sek-butyl, og lignende.

[0110] Som anvendt her, refererer "alkenyl" til en alkylgruppe som har en eller flere karbon-karbon-dobbeltbindinger. Eksempler på alkenyl-grupper innbefatter etenyl-(vinyl), propenyl og lignende.

[0111] Som anvendt her, refererer betegnelsen "aryl" til en aromatisk hydrokarbongruppe som kan være mono- eller polycyklisk med 6 til 14 karbonatomer. Eksempler på aryl-grupper omfatter fenyl, naftyl, antracenyl, fenantrenyl, indanyl, indenyl og lignende.

[0112] Som anvendt her, refererer betegnelsen "halogenalkyl", når det brukes alene eller sammen med en ytterligere del, til en alkylgruppe substituert med ett eller flere halogenatomer uavhengig valgt fra F, Cl, Br og I. Eksempler på haloalkylgrupper inkluderer CF_3 , CHF_2 , CH_2CF_3 , og lignende.

[0113] Som anvendt her, refererer betegnelsen "alkoksy" til en -O-alkyl, gruppen. Eksempler på alkoksygrupper omfatter metoksy, etoksy, propoksy (f.eks. n-propoksy og isopropoksy), t-butoksy, og lignende.

[0114] Som anvendt her, refererer "alkylamin" til en amino-(NH_2) gruppe substituert med en alkylgruppe. Eksempler på alkylamin-grupper inkluderer metylamin, heksylamin og lignende.

[0115] Som anvendt her, refererer "trialkylamin" til et nitrogenatom substituert med tre alkyl- gruppe. Eksempler på trialkylamin grupper innbefatter trimetylamin, trietylamin, og lignende.

[0116] Som anvendt her, refererer betegnelsen "alkoksykarbonyl" til CO substituert med en alkoksygruppe: -C (O)-O-alkyl. Eksempler på alkoksykarbonylgrupper inkluderer etoksykarbonyl, tert-butoksykarbonyl-(Boc), benzyloksykarbonyl-(Cbz), 9-fluorenylmetyloksykarbonyl-(Fmoc) og lignende.

5 **[0117]** Som anvendt her, refererer betegnelsen "alkylsulfonyl" til en sulfonylgruppe substituert med en alkylgruppe: alkylS (O)₂-. Eksempler på alkylsulfonylgrupper inkluderer metansulfonyl, etansulfonyl og lignende.

[0118] Som anvendt her, refererer betegnelsen "haloalkylsulfonyl" til en sulfonylgruppe substituert med en haloalkylgruppe. Eksempler på haloalkylsulfonyl grupper omfatter 10 trifluormetansulfonyl, 1,1,1-trifluoretansulfonylchlorid, og lignende.

[0119] Som anvendt her, refererer betegnelsen "arylsulfonyl" til en sulfonylgruppe substituert med en arylgruppe eller en substituert arylgruppe, hvor substituentene på arylgruppen er valgt fra halo, nitro, C₁₋₄alkyl, og C₁₋₄ haloalkyl.

15 **[0120]** Som anvendt her, refererer betegnelsen "heterocyklisk base" til en 4 til 14 leddet, eventuelt substituert, heterocyklisk gruppe, hvor minst en ringdannende element er et nitrogenatom. Den heterocykliske basen kan være aromatisk eller ikke-aromatisk. Eksempler på heterocykliske baser innbefatter pyridin, pyrrolidin, piperidin, morfolin osv. Eksempler på substituenten på heterocykliske gruppen inkluderer F, Cl, Br, C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ og halogenalkyl.

20 **Metoder for bruk**

[0121] Forbindelsene av oppfinnelsen kan inhibere aktiviteten av enzymet indolamin-2,3-dioksygenase (IDO). For eksempel kan forbindelsene av oppfinnelsen anvendes for å inhibere aktiviteten av IDO i celle eller hos et individ med behov for modulering av enzymet ved å administrere en inhiberende mengde av en forbindelse av oppfinnelsen.

25 **[0122]** Denne oppfinnelsen tilveiebringer videre forbindelser av oppfinnelsen for anvendelse i fremgangsmåter for å inhibere nedbrytning av tryptofan i et system som inneholder celler som uttrykker IDO slik som en vev, levende organisme eller cellekultur. I noen utførelsesformer, tilveiebringer foreliggende oppfinnelsen en forbindelse eller sammensetning som er tilveiebrakt her for anvendelse i fremgangsmåter for endring (f.eks. øker) ekstracel-
30 lulære tryptofan nivåer i et pattedyr.

[0123] Fremgangsmåter for måling av tryptofan nivåer og tryptofan nedbrytning er rutinemessig i teknikken. Denne oppfinnelsen tilveiebringer ytterligere en forbindelse eller sammensetning for anvendelse i metoder for inhibering av immunosuppresjon slik som IDO-mediert immunosuppresjon hos en pasient.

35 **[0124]** IDO-mediert immunosuppresjon har vært assosiert med, f.eks., kreft, tumorvekst, metastase, viral infeksjon, viral replikasjon, osv. Denne oppfinnelsen tilveiebringer ytterligere en forbindelse av oppfinnelsen eller et farmasøytisk preparat derav, for anvendelse i metoder ved behandling av sykdommer assosiert med aktivitet eller ekspresjon, inkludert unormal aktivitet og/eller overekspresjon av IDO i et individ (f.eks. pasient). Eksempel
40 sykdommer kan omfatte enhver sykdom, lidelse eller tilstand som er direkte eller indirekte forbundet med ekspresjon eller aktivitet av IDO enzym, slik som over ekspresjon eller abnorm aktivitet. En IDO-assosiert sykdom kan også inkludere en hvilken som helst sykdom, lidelse eller tilstand som kan forebygges, lindres eller kureres ved modulering av enzymakti-

vitet. Eksempler på IDO-assosierte sykdommer er kreft, viral infeksjon som HIV-infeksjon, HCV -infeksjon, depresjon, nevrodegenerativ lidelser så som Alzheimers sykdom og Huntingtons sykdom, trauma, aldersrelaterte katarakter, organtransplantasjon (f.eks. organtransplantatavstøtning), og autoimmune sykdommer inkludert astma, reumatoid artritt, multipel sklerose, allergisk betennelse, inflammatorisk tarmsykdom, psoriasis og systemisk lupus erythematosus. Eksempler på kreft som kan behandles ved fremgangsmåtene, inkluderer kreft i tykktarm, bukspyttkjertel, bryst, prostata, lunge, hjerne, ovarie, livmorhals, testikler, nyre, hode og nakke, lymfom, leukemi, melanom, og lignende. Forbindelsene av oppfinnelsen kan også være anvendelige ved behandling av fedme og ischemi.

10 **[0125]** Som anvendt her, refererer betegnelsen "celle" til en celle som er *in vitro*, *ex vivo* eller *in vivo*. I noen utførelsesformer, kan en *ex vivo* celle være en del av en vevsprøve skåret ut fra en organisme slik som et pattedyr. I noen utførelsesformer, kan en *in vitro* celle være en celle i en cellekultur. I noen utførelsesformer, er en *in vivo* celle en celle levende i en organisme slik som et pattedyr.

15 **[0126]** Som anvendt her, refererer betegnelsen "å kontakte" for å bringe sammen angitte grupper i et *in vitro* system eller et *in vivo* system. For eksempel, "å kontakte" IDO enzymet med en forbindelse av oppfinnelsen innbefatter administrering av en forbindelse av foreliggende oppfinnelsen til et individ eller pasient, så som et menneske, som har IDO, så vel som, f.eks., å innføre en forbindelse av oppfinnelsen i en prøve inneholdende et cellulær eller rensset preparat som inneholder IDO enzymet.

20 **[0127]** Som anvendt her, refererer betegnelsen "individ" eller "pasient" som anvendt om hverandre, til en hvilken som helst dyr, inkludert pattedyr, fortrinnsvis mus, rotter, andre gnagere, kaniner, hunder, katter, svin, storfe, sauer, hester, eller primater, og mest foretrukket mennesker.

25 **[0128]** Som anvendt her, refererer betegnelsen "terapeutisk effektiv mengde" til mengden av aktiv forbindelse eller farmasøytisk middel som frembringer biologiske eller medisinske respons i et vev, system, dyr, person eller menneske som søkes av en forsker, veterinær, lege eller annen kliniker.

30 **[0129]** Som anvendt her, refererer betegnelsen "å behandle" eller "behandling" til 1) å hindre sykdommen; f.eks., forebygge en sykdom, tilstand eller lidelse i et individ som kan være predisponert for sykdommen, tilstanden eller lidelsen, men ikke opplever eller viser patologi eller symptomer av sykdommen ennå; 2) inhibering av sykdommen; f.eks. inhibering av en sykdom, tilstand eller lidelse i et individ som opplever eller viser patologien eller symptomer på sykdommen, tilstanden eller lidelse (dvs. å stanse videre utvikling av patologi og/eller symptomer) eller 3) lindring av sykdommen; f.eks., lindring av en sykdom, tilstand eller lidelse i et individ som opplever eller viser patologien eller symptomer på sykdommen, tilstanden eller forstyrrelsen (dvs. reversering av patologi og/eller symptomer).

Kombinasjonsterapi

40 **[0130]** En eller flere ytterligere farmasøytiske midler eller fremgangsmåter for behandling, slik som, f.eks., anti-virale midler, kjemoterapeutiske midler eller andre anti-kreftmidler, immunforsterkere, immunsuppressive midler, stråling, anti-tumor og anti-virale vaksiner, cytokin terapi (f.eks. IL2 kan GM-CSF, osv.), og/eller tyrosin-kinase-inhibitorer, kan benyttes i kombinasjon med forbindelsene av oppfinnelsen ved behandling av IDO-assosierte

sykdommer, lidelser eller tilstander. Agentene kan kombineres med foreliggende forbindelser i en enkelt doseringsform, eller midler kan administreres samtidig eller sekvensielt som separate doseringsformer.

[0131] Egnede antivirale midler som er omfattet for anvendelse i kombinasjon med forbindelsene av oppfinnelsen, kan omfatte nukleosid og nukleotid revers transkriptase-inhibitorer (NRTI), ikke-nukleosid revers transkriptase-inhibitorer (NNRTI), protease-inhibitorer og andre antivirale legemidler.

[0132] Eksempel på egnet NRTI inkluderer zidovudin (AZT); didanosin (ddI); zalcitabin (ddC); stavudin (d4T); lamivudin (3TC); abakavir (1592U89); adefovirdipivoksil [bis (POM)-PMEA]; lobucavir (BMS-180194); BCH-10652; emitricitabine [(-)- FTC]; beta-L-FD4 (også kalt beta-L-D4C og kalt beta-L-2', 3'-dicleoksy-5-fluor-cytidene); DAPD, ((-)-beta-D-2,6, diamino- purin dioksolan); og lodenosin (FddA). Typiske egnede NNRTI inkluderer nevirapin (BI-RG-587); delaviradin (BHAP, U-90152); efavirenz (DMP-266); PNU-142721; AG-1549; MKC-442 (1-(etoksy-metyl)-5-(1-metyletyl)-6-(fenylmetyl)-(2,4 (1H, 3H)-pyrimidindion); og (+)- calanolid A (NSC-675451) og B. Typisk egnede protease hemmere inkluderer saquinavir (Ro 31-8959); ritonavir (ABT-538); indinavir (MK-639); nelfnavir (AG-1343); amprenavir (141 W94); lasinavir (BMS-234475); DMP-450; BMS-2322623; ABT-378; og AG-1 549. Andre antivirale midler innbefatter hydroksyurea, ribavirin, IL-2, IL-12, pentafluorid og Yissum prosjekt No. 11607.

[0133] Passende kjemoterapeutiske eller andre anti-kreft agenter omfatter f.eks., alkylende midler (inkludert, uten begrensning, nitrogensenneper, etylenimine derivater, alkylsulfonater nitrosourea og triazene) som uracil sennep, klormethine, cyklofosfamid (CytosanTM), ifosfamid, melfalan, klorambucil, pipobroman, trietylen-melamin, trietylentiofosforamin, busulfan, karmustin, lomustin, streptozocin, dacarbazin, og temozolomid.

[0134] Ved behandling av melanom, innbefatter egnede midler for anvendelse i kombinasjon med forbindelsene av oppfinnelsen: dakarbazin (DTIC), eventuelt sammen med andre kjemoterapi medikamenter som carmustin (BCNU) og cisplatin; "Dartmouth regime", som består av DTIC, BCNU, cisplatin og tamoksifen; en kombinasjon av cisplatin, vinblastin, og DTIC; eller temozolomid. Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan også kombineres med immunterapi medikamenter, inkludert cytokiner så som interferon-alfa, interleukin 2, og tumornekrosefaktor (TNF) ved behandling av melanom.

[0135] Forbindelser av oppfinnelsen kan også anvendes i kombinasjon med en vaksinerapi ved behandling av melanom. Antimelanom vaksiner ligner, på noen måter, på antiviral vaksiner som brukes til å forebygge sykdommer forårsaket av virus som polio, meslinger og kusma. Svekkede melanom celler eller deler av melanomceller, som kalles antigener, kan injiseres i en pasient for å stimulere kroppens immunsystem til å ødelegge melanomceller.

[0136] Melanomer som er begrenset til armer eller ben kan også bli behandlet med en kombinasjon av midler som inkluderer en eller flere forbindelser av oppfinnelsen, ved hjelp av en hypertermisk isolert perfusjon lem teknikk. Denne behandlingsprotokollen skiller midlertidig en sirkulasjon av involverte lem fra resten av kroppen og injiserer høye doser kjemoterapi inn i arterien som mater lem, og gir dermed høye doser til området av tumor uten å eksponere de indre organene til disse doser som ellers ville forårsake alvorlige bivirkninger. Vanligvis blir fluidet oppvarmet til 102° til 104°F. Melfalan er stoffet som brukes of-

test i fremgangs-måte for cellegiftsbehandling. Dette kan gis med en annen agent som kalles tumornekrosefaktor (TNF) (se avsnittet om cytokiner).

5 **[0137]** Passende kjemoterapeutiske eller andre anti-kreft agenter, omfatter f.eks. antimetabolitter (inkludert, uten begrensning, folsyreantagonister, pyrimidin analoger, purinanaloger og adenosindeaminase hemmere) som metotreksat, 5-fluorouracil, floksuridin, cytarabin, 6 -mercaptapurine, 6-tioguanin, fludarabinforsfat pentostatine, og gemcitabin.

10 **[0138]** Passende kjemoterapeutisk eller andre anti-kreftmidler, omfatter ytterligere, f.eks., visse naturlige produkter og deres derivater (f.eks. vinkaalkaloider, antitumor-antibiotika, enzymer, lymfokiner og epipodofyllotoksiner) som f.eks. vinblastin, vinkristin, vindesin, bleomycin, dactinomycin, daunorubicin, doksorubicin, epirubicin, idarubicin, ara-C, paclitaxel (TAXOL™), mithramycin, deoksykoformycin, mitomycin-C, L-asparaginase, interferoner (spesielt IFNa), etoposid og teniposid.

15 **[0139]** Andre cytotoksiske midler inkluderer navelbene, CPT-11, anastrozole, letrozol, kapecitabin, reloksafine, cyklofosamid, ifosamide, og droloksafin.

20 **[0140]** Også egnede, er cytotoksiske midler som epidophyllotoxin; et antineoplastisk enzym; en topoisomeraseinhibitoren; procarbazin; mitoksantrone; platina-koordinasjonskomplekser så som cis-platin og karboplatin; biologiske responsmodifiserende; vekst-inhibitorer; antihormonale terapeutiske midler; leucovorin; tegafur; og hematopoietiske vekstfaktorer.

25 **[0141]** Andre anti-kreftmidler omfatter antistoff-terapeutika som trastuzumab (Herceptin), antistoffer til ko-stimulerende molekyler slik som CTLA-4, 4-1BB og PD-1 eller antistoffer mot cytokiner (IL-10, TGF-β, osv.).

30 **[0141]** Andre anti-kreftmidler innbefatter også de som blokkerer immuncellemigring, slik som antagonist til kjemokin reseptorer, inkludert CCR2 og CCR4.

35 **[0143]** Andre anti-kreftmidler innbefatter også de som forsterker immunsystemet så som hjelpestoffer eller adoptiv overføring av T-celle.

40 **[0144]** Anti-kreftvaksiner omfatter dendrittiske celler, syntetiske peptider, DNA-vaksiner og rekombinante virus.

45 **[0145]** Fremgangsmåter for sikker og effektiv administrering av de fleste av disse kjemoterapeutiske midlene, er kjent for fagfolk innen teknikken. I tillegg er deres administrasjon beskrevet i standardlitteraturen. For eksempel, administrasjonen av mange av de kjemoterapeutik midlene er beskrevet i "Physicians 'Desk Reference" (PDR, f.eks. 1996-utgaven, Medical Economics Company, Montvale, NJ).

Farmasøytiske formuleringer og doseringsformer

50 **[0146]** Når anvendt som farmasøytiske midler, administreres forbindelsene av oppfinnelsen i form av farmasøytiske preparater som er en kombinasjon av en forbindelse av oppfinnelsen og en farmasøytisk akseptabel bærer. Disse preparater kan fremstilles på en måte som er velkjent innen det farmasøytiske fag, og kan bli administrert ved forskjellige veier, avhengig av lokal eller systemisk behandling som er ønsket og på området som skal behandles. Administrasjon kan være topisk (inkludert oftalmisk, og på slimete membraner inkludert intranasal, vaginal og rektal levering), pulmonær (f.eks. ved inhalasjon eller insufflasjon av pulvere eller aerosoler, inkludert ved forstøver, intratrakeal, intranasal, epidermal og transdermal), okulær, oral eller parenteral. Metoder for okulær levering kan inkludere

lokal administrasjon (øyedråper), subconjunctival, periokulær eller intravitreal injeksjon eller introduksjon av ballongkateter eller oftalmologiske inserts kirurgisk plassert i konjunktivalsekk. Parenteral administrasjon omfatter intravenøs, intraarteriell, subkutan, intraperitoneal eller intramuskulær injeksjon eller infusjon; eller intrakraniell, f.eks. intratekal eller intraventrikulær, administrasjon. Parenteral administrering kan være i form av en enkel bolus dose, eller kan være, f.eks., en kontinuerlig perfusjon pumpe. Farmasøytiske sammensetninger og formuleringer for topisk administrering kan omfatte transdermale plastere, salver, lotions, kremer, geler, dråper, suppositorier, sprayer, væsker og pulvere. Konvensjonell farmasøytiske bærere, pulver, vandige eller oljeaktige baser, fortykningsmidler og lignende, kan være nødvendig eller ønskelig.

[0147] Denne oppfinnelsen omfatter også farmasøytiske preparater som inneholder, som en aktiv ingrediens, en eller flere av forbindelsene av oppfinnelsen ovenfor i kombinasjon med en eller flere farmasøytisk akseptable bærere. Ved fremstilling av preparatene av oppfinnelsen, blir den aktive ingrediensen vanligvis blandet med en eksipient, fortynnet med en eksipient eller innelukket i en slik bærer i form av, f.eks., en kapsel, pose, papir eller annen beholder. Når eksipienten tjener som et fortynningsmiddel, kan den være et fast, halvfast eller flytende materialet, som virker som et vehikkel, bærer eller medium for aktive bestanddel. Dermed kan sammensetningene være i form av tabletter, piller, pulvere, pastiller, poser, kapsler, eliksirer, suspensjoner, emulsjoner, oppløsninger, siruper, aerosoler (som et fast eller i et flytende medium), salver inneholdende f.eks. opp til 10 vekt% av den aktive forbindelsen, myke og harde gelatinkapsler, suppositorier, sterile injiserbare oppløsninger og sterilt pakkepulvere.

[0148] Ved fremstilling av en formulering, kan den aktive forbindelsen bli frest, for å gi den passende partikkelstørrelsen før kombinerings med de andre ingrediensene. Dersom den aktive forbindelsen er vesentlig uoppløselig, kan den bli frest til en partikkelstørrelse på mindre enn 200 mesh. Dersom den aktive forbindelsen er vesentlig oppløselig i vann, kan partikkelstørrelsen justeres ved fresing for å tilveiebringe en vesentlig jevn fordeling i formuleringen, f.eks. omkring 40 mesh.

[0149] Noen eksempler på egnede eksipienter omfatter laktose, dekstrose, sukrose, sorbitol, mannitol, stivelser, akasiegummi, kalsiumfosfat, alginater, dragant, gelatin, kalsiumsilikat, mikrokrySTALLinsk cellulose, polyvinylpyrrolidon, cellulose, vann, sirup og metylcellulose. Formuleringene kan i tillegg innbefatte: smøremidler så som talk, magnesiumstearat og mineralolje; fuktemidler; emulgerings- og suspenderingsmidler; konserveringsmidler så som metyl- og propylhydrokso-benzoater; søtningsmidler og smaksgivende midler. Sammensetningene av oppfinnelsen kan bli formulert slik at de tilveiebringer rask, vedvarende eller forsinket frigivelse av den aktive ingrediensen etter administrasjon til pasienten, ved å anvende prosedyrer som er kjent innen teknikken.

[0150] Sammensetningene kan bli formulert i en enhetsdoseringsform, hvor hver dosering inneholder omtrent 5 til omtrent 100 mg, vanligvis omtrent 10 til omtrent 30 mg, av aktive ingrediens. Betegnelsen "enhetsdoseringsformer" refererer til fysisk diskrete enheter, egnede som enhetsdoseringer for humane individer og andre pattedyr, hvor hver enhet inneholder en forutbestemt mengde av aktivt materiale, beregnet til å produsere ønskede terapeutiske effekt, i assosiasjon med en egnet farmasøytisk eksipient.

[0151] Aktive forbindelsen kan være effektivt over et vidt doseringsområde, og blir generelt administrert i en farmasøytisk effektiv mengde. Det skal imidlertid forstås at meng-

den av forbindelsen som faktisk administreres bestemmes vanligvis av en lege, i henhold til relevante omstendigheter, inkludert tilstand som skal behandles, valgte administreringsrute, faktiske forbindelse som administreres, alderen, vekt og respons hos pasienten, alvorligheten av pasientens symptomer og lignende.

- 5 **[0152]** For fremstilling av faste sammensetninger, så som tabletter, blir det viktigste aktive ingredienset blandet med en farmasøytisk eksipiens, for å danne et fast stoff pre-formulert sammensetning som inneholder en homogen blanding av en forbindelse av oppfinnelsen. Når det refereres til disse pre-formulerings preparater som homogene, blir aktive ingrediensen vanligvis dispergert jevnt i hele preparatet, slik at preparatet lett kan oppdeles i
- 10 like effektive enhetsdoseringsformer, slik som tabletter, piller og kapsler. Dette faste stoff pre-formulering blir deretter delt inn i enhetsdoseringsformer av ovenfor beskrevne type som inneholder f.eks. 0,1 til omtrent 500 mg av aktive ingrediensen av denne oppfinnelse.

- 15 **[0153]** Tablettene eller pillene av oppfinnelsen kan bli belagt eller sammensatt, for å tilveiebringe en doseringsform som gir fordelene med forlenget virkning. For eksempel kan tablettene eller pillene omfatte en indre dose- og en ytre dosekomponent, den sistnevnte i form av en omhylling over den førstnevnte. De to komponentene kan separeres med et enterisk lag som tjener til å motstå desintegrering i magen og tillater den indre komponenten til å passere intakt inn i duodenum eller å bli forsinket i frigivelse. Et utvalg av materialer kan anvendes for slike enteriske lag eller belegg, slike materialer som innbefatter et antall polymere syrer og blandinger av polymere syrer med slike materialer som skjellakk, cetyl-alkohol og celluloseacetat.
- 20 **[0154]** Flytende former hvor forbindelsene og sammensetningene av oppfinnelsen kan inkorporeres for administrasjon oralt eller ved injeksjon, inkluderer vandige oppløsninger, egnede smakstilsatte siruper, vandige eller oljesuspensjoner og smakstilsatte emulsjoner med spiselige oljer slik som bomullsfrøolje, sesam olje, kokosnøttoljeolje, eller peanøttolje, så vel som eliksirer og tilsvarende farmasøytiske bærere.

- 25 **[0155]** Sammensetninger for inhalering eller insufflasjon innbefatter oppløsninger og suspensjoner i farmasøytisk akseptable, vandige eller organiske løsningsmidler, eller blandinger derav, og pulvere. Flytende eller faste preparater kan inneholde egnede farmasøytisk akseptable eksipiens som beskrevet ovenfor. I noen utførelsesformer, blir sammensetningene administrert ved oral eller nasal respiratorisk rute for lokal eller systemisk effekt. Preparater kan forstøves ved anvendelse av inerte gasser. Forstøvede løsninger kan pustes direkte fra forstøvningsanordningen eller forstøvningsanordningen kan være festet til en ansiktsmasker telt eller intermitterende positiv trykkpustemaskin. Oppløsning, suspensjon
- 30 eller pulver sammensetningene kan administreres oralt eller nasalt fra enheter som leverer formuleringen på en hensiktsmessig måte.

- 35 **[0156]** Mengden av forbindelsen eller preparat som administreres til en pasient, varierer avhengig av hva som blir administrert, formålet med administrasjonen, slik som profylakse eller terapi, tilstanden til pasienten, administreringsmåten og lignende. I terapeutisk applikasjoner, kan sammensetningene bli administrert til en pasient som allerede lider av en sykdom i en mengde som kan kureres eller i det minste delvis stanser symptomene på sykdommen og dens komplikasjoner. Effektive doser er avhengig av sykdomstilstand som skal behandles, så vel som av vurderingen til behandlende kliniker avhengig av faktorer så som alvorligheten av sykdommen, alder, vekt og generell tilstand til pasienten, og lignende.
- 40

[0157] Sammensetningene som administreres til en pasient, kan være i form av farmasøytiske preparater som beskrevet ovenfor. Disse preparatene kan steriliseres ved konvensjonelle steriliseringsteknikker, eller kan være sterilfiltrert. Vandige løsninger kan pakkes for anvendelse som de er, eller lyofiliseres, lyofiliserte preparatet kombineres med en steril vandig bærer før administrering. pH-verdien av sammensatte preparater skal typisk være mellom 3 og 11, mer foretrukket fra 5 til 9 og mest foretrukket fra 7 til 8. Det skal forstås at anvendelse av visse av de foregående eksipientene, bærere eller stabiliseringsmidler resulterer i dannelse av farmasøytiske salter.

[0158] Terapeutiske dose av forbindelsene av oppfinnelsen, kan variere i henhold til, f.eks., den spesielle anvendelsen hvor behandling ble gjort, administreringsmåten av forbindelsen, helse og tilstanden til pasienten, og vuderingen av forskrivende lege. Andelen eller konsentrasjon av en forbindelse av oppfinnelsen i et farmasøytisk preparat, kan variere, avhengig av et antall faktorer inkludert doserings, kjemiske karakteristiker (f.eks. hydrofobisitet), og administreringsmåten. For eksempel, kan forbindelsene av oppfinnelsen tilveiebringes i en vandig fysiologisk bufferløsning, inneholdende ca. 0,1 til ca. 10 % vekt/volum av forbindelsen for parenteral administrering. Noen typiske doseområder er fra ca. 1 ug/kg til ca. 1 g/kg kroppsvekt pr dag. I noen utførelsesformer, er doseområdet fra omtrent 0,01 mg/kg til omtrent 100 mg/kg kroppsvekt pr dag. Doseringen vil sannsynligvis avhenge av slike variabler som typen og graden av progresjon av sykdommen eller lidelsen, total helsestatus hos bestemte pasient, relative biologiske effektivitet av valgte forbindelsen, utformingen av eksipiensen, og dens administreringsvei. Effektive doser kan ekstrapoleres fra doseresponskurver avledet fra *in vitro* eller dyremodelltestsystemer.

[0159] Forbindelsene av oppfinnelsen kan også formuleres i kombinasjon med ett eller flere ytterligere aktive ingredienser, som kan innbefatte en hvilken som helst farmasøytisk middel, så som anti-virale midler, vaksiner, antistoffer, immunologiske enhansere, immunundertrykkende midler, antiinflammatoriske midler og lignende.

Merkede komponenter og analysemetoder

[0160] Et annet aspekt av foreliggende oppfinnelsen, vedrører fluorescerende fargestoff, sentrifuge etikett, tungmetall eller radioaktivt merkede forbindelser av oppfinnelsen, som skulle være nyttig, ikke bare i avbildning, men også i analyser, både *in vitro* og *in vivo*, og for lokalisering kvantifisering av IDO enzym i vevsprøver, inkludert menneske, og for å identifisere IDO enzym ligander ved å hemme bindingen av en merket forbindelse. Følgelig beskrevet er IDO enzymanalyser som inneholder slike merkede forbindelser.

[0161] Foreliggende oppfinnelsen omfatter videre isotopisk-merkede forbindelser med Formel I. En «isotopisk» eller «radioaktivt merket» forbindelse er en forbindelse av oppfinnelsen hvor en eller flere atomer er erstattet eller substituert med et atom som har en atommasse eller massenummer forskjellig fra atommassen eller massenummeren som vanligvis finnes i naturen (dvs. naturlig forekommende). Egnede radionuklider som kan inkorporeres i forbindelsene av oppfinnelsen, innbefatter, men er ikke begrenset til, ^2H (også skrevet som D for deuterium), ^3H (også skrevet som T for tritium) ^{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 og ^{131}I . Radionukliden som er inkorporert i foreliggende radiomerkede forbindelsene, skal avhenge av spesifikke anvendelse av radio-merkede- labeled forbindelsen. For eksempel, for *in vitro* IDO enzymerking og konkurran-

seanalyser, forbindelser som inkorporerer ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I eller ^{35}S , skal generelt være mest anvendelige. For radio-bildebehandlingsprogrammer ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br eller ^{77}Br , skal vanligvis være mest nyttig.

5 **[0162]** Det skal forstås at en "radio-merket" eller "merket forbindelse" er en forbindelse som har inkorporert minst én radionuklide. I noen utførelsesformer, radionukliden er valgt fra gruppen som består av ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S og ^{82}Br .

[0163] Syntetiske metoder for inkorporering av radioisotoper i organiske forbindelser er anvendbare for forbindelsene av oppfinnelsen og er velkjente i teknikken.

10 **[0164]** En radiomerket forbindelse av oppfinnelsen kan anvendes i en screening-analyse for å identifisere/evaluere forbindelser. I generelt, kan en nylig syntetisert eller identifisert forbindelse (testforbindelse) evalueres for dens evne til å redusere binding av radiomerkede forbindelsen av oppfinnelsen til IDO enzymet. Følgelig er evnen til en testforbindelse til å konkurrere med radiomerket forbindelse for binding til enzymet IDO korrelerer direkte til dens bindingsaffinitet.

15 Kit

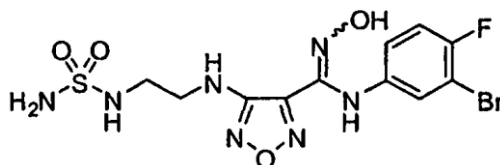
[0165] Denne oppfinnelsen omfatter også farmasøytiske kit som er nyttige, f.eks. ved behandling eller forebygging av IDO-assosierte sykdommer eller lidelser, fedme, diabetes og andre sykdommer, som refereres til som inkluderer ett eller flere beholdere, som inneholder en farmasøytisk sammensetning omfattende en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse 20 se av oppfinnelsen. Slike kit kan videre innbefatte, om ønsket, en eller flere av forskjellige konvensjonelle farmasøytisk kit komponenter, som f.eks. beholdere med en eller flere farmasøytisk akseptable bærere, flere beholdere, osv. slik vil det være åpenbart for fagfolk på området. Instruksjoner, enten som innstikk eller som etiketter, indikerer mengder av komponentene som skal administreres, retningslinjer for administrering, og/eller retningslinjer 25 for blanding av komponentene, kan også være inkludert i settet.

[0166] Oppfinnelsen skal bli beskrevet i nærmere detaljer ved hjelp av spesifikke eksempler. Følgende eksempler gis for illustrerende formål, og er ikke ment å begrense oppfinnelsen på noen måte. Fagmannen på området skal lett gjenkjenne en rekke ikke-kritiske parametre, som kan endres eller modifiseres til å gi i hovedsak de samme resultater. Forbindelsene i eksemplene ble funnet å være inhibitorer av IDO i henhold til ett eller flere av analysene, som er tilveiebrakt her.

EKSEMPLER

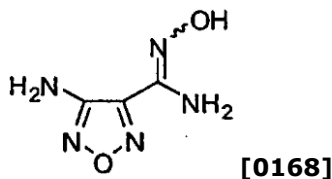
Eksempel 1

35 **4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-brom-4-fluorofenyl)-N'-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid**



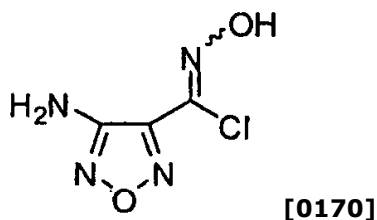
[0167]

Trinn A: 4-amino-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



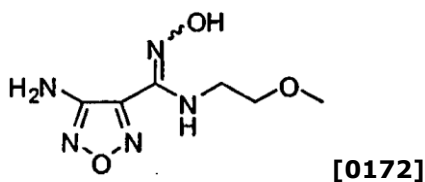
[0169] Malononitril [Aldrich, produkt # M1407] (320,5 g, 5 mol) ble tilsatt til vann (7 L), forvarmet til 45°C og omrørt i 5 min. Resulterende løsningen ble avkjølt i et isbad, og
 5 natriumnitritt (380 g, 5,5 mol) ble tilsatt. Når temperaturen nådde 10°C, ble 6 N saltsyre (55 ml) tilsatt. En mild eksoterm reaksjon fulgt med temperaturen til å nå 16°C. Etter 15 min ble det kalde badet fjernet og reaksjonsblandingen ble omrørt i 1,5 timer ved 16-18°C. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til 13°C og 50% vandig hydroksylamin (990 g, 15 mol) ble tilsatt, alt på en gang. Temperaturen steg til 26°C. Da eksoterm reaksjonen hadde opphørt,
 10 ble det kalde badet fjernet og omrøring fortsatte i 1 time ved 26-27°C, deretter ble den langsomt brakt til tilbakeløp. Tilbakeløp ble opprettholdt i 2 timer og reaksjonsblandingen ble deretter tillatt å avkjøles over natten. Reaksjonsblandingen ble omrørt i et isbad, og 6 N saltsyre (800 ml) ble tilsatt i porsjoner i løpet av 40 minutter til pH 7,0. Omrøring ble fortsatt i isbad ved 5°C. Bunnfallet ble oppsamlet ved filtrering, vasket godt med vann og tørret i en
 15 vakuumovn (50°C) for å gi ønskede produktet (644g, 90%). LCMS for C₃H₆N₅O₂ (M + H)⁺: m/z = 144,0. ¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD): δ 156,0, 145,9, 141,3.

Trinn B: 4-amino-N-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidoylklorid



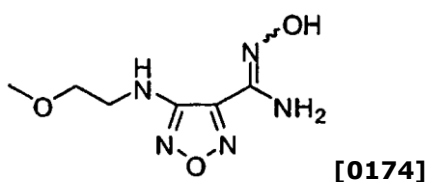
[0171] 4-Amino-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid (422 g, 2,95 mol)
 20 ble tilsatt til en blanding av vann (5,9 L), eddiksyre (3 L) og 6 N saltsyre (1,475 L, 3 eq), og denne suspensjonen ble omrørt ved 42-45°C, inntil fullstendig oppløsning ble oppnådd. Natriumklorid (518 g, 3 eq.) ble tilsatt og denne løsningen ble omrørt i en is/vann/metanol bad. En oppløsning av natriumnitritt (199,5 g, 0,98 q.) i vann (700 ml) ble tilsatt i løpet av 3,5 timer, mens temperaturen ble holdt under 0°C. Etter fullført tilsetning, ble omrøringen
 25 fortsatt i isbad i 1,5 timer, og deretter ble reaksjonsblandingen oppvarmet til 15°C. Bunnfallet ble oppsamlet ved filtrering, vasket godt med vann, tatt opp i etylacetat (3,4 L), behandlet med vannfritt natriumsulfat (500 g) og omrørt i 1 time. Denne suspensjonen ble filtrert gjennom natriumsulfat (200 g), og filtratet ble konsentrert på en rotasjonsfordamper. Residuet ble oppløst i metyl-t-butyleter (5,5 L), behandlet med trekull (40 g), omrørt i 40 minutter og filtrert gjennom Celite. Oppløsningsmidlet ble fjernet i en rotasjonsfordamper og resulterende produktet ble tørket i en vakuumovn (45°C) for å gi ønskede produktet (256 g,
 30 53,4%). LCMS C₃H₄ClN₄O₂ for (M + H)⁺: m/z = 162,9. ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 155,8, 143,4, 129,7.

Trinn C: 4-Amino-*N'*-hydroksy-*N*-(2-metoksyetyl)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



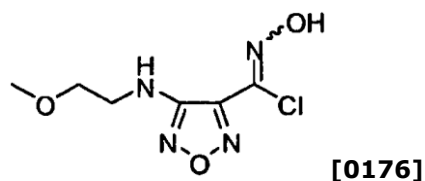
[0173] 4-Amino-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidoylchlorid (200,0 g, 1,23 mol) ble blandet med etylacetat (1,2 L). Ved 0-5°C ble 2-metoksyetylamin [Aldrich, produkt # 143693] (119,0 ml, 1,35 mol) tilsatt i en porsjon, mens røring. Reaksjonstemperaturen steg til 41°C. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til 0 -5°C. Trietylamin (258 ml, 1,84 mol) ble tilsatt. Etter omrøring i 5 min, indikerte LCMS fullført reaksjon. Reaksjonsoppløsningen ble vasket med vann (500 ml) og saltvann (500 ml), tørket over natriumsulfat og konsentrert for å gi ønskede produktet (294 g, 119%) som en uren mørk olje. LCMS for $C_6H_{12}N_5O_3$ (M^+H)⁺: $m/z = 202,3$. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,65 (s, 1H), 6,27 (s, 2H), 6,10 (t, *J* = 6,5 Hz, 1H), 3,50 (m, 2H), 3,35 (d, *J* = 5,8 Hz, 2H), 3,08 (s, 3H).

Trinn D: *N'*-Hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



[0175] 4-Amino-*N'*-hydroksy-*N*-(2-metoksyetyl)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid (248,0 g, 1,23 mol) ble blandet med vann (1 L). Kaliumhydroksyd (210 g, 3,7 mol) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble tilbaketrukket ved 100°C over natten (15 timer). TLC med 50% etylacetat (inneholdende 1% ammoniumhydroksyd) i heksan, indikerte fullført reaksjon (produkt *R_f* = 0,6, utgangsmateriale *R_f* = 0,5). LCMS indikerte også reaksjon ferdigstillelse. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til rom temperatur og ekstrahert med etylacetat (3 x 1 L). Kombinerte etylacetatoppløsningen ble tørket over natrium sulfat og konsentrert for å gi ønskede produktet (201 g, 81%), som et rått, nesten hvitt, fast stoff. LCMS for $C_6H_{12}N_5O_3$ (M^+H)⁺: $m/z = 202,3$ ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,54 (s, 1H), 6,22 (s, 2H), 6,15 (t, *J* = 5,8 Hz, 1 H), 3,45 (t, *J* = 5,3 Hz, 2H), 3,35 (m, 2H), 3,22 (s, 3H).

Trinn E: *N*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksy-imidoyl-klorid

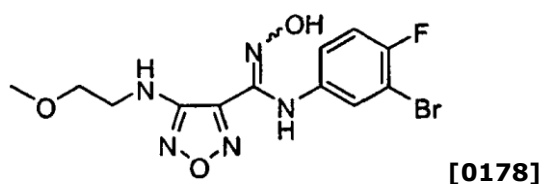


[0177] Ved romtemperatur ble *N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid (50,0 g, 0,226 mol) oppløst i 6,0 M vandig saltsyreløsning

(250 mL, 1,5 mol). Natrium-klorid (39,5 g, 0,676 mol) ble tilsatt, fulgt av vann (250 mL) og etylacetat (250 mL). Ved 3-5°C ble en på forhånd fremstilt vandig løsning (100 mL) av natriumnitritt (15,0 g, 0,217 mol) tilsatt, langsomt i løpet av 1 time. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 3-8°C i 2 timer, og deretter ved romtemperatur over helgen. LCMS indikerte fullført reaksjon. Reaksjonsoppløsningen ble ekstrahert med etylacetat (2 x 200 ml). Kombi-

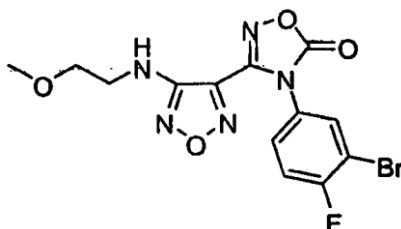
5 nerte etylacetatoppløsningen ble tørket over natriumsulfat og konsentrert til å gi ønskede produktet (49,9 g, 126%), som et urent, hvitt, fast stoff. LCMS $C_6H_{10}ClN_4O_3$ for $(M + H)^+$: $m/z = 221,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 13,43 (s, 1H), 5,85 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 3,50 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 3,37 (dd, $J = 10,8, 5,6$ Hz, 2H), 3,25 (s, 3H).

- 10 Trinn F: *N*-(3-brom-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



- [0179]** *N*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksyimidoyl klorid (46,0 g, 0,208 mol) ble blandet med vann (300 ml). Blandingen ble oppvarmet til
- 15 60°C. 3-Brom-4-fluoranilin [Oakwood produkt, produkt # 013091] (43,6 g, 0,229 mol) ble tilsatt, og blandingen ble omrørt i 10 min. En varm natriumbikarbonat (26,3 g, 0,313 mol) løsning (300 ml vann) ble tilsatt i løpet av 15 min. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 60°C i 20 min. LCMS indikerte fullført reaksjon. Reaksjonsoppløsningen ble avkjølt til romtempera-
- 20 tur, og ekstrahert med etylacetat (2 x 300 ml). Kombinerte etylacetatløsningen ble tørket over natriumsulfat, og konsentrert for å gi ønskede produktet (76,7 g, 98%), som et urent, brunt, fast stoff. LCMS $C_{12}H_{14}BrFN_5O_3$ for $(M + H)^+$: $m/z = 374,0, 376,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,55 (s, 1H), 8,85 (s, 1H), 7,16 (t, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,08 (dd, $J = 6,1, 2,7$ Hz, 1H), 6,75 (m, 1H), 6,14 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 3,48 (t, $J = 5,2$ Hz, 2H), 3,35 (dd, $J = 10,8, 5,6$ Hz, 2H), 3,22 (s, 3H).

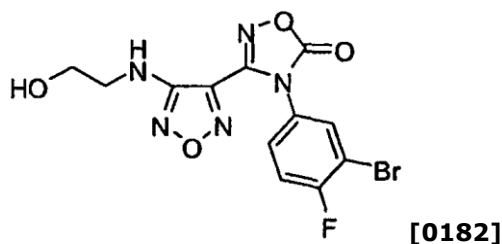
- 25 **[0180]** Trinn G: 4-(3-Brom-4-fluorofenyl)-3-{4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



- [0181]** En blanding av *N*-(3-brom-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid (76,5 g, 0,204 mol), 1,1'-karbonyldiimidazol (49,7 g, 0,307 mol), og etylacetat (720 ml), ble oppvarmet til 60°C, og omrørt i 20 min. LCMS indikerte fullført reaksjon. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur, vasket
- 30

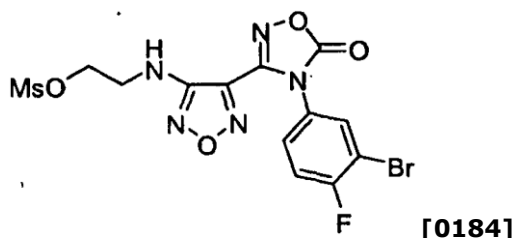
med 1 N HCl (2 x 750 ml), tørket over natriumsulfat og konsentrert for å gi ønskede produktet (80,4 g, 98%), som et urent, brunt, fast stoff. LCMS $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$ for $(M + H)^+$: $m/z = 400,0, 402,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,94 (t, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,72 (dd, $J = 9,1, 2,3$ Hz, 1H), 7,42 (m, 1H), 6,42 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,46 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 3,36 (t, $J = 5,8$ Hz, 2H), 3,26 (s, 3H).

Trinn H: 4-(3-Brom-4-fluorofenyl)-3-{4-[(2-hydroksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



[0183] 4-(3-Brom-4-fluorofenyl)-3-{4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (78,4 g, 0,196 mol) ble oppløst i diklormetan (600 ml). Ved $-67^\circ C$ ble borttribromid (37 ml, 0,392 mol) tilsatt, i løpet av 15 min. Reaksjonsblandingen ble varmet opp til $-10^\circ C$ i 30 min. LCMS indikerte fullført reaksjon. Reaksjon ble omrørt ved romtemperatur i 1 time. Ved $0-5^\circ C$ ble reaksjonsblandingen langsomt stanset med mettet natriumbikarbonat løsning (1,5 L) over 30 min. Reaksjonstemperaturen steg til $25^\circ C$. Reaksjonsblandingen ble ekstrahert med etylacetat (2-x 500 ml, med første ekstraksjon organiske lag på bunnen og den andre ekstraksjon organiske lag på toppen). Kombinerte organiske lag ble tørket over natriumsulfat og konsentrert for å gi ønskede produktet (75 g, 99%), som et urent, brunt, fast stoff. LCMS $C_{12}H_{10}BrFN_5O_4$ for $(M + H)^+$: $m/z = 386,0, 388,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,08 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1H), 7,70 (m, 1H), 7,68 (t, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,33 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,85 (t, $J = 5,0$ Hz, 1H), 3,56 (dd, $J = 10,6, 5,6$ Hz, 2H), 3,29 (dd, $J = 11,5, 5,9$ Hz, 2H).

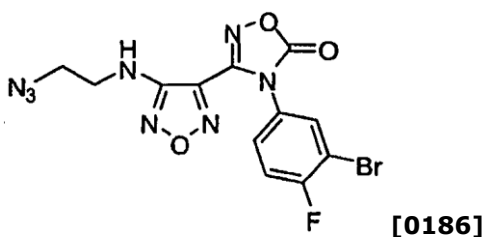
Trinn I: 2-({4-[4-(3-Brom-4-fluorofenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etylmetansulfonat



[0185] Til en løsning av 4-(3-brom-4-fluorofenyl)-3-{4-[(2-hydroksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (1,5 kg, 3,9 mol, som inneholder også noen av de tilsvarende brom-forbindelse) i etylacetat (12 L), var tilsatt metansulfonylchlorid (185 ml, 2,4 mol) dråpevis, i løpet av 1 time ved romtemperatur. Trietylamin (325 ml, 2,3 mol) ble tilsatt dråpevis, i løpet av 45 min, hvor reaksjonstemperaturen øket til $35^\circ C$. Etter 2 timer

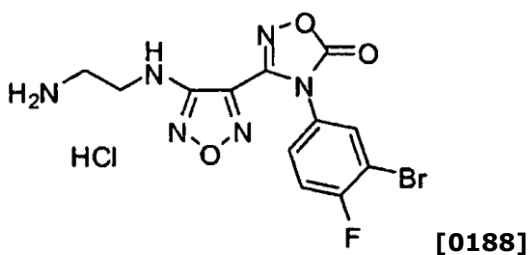
ble reaksjonsblandingen vasket med vann (5 L), saltvann (1 L), tørket over natriumsulfat, kombinert med 3 flere reaksjoner av samme størrelse, og løsningsmidlene ble fjernet i vakuum, for å gi ønskede produktet (7,600 g, kvantitativt utbytte), som et gyldenbrunt, fast stoff. LCMS for $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$ ($M+Na$)⁺: m/z = 485,9, 487,9. 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,08 (dd, J = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,58 (t, J = 8,7 Hz, 1H), 6,75 (t, J = 5,9 Hz, 1H), 4,36 (t, J = 5,3 Hz, 2H), 3,58 (dd, J = 11,2, 5,6 Hz, 2H), 3,18 (s, 3H).

Trinn J: 3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



10 **[0187]** Til en oppløsning av 2-({4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1, 2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl metansulfonat (2,13 kg, 4,6 mol, som inneholder også en del av den tilsvarende brom-forbindelsen) i dimetylformamid (4 L), under omrøring i en 22 L kolbe, ble det tilsatt natriumazid (380 g, 5,84 mol). Reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved 50°C i 6 timer, helt over i is/vann (8 L), og ekstrahert med 1: 1 etylacetat: heptan (20L). Det organiske laget ble vasket med vann (5 L) og saltvann (5 L), og løsningsmidlene ble fjernet i vakuum, for å gi ønskede produktet (1,464 g, 77%), som et gyldenbrunt, fast stoff. LCMS for $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: m/z = 433,0, 435,0. 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,08 (dd, J = 6,2, 2,5 Hz, 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).

20 Trinn K: 3-{4-[(2-Aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on hydroklorid

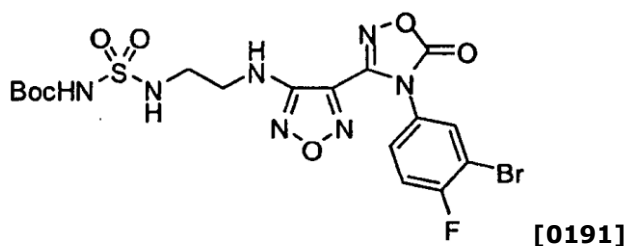


25 **[0189]** Natriumjodid (1,080 g, 7,2 mol) ble tilsatt til 3-{4-[(2-azidoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (500 g, 1,22 mol) i metanol (6 liter). Blandingen ble omrørt i 30 min, hvor en mild eksoterm reaksjon ble observert. Klortrimetylsilan (930 ml, 7,33 mol) ble tilsatt som en løsning i metanol (1 L) dråpevis, ved en hastighet slik at temperaturen ikke overskred 35°C, og reaksjonen ble tillatt å omrøres i 3,5 timer ved omgivelsestemperatur. Reaksjonsblandingen ble nøytralisert med 33 vekt% oppløsning av natriumtiosulfat pentahydrat i vann (~1,5 L), fortynnet med vann (4 liter), og

pH ble forsiktig justert til 9 med fast kaliumkarbonat (250 g – tilsettes i små porsjoner: se skumming). Di-*tert*-butyldikarbonat (318 g, 1,45 mol) ble tilsatt, og reaksjonsblandingen ble tillatt å omrøres ved romtemperatur. Ytterligere kaliumkarbonat (200 g) ble tilsatt i 50 g porsjoner i løpet av 4 timer, for å sikre at pH-verdien fremdeles var ved eller over 9. Etter omrøring ved romtemperatur over natten, det faste stoffet ble filtrert, triturert med vann (2 L), og deretter med MTBE (1,5 L). Totalt 11 nedfarter ble utført (5,5 kg, 13,38 mol). Kombinerte faste stoffer ble triturert med 1: 1 THF: diklormetan (24 L, 4 kjører i en 20 L rotasjonsfordamper kolbe, 50°C, 1 h), filtrert, og vasket med diklormetan (3 liter hver kjøring), for å gi et nesten hvitt fast stoff. Det urene materialet ble oppløst ved 55°C tetrahydrofuran (5 ml/g), ble behandlet med avfargende karbon (2 vekt%), og silikagel (2 vekt%), og filtrert varmt gjennom celitt, for å tilveiebringe produktet som et nesten hvitt faststoff (5,122 g). Kombinerte MTBE, THF og diklormetan filtrater ble konsentrert i vakuum, og kromatografert (2 kg silikagel, heptan med en 0-100% etylacetat-gradient, 30 L) for å gi mer produkt (262 g). Kombinerte faste stoffer ble tørket til en konstant vekt i en konveksjonsovn (5,385 g, 83%).

[0190] I en 22 l kolbe ble tilsatt hydrogenklorid (4 N løsning i 1,4-dioksan, 4 L, 16 mol). *tert*-Butyl-[2-({4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl]karbammat (2315 g, 4,77 mol) ble tilsatt som et faststoff i porsjoner, i løpet av 10 min. Oppslemmingen ble omrørt ved romtemperatur, og ble gradvis en tykk paste som ikke kunne røres. Etter å ha stått over natten ved romtemperatur, ble paste oppslemmet i etylacetat (10 L), filtrert, oppslemmet på nytt i etylacetat (5 L), filtrert, og tørket til en konstant vekt for å gi ønskede produktet som et hvitt, fast stoff (kombinert med andre kjøringer, 5 kg utgangsmaterialet ladet, 4,113 g, 95%). LCMS $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$ for $(M + H)^+$: $m/z = 384,9, 386,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,12 (m, 4H), 7,76 (m, 1H), 7,58 (t, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,78 (t, $J = 6,1$ Hz, 1H), 3,51 (dd, $J = 11,8, 6,1$ Hz, 2H), 3,02 (m, 2H).

Trinn L: *tert*-Butyl({[2-({4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl]amino}sulfonyl)karbammat

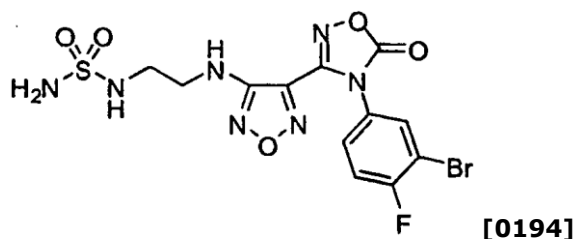


[0192] En 5 liters rundbunnet kolbe ble fylt med klorsulfonylisocyanat [Aldrich, produkt # 142662] (149 mL, 1,72 mol) og diklormetan (1,5 L), og ble avkjølt ved hjelp av et isbad til 2°C. *tert*-Butanol (162 ml, 1,73 mol) i diklormetan (200 ml) ble tilsatt dråpevis ved en hastighet slik at temperaturen ikke overskred 10°C. Resulterende løsning ble omrørt ved romtemperatur i 30-60 min, for å tilveiebringe *tert*-butyl-[klorsulfonyl]karbammat.

[0193] En 22 l kolbe ble fylt med 3-{4-[(2-aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on-hydroklorid (661 g, 1,57 mol) og 8,5 L diklormetan. Etter avkjøling til -15°C med en is/salt-bad, løsning av *tert*-butyl-[klorsulfonyl]-

karbamat (fremstilt som ovenfor) ble tilsatt ved en hastighet slik at den temperaturen fikk ikke overstige -10°C (tilsetningstid 7 min). Etter omrøring i 10 minutter, ble trietylamin (1,085 ml, 7,78 mol) tilsatt ved en hastighet slik at temperaturen ikke overskred -5°C (tilsetningstid 10 minutter). Det kalde badet ble fjernet, reaksjonsblandingen ble tillatt til å kunne bli oppvarmet til 10°C , delt i to porsjoner, og nøytralisert med 10% konsentrert HCl (4,5 L hver porsjon). Hver porsjon ble overført til en 50 l skilletrakt, og fortynnet med etylacetat for å oppløse hvite fast stoffet fullstendig (~ 25 L). Lagene ble separert, og det organiske laget ble vasket med vann (5 L), saltvann (5 liter), og løsningsmidlene ble fjernet i vakuum, for å gi et gråhvitt, fast stoff. Faste stoffet ble trituret med MTBE (2 x 1,5 liter), og tørket til en konstant vekt for å gi et hvitt, fast stoff. Totalt 4113 g utgangsmateriale ble prosessert på denne måten (5,409 g, 98%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 10,90 (s, 1H), 8,08 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,59 (t, $J = 8,6$ Hz, 1H), 6,58 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,38 (dd, $J = 12,7, 6,2$ Hz, 2H), 3,10 (dd, $J = 12,1, 5,9$ Hz, 2H), 1,41 (s, 9H).

Trinn M: *N*-[2-(4-[4-(3-Brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino)etyl]sulfamid



[0195] Til en 22 liters kolbe, inneholdende 98: 2 trifluoreddiksyre: vann (8,9 L), ble *tert*-butyl-([2-(4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino)etyl]amino)sulfonyl)karbamat (1931 g, 3,42 mol) tilsatt, i porsjoner, i løpet av 10 minutter. Resulterende blanding ble omrørt ved romtemperatur i 1,5 t, midlene ble fjernet i vakuum, og rensset med diklormetan (2 L). Resulterende fast stoff ble behandlet en gang til med fersk 98: 2 trifluoreddiksyre: vann (8,9 L), oppvarmet i 1 time ved $40-50^{\circ}\text{C}$, oppløsningsmidlene ble fjernet i vakuum, og rensset med diklormetan (3 x 2 liter). Det resulterende hvite faste stoffet ble tørket i en vakuum-tørkeovn ved 50°C over natten. Totalt 5409 g ble behandlet på denne måten (4,990 g, kvant. Utbytte). LCMS $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{BrFN}_7\text{O}_5\text{S}$ for $(\text{M} + \text{H})^+$: $m/z = 463,9, 465,9$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8,08 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,59 (t, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,67 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 6,52 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,38 (dd, $J = 12,7, 6,3$ Hz, 2H), 3,11 (dd, $J = 12,3, 6,3$ Hz).

Trinn N: 4-(2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl)amino)-*N*-(3-brom-4-fluorfenyl)-*N'*-hydrokso-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

[0196] Til en rå blanding av *N*-[2-(4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino)etyl]sulfamid (2,4 mol), inneholdende restmengder av trifluoreddiksyre, under omrøring i en 22 L kolbe, ble THF (5 L) tilsatt. Resulterende løsning ble avkjølt til 0°C ved hjelp av et isbad, og 2 N NaOH (4 L) ble tilsatt ved en hastighet slik at temperaturen ikke overskred 10°C . Etter omrøring ved omgivelsestemperatur i 3 timer (LCMS indikerte ikke noe utgangsmateriale igjen), pH ble justert til 3-4 med

konsentrert HCl (rundt 500 ml). THF ble fjernet i vakuum, og resulterende blandingen ble ekstrahert med etylacetat (15 L). Det organiske laget ble vasket med vann (5 L), saltvann (5 L), og løsningsmidlene ble fjernet i vakuum for å gi et fast stoff. Faste stoffet ble triturerert med MTBE (2 x 2 liter), kombinert med tre andre reaksjoner av samme størrelse, og tørket over natten i en konveksjonsovn, for å gi et hvitt, fast stoff (3,535 g). Faste stoffet ble rekrystallisert (3 x 22 L-kolber, 2: 1 vann: etanol, 14,1 L hver kolbe), og tørket i en 50°C konveksjonsovn, til en konstant vekt, for å gi tittelforbindelsen som et nesten hvitt fast stoff (3,290 g, 78%). LCMS for $C_{11}H_{14}BrFN_7O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 437,9, 439,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,51 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 7,17 (t, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,11 (dd, $J = 6,1, 2,7$ Hz, 1H), 6,76 (m, 1H), 6,71 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 6,59 (s, 2H), 6,23 (t, $J = 6,1$ Hz, 1 H), 3,35 (dd, $J = 10,9, 7,0$ Hz, 2H), 3,10 (dd, $J = 12,1, 6,2$ Hz, 2H).

[0197] Det endelige produktet var en vannfri, krystallinsk, fast stoff. Vanninnholdet ble bestemt til å være mindre enn 0,1% ved Karl Fischer-titrering. Røntgenpulver - diffraksjon (XRPD) mønsteret ble bestemt (Rigaku Miniflex Powder Diffractometer; Cu på 1,054056Å med K β filter; starte vinkel = 3, stopp vinkel = 45, sampling = 0,02, skannehastighet = 2), og er vist i Figur 1. En liste av 2-theta toppene er gitt i Tabell 1 nedenfor. Smelteområde av faste stoffet ble bestemt på en Mettler Toledo Differensial Skanning kalorimetri (DSC) 822 instrument. Prøven ble oppvarmet fra 40°C til 240°C, ved en oppvarmingshastighet på 10°C pr min. DSC termogram (Figur 2) viser en T_{onset} ved 162,7°C og T_{peak} på 163,8°C. Termogravimetrisk analyse (TGA) (Figur 3) viste et vekttap på 0,3%, oppvarming fra 20°C til 150°C, ved en oppvarmingshastighet på 10°C/min, ved anvendelse av en TA Instrument Q500.

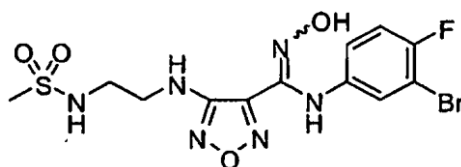
Tabell 1

2-Theta	Høyde	H%
3,9	74	1,1
7,2	119	1,8
13,4	180	2,8
14,0	150	2,3
15,9	85	1,3
18,4	903	13,9
18,9	1469	22,7
21,3	519	8
21,8	6472	100
22,7	516	8
23,9	2515	38,9
24,8	804	12,4
25,3	182	2,8
27,4	476	7,4
28,6	354	5,5
29,2	1767	27,3
29,9	266	4,1
30,6	773	11,9
31,2	379	5,8

2-Theta	Høyde	H%
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

Eksempel 2

***N*-(3-brom-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid**

**[0198]**

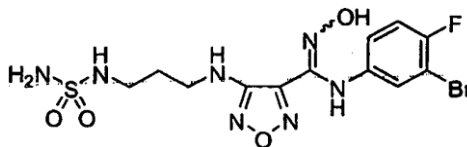
5

[0199] Tittelforbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 17, trinn E, under anvendelse av *N'*-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid og 3-brom-4-fluoranilin [Oakwood Products, Inc., produkt # 013091] som utgangsmaterialer. LCMS $C_{12}H_{15}BrFN_6O_4S$ for $(M + H)^+$: $m/z = 437,0, 439,0$. 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).

10

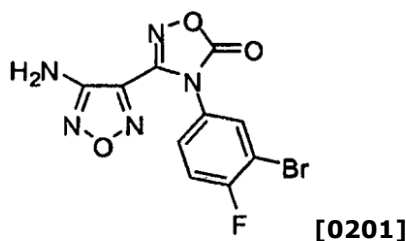
Eksempel 3

4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-*N*-(3-brom-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroxy-1,2,5-oksadiazol-3-karboximidamid

**[0200]**

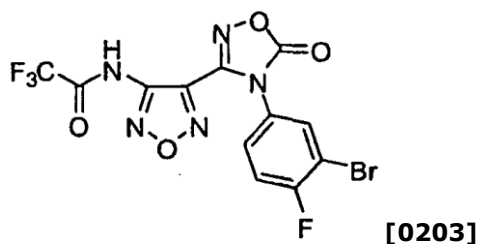
15

Trinn A: 3-(4-amino-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



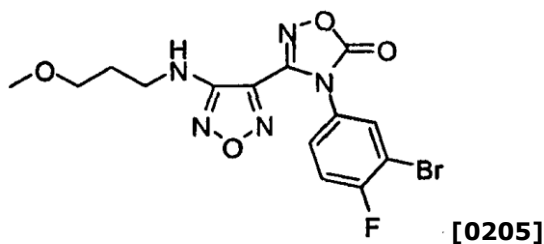
[0202] Den ønskede forbindelse ble fremstilt i henhold til prosedyren ifølge Eksempel 5, trinn A, ved anvendelse av 4-amino-*N*-(3-brom-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid [se U.S. patentskrift nr. App. Pub. No. 2006/0258719] som utgangsmaterialet i 98% utbytte. LCMS $C_{10}H_6BrFN_5O_3$ for $(M + H)^+$: $m/z = 342,0, 344,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO d_6): δ 8,06 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1H), 7,72 til 7,67 (m, 1H), 7,58 (dd, $J = 8,7, 8,7$ Hz, 1H), 6,60 (s, 2H).

10 Trinn B: *N*-{4-[4-(3-Brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-2,2,2-trifluoroacetamid



[0204] Den ønskede forbindelse ble fremstilt i henhold til prosedyren ifølge Eksempel 5, trinn B, ved anvendelse av 3-(4-amino-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on som utgangsmaterialet i 81% utbytte. LCMSC til $C_{12}H_5BrF_4N_5O_4$ for $(M + H)^+$: $m/z = 437,9, 439,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,92 til 7,89 (m, 1H), 7,54 til 7,52 (m, 2H).

Trinn C: 4-(3-Brom-4-fluorfenyl)-3-{4-[(3-metoksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on

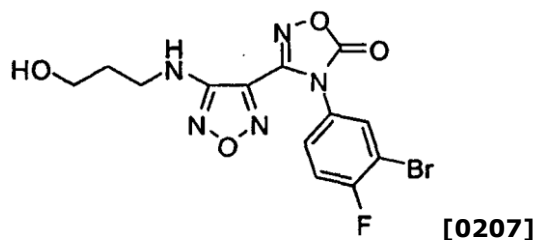


20

[0206] En løsning av 3-metoksypropan-1-ol [Fluka produkt # 38457] (3,1 ml, 32 mmol) og trifenyfosfin (8,4 g, 32 mmol) i tetrahydrofuran (93 ml) ved 0°C, ble behandlet med diisopropyl-azodikarboksyilat (6,7 ml, 34 mmol) dråpevis. Reaksjonsblandingen ble om-

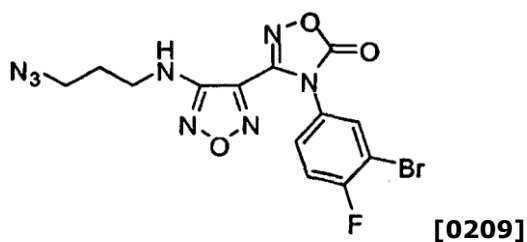
rørt ved 0°C i 15 minutter, ble behandlet med en løsning av *N*-{4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-2,2,2-trifluoracetamid (10 g, 23 mmol), i tetrahydrofuran (47ml), og ble omrørt ved 25°C i 72 timer. Reaksjonsblandingen ble konsentrert, fortynnet med etylacetat (200 ml), behandles med trifluoreddiksyre (20 ml) og vann (20 ml), og oppvarmet ved 50°C i 6 timer. Reaksjonsblandingen ble konsentrert, fortynnet med etylacetat (200 ml), og vasket med vann (3 x 80 ml), mettet natriumbikarbonat (2 x 80 ml) og saltvann (80 ml), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og konsentrert til en uren rest. Dette materialet var renses på silikagel for å gi ønskede produktet (6,4 g, 54%) som et hvitt, fast stoff. LCMS for C₁₄H₁₄ BrFN₅O₄ (M+H)⁺: m/z = 414,0, 416,0.

Trinn D: 4-(3-Brom-4-fluorfenyl)-3-{4-[(3-hydroksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



[0208] En løsning av 4-(3-brom-4-fluorfenyl)-3-{4-[(3-metoksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (6,3 g, 14 mmol) i diklormetan (60 ml), ved -78°C, ble behandlet med 1M borttribromid i diklormetan (28 ml, 28 mmol), og omrørt ved 25°C i 2 timer. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til 0°C, og bråstoppet med mettet natriumbikarbonat (100 ml). Det vandige laget ble separert og ekstrahert med diklormetan (2 x 150 ml). De kombinerte organiske lagene ble vasket med saltvann (100 ml), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og konsentrert til et rått nesten hvitt fast stoff. Dette materialet ble renses på silikagel for å gi ønskede produktet (4,0 g, 73%), som et hvitt, fast stoff. LCMS C₁₃H₁₂BrFN₅O₄ for (M + H)⁺: m/z = 400,0, 402,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,07 (dd, *J* = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,72 til 7,68 (m, 1H), 7,59 (dd, *J* = 8,8, 8,6 Hz, 1H), 6,54 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 4,60 (t, *J* = 5,1 Hz, 1H), 3,48 til 3,43 (m, 2H), 3,32 til 3,26 (m, 2H), 1,74 til 1,67 (m, 2H).

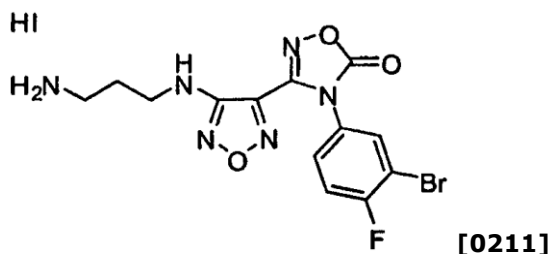
Trinn E: 3-{4-[(3-Azidopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



[0210] En løsning av 4-(3-brom-4-fluorfenyl)-3-{4-[(3-hydroksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (3,0 g, 7,5 mmol) i diklormetan (27 ml), ble

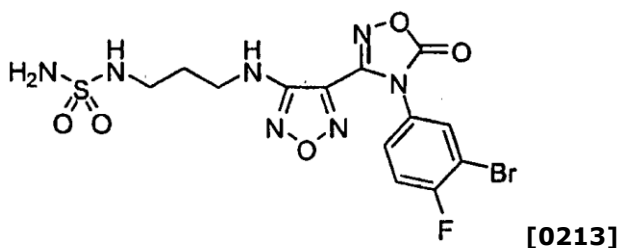
behandlet med metansulfonylchlorid (0,75 ml, 9,7 mmol) og *N, N*-diisopropyletylamin (2,6 ml, 15 mmol), og omrørt ved 25°C i 2 timer. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med vann (20 ml), og ekstrahert med diklormetan (20 ml). Det organiske laget ble separert, tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og konsentrert for å gi mesylatet, som ble anvendt uten ytterligere rensing. En løsning av rå mesylatet i *N, N*-dimetylformamid (24 ml) ble behandlet med natriumazid (0,73 g, 11 mmol), og oppvarmet ved 85°C i 2 timer. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med etylacetat (300 ml), og vasket med vann (100 ml), mettet natriumbikarbonat (100 ml), og saltløsning (100 ml), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og konsentrert for å gi ønskede produktet (3,2 g, 99%). Dette materiale ble anvendt uten ytterligere rensing. LCMS for $C_{13}H_{10}BrFN_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: m/z = 446,9, 448,9.

Trinn F: 3-{4-[(3-Aminopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on hydroiodid



[0212] En løsning av 3-{4-[(3-azidopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (2,0 g, 4,7 mmol) i metanol (36 ml), ble behandlet med natriumjodid (4,2 g, 28 mmol), og omrørt ved 25°C i 5 min. Reaksjonsblandingen ble behandlet med en oppløsning av klortrimetylsilan (3,6 ml, 28 mmol) i metanol (7 ml), tilsatt dråpevis og omrørt ved 25°C i 40 min. Reaksjonsblandingen ble langsomt hellet i en løsning av natriumtiosulfat (5,0 g, 32 mmol) i vann (200 ml), som ble avkjølt ved 0°C. Det faste stoffet, som var utfelt, ble filtrert, vasket med vann og tørket for å gi ønskede produktet (2,3 g, 93%) som et fast stoff. LCMS $C_{13}H_{13}BrFN_6O_3$ for ($M+H$)⁺: m/z = 399,0, 401,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,08 (dd, *J* = 6,1, 2,3 Hz, 1H), 7,74 til 7,70 (m, 1H), 7,60 (dd, *J* = 8,8, 8,6 Hz, 1H), 7,22 (br s, 2H), 6,69 (br s, 1H), 2,81 til 2,77 (m, 2H), 1,86 til 1,79 (m, 2H).

Trinn G: *N*-[3-({4-[4-(3-Brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino) propyl]sulfamid



[0214] En oppløsning av 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4 oksadiazol 5(4H)-on-hydrojodid (150 mg, 0,28 mmol) og sulfon-

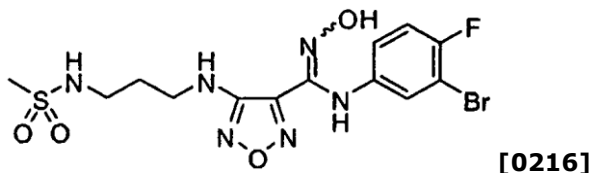
amid (160 mg, 1,7 mmol) i pyridin (2,5 ml) ble varmet i en mikrobølgeovn ved 130°C i 10 min. Reaksjonsblandingen ble konsentrert for å gi en uren rest. Dette materialet ble renset ved preparativ LCMS for å gi ønskede produktet (96 mg, 71%) som et fast stoff. LCMS $C_{13}H_{14}BrFN_7O_5S$ for $(M + H)^+$: $m/z = 478,0, 480,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,07 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1H), 7,73 til 7,69 (m, 1H), 7,59 (dd, $J = 8,8, 8,6$ Hz, 1 H), 6,57 til 6,51 (m, 4H), 3,31 til 3,26 (m, 2H), 2,92 til 2,87 (m, 2H), 1,79 til 1,72 (m, 2H).

Trinn H: 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-*N*-(3-brom-4-fluorofenyl)-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboximidamid

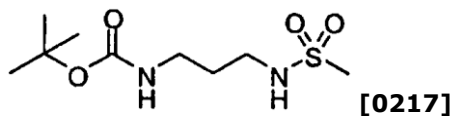
[0215] En løsning av *N*-[3-({4-[4-(3-brom-4-fluorofenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)propyl]sulfonamid (35 mg, 73 mmol) i metanol (1 ml), ble behandlet med 2 M NaOH (0,3 ml, 0,6 mmol), og omrørt ved 25°C i 30 min. Reaksjonsblandingen ble behandlet med eddiksyre (50 μ l, 0,9 mmol), filtrert og renset ved preparativ LCMS for å gi ønskede produktet (14 mg, 42%) som et fast stoff. LCMS $C_{12}H_{16}BrFN_7O_4S$ for $(M + H)^+$: $m/z = 451,8, 453,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,5 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 7,17 (dd, $J = 8,8, 8,6$ Hz, 1H), 7,09 (dd, $J = 6,1, 2,7$ Hz, 1H), 6,76 til 6,72 (m, 1H), 6,56 (dd, $J = 6,1, 6,1$ Hz, 1H), 6,51 (s, 2H), 6,17 (dd, $J = 5,9, 5,9$ Hz, 1H), 3,27 til 3,21 (m, 2H), 2,94 til 2,88 (m, 2H), 1,78 til 1,71 (m, 2H).

Eksempel 4

***N*-(3-Brom-4-fluorofenyl)-*N'*-hydroksy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboximidamid**

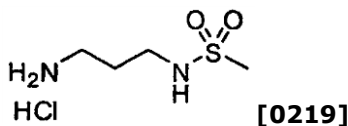


Trinn A: *tert*-Butyl-{{3-[(metylsulfonyl)amino] propyl}karbammat



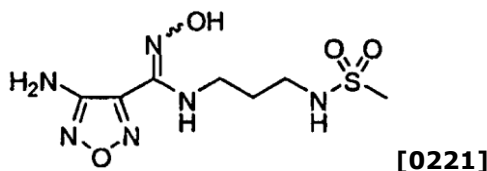
[0218] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren av Eksempel 17, trinn A, ved anvendelse av *N*-(3-aminopropyl) (*tert*-butoksy)karboksamid [Aldrich produkt # 436992] som utgangsmaterialet i 70% utbytte. LCMS for $C_4H_{13}N_2O_2S$ ($[M-Boc+H]^+$): $m/z = 153,1$.

Trinn B: *N*-(3-Aminopropyl) metansulfonamid-hydroklorid



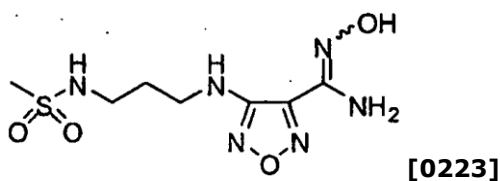
[0220] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren av Eksempel 17, trinn B, ved å bruke *tert*-butyl- $\{3-[(\text{metylsulfonyl})\text{amino}] \text{propyl}\}$ karbamat som utgangsmaterialet. LCMS $\text{C}_4\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ for $(\text{M} + \text{H})^+$: $m/z = 153,1$.

Trinn C: 4-amino-*N'*-hydroksy-*N*- $\{3-[(\text{metylsulfonyl})\text{amino}] \text{propyl}\}$ -1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



[0222] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren av Eksempel 17, trinn C, ved anvendelse av *N*-(3-aminopropyl) metansulfonamid hydroklorid og 4-amino-*N*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidoylchlorid [fremstilt i henhold til Eksempel 1, trinn A til B] som utgangsmaterialer i 19% utbytte.

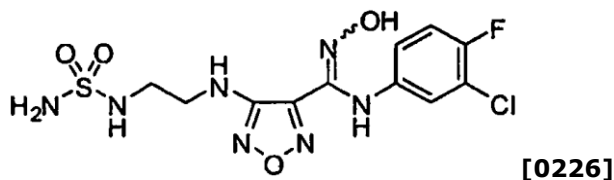
Trinn D: *N'*-hydroksy-4- $\{3-[(\text{metylsulfonyl})\text{amino}] \text{propyl}\}$ amino-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



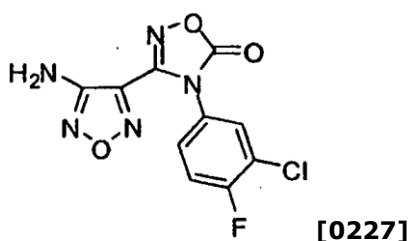
[0224] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren av Eksempel 17, trinn D, under anvendelsen av 4-amino-*N'*-hydroksy-*N*- $\{3-[(\text{metylsulfonyl})\text{amino}] \text{propyl}\}$ -1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid som utgangsmaterialet. LCMS for $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$ $(\text{M} + \text{H})^+$: $m/z = 279,0$.

Trinn E: *N*-(3-Brom-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-4- $\{3-[(\text{metylsulfonyl})\text{amino}] \text{propyl}\}$ amino-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

[0225] Tittelforbindelsen ble fremstilt ifølge fremgangsmåten fra Eksempel 17, trinn E, ved bruk av *N'*-hydroksy-4- $\{3-[(\text{metylsulfonyl})\text{amino}] \text{propyl}\}$ amino-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid og 3-brom-4-fluoranilin [Oakwood Products, Inc., produkt # 013091] som utgangsmaterialet i 12% utbytte. LCMS $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{BrFN}_6\text{O}_4\text{S}$ for $(\text{M} + \text{H})^+$: $m/z = 451,0$, 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).

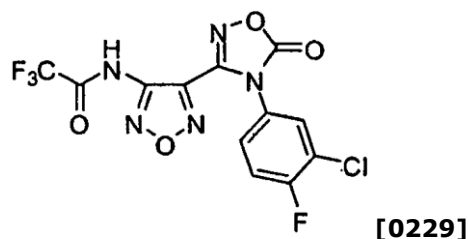
Eksempel 5**4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-*N*-(3-klor-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid**

- 5 Trinn A: 3-(4-Amino-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-4-(3-klor-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



- [0228]** En oppløsning av 4-amino-*N*-(3-klor-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid (80 g, 0,29 mol) [se US patentskrift nr. App. Pub. Nummer 10 2006/0258719] i tetrahydrofuran (500 ml), ble behandlet med en oppløsning av 1,1'-karbonyldiimidazol (53 g, 0,32 mol) i tetrahydrofuran (200 ml), og oppvarmet ved tilbakeløp i 1 time. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til 25°C og konsentrert til et punkt hvor en stor mengde fast stoff ble utfelt. Den heterogene blandingen ble fortynnet med etylacetat (1,5 L) og vasket med 1 N HCl (2 x 300 ml), vann (300 ml) og saltvann (200 ml). Det organiske 15 laget ble separert, tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og konsentrert for å gi ønskede produktet (88 g, kvantitativt) som et nesten hvitt fast stoff. Dette materialet ble anvendt uten ytterligere rensing. LCMS $C_{10}H_6ClFN_5O_3$ for $(M+H)^+$: $m/z = 298,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,96 (dd, $J = 6,6, 2,3$ Hz, 1H), 7,69 til 7,60 (m, 2H), 6,60 (s, 2H).

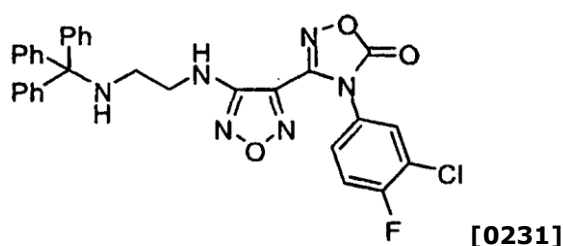
- Trinn B: *N*-{4-[4-(3-klor-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-2,2,2-trifluoroacetamid
- 20



- [0230]** En oppløsning av 3-(4-amino-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-4-(3-klor-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (15 g, 50 mmol) i diklormetan (120 ml), ble behandlet med trifluoreddiksyreanhydrid (14 ml, 100 mmol), avkjølt til 0°C, og behandlet med pyridin (8,2 25 ml, 100 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 25°C i 10 minutter, avkjølt til 0°C og

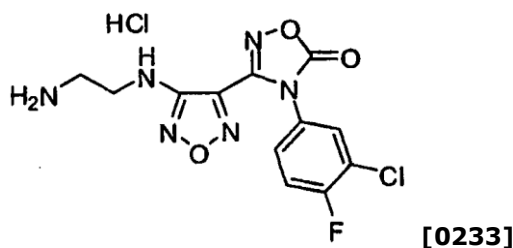
stanset med vann (10 ml). Reaksjonsblandingen ble fortynnet med etylacetat (500 ml) og vasket med 1 N HCl (300 ml), vann (2 x 200 ml), og saltløsning (200 ml). Det organiske laget ble separert, tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og konsentrert til ~ 50 ml volum. Denne oppløsningen ble oppvarmet (~ 40-50°C) og behandlet med heksaner (600 ml) under kraftig omrøring, etterfulgt av petroleumseter (200 ml). Blandingen ble omrørt ved 0°C i 30 minutter, og det faste stoffet ble oppsamlet ved filtrering, vasket med heksaner, og tørket for å gi ønskede produktet (19,7 g, 99%) som et hvitt, fast stoff. LCMS $C_{12}H_5ClF_4N_5O_4$ for $(M+H)^+$: $m/z = 394,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,82 (dd, $J = 6,6, 2,5$ Hz, 1H), 7,59 (dd, $J = 9,0, 9,0$ Hz, 1H), 7,52 til 7,47 (m, 1 H).

- 10 Trinn C: 4-(3-klor-4-fluorfenyl)-3-(4-{[2-(tritylamino)etyl]amino}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on

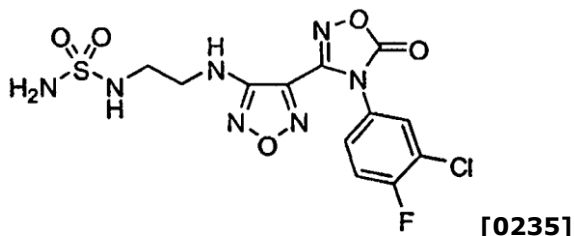


- [0232]** En oppløsning av 2-(tritylamino) etanol (10 g, 33 mmol) [EP599220 og *J. Org. Chem.* (2001), 66, 7615] og trifenylosfin (8,7 g, 33 mmol) i tetrahydrofuran (65 ml), ved 0°C, ble behandlet med diisopropyl-azodikarboksylat (7,0 ml, 35 mmol) dråpevis. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 0°C i 15 minutter, behandlet med en løsning av *N*-{4-[4-(3-klor-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-2,2,2-trifluoracetamid (9,3 g, 24 mmol) i tetrahydrofuran (28 ml), og omrørt ved 25°C i 16 timer. Reaksjonsblandingen ble konsentrert, fortynnet med etyl-acetat (350 ml), avkjølt til 0°C, behandlet med 1 N HCl (200 ml), og omrørt ved 25°C i 1 time. Reaksjonsblandingen ble behandlet med 1 N HCl (150 ml), og omrørt ved 25°C i 3 timer. Det organiske laget ble separert, vasket med mettet natriumbikarbonat (200 ml) og saltvann (100 ml), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og konsentrert til et gult skum, som ble rekonsentrert fra heksaner til å gi et oljeaktig faststoff. Det oljeaktige faste stoffet ble behandlet med metyl-*tert*-butyleter (50 ml), og omrørt for å gi en heterogen blanding. Det faste stoffet ble filtrert, vasket med metyl-*tert*-butyleter (30 ml), og tørket for å gi ønskede produktet (10 g, 74%) som et hvitt, fast stoff. LCMS for $C_{31}H_{24}ClFN_6O_3Na(M+Na)^+$: $m/z = 605,2$. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 7,97 (dd, $J = 6,7, 2,6$ Hz, 1H), 7,71 til 7,66 (m, 1H), 7,60 (dd, $J = 9,1, 8,8$ Hz, 1H), 7,40 til 7,37 (m, 6H), 7,28 til 7,23 (m, 6H), 7,18 til 7,12 (m, 3H), 6,59 (dd, $J = 5,9, 5,6$ Hz, 1H), 3,37- 3,31 (m, 2H), 2,96 (dd, $J = 7,6, 7,6$ Hz, 1H), 2,27 til 2,19 (m, 2H).

Trinn D: 3-{4-[(2-Aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-klor-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on hydroklorid



- [0234]** En ferdigblandet løsning av triisopropylsilan (3,4 ml, 17 mmol) og trifluorediksyre (44 ml, 570 mmol) ble tilsatt til 4-(3-klor-4-fluorfenyl)-3-(4-{[2-(tritylamino)etyl]-amino}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (6,5 g, 11 mmol) og den resulterende suspensjon ble omrørt ved 25°C i 30 min. Reaksjonsblandingen ble filtrert og vasket med trifluorediksyre. Filtratet ble konsentrert til en olje som ble fortynnet med metanol (25 ml), avkjølt til 0°C, behandlet med 4 M HCl i 1,4-dioksan (14 ml), og omrørt ved 25°C i 15 min. Blandingen ble konsentrert til et fast stoff, som ble behandlet med dietyleter (50 ml) og filtrert. Det faste stoffet ble vasket med dietyleter (50 ml), og tørket for å gi ønskede produktet (4,1 g, 98%) som et hvitt, fast stoff. LCMS $C_{12}H_{11}ClFN_6O_3$ for $(M + H)^+$: $m/z = 341,1$. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8,05 til 8,00 (m, 4H), 7,75 til 7,69 (m, 1H), 7,64 (dd, $J = 9,1, 8,8$ Hz, 1H), 6,77 (dd, $J = 5,9, 5,9$ Hz, 1H), 3,54 til 3,47 (m, 2H), 3,04 til 2,99 (m, 2H).
- Trinn E: N-[2-({4-[4-(3-klor-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl]sulfamid



- [0236]** En oppløsning av klorsulfonylisocyanat (2,0 ml, 23 mmol) i diklormetan (70 ml) ble behandlet med t-butylalkohol (2,2 ml, 23 mmol), ved 0°C, og omrørt ved 25°C i 1 time. Denne blanding ble tilsatt til en suspensjon av 3-{4-[(2-aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-klor-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on-hydroklorid (4,3 g, 11 mmol) i diklormetan (70 ml). Reaksjonsblandingen ble behandlet med en oppløsning av trietylamin (6,3 ml, 45 mmol) i diklormetan (20 ml) ved 0°C, og omrørt ved 25°C i 3 timer. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med 0,1 N HCl og ekstrahert med etylacetat (2 x 100 ml). De kombinerte organiske lagene ble vasket med saltvann (100 ml), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og konsentrert til et hvitt, fast stoff. Det hvite, faste stoffet ble fortynnet med diklormetan (100 ml), behandlet med trifluorediksyre (20 ml), og omrørt ved 25°C i 3 timer. Reaksjonsblandingen ble konsentrert til en uren rest, som ble rensert ved kromatografi på silikagel for å gi ønskede produktet (3,7 g, 78%) som et hvitt, fast stoff. LCMS $C_{12}H_{12}ClFN_7O_5S$ for $(M + H)^+$: $m/z = 420,0$. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 7,98 (dd, $J =$

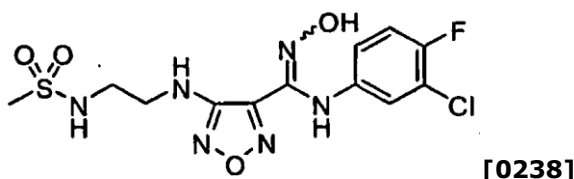
6,4, 2,1 Hz, 1H), 7,70 til 7,60 (m, 2H), 6,66 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 6,57 (s, 2H), 6,52 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 3,42 til 3,35 (m, 2H), 3,13 til 3,06 (m, 2H).

Trinn F: 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-*N*-(3-klor-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

- 5 **[0237]** En løsning av *N*-[2-({4-[4-(3-klor-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl]sulfamid (3,7 g, 8,8 mmol) i metanol (70 ml), ble behandlet med 2 M NaOH (18 ml, 35 mmol), og omrørt ved 25°C i 2 timer. Reaksjonsblandingen ble stoppet med 6 N HCl til pH ~ 7 , og metanol ble fjernet under redusert trykk. Det faste stoffet, som var utfelt, ble filtrert og vasket med vann for å gi ønskede produktet (3,2 g, 92%) som et hvitt fast stoff. LCMS $C_{11}H_{14}ClFN_7O_4S$ for $(M + H)^+$: $m/z = 394,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,96 (dd, $J = 6,8, 2,1$ Hz, 0,05H), 7,32 til 7,29 (m, 0,1H), 7,18 (dd, $J = 9,1, 9,1$ Hz, 0,95 H), 6,93 (dd, $J = 6,4, 2,7$ Hz, 0,95H), 6,71 til 6,66 (m, 0,95H), 6,33 (br s, 1H), 3,35 til 3,27 (m, 2H), 3,10 til 3,06 (m, 2H).
- 10

Eksempel 6

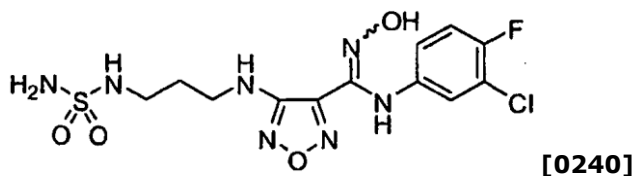
- 15 ***N*-(3-klor-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid**



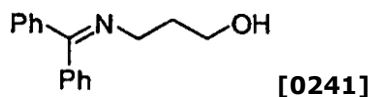
- 20 **[0239]** Tittelforbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 17, trinn E, ved bruk av *N'*-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid og 3-klor-4-fluoranilin [Aldrich, produkt # 228583] som utgangsmaterialer. LCMS $C_{12}H_{15}ClFN_6O_4S$ for $(M + H)^+$: $m/z = 393,0$. 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).

Eksempel 7

- 25 **4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-*N*-(3-klor-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid**

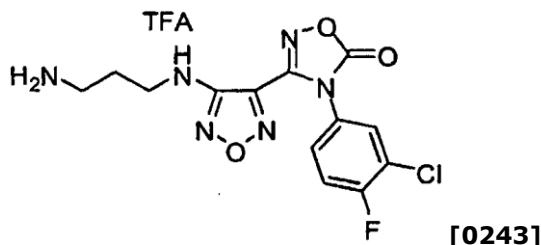


Trinn A: 3-[(Difenylmetylen)amino] propan-1-ol



[0242] En oppløsning av 3-amino-1-propanol [Aldrich # produkt A76400] (2,0 ml, 26 mmol) i diklormetan (79 ml), ble behandlet med benzofenonimin (4,4 ml, 26 mmol), og omrørt ved 25°C i 16 timer. Reaksjonsblandingen ble filtrert og filtratet ble konsentrert for å gi ønskede produktet (6,3 g, kvantitativt) som en olje. Dette materialet ble anvendt uten ytterligere rensing. LCMS for C₁₆H₁₈NO (M + H)⁺: m/z = 240,2.

Trinn B: 3-{4-[(3-Aminopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-klor-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on trifluoracetat



10

[0244] En oppløsning av 3-[(difenylmetylen)amino] propan-1-ol (80 mg, 0,33 mmol) og trifenyfosfin (93 mg, 0,36 mmol) i tetrahydrofuran (1 ml), ved 0°C, ble behandlet med diisopropyl-azodikarboksylat (75 ul, 0,38 mmol) dråpevis. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 0°C i 15 minutter, behandlet med en løsning av *N*-{4-[4-(3-klor-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-2,2,2-trifluoracetamid (100 mg, 0,25 mmol) i tetrahydrofuran (0,5 ml), og omrørt ved 25°C i 16 timer. Reaksjonsblandingen ble behandlet med trifluoreddiksyre (1 ml), omrørt ved 25°C i 3 timer, og konsentrert til en uren rest. Dette materialet ble rensset ved preparativ LCMS for å gi ønskede produktet (18 mg, 15%). LCMS C₁₃H₁₃ClFN₆O₃ for (M + H)⁺: m/z = 355,1

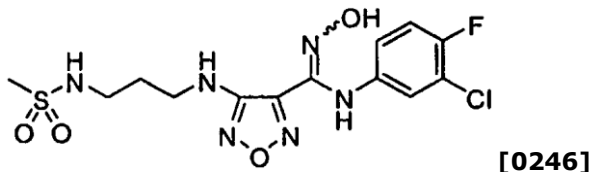
20 Trinn C: 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-*N*-(3-klor-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboximidamid

[0245] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren av Eksempel 15, trinn G, ved bruk av 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-klor-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on trifluoracetat som utgangsmaterialet, i 34% utbytte. LCMS C₁₂H₁₆ClFN₇O₄S for (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, 1H), 6,96 (dd, *J* = 6,4, 2,7 Hz, 1H), 6,72 til 6,69 (m, 1H), 6,55 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 6,51 (s, 2H), 6,16 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 3,28 til 3,21 (m, 2H), 2,93 til 2,87 (m, 2H), 1,76 til 1,72 (m, 2H).

25

Eksempel 8

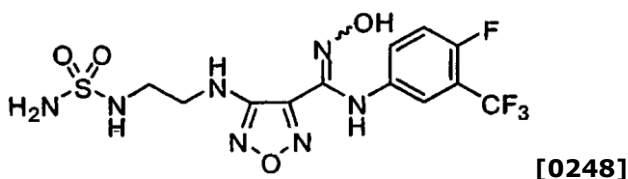
***N*-(3-klor-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid**



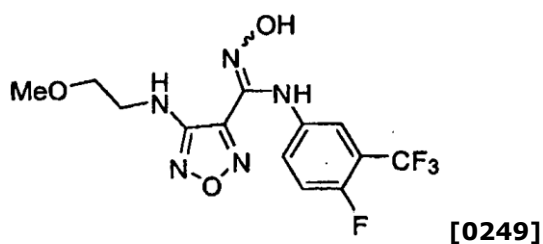
- 5 **[0247]** Tittelforbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 4, trinn E, ved bruk av *N'*-hydroksy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid [fremstilt i henhold til Eksempel 4, trinn A til D] og 3-klor-4-fluoranilin [Aldrich, produkt # 228583], som utgangsmaterialet i 10% utbytte. LCMS $C_{13}H_{17}ClFN_6O_4S$ for $(M + H)^+$: $m/z = 407,1$ 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).
- 10

Eksempel 9

4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-*N*-[4-fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

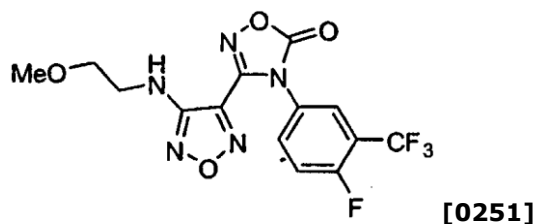


- 15 Trinn A: *N*-[4-Fluor-3-(trifluorometyl)fenyl]-*N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



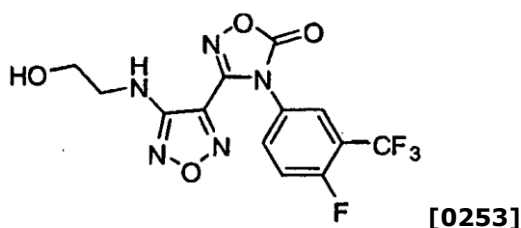
- [0250]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren av Eksempel 13, trinn A, ved bruk av *N*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidoylchlorid [fremstilt i henhold i eksempel 1, trinn A til E], og 3-trifluormetyl-4-fluoranilin [Aldrich, produkt # 217778] som utgangsmaterialet i kvantitativt utbytte. LCMS for $C_{13}H_{14}F_4N_5O_3$ $(M + H)^+$: $m/z = 364,0$. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,15 (m, 2H), 7,08 (m, 1H), 3,60 (t, $J = 5,3$ Hz, 2H), 3,46 (t, $J = 5,3$ Hz, 2H), 3,38 (s, 3H).
- 20

Trinn B: 4-[4-Fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-3-{4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



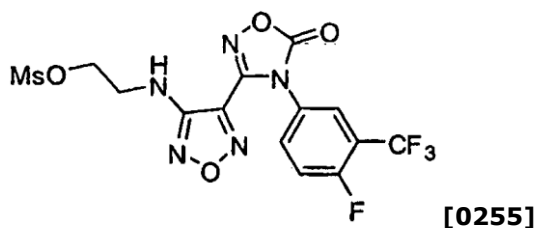
- [0252]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren av Eksempel 13, trinn B, ved å bruke av *N*-[4-fluor-3-(trifluorometyl)fenyl]-*N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboximidamid som utgangsmaterialet i 79% utbytte. LCMS for $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 390,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,20 (dd, $J = 6,3, 2,4$ Hz, 1H), 8,03 (m, 1H), 7,76 (t, $J = 9,5$ Hz, 1H), 6,41 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,49 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H), 3,39 (q, $J = 5,7$ Hz, 2H), 3,25 (s, 3H).

- 10 Trinn C: 4-[4-Fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-3-{4-[(2-hydroksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



- [0254]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren av Eksempel 13, trinn C, ved bruk av 4-[4-fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-3-{4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on som utgangsmaterialet i 99% utbytte. LCMS for $C_{13}H_{10}F_4N_5O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 376,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,22 (m, 1H), 8,05 (m, 1H), 7,76 (t, $J = 9,9$ Hz, 1H), 6,34 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,87 (t, $J = 5,2$ Hz, 1H), 3,56 (q, $J = 5,5$ Hz, 2H), 3,29 (q, $J = 5,7$ Hz, 2H).

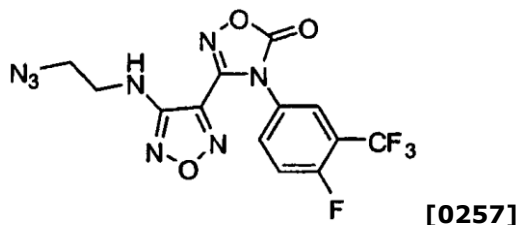
- 20 Trinn D: 2-[(4-{4-[4-fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino]etyl metansulfonat



- [0256]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren av Eksempel 13, trinn D, ved å bruke 4-[4-fluor-3-(trifluorometyl)fenyl]-3-{4-[(2-hydroksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on som utgangsmaterialet i 95% utbytte.

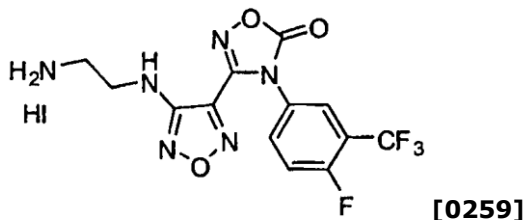
LCMS for $C_{14}H_{12}F_4N_5O_6S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 454,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,23 (dd, $J = 6,5, 2,5$ Hz, 1H), 8,06 (m, 1H), 7,76 (t, $J = 9,6$ Hz, 1H), 6,76 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 4,37 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 3,60 (q, $J = 5,5$ Hz, 2H), 3,17 (s, 3H).

Trinn E: 3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[4-fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



[0258] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren ifølge Eksempel 13, trinn E, ved å bruke 2-[(4-{4-[4-fluor-3-(trifluorometyl)fenyl]-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino]etyl metansulfonat som utgangsmaterialet i 100% utbytte. LCMS for $C_{13}H_9F_4N_6O_3$ ($M - N_2 + H$)⁺: $m/z = 372,8$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,22 (dd, $J = 6,2, 2,4$ Hz, 1H), 8,05 (m, 1H), 7,76 (t, $J = 9,6$ Hz, 1H), 6,75 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 3,53 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,45 (q, $J = 5,6$ Hz, 2H).

Trinn F: 3-{4-[(2-Aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[4-fluor-3-(trifluorometyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on hydroiodid



[0260] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 13, trinn F, ved å bruke 3-{4-[(2-azidoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[4-fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on, som utgangsmaterialet i 80% utbytte. LCMS for $C_{13}H_{11}F_4N_6O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 375,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,20 (dd, $J = 6,2, 2,4$ Hz, 1H), 8,03 (m, 1H), 7,74 (t, $J = 9,8$ Hz, 1H), 7,10 (br s, 0,4H), 6,68 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H), 3,42 (q, $J = 5,8$ Hz, 2H), 2,95 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H).

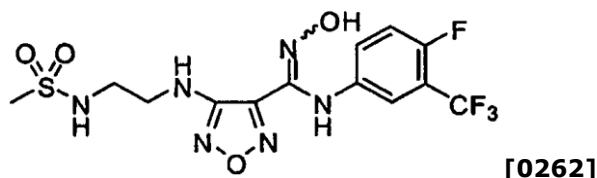
Trinn G: 4-{2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-*N*-[4-fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

[0261] Tittelforbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 13, trinn G, ved bruk av 3-{4-[(2-aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[4-fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on hydroiodid som utgangsmaterialet i 55% utbytte. LCMS for $C_{12}H_{14}F_4N_7O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 428,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,60 (s, 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).

Eksempel 10

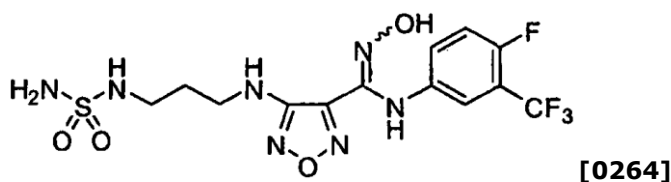
***N*-[4-Fluoro-3-(trifluorometyl)fenyl]-*N'*-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid**



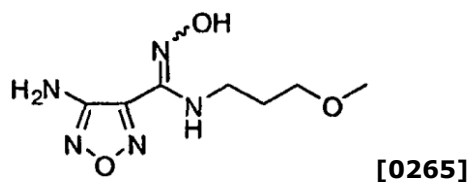
[0263] Tittelforbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 17, trinn E, ved hjelp av *N'*-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid og 3-trifluormetyl-4-fluoranilin [Aldrich, produkt # 217778] som utgangsmaterialer. LCMS for $C_{13}H_{15}F_4N_6O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 427,0$. 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).

Eksempel 11

4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-*N*-[4-fluor-3-(trifluorometyl)fenyl]-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

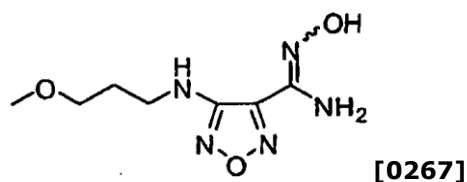


Trinn A: 4-amino-*N'*-hydroksy-*N*-(3-metoksypropyl)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



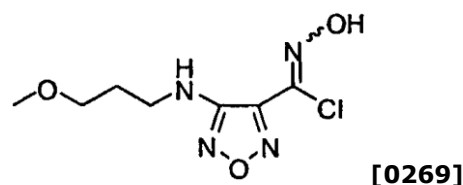
[0266] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 1, trinn C, ved bruk av 3-metoksy-1-propanamin som utgangsmaterialet i 93% utbytte. LCMS for $C_7H_{14}N_5O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 216,1$

Trinn B: *N'*-Hydroksy-4-[(3-metoksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



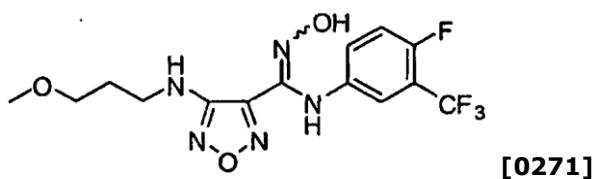
- [0268]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 1, trinn D, ved bruk av 4-amino-*N'*-hydroksy-*N*-(3-metoksypropyl)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid som utgangsmaterialet i 72% utbytte. LCMS for $C_7H_{14}N_5O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 216,1$. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 10,4 (s, 1H), 6,21 til 6,13 (m, 3H), 3,37 (t, $J = 6,1$ Hz, 2H), 3,28 til 3,21 (m, 5H), 1,82 til 1,74 (m, 2H).

Trinn C: *N*-hydroksy-4-[(3-metoksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidoylchlorid



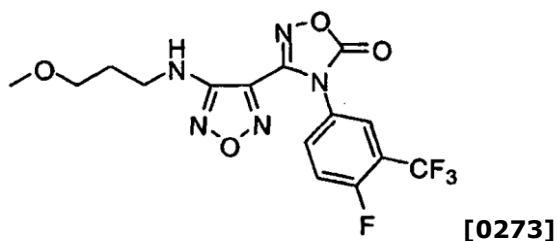
- [0270]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 1, trinn E, ved hjelp av *N'*-hydroksy-4-[(3-metoksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid som utgangsmaterialet i kvantitativt utbytte. LCMS for $C_7H_{12}ClN_4O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 235,1$.

- Trinn D: *N*-[4-Fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-*N'*-hydroksy-4-[(3-metoksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboximidamid



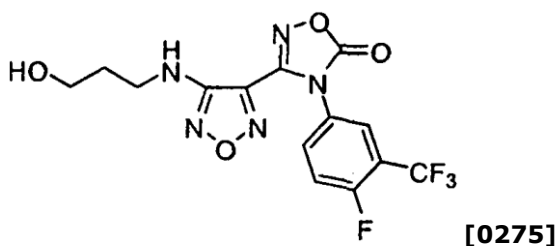
- [0272]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 1, trinn F, ved å bruke *N*-hydroksy-4-[(3-metoksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidoylchlorid og 4-fluor-3-(trifluormetyl)benzeneamin som utgangsmaterialer i 87% utbytte. LCMS for $C_{14}H_{16}F_4N_5O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 378,1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,5 (s, 1H), 9,05 (s, 1H), 7,30 (dd, $J = 10,0, 9,6$ Hz, 1H), 7,13 til 7,11 (m, 1H), 7,05 til 7,00 (m, 1H), 6,22 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,35 til 3,32 (m, 2H), 3,25 til 3,19 (m, 5H), 1,79 til 1,72 (m, 2H).

Trinn E: 4-[4-Fluor-3-(trifluorometyl)fenyl]-3-{4-[(3-metoksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



5 **[0274]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 1, trinn G, ved bruk av *N*-[4-fluor-3-(trifluorometyl)fenyl]-*N'*-hydroksy-4-[(3-metoksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid som utgangsmaterialet i kvantitativt utbytte. LCMS for $C_{15}H_{14}F_4N_5O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 404,0$.

Trinn F: 4-[4-Fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-3-{4-[(3-hydroksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on

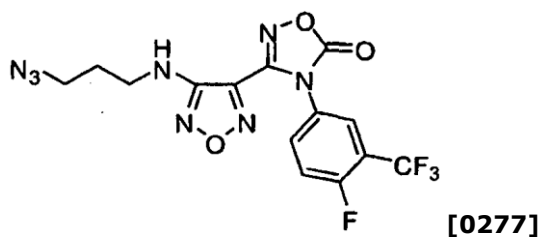


10

[0276] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 3, trinn D, ved bruk av 4-[4-fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-3-{4-[(3-metoksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on, som utgangsmaterialet i 97% utbytte. LCMS for $C_{14}H_{12}F_4N_5O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 390,0$. 1H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,20 (dd, $J = 6,4, 2,6$ Hz, 1H), 8,06 til 8,01 (m, 1H), 7,75 (dd, $J = 10,0, 9,4$ Hz, 1 H), 6,53 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,59 (t, $J = 5,0$ Hz, 1H), 3,51 til 3,42 (m, 2H), 3,32 til 3,26 (m, 2H), 1,73 - 1,68 (m, 2H).

15

Trinn G: 3-{4-[(3-Azidopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[4-fluor-3-(trifluorometyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on

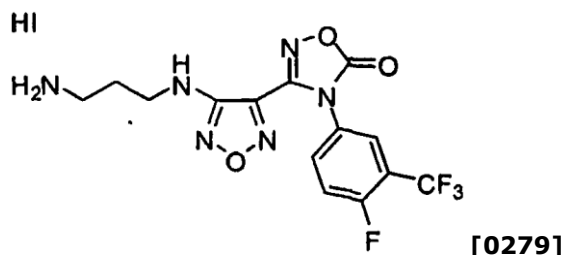


20

[0278] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 3, trinn E, ved bruk av 4-[4-fluor-3-(trifluorometyl)fenyl]-3-{4-[(3-hydroksypropyl)-

amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4*H*)-on som utgangsmaterialet i kvantitativt utbytte. LCMS for $C_{14}H_{10}F_4N_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: $m/z = 437,0$.

Trinn H: 3-{4-[(3-Aminopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[4-fluor-3-(trifluormetyl)-fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4*H*)-on hydroiodid



5

[0280] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 3, trinn F, ved bruk av 3-{4-[(3-azidopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[4-fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4*H*)-on som utgangsmaterialet i 81% utbytte. LCMS for $C_{14}H_{13}F_4N_6O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z = 389,1$. 1H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,18 (dd, $J = 6,4$, 2,3 Hz, 1H), 8,06 til 8,01 (m, 1H), 7,72 (dd, $J = 9,7$, 9,4 Hz, 1 H), 7,34 (br s, 2H), 6,71 (br s, 1H), 2,78 til 2,73 (m, 2H), 1,85 til 1,75 (m, 2H).

10

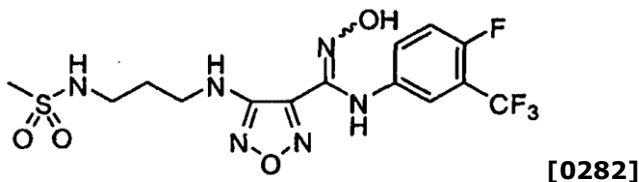
Trinn I: 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-*N*-[4-fluor-3-(trifluorometyl)fenyl]-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

[0281] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren, ifølge Eksempel 15, trinn G, ved hjelp av 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[4-fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4*H*)-on hydroiodid som utgangsmaterialet i 60% utbytte. LCMS for $C_{13}H_{16}F_4N_7O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z = 442,0$. 1H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,6 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,31 (dd, $J = 10,0$, 9,4 Hz, 1H), 7,13 (dd, $J = 6,4$, 2,9 Hz, 1H), 7,05 til 6,99 (m, 1H), 6,58 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 6,52 (s, 2H), 6,17 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 3,28 til 3,21 (m, 2H), 2,94 til 2,87 (m, 2H), 1,79 til 1,72 (m, 2H).

20

Eksempel 12

***N*-[4-Fluor-3-(trifluorometyl)fenyl]-*N'*-hydroksy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid**



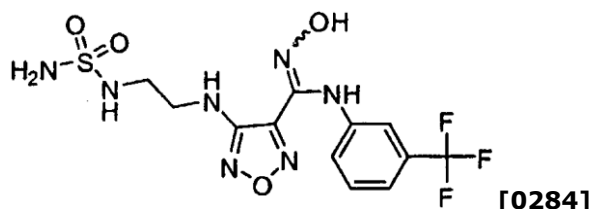
[0283] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 16, ved bruk av 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[4-fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4*H*)-on hydrojodid som utgangsmaterialet i 70% utbytte. LCMS for $C_{14}H_{17}F_4N_6O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z = 441,1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,6 (s, 1H), 9,07 (s, 1H), 7,30 (dd, $J = 10,0$, 9,6 Hz, 1H), 7,13 (dd, $J = 6,2$, 2,5 Hz, 1H),

25

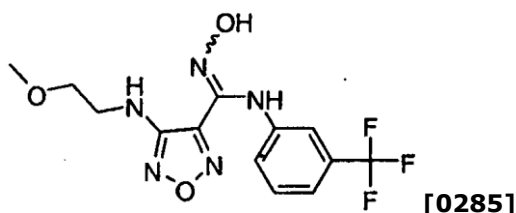
7,05 til 7,02 (m, 2H), 6,19 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 3,27 til 3,21 (m, 2H), 2,99 til 2,94 (m, 2H), 2,87 (s, 3H), 1,76 til 1,72 (m, 2H).

Eksempel 13

4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-*N'*-hydroksy-*N*-[3-(trifluorometyl)-fenyl]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

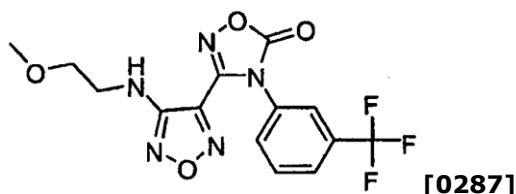


Trinn A: *N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-*N*-[3-(trifluorometyl)fenyl]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



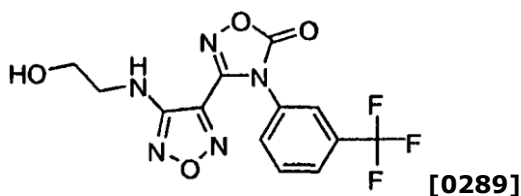
- 10 **[0286]** *N*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidoylchlorid (1,3 g, 5,0 mmol) [fremstilt i henhold til Eksempel 1, trinn A til E], ble omrørt i vann (10 ml) og oppvarmet til 60°C i 5 minutter. 3-(trifluormetyl) anilin [Aldrich, produkt # A41801] (880 mg, 5,5 mmol) ble tilsatt i en porsjon, og reaksjonsblandingen ble omrørt i 15 minutter. Mens gjenværende ved 60°C, ble en oppløsning av natriumbikarbonat
- 15 (630 mg, 7,5 mmol), i vann (10 ml), tilsatt dråpevis, i løpet av 5 minutter. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 60°C i ytterligere 50 minutter, og fikk deretter avkjøles til romtemperatur. Etylacetat (20 ml) og saltoppløsning (30 ml) ble tilsatt til kolben, og organiske laget ble oppsamlet.
- 20 Det vandige laget ble ekstrahert med etylacetat (2 x 20 ml) og de kombinerte organiske stoffene ble tørket over natriumsulfat. Oppløsningsmidlet ble fjernet i vakuum for å gi ønskede produktet som et oransje, fast stoff (1,4 g, 80%). LCMS beregnet for $C_{13}H_{15}F_3N_5O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 346,1$. 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).

Trinn B: 3-{4-[(2-Metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



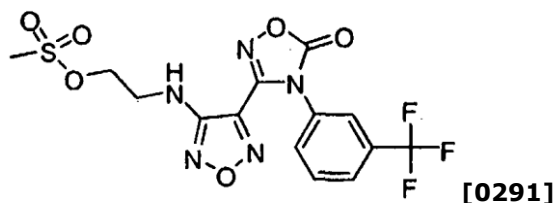
- [0288]** *N'*-Hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-*N*-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid (1,4 g, 3,80 mmol) og 1,1'-karbonyldiimidazol (1,16 g, 7,16 mmol), ble oppløst i etylacetat (20 ml). Reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved 70°C i 40 minutter. 1,1'-karbonyldiimidazol (0,26 g, 1,16 mmol) ble tilsatt ytterligere. Etter omrøring ved 70°C, i ytterligere 50 minutter, ble reaksjonen tillatt å avkjøles til romtemperatur. Etylacetat (20 ml) ble tilsatt, og rå reaksjonsblandingen ble vasket med 1 N HCl i vann (2 x 20 ml). Saltoppløsning ble tilsatt for å hjelpe til i separasjonen av den første vask. Det organiske laget ble tørket over natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel, med et elueringsmiddel etylacetat i heksaner, ga ønskede produktet (1,3 g, 90%). LCMS beregnet for $C_{14}H_{13}F_3N_5O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 372,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,07 (s, 1H), 7,92 (m, 2H), 7,79 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H), 6,42 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,47 (t, $J = 5,8$ Hz, 2H), 3,38 (q, $J = 5,0$ Hz, 2H), 3,24 (s, 3H).

Trinn C: 3-{4-[(2-Hydroksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



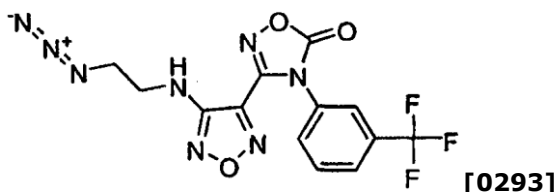
- [0290]** I en rundbunnet kolbe, under nitrogenatmosfære, 3-{4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (1,3 g, 3,6 mmol), ble omrørt i diklormetan (11 ml). Temperaturen ble bragt til -78°C, og en oppløsning av 1,0 M borttribromid i diklormetan (7,9 ml, 7,9 mmol) ble tilsatt dråpevis i løpet av 15 minutter. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til romtemperatur i løpet av 45 minutter, og ble rørt ved romtemperatur i ytterligere 45 minutter. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til 0°C, og en mettet løsning av natriumbikarbonat i vann (25 ml) ble tilsatt dråpevis i løpet av 15 minutter. Etter oppvarming til romtemperatur, ble etylacetat (10 ml) og vann (10 ml) tilsatt til kolben. Det organiske laget ble oppsamlet, og det vandige laget ble ekstrahert med etyl-acetat (2 x 20 ml). Etter tørking av kombinerte organiske lag over natriumsulfat, ble oppløsningsmidlet fjernet i vakuum for å gi ønskede produktet (1,0 g, 81%). LCMS beregnet for $C_{13}H_{11}F_3N_5O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 358,0$. 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).

Trinn D: 2-[(4-{5-okso-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino]etyl metansulfonat



[0292] Til en løsning av 3-{4-[(2-hydroksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (1,0 g, 2,9 mmol) i etylacetat (8,5 ml), ble metansulfonylchlorid (0,29 ml, 3,7 mmol) tilsatt i en porsjon. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 5 minutter, og trietylamin (0,52 ml, 3,7 mmol) ble tilsatt, også i en porsjon. Etter omrøring i ytterligere 10 minutter, ble reaksjonen stanset ved tilsetning av vann (5 ml). Produktet ble ekstrahert med etylacetat (2 x 5 ml), tørket over natriumsulfat og konsentrert i vakuum for å gi ønskede produktet (1,2 g, 99%). LCMS beregnet for $C_{14}H_{13}F_3N_5O_6S$ ($M + H$)⁺: 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).

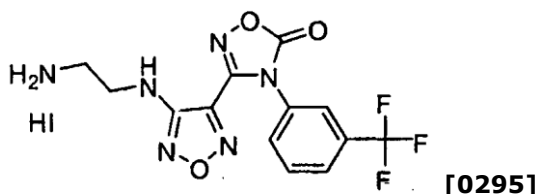
Trinn E: 3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



15

[0294] 2-[(4-{5-Okso-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino]etyl metansulfonat (1,2 g, 2,9 mmol) ble oppløst i *N,N*-dimetylformamid (2,7 ml). Etter natriumazid (280 mg, 4,3 mmol) ble tilsatt i én porsjon, ble temperaturen bragt til 65°C, og reaksjonsblandingen ble omrørt i 6 timer. Etter avkjøling til romtemperatur, ble vann (10 ml) tilsatt for å stanse reaksjonen. Produktet ble ekstrahert med etylacetat (3x10 ml), og kombinerte organiske lagene ble tørket over natriumsulfat. Oppløsningsmidlet ble fjernet i vakuum for å gi ønskede produktet (1,05 g, 96%). LCMS beregnet for $C_{13}H_{10}F_3N_6O_3$ ($M - N_2 + H$)⁺: 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).

Trinn F: 3-{4-[(2-Aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on hydroiodid



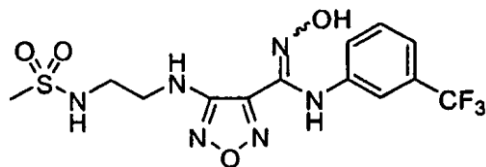
- [0296]** Til en løsning av 3-{4-[(2-azidoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (1,05 g, 2,8 mmol) i metanol (12 ml), ble natriumjodid (2,5 g, 17 mmol) tilsatt. Etter omrøring i 10 minutter, ble en oppløsning av klortrimetylsilan (2,1 ml, 17 mmol) i metanol (1,41 ml), ble tilsatt dråpevis i løpet av 15 minutter. Reaksjonen ble rørt i 40 minutter, og deretter ble en løsning av natriumtiosulfat (2,7 g, 17 mmol) i vann (12,5 ml) tilsatt i en porsjon. Et nesten brunn, fast stoff ble utfelt ved tilsetning av natriumtiosulfat-løsning, og den ble samlet opp ved vakuumfiltrering. Det faste stoffet ble rensset med vann (2 x 10 ml), og ble tørket under vakuum over natten for å gi ønskede produktet. Et faststoff hadde også utfelt fra filtratet, og det ble oppsamlet ved vakuumfiltrering. Etter vasking med vann (3x10 ml) i trakten, ble produktet tørket over natten under vakuum. Det faste stoffet ble oppslemmingen vasket med etylacetat (3,8 ml) i 1 time, og samlet sammen ved filtrering. Etter skylling med etylacetat (2 x 2 ml), og tørking over natten, ble ytterligere produkt oppnådd. Totalt ble 760 mg av det ønskede produktet (57%) oppnådd som hydrojodid salt. LCMS beregnet for $C_{13}H_{12}F_3N_6O_3$ ($M + H$)⁺: 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).
- Trinn G: 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N'-hydroksy-N-[3-(trifluorometyl)fenyl]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

- [0297]** Til en oppløsning av klorsulfonylisocyanat (9,2 ml, 0,11 mmol) i diklormetan (0,24 ml), ved 0°C, og under en nitrogenatmosfære, ble tert-butylalkohol (10 ml, 0,11 mmol) tilsatt, på en dråpevis måte. Oppløsningen ble omrørt ved romtemperatur i 1 time for å oppnå en løsning av tert-butyl-[klorsulfonyl]karbammat. I en separat kolbe 3-{4-[(2-aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on hydroiodid (26 mg, 0,053 mmol), ble suspendert i diklormetan (0,5 ml). En nitrogenatmosfære ble etablert, og temperaturen ble bragt til 0°C. Tert-butyl-[klorsulfonyl]karbammat (fremstilt som ovenfor) ble tilsatt i løpet av 5 minutter til omrørte suspensjon av aminsaltet. Etter 10 minutter ble trietylamin (37 ml, 0,27 mmol) tilsettes dråpevis. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur i 1,5 timer. Etter konsentrering i vakuum, residuet ble behandlet med trifluorediksyre (0,5 ml, 6 mmol). Dette ble omrørt i 1 time, og blandingen ble igjen konsentrert til tørrhet i vakuum. De tørkede faststoffer ble suspendert i metanol (0,5 ml), og 2,0 N NaOH i vann (0,53 ml, 1,1 mmol) ble tilsatt i en porsjon. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til 45°C og omrørt i 30 minutter. Etter nøytralisering med eddiksyre (60 ml, 1,1 mmol), ble produktet rensset ved preparativ LCMS for å gi ønskede produktet (8,5 mg, 39%). LCMS beregnet for $C_{12}H_{15}F_3N_7O_4S$ ($M + H$)⁺: 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).

Eksempel 14

N'-Hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

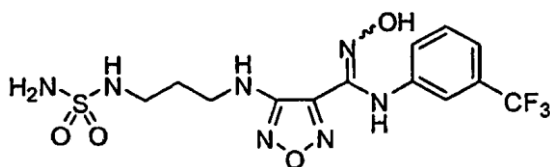


[0298]

[0299] Tittelforbindelsen ble fremstilt ifølge fremgangsmåten fra Eksempel 17, trinn E, ved bruk av N'-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid og 3-trifluormetylanilin [Aldrich, produkt # A41801] som utgangsmaterialer. LCMS for $C_{13}H_{16}F_3N_6O_4S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 409,1$. 1H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,63 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,39 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,21 (m, 2H), 7,10 (s, 1H); 6,99 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 6,28 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 3,36 (q, $J = 5,8$ Hz, 2H), 3,17 (q, $J = 5,8$ Hz, 2H), 2,91 (s, 3H).

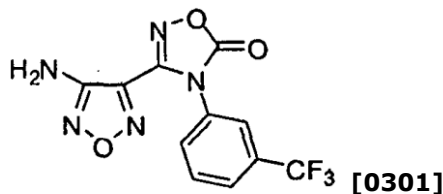
Eksempel 15

4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N'-hydroksy-N-[3-(trifluorometyl)fenyl]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



[0300]

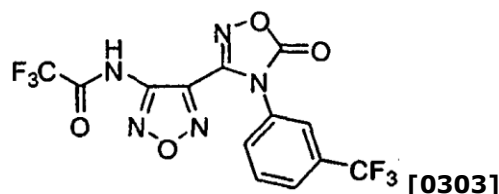
Trinn A: 3-(4-amino-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



[0301]

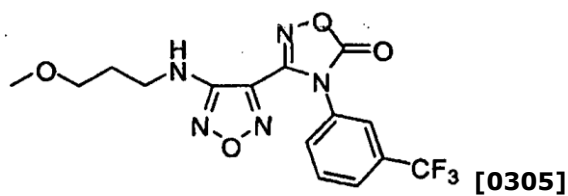
[0302] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren av Eksempel 5, trinn A, ved bruk av 4-amino-N'-hydroksy-N-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimid [se US patent. App. Pub. Nummer 2006/0258719], som utgangsmaterialet i 97% utbytte. LCMS $C_{11}H_7F_3N_5O_3$ for ($M + H$)⁺: $m/z = 314,1$.

Trinn B: 2,2,2-Trifluor-N-(4-{5-okso-4-[3-(trifluorometyl)fenyl]-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-acetamid.



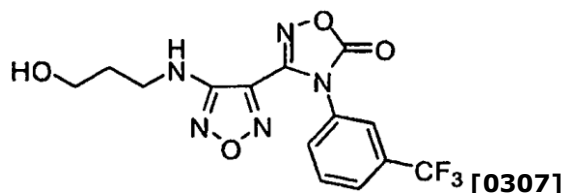
[0304] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 5, trinn B, ved anvendelse av 3-(4-amino-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-4-[3-(trifluormetyl)fenyl] 1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on, som utgangsmaterialet i 90% utbytte. LCMS $C_{13}H_6F_6N_5O_4$ for $(M + H)^+$: $m/z = 410,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,91 til 7,88 (m, 2H), 7,76 til 7,69 (m, 2H).

Trinn C: 3-{4-[(3-Metoksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



[0306] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 3, trinn C, ved å bruke 2,2,2-trifluor-N-(4-{5-okso-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)acetamid, som utgangsmaterialet i 49% utbytte. LCMS for $C_{15}H_{15}F_3N_5O_4$ $(M + H)^+$: $m/z = 386,1$. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7,83 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,72 til 7,67 (m, 2H), 7,59 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 6,08 til 6,04 (m, 1H), 3,57 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 3,54 til 3,47 (m, 2H), 3,40 (s, 3H), 2,01 til 1,93 (m, 2H).

Trinn D: 3-{4-[(3-Hydroksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on

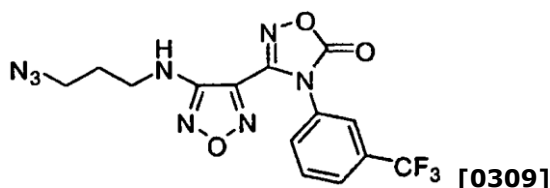


20

[0308] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 3, trinn D, ved anvendelse av 3-{4-[(3-metoksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on, som utgangsmaterialet i 69% utbytte. LCMS for $C_{14}H_{13}F_3N_5O_4$ $(M + H)^+$: $m/z = 372,1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,07 (s, 1H), 7,95 til 7,90 (m, 2H), 7,79 (dd, $J = 7,9, 7,9$ Hz, 1H), 6,55 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,59 (t, $J = 5,1$ Hz, 1H), 3,47 til 3,42 (m, 2H), 3,30 til 3,25 (m, 2H), 1,72 til 1,65 (m, 2H).

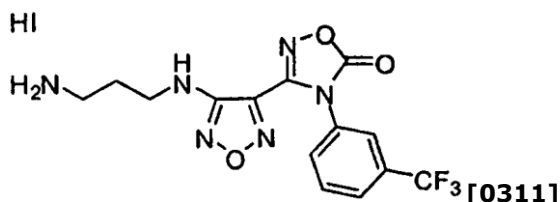
25

Trinn E: 3-{4-[(3-Azidopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



[0310] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 3, trinn E, ved anvendelse av 3-{4-[(3-hydroksypropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on som utgangsmaterialet i 92% utbytte. LCMS for $C_{14}H_{11}F_3N_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: $m/z = 419,0$.

Trinn F: 3-{4-[(3-Aminopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on hydroiodid



10

Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 3, trinn F, ved å bruke 3-{4-[(3-azidopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on, som utgangsmaterialet i 92% utbytte. LCMS for $C_{14}H_{14}F_3N_6O_3$ ($M+H$)⁺: $m/z = 371,1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,09 (s, 1H), 7,96 til 7,92 (m, 2H), 7,80 (dd, $J = 8,0, 7,8$ Hz, 1H), 7,53 (br s, 2H), 6,70 til 6,65 (m, 1H), 4,10 (br s, 1H), 3,32 til 3,31 (m, 2H), 2,81 til 2,78 (m, 2H), 1,85 til 1,82 (m, 2H).

15

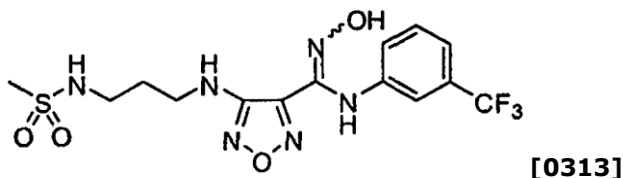
Trinn G: 4-{3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-*N'*-hydroksy-*N*-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

[0312] En oppløsning av 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on-hydrojodid (1,5 g, 3,0 mmol) og sulfamid (1,7 g, 18 mmol) i pyridin (60 ml), ble oppvarmet i en mikrobølgeovn ved 130°C i 10 min. Reaksjonsblandingen ble konsentrert for å gi rå mellomproduktet, *N*-{3-[(4-{5-okso-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino]propyl}sulfamid. En oppløsning av det urene mellomproduktet i metanol (90 ml) ble behandlet med 2N NaOH (12 ml, 24 mmol) og ble omrørt ved 25°C i 30 min. Reaksjonsblandingen ble behandlet med 6 M HCl inntil oppløsningen var sur, og ble ekstrahert med etylacetat (250 ml). Organiske laget ble vasket med vann (100 ml), og saltoppløsning (100 ml), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og konsentrert for å gi et rått residuum. Dette materialet ble rensert ved preparativ LCMS for å gi ønskede produktet (1,1g, 82%), som et gummiaktig fast stoff. LCMS for $C_{13}H_{17}F_3N_7O_4S$ ($M+H$)⁺: $m/z = 424,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,6 (s, 1H), 9,12 (s, 1H), 7,37 (dd, $J = 8,0, 8,0$ Hz, 1H), 7,21 til 7,18 (m, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,95 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 6,52 (br s, 3H), 6,17 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,28 til 3,22 (m, 2H), 2,93 til 2,89 (m, 2H), 1,77 til 1,73 (m, 2H).

30

Eksempel 16

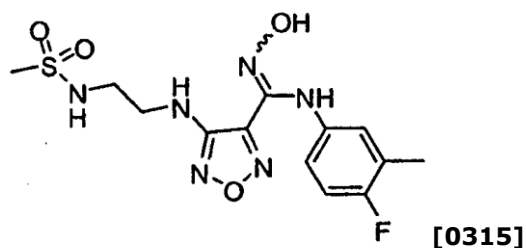
***N'*-Hydroksy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-*N*-[3-(trifluormetyl)-fenyl]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid**



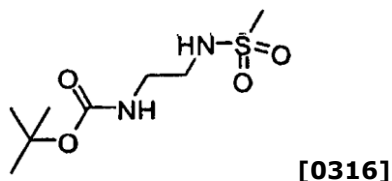
- 5 **[0314]** En oppløsning av 3-{4-[(3-aminopropyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on-hydrojodid (fra Eksempel 15, Trinn F; 25 mg, 50 mmol) i diklormetan (1 ml), ble behandlet med trietylamin (17 ml, 0,12 mmol) og metansulfonylchlorid (6 ml, 70 mmol), og omrørt ved 25°C i 2 timer. Reaksjonsblandingen ble konsentrert for å gi mellomproduktet, *N*-{3-[(4-{5-okso-4-[3-(trifluormetyl)fenyl]-4,5-
- 10 *dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl}*-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino] propyl} metansulfonamid, som et urent residuum, som ble anvendt uten ytterligere rensing. En oppløsning av rå mellomproduktet i metanol (1 ml) ble behandlet med 2N NaOH (0,25 ml, 0,5 mmol), og omrørt ved 25°C i 30 min. Reaksjonsblandingen ble behandlet med eddiksyre (50 ml, 0,9 mmol), filtrert og renses ved preparativ LCMS for å gi det ønskede produktet (13 mg, 65%), som et fast
- 15 stoff. LCMS for C₁₄H₁₈F₃N₆O₄S (M + H)⁺: m/z = 423,1. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,6 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 7,37 (dd, *J* = 8,0, 8,0 Hz, 1H), 7,20 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 7,7 til 7,1 (m, 2H), 6,96 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,20 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 3,27 til 3,22 (m, 2H), 2,99 til 2,94 (m, 2H), 2,87 (s, 3H), 1,78 - 1,71 (m, 2H).

Eksempel 17

- 20 ***N*-(4-Fluor-3-metylphenyl)-*N'*-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid**



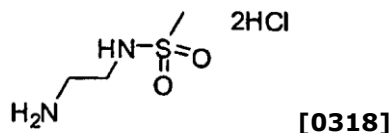
Trinn A: *tert*-Butyl-{2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}karbammat



- 25 **[0317]** *N*-(2-aminoetyl) (tert-butoksy)karboksamid (17,5 ml, 0,11 mol) [Alfa # L19947] ble omrørt i diklormetan (320 ml), og trietylamin (33 ml, 0,24 mol) ble tilsatt. En

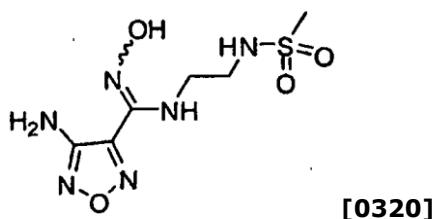
oppløsning av metansulfonylchlorid (8,5 ml, 0,11 mol) i diklormetan (10 ml) ble tilsatt. Resulterende blanding ble omrørt i 1 time, og vann (30 ml) ble tilsatt. Produktet ble ekstrahert med diklormetan (3 x 30 ml), tørket over natriumsulfat, og konsentrert i vakuum for å gi ønskede produktet (21 g, 81%). LCMS beregnet for $C_3H_{11}NO_2S$ (M-Boc +H)⁺: m/z = 139,1

- 5 Trinn B: N-(2-Aminoetyl) metansulfonamid dihydroklorid



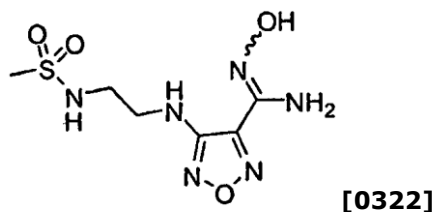
- [0319]** *tert*-Butyl-{2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}karbamat (21 g, 88 mmol) ble omrørt i en oppløsning av 4 N hydrogen klorid i 1,4-dioksan (97 ml, 388 mmol) i 30 minutter. Triturering med etylacetat og heksaner, som var etterfulgt av dietyl eter og heksaner, ga 10 ønskede forbindelsen som en gummi (19 g, 100%). LCMS beregnet for $C_3H_{11}N_2O_2S$ (M +H)⁺: m/z = 139,0.

Trinn C: 4-Amino-*N'*-hydroksy-*N*-(2-[(metylsulfonyl)amino]etyl)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



- [0321]** 4-Amino-*N*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidoylchlorid (9,7 g, 60 mmol) ble omrørt i etanol (460 ml), og *N*-(2-aminoetyl) metansulfonamid-dihydroklorid (19 g, 109 mmol) ble langsomt tilsatt i porsjoner, og temperaturen steg til 25°C. Etter avkjøling til 0°C, ble trietylamin (53 ml, 380 mmol) tilsatt dråpevis i løpet av 15 minutter, og reaksjonsblandingen ble omrørt i ytterligere 15 minutter. Oppløsningen ble vasket med vann 20 (300 ml) og saltvann (300 ml). Organiske laget ble tørket over natriumsulfat, og konsentrert i vakuum for å gi ønskede produktet (16 g, 100%). LCMS beregnet for $C_6H_{13}N_6O_4S$ (M +H)⁺: m/z = 265,1. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,16 (s, 1H), 9,07 (m, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,37 (s, 2H), 3,36 (m, 2H), 3,15 (m, 2H), 2,87 (s, 3H).

- Trinn D: *N'*-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid 25



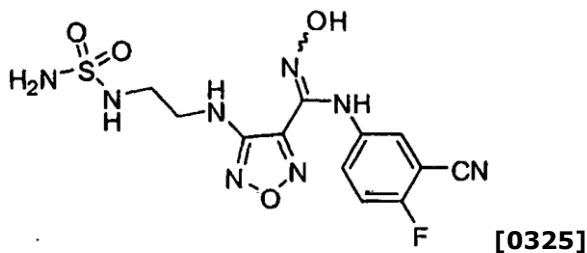
[0323] 4-Amino-*N'*-hydroksy-*N*-(2-[(metylsulfonyl)amino]etyl)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid (0,47 g, 1,8 mmol) ble omrørt i 1,2-etandiol (38 ml). Kaliumhydroksyd (600 g, 11 mmol) ble tilsatt i en porsjon. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved 130°C i 4 timer, og fikk avkjølt til romtemperatur. 1 N HCl-oppløsning (60 ml) ble tilsatt, og produktet ble ekstrahert med etylacetat (4 x 40 ml). De kombinerte organiske lagene ble tørket over natriumsulfat, og konsentrert i vakuum for å gi ønskede produktet (0,45 g, 96%). LCMS beregnet for C₆H₁₂N₆O₄S (M + H)⁺: m/z = 265,1. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,49 (s, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,20 (m, 3H), 3,36 (m, 2H), 3,15 (m, 2H), 2,87 (s, 3H).

Trinn E: *N*-(4-Fluor-3-metylfenyl)-*N'*-hydroksy-4-(2-[(metylsulfonyl)amino]etyl)amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

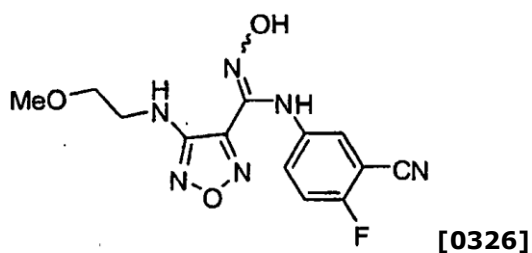
[0324] *N'*-hydroksy-4-(2-[(metylsulfonyl)amino]etyl)amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid (35 mg, 0,13 mmol) ble omrørt i 1,4-dioksan (2 ml), og 6 N hydrogenklorid-oppløsning (4 ml) ble tilsatt. Oppløsningen ble avkjølt til 0°C, og en oppløsning av natriumnitritt (11 mg, 0,16 mmol) i vann (3 ml) ble langsomt tilsatt. Blandingen ble omrørt i 1 time ved 0°C og inndampet. Tørr 1,4-dioksan (2 ml) ble tilsatt, og blandingen ble inndampet to ganger til. En oppløsning av 4-fluor-3-metylanilin [Aldrich, produkt # 559415] (25 mg, 0,20 mmol) i etanol (2 ml) ble tilsatt, og blandingen ble omrørt i 1 time. Rensing ved preparativ LCMS (pH 2) ga ønskede forbindelse (17 mg, 27%). LCMS beregnet for C₁₃H₁₈FN₆O₄S (M + H)⁺: m/z = 373,1. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,25 (s, 1H), 8,61 (s, 1H); 7,18 (m, 1H), 6,91 (m, 1H), 6,72 (m, 1H), 6,58 (m, 1H), 6,24 (s, 1H), 3,32 (m, 2H), 3,11 (m, 2H), 2,89 (s, 3H), 2,05 (s, 3H).

Eksempel 18

4-(2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl)amino)-*N*-(3-cyano-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

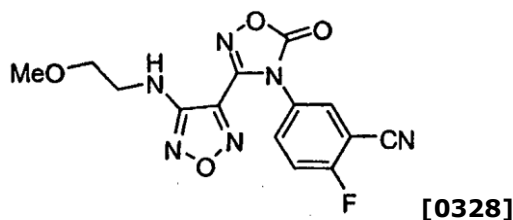


Trinn A: *N*-(3-Cyano-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



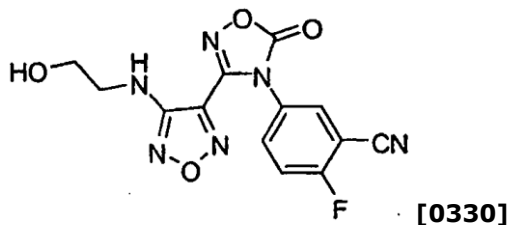
- [0327]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 13, trinn A, under anvendelse av *N*-hydroksy- 4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidoylchlorid [fremstilt i henhold til eksempel 1, trinn A via E] og 5-amino-2-fluorbenzonitril [Aldrich, produkt # 639877] som utgangsmaterialer i 100% utbytte. LCMS for $C_{13}H_{14}FN_6O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 321,0$.

Trinn B: 2-Fluor-5-[3-{4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-5-okso-1,2,4-oksadiazol-4(5H)-yl]benzonitril



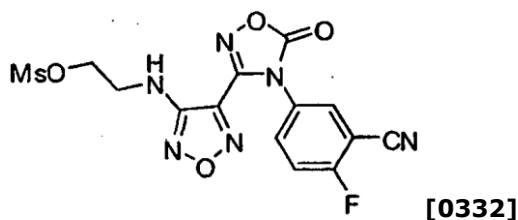
- [0329]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 13, trinn B, ved anvendelse av *N*-(3-cyano-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid som utgangsmaterialet i 91% utbytte. LCMS for $C_{14}H_{12}FN_6O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 347,0$. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8,25 (dd, $J = 5,7, 2,6$ Hz, 1H), 8,06 (m, 1H), 7,77 (t, $J = 9,2$ Hz, 1H), 6,41 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,48 (m, 2H), 3,40 (q, $J = 5,4$ Hz, 2H), 3,25 (s, 3H).

- Trinn C: 2-Fluor-5-[3-{4-[(2-hydroksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-5-okso-1,2,4-oksadiazol-4(5H)-yl]benzonitril



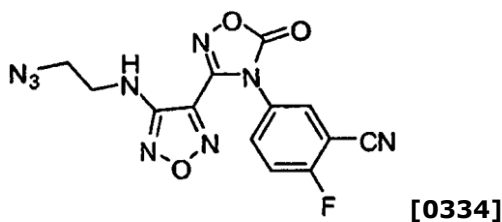
- [0331]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 13, trinn C, under anvendelse av 2-fluor-5-[3-{4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-5-okso-1,2,4-oksadiazol-4(5H)-yl] benzonitril som utgangsmaterialet i kvantitativt utbytte. LCMS for $C_{13}H_{10}FN_6O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 333,0$.

Trinn D: 2-({4-[4-(3-Cyano-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etylmetansulfonatet



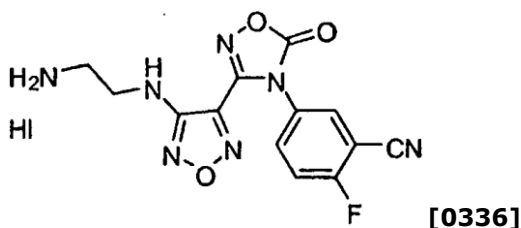
[0333] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 13, trinn D, under anvendelse av 2-fluor-5-[3-{4-[(2-hydroksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-5-okso-1,2,4-oksadiazol-4 (5H)-yl] benzonitril som utgangsmaterialet i 88% utbytte. LCMS for $C_{14}H_{12}FN_6O_6S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 411,0$.

- 5 Trinn E: 5-[3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-5-okso-1,2,4-oksadiazol-4(5H)-yl]-2-fluorbenzonitril



- [0335]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 13, trinn E, under anvendelse av 2-({4-[4-(3-cyano-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl metansulfonat, som utgangsmaterialet i 95% utbytte.

Trinn F: 5-[3-{4-[(2-Aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-5-okso-1,2,4-oksadiazol-4(5H)-yl]-2-fluorbenzonitril hydroiodid



- 15 **[0337]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 13, trinn F, under anvendelse av 5-[3-{4-[(2-azidoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-5-okso-1,2,4-oksadiazol-4 (5H)-yl]-2-fluorbenzonitril som utgangsmaterialet i 57% utbytte. LCMS for $C_{13}H_{11}FN_7O_3$ ($M + H$)⁺: $m/z = 332,0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,29 (dd, $J = 5,8, 2,7$ Hz, 1H), 8,09 (m, 1H), 7,83 (br s, 3H), 7,79 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H), 6,77 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 3,50 (q, $J = 6,4$ Hz, 2H), 3,04 (m, 2H).

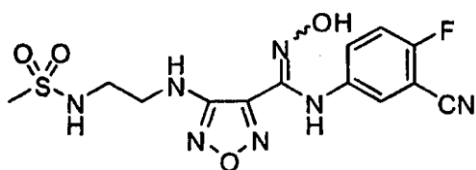
Trinn G: 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-*N*-(3-cyano-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

- [0338]** I en mikrobølge medisinglass, 5-[3-{4-[(2-aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-5-okso-1,2,4-oksadiazol-4 (5H)-yl]-2-hydrojodid fluorbenzonitril (20,0 mg, 0,044 mmol) og sulfamid (25 mg, 0,26 mmol), ble suspendert i pyridin (0,5 ml). Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til 120°C i 10 minutter i en mikrobølgenreaktor. Løsningsmidlet ble fjernet, og residuet ble oppløst i metanol (0,17 ml). En oppløsning av 2,0 N NaOH i vann (0,22 ml, 0,44 mmol) ble tilsatt i en porsjon. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved rom-

temperatur over natten. Etter nøytralisering med eddiksyre (50 ml), ble produktet rensset ved anvendelse av preparativ LCMS for å gi tittelforbindelsen (4,9 mg, 29%). LCMS for $C_{12}H_{14}FN_8O_4S$ ($M+H$)⁺: 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).

Eksempel 19

***N*-(3-Cyano-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid**

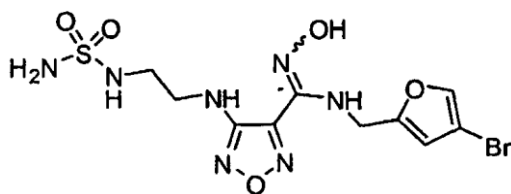


[0339]

10 **[0340]** Tittelforbindelsen ble fremstilt, ifølge fremgangsmåten i Eksempel 17, trinn E, under anvendelse av *N'*-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid og 3-cyano-4-fluoranolin [Aldrich, produkt # 639877] som utgangsmateriale. LCMS for $C_{13}H_{14}FN_7NaO_4S$ ($M+Na$)⁺: 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),
15 6,23 (m, 1H), 6,24 (s, 2H), 3,32 (m, 2H), 3,14 (m, 2H), 2,89 (s, 3H)

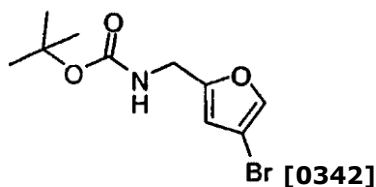
Eksempel 20

4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-*N*-[(4-brom-2-furyl)metyl]-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



[0341]

20 Trinn A: *tert*-Butyl-[(4-brom-2-furyl) metyl]karbamat



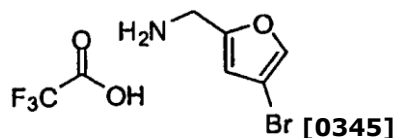
Br [0342]

[0343] 4-Brom-2-furaldehyd [Aldrich, produkt # 666599] (10,0 g, 57,1 mmol) ble oppløst i etanol (50 ml) og vann (50 ml). *N*-hydroksyamin-hydroklorid (7,15 g, 103 mmol) og natriumacetat (8,44 g, 103 mmol) ble tilsatt sekvensielt, og reaksjonsblandingen ble
25 bragt til tilbakebølge ved 100°C i 1 time. Oppløsningen ble delvis konsentrert, og bunnfallet ble oppsamlet og vasket med kaldt vann (2 x 10 ml). Filtratet ble ekstrahert med etylacetat (3 x 25 ml), og kombinerte organiske lagene ble vasket med saltvann (50 ml). Etter tørking over

natriumsulfat, løsningen ble konsentrert i vakuum. Residuet ble kombinert med bunnfallet, og oppløses i eddiksyre (70 ml). Etter å ha plassert i et is-bad, ble sink (14,7 g, 225 mmol) tilsatt porsjonsvis i løpet av 25 minutter. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til romtemperatur i løpet av 1,5 timer, og ble filtrert gjennom Celite. Oppløsningsmidlet ble fjernet i vakuum.

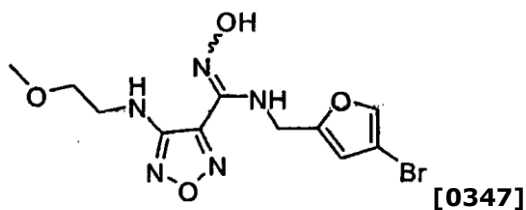
[0344] Residuet ble omrørt i tetrahydrofuran (72 ml). En oppløsning av 2,0 N NaOH i vann (179 ml, 358 mmol) ble tilsatt dråpevis i løpet av 45 minutter. Etter 5 minutter, ble di-*tert*-butyldikarbonat (16,9 g, 77,4 mmol) tilsatt dråpevis. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 2 timer, og tetrahydrofuranet ble fjernet i vakuum. Etylacetat (100 ml) ble tilsatt, og suspensjonen ble filtrert. Organiske laget ble oppsamlet, og produktet ble ekstrahert med etylacetat (2 x 50 ml). De kombinerte organiske lagene ble vasket med saltvann (100 ml) og vann (100 ml), ble tørket over natriumsulfat og konsentrert i vakuum for å gi ønskede produktet (15,3 g, 79%). LCMS beregnet for $C_{10}H_{14}BrNNaO_3$ ($M+Na$)⁺: $m/z = 298,0$. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,79 (s, 1H), 7,37 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 6,33 (s, 1H), 4,06 (d, $J = 6,1$ Hz, 2H), 1,36 (s, 9H).

Trinn B: 1-(4-Brom-2-furyl) metanamin-trifluoracetat



[0346] Under en nitrogenatmosfære, ble en løsning av *tert*-butyl-[(4-brom-2-furyl)metyl]karbammat (15,3 g, 55,4 mmol) i diklormetan (86 ml), ved 0°C, behandlet med trifluoreddiksyre (43 ml) i løpet av 15 minutter. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til romtemperatur i løpet av 30 minutter. Oppløsningsmidlet ble fjernet i vakuum, og renses med toluen (3 x 50 ml). Produktet ble lyofilisert i 18 timer for å gi ønskede produktet som et brunt, fast stoff (13,0 g, 81%). LCMS beregnet for C_5H_4BrO ($M-NH_2$)⁺: $m/z = 158,9, 160,9$. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8,34 (br s, 3H), 8,01 (s, 1H), 6,70 (s, 1H), 4,08 (s, 1H).

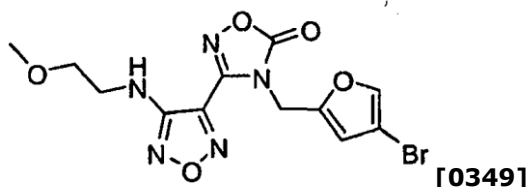
Trinn C: *N*-[(4-Brom-2-furyl)metyl]-*N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



[0348] *N*-hydroksy-4-(2-metoksyetyl-amino)-1,2,5-oksadiazol-3-carbimidoyl klorid [fremstilt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 1, trinn A til E] (4,5 g, 20,3 mmol) ble omrørt i etanol (20 ml), ved romtemperatur. Til dette, ble en løsning av 1-(4-brom-2-furyl) metanamin-trifluoracetat (6,5 g, 22,4 mmol) i etanol (24 ml) tilsatt, og blandingen ble omrørt i 15 minutter. Trietylamin (6,3 ml, 44,8 mmol) ble tilsatt dråpevis i løpet av 10 minutter, og reaksjonsblandingen ble omrørt i 15 minutter. Oppløsningsmidlet ble fjernet i vakuum, og

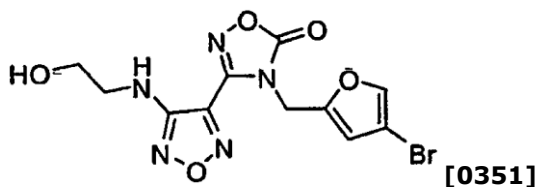
etter tilsetning av vann (50 ml), ble produktet ekstrahert med etylacetat (3 x 50 ml). Kombinerte organiske lagene ble vasket med saltvann (50 ml), tørket over natriumsulfat og konsentrert for å gi ønskede produktet (7,5 g, 100%). LCMS beregnet for $C_{11}H_{15}BrN_5O_4$ ($M + H$)⁺: $m/z = 359,9, 361,9$.

- 5 Trinn D: 4-[(4-Brom-2-furyl)metyl]-3-{4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



- [0350]** *N*-[(4-Brom-2-furyl)metyl]-*N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-
 10 oadiazol-3-karboksimidamid (7,3 g, 20,4 mmol) og 1,1'-karbonyldiimidazol (5,0 g, 30,5
 mmol) ble oppløst i etylacetat (72 ml). Reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved 65°C i 15
 minutter. Etylacetat (70 ml) ble tilsatt, og rå reaksjonsblandingen ble vasket med 0,1 N hy-
 drogenklorid i vann (2 x 70 ml). Organiske laget ble tørket over natriumsulfat og konsentrert
 i vakuum. Rensing ved flash kromatografi på silikagel med et elueringsmiddel etylacetat i
 heksaner ga ønskede produktet (4,1 g, 90%). LCMS beregnet for $C_{12}H_{13}BrN_5O_5$ ($M + H$)⁺:
 15 $m/z = 386,0, 388,0$. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,88 (s, 1H), 6,67 (s, 1H), 6,39 (t, $J =$
 5,7 Hz, 1H), 5,07 (s, 2H), 3,50 (m, 2H), 3,41 (q, $J = 5,7$ Hz, 2H), 3,25 (s, 3H).

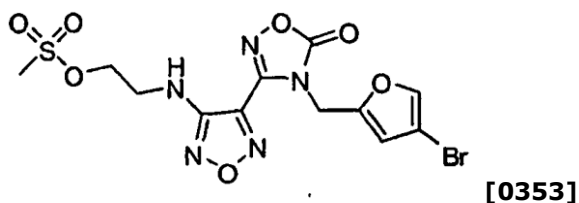
Trinn E: 4-[(4-Brom-2-furyl)metyl]-3-{4-[(2-hydroksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



- [0352]** I en rundbunnet kolbe, under nitrogenatmosfære, ble 4-[(4-brom-2-furyl)
 20 metyl]-3-{4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (8,2
 g, 21 mmol) omrørt i diklormetan (68 ml). Temperaturen ble brakt til -78°C, og en oppløs-
 ning av 1,0 M borttribromid, i diklormetan (43 ml, 43 mmol), ble tilsatt dråpevis i løpet av 45
 minutter. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved -78°C i 45 minutter, og ble rørt ved 0°C i
 25 ytterligere 30 minutter. Mens rester ved 0°C, ble en mettet oppløsning av natriumbikarbonat
 i vann (120 ml) tilsatt dråpevis i 25 minutter. Etter oppvarming til romtemperatur, ble det
 organiske laget oppsamlet og det vandige laget ekstrahert med etylacetat (2 x 50 ml). De
 kombinerte organiske lagene ble vasket med saltvann (100 ml), tørket over natriumsulfat,
 og konsentrert i vakuum for å gi ønskede produktet (7,7 g, 97%), sammen med en liten
 30 mengde av 3-{4-[(2-brometyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[(4-brom-2-furyl) metyl]-
 1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on. LCMS beregnet for $C_{11}H_{11}BrN_5O_5$ ($M + H$)⁺: $m/z = 371,7, 374,0$.

^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 7,89 (s, 1H), 6,68 (s, 1H), 6,31 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 5,08 (s, 2H), 4,85 (br s, 1H), 3,56 (m, 2H), 3,30 (q, J = 5,6 Hz, 2H).

Trinn F: 2-[(4-{4-[(4-Brom-2-furyl)metyl]-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino]etyl metansulfonatet



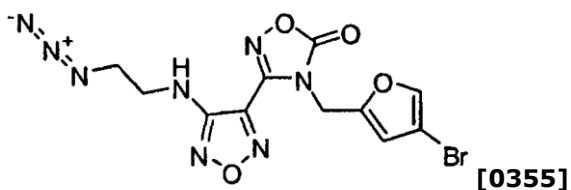
5

[0354] Til en oppløsning av 4-[(4-brom-2-furyl) metyl]-3-{4-[(2-hydroksyetyl)-amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (7,7 g, 21 mmol, inneholdende også en del av tilsvarende brom-forbindelse) i etylacetat (100 ml), ble metansulfonylchlorid tilsatt (0,96 ml, 12 mmol) i en porsjon. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 5 minutter og trietylamin (1,6 ml, 11 mmol) ble tilsatt, også i en porsjon. Etter omrøring i 30 minutter, ble ytterligere metansulfonyl klorid (0,4 ml, 5 mmol) tilsatt, og trietylamin 5 minutter senere (0,58 ml, 4,2 mmol). Etter 15 minutter, ble reaksjonen stanset ved tilsetning av vann (100 ml). Produktet ble ekstrahert ved etylacetat (3 x 50ml) og kombinerte organiske lagene ble vasket med saltvann (100 ml). Etter tørking over natriumsulfat, oppløsningsmidlet ble fjernet i vakuum for å gi ønskede produktet (9,3 g, 100%). LCMS beregnet for $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{BrN}_5\text{O}_7\text{S}$ ($\text{M} + \text{H}^+$): m/z = 449,8, 451,8. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-*d*6): δ 7,88 (s, 1H), 6,73 (t, J = 6,2 Hz, 1H), 6,68 (s, 1H), 5,08 (s, 2H), 4,37 (m, 2H), 3,59 (q, J = 5,8 Hz, 2H), 3,16 (s, 3H).

10

15

Trinn G: 3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[(4-brom-2-furyl)metyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



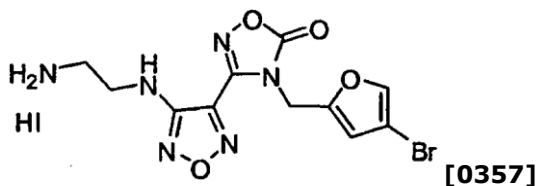
20

[0356] 2-[(4-{4-[(4-Brom-2-furyl)metyl]-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino]etylmetansulfonat (9,1 g, 20 mmol, inneholdende også en del av tilsvarende brom-forbindelse) ble oppløst i dimetylformamid (90 ml). Natriumazid (1,97 g, 30,3 mmol) ble tilsatt i en porsjon etter 5 minutter, temperaturen ble bragt til 65°C. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 2 timer, og ble avkjølet tilbake til romtemperatur. Vann (200 ml) ble tilsatt for å stanse reaksjonen. Produktet ble ekstrahert med etylacetat (3 x 100 ml), og kombinerte organiske lagene ble vasket med saltvann (2 x 150 ml) og vann (150 ml). Etter tørking over natriumsulfat, ble oppløsningsmidlet fjernet i vakuum for å gi ønskede produktet (7,7 g, 96%). LCMS beregnet for $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{BrN}_8\text{NaO}_4$ ($\text{M} + \text{Na}^+$): m/z = 418,7, 421,0. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 7,88 (s, 1H), 6,71 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 6,68 (s, 1H), 5,08 (s, 2H), 3,54 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 3,47 (q, J = 5,7 Hz, 2H).

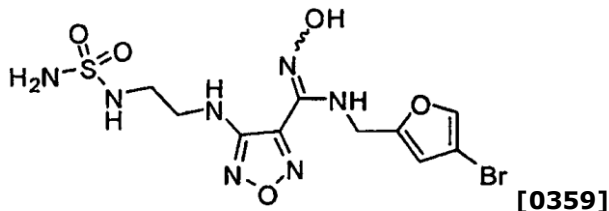
25

30

Trinn H: 3-{4-[(2-Aminoethyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[(4-brom-2-furyl)metyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on hydroiodid



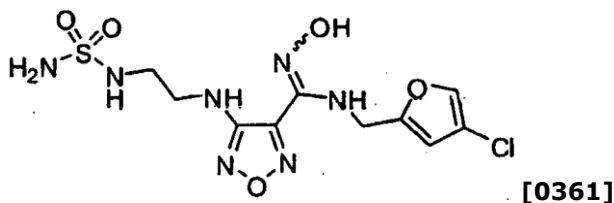
- [0358]** Til en løsning av 3-{4-[(2-azidoethyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[(4-brom-2-furyl) metyl]-1, 2,4-oksadiazol-5(4H)-on (7,7 g, 19 mmol) i metanol (80 ml), ble natriumjodid (17,4 g, 116 mmol) tilsatt. Etter omrøring i 10 minutter, ble en oppløsning av klortrimetylsilan (14,8 ml, 116 mmol) tilsatt dråpevis i løpet av 5 minutter. Reaksjonen ble rørt i 1 time, og ble langsomt tilsatt til en løsning av natrium-tiosulfat (23,0 g, 145 mmol) i vann (800 ml), ved 0°C. Dette ble et bunnfall. Kolben ble skyllet med metanol (10 ml), og bunnfallet ble samlet inn gjennom vakuumfiltrering. Det faste stoffet ble rensset med kaldt vann (2 x 25 ml), og ble tørket under vakuum, for å gi ønskede produktet (5,8 g, 60%) som hydrojodid salt. LCMS beregnet for $C_{11}H_{12}BrN_6O_4$ ($M + H$)⁺; m/z = 370,9, 372,8. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,86 (s, 1H), 7,36 (br s, 3H), 6,68 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 6,65 (s, 1H), 5,07 (s, 2H), 3,45 (q, J = 5,8 Hz, 2H), 2,98 (t, J = 5,8 Hz, 2H).
- Trinn I: 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[(4-brom-2-furyl)metyl]-N'-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



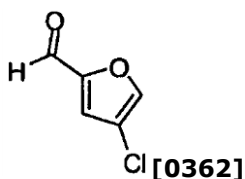
- [0360]** I en mikrobølge hetteglass, 3-{4-[(2-aminoethyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[(4-brom-2-furyl) metyl]- 1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on-hydrojodid (30 mg, 0,060 mmol) og sulfamid (29 mg, 0,30 mmol), ble suspendert i pyridin (1 ml). Reaksjonsblandingen ble spylt med nitrogen, og oppvarmet ved 130°C i 3 minutter i en mikrobølgeraktor. Løsemiddel ble fjernet, og det urene mellomproduktet ble suspendert i metanol (1 ml). En 2,0 N oppløsning av NaOH i vann (0,30 ml, 0,60 mmol) ble tilsatt i en porsjon, og reaksjonsblandingen ble oppvarmet til 45°C i 30 minutter. Etter nøytralisering med eddiksyre (68 ml, 1,2 mmol), ble produktet rensset ved preparativ LCMS for å gi ønskede produktet (10,4 mg, 41%) LCMS beregnet for $C_{10}H_{15}BrN_7O_5S$ ($M + H$)⁺: m/z = 423,9, 426,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,87 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 6,83 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 6,68 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 6,56 (s, 2H), 6,30 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 6,23 (s, 1H), 4,56 (d, J = 7,0 Hz, 2H), 3,32 (q, J = 6,3 Hz, 2H), 3,07 (q, J = 6,3 Hz, 2H).

Eksempel 21

4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-*N*-[(4-klor-2-furyl)metyl]-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

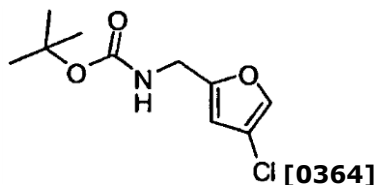


5 Trinn A: 4-Klor-2-furaldehyd



[0363] Til en omrørt suspensjon av aluminiumtriklorid (29,8 g, 0,223 mol) i diklor-
metan (200 ml) under nitrogen atmosfære ble det tilsatt 2-furankarboks-aldehyd (8,44 ml,
0,102 mol) i løpet av 15 minutter. Etter omrøring i 30 minutter, ble klor boblet inn i suspen-
sjonen ved hjelp av en pipette i løpet av et tidsrom på 50 minutter. Kolben ble forseglet og
ble rørt ved romtemperatur i 90 timer. Reaksjonsblandingen ble langsomt tilsatt til en blan-
ding av is (500 ml) i en løsning av 1,0 N hydrogenklorid i vann (300 ml). Blandingen ble stått
for oppvarming til romtemperatur i løpet av neste time. Lagene ble separert og det organiske
laget ble oppsamlet. Ytterligere produkt ble ekstrahert med diklormetan (2 x 200 ml). Kom-
binerte organiske lagene ble vasket med vann (250 ml) og tørket over natriumsulfat. Løse-
middelet ble fjernet i vakuum for å gi en rå blanding som inneholdte ønskede produktet
(14,0 g, 100%, 60% renhet). ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,56 (s, 1H), 8,36 (s, 1H),
7,71 (s, 1H).

Trinn B: tert-butyl-[(4-klor-2-furyl) metyl]karbammat



20

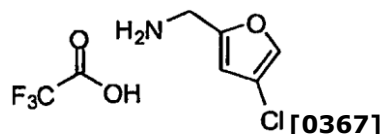
[0365] 4-Klor-2-furaldehyd (14,0 g, 60% renhet, 64 mmol) ble oppløst i etanol (50
ml) og vann (50 ml). *N*-hydroksyamin-hydroklorid (12,6 g, 182 mmol) og natriumacetat
(14,9 g, 182 mmol) ble tilsatt sekvensielt, og reaksjonsblandingen ble bragt til tilbake-
løp ved 100°C i 1 time. Oppløsningen ble delvis konsentrert, og deretter ble vann (25 ml) og etyla-
cetat (50 ml) tilsatt. Det organiske laget ble oppsamlet, og vandige laget ble ekstrahert med
etylacetat (2 x 25 ml). Kombinerte organiske lagene ble vasket med saltvann (50 ml) og
vann (50 ml). Etter tørking over natriumsulfat, ble oppløsningen konsentrert i vakuum. Mel-

25

lomproduktet ble suspendert i eddiksyre (115 ml). Oppløsningen ble avkjølt i et isbad, og sink (33,1 g, 506 mmol) ble tilsatt porsjonsvis i løpet av 20 minutter. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til romtemperatur i løpet av 2 timer, og ble filtrert gjennom Celite. Oppløsningsmidlet ble fjernet i vakuum.

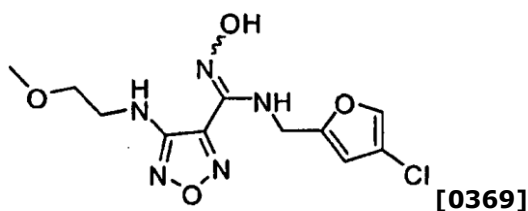
- 5 **[0366]** Residuet ble omrørt i tetrahydrofuran (100 ml). En oppløsning av 2,0 M NaOH i vann (152 ml, 304 mmol) ble tilsatt dråpevis i løpet av 30 minutter. Reaksjonsblandingen ble plassert i et isbad, og di-*tert*-butyldikarbonat ble tilsatt etter 5 minutter (24,3 g, 111 mmol), dråpevis i løpet av 15 minutter. Reaksjonen ble tillatt, å bli varmet opp til romtemperaturen i løpet av neste 2 timer, og tetrahydrofuranet ble fjernet i vakuum. Etylacetat (100
- 10 ml) ble tilsatt, og suspensjonen ble filtrert. Organiske laget ble oppsamlet, og vandige lag ble ekstrahert med etylacetat (2 x 100 ml). Kombinerte organiske lagene ble vasket med en 1: 1 blanding av vann/saltoppløsning (100 ml), tørket over natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel med et elueringsmiddel av etylacetat i
- 15 heksaner ga ønskede produktet (3,05 g, 22%). LCMS beregnet for $C_{10}H_{14}ClNNaO_3$ ($M+Na$)⁺: m/z = 253,9. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,81 (s, 1H), 7,37 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 6,32 (s, 1H), 4,05 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 1,36 (s, 9H).

Trinn C: 1-(4-Klor-2-furyl) metanamin-trifluoracetat



- 20 **[0368]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i eksempel 20, trinn B, ved å bruke *tert*-butyl-[(4-klor-2-furyl) metyl]karbammat som utgangsmaterialet i kvantitativt utbytte. LCMS beregnet for C_5H_4ClO ($M-NH_2$)⁺: m/z = 115,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,29 (br s, 3H), 8,04 (s, 1H), 6,69 (s, 1H), 4,07 (s, 2H).

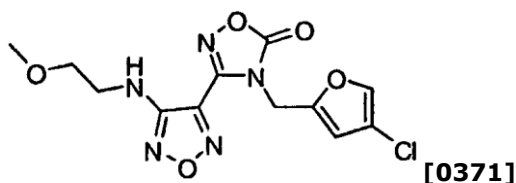
Trinn D: *N*-[(4-klor-2-furyl)metyl]-*N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



25

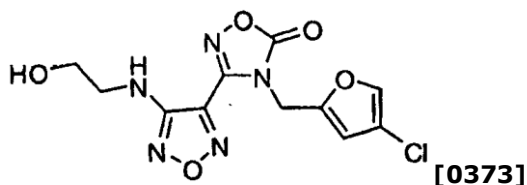
[0370] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 20, trinn C, under anvendelse av *N*-hydroksy-4-(2-metoksyetyl)amino)-1,2,5-oksadiazol-3-karbimidoyl-klorid og 1-(4-klor-2-furyl) metanamin-trifluoracetat som utgangsmaterialet i kvantitativt utbytte. LCMS beregnet for $C_{11}H_{15}ClN_5O_4$ ($M+H$)⁺: m/z = 316,0.

Trinn E: 4-[(4-Klor-2-furyl)metyl]-3-{4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



5 **[0372]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 20, trinn D, under anvendelse av *N*-[(4-klor-2-furyl) metyl]-*N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)-amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid som utgangsmaterialet i 51% utbytte. LCMS beregnet for $C_{12}H_{13}ClN_5O_5$ ($M + H$)⁺: $m/z = 342,0$.

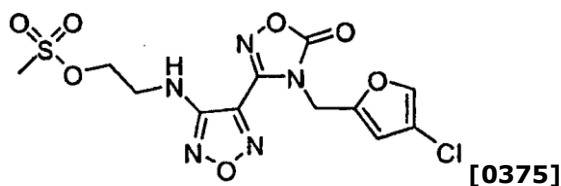
Trinn F: 4-[(4-Klor-2-furyl)metyl]-3-{4-[(2-hydroksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



10

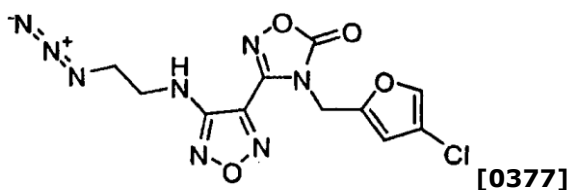
[0374] Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 20, trinn E, ved å bruke 4-[(4-klor-2-furyl) metyl]-3-{4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on som utgangsmaterialet i kvantitativt utbytte. LCMS beregnet for $C_{11}H_{10}ClN_5NaO_5$ ($M + Na$)⁺: $m/z = 349,9$.

15 Trinn G: 2-[(4-{4-[(4-Klor-2-furyl)metyl]-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino]etylmetansulfonatet



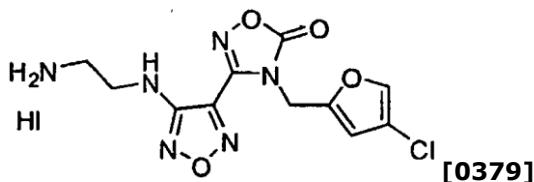
20 **[0376]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 20, trinn F, ved å bruke 4-[(4-klor-2-furyl) metyl]-3-{4-[(2-hydroksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on som utgangsmaterialet i 69% utbytte. LCMS beregnet for $C_{12}H_{13}ClN_5O_7S$ ($M + H$)⁺: $m/z = 405,8$.

Trinn H: 3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[(4-klor-2-furyl)metyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



- 5 **[0378]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 20, trinn G, ved å bruke 2-[(4-{4-[(4-klor-2-furyl) metyl]-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino]etyl metansulfonat som utgangsmaterialet i kvantitativt utbytte. LCMS beregnet for $C_{11}H_9ClN_8NaO_4$ ($M+Na$)⁺: $m/z = 374,9$.

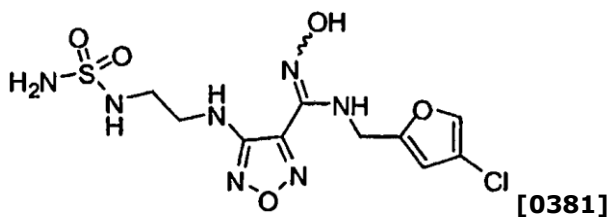
Trinn I: 3-{4-[(2-Aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[(4-klor-2-furyl)metyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on hydroiodid



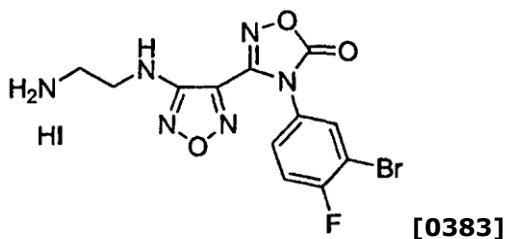
10

- [0380]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 20, trinn H, ved å bruke 3-{4-[(2-azidoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[(4-klor-2-furyl) metyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on som utgangsmaterialet i 57% utbytte. LCMS beregnet for $C_{11}H_{12}ClN_6O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z = 326,9$.

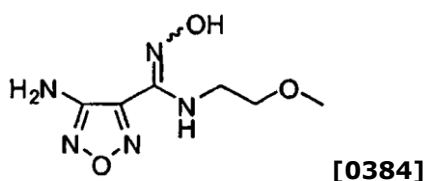
- 15 Trinn J: 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[(4-klor-2-furyl)metyl]-N'-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



- 20 **[0382]** Den ønskede forbindelsen ble fremstilt i henhold til prosedyren i Eksempel 20, trinn I, ved å bruke 3-{4-[(2-aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-[(4-klor-2-furyl) metyl]-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on hydrojodid som utgangsmaterialet i 53% utbytte. LCMS beregnet for $C_{10}H_{15}ClN_7O_5S$ ($M+H$)⁺: $m/z = 379,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 10,88 (s, 1H), 7,77 (s, 1H), 6,83 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 6,68 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 6,56 (s, 2H), 6,30 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 6,22 (s, 1H), 4,55 (d, 2H), 3,32 (q, $J = 6,3$ Hz, 2H), 3,06 (q, $J = 6,3$ Hz, 2H).

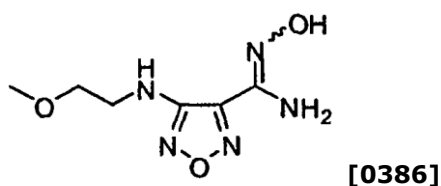
Eksempel 22**Alternativ fremstilling av mellomproduktet 3-(4-(2-aminoetyl-amino)-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on-hydrojodid**

- 5 Trinn A: 4-Amino-*N'*-hydroksy-*N*-(2-metoksyetyl)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



- [0385]** 4-Amino-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidoylklorid (kan fremstilles i henhold til Eksempel 1, trinn AB, 200,0 g, 1,23 mol) ble blandet med etylacetat (1,2 L). Ved 0-5°C ble 2-metoksyetylamin [Aldrich, produkt #143693] (119,0 ml, 1,35 mol) tilsatt i en porsjon under omrøring. Reaksjonstemperaturen steg til 41°C. den Reaksjonsblandingen ble avkjølt til 0-5°C. Trietylamin (258 ml, 1,84 mol) ble tilsatt. Etter omrøring i 5 min, indikerte LCMS at reaksjonen er fullført. Reaksjonsoppløsningen ble vasket med vann (500 ml) og saltvann (500 ml), tørket over natrium sulfat og konsentrert for å gi ønskede produktet (294 g, 119%) som en uren mørk olje. LCMS for C₆H₁₂N₅O₃ (M + H)⁺: m/z = 202,3. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,65 (s, 1H), 6,27 (s, 2H), 6,10 (t, *J* = 6,5 Hz, 1H), 3,50 (m, 2H), 3,35 (d, *J* = 5,8 Hz, 2H), 3,08 (s, 3H).
- 10
- 15

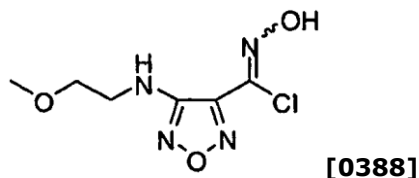
Trinn B: *N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



- [0387]** 4-Amino-*N'*-hydroksy-*N*-(2-metoksyetyl)-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid (248,0 g, 1,23 mol) ble blandet med vann (1 L). Kaliumhydroksyd (210 g, 3,7 mol) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble tilbakeløpskokt ved 100°C over natten (15 timer). TLC med 50% etylacetat (inneholdende 1% ammoniumhydroksyd) i heksan indikerte fullført reaksjon (produkt R_f = 0,6, utgangsmaterialet R_f = 0,5). LCMS indikerte også reaksjon ferdigstillelse. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur, og ekstrahert med etylacetat (3 x 1 l).
- 20
- 25 Kombinerte etylacetat oppløsningen ble tørket over natrium sulfat, og konsentrert for å gi ønskede produktet (201 g, 81%) som et rått nesten hvitt fast stoff. LCMS for C₆H₁₂N₅O₃(M

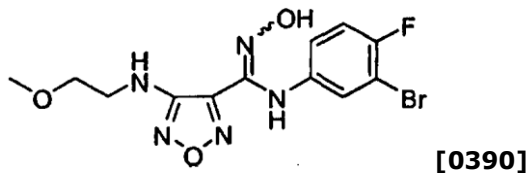
+H)⁺: m/z = 202,3 ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,54 (s, 1H), 6,22 (s, 2H), 6,15 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 3,45 (t, *J* = 5,3 Hz, 2H), 3,35 (m, 2H), 3,22 (s, 3H).

Trinn C: *N*-Hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidoylklorid



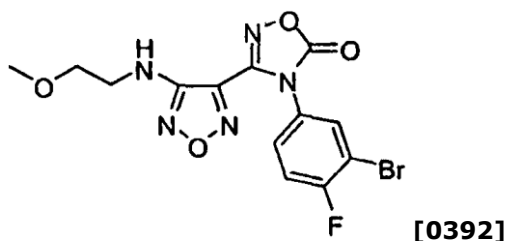
- 5 **[0389]** Ved romtemperatur ble *N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid (50,0 g, 0,226 mol) oppløst i 6,0 M vandig saltsyreløsning (250 ml, 1,5 mol). Natrium-klorid (39,5 g, 0,676 mol) ble tilsatt, og deretter ble vann (250 ml) og etylacetat (250 ml) tilsatt. Ved 3-5°C ble en, på forhånd fremstilt, vandig løsning (100 ml) av natriumnitritt (15,0 g, 0,217 mol) langsomt tilsatt i løpet av 1 time. Reaksjons-
- 10 blandingen ble omrørt ved 3-8°C i 2 timer, og deretter på romtemperatur over helgen. LCMS indikerte fullført reaksjon. Reaksjonsoppløsningen ble ekstrahert med etylacetat (2 x 200 ml). Kombinerte etylacetat oppløsningen ble tørket over natriumsulfat og konsentrert til å gi ønskede produktet (49,9 g, 126%) som et urent hvitt fast stoff. LCMS C₆H₁₀ClN₄O₃ for (M +H)⁺: m/z = 221,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 13,43 (s, 1H), 5,85 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H),
- 15 3,50 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,37 (dd, *J* = 10,8, 5,6 Hz, 2H), 3,25 (s, 3H).

Trinn D: *N*-(3-Brom-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid



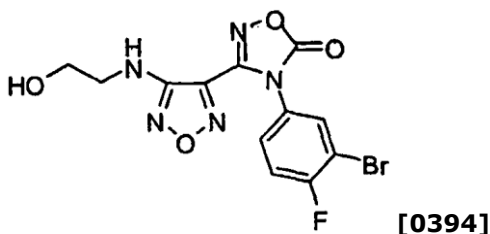
- [0391]** *N*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-
- 20 karboksimidoylklorid (46,0 g, 0,208 mol) ble blandet med vann (300 ml). Blandingen ble oppvarmet til 60°C. 3-Brom-4-fluoranilin [Oakwood produkt, produkt # 013091] (43,6 g, 0,229 mol) ble tilsatt, og blandingen ble omrørt i 10 min. En varm natriumbikarbonat (26,3 g, 0,313 mol) løsning (300 ml vann) ble tilsatt i løpet av 15 min. Reaksjonsblanding ble omrørt ved 60°C i 20 min. LCMS indikerte fullført reaksjon. Reaksjonsoppløsningen ble av-
- 25 kjølt til romtemperatur, og ekstrahert med etylacetat (2 x 300 ml). Kombinerte etylacetat-løsningen ble tørket over natriumsulfat, og konsentrert for å gi ønskede produktet (76,7 g, 98%) som et urent brunt fast stoff. LCMS C₁₂H₁₄BrFN₅O₃ for (M +H)⁺: m/z = 374,0, 376,0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,55 (s, 1H), 8,85 (s, 1H), 7,16 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,08 (dd, *J* = 6,1, 2,7 Hz, 1H), 6,75 (m, 1H), 6,14 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 3,48 (t, *J* = 5,2 Hz, 2H),
- 30 3,35 (dd, *J* = 10,8, 5,6 Hz, 2H), 3,22 (s, 3H).

Trinn E: 4-(3-Brom-4-fluorfenyl)-3-{4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



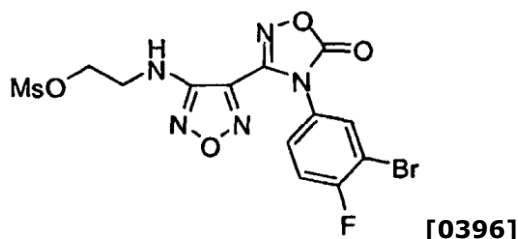
[0393] En blanding av *N*-(3-brom-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid (76,5 g, 0,204 mol), 1,1'-karbonyldiimidazol (49,7 g, 0,307 mol), og etylacetat (720 ml) ble oppvarmet til 60°C, og ble omrørt i 20 min. LCMS indikerte fullført reaksjon. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur, vasket med 1 N HCl (2 x 750 ml), tørket over natriumsulfat, og konsentrert for å gi ønskede produktet (80,4 g, 98%), som et urent brunt, fast stoff. LCMS $C_{13}H_{12}BrFN_5O_4$ for $(M + H)^+$: m/z = 400,0, 402,0. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,94 (t, J = 8,2 Hz, 1H), 7,72 (dd, J = 9,1, 2,3 Hz, 1H), 7,42 (m, 1H), 6,42 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 3,46 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 3,36 (t, J = 5,8 Hz, 2H), 3,26 (s, 3H).

Trinn F: 4-(3-Brom-4-fluorfenyl)-3-{4-[(2-hydroksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



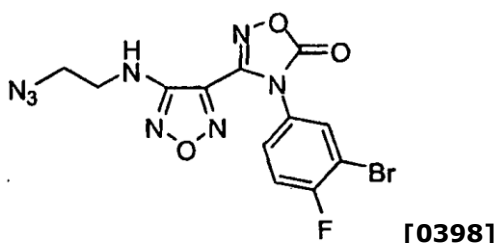
[0395] 4-(3-Brom-4-fluorfenyl)-3-{4-[(2-metoksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (78,4 g, 0,196 mol) ble oppløst i diklormetan (600 ml). Ved -67°C ble borttribromid (37 ml, 0,392 mol) tilsatt i løpet av 15 min. Reaksjonsblandingen ble varmet opp til -10°C i 30 min. LCMS indikerte fullført reaksjon. Reaksjon ble omrørt ved romtemperatur i 1 time. Ved 0-5°C ble reaksjonsblandingen langsomt stanset med mettet natriumbikarbonat løsning (1,5 L) over 30 min. Reaksjonstemperaturen steg til 25°C. Reaksjonsblandingen ble ekstrahert med etylacetat (2-x 500 ml, med første ekstraksjon organiske lag på bunnen og den andre ekstraksjon organiske lag på toppen). Kombinerte organiske lagene ble tørket over natriumsulfat, og konsentrert for å gi ønskede produktet (75 g, 99%), som et urent brunt, fast stoff. LCMS $C_{12}H_{10}BrFN_5O_4$ for $(M + H)^+$: m/z = 386,0, 388,0. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,08 (dd, J = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,70 (m, 1H), 7,68 (t, J = 8,7 Hz, 1H), 6,33 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 4,85 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 3,56 (dd, J = 10,6, 5,6 Hz, 2H), 3,29 (dd, J = 11,5, 5,9 Hz, 2H).

Trinn G: 2-(4-{4-(3-Brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl}-1,2,5-oksadiazol-3-yl)amino)etylmetansulfonatet



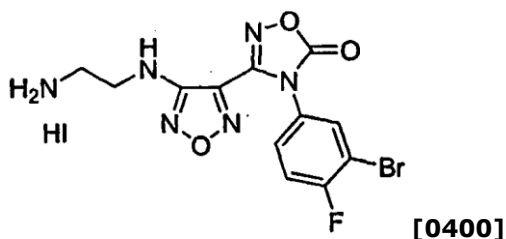
[0397] 4-(3-brom-4-fluorfenyl)-3-(4-(2-hydroksyetylamin)-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (72,2g, 0,188 mol) ble blandet med etylacetat (600 ml). Metan-sulfonylchlorid (19,2 ml, 0,248 mol) ble tilsatt og deretter trietylamin (34,9 ml, 0,250 mol). Reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur i 5 min. Når LCMS indikerte fullføring av reaksjonen ($M+H = 442$), ble 500 ml vann tilsatt til reaksjonen. Reaksjonsblandingen ble ekstrahert med etyl-acetat (2 x 500 ml). Kombinerte etylacetatoppløsningen ble vasket med saltvann (500 ml), tørket over natriumsulfat og konsentrert for å gi 85,1 g rått brunt fast stoff. $^1\text{H-NMR}$ bekreftet strukturen. Urent utbyttet var 97%. LCMS for $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{BrFN}_5\text{O}_6\text{SNa}$ ($M+\text{Na}^+$): $m/z = 485,9, 487,9$. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,08 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,58 (t, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,75 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 4,36 (t, $J = 5,3$ Hz, 2H), 3,58 (dd, $J = 11,2, 5,6$ Hz, 2H), 3,18 (s, 3H).

Trinn H: 3-{4-[(2-Azidoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on



[0399] 2-(4-(4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl)-1,2,5-oksadiazol-3-ylamino)etylmetansulfonat (50,0 g, 0,108 mol) ble oppløst i *N, N*-dimetylformamid (83 ml). Natriumazid (10,5 g, 0,162 mol) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 65°C i 5-6 timer. LCMS indikerte fullført reaksjon ($M+\text{Na} = 435$). Reaksjonen ble stoppet med vann (250 ml), og ekstrahert med etylacetat (2 x 250 ml). Kombinerte etyl-acetat oppløsningen ble vasket med vann (250 ml, lag separasjon var langsomt, 100 ml salt-oppløsning ble tilsatt for å forbedre separasjon), tørket over natriumsulfat, og konsentrert for å gi 49,7 g rått brunt fast stoff. Råutbytte er 112%. LCMS for $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{BrFN}_8\text{O}_3\text{Na}$ ($M+\text{Na}^+$): $m/z = 433,0, 435,0$. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,08 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,58 (t, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,75 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,54 (t, $J = 5,3$ Hz, 2H), 3,45 (dd, $J = 11,1, 5,2$ Hz, 2H).

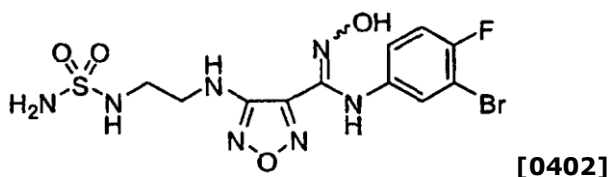
Trinn I: 3-(4-(2-aminoethylamino)-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on hydroiodid



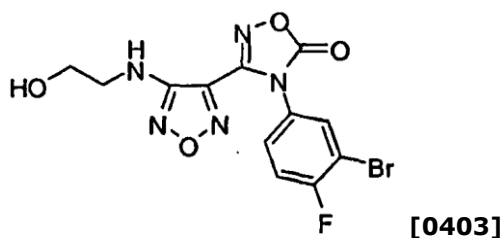
- [0401]** 3-(4-(2-azidoethylamino)-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (80,0 g; 0,194 mol) ble blandet med metanol (800 ml). Natriumjodid (175,0 g, 1,17 mol) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur i 10 min. Klortrimetylsilan (148 ml, 1,17 mol) ble oppløst i metanol (100 ml), og ble tilsatt til reaksjonsblandingen i løpet av 30 min. Reaksjonstemperaturen steg til 42°C. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur i 30 min. LCMS indikerte fullført reaksjon ($M+H = 386$). Reaksjonen ble stanset med natriumtiosulfat (190,0g, 1,20 mol) i vann (900 ml). En stor mengde fast stoff ble utfelt. Produktet ble oppsamlet ved filtrering (filtrering hastigheten var langsom), renses med vann (200 ml), og tørket på vakuum over natten. Filterkaken ble oppslemmet i etylacetat (500 ml) i 30 min. Produktet ble filtrert (filtrering hastigheten var lav) og tørket under vakuum over helgen for å gi 95 g av et nesten hvitt, fast materialet.
- LCMS $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$ for $(M+H)^+$: $m/z = 384,9, 386,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 8,12 δ (m, 4H), 7,76 (m, 1H), 7,58 (t, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,78 (t, $J = 6,1$ Hz, 1H), 3,51 (dd, $J = 11,8, 6,1$ Hz, 2H), 3,02 (m, 2H).

Eksempel 23

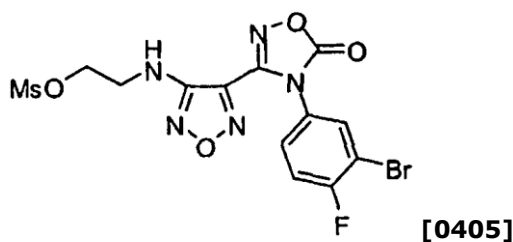
- Alternativ fremstilling av 4-(3-(4-(2-hydroxyethylamino)-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on)-N-(3-brom-4-fluorfenyl)-N'-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid**



Trinn A: 4-(3-brom-4-fluorfenyl)-3-(4-(2-hydroksyetylamin)-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on

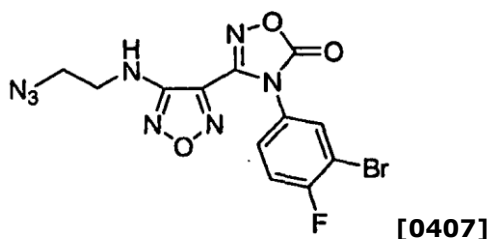


- [0404]** Til en løsning av 4-(3-brom-4-fluorfenyl)-3-(4-(2-metoksyetyl-amino)-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (kan fremstilles i henhold til Eksempel 1, trinn A-G, 1232 g, 3,08 mol) i diklormetan (12 L), under omrøring i en 22 L kolbe ved 0°C, ble borttribromid tilsatt (354 ml, 3,67 ml) dråpevis, i en hastighet slik at temperaturen ikke ble
- 5 overskred 10°C. Etter omrøring på is i 1 time, ble en oppløsning av mettet vandig natriumbikarbonat (2 L) forsiktig tilsatt, ved en hastighet slik at temperaturen ikke ble overskred 20°C (tilsetningstid 10 minutter). Resulterende blandingen ble overført til en 50 l skilletrakt, fortynnet med vann (10 L), og pH til vandige laget justeres fra 1 til 8 under anvendelse av
- 10 fast natriumbikarbonat. Lagene ble separert, og det organiske laget ble vasket med vann (10 L), og løsningsmidlene ble fjernet i vakuum for å gi et brunt faststoff (24 mol prosessert i flere omganger, 9,54 kg, kvantitativt utbytte). Materialet ble oppslemmet i 4 volumer av 7: 1 heptan: etylacetat (4 x 22 L kolber), filtrert og tørket for å gi tittelforbindelsen som et gyldenbrunt, fast stoff (8,679 g, 94%). Produktet var en blanding av hydroksy- og de tilsvarende brom-arter.
- 15 Trinn B: 2-(4-(4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl)-1,2,5-oksadiazol-3-ylamino)etylmetansulfonatet



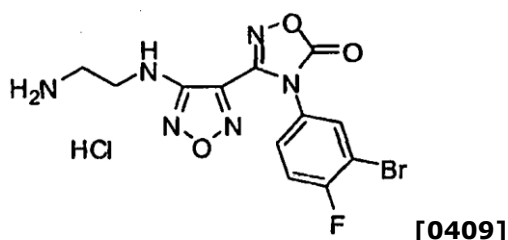
- [0406]** Til en løsning av 4-(3-brom-4-fluorfenyl)-3-{4-[(2-hydroksyetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-on (1,5 kg, 3,9 mol, inneholdende også noen av de
- 20 tilsvarende brom-forbindelse) i etylacetat (12 L), ble metansulfonylchlorid tilsatt (185 ml, 2,4 mol) dråpevis i løpet av 1 time ved romtemperatur. Trietylamin (325 ml, 2,3N mol) ble tilsatt dråpevis i løpet av 45 min, hvor reaksjonstemperaturen økte til 35°C. Etter 2 timer ble reaksjonsblanding vasket med vann (5 L), saltvann (1 L), tørket over natriumsulfat, kombinert med 3 flere reaksjoner av samme størrelse, og løsningsmidlene ble fjernet i vakuum, for å gi
- 25 ønskede produktet (7,600 g, kvantitativt utbytte, som inneholder også noen av de tilsvarende brom-forbindelsene, Forsiktig: irriterende støv) som et gyldenbrunt, fast stoff!. LCMS for $C_{13}H_{11}BrFN_5O_6SNa$ ($M+Na$)⁺: m/z = 485,9, 487,9. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,08 (dd, J = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,58 (t, J = 8,7 Hz, 1H), 6,75 (t, J = 5,9 Hz, 1H), 4,36 (t, 5,3 Hz, 2H), 3,58 (dd, J = 11,2, 5,6 Hz, 2H), 3,18 (s, 3H).

Trinn C: 3-(4-(2-azidoethylamino)-1,2,5-oksadiazol-3-yl)-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on

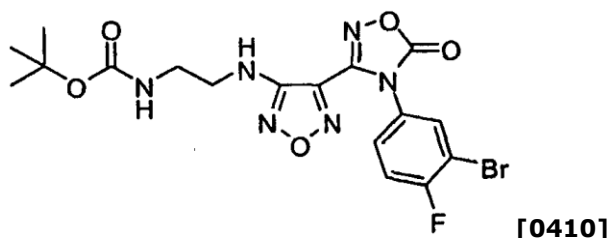


[0408] Til en oppløsning av 2-({4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl metansulfonat (2,13 kg, 4,6 mol, inneholdende også en del av den tilsvarende brom-forbindelsen) i dimetylformamid (4 L), under omrøring i en 22 liters kolbe, ble natriumazid tilsatt (380 g, 5,84 mol). Reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved 50°C i 6 timer, ble helt over i is/vann (8 liter), og ekstrahert med 1: 1 etylacetat: heptan (20 L). Det organiske laget ble vasket med vann (5 L) og saltvann (5 liter), og løsningsmidlene ble fjernet i vakuum, for å gi ønskede produktet (1,464 g, 77%) som et gyldenbrunt, fast stoff. LCMS for $C_{12}H_8BrFN_8O_3Na$ ($M+Na$)⁺: 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).

Trinn D: 3-{4-[(2-Aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on hydroklorid



Trinn D, del 1: tert-Butyl 2-(4-(4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl)-1,2,5-oksadiazol-3-ylamino)etylkarbammat



[0411] Natriumjodid (1,080 g, 7,2 mol) ble tilsatt til 3-{4-[(2-azidoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on (500 g, 1,22 mol) i metanol (6 liter). Blandingen ble omrørt i 30 min, hvor en mild eksoterm reaksjon ble observert. Klortrimetylsilan (930 ml, 7,33 mol) ble tilsatt som en løsning i metanol (1 L), dråpevis ved en hastighet slik at temperaturen ikke overskred 35°C, og reaksjonen ble omrørt i 3,5 timer

ved omgivelsestemperatur. Reaksjonsblandingen ble nøytralisert med 33 vekt% oppløsning av natriumtiosulfat-pentahydrat i vann (~1,5 L), fortynnet med vann (4 liter), og pH ble forsiktig justert til 9 med fast kaliumkarbonat (250 g – tilsettes i små porsjoner: se skumming). Di-*tert*-butyldikarbonat (318 g, 1,45 mol) ble tilsatt, og reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur. Ytterligere kaliumkarbonat (200 g) ble tilsatt i 50 g porsjoner i løpet av 4 h for å sikre at pH-verdien fremdeles var ved eller over 9. Etter omrøring ved romtemperatur over natten, ble faste stoffet filtrert, tritureret med vann (2 L), og deretter MTBE (1,5 L). Totalt 11 nedfarter ble utført (5,5 kg, 13,38 mol). Kombinerte faste stoffer ble tritureret med 1: 1 THF: diklormetan (24 L, 4 kjører i en 20 L kolbe rotasjonsfordamper, 50°C, 1 h), filtrert og vasket med diklormetan (3 liter hver kjøring) for å gi et nesten hvitt fast stoff. Det urene materialet ble oppløst ved 55°C tetrahydrofuran (5 ml/g), behandlet med avfargende karbon (2 vekt%), og silikagel (2 vekt%), og filtrert varm gjennom celitt for å tilveiebringe produktet, som et nesten hvitt faststoff (5,122 g). Kombinerte MTBE, THF og diklormetan filtrater ble konsentrert i vakuum og kromatografert (2 kg silikagel, heptan med en 0-100% etylacetat-gradient, 30 L) for å gi mer produkt (262 g). Kombinerte faste stoffer av *tert*-butyl 2-(4-(4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl)-1,2,5-oksadiazol-3-ylamino)etylkarbammat ble tørket til en konstant vekt i en konveksjonsovn (5,385 g, 83%).

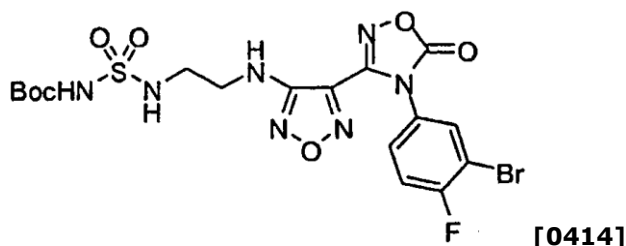
Trinn D, Del 2: 3-{4-[(2-Aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4*H*)-on hydroklorid
Metode A:

[0412] I en 22 l kolbe ble hydrogenklorid (4 N løsning i 1,4-dioksan, 4 L, 16 mol) tilsatt. *tert*-Butyl-[2-({4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl]karbammat (2315 g, 4,77 mol) ble tilsatt som et faststoff, i porsjoner i løpet av 10 min. Oppslemmingen ble omrørt ved romtemperatur, og ble gradvis en tykk pasta som ikke kunne røres. Etter å ha stått over natten ved romtemperatur, ble massen oppslemmet i etylacetat (10 L), filtrert, oppslemmet på nytt i etylacetat (5 L), filtrert, og tørket til en konstant vekt for å gi ønskede produktet som et hvitt, fast stoff (kombinert med andre løper, 5 kg utgangsmaterialet ladet, 4,113 g, 95%). LCMS $C_{12}H_{11}BrFN_6O_3$ for $(M + H)^+$: $m/z = 384,9, 386,9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8,12 (m, 4H), 7,76 (m, 1H), 7,58 (t, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,78 (t, $J = 6,1$ Hz, 1H), 3,51 (dd, $J = 11,8, 6,1$ Hz, 2H), 3,02 (m, 2H).

Metode B:

[0413] *tert*-Butyl-[2-({4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl]karbammat (5000g) ble tilsatt til en blanding av isopropanol (20 L) og 4 N HCl i 1,4-dioksan (10 L), ved romtemperatur. Satsen ble oppvarmet til 40-45°C, og holdt i 1 time. Etylacetat ble tilsatt til satsen ved 40-45°C, og holdt i 2,5 timer. Ved reaksjon ferdigstilling, som ble indikert ved HPLC, ble heptan (10 L) tilsatt til satsen. Satsen ble avkjølt til 25°C. Produktet ble isolert ved filtrering, og den våte kaken ble vasket med etylacetat (3 x 5,0 L). Produktet ble tørket i et vakuum ovn ved 20°C for å gi 4,344 g (utbytte 93,4%) av tittelforbindelsen. LC-MS, 1H og ^{13}C NMR, HPLC-data av denne varen var identiske til produktet fremstilt ved metode A.

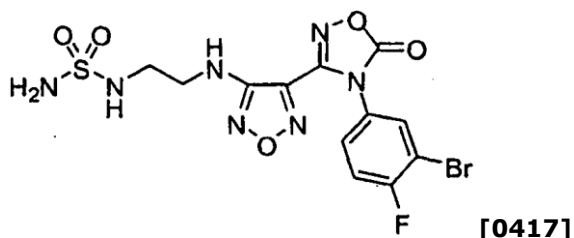
Trinn E: *tert*-Butyl({[2-({4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl]amino}sulfonyl)karbamat



[0415] En 5 liter rundbunnet kolbe ble fylt med klorsulfonylisocyanat [Aldrich, produkt # 142662] (149 mL, 1,72 mol) og diklormetan (1,5 L), og ble avkjølt ved hjelp av et isbad til 2°C. *tert*-butanol (162 ml, 1,73 mol) i diklormetan (200 ml) ble tilsatt dråpevis ved en hastighet slik at temperaturen ikke overskred 10°C. Resulterende løsningen ble omrørt ved romtemperatur i 30-60 min for å tilveiebringe *tert*-butyl-[klorsulfonyl]karbamat.

[0416] En 22 l kolbe ble fylt med 3-{4-[(2-aminoetyl)amino]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}-4-(3-brom-4-fluorfenyl)-1,2,4-oksadiazol-5(4H)-on-hydroklorid (661 g, 1,57 mol) og 8,5 l diklormetan. Etter avkjøling til -15°C med en is/salt-bad, ble løsningen av *tert*-butyl-[klorsulfonyl]karbamat (fremstilt som ovenfor) tilsatt ved en hastighet slik at den temperaturen fikk ikke overstige -10°C (tilsetningstid 7 min). Etter omrøring i 10 minutter, ble trietylamin (1,085 ml, 7,78 mol) tilsatt ved en hastighet slik at temperaturen ikke overskred -5°C (tilsetningstid 10 minutter). Det kalde badet ble fjernet, og reaksjonsblandingen fikk oppvarmes til 10°C, delt i to porsjoner, og nøytralisert med 10% HCl konus (4,5 L hver porsjon). Hver porsjon ble overført til en 50 l skilletrakt, og fortynnet med etylacetat for å oppløse fullstendig hvite fast stoff (~ 25 L). Lagene ble separert, og det organiske laget ble vasket med vann (5 L), saltvann (5 liter), og løsningsmidlene ble fjernet i vakuum, for å gi et gråhvitt, fast stoff. Det faste stoffet ble tritureert med MTBE (2 x 1,5 liter), og tørket til en konstant vekt for å gi et hvitt, fast stoff. Totalt 4113 g utgangsmaterialet ble prosessert på denne måten (5,409 g, 98%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,90 (s, 1H), 8,08 (dd, *J* = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,59 (t, *J* = 8,6 Hz, 1H), 6,58 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 3,38 (dd, *J* = 12,7, 6,2 Hz, 2H), 3,10 (dd, *J* = 12,1, 5,9 Hz, 2H), 1,41 (s, 9H).

Trinn F: *N*-[2-({4-[4-(3-Brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl]sulfamid



Metode A: Ved bruk av trifluoreddiksyre

[0418] Til en 22 liters kolbe, inneholdende 98: 2 trifluoreddiksyre: vann (8,9 L), ble *tert*-butyl-({[2-({4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl]amino}sulfonyl)karbamat (1931 g, 3,42 mol) tilsatt, i por-
 5 sjoner, i løpet av 10 minutter. Resulterende blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 1,5 timer og midlene ble fjernet i vakuum, og rensset med diklormetan (2 L) deretter. Resulte-
 rende faste stoffet ble behandlet en gang til med frisk 98: 2 trifluoreddiksyre: vann (8,9 L),
 oppvarmet i 1 time ved 40-50°C, oppløsningsmidlene ble fjernet i vakuum, og rensset med
 diklormetan (3 x 2 liter) deretter. Resulterende hvite faste stoffet ble tørket i en vakuum-
 10 tørkeovn ved 50°C over natten. Totalt 5409 g ble prosessert på denne måten (4,990 g,
 kvantitativt utbytte). LCMS $C_{12}H_{12}BrFN_7O_5S$ for $(M + H)^+$: $m/z = 463,9, 465,9$. 1H NMR (400
 MHz, DMSO- d_6): δ 8,08 (dd, $J = 6,2, 2,5$ Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,59 (t, $J = 8,7$ Hz, 1H),
 6,67 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 6,52 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,38 (dd, $J = 12,7, 6,3$ Hz, 2H), 3,11 (dd, J
 = 12,3, 6,3 Hz).

15 Metode B: Ved bruk av saltsyre

[0419] Til oppløsningen av *tert*-butyl-({[2-({4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-
 dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl] 1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl]amino}sulfonyl)karbamat
 (4,500 g) i isopropanol (9 liter), ble 4 N HCl i dioksan (8,0 L) tilsatt. Reaksjonsblanding
 oppvarmet til 40-45°C, og ble holdt ved denne temperaturen i omtrent 5 timer. Ved fullfø-
 20 ring av reaksjonen (som ble indikert ved HPLC-analyse), ble heptan (72 L) tilsatt til reak-
 sjonsblanding. Resulterende blandingen ble oppvarmet til 68°C, og holdt ved denne tem-
 peraturen i 1 time. Satsen ble avkjølt til omtrent 23°C. Faste produktet ble oppsamlet ved
 filtrering. Den våte kaken ble vasket med en blanding av heptan (16 L) og isopropanol (1,2
 L), og tørket under sug på en filtertrakt. Urene produktet ble oppløst i etylacetat (10,8 L)
 25 ved ca. 43°C. Heptan (32,4 L) ble tilsatt til etylacetat-løsning i løpet av 15 min. Satsen ble
 oppvarmet til 70°C, og holdt ved denne temperaturen i 1 time. Satsen ble avkjølt til 21°C,
 og det faste produktet ble oppsamlet ved filtrering. Den våte kaken ble vasket med heptan
 (14,4 L), og tørket under sug i filtertrakten. Produktutbyttet var 3034g. LC-MS, 1H og ^{13}C
 NMR og HPLC data for denne varen var identiske med produktet som var fremstilt ved meto-
 30 de A.

Trinn G:(Z)-4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-brom-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-
 1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid

Metode A:

[0420] Til en rå blanding av *N*-[2-({4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-
 35 1,2,4-oksadiazol-3-yl] 1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl]sulfamid (2,4 mol), som inneholdt
 restmengder av trifluoreddiksyre, under omrøring i en 22 L kolbe, ble THF (5 L) tilsatt. Re-
 sulterende løsningen ble avkjølt til 0°C, ved hjelp av et isbad, og 2 N NaOH (4 L) ble tilsatt
 ved en hastighet slik at temperaturen ikke overskred 10°C. Etter omrøring ved omgivelses-
 temperatur i 3 timer (LCMS indikerte at ikke noe utgangsmaterialet som forble), pH ble jus-
 40 tert til 3-4 med konsentrert HCl (rundt 500 ml). THF ble fjernet i vakuum, og resulterende

blandingen ble ekstrahert med etylacetat (15 L). Det organiske laget ble vasket med vann (5 L), saltvann (5 L), og løsningsmidlene ble fjernet i vakuum for å gi et fast stoff. Det faste stoffet ble triturerert med MTBE (2 x 2 liter), kombinert med tre andre reaksjoner av samme størrelse, og tørket over natten i en konveksjonsovn for å gi et hvitt, fast stoff (3,535 g).

- 5 Faststoffet ble rekrystallisert (3 x 22 L-kolber, 2: 1 avionisert ultra-filtrert vann: etanol, 14,1 L hver kolbe), og tørket i en 50°C varmluftsovn, til en konstant vekt, for å gi tittelforbindelsen, som et nesten hvitt fast stoff (3,290 g, 78%). LCMS for $C_{11}H_{14}BrFN_7O_4S$ ($M + H$)⁺: m/z = 437,9, 439,9. ¹NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,51 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 7,17 (t, J = 8,8 Hz, 1H), 7,11 (dd, J = 6,1, 2,7 Hz, 1H), 6,76 (m, 1H), 6,71 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 6,59 (s, 2H)
 10 6,23 (t, J = 6,1 Hz, 1H), 3,35 (dd, J = 10,9, 7,0 Hz, 2H), 3,10 (dd, J = 12,1, 6,2 Hz, 2H). Røntgenkrystallografisk analyse fastslått at tittelforbindelsen vedtar en Z-konfigurasjon (Z-isomer) med hensyn til karbon-nitrogen-dobbelbinding (C = N) oksim funksjonalitet.

Metode B:

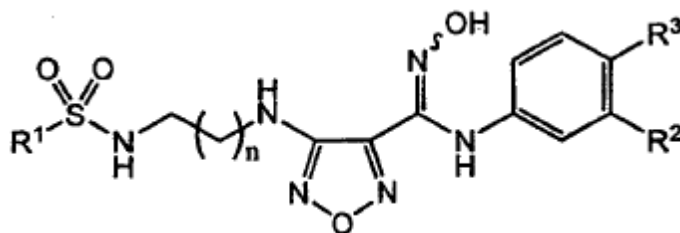
- [0421]** *N*-[2-({4-[4-(3-brom-4-fluorfenyl)-5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-oksadiazol-3-yl]-1,2,5-oksadiazol-3-yl}amino)etyl]sulfamid (1,500 g) ble tilsatt til THF (6,0 L), og satsen ble
 15 avkjølt til 2°C. Trifluoreddiksyre (0,006 L) ble tilsatt til satsen ved 2°C, deretter med tilsetning av vandig natriumhydroksyd-oppløsning (384 g fast NaOH i 4,8 L vann) ved 0-2°C. Satsen ble oppvarmet til ca. 16°C, og holdt i 5 timer. Ved fullføring av reaksjonen, som ble indikert ved hjelp av HPLC, ble konsentrert saltsyre (0,7 L) tilsatt for å justere pH-verdien i
 20 satsen til 3-4. Omtrent 4 L av løsemiddel ble fjernet fra batch ved destillasjon under redusert trykk. Satsen ble tilsatt til etylacetat (18,0 L), og bifasiske blandingen ble omrørt i 15 min. Det organiske laget ble vasket med vann (6,0 L) og saltvann (6,0 L) sekvensielt. Organiske løsningen ble tørket over vannfritt magnesium sulfat. Magnesiumsulfat ble filtrert, og filtratet var inndampet til tørrhet under redusert trykk. Til det resulterende faststoffet, ble MTBE (3,0
 25 L) tilsatt og oppslemmingen ble omrørt i 15 minutter. Faste produktet ble isolert ved filtrering. Filterkaken ble vasket med MTBE (1,2 L) og heptan (1,2 L) sekvensielt. Faste stoffet ble tørket på filtertrakten under sug for å gi 1,416 g (87,9%) av produktet. Produktet (2440g, er holdt i to batcher) ble ytterligere rensset ved redispersering i MTBE (9,6 L) ved 17°C i 2 timer. Satsen ble avkjølt til 6°C i 30 min. Faste produktet ble oppsamlet ved filtrering, og våte
 30 kaken ble vasket med MTBE (3,6 l) og heptan (1,2 L) sekvensielt. Produktet ble tørket i vakuum ovn ved 20°C for å gi 1,962 g av tittelforbindelsen i 81,7% utbytte. LC-MS, ¹H og ¹³C NMR og HPLC-data for denne varen var identiske til produktet som var fremstilt ved metode A.

Eksempel 24

35 Forbindelsesdata

[0422] Utvalgte fysiske og biologiske aktivitetsdata for forbindelsene i Eksempel 1-19, er oppsummert i Tabell 2 nedenfor. IC₅₀-data er tilgjengelig fra analysen i Eksempel A.

Tabell 2



Eks. nr.	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]						

Eksempel 25

5 Forbindelsesdata

[0423] IDO IC₅₀-data (se Eksempel A) for forbindelsene i Eksemplene 20 og 21, er gitt nedenfor i Tabell 3.

Tabell 3

Eks. nr.	IDO IC ₅₀ (nM)
20	<500
21	<750

Eksempel 26

NMR-data

5 **[0424]** ^1H NMR data (Varian Inova 500 spektrometer, en Mercury 400 spektrometer, eller en Varian (eller Mercury) 300 spektrometer) for forbindelsene i Eksempelene 1-21, er gitt i Tabell 4 nedenfor.

Tabell 4

Eks. Nr.	Løse-middel	MHz	^1H NMR-spektra
1	DMSO- d_6	400	δ 11,5 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 7,17 (dd, J = 8,8, 8,6 Hz, 1H), 7,09 (dd, J = 6,1, 2,7 Hz, 1H), 6,76-6,72 (m, 1H), 6,56 (dd, J = 6,1, 6,1 Hz, 1H), 6,51 (s, 2H), 6,17 (dd, J = 5,9, 5,9 Hz, 1H), 3,27-3,21 (m, 2H), 2,94-2,88 (m, 2H), 1,78-1,71 (m, 2H)
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, 1H), 8,89 (s, 1H), 7,17 (dd, J = 8,8, 8,6 Hz, 1H), 7,09 (dd, J = 6,1, 2,7 Hz, 1H), 6,76-6,72 (m, 1H), 6,56 (dd, J = 6,1, 6,1 Hz, 1H), 6,51 (s, 2H), 6,17 (dd, J = 5,9, 5,9 Hz, 1H), 3,27-3,21 (m, 2H), 2,94-2,88 (m, 2H), 1,78-1,71 (m, 2H)
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, 0,05H), 7,32-7,29 (m, 0,1H), 7,18 (dd, J = 9,1, 9,1 Hz, 0,95H), 6,93 (dd, J = 6,4, 2,7 Hz, 0,95H), 6,71-6,66 (m, 0,95H), 6,33 (br s, 1H), 3,35-3,27 (m, 2H), 3,10-3,06 (m, 2H)
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, 1H), 7,20 (dd, J = 9,2, 9,0 Hz, 1H), 6,96 (dd, J = 6,4, 2,7 Hz, 1H), 6,72-6,69 (m, 1H), 6,55 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 6,51 (s, 2H), 6,16 (t, J = 5,9 Hz, 1H), 3,28-3,21 (m, 2H), 2,93-2,87 (m, 2H), 1,76 -1,72 (m, 2H)
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)

Eks. Nr.	Løse-middel	MHz	¹ H NMR-spektra
11	DMSO- <i>d</i> ₆	300	δ 11,6 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,31 (dd, <i>J</i> = 10,0, 9,4 Hz, 1H), 7,13 (dd, <i>J</i> = 6,4, 2,9 Hz, 1H), 7,05-6,99 (m, 1H), 6,58 (t, <i>J</i> = 6,0 Hz, 1H), 6,52 (s, 2H), 6,17 (t, <i>J</i> = 5,9 Hz, 1H), 3,28-3,21 (m, 2H), 2,94-2,87 (m, 2H), 1,79-1,72 (m, 2H)
12	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 11,6 (s, 1H), 9,07 (s, 1H), 7,30 (dd, <i>J</i> = 10,0, 9,6 Hz, 1H), 7,13 (dd, <i>J</i> = 6,2, 2,5 Hz, 1H), 7,05-7,02 (m, 2H), 6,19 (t, <i>J</i> = 5,8 Hz, 1H), 3,27-3,21 (m, 2H), 2,99-2,94 (m, 2H), 2,87 (s, 3H), 1,76-1,72 (m, 2H)
13	CD ₃ OD	400	δ 7,36 (t, <i>J</i> = 7,8 Hz, 1H), 7,23 (d, <i>J</i> = 7,8 Hz, 1H), 7,10 (s, 1H), 7,03 (d, <i>J</i> = 7,8 Hz, 1H), 3,48 (m, 2H), 3,29 (m, 2H)
14	DMSO- <i>d</i> ₆	500	δ 11,63 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,39 (t, <i>J</i> = 7,6 Hz, 1H), 7,21 (m, 2H), 7,10 (s, 1H), 6,99 (d, <i>J</i> = 8,1 Hz, 1H), 6,28 (t, <i>J</i> = 5,4 Hz, 1H), 3,36 (q, <i>J</i> = 5,8 Hz, 2H), 3,17 (q, <i>J</i> = 5,8 Hz, 2H), 2,91 (s, 3H)
15	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 11,6 (s, 1H), 9,12 (s, 1H), 7,37 (dd, <i>J</i> = 8,0, 8,0 Hz, 1H), 7,21-7,18 (m, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,95 (d, <i>J</i> = 10,0 Hz, 1H), 6,52 (br s, 3H), 6,17 (t, <i>J</i> = 6,0 Hz, 1H), 3,28-3,22 (m, 2H), 2,93-2,89 (m, 2H), 1,77-1,73 (m, 2H)
16	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 11,6 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 7,37 (dd, <i>J</i> = 8,0, 8,0 Hz, 1H), 7,20 (d, <i>J</i> = 7,8 Hz, 1H), 7,07-7,01 (m, 2H), 6,96 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H), 6,20 (t, <i>J</i> = 5,9 Hz, 1H), 3,27-3,22 (m, 2H), 2,99-2,94 (m, 2H), 2,87 (s, 3H), 1,78-1,71 (m, 2H)
17	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 11,25 (s, 1H), 8,61 (s, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,91 (m, 1H), 6,72 (m, 1H), 6,58 (m, 1H), 6,24 (s, 2H), 3,32 (m, 2H), 3,11 (m, 2H), 2,89 (s, 3H), 2,05 (s, 3H),
18	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 11,65 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,34 (t, <i>J</i> = 9,1 Hz, 1H), 7,22 (dd, <i>J</i> = 5,4, 2,8 Hz, 1H), 7,13 (m, 1H), 6,70 (t, <i>J</i> = 5,9 Hz, 1H), 6,59 (s, 2H), 6,20 (t, <i>J</i> = 6,1 Hz, 1H), 3,34 (m, 2H), 3,09 (m, 2H)
19	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 11,65 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,35 (m, 1H), 7,18 (m, 3H), 6,56 (m, 1H), 6,23 (m, 1H), 6,24 (s, 2H), 3,32 (m, 2H), 3,14 (m, 2H), 2,89 (s, 3H),
20	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 10,87 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 6,83 (t, <i>J</i> = 7,3 Hz, 1H), 6,68 (t, <i>J</i> = 6,0 Hz, 1H), 6,56 (s, 2H), 6,30 (t, <i>J</i> = 6,0 Hz, 1H), 6,23 (s, 1H), 4,56 (d, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H), 3,32 (q, <i>J</i> = 6,3 Hz, 2H), 3,07 (q, <i>J</i> = 6,3 Hz, 2H)
21	DMSO- <i>d</i> ₆	400	δ 10,88 (s, 1H), 7,77 (s, 1H), 6,83 (t, <i>J</i> = 6,8 Hz, 1H), 6,68 (t, <i>J</i> = 5,9 Hz, 1H), 6,56 (s, 2H), 6,30 (t, <i>J</i> = 5,9 Hz, 1H), 6,22 (s, 1H), 4,55 (d, 2H), 3,32 (q, <i>J</i> = 6,3 Hz, 2H), 3,06 (q, <i>J</i> = 6,3 Hz, 2H)

Eksempel A: Menneskelig indolamin-2,3-dioksygenasae (IDO)-enzymassay

[0425] Menneskelig indolamin-2,3-dioksygenasae (IDO) med et N-terminalt His tag ble uttrykt i *E. coli*, og rensset til homogenitet. IDO katalyserer oksidative spaltning av pyrrol-ringen av indolkjernen av tryptofan, for å gi *N'*-formylkynurenine. Analysene ble utført ved

romtemperatur, som beskrevet i litteraturen, ved bruk av 95 nM og IDO 2 mM D-Trp i nærvær av 20 mM askorbat, 5 uM metylenblått og 0,2 mg/ml katalase i 50 mM kalium fosfatbuffer (pH 6,5). Innledende reaksjonshastigheter ble registrert, ved å følge kontinuerlig absorbans økning ved 321 nm på grunn av dannelsen av *N*'-formylkynurenine (se: Sono, M., et al, 1980, J. Biol Chem 255, 1339-1345).

Eksempel B: Bestemmelse av inhibitor aktivitet i HeLa cellebasert indolamin-2,3-dioksygenase (IDO)/Kynurenine assay

[0426] HeLa-celler (# CCL-2) ble oppnådd fra American Type Tissue Culture Collection (ATCC, Manassas, VA), og ble rutinemessig opprettholdt i minimum essensielt medium (eagle) med 2 mM L-glutamin og Earles BSS justert til å inneholde 1,5 g/l natriumbikarbonat, 0,1 mM ikke-essensielle aminosyrer, 1 mM natriumpyruvat og 10% føtalt bovint serum (alle fra Invitrogen). Celler ble holdt ved 37°C, i en fuktet inkubator med 5% tilføres CO₂. Analysen var utført som følger: HeLa-celler ble sådd i en 96-brønners dyrkingsplate, i en tetthet på 5 x 10³ per brønn, og dyrket over natten. På neste dag, ble IFN-γ (50 ng/ml sluttkonsentrasjon), og seriefortynninger av forbindelsene (totalt volum av 200 ml kulturmedium) tilsatt til cellene. Etter 48 timers inkubering, ble 140 uL av supernatanten per brønn overført til en ny 96-brønners plate. 10 uL av 6,1 N trikloreddiksyre (# T0699, Sigma) ble blandet i hver brønn, og inkubert ved 50°C i 30 minutter, for å hydrolysere *N*-formylkynurenine, fremstilt ved indolamin-2,3-dioksygenase til kynurenine. Reaksjonsblandingen ble deretter sentrifugert i 10 minutter ved 2500 rpm, for å fjerne sedimenter. 100 uL av supernatanten per brønn ble overført til en annen 96 brønners plate, og blandes med 100 uL 2% (w/v) *p*-dimetylaminobenzaldehyd (# 15647-7, Sigma-Aldrich) i eddiksyre. Den gule fargen avledet fra Kynurenine ble målt ved 480 nm, ved anvendelse av en SPECTRAMax 250 mikropateleser (Molecular Devices). L-kynurenine (# K8625, Sigma) ble anvendt som standard. Standardene (240, 120, 60, 30, 15, 7,5, 3,75, 1,87 uM) ble fremstilt i 100 uL kulturmedia, og blandet med like stort volum av 2% (w/v) *p*-dimetylaminobenzaldehyd. Prosentvis inhibering ved individuelle konsentrasjoner ble bestemt, og gjennomsnittlige verdier av duplikater ble oppnådd. Dataene ble analysert ved hjelp av ikke-lineær regresjon for å generere IC₅₀-verdier (Prism Graphpad). Se: Takikawa O, et al., 1988, J. Biol. Chem., 263 (4): 2041-8.

Eksempel C: Bestemmelse av effekten av IDO inhibitorer på T-celle-proliferasjon som er undertrykt av IDO-uttrykk dendrittske celler

[0427] Monocyttter ble samlet inn fra humane perifere mononukleære celler ved leukophoresis. Monocyttter ble deretter sådd ut ved en tetthet på 1 x 10⁶ celler/ brønn, i en 96 brønners plate, ved å bruke RPMI 1640-medium, supplert med 10% føtalt bovint serum, og 2 mM L-glutamin (alle fra Invitrogen). Adherente celler ble holdt tilbake på platen etter over natten kultur ved 37°C. Adherente monocyttter ble deretter stimulert i 5-7 dager med 100 ng/mL GM-CSF (# 300-03, Peprotech) og 250 ng/ml IL-4 (# 200-04, Peprotech), og ble aktivert deretter med 5 mg/ml LPS fra *Salmonella typhimurium* (# 437650, Sigma) og 50 ng/ml IFN-γ (# 285-IF, R & D Systems) for ytterligere to dager til å indusere dendrittske cellen modning.

[0428] Etter dendrittiske celleaktivering, ble mediet erstattet med avsluttede RPMI 1640, supplert med 100-200 U/mL IL-2 (# CYT-209, ProSpec-Tany TechnoGene) og 100 ng/ml anti-CD3-antistoff (# 555336, PharMingen), T-celler ($2-3 \times 10^5$ celler/brønn), og serielle fortyndinger av IDO forbindelser. Etter inkubering i 2 dager, ble T-cell proliferasjon målt ved BrdU innlemmelse analyse, ved hjelp av en kolorimetrisk Cell proliferasjon ELISA kit, per produsentens anvisninger (# 1647229, Roche Molecular Biochemicals). Celler ble dyrket kontinuerlig i 16-18 timer, i nærvær av 10 uM BrdU merking løsning. Deretter ble merking mediet fjernet, og 200 ul FixDenat per brønn ble tilsatt til cellene, og inkubert i 30 minutter ved romtemperatur. FixDenat-oppløsningen ble fjernet og 100 ul/brønn anti-BrdU-POD anti-stoffkonjugat løsning ble tilsatt. Reaksjonen ble utført i 90 minutter ved romtemperatur. Det antistoff-konjugatet ble deretter fjernet, og cellene ble skylt tre ganger med 200 ul/brønn vaskeløsning. Til slutt, ble 100 ul/brønn av substratløsning tilsatt, og resultatene ble oppnådd ved anvendelse av en mikroplateleser (Spectra Max PLUS, Molecular Devices), under fargeutvikling. Flere avlesninger ved forskjellige tidspunkter, ble oppnådd for å sikre at data var innenfor det lineære området. Dataene ble rutinemessig innhentet fra replikert eksperimenter, og hensiktsmessige kontroller var inkludert. Se: Terness P, et al. 2002, J. Exp. Med, 196 (4): 447-57; og Hwu, P, et al. . 2000, J. Immunol, 164 (7): 3596-9.

Eksempel D: *In vivo* testing av IDO inhibitorer for antitumoraktivitet

[0429] *In vivo* anti-tumor virkning kan testes ved å bruke modifisert tumor allograft-xenograft/protokoller. For eksempel, det har blitt beskrevet i litteraturen at IDO hemming kan synergisere med cytostatika i immunkompetente mus (Muller, A.J., et al 2005, Nat Med 11: 312-319). Denne synergien ble vist å være avhengig av T-celler, ved sammenligning av synergieffekter av en eksperimentell IDO inhibitor i murine tumor xenograft modeller (f.eks. B16 og relatert varianter, CT-26, LLC) dyrket i immun kompetent syngeniske mus til de som er observert i syngeniske mus behandlet med nøytraliser anti-CD4-antistoffer, eller de samme tumorer dyrket i svekket immunforsvar mus (f.eks. nu/nu).

[0430] Begrepet differensial anti-tumor effekter i immunkompetente versus svekket immunforsvar mus, kan også tillate testing av utprøvende IDO-hemmere som enkle midler. For eksempel, LLC tumor vokser godt i sin syngeniske vertsstamme, C57B1/6. Men hvis disse musene er behandlet med IDO inhibitor 1-MT (versus placebo), er dannelsen av tumor forsinket, noe som tyder på at IDO hemming var veksthemmende (Friberg, M., et al. 2002, *Int. J. Cancer* 101:151-155). Følges denne logikken, kan man undersøke effekten av IDO hemming i LLC xenograft tumormodell, dyrket i C57B1/6 immun kompetente mus, og sammenligne det til virkningene av IDO-hemmere på LLC tumorvekst i nude eller SCID-mus (eller C57B1/6 mus behandlet med antistoffer som nøytraliserer T-celleaktivitet). Siden effekten av å lindre tumor-medierte immun suppressive aktivitet av IDO skal sannsynligvis variere, avhengig av det immunogene potensial av forskjellige tumormodeller, kan det gjøres genetiske modifikasjoner til tumorcellene for å øke deres immunogene potensial. For eksempel, ekspresjon av GM-CSF i B16.F10 celler øker deres immunogene potensial (Dranoff, G., et al. 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 90:3539-3543). Som sådan, i noen tumormodeller (f.eks. B16.F10) kan generere [poly] kloner som uttrykk for immunstimulerende proteiner, slik som GM-CSF og teste den veksthemmende effekter av IDO hemmere mot tumor etablert fra disse kreftceller, i både immun-kompetente og – med svekket immunforsvar mus.

[0431] En tredje måte for å vurdere effekten av IDO-hemmere *i vivo*, benyttes 'pre-immunisering' murine tumor allograft/xenograft modeller. I disse modellene er immun-kompetente mus sensibilisert til en spesifikk tumor antigen, eller antigener for å etterligne en terapeutisk anti-tumor vaksinasjon. Dette klargjør musene for en anti-tumorrespons, mediert av immunsystem, når musene blir senere utfordret med murine tumorcellelinjer (besitter lignende tumor antigener til dem som anvendes for immunisering) i xenograft eksperimenter. Ekspressjon av IDO har blitt vist til å svikte antitumor respons og lar xenograft vokse raskere. Viktigere, er veksten av tumor i denne modellen hemmet av IDO inhibitor 1-MT (Uyttenhove, C., et al. 2003, *Nat. Med.* 9:1269-1274). Denne modellen er spesielt attraktivt siden IDO aktivitet er givende for P815 tumorvekst, og spesifikk hemming av IDO bør derfor veksthemmende.

[0432] Til slutt, kan terapeutisk immunisering anvendes for å evaluere virkningen av IDO-inhibitorer *in vivo*. For eksempel, det har blitt demonstrert ved anvendelse av B16-BL6-celler at man kan utfordre Blk/6-mus med en intravenøs injeksjon av tumor -celler etter behandling med en godt karakterisert immunogent peptid (f.eks. TRP-2) uttrykt ved tumorcellene (Ji, et al, 2005, *J. Immunol.* 175: 1456-1463). Viktigere, immunsystem modifikatorer, som f.eks. anti-CTL-4 antistoff, kan forbedre respons på slike terapeutiske vaksinasjoner. Virkningen av IDO-hemmere kan bli evaluert på en lignende måte - Tumor peptid immunisering med eller uten IDO-hemmer. Effekt er å vurdere etter dyr overlevelse (tid til morbiditet), eller ved måling av tumormetastaser i lungene og/eller andre organer ved definerne tidspunkter.

[0433] I noen/alle av de nevnte modeller ovenfor, kan det også være mulig å måle antallet og/eller aktiviteten til tumor reaktive immunceller, direkte og/eller indirekte. Fremgangsmåter for måling av antallet og/eller aktiviteten til tumor reaktive immunceller, er vel etablert og kan utføres under anvendelse av teknikker, som er kjent for de som er opplært i faget (Current Protocols in Immunology, Vol. 4, Coligan, J.E., et al.; *Immunoterapi av kreft*, Menneskelig Press, 2006, Disis, M.L. og referansene der). Konseptuelt, kan en reduksjon i immun-suppressive effektene av IDO resultere i økt antall, eller reaktiviteten av tumorspesifikke immunceller. Videre, kan IDO hemming ytterligere øke antallet eller reaktivitet av tumor reaktiv immunceller, når kombinert med andre terapeutiske midler, f.eks. kjemoterapeutika og/eller immun modulatorer (f.eks. anti-CTLA4 antistoff).

[0434] Alle allograft/xenograft eksperimenter kan utføres ved hjelp av standard tumor teknikker (anmeldt av Corbett, et al., i *Cancer Drug Discovery and Development: Anti-cancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval*, 2nd Ed. Teicher, B.A. og Andrews, P.A., Humana Press Inc.: Totowa, NJ, 2004). Kloningen og innføring av gener (f.eks. IDO, GM-CSF) til tumorcellelinjer, kan utføres ved anvendelse av teknikker, som er kjent for de som er opplært i faget (anmeldt i Sambrook, J. and Russel, D., *Molecular Cloning: A laboratory Manual* (3rd edition), Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, NY, 2001).

Eksempel E: *In vivo* testing av IDO inhibitorer i humant immunsviktvirus-1 (HIV-1) encefalitt-modell

1. Celleisolasjon og virusinfeksjon

[0435] Monocyttar og PBL kan oppnås ved motstrøms sentrifugal oppslemming av leukopheresis pakker fra HIV-1, 2, og hepatitt B seronegative givere. Monocyttar blir dyrket i suspensjonskultur ved bruk av Teflon-kolber i Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Sigma-Aldrich), supplert med 10% varme-inaktivert poolt humant serum, 1% glutamin, 50 ug/ml gentamicin, 10 ug/ml ciprofloksasin (Sigma), og 1000 U/ml høyrenset rekombinant humant makrofag-koloni-stimulerende faktor. Etter syv dagar i kultur, er MDM infisert med HIV-1_{ADA} på mangfaldet av infeksjon av 0,01.

2. Hu-PBL-NOD/SCID-HIVE-mus

[0436] Fire-wk gammel mannlig NOD/C.B-17 SCID-mus kan kjøpes (Jackson Laboratory). Dyr er opprettholdt i sterile mikroisolatorbur, henhold patogen-frie forhold. Alle dyr blir injisert intraperitonealt med rotte-anti-CD122 (0,25 mg/mus), tre dagar før PBL transplantasjon, og to ganger med kanin asialo-GM1 antistoffer (0,2 mg/mus) (Wako), en dag før, og tre dagar etter injeksjon PBL (20×10^6 celler/mus). HIV-1_{ADA}-smittet MDM (3×10^5 celler i 10 ul) injiseres intrakranielt (ie) åtte dagar etter PBL rekonstituering genererende hu-PBLNOD/SCID HIVE mus. Umiddelbart etter dvs. injeksjon av HIV-1 infiserte MDM, ble hu-PBL-NOD/SCID HIVE mus subkutan (sc) implantert med kontroll (kjøretøy), eller sammensatte pelleter (14 eller 28 dagars langsam frigjøring, Innovative Research). Innledende eksperimenter er utformet, for å bekrefte induksjon av virus-spesifikke CTL i hu-PBL NOD/SCID HIVE dyr behandlet med IDO forbindelser. Dette bekreftes av tetramer farging, og nevro patologisk analyser av MDM eliminering fra hjernevev. Deretter ble forsøket utformet for å analysere human lymfocytt rekonstituering humorale immunresponser, og nevro patologiske forandringer. I disse eksperimentene blir dyrene tappet for blod på dag 7, og avlivet 14 og 21 dagar etter dvs. injeksjon med humant MDM. Blod som blir samlet i EDTA-inneholdende rør, brukes for flow cytometri, og plasma blir brukt for deteksjon av HIV-1 p24 ved hjelp av ELISA (Beckman Coulter™). HIV-1-spesifikke antistoffer blir påvist ved Western blot tester, i henhold til produsentens instruksjoner (Cambridge Biotech HIV-1 Western blot kit, Calypte Biomedical). Lignende mengde av virus-spesifikke antistoffer blir påvist i kontroll, og forbindelsesbehandlede dyr. Tre uavhengige eksperimenter kan utføres ved hjelp av tre forskjellige humane leukocyttdonorer.

3. FACScan av perifert blod og milt i hu PBL-NOD/SCID-HIVE-mus

[0437] To-farge FACS-analyse kan utføres på perifert blod ved wk 1-3 og splenocyttar, ved wk 2 og 3, etter dvs. injeksjon av menneskelig MDM. Cellene inkuberes med fluorokromkonjugerte monoklonale Abs (mAbs) til humane CD4, CD8, CD56, CD3, IFN- γ (eBioscience) i 30 min ved 4°C. For å evaluere cellulære immunresponser, blir IFN- γ intracellulær farging utført, i kombinasjon med anti-humant CD8, og FITC-konjugert anti-mus CD45, for å utelukke murin celler. For å bestemme Ag-spesifikke CTL, er allofukocyanin-

konjugert tetramer farging for HIV-1^{gag} (p17 (aa77-85) SLYNTVATL, SL-9) og HIV-1^{pol} [(aa476-485) ILKEPVHGV, IL-9] utført på phytohemagglutinin/interleukin-2-(PHA/IL-2)-stimulerte splenocytter. Celler er farget etter anbefaling av NIH/National Institute of Allergy and Infections Disease, National Tetramer Core Facilities. Data ble analysert med en FACS Calibur™ ved hjelp Cellquest programvare (Becton Dickinson Immunocytometry System).

4. Histopatologiske og bildeanalyser

[0438] Hjerne vev er samlet på dag 14 og 21, etter dvs. injeksjon av MDM, ble fiksert i 4% fosfat-bufret paraformaldehyde, og innleiret i parafin eller frosset ved -80°C for senere bruk. Koronalsnitt fra innebygde blokker er kuttet for å identifisere injeksjonsstedet. For hver mus, er 30 til 100 (5 um tykke) serielle seksjoner skåret fra humane MDM injeksjonsstedet, og 3-7 lysbilder (10 seksjoner fra hverandre) blir analysert. Hjerne seksjonene er depa-
 raffinert med xylene og hydrert i graderings alkoholer. Immunhistokjemisk farging følger en grunnleggende indirekte protokollen, ved hjelp av antigen gjenfinning, ved oppvarming til 95°C i 0,01 mol/l citratbuffer i 30 minutter for antigen gjenfinning. For å identifisere menneskeceller i mus hjerner, er mAb'et til vimentin (01:50, klon 3B4, Dako Corporation), som identifiserer alle humane leukocytter, brukt. Menneskelig MDM og CD8⁺ lymfocytter blir påvist med CD68 (1:50 fortykning, klon KP 1) og CD8 (1:50 fortykning, klon 144B) antistoffer. Virusinfiserte celler er merket med mAb til HIV-1 p24 (1:10, klon Kal-1, alle fra Dako). Reaktiv murine mikrogliale celler påvises med Iba-1-antistoff (1: 500, Wako). Uttrykk for menneskelig IDO (huIDO) er visualisert med Abs hentet fra Department of Cell Pharmacology, Central Research Institute, Graduate School of Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan. Primære antistoffer blir detektert med passende biotinylerte sekundære antistoffer, og visualisert med avidinbiotin komplekser (Vectastain Elite ABC kit, Vector Laboratories), og horseradish peroksidase (HRP) koblet dekstran polymer (EnVision, Dako Corporation). Immunofarget seksjoner er motfarget med Mayer's hematoksylin. Seksjoner hvor primært antistoff blir slettet, eller irrelevant IgG isotypen er inkorporert, tjente som kontroller. To uavhengige observatører, i blindt, teller antall CD8⁺ lymfocytter, CD68⁺ MDM og HIV-1 p24⁺ celler, i hver del, fra hver mus. Lys mikroskopisk undersøkelse er utført med et Nikon Eclipse 800 mikroskop (Nikon Instruments Inc). Semi-kvantitativ analyse for Iba1 (prosentandel av området som opptas av immunofarging) utføres av en datamaskin-assistert bildeanalyse (Bilde-Pro@Plus, Media kybernetikk) som tidligere beskrevet.

5. Statistisk analyse

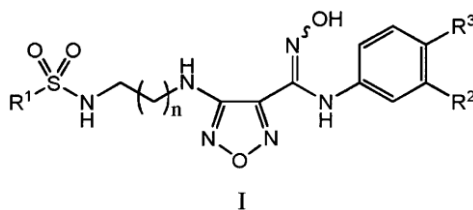
[0439] Data kan analyseres ved hjelp av Prism (Graf Pad) med Student t-test for sammenligninger og ANOVA. *P*-verdier <0,05 ble ansett som signifikant

6. Litteraturhenvisning

[0440] Poluektova LY, Munn DH, Persidsky Y, and Gendelman HE (2002). Generation of cytotoxic T cells against virus-infected human brain macrophages in a murine model of HTV-1 encephalitis. *J. Immunol.* 168(8):3941-9.

P a t e n t k r a v

1. Forbindelse med Formel I:



eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor:

5 R¹ er NH₂ eller CH₃;

R² er Cl, Br, CF₃, CH₃ eller CN;

R³ er H eller F; og

n er 1 eller 2.

10 2. Forbindelse ifølge krav 1, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor R¹ er NH₂.

3. Forbindelse ifølge krav 1, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor R¹ er CH₃.

4. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 3, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor R² er Cl.

15 5. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 3, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor R² er Br.

6. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 3, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor R² er CF₃.

7. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 3, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor R² er CH₃.

20 8. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 3, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor R² er CN.

9. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 8, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor R³ er H.

25 10. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 8, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor R³ er F.

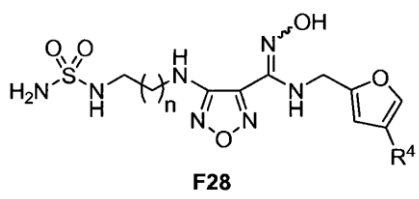
11. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 10, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor n er 1.

12. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 10, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor n er 2.

13. Forbindelse ifølge krav 1 valgt fra:

- 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-brom-4-fluorfenyl)-N'-hydroksy-1,2,5-
 5 oksadiazol-3-karboksimidamid;
N-(3-Brom-4-fluorfenyl)-N'-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-
 oksadiazol-3-karboksimidamid;
 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N-(3-brom-4-fluorfenyl)-N'-hydroksy-1,2,5-
 oksadiazol-3-karboksimidamid;
 10 *N*-(3-Brom-4-fluorfenyl)-N'-hydroksy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino] propyl}amino)-1,2,5-
 oksadiazol-3-karboksimidamid;
 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-klor-4-fluorfenyl)-N'-hydroksy-1,2,5-
 oksadiazol-3-karboksimidamid;
N-(3-Klor-4-fluorfenyl)-N'-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-
 15 oksadiazol-3-karboksimidamid;
 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N-(3-kloro-4-fluorfenyl)-N'-hydroksy-1,2,5-
 oksadiazol-3-karboksimidamid;
N-(3-klor-4-fluorfenyl)-N'-hydroksy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-1,2,5-
 oksadiazol-3-karboksimidamid;
 20 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[4-fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-N'-hydroksy-
 1,2,5-oksadiazol-3-karboksimid;
N-[4-Fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-N'-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}-amino)-
 1,2,5-oksadiazol-3-karboksimid;
 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N-[4-fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-N'-hydroksy-
 25 1,2,5-oksadiazol-3-karboksimid;
N-[4-Fluor-3-(trifluormetyl)fenyl]-N'-hydroksy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}-amino)-
 1,2,5-oksadiazol-3-karboksimid;
 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N'-hydroksy-N-[3-(trifluorometyl)fenyl]-1,2,5-
 oksadiazol-3-karboksimidamid;
 30 N'-Hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,5-
 oksadiazol-3-karboksimidamid;
 4-({3-[(Aminosulfonyl)amino]propyl}amino)-N'-hydroksy-N-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,5-
 oksadiazol-3-karboksimidamid;
N'-Hydroksy-4-({3-[(metylsulfonyl)amino]propyl}amino)-N-[3-(trifluormetyl)fenyl]-1,2,5-
 35 oksadiazol-3-karboksimidamid;
N-(4-Fluor-3-metylfenyl)-N'-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-
 oksadiazol-3-karboksimidamid;
 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-(3-cyano-4-fluorfenyl)-N'-hydroksy-1,2,5-
 oksadiazol-3-karboksimidamid;
 40 og
N-(3-Cyano-4-fluorfenyl)-N'-hydroksy-4-({2-[(metylsulfonyl)amino]etyl}amino)-1,2,5-
 oksadiazol-3-karboksimidamid; eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

14. Forbindelse ifølge krav 1, som er 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-*N*-(3-brom-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.
15. Forbindelse ifølge krav 1, som er 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-*N*-(3-brom-4-fluorfenyl)-*N'*-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid.
16. Fast form av forbindelsen ifølge krav 15, som er krystallinsk.
17. Fast form av forbindelsen ifølge krav 15, som inneholder mindre enn 2% vann.
18. Fast form av forbindelsen ifølge krav 15, som har smeltepunkt på 162-166°C.
19. Fast form av forbindelsen ifølge krav 15, som har en DSC-termogram som vist i Figur 2, +/- 3°C.
20. Fast form av forbindelsen ifølge krav 15 som har minst en XRPD-topp, i form av 2-theta +/- 0,2°, er valgt fra 18,4°, 18,9°, 21,8°, 23,9°, 29,2° og 38,7°.
21. Fast form av forbindelsen ifølge krav 15 som har minst to XRPD-topper, i form av 2-theta +/- 0,2°, er valgt fra 18,4°, 18,9°, 21,8°, 23,9°, 29,2° og 38,7°.
22. Fast form av forbindelsen ifølge krav 15 som har minst tre XRPD-topper, i form av 2-theta +/- 0,2°, velges fra 18,4°, 18,9°, 21,8°, 23,9°, 29,2° og 38,7°.
23. Fast form av forbindelsen ifølge krav 15, som har en XR.
24. Forbindelse med formel F28:



- 20 eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor:
 R^4 er F, Cl, Br, eller I; og
 n er 1 eller 2.
25. Forbindelse ifølge krav 24, som er 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-*N*-[(4-brom-2-furyl) metyl]-*N'*-hydroxy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

26. Forbindelse ifølge krav 24, som er 4-({2-[(Aminosulfonyl)amino]etyl}amino)-N-[(4-klor-2-furyl) metyl]-N'-hydroksy-1,2,5-oksadiazol-3-karboksimidamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.
27. Sammensetning omfattende en forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 15 og 24 til 26, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, eller en fast form av et hvilket som helst av kravene 16 til 23, og minst en farmasøytisk akseptabel bærer.
28. Fremgangsmåte for å inhibere aktiviteten av indolamin-2,3-dioksygenase, omfattende å kontakte nevnte indolamin-2,3-dioksygenase *in vitro* med en forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 15 og 24 til 26, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, eller en fast form av hvilket som helst av kravene 16-23.
29. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 15 og 24 til 26, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, eller en fast form ifølge hvilket som helst av kravene 16 til 23, for anvendelse ved inhibering av immunosuppresjon hos en pasient.
30. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 15 og 24 til 26, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, eller en fast form ifølge hvilket som helst av kravene 16 til 23, for anvendelse ved behandling av kreft, virale infeksjoner, depresjon, en nevrodegenerativ lidelse, traume, aldersrelaterte katarakter, organtransplantasjon avvisning, eller en autoimmune sykdom i en pasient.
31. Forbindelse, salt eller fast form for anvendelse i henhold til krav 30, hvor nevnte kreft er valgt fra kreft i tykktarmen, bukspyttkjertelkreft, brystkreft, prostatakreft, lungekreft, hjernekreft, kreft i eggstokkene, kreft i livmorhalsen, testikkelkreft, nyrekreft, kreft i hode og nakke, lymfekreft og leukemi.
32. Anvendelse av en forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 15 og 24 til 26, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, eller en fast form av hvilket som helst av kravene 16 til 23, i fremstillingen av et medikament for inhibering av immunosuppresjon i en pasient.
33. Anvendelse av en forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 15 og 24 til 26, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, eller en fast form av hvilket som helst av kravene 16 til 23, i fremstillingen av et medikament for behandling av kreft, viral infeksjon, depresjon, en nevrodegenerativ lidelse, traumer, aldersrelaterte katarakter, organtransplantasjon avvisning, eller en autoimmune sykdom i en pasient.
34. Anvendelse ifølge krav 33, hvor nevnte kreft er valgt fra tykktarmskreft, bukspyttkjertelkreft, brystkreft, prostatakreft kreft, lungekreft, hjernekreft, kreft i eggstokkene, kreft i livmorhalsen, testikkelkreft, nyrekreft, kreft i hode og nakke, lymfekreft og leukemi.
35. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 15 og 24 til 26, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, eller en fast form ifølge hvilket som helst av kravene 16 til 23,

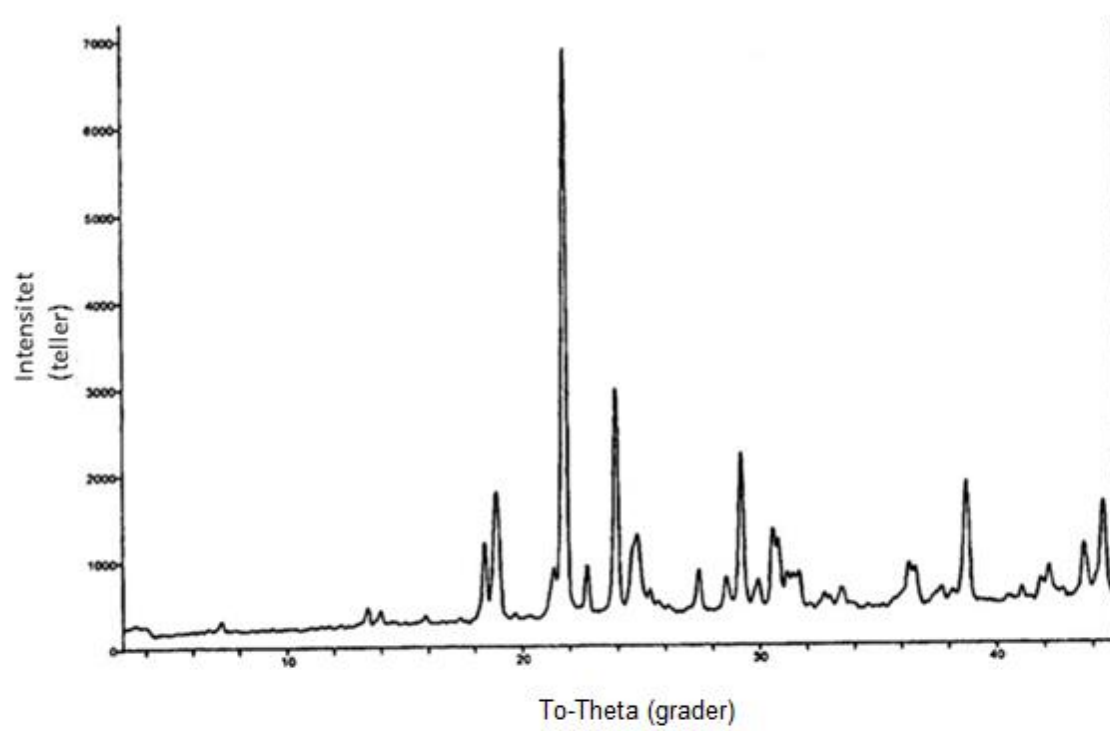
for administrering til nevnte pasient med et anti-viralt middel, et anti-kreft-vaksine, et anti-CTLA-4-antistoff, et kjemoterapeutisk, en immuno-suppressant, stråling, en anti-tumorkvaksine, et anti-viralt vaksine, cytokinbehandling, eller en tyrosinkinase inhibitor i en enkelt doseform, eller samtidig eller sekvensielt i separate doseringsformer.

- 5 36. Forbindelse, salt eller fast form for administrering i henhold til krav 35, hvor nevnte behandling omfatter cytokin IL-2.

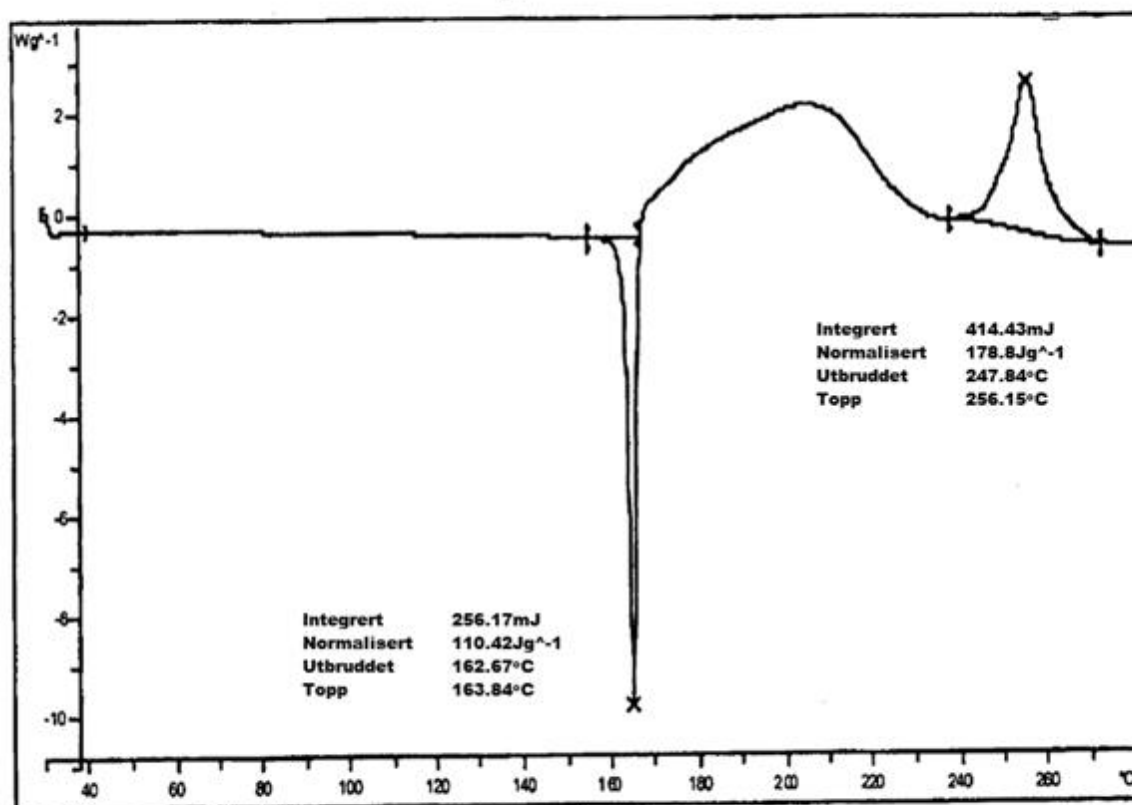
37. Forbindelse, salt eller fast form for administrering i henhold til krav 35, hvor nevnte kjemoterapeutiske middel er et cytotoxisk middel.

- 10 38. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 15 og 24 til 26, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, eller en fast form ifølge hvilket som helst av kravene 16 til 23, for anvendelse i behandling av melanom hos en pasient.

39. Anvendelse av en forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 15 og 24 til 26, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, eller en fast form av hvilket som helst av kravene 16 til 23, i fremstillingen av et medikament for behandling av melanom hos en pasient.

Figur 1

Figur 2



Figur 3

