



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I696618 B

(45)公告日：中華民國 109 (2020) 年 06 月 21 日

(21)申請案號：108102217

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 11 月 07 日

(51)Int. Cl. : C07D413/04 (2006.01)

(30)優先權：2013/11/08 美國 61/901,689

(71)申請人：美商英塞特控股公司(美國) INCYTE HOLDINGS CORPORATION (US)
美國

(72)發明人：陶 明 TAO, MING (US)；法里茲 威廉 FRIETZE, WILLIAM (US)；美樂尼 大衛 J MELONI, DAVID J. (US)；溫 林凱 WENG, LINGKAI (US)；周 家謙 ZHOU, JIACHENG (US)；潘 永春 PAN, YONGCHUN (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

CN 102164902B

” Serendipitous discovery of an unexpected rearrangement leads to two new classes of potential protease inhibitors” , J. Zhong et al. , Bioorg. Med. Chem. , 12 (2004) 6249-6254 .

” A New Method for the Synthesis of Nonsymmetrical Sulfamides Using Burgess- -Type Reagents” , NICOLAOU, K. C. et al. , Angew. Chem., Int. Ed. 41 (2002) 20,3866-3870.

審查人員：陳依微

申請專利範圍項數：19 項 圖式數：0 共 88 頁

(54)名稱

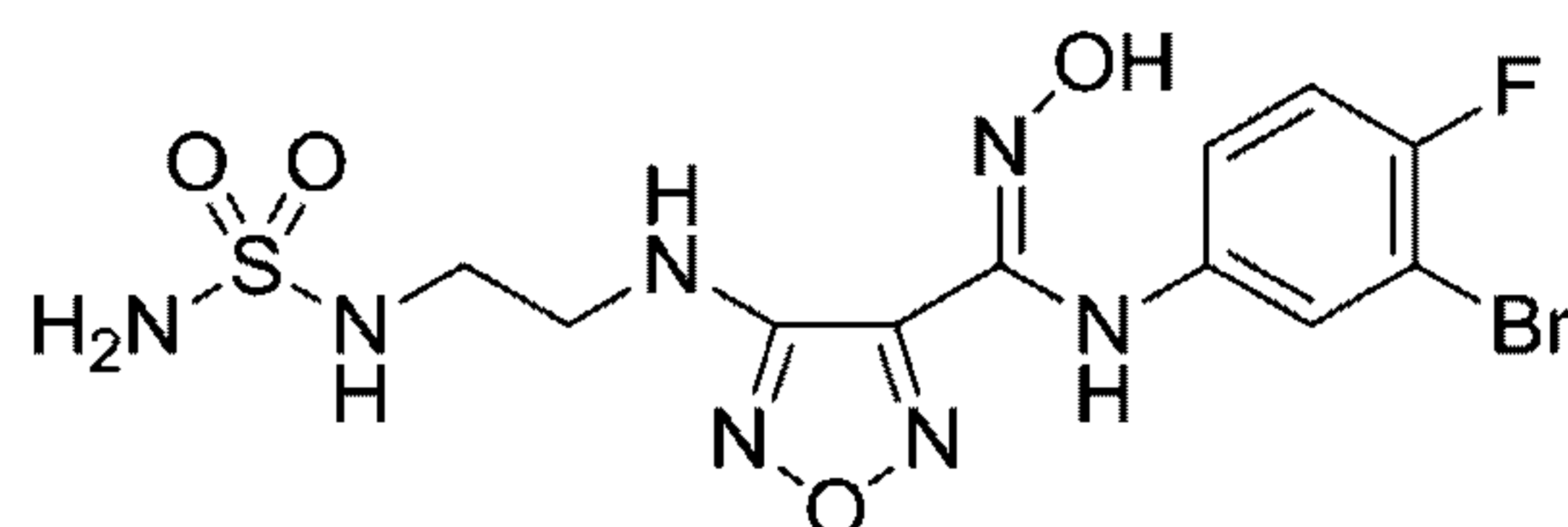
用於合成吡啶胺 2,3-雙加氧酶抑制劑之方法

(57)摘要

本申請案係有關於用於製備 4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒之方法及中間體，4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒為適用於治療癌症及其他病症之吡啶胺 2,3-雙加氧酶抑制劑。

The present application is directed to processes and intermediates for making 4-({2-[(aminosulfonyl) amino]ethyl} amino)-N-(3-bromo-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide, which is an inhibitor of indoleamine 2,3-dioxygenase, useful in the treatment of cancer and other disorders.

特徵化學式：



I



I696618

【發明摘要】

公告本

【中文發明名稱】

用於合成吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制劑之方法

【英文發明名稱】

PROCESS FOR THE SYNTHESIS OF AN INDOLEAMINE 2,3-DIOXYGENASE INHIBITOR

【中文】

本申請案係有關於用於製備4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒之方法及中間體，4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒為適用於治療癌症及其他病症之吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制劑。

【英文】

The present application is directed to processes and intermediates for making 4-({2-[(aminosulfonyl)amino]ethyl}amino)-N-(3-bromo-4-fluorophenyl)-N'-hydroxy-1,2,5-oxadiazole-3-carboximidamide, which is an inhibitor of indoleamine 2,3-dioxygenase, useful in the treatment of cancer and other disorders.

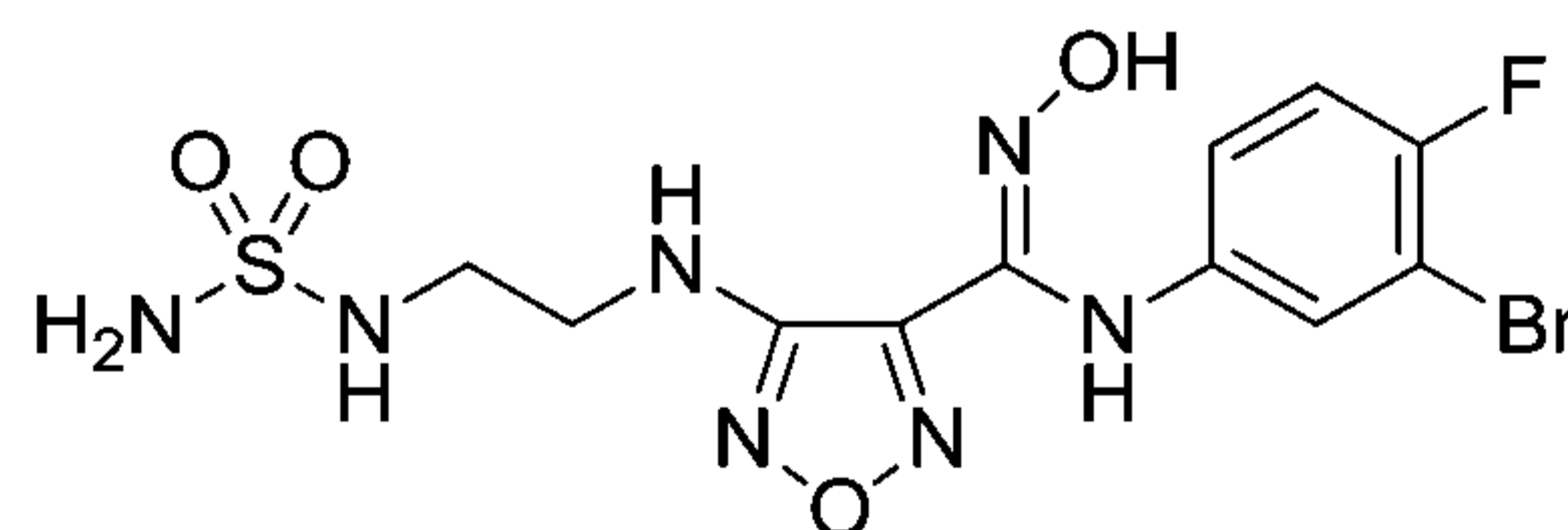
【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



I

第 1 頁(發明摘要)

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於合成吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制劑之方法

【英文發明名稱】

PROCESS FOR THE SYNTHESIS OF AN INDOLEAMINE 2,3-DIOXYGENASE INHIBITOR

【技術領域】

【0001】本申請案係關於用於製備4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒之方法及中間體，4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒為適用於治療癌症及其他病症之吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制劑。

【先前技術】

【0002】色胺酸(Trp)為蛋白質、菸酸及神經傳遞質5-羥基色胺(血清素)之生物合成所需的必需胺基酸。酶吲哚胺2,3-雙加氧酶(亦稱為INDO或IDO)催化L-色胺酸降解為N-甲醯基-犬尿胺酸的過程中的第一且速率限制步驟。在人類細胞中，由IDO活性引起的Trp耗盡為主要的 γ 干擾素(IFN- γ)誘導性抗微生物效應機制。IFN- γ 刺激會誘導IDO活化，其導致Trp耗盡，由此遏制Trp依賴性細胞內病原體生長，諸如弓蟲(*Toxoplasma gondii*)及沙眼披衣菌(*Chlamydia trachomatis*)。IDO活性亦對多種腫瘤細胞具有抗增殖效應，且已在同種異體腫瘤之排斥期間活體內觀察到IDO誘導，指示此酶在腫瘤排斥過程中之可能作用(Daubener等人, 1999, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 467: 517-24；Taylor等人, 1991, *FASEB J.*, 5: 2516-22)。

【0003】已觀察到與末梢血液淋巴細胞(PBL)共培養之海拉細胞經由IDO活性的上調獲得免疫抑制表型。咸信在用介白素-2(IL2)治療後PBL增殖之減少由回應於PBL之IFNG分泌由腫瘤細胞釋放的IDO引起。此效應藉由用特定IDO抑制劑1-甲基-色胺酸(1MT)治療而逆轉。已提出，腫瘤細胞中之IDO活性可用於削弱抗腫瘤反應(Logan等人, 2002, *Immunology*, 105: 478-87)。

【0004】近來，Trp耗盡之免疫調節作用已獲得更多關注。若干證據表明，IDO牽涉於免疫耐受性之誘導中。哺乳動物妊娠、腫瘤抗性、慢性感染及自體免疫疾病之研究已顯示，表現IDO之細胞可抑制T細胞反應且促進耐受性。已在與細胞免疫活化有關之疾病及病症，諸如感染、惡性腫瘤、自體免疫疾病及AIDS中，以及在妊娠期間觀察到加速Trp分解代謝。例如，已在自體免疫疾病中觀察到增加含量之IFN及提高含量之尿Trp代謝物；已假設，在自體免疫疾病中發生之全身性或局部Trp耗盡可導致此等疾病之惡化及消瘦症狀。支持此假設，在自關節炎關節之滑液分離的細胞中觀察到高含量之IDO。人類免疫缺乏病毒(HIV)患者中之IFN亦升高且增加的IFN含量導致惡化之預後。因此，已提出IDO由HIV感染長期誘導且藉由機會性感染進一步增加，且Trp之慢性損失會起始造成AIDS患者之惡病質、癡呆及腹瀉以及可能存在的免疫抑制之機制(Brown等人, 1991, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 294: 425-35)。為此，近來已顯示IDO抑制作用可增強小鼠HIV模型中病毒特異性T細胞之含量且伴隨地降低病毒感染的巨噬細胞之數目(Portula等人, 2005, *Blood*, 106: 2382-90)。

【0005】咸信IDO在預防子宮內之胎兒排斥的免疫抑制過程中起作用。超過40年以前，觀察到在妊娠期間，遺傳全異之哺乳動物胚體會活下

來，而不管組織移植免疫學將預測的結果如何(Medawar, 1953, *Symp. Soc. Exp. Biol.* 7: 320-38)。母體及胎兒之解剖分離以及胎兒之抗原未成熟無法充分解釋胎兒同種異體移植物存活。近來已關注母體之免疫耐受性。因為在正常妊娠期間IDO由人類融合細胞滋養層細胞表現且全身性色胺酸濃度降低，故假設在母體-胎兒界面處之IDO表現為預防胎兒同種異體移植物之免疫排斥所必需。為了測試此假設，將懷孕小鼠(攜帶同基因型或同種異體胎兒)暴露於1MT，且觀察到所有同種異體胚體之快速、T細胞誘導之排斥。因此，藉由使色胺酸分解代謝，哺乳動物胚體看來抑制T細胞活性且自身防禦以免於排斥，且在鼠類妊娠期間阻斷色胺酸分解代謝會允許母體T細胞引起胎兒同種異體移植排斥(Munn等人, 1998, *Science*, 281: 1191-3)。

【0006】基於IDO所致的色胺酸分解之腫瘤樣免疫抗性機制之其他證據源於以下觀察結果：大多數人類腫瘤組成性地表現IDO，且免疫原小鼠腫瘤細胞表現IDO會預防免疫前小鼠排斥該等細胞。此效應伴隨有腫瘤位點處特異性T細胞積聚之缺乏且可藉由在不存在顯著毒性的情況下用IDO抑制劑全身性治療小鼠而部分地逆轉。因此，建議癌症患者之治療性疫苗接種的功效可能藉由IDO抑制劑之伴隨投予而改良(Uytenhove等人, 2003, *Nature Med.*, 9: 1269-74)。亦已顯示，IDO抑制劑1-MT可用化學治療劑起增效作用以減少小鼠中之腫瘤生長，表明IDO抑制作用亦可增強習知細胞毒性療法之抗腫瘤活性(Muller等人, 2005, *Nature Med.*, 11: 312-9)。

【0007】一種有助於針對腫瘤之免疫無反應性之機制可為由致耐受性宿主APC呈現腫瘤抗原。亦已描述人類IDO表現性抗原呈現細胞(APC)之

子集，其共表現CD123(IL3RA)及CCR6且抑制T細胞增殖。成熟及未成熟CD123陽性樹突狀細胞均抑制T細胞活性，且此IDO抑制活性由1MT阻斷(Munn等人, 2002, *Science*, 297: 1867-70)。亦已證實，小鼠腫瘤引流淋巴結(TDLN)含有漿細胞樣樹突狀細胞(pDC)之子集，其組成性地表現免疫抑制含量之IDO。儘管活體外僅包含0.5%之淋巴結細胞，但此等pDC有效地抑制對pDC自身所呈現之抗原的T細胞反應且亦以顯性方式抑制對非抑制性APC所呈現之第三方抗原的T細胞反應。在pDC群體內，大多數的功能性IDO介導之抑制因子活性由共表現B譜系標記CD19之新穎pDC子集隔離。因此，假設TDLN中IDO介導之pDC抑制作用產生局部微環境，該微環境有效地抑制宿主抗腫瘤T細胞反應(Munn等人, 2004, *J. Clin. Invest.*, 114(2): 280-90)。

【0008】IDO使色胺酸、血清素及抑黑素之吡啶部分降解，且起始神經活性及免疫調節代謝物(統稱為犬尿胺酸)之產生。藉由局部地耗盡色胺酸且增加促凋亡犬尿胺酸，由樹突狀細胞(DC)表現之IDO可極大地影響T細胞增殖及存活。DC中之IDO誘導可能為由調節T細胞驅動之缺失耐受性的常見機制。因為可預期該等致耐受性反應在多種病理生理條件下操作，故色胺酸代謝及犬尿胺酸產生可能表示在免疫系統與神經系統之間的決定性介面(Grohmann等人, 2003, *Trends Immunol.*, 24: 242-8)。在持久免疫活化之狀態下，游離血清Trp之可用性減少且由於降低之血清素產生，血清素激導性功能亦可受到影響(Wirleitner等人, 2003, *Curr. Med. Chem.*, 10: 1581-91)。

【0009】有趣的是，已觀察到投予干擾素- α 會誘導神經精神副作用，諸如抑鬱症狀及認知功能改變。對血清素激導性神經傳遞之直接影響可有

助於此等副作用。此外，因為IDO活化導致降低之色胺酸含量，故血清素(5-HT)之前驅體IDO可藉由降低中樞5-HT合成而在此等神經精神副作用中起作用。此外，犬尿胺酸代謝物，諸如3-羥基-犬尿胺酸(3-OH-KYN)及喹啉酸(QUIN)對腦功能具有毒性效應。3-OH-KYN能夠藉由增加反應性氧物質(ROS)之產生而產生氧化應激，且QUIN可產生海馬N-甲基-D-天冬胺酸(NMDA)受體之過度刺激，由此導致細胞凋亡及海馬萎縮。ROS過度產生及由NMDA過度刺激所致之海馬萎縮均已導致抑鬱(Wichers及Maes, 2004, *J. Psychiatry Neurosci.*, 29: 11-17)。因此，IDO活性可在抑鬱中起作用。

【0010】 正在開發小分子IDO抑制劑以治療或預防IDO相關疾病，諸如上文所述者。例如，噁二唑及其他雜環IDO抑制劑報導於US 2006/0258719及US 2007/0185165中。PCT公開案WO 99/29310報導了用於改變T細胞介導之免疫性的方法，其包含使用IDO抑制劑，諸如1-甲基-DL-色胺酸、p-(3-苯并呋喃基)-DL-丙胺酸、p-[3-苯并(b)噻吩基]-DL-丙胺酸及6-硝基-L-色胺酸來改變色胺酸及色胺酸代謝物的局部細胞外濃度(Munn, 1999)。製備用於增強或降低T細胞耐受性之抗原呈現細胞的方法報導於WO 03/087347中，亦作為歐洲專利1501918公開(Munn, 2003)。具有吡啶胺-2,3-雙加氧酶(IDO)抑制活性之化合物進一步報導於WO 2004/094409中；且美國專利申請公開案第2004/0234623號係有關於藉由投予與其他治療方法組合的吡啶胺-2,3-雙加氧酶抑制劑來治療具有癌症或感染之個體的方法。

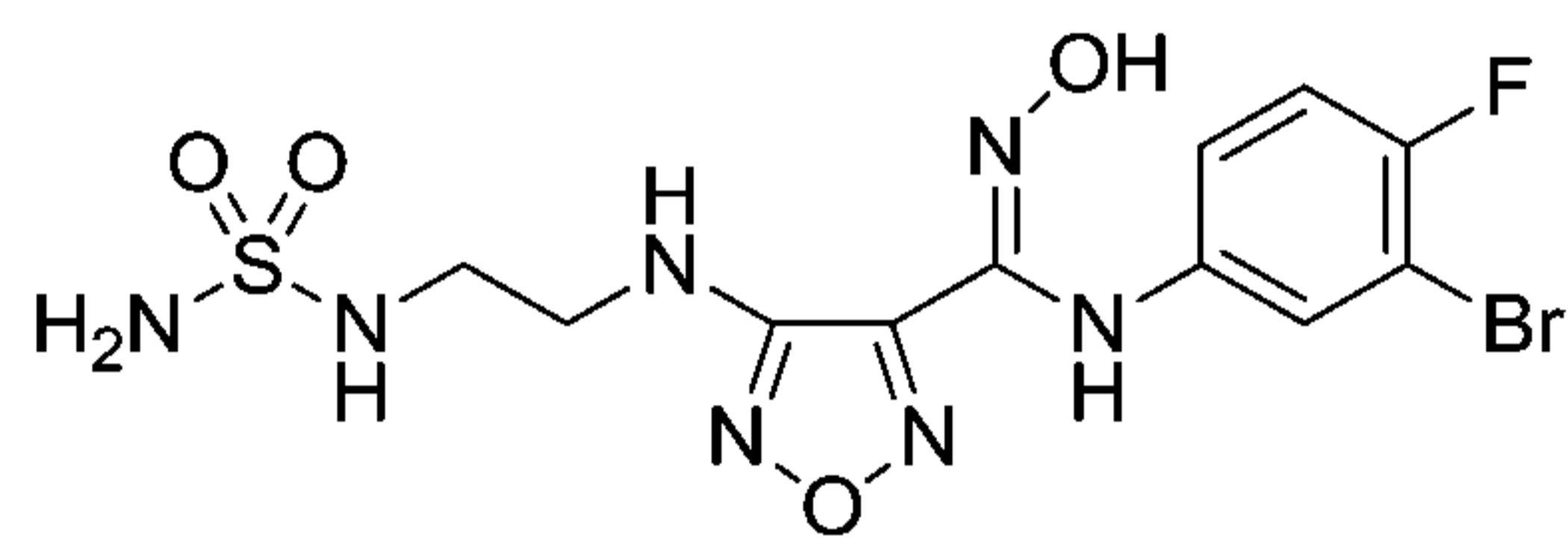
【0011】 根據指示IDO在免疫抑制、腫瘤抗性及/或排斥、慢性感染、HIV感染、AIDS(包括其表現形式，諸如惡病質、癡呆及腹瀉)、自體免疫

疾病或病症(諸如類風濕性關節炎)及免疫耐受性以及預防子宮內胎兒排斥中之作用的實驗數據，旨在藉由抑制IDO活性來抑制色胺酸降解之治療劑為需要的。當T細胞藉由妊娠、惡性腫瘤或諸如HIV之病毒受到抑制時，IDO抑制劑可用於活化T細胞且因此增強T細胞活化。IDO抑制作用亦可為用於具有神經或神經精神疾病或病症(諸如抑鬱)之患者的重要治療策略。

【0012】 由於IDO抑制劑之適用性，需要開發用於製備IDO抑制劑之新方法。本申請案係有關於此需要及其他需要。

【發明內容】

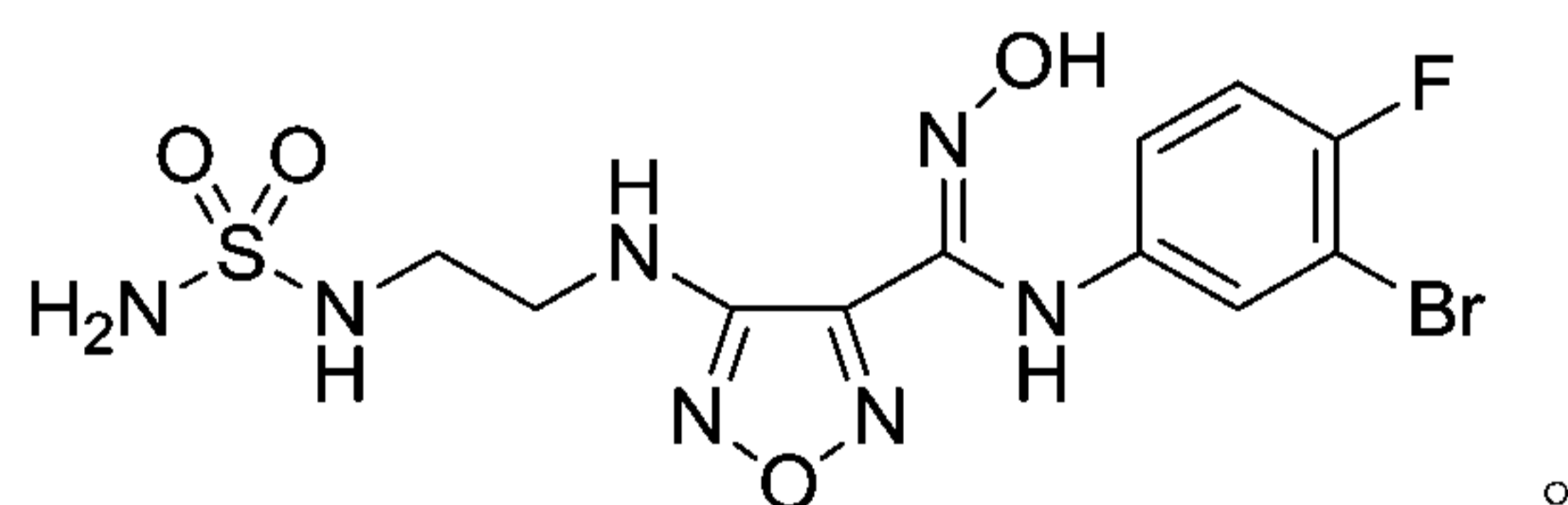
【0013】 具有式I之化合物4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒：



I

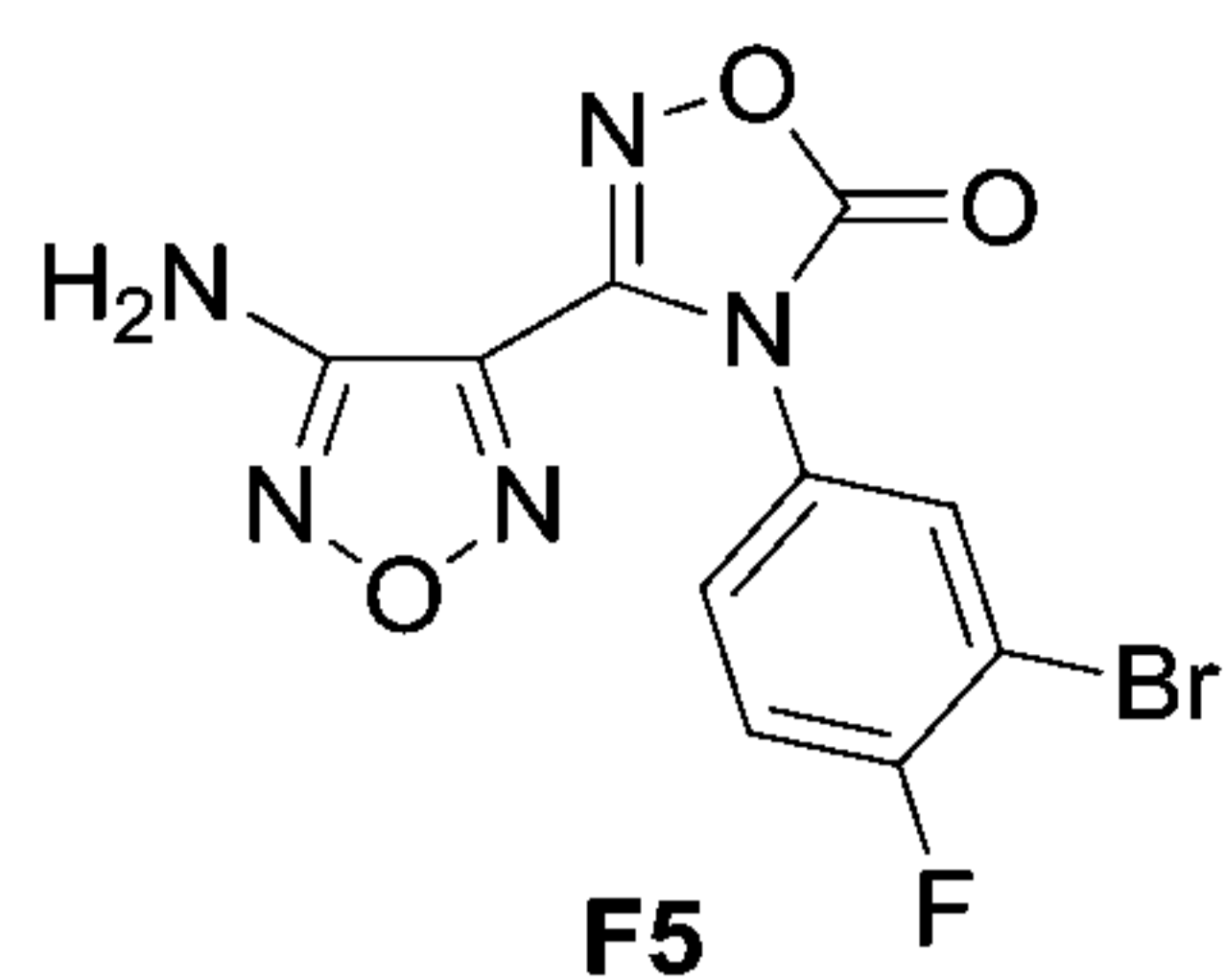
為酶吲哚胺2,3-雙加氧酶(亦稱為IDO)之抑制劑。該式I化合物以及其製備及用途已描述於美國專利第8,088,803號中，該專利以引用之方式全文併入本文中。本文提供之中間體及方法有助於滿足當前對於開發用於治療嚴重疾病之IDO抑制劑的需要。

【0014】 本申請案尤其提供用於製備式I化合物之中間體及方法：

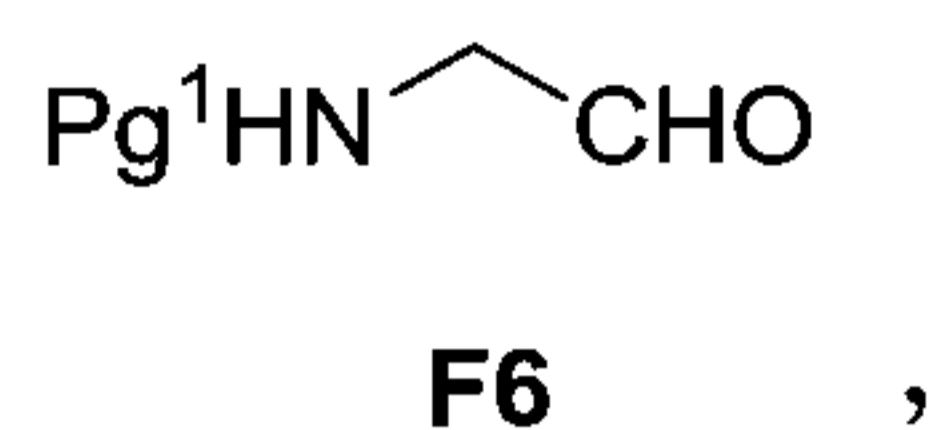


I

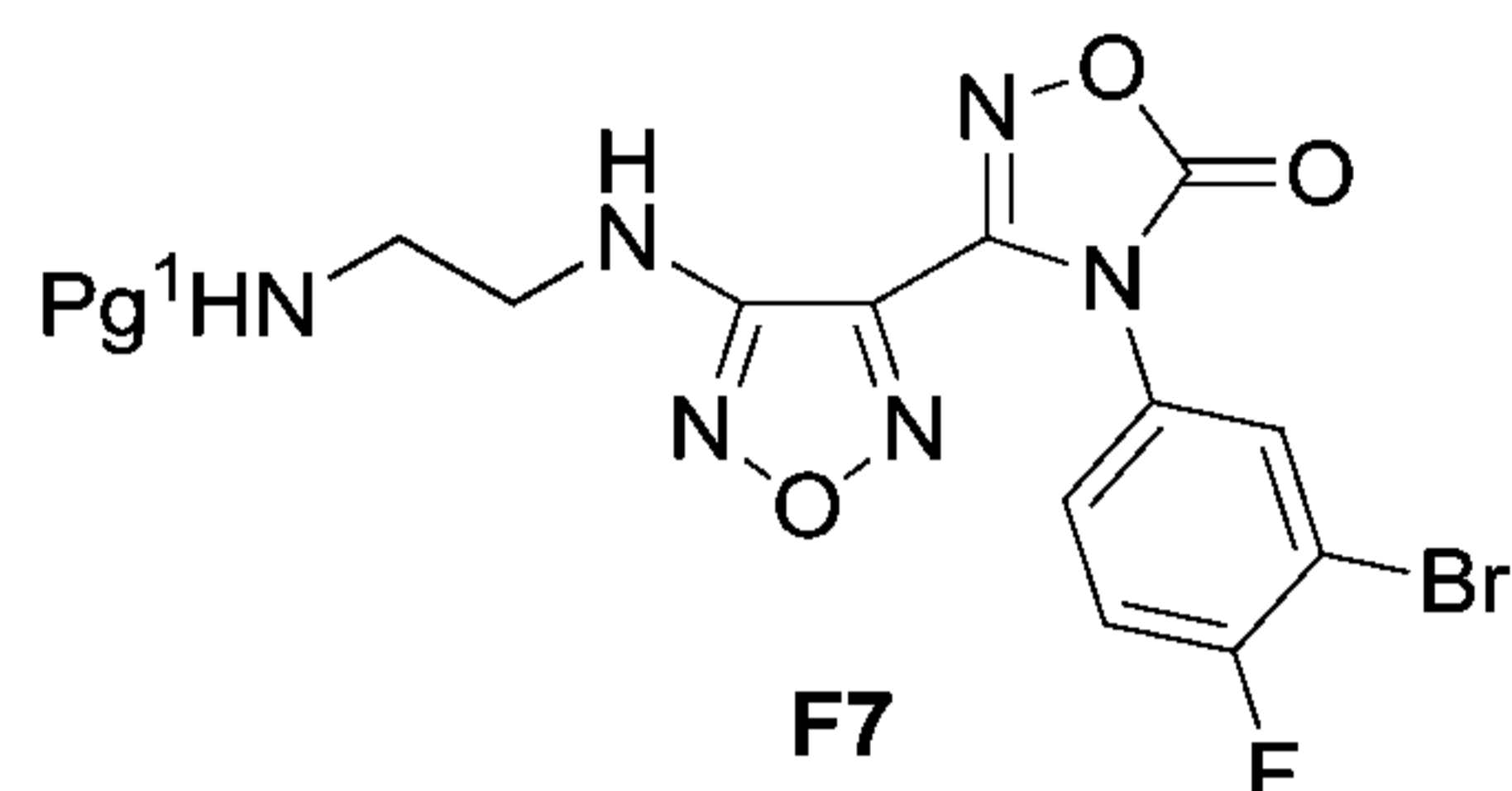
【0015】 因此，本申請案提供一種方法，其包含使式F5化合物：



與式F6之醛反應：

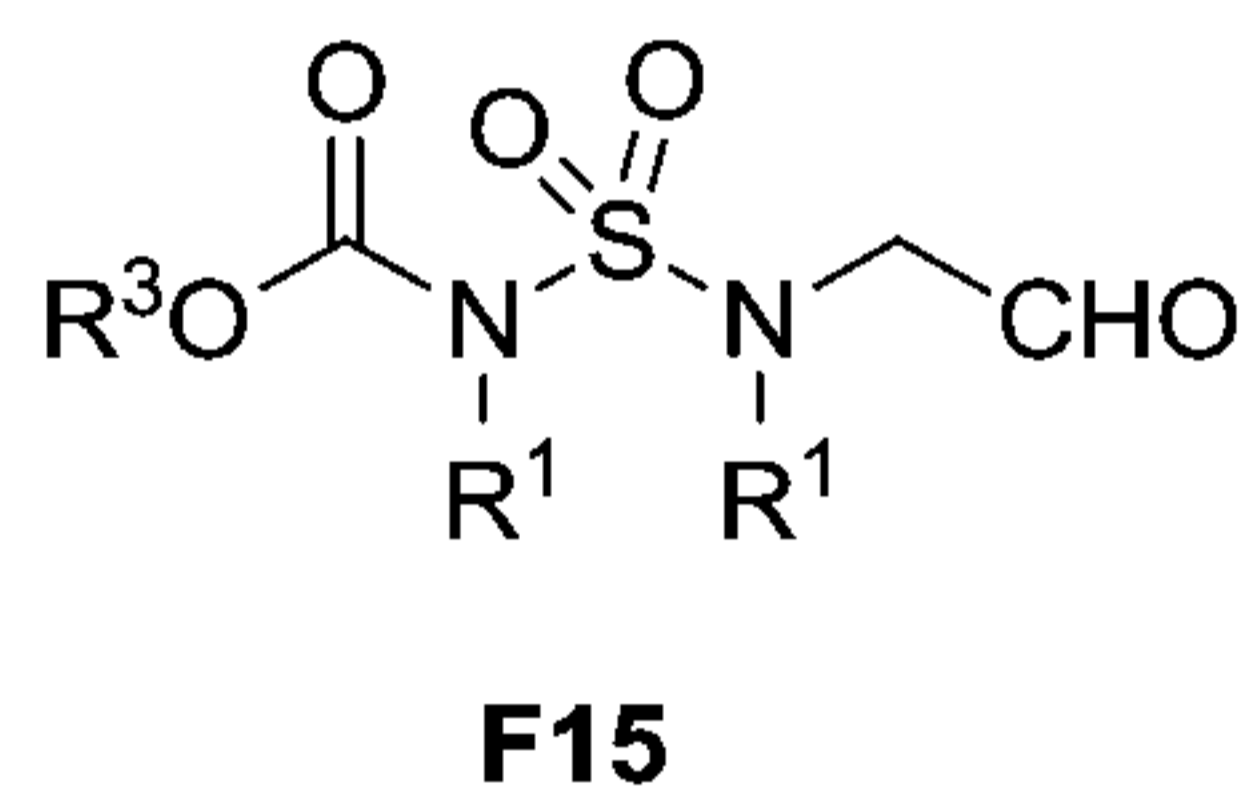


以提供式F7化合物：

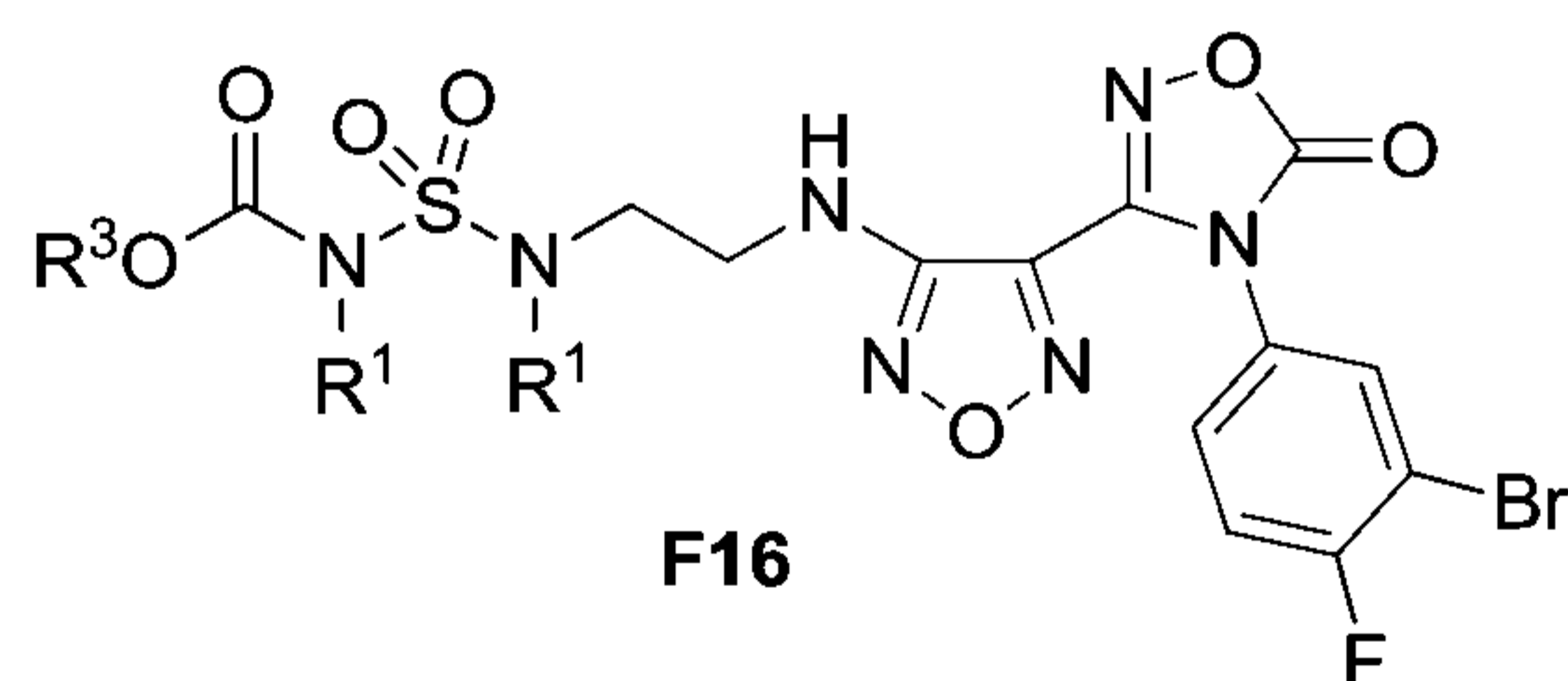


其中Pg¹定義如下。

【0016】本申請案進一步提供一種方法，其包含使式F15化合物：

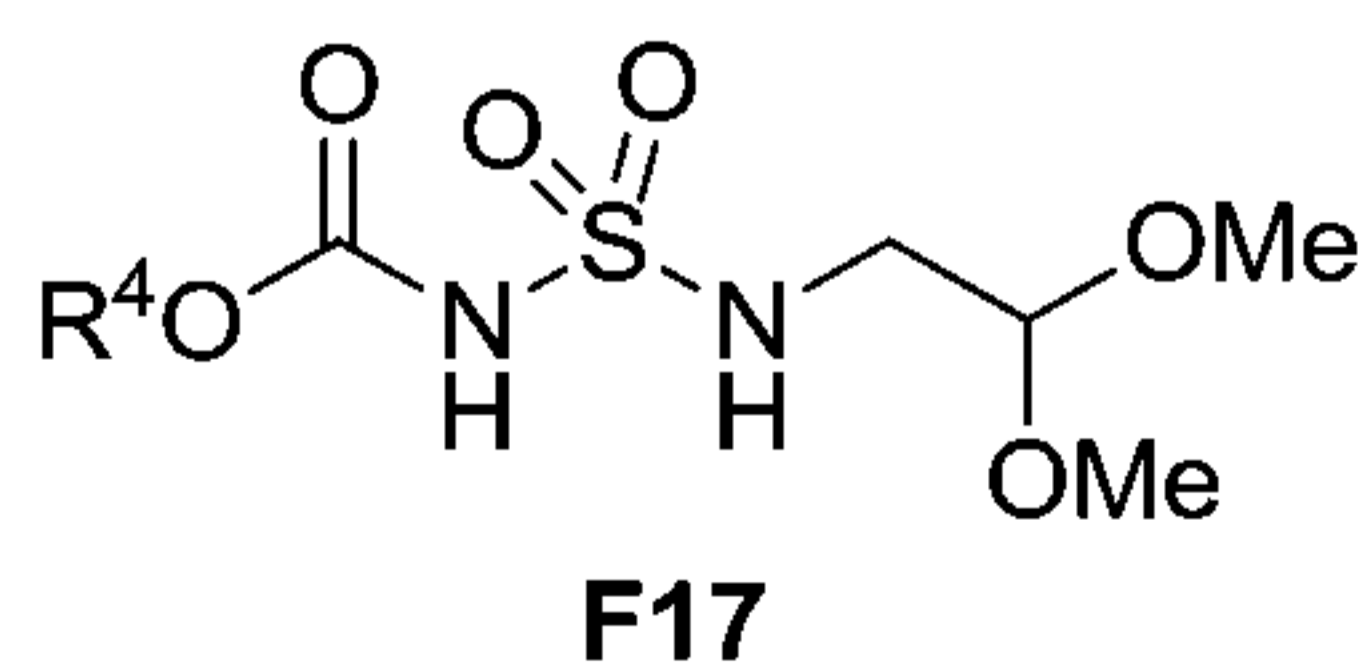


與式F5化合物反應以提供式F16化合物：

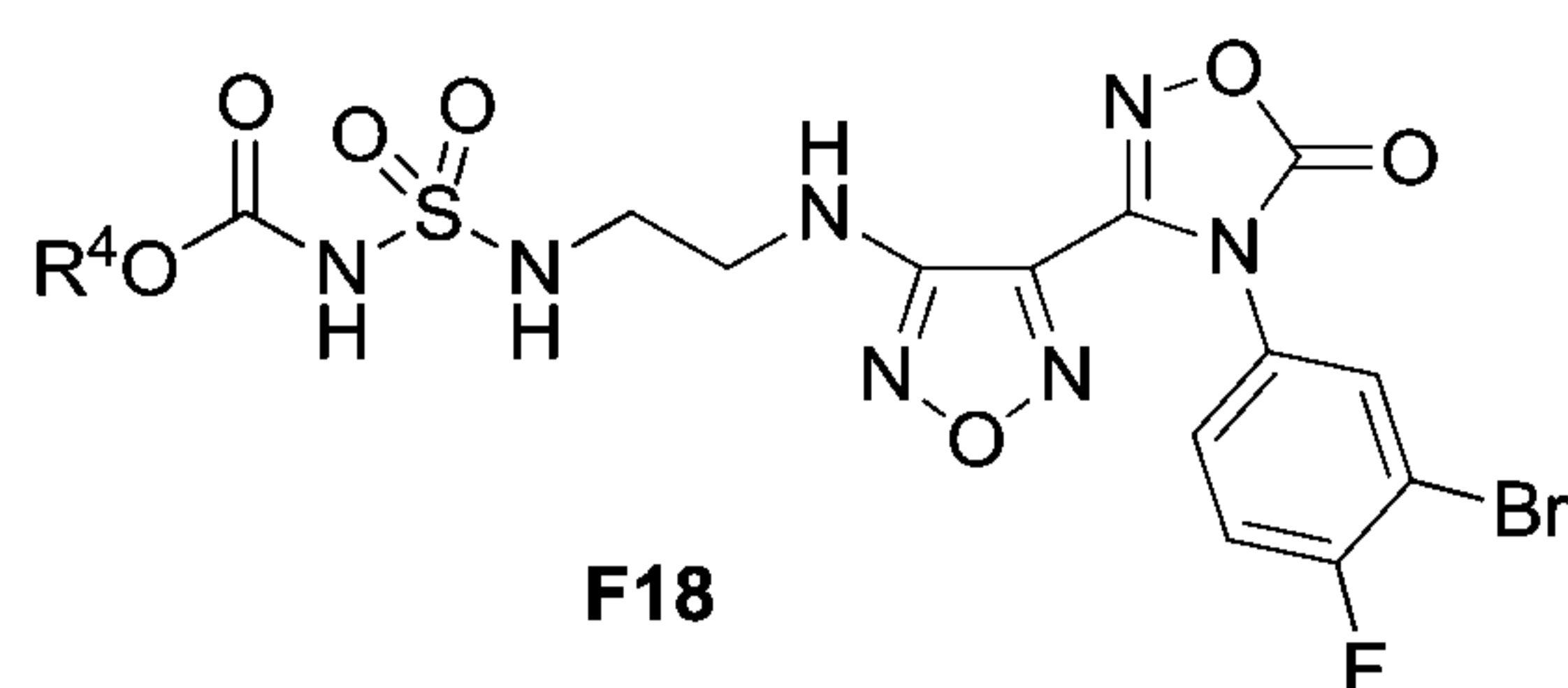


其中R¹及R³定義如下。

【0017】本申請案進一步提供一種方法，其包含使式F17化合物：



與式F5化合物反應以提供式F18化合物：

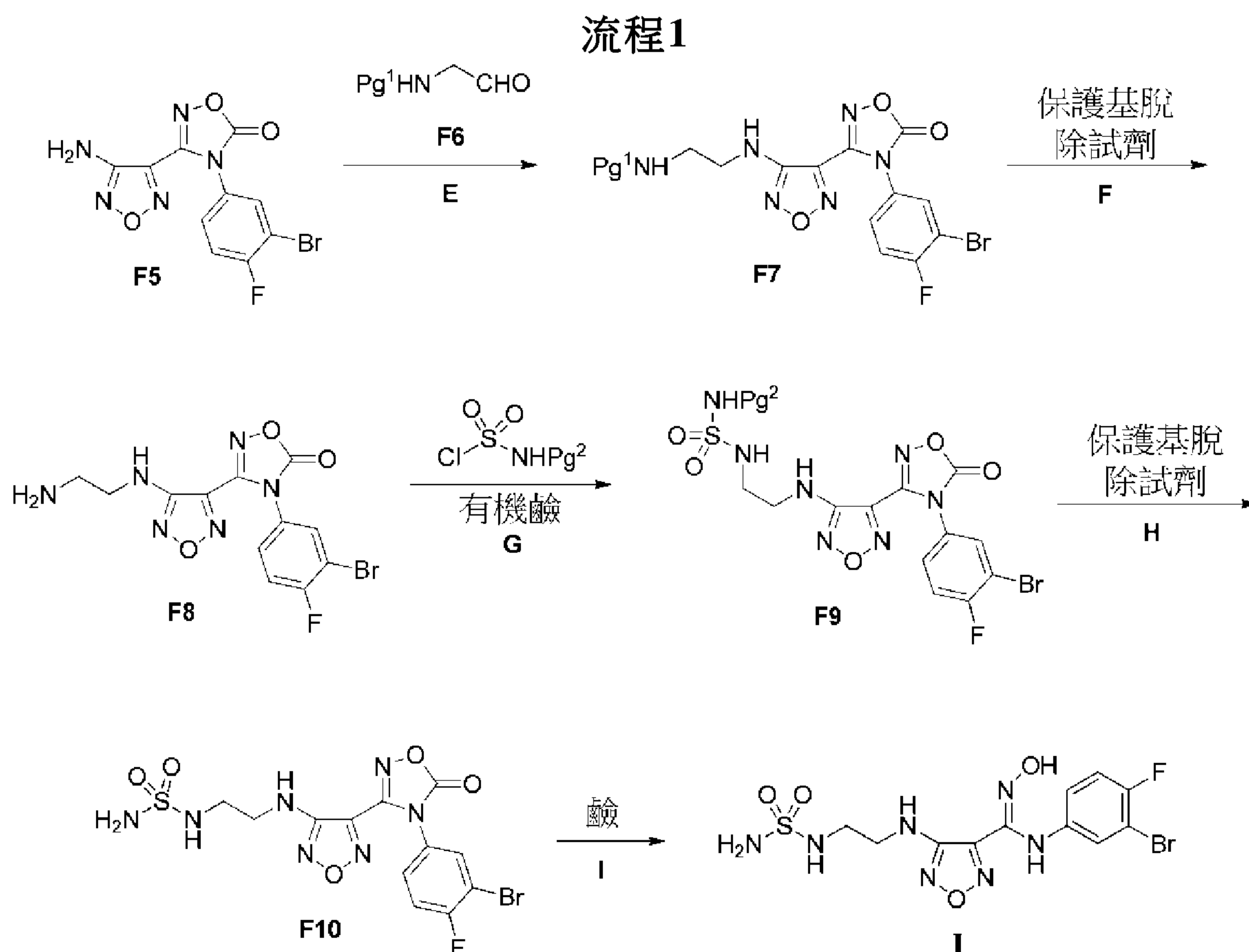


其中R⁴定義如下。

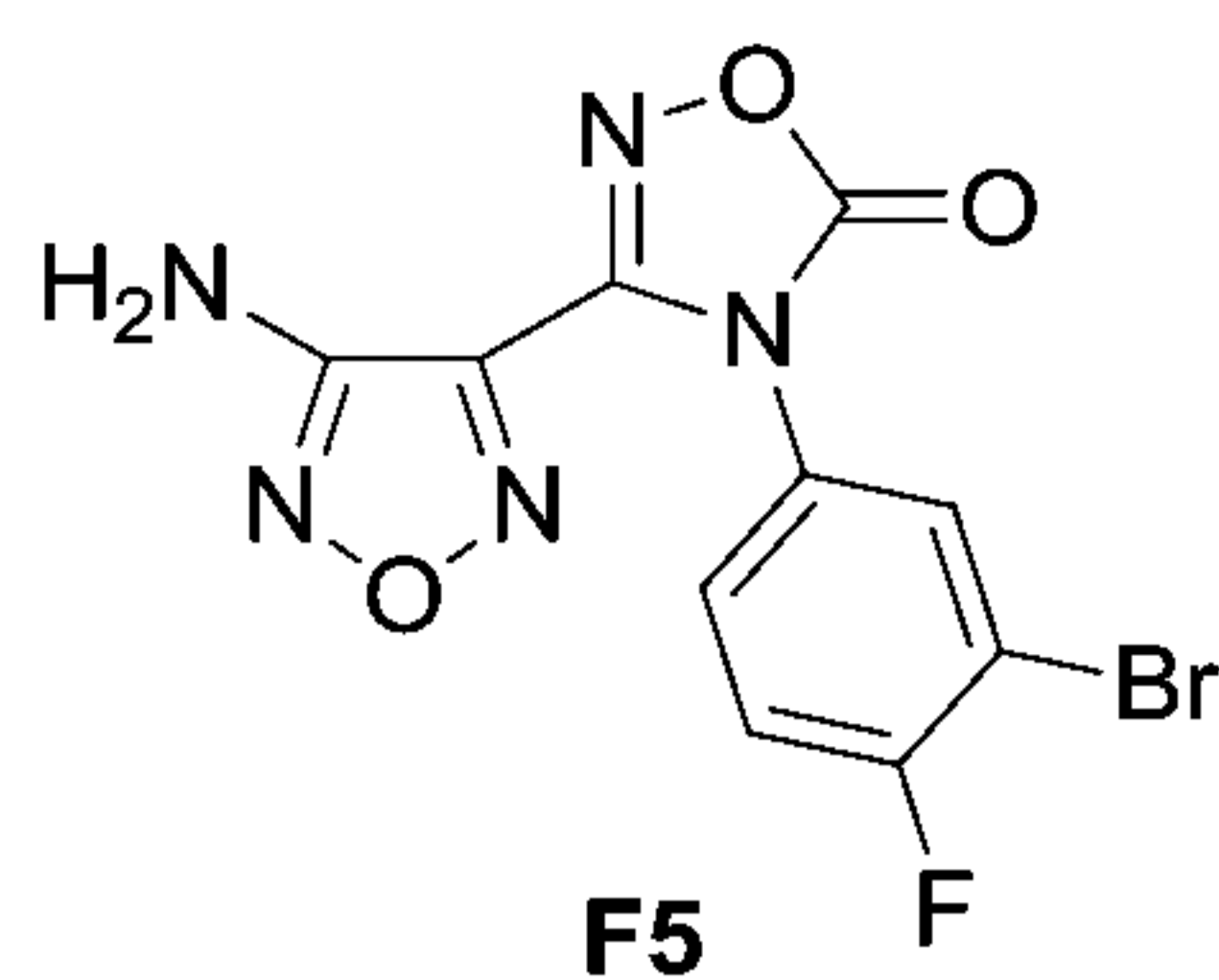
【實施方式】

【0018】雖然某些方法步驟說明於下文所示之流程中，但意欲個別方法步驟可單獨地或以任何組合來主張(例如，在流程I中，步驟E、F、G、H及I可單獨地或組合主張)。意欲該等方法不限於具有下文流程中之各個及每一個步驟的總體方法。

【0019】相應地，用於製備式I化合物之一般流程描述於流程1中。



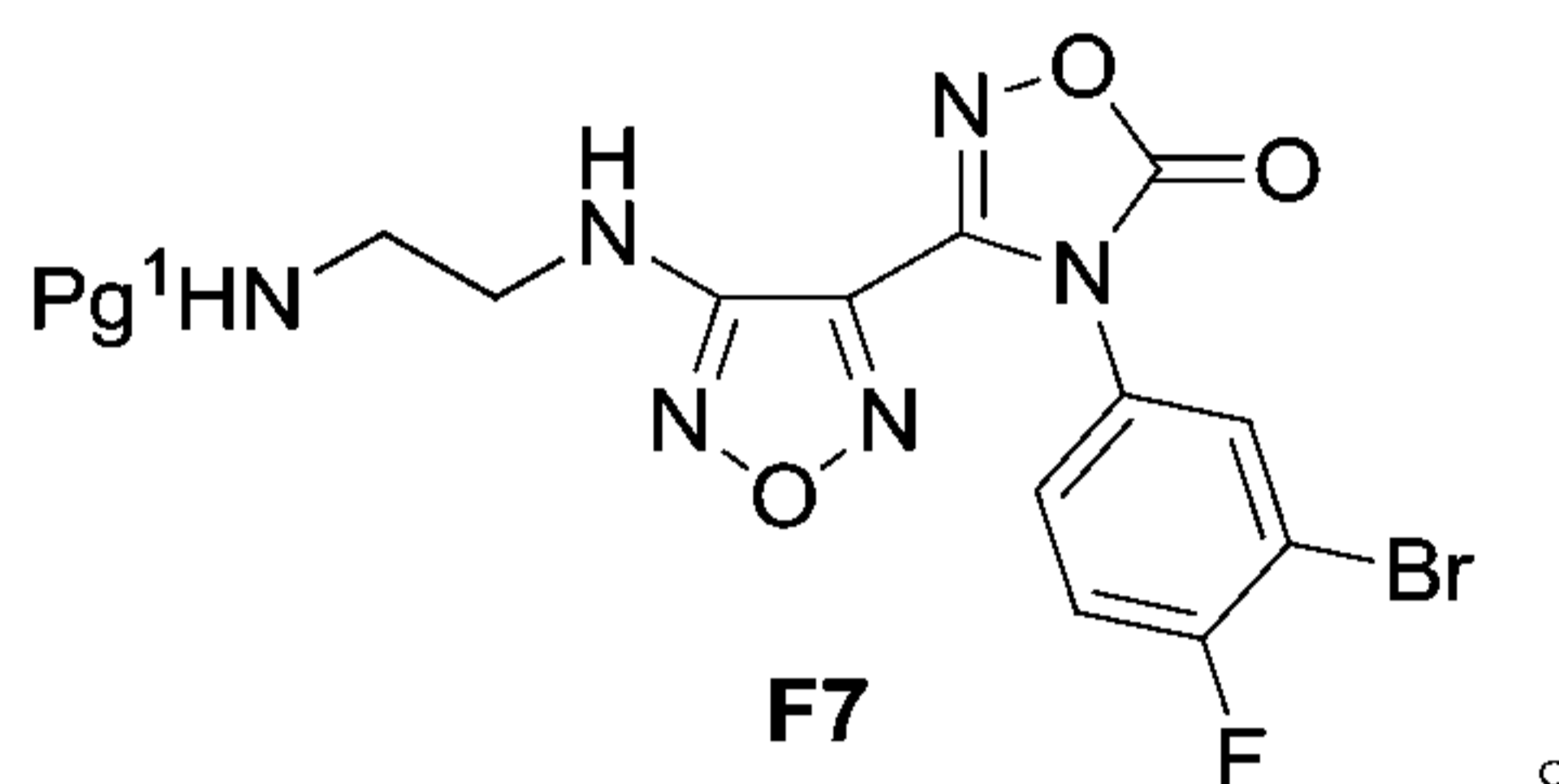
【0020】因此，本申請案提供一種方法，其包含使式F5化合物：



與式F6之醛反應：



其中Pg¹為胺基保護基，以提供式F7化合物：



【0021】胺基保護基Pg¹可用於防止胺基之不合需要的反應，同時執行所需轉化。胺基保護基允許容易地共價連接於氮原子以及自該氮原子選擇性裂解。合適之「胺基保護基」，諸如烷氧羰基(諸如乙氧羰基、第三丁氧羰基(Boc)、苯甲氧羰基(Cbz)、9-芴基甲氧羰基(Fmoc)及其類似基團)、醯基(諸如乙醯基(Ac)、苯甲醯基(Bz)及其類似基團)、磺醯基(諸如甲磺醯基、三氟甲磺醯基及其類似基團)、芳基烷基(諸如苯甲基、4-甲氧基苯甲基、二苯基甲基、三苯基甲基(三苯基)及其類似基團)、烯基烷基(諸如烯丙基、異戊二烯基及其類似基團)、二芳基亞甲基(諸如(C₆H₅)₂C=N及其類似基團)及矽烷基(諸如第三丁基二甲基矽烷基、三異丙基矽烷基及其類似基團)為熟習此項技術者已知。胺基保護基之化學可發現於Wuts及Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 第4版, 第696-926頁, John Wiley & Sons: New York, 2006中, 其以引用的方式全文併入本文中。

【0022】在一些實施例中, Pg¹為乙氧羰基、第三丁氧羰基、苯甲氧

羰基或9-芡基甲氧羰基。

【0023】 在一些實施例中， Pg^1 為 C_{1-6} 烷氧羰基。

【0024】 在一些實施例中， Pg^1 為第三丁氧羰基。

【0025】 用於步驟E之適當溶劑包括(但不限於)甲醇或四氫呋喃(THF)、乙腈及其類似物。亦可使用鹵化烴溶劑(亦即，鹵化烷烴，諸如二氯甲烷、氯仿、二氯乙烷或四氯乙烷)。

【0026】 在一些實施例中，該反應在包含四氫呋喃之溶劑組分中執行。如本文所用，溶劑組分可指一種溶劑或溶劑混合物。在一些實施例中，溶劑組分為有機溶劑。在一些實施例中，該反應在包含鹵化烴溶劑之溶劑組分中執行。在一些實施例中，該鹵化烴溶劑為二氯甲烷。

【0027】 在一些實施例中，該反應在包含乙腈之溶劑組分中執行。

【0028】 在一些實施例中，該反應在包含二氯甲烷及乙腈之溶劑組分中執行。

【0029】 在一些實施例中，該反應在還原劑存在下執行。

【0030】 還原劑可為任何能夠將有機化合物還原為較低氧化態之化合物。還原通常涉及添加氫原子或自基團移除氧原子。例如，諸如F6之醛可在式F5之胺存在下(步驟E，流程1)藉由添加呈氫氣(H_2)形式之氫或使用氫化物試劑(諸如 $NaB(OAc)_3H$ 、 $NaBH_4$ 、 $LiAlH_4$ 及其類似物)；使用三苯膦；或使用碘化鈉、氯三甲基矽烷及甲醇之組合來還原。在一些實施例中，此步驟可在酸(諸如三氟乙酸)存在下在酸性條件下執行。在一些實施例中，此步驟可在約 $-15^\circ C$ 至約 $30^\circ C$ ，例如約 $-15^\circ C$ 至約 $0^\circ C$ 、約 $-5^\circ C$ 至約 $5^\circ C$ 、約 $-5^\circ C$ 至約 $0^\circ C$ 或約 $0^\circ C$ 至約 $45^\circ C$ 之溫度下執行。

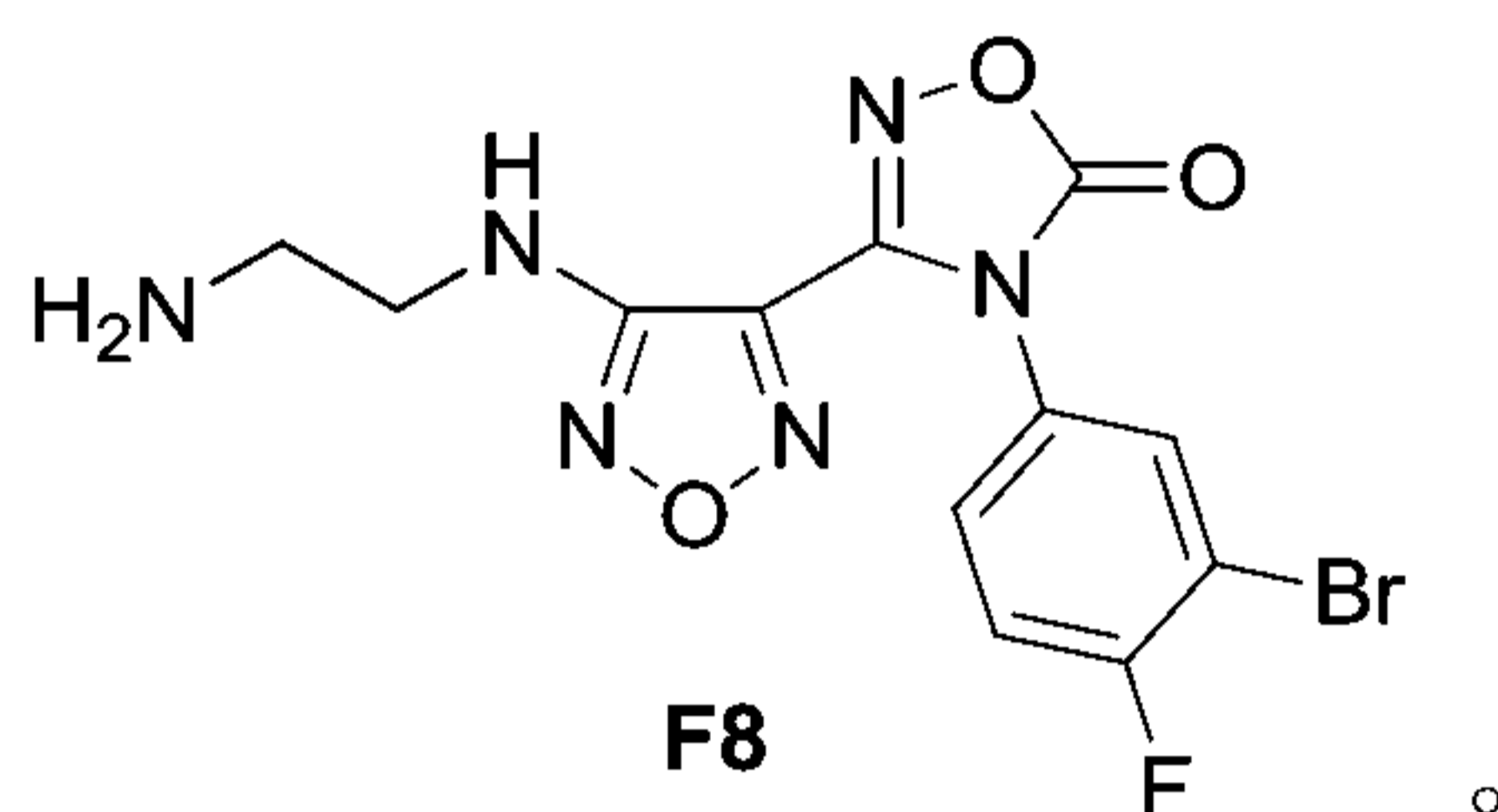
【0031】 在一些實施例中，該還原劑為硼氫化物還原劑(例如

NaB(OAc)₃H、NaBH₄或其他含硼氫化物還原劑)。

【0032】 在一些實施例中，該硼氫化物還原劑為三乙醯氧基硼氫化鈉。

【0033】 在一些實施例中，該反應在三氟乙酸存在下執行。

【0034】 在一些實施例中，該方法進一步包含使該式F7化合物脫保護以提供式F8化合物：



【0035】 適用於此步驟F之胺基脫保護試劑為熟習此項技術者已知，諸如Wuts及Greene(上文)中者。特定言之，上文所述之胺基保護基可便利地使用多種可用胺基脫保護試劑來移除，該等胺基脫保護試劑特定用於上文所提及之各種基團而不影響該化合物之其他所需部分。第三丁氧羰基可例如藉由用酸(諸如鹽酸、三氟乙酸、甲苯磺酸及其類似物)、已知產生酸之試劑的組合(例如，乙醯氯及甲醇之混合物)或路易斯酸(例如BF₃·Et₂O)處理而自氮原子移除(例如，水解)。苯甲氧羰基可例如藉由用氫及催化劑(諸如鈀/碳)處理而自氮原子移除(例如，氫解)。

【0036】 在一些實施例中，胺基脫保護試劑為三氟乙酸。在一些實施例中，胺基脫保護試劑含有三氟乙酸及>0.5體積%之水，例如>1.0體積%之水、>1.5體積%之水、>2.0體積%之水、約2體積%至約10體積%之水、約10體積%至約20體積%之水或約20體積%至約50體積%之水。在一些實施例中，胺基脫保護試劑可為三氟乙酸及水呈約98:2之體積比的混合物。在一些實施例中，胺基脫保護試劑可為鹽酸，視情況處於溶劑(例如水、

THF、二噁烷、乙酸乙酯等)中。在一些實施例中，溶劑組分為乙酸乙酯。在一些實施例中，胺基脫保護試劑可為鹽酸，視情況處於溶劑，諸如醇(例如異丙醇、甲醇或乙醇)中。亦可使用鹵化烴溶劑(例如二氯甲烷、氯仿、二氯乙烷或四氯乙烷)。在一些實施例中，鹽酸及式F7化合物之莫耳比為約6.0、約5.0、約4.0、約3.0、約2.0、約1.0或約1.1。在一些實施例中，步驟F可在約-10°C至約60°C，例如約-10°C至約0°C、約0°C至約25°C、約25°C至約45°C或約45°C至約60°C之溫度下執行。

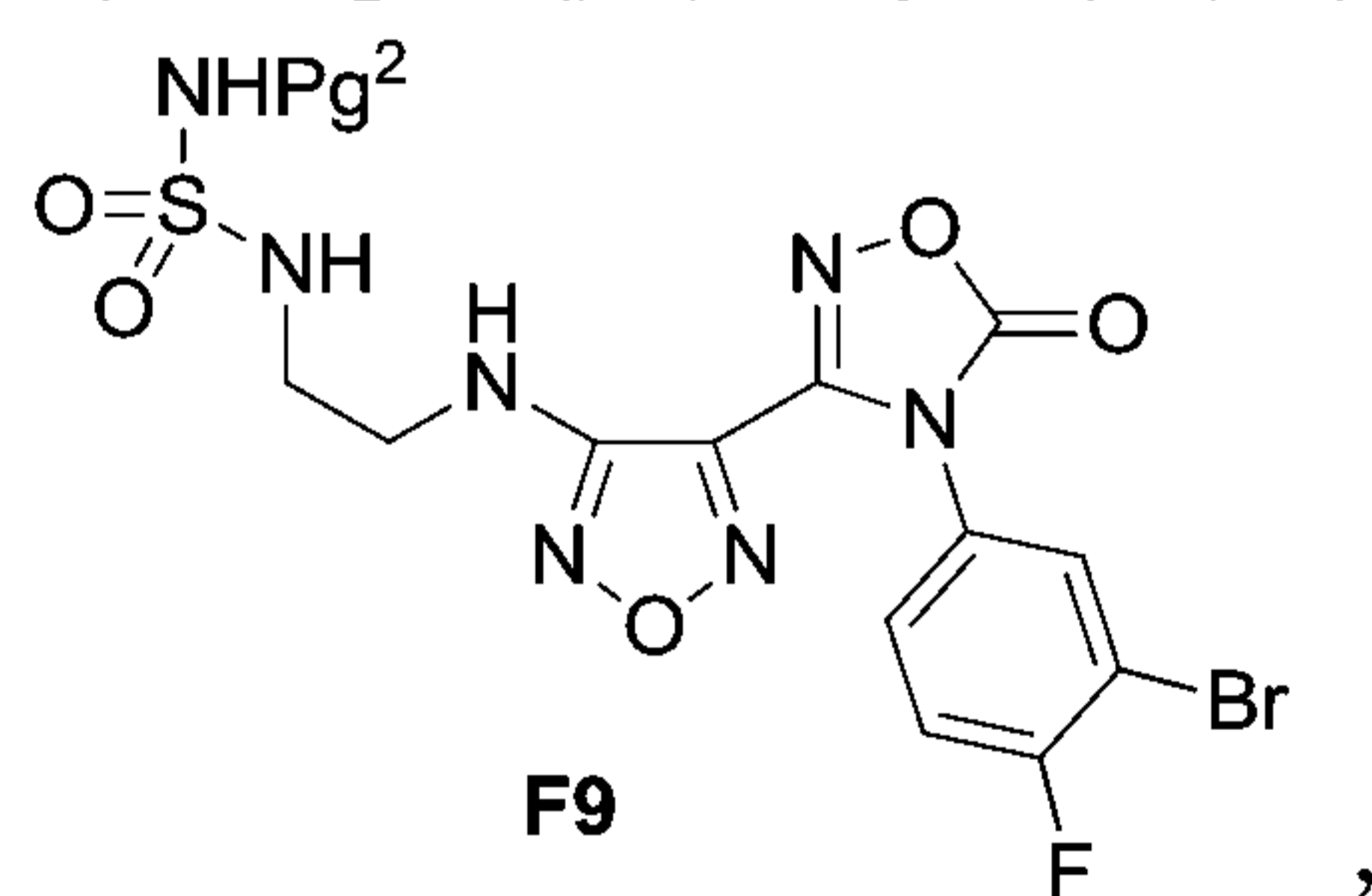
【0037】 在一些實施例中，該脫保護包含使式F7化合物與鹽酸反應。

【0038】 在一些實施例中，該脫保護包含使式F7化合物與鹽酸在包含異丙醇之溶劑組分中反應。

【0039】 在一些實施例中，該脫保護包含使式F7化合物與鹽酸在包含鹵化烴溶劑之溶劑組分中反應。

【0040】 在一些實施例中，該鹵化烴溶劑為二氯甲烷。

【0041】 在一些實施例中，本發明進一步包含使該式F8化合物與 $\text{Pg}^2\text{-NH-SO}_2\text{-X}$ 在有機鹼存在下反應以提供式F9化合物：



其中：

Pg^2 為胺基保護基；且

X為鹵基。

【0042】 在一些實施例中，可製備 $\text{Pg}^2\text{-NH-SO}_2\text{Cl}$ 且立即用於與式F8化合物反應。保護基 Pg^2 可選自此項技術中已知用於保護胺或磺醯胺(諸如

上文針對 Pg^1 所述者)之任何保護基。在一些實施例中， Pg^2 可為烷氧羰基(諸如第三丁氧羰基)。

【0043】適當溶劑包括(但不限於)鹵化烴溶劑，諸如二氯甲烷及其類似物。有機鹼可為用於中和在式F8化合物與經保護胺基-磺醯氯之反應期間產生的HCl之任何鹼。有機鹼可包括無環三級胺，諸如三(C₁₋₆)烷基胺(三乙胺、二異丙基乙胺(DIPEA)及其類似物)；環狀三級胺(例如，N-甲基哌啶、1,4-二氮雜雙環[2.2.2]辛烷(DABCO)及其類似物)。在一些實施例中，有機鹼可為三乙胺。在一些實施例中，此步驟可在約-15°C至約60°C，例如約-15°C至約0°C、約0°C至約25°C、約25°C至約45°C或約45°C至約60°C之溫度下執行。

【0044】在該等實施例中， Pg^2 -NH-SO₂Cl可藉由醇(諸如乙醇、第三丁醇及其類似物)與氯磺醯基異氰酸酯(CIS(O)₂NCO)之反應獲得。

【0045】在一些實施例中， Pg^2 為乙氧羰基、第三丁氧羰基、苯甲氧羰基或9-芴基甲氧羰基。

【0046】在一些實施例中， Pg^2 為C₁₋₆烷氧羰基。

【0047】在一些實施例中， Pg^2 為第三丁氧羰基。

【0048】在一些實施例中，該反應在包含鹵化烴溶劑之溶劑組分中執行。

【0049】在一些實施例中，該鹵化烴溶劑為二氯甲烷。

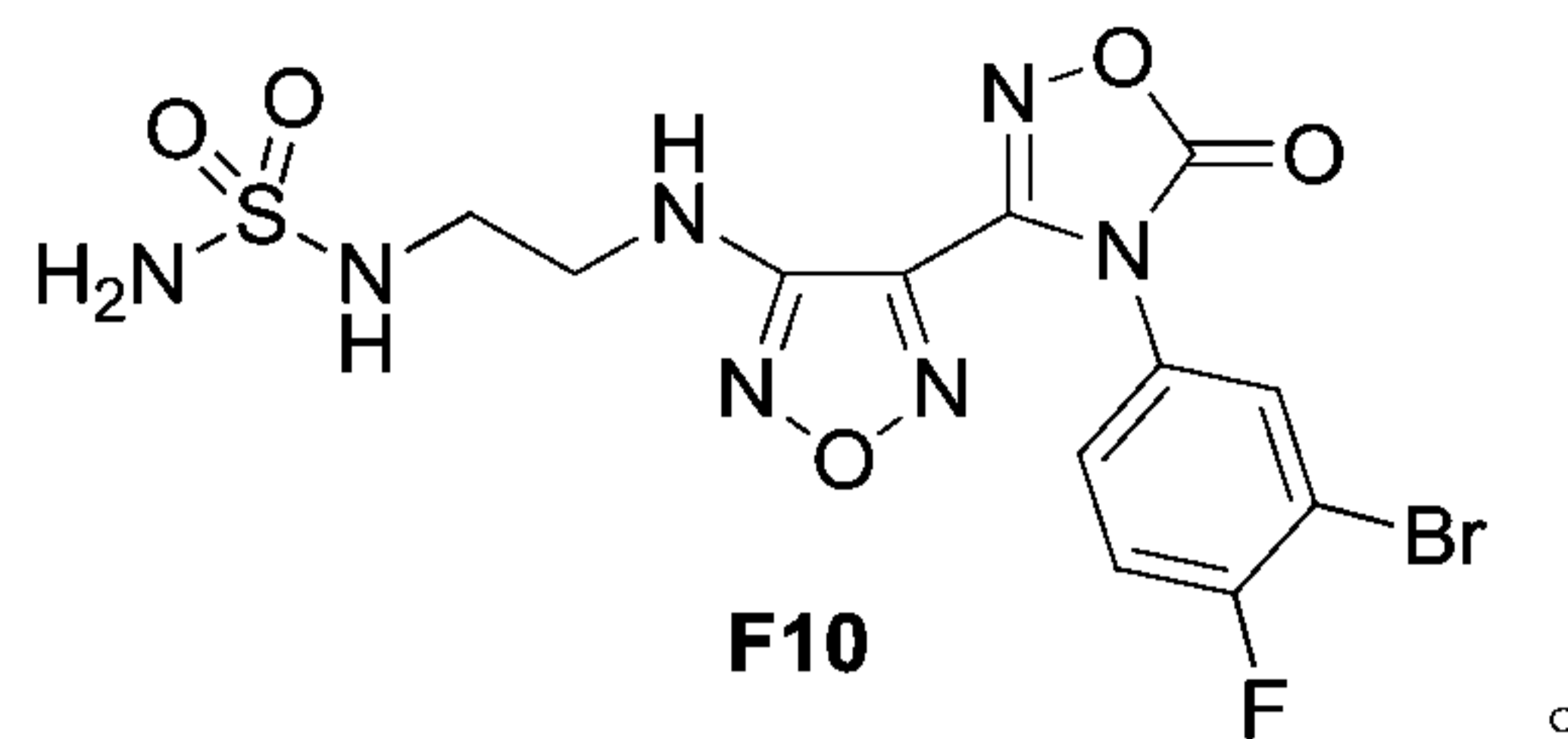
【0050】在一些實施例中，該有機鹼包含三(C₁₋₆)烷基胺。

【0051】在一些實施例中，該有機鹼為三乙胺。

【0052】在一些實施例中，X為氯。

【0053】在一些實施例中，本發明進一步包含使該式F9化合物脫保護

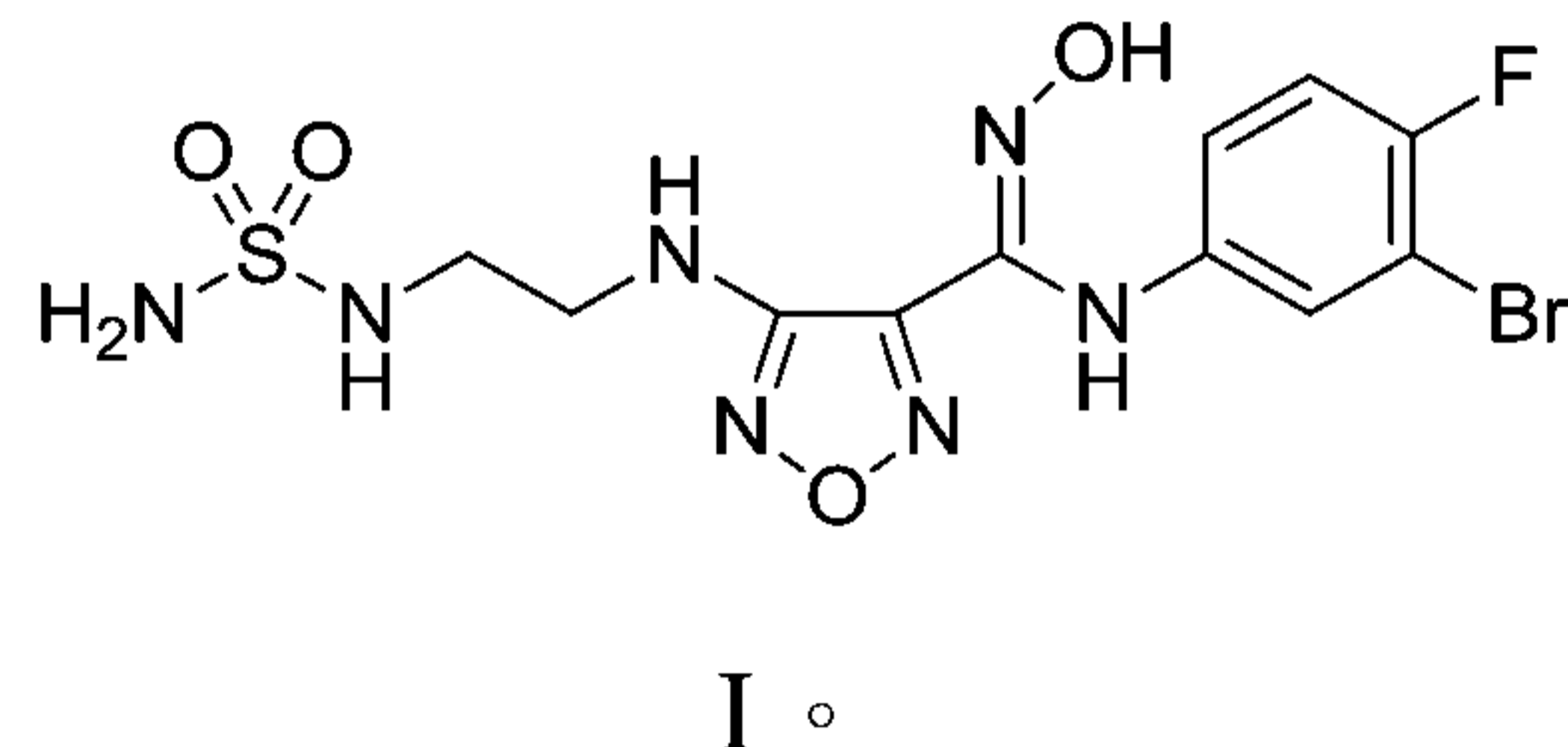
以提供式F10化合物：



【0054】 在一些實施例中，合適之脫保護試劑可包括上文針對使式F7化合物脫保護所述者。

【0055】 在一些實施例中，該脫保護包含使式F9化合物與鹽酸反應。在一些實施例中，該脫保護包含使式F9化合物與鹽酸在包含醇之溶劑組分中反應。在一些實施例中，該醇為乙醇。在一些實施例中，該脫保護包含使式F9化合物與鹽酸在包含乙酸乙酯之溶劑組分中反應。

【0056】 在一些實施例中，本發明進一步包含使該式F10化合物與鹼反應以提供式I化合物：



【0057】 視情況在溶劑中，鹼可用於F10中之噁二唑酮環之轉化(例如，水解)以展現式I化合物中之胺肟(步驟I，流程1)。以噁二唑酮形式保護胺肟可適用於防止羥基或胺肟整體之不良反應。鹼可為無機鹼，諸如鹼金屬氫氧化物(例如NaOH、LiOH、KOH、Mg(OH)₂等)；或有機鹼，諸如無環胺(例如，三乙胺、二異丙基乙胺(DIPEA)等)或環狀胺(例如，吡咯啉、哌啉等)。鹼可以樹脂(例如Amberlite[®]及其類似物)形式獲得。在一些其他實施例中，鹼可以水溶液形式提供(例如，約0.5 N溶液、約1 N溶液、約1.5 N溶液、約2.5 N溶液、約3 N至約5 N溶液、約5 N至約10 N溶

液)。在一些實施例中，鹼可為鹼金屬氫氧化物(例如，氫氧化鈉)。在一些實施例中，鹼可為2 N NaOH水溶液。在一些實施例中，溶劑可為乙醇或四氫呋喃(THF)。在一些實施例中，溶劑可為乙醇及水之混合物。在一些實施例中，式F10化合物與鹼反應以提供式I化合物可在約-10°C至約60°C，例如約-10°C至約20°C、約0°C至約30°C、約0°C至約10°C或約0°C至約5°C之溫度下執行。

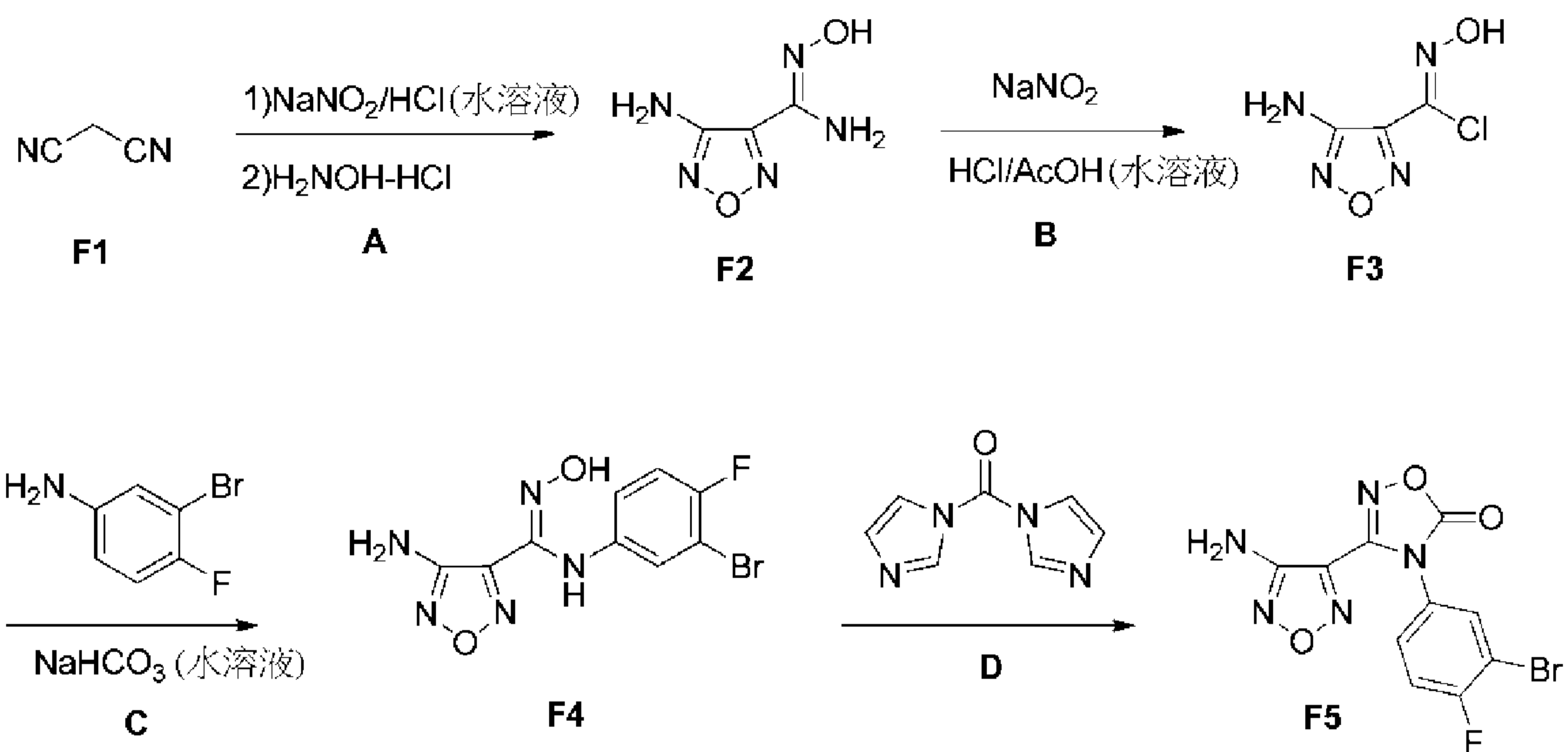
【0058】 在一些實施例中，該鹼包含鹼金屬氫氧化物。

【0059】 在一些實施例中，該鹼金屬氫氧化物為氫氧化鈉。

【0060】 在一些實施例中，該反應在包含四氫呋喃、水及乙醇之溶劑組分中執行。

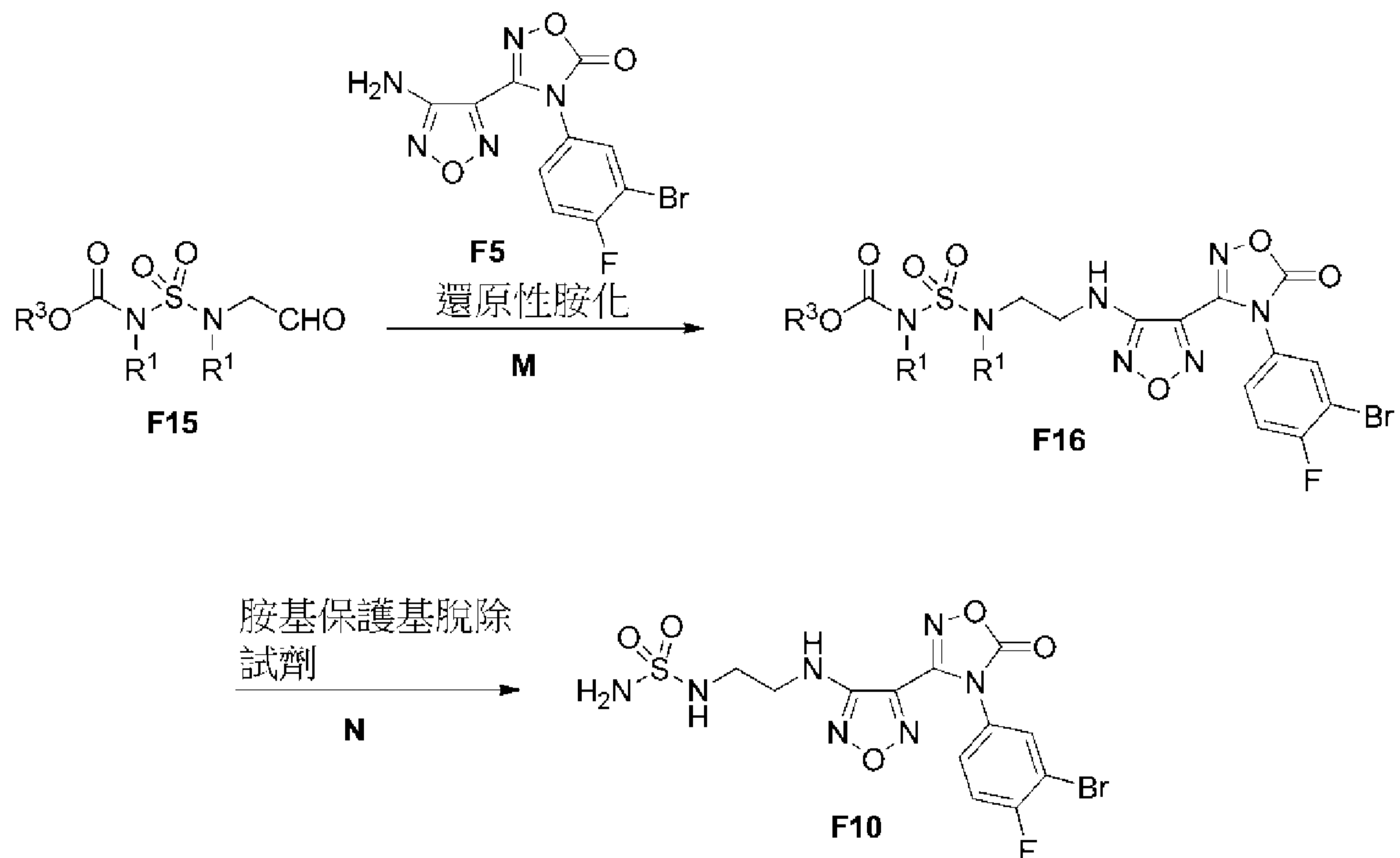
【0061】 在一些實施例中，式F5化合物可以流程2中所示之步驟次序獲得。中間體4-胺基-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒F2之製備已描述於*J. Heterocycl. Chem.* (1965), 2, 253(其以引用之方式全文併入本文中)中，且其轉化為氯脒F3已描述於*Synth. Commun.* (1988), 18, 1427(其以引用之方式全文併入本文中)中。在一些實施例中，式F3之氯脒可視情況在溶劑(諸如水)中偶合於3-溴-4-氟苯胺，隨後添加碳酸氫鈉，以提供式F4之胺脒。F4化合物之胺脒官能基可接著使用N,N-羰基二咪唑(DCI)在溶劑(諸如乙酸乙酯、二噁烷、THF及其類似物)中，在諸如約50°C、約60°C、約70°C、約80°C、約90°C或約100°C之高溫下轉化為噁二唑酮或式F5。

流程2

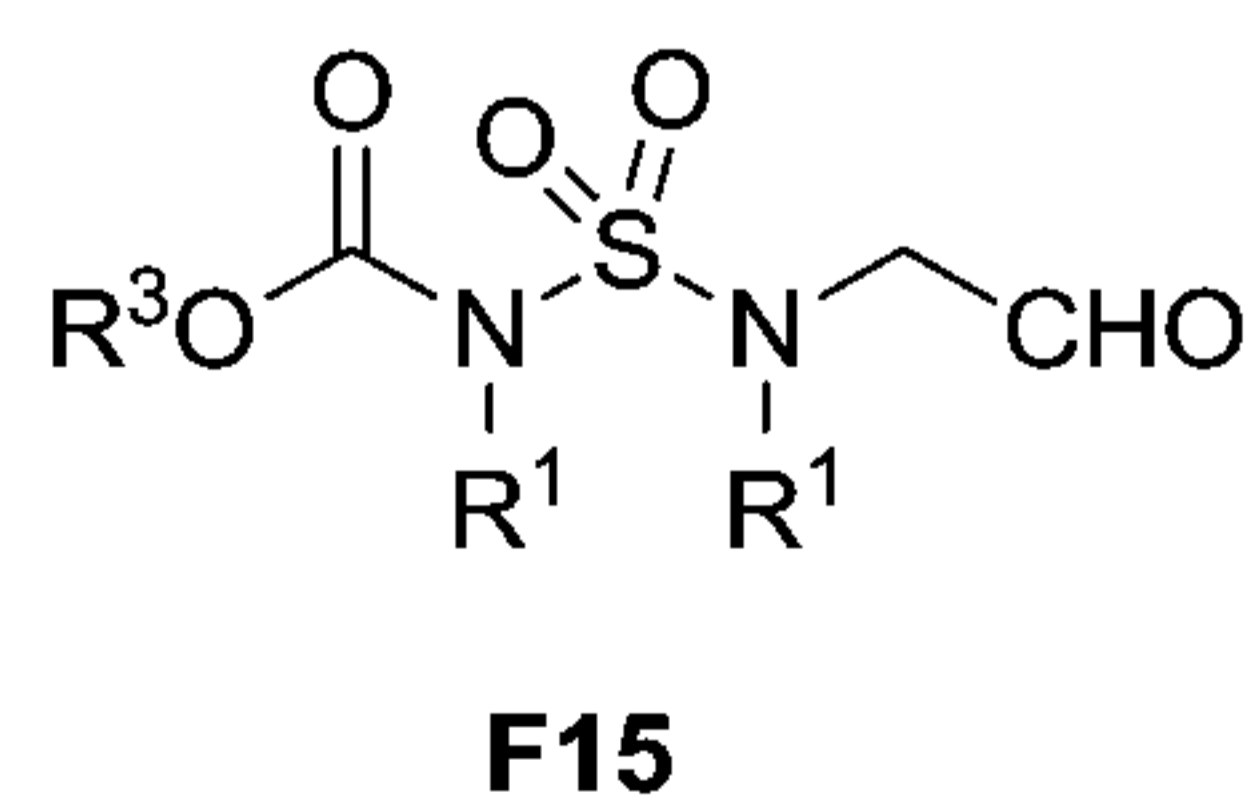


【0062】 或者，式F10化合物可經流程3中所描繪之步驟次序獲得。

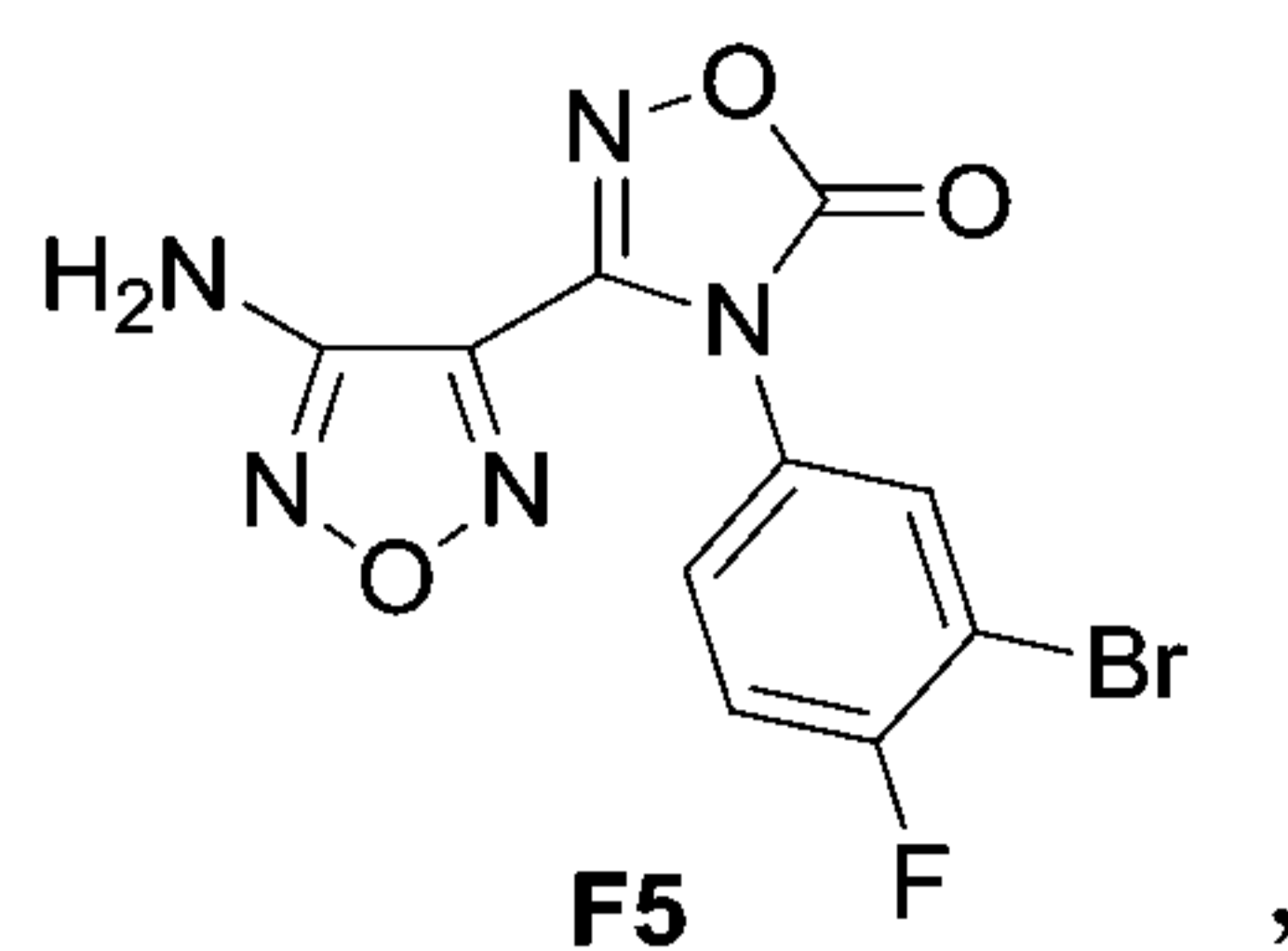
流程3



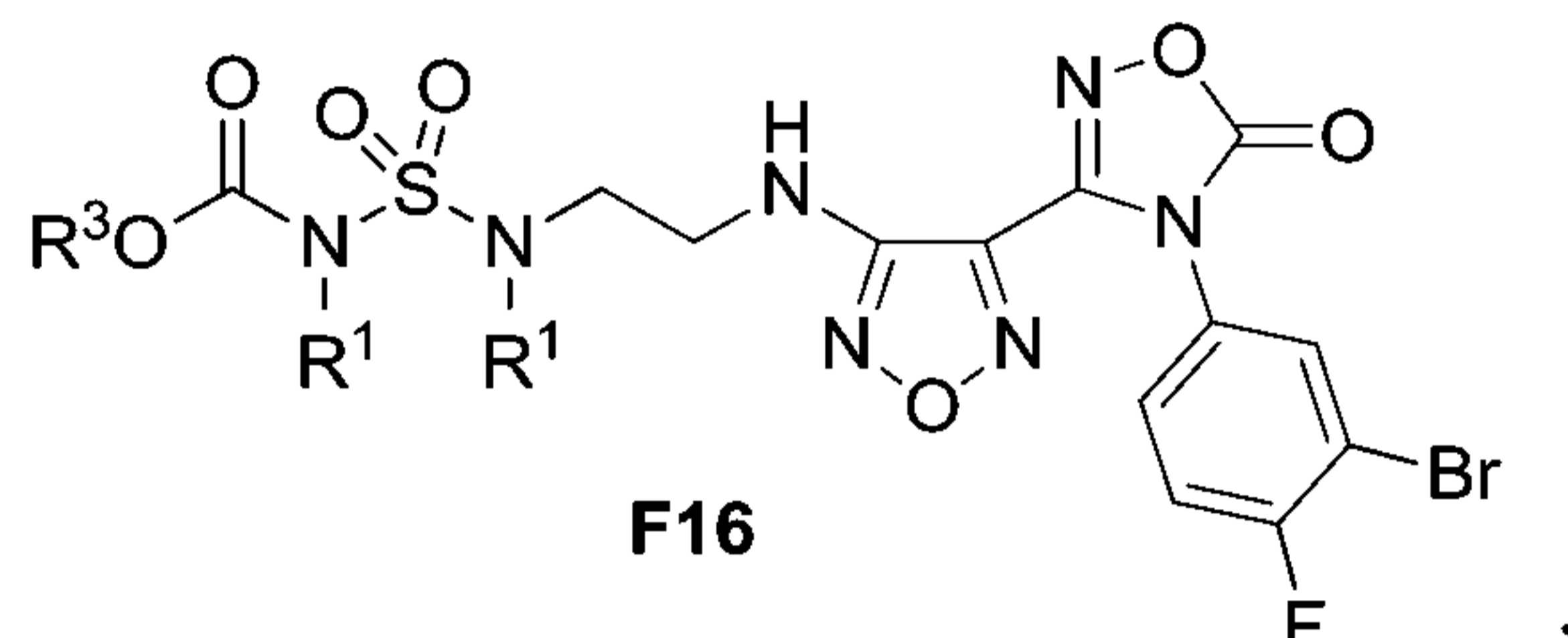
【0063】 在一些實施例中，本申請案提供一種方法，其包含使式F15化合物：



與式F5化合物反應：



以提供式F16化合物：



其中：

各 R^1 獨立地為胺基保護基；且

R^3 為 C_{1-6} 烷基或苯甲基。

【0064】 在一些實施例中， R^1 為 C_{2-4} 烯基- C_{1-3} 烷基或苯基- C_{1-3} 烷基，其中該苯基- C_{1-3} 烷基視情況經1、2或3個獨立地選擇之 C_{1-4} 烷氧基取代。

【0065】 在一些實施例中， R^1 為 C_{2-4} 烯基- C_{1-3} 烷基或苯基- C_{1-3} 烷基，其中該苯基- C_{1-3} 烷基視情況經1、2或3個甲氧基取代。

【0066】 在一些實施例中， R^1 為烯丙基。

【0067】 在一些實施例中， R^1 為4-甲氧基苯甲基。

【0068】 在一些實施例中， R^3 為 C_{1-6} 烷基。

【0069】 在一些實施例中， R^3 為第三丁基。

【0070】 在一些實施例中， R^3 為 C_{1-4} 烷基。

【0071】 在一些實施例中， R^3 為丁基。

【0072】 較佳地，該反應在還原劑存在下執行。還原劑可為任何能夠將有機化合物還原為較低氧化態之化合物。在一些實施例中，還原劑可為在催化劑存在下之氫氣或氫化物試劑(諸如 $NaB(OAc)_3H$ 、 $NaBH_4$ 、

LiAlH₄及其類似物)；使用三苯膦；或使用碘化鈉、氯三甲基矽烷及甲醇之組合。在一些實施例中，此步驟可在酸(諸如三氟乙酸)存在下執行。用於此步驟之合適溶劑包括異丙醇、THF、二噁烷或其類似物。在一些實施例中，此步驟可在約-15°C至約30°C，例如約-15°C至約0°C、約-5°C至約5°C、約-5°C至約0°C、約0至5°C或約0°C至約45°C之溫度下執行。

【0073】 在一些實施例中，該反應在包含四氫呋喃之溶劑組分中執行。

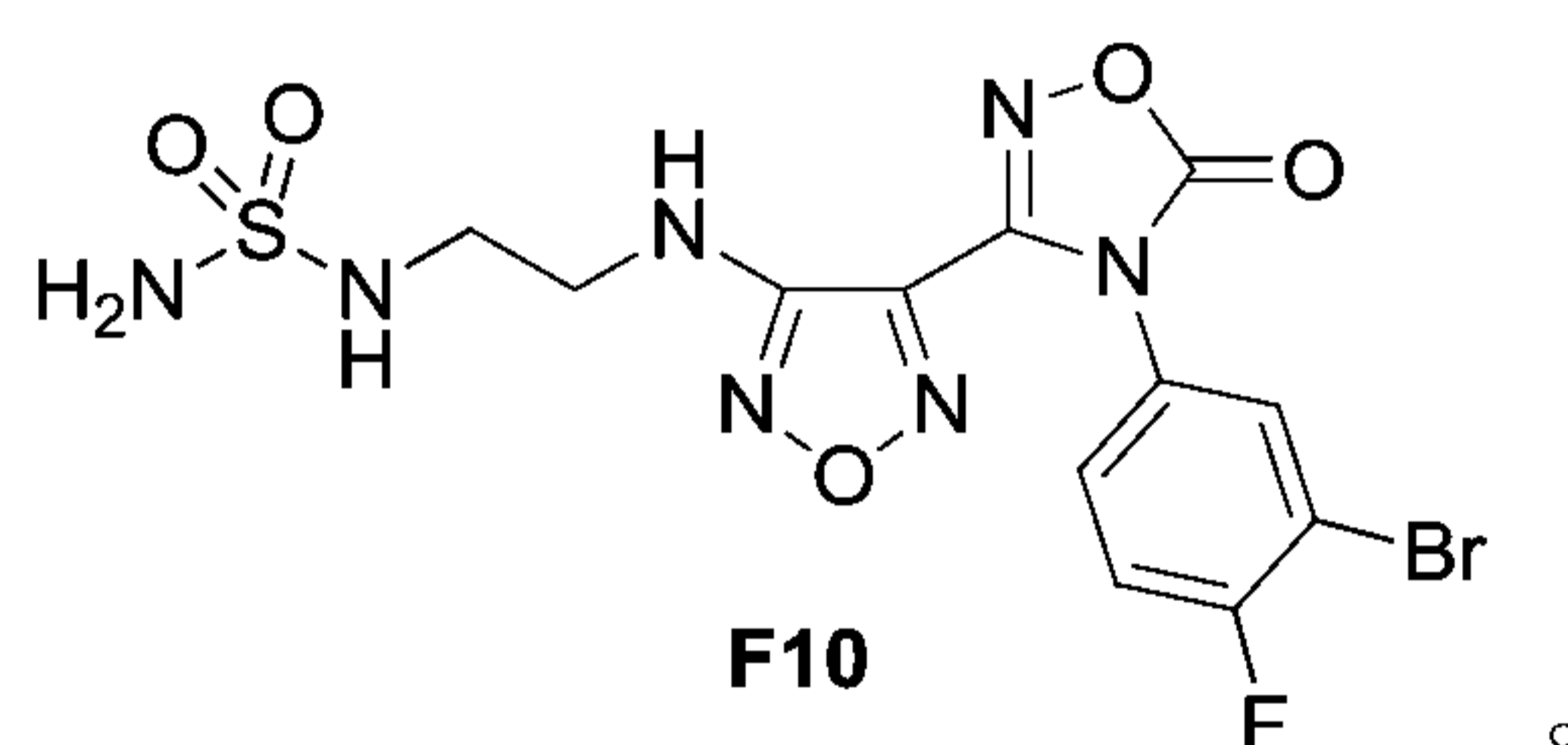
【0074】 在一些實施例中，該反應在還原劑存在下執行。

【0075】 在一些實施例中，該還原劑為硼氫化物還原劑。

【0076】 在一些實施例中，該硼氫化物還原劑為三乙醯氧基硼氫化鈉。

【0077】 在一些實施例中，該反應在三氟乙酸存在下執行。

【0078】 在一些實施例中，本發明進一步包含使該式F16化合物脫保護以提供式F10化合物：



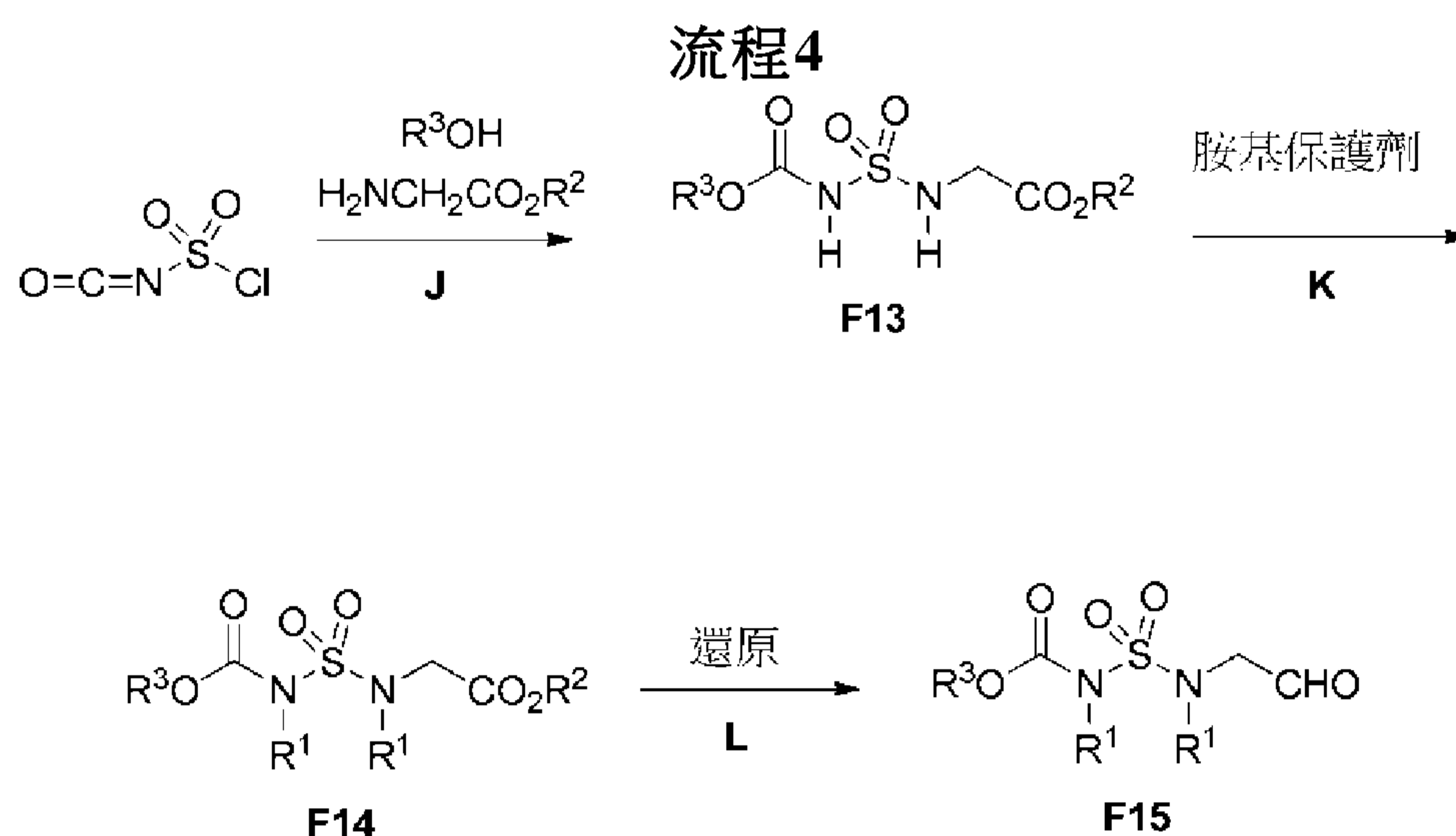
【0079】 處理化合物F16以用NH₂置換R¹N可藉由熟習此項技術者已知之用於使特定胺基保護基脫保護之方法，諸如Wuts及Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 第4版, 第696-926頁, John Wiley & Sons: New York, 2006中之方法來完成。在一些實施例中，當R¹為烯丙基時，脫保護試劑可為鈀催化劑(例如Pd(Ph₃P)₄、Pd/C或Pd(dba)DPPB)。在一些實施例中，當R¹為4-甲氧基苯甲基時，脫保護試

劑可包括有機酸(諸如三氟乙酸或甲烷磺酸及其類似物)；無機酸(諸如鹽酸)；氫及鈹；或液氨中之鈉。該脫保護可在約30°C至約90°C，例如約50°C至約100°C或約60°C至約80°C之溫度下執行。

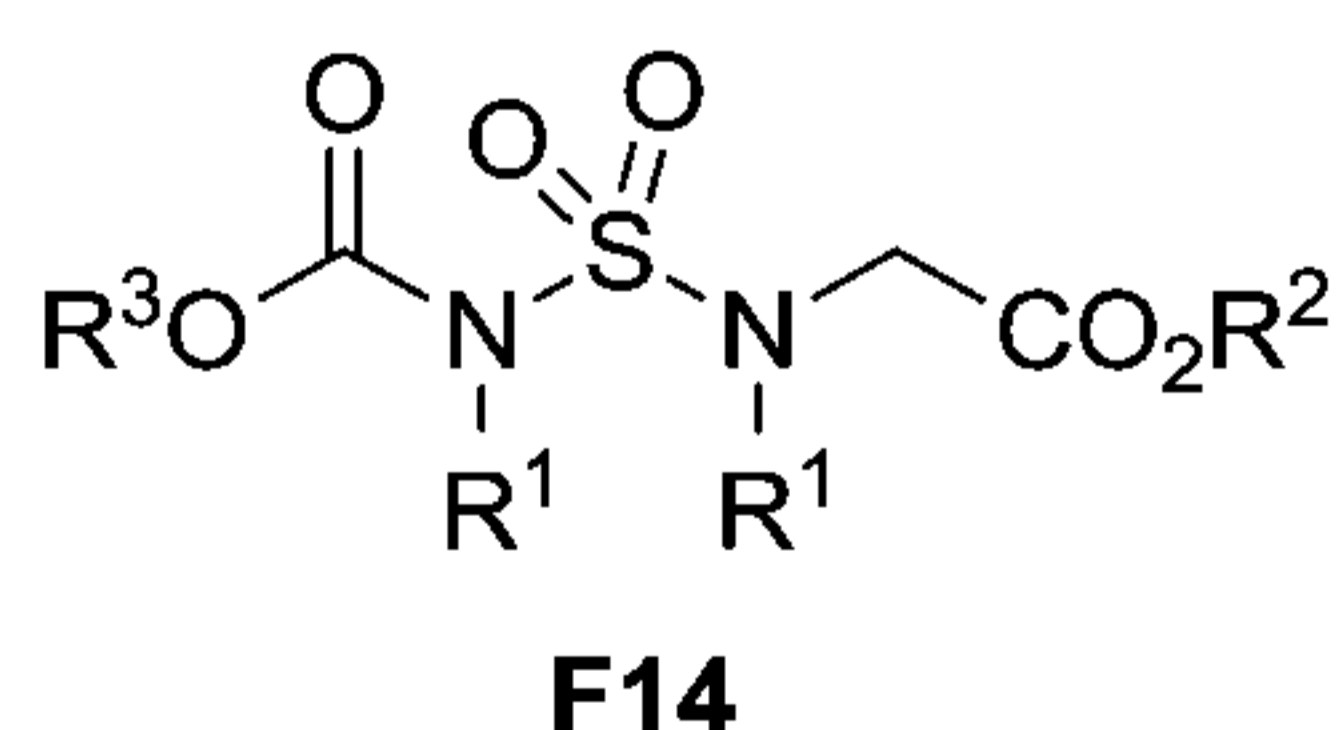
【0080】 在一些實施例中，該脫保護包含使式F16化合物與三氟乙酸反應。

【0081】 在一些實施例中，該脫保護包含使式F16化合物與鹽酸反應。

【0082】 化合物F15可藉由三步驟方法(步驟J、K及L)由氯磺醯基異氰酸酯製備，如流程4中所示。



【0083】 相應地，本申請案進一步提供一種方法，其中該式F15化合物藉由如下方法獲得，該方法包含用還原劑處理式F14化合物：



以提供該式F15化合物；其中R²為C₁₋₄烷基；且R³定義如上。

【0084】 在一些實施例中，R²為甲基。

【0085】 在一些實施例中，R²為乙基。

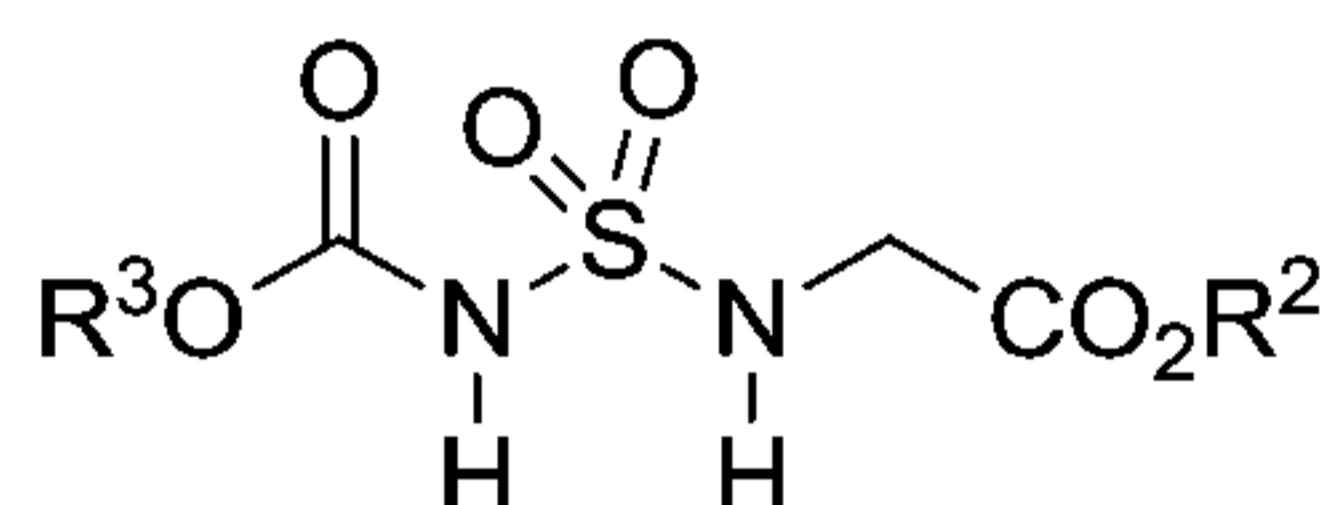
【0086】 在一些實施例中，該還原可用二異丁基氫化鋁(DIBAL-H)進行。合適之溶劑包括鹵化烴溶劑，諸如二氯甲烷、氯仿、二氯乙烷、四氯乙烷及其類似物。在一些實施例中，該還原可在約室溫，例如約-80°C至約30°C、約-78°C至約0°C、約0°C至約30°C或約25°C至約30°C下執行。

【0087】 在一些實施例中，該處理在鹵化烴溶劑中執行。

【0088】 在一些實施例中，該鹵化烴溶劑為二氯甲烷。

【0089】 在一些實施例中，該還原劑為二異丁基氫化鋁。

【0090】 在一些實施例中，該式F14化合物藉由如下方法獲得，該方法包含用一或多種獨立地選擇之胺基保護劑保護式F13化合物：



F13

以提供式F14化合物。

【0091】 F14上之保護基R¹可選自此項技術中已知之各種胺基保護基(上文)。在一些實施例中，胺基保護劑為烯丙基溴或4-甲氧基苯甲基氯。

【0092】 在一些實施例中，該一或多種胺基保護劑係選自烯丙基溴及4-甲氧基苯甲基氯。

【0093】 在一些實施例中，該保護在鹼存在下執行。

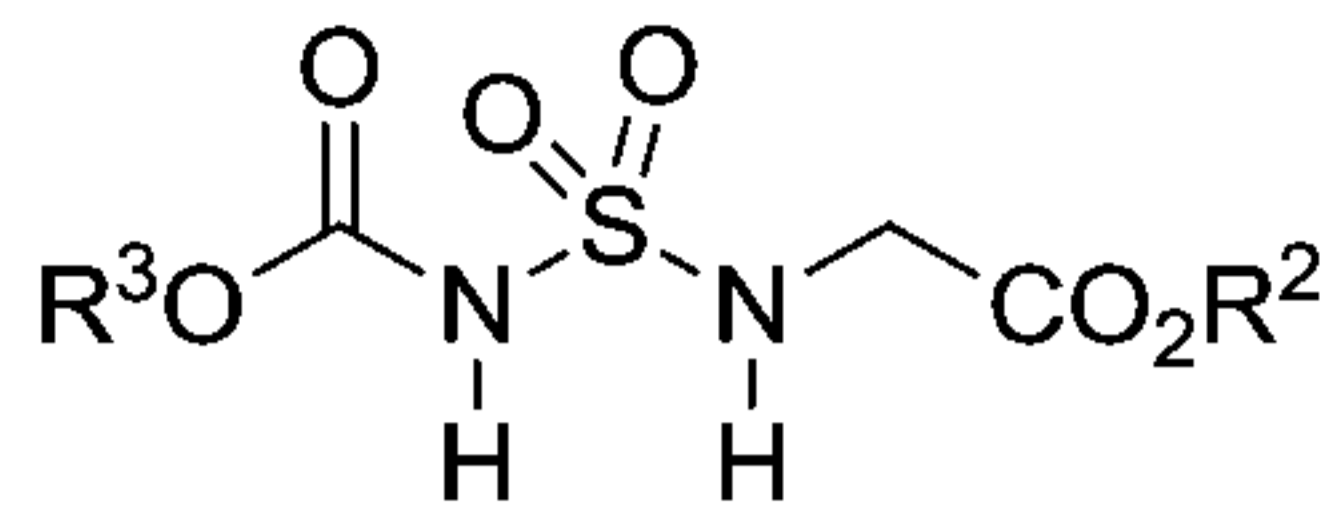
【0094】 在一些實施例中，該鹼為碳酸鉀。

【0095】 在一些實施例中，該保護在包含乙腈之溶劑組分中執行。

【0096】 在一些實施例中，F13化合物之製備可藉由用醇R³OH(其中R³定義如上)及甘胺酸酯H₂NCH₂CO₂R²(其中R²為C₁₋₄烷基)處理氯磺醯基異氰酸酯來獲得。在一些實施例中，此步驟J在有機酸(諸如乙酸、苯甲酸、三氟乙酸)存在下進行。用於此步驟之合適溶劑包括二氯甲烷、氯

仿、二氯乙烷、四氯乙烷及其類似物。

【0097】 在一些實施例中，本申請案提供式F13化合物：



F13

其中：

R^2 為 C_{1-4} 烷基；且

R^3 為 C_{1-6} 烷基或苯甲基。

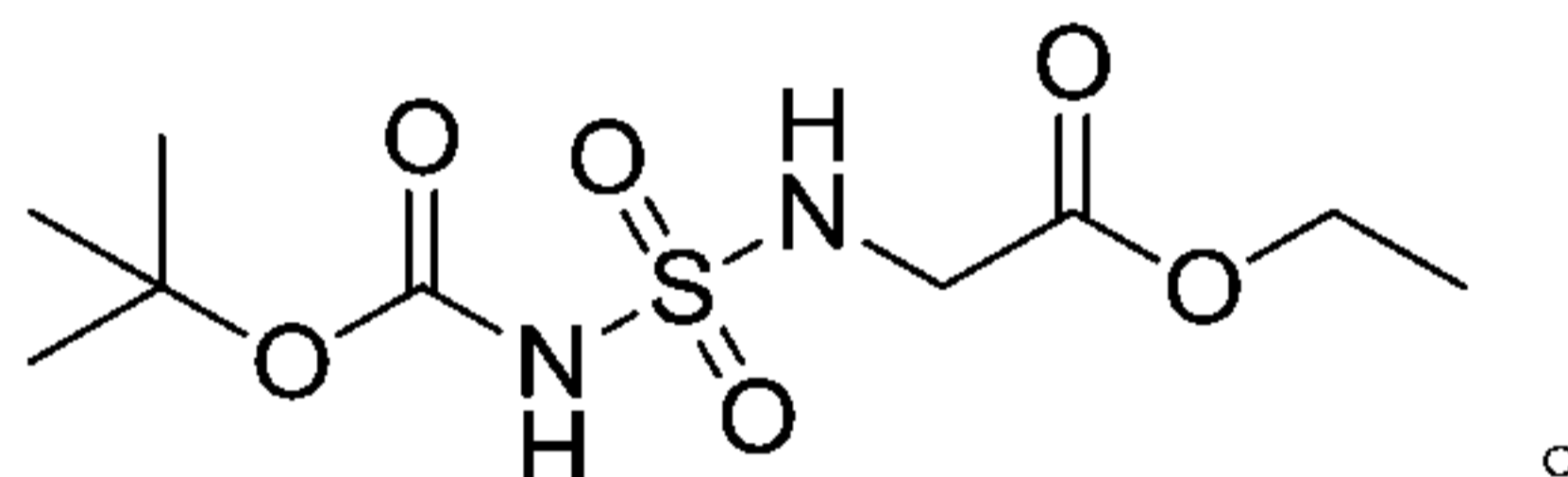
【0098】 在一些實施例中， R^2 為甲基。

【0099】 在一些實施例中， R^2 為乙基。

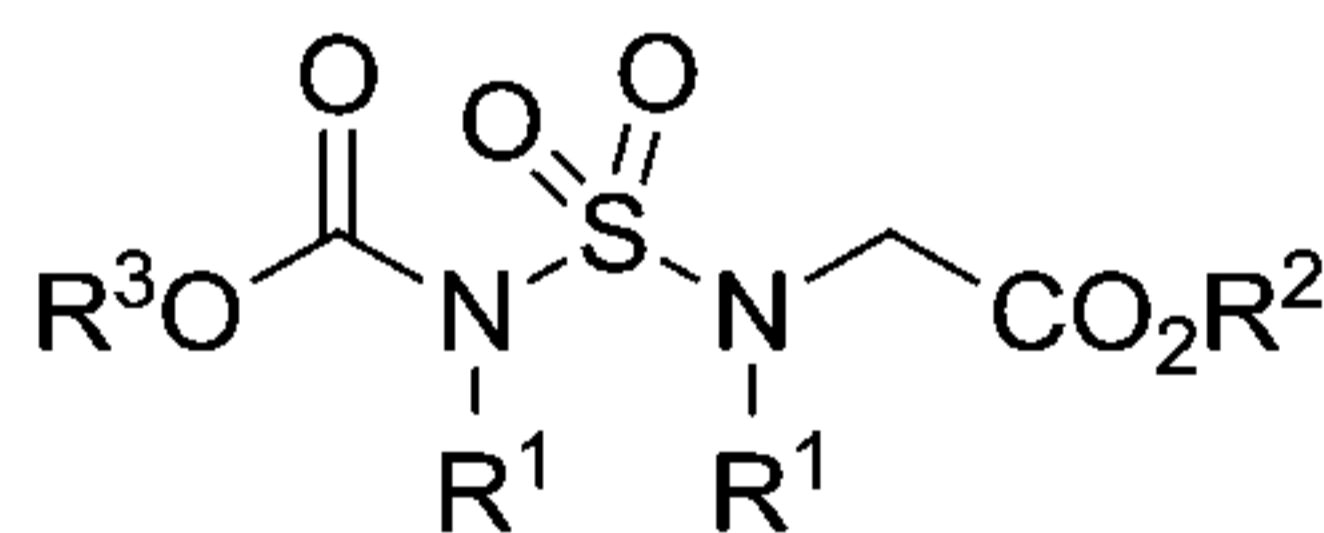
【0100】 在一些實施例中， R^3 為 C_{1-6} 烷基。

【0101】 在一些實施例中， R^3 為第三丁基。

【0102】 在一些實施例中，式F13化合物為2-((N-(第三丁氧羰基)胺磺醯基)胺基)乙酸乙酯：



【0103】 在一些實施例中，本發明進一步提供式F14化合物：



F14

其中：

各 R^1 獨立地為胺基保護基；

R^2 為 C_{1-4} 烷基；且

R^3 為 C_{1-6} 烷基或苯甲基。

【0104】 在一些實施例中， R^1 為 C_{2-4} 烯基- C_{1-3} 烷基或苯基- C_{1-3} 烷基，其中該苯基- C_{1-3} 烷基視情況經 1、2 或 3 個獨立地選擇之 C_{1-4} 烷氧基取代。

【0105】 在一些實施例中， R^1 為烯丙基。

【0106】 在一些實施例中， R^1 為 4-甲氧基苯甲基。

【0107】 在一些實施例中， R^2 為甲基。

【0108】 在一些實施例中， R^2 為乙基。

【0109】 在一些實施例中， R^3 為 C_{1-6} 烷基。

【0110】 在一些實施例中， R^3 為第三丁基。

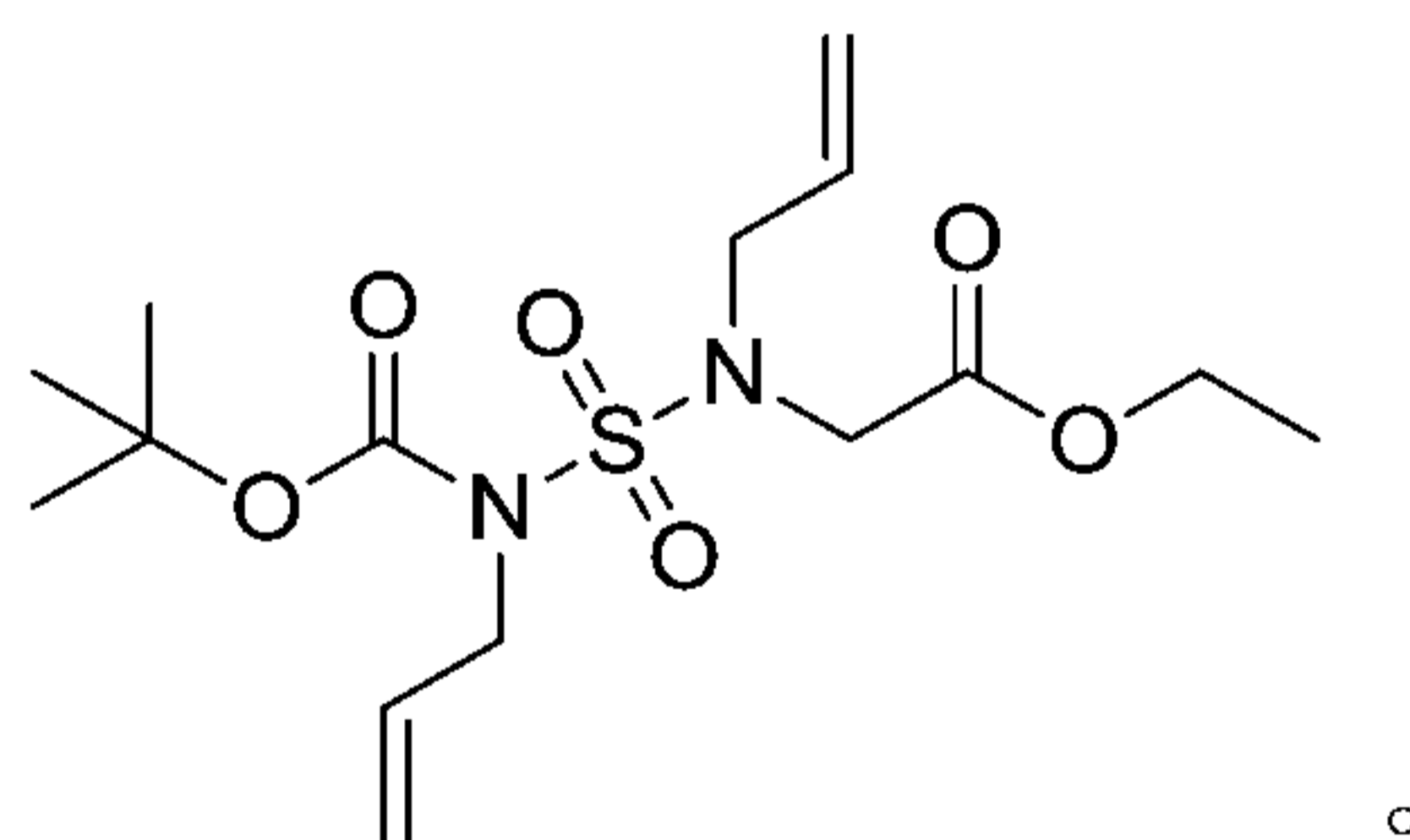
【0111】 在一些實施例中， R^3 為 C_{1-4} 烷基。

【0112】 在一些實施例中， R^3 為丁基。

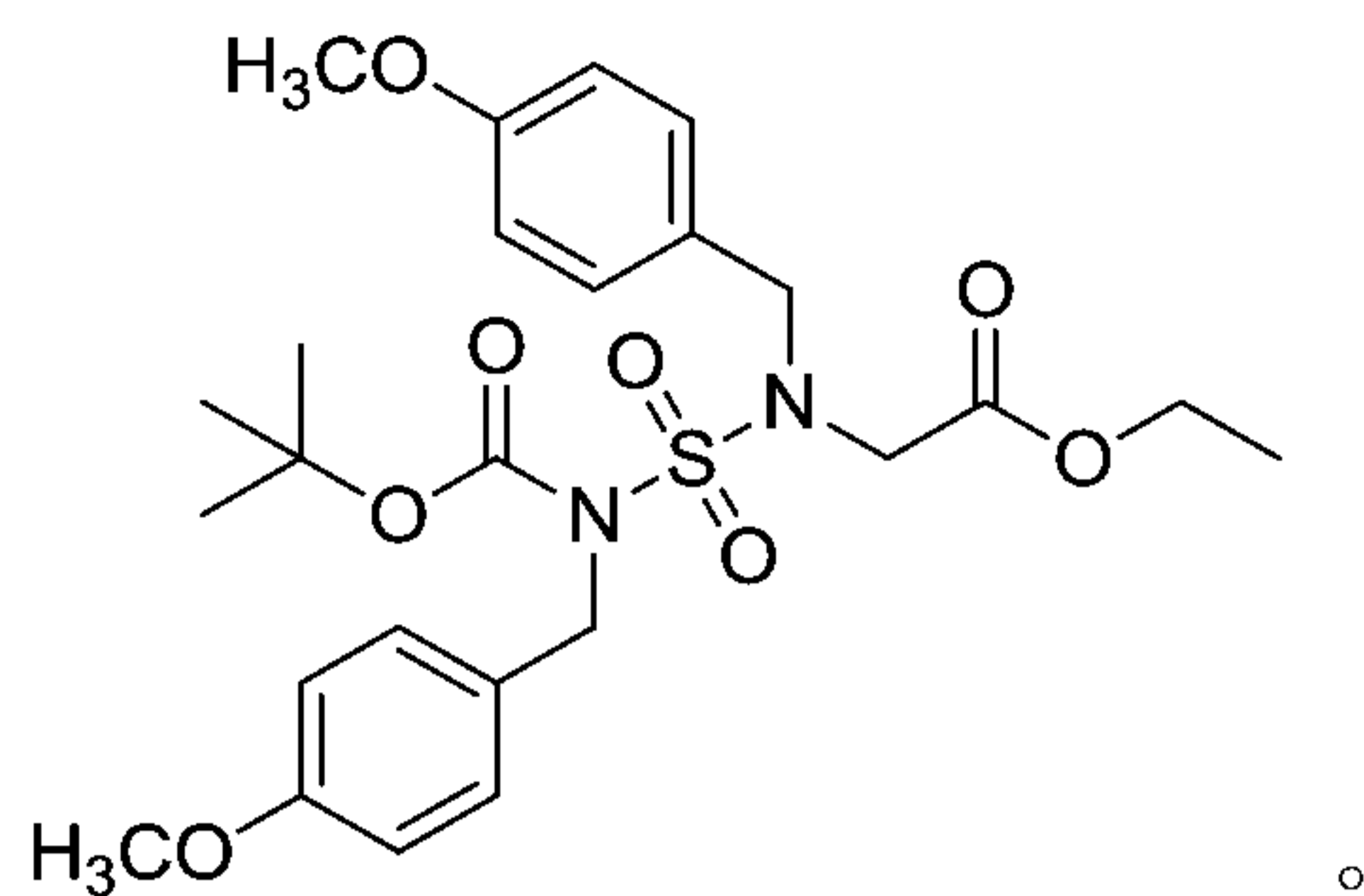
【0113】 在一些實施例中， R^3 為 C_{1-4} 烷基。

【0114】 在一些實施例中， R^3 為丁基。

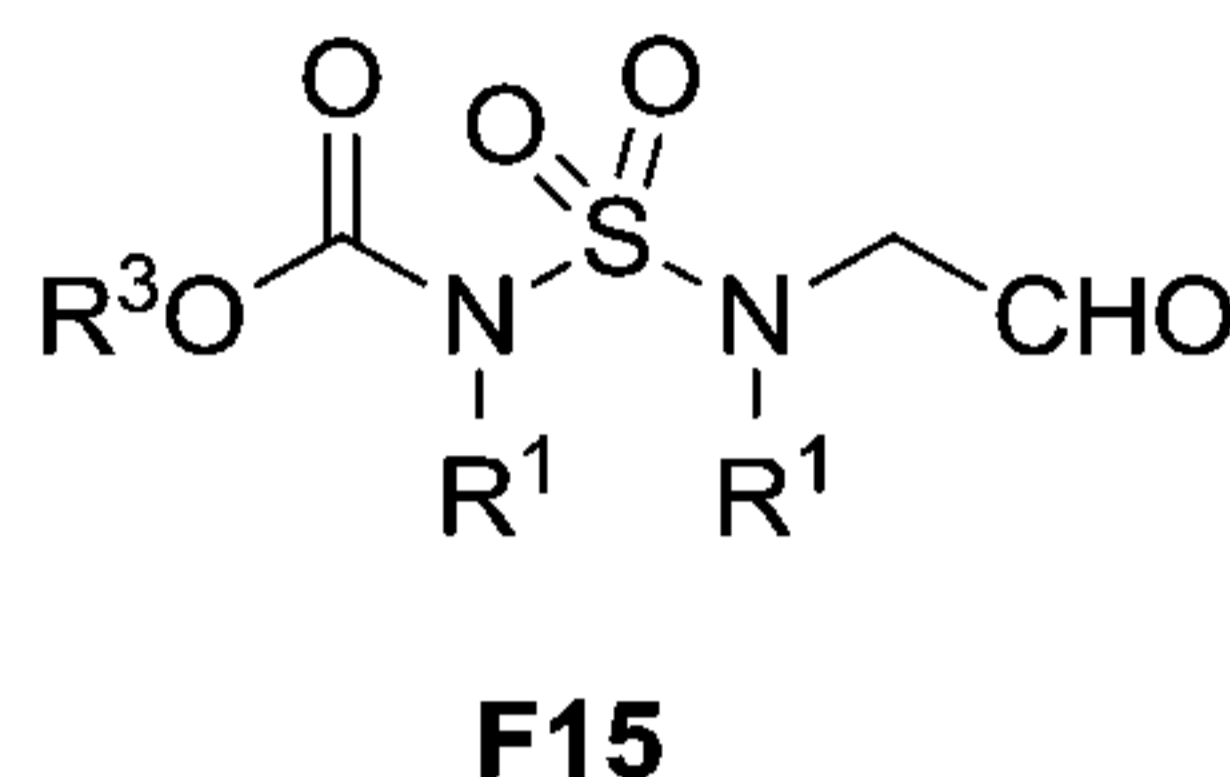
【0115】 在一些實施例中，式 F14 化合物為 2-(烯丙基(N-烯丙基-N-(第三丁氧羰基)胺磺醯基)胺基)乙酸乙酯：



【0116】 在一些實施例中，式 F14 化合物為 2-(4-甲氧基苯甲基(N-4-甲氧基苯甲基-N-(第三丁氧羰基)胺磺醯基)胺基)乙酸乙酯：



【0117】 在一些實施例中，本申請案提供式F15化合物：



其中：

R^3 為 C_{1-6} 烷基或苯甲基；且

各 R^1 獨立地為胺基保護基。

【0118】 在一些實施例中， R^1 為 C_{2-4} 烯基- C_{1-3} 烷基或苯基- C_{1-3} 烷基，其中該苯基- C_{1-3} 烷基視情況經 1、2 或 3 個獨立地選擇之 C_{1-4} 烷氧基取代。

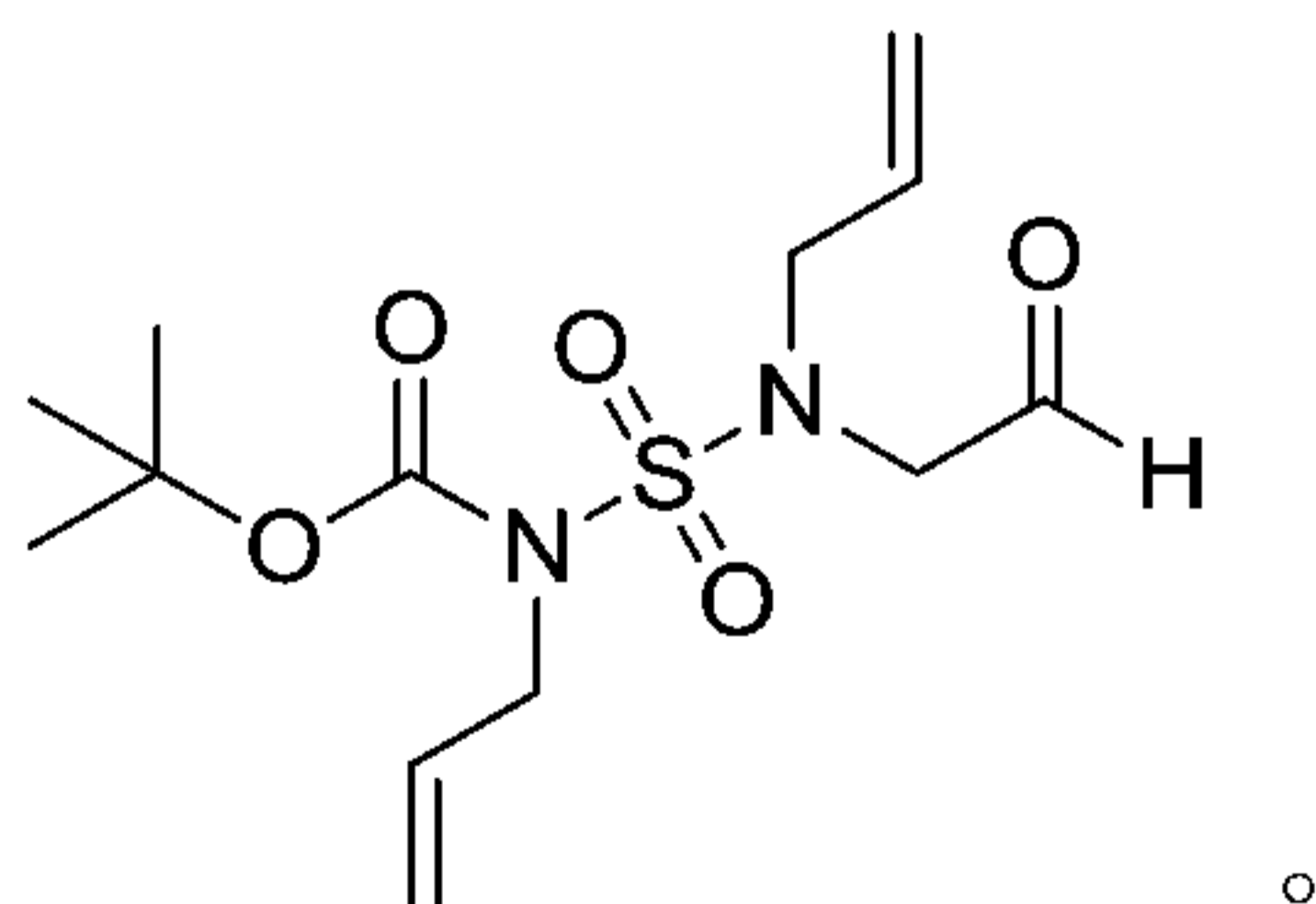
【0119】 在一些實施例中， R^1 為烯丙基。

【0120】 在一些實施例中， R^1 為 4-甲氧基苯甲基。

【0121】 在一些實施例中， R^3 為 C_{1-6} 烷基。

【0122】 在一些實施例中， R^3 為第三丁基。

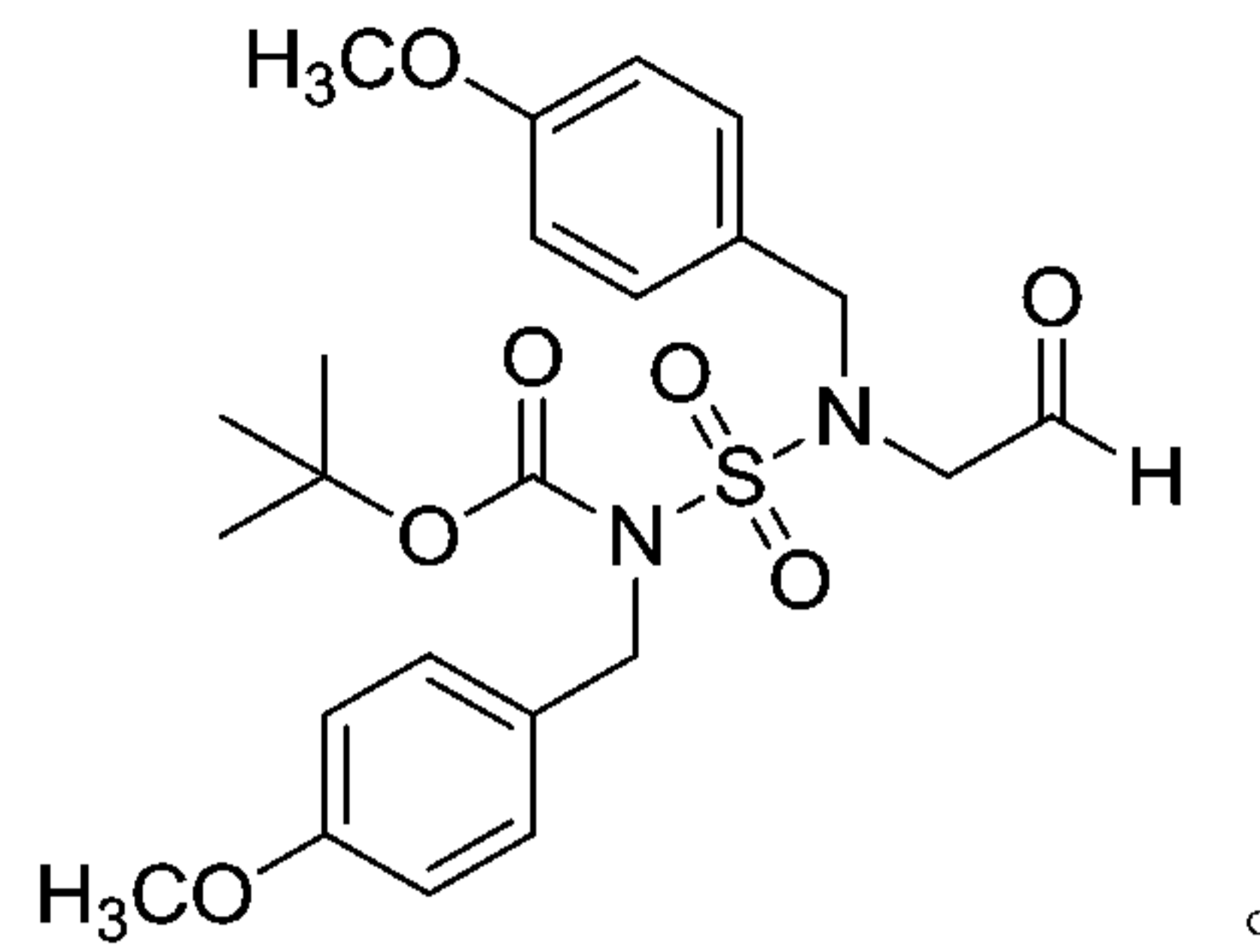
【0123】 在一些實施例中，式F15化合物為烯丙基{[烯丙基(2-側氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸第三丁酯：



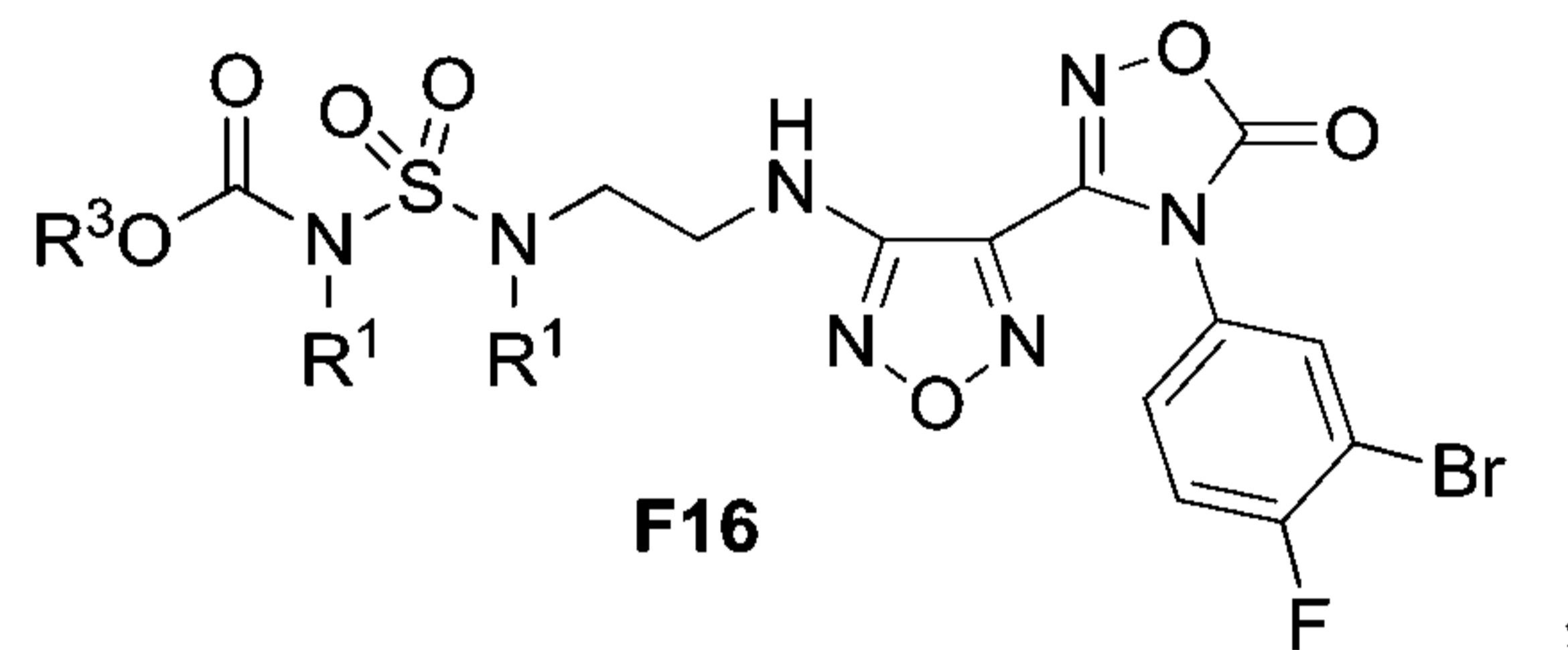
【0124】 在一些實施例中，式F15化合物為(4-甲氧基苯甲基){[(4-甲

第 23 頁(發明說明書)

氧基苯甲基)(2-側氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸第三丁酯：



【0125】 在一些實施例中，本發明提供式F16化合物：



【0126】 其中 R^3 為 C_{1-6} 烷基或苯甲基且各 R^1 獨立地為胺基保護基。

【0127】 在一些實施例中， R^1 為 C_{2-4} 烯基- C_{1-3} 烷基或苯基- C_{1-3} 烷基，其中該苯基- C_{1-3} 烷基視情況經1、2或3個獨立地選擇之 C_{1-4} 烷氧基取代。

【0128】 在一些實施例中， R^1 為烯丙基。

【0129】 在一些實施例中， R^1 為4-甲氧基苯甲基。

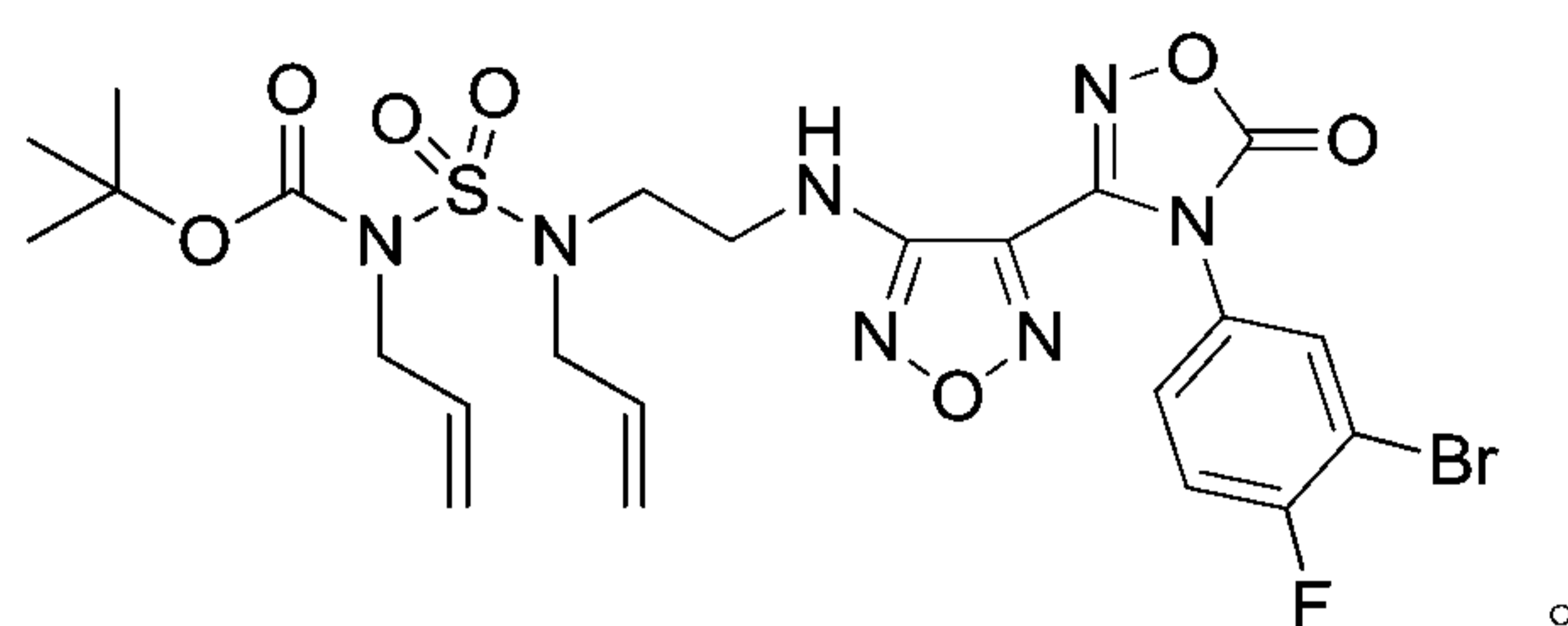
【0130】 在一些實施例中， R^3 為 C_{1-6} 烷基。

【0131】 在一些實施例中， R^3 為第三丁基。

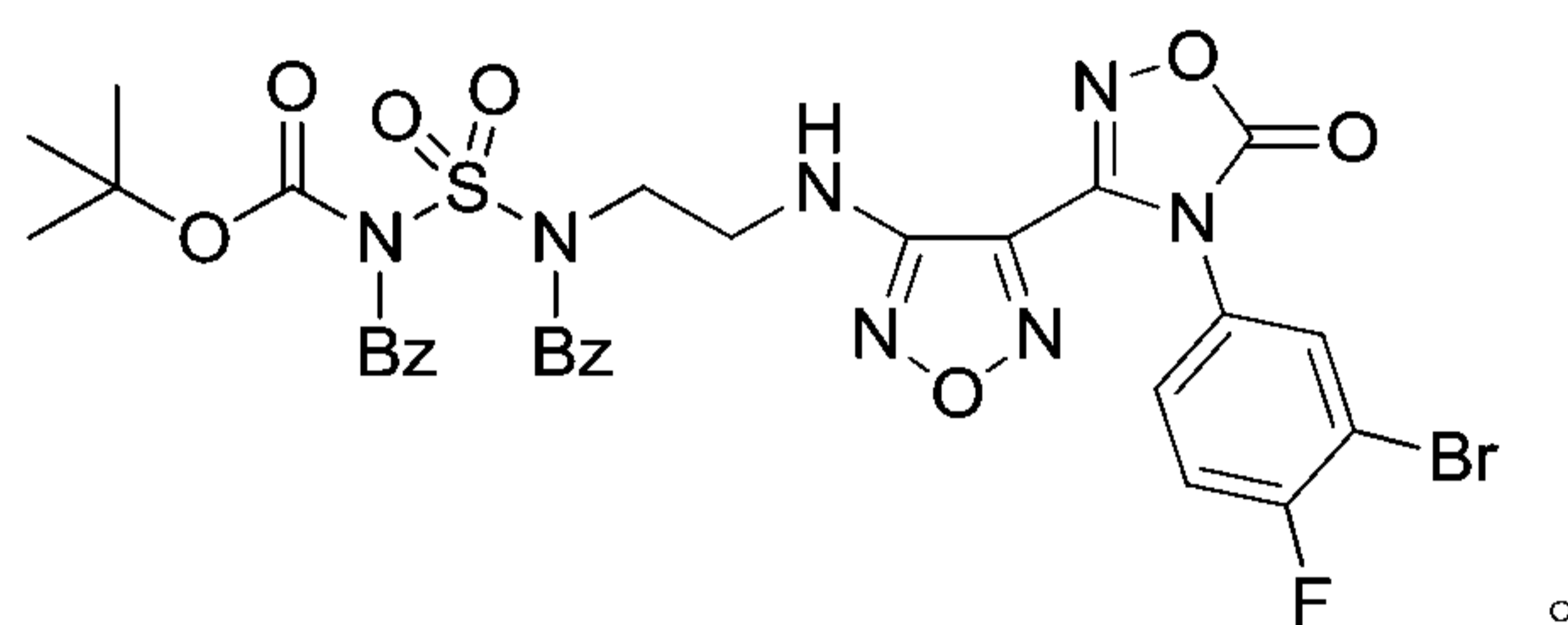
【0132】 在一些實施例中， R^3 為 C_{1-4} 烷基。

【0133】 在一些實施例中， R^3 為丁基。

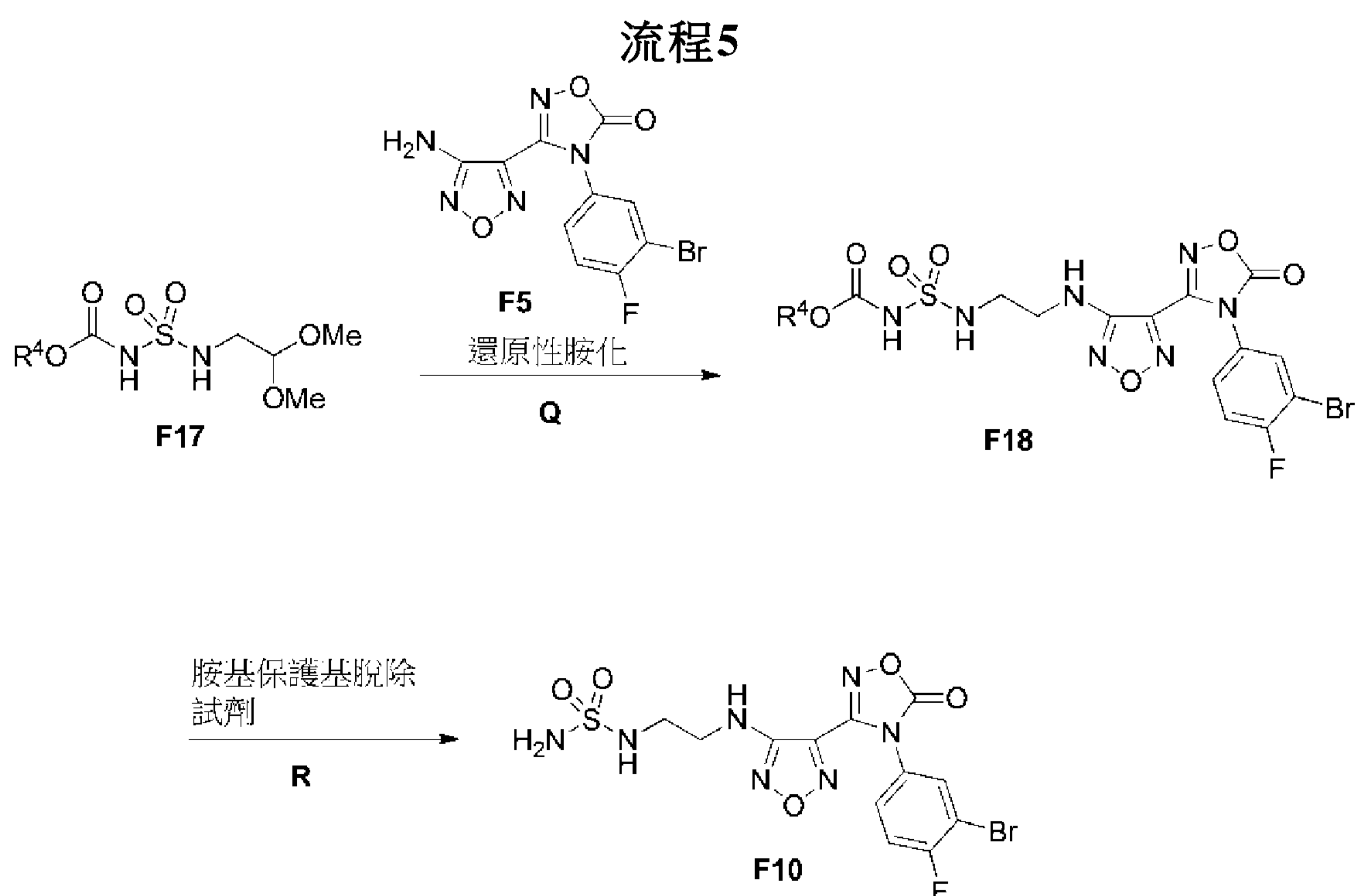
【0134】 在一些實施例中，式F16化合物為烯丙基(*N*-烯丙基-*N*-(2-(4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基))-1,2,5-噁二唑-3-基胺基)乙基)胺磺醯基)胺基甲酸第三丁酯：



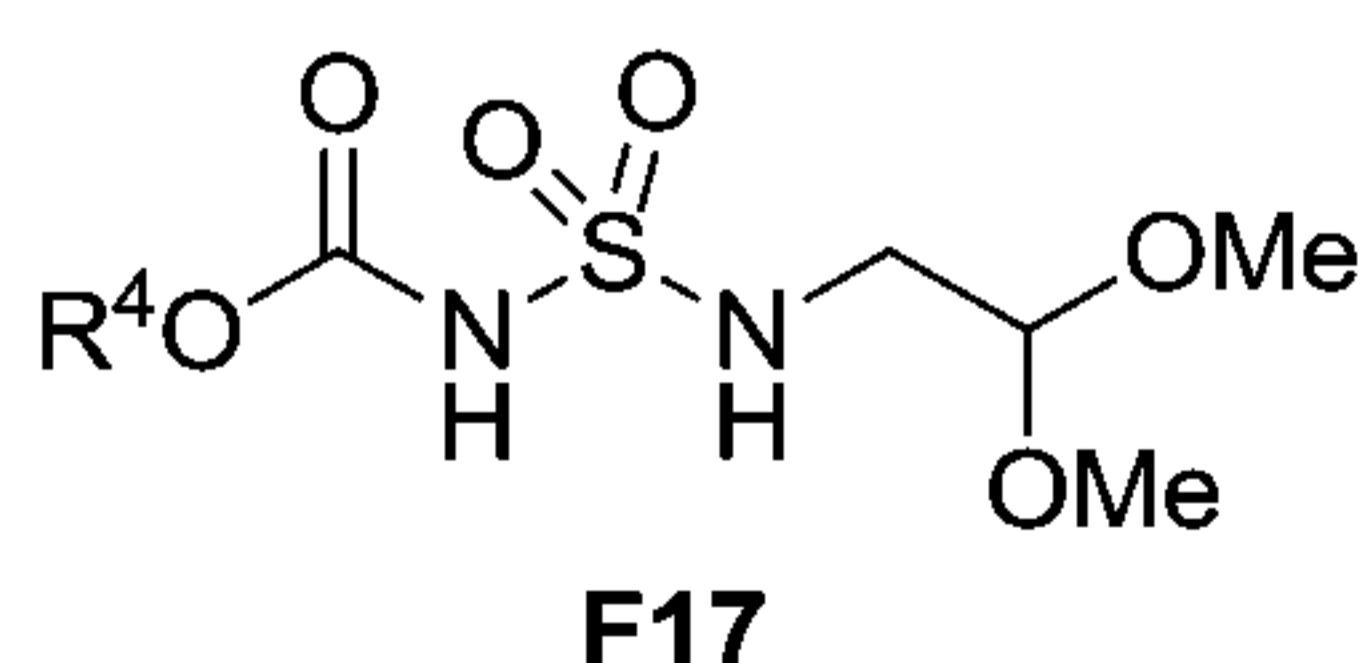
【0135】 在一些實施例中，式F16化合物為(4-甲氧基苯甲基)-(N-(4-甲氧基苯甲基)-N-(2-(4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基)-1,2,5-噁二唑-3-基胺基)乙基)胺磺醯基)胺基甲酸第三丁酯：



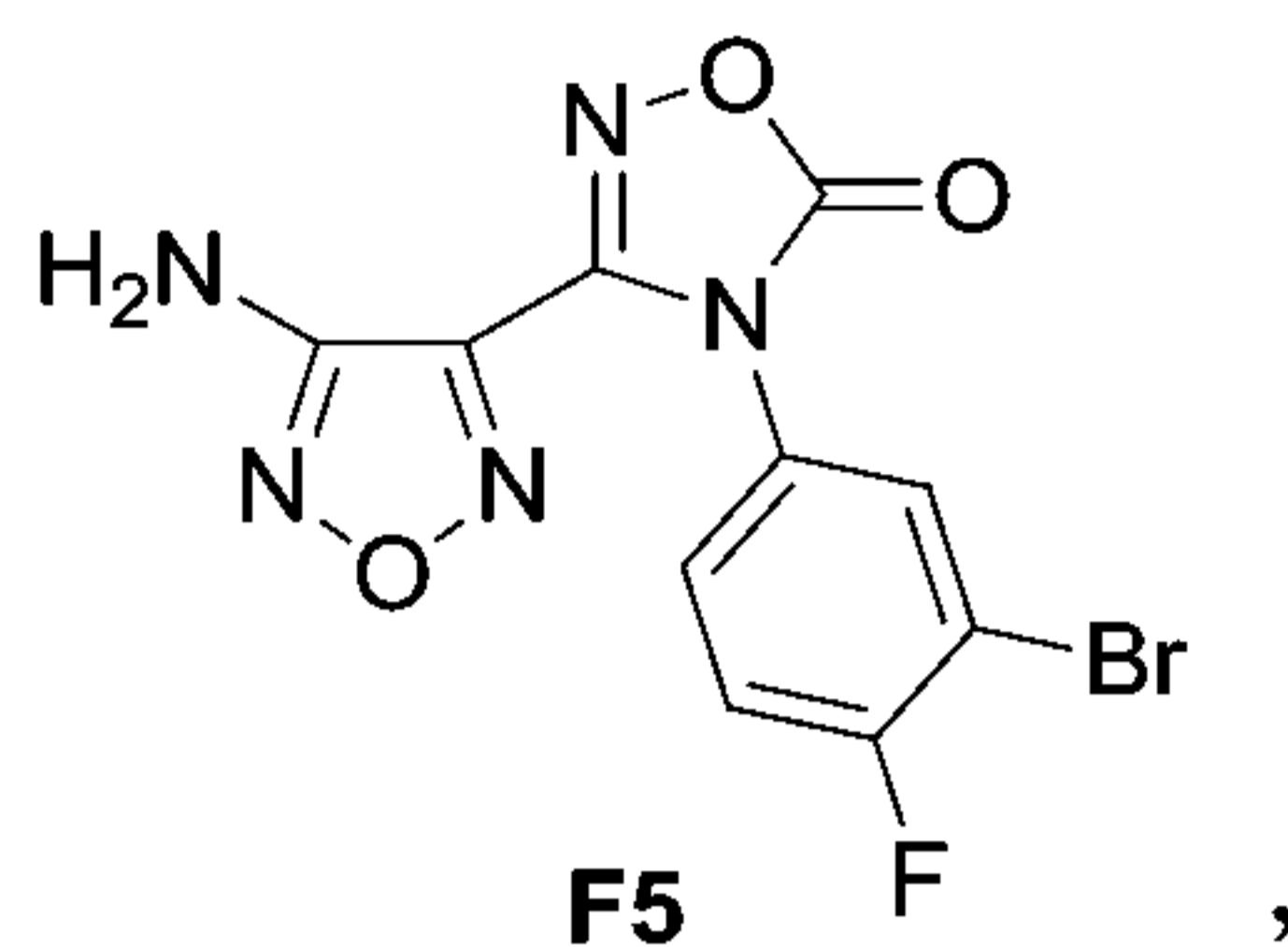
【0136】 流程5描繪用於製備式F10化合物之替代途徑。



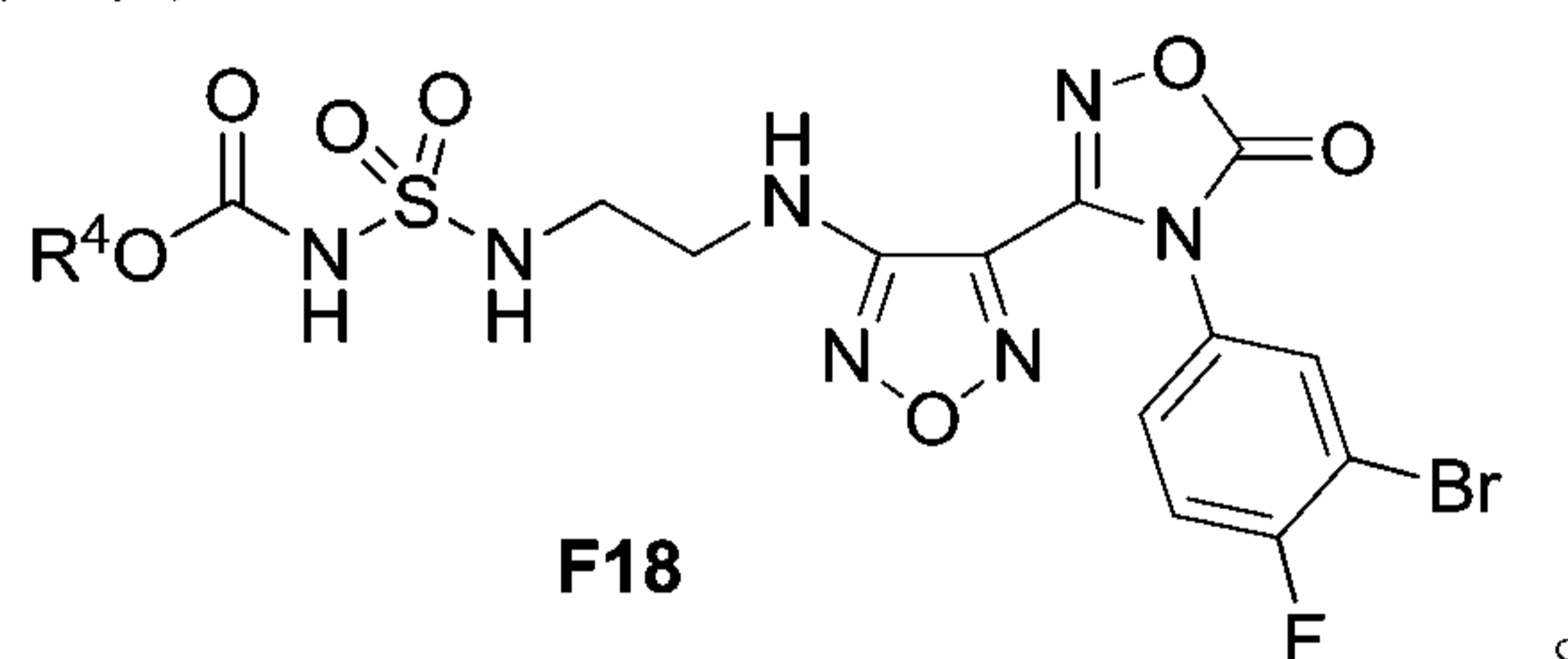
【0137】 本申請案亦提供一種方法，其包含使式F17化合物：



其中 R^4 為 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 鹵烷基、苯甲基或9H-芴-9-基甲基，與式F5化合物反應：



以提供式F18化合物：



【0138】 在一些實施例中， R^4 為第三丁基。

【0139】 在一些實施例中， R^4 為苯甲基。

【0140】 在一些實施例中， R^4 為乙基。

【0141】 在一些實施例中， R^4 為 C_{1-3} 鹵烷基。

【0142】 在一些實施例中， R^4 為2,2,2-三氯乙基。

【0143】 在一些實施例中， R^4 為9H-芴-9-基甲基。

【0144】 在此步驟Q中，化合物F18可在一些實施例中藉由使F17與式F5之胺化合物在還原劑存在下反應來製備。

【0145】 在一些實施例中，該反應在還原劑存在下進行。

【0146】 還原劑可為任何能夠例如藉由使用有機矽烷，諸如三(C_{1-3} 烷基)矽烷(例如三乙基矽烷)；元素氫或使用氫化物試劑(諸如 $NaB(OAc)_3H$ 、 $NaBH_4$ 、 $LiAlH_4$ 及其類似物)；使用三苯膦；或使用碘化鈉、氯三甲基矽烷及甲醇之組合將有機化合物還原為較低氧化態的化合物。在一些實施例中，此步驟可在酸(諸如三氟乙酸)存在下執行。合適之

溶劑包括(但不限於)鹵化烴溶劑(例如，二氯甲烷、氯仿、二氯乙烷或四氯乙烷)。在一些實施例中，鹵化烴溶劑為1,2-二氯乙烷。

【0147】 在一些實施例中，該還原劑為有機矽烷。

【0148】 在一些實施例中，該還原劑為三(C₁₋₃烷基)矽烷。

【0149】 在一些實施例中，該還原劑為三乙基矽烷。

【0150】 在一些實施例中，該反應在有機酸存在下進行。

【0151】 在一些實施例中，該有機酸為三氟乙酸。

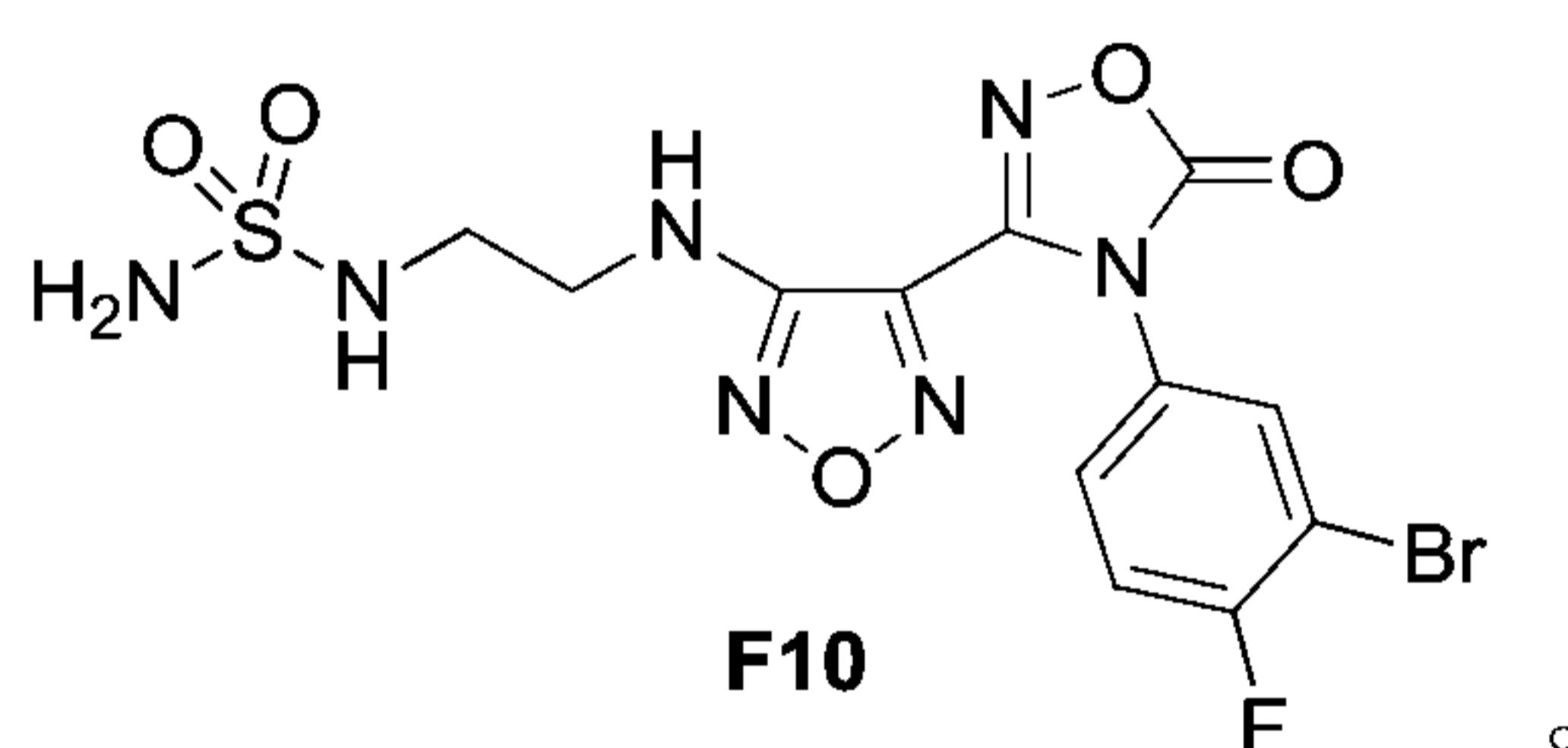
【0152】 在一些實施例中，該有機酸為甲烷磺酸。

【0153】 在一些實施例中，該反應在包含鹵化烴溶劑之溶劑組分中執行。

【0154】 在一些實施例中，該鹵化烴溶劑為二氯甲烷。

【0155】 在一些實施例中，該鹵化烴溶劑為1,2-二氯乙烷。

【0156】 在一些實施例中，該方法進一步包含使該式F18化合物脫保護以提供式F10化合物：



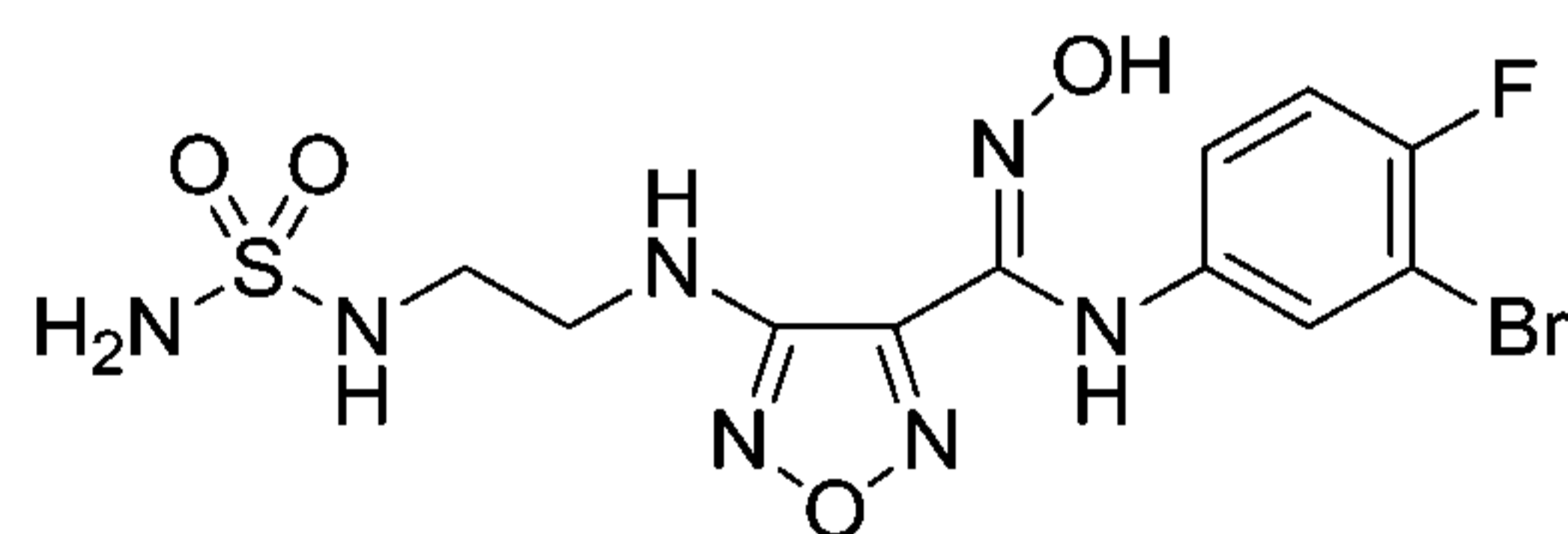
【0157】 在一些實施例中，用於使特定胺保護基(諸如胺基甲酸酯基)脫保護之方法為熟習此項技術者已知，諸如Wuts及Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 第4版, 第696-926頁, John Wiley & Sons: New York, 2006中之方法。例如，第三丁氧羰基(例如，當R⁴為第三丁基時)可例如藉由用酸(諸如鹽酸、三氟乙酸、甲苯磺酸及其類似物)、已知產生酸之試劑的組合(例如，乙醯氯及甲醇之混合物)或路易斯

酸(例如 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$)處理而自氮原子移除(例如，水解)。苯甲氧羰基(例如，當 R^4 為苯甲基時)可例如藉由用氫及催化劑(諸如鈀/碳)處理而自氮原子移除(例如，氫解)。甲氧羰基及乙氧羰基(亦即，當 R^4 為甲基或乙基時)可藉由用無機鹼(諸如 KOH 或 K_2CO_3)；試劑之組合(例如，乙醯氯、碘化鈉及乙腈之混合物)處理；或藉由用酸(例如 HBr 、 AcOH)處理而移除。2,2,2-三氯乙氧羰基可例如藉由用催化劑(例如 Zn/AcOH 或 Cd/AcOH)處理而移除。用於此步驟之合適溶劑包括(但不限於)甲醇或四氫呋喃(THF)、乙腈及其類似物。在一些實施例中，該處理在約 30°C 至約 90°C ，例如約 50°C 至約 100°C 或約 60°C 至約 80°C 之溫度下執行。

【0158】 在一些實施例中，該脫保護包含使式F18化合物與鋅在乙酸存在下反應。

【0159】 在一些實施例中，該脫保護在包含四氫呋喃之溶劑組分中執行。

【0160】 在一些實施例中，該方法進一步包含使該式F10化合物與鹼反應以提供式I化合物：



I。

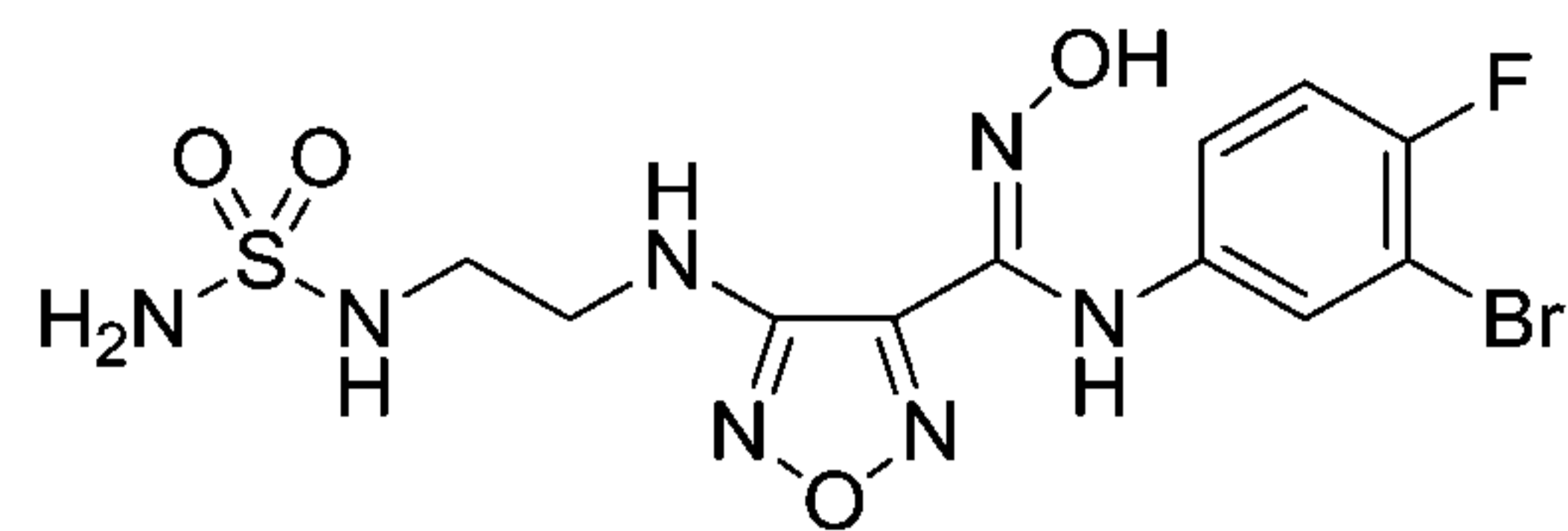
【0161】 在一些實施例中，該鹼包含鹼金屬氫氧化物。

【0162】 在一些實施例中，該鹼金屬氫氧化物為氫氧化鈉。

【0163】 在一些實施例中，該反應在包含四氫呋喃、水及乙醇之溶劑組分中執行。

【0164】 在一些實施例中，該方法進一步包含使該式F18化合物轉化

為式I化合物：



I，

其中該轉化包含：

i) 使式F18化合物在鹼存在下反應以形成第一混合物；及

ii) 使該第一混合物在酸存在下反應。

【0165】 在一些實施例中，該鹼為胺鹼。

【0166】 在一些實施例中，該胺鹼為*N,N*-雙(2-胺基乙基)乙烷-1,2-二胺。

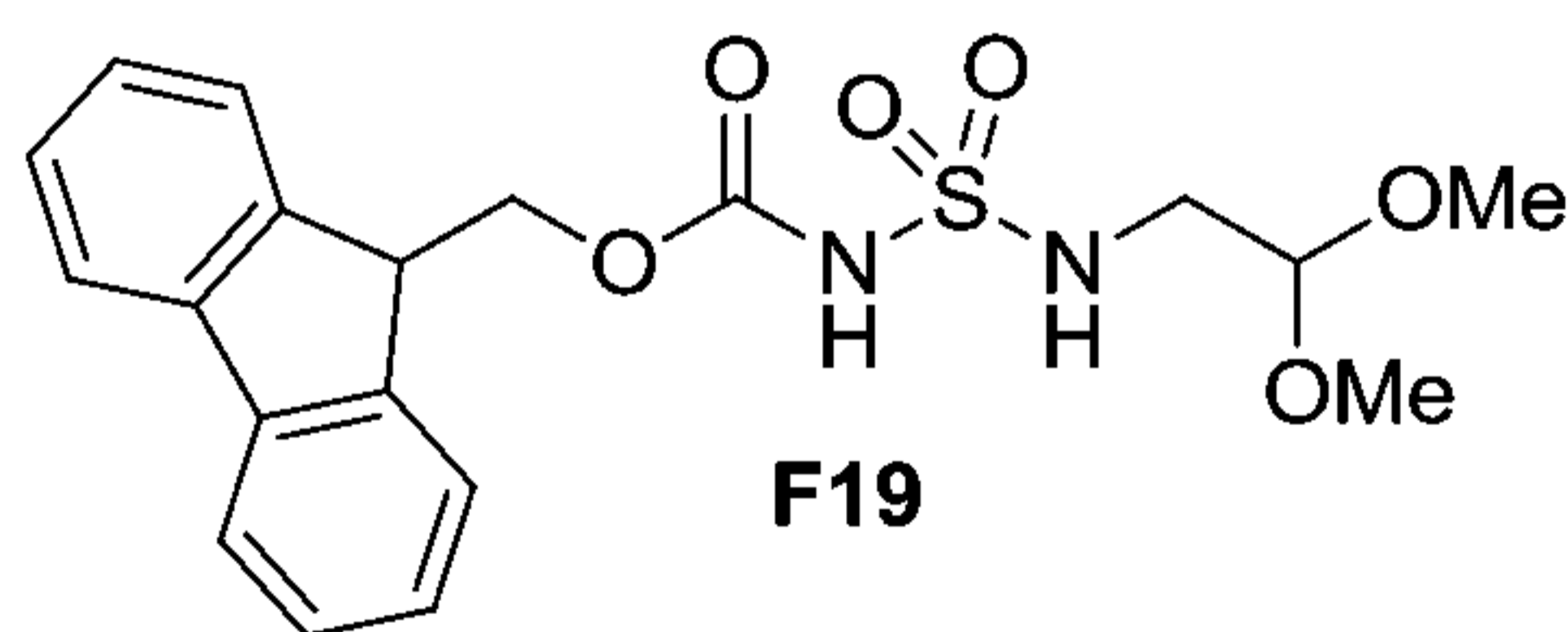
【0167】 在一些實施例中，該酸為強酸水溶液。

【0168】 在一些實施例中，該強酸水溶液為鹽酸水溶液。

【0169】 在一些實施例中，該轉化在包含四氫呋喃及乙酸乙酯之溶劑組分中執行。

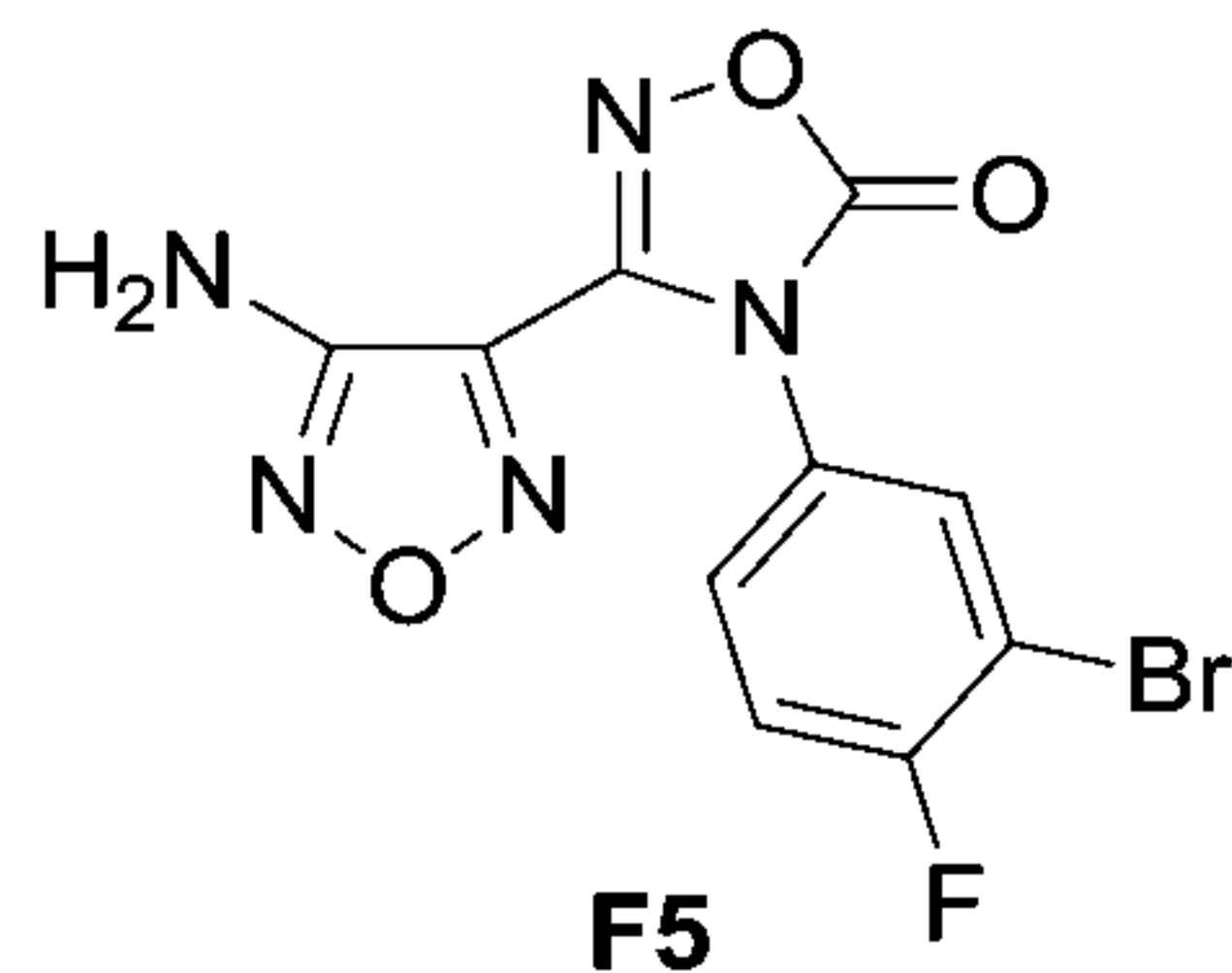
【0170】 本申請案亦提供如下方法，其包含：

i) 使式F19化合物：



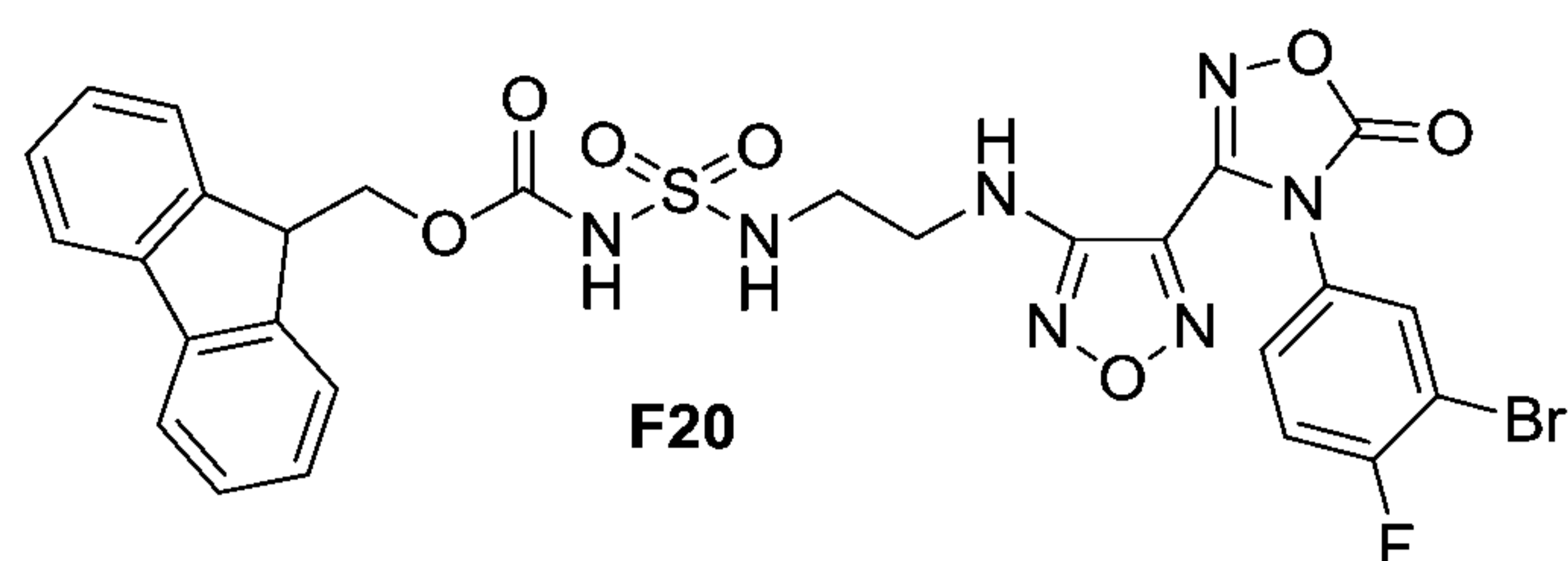
F19

與式F5化合物在三乙基矽烷及甲烷磺酸存在下反應：



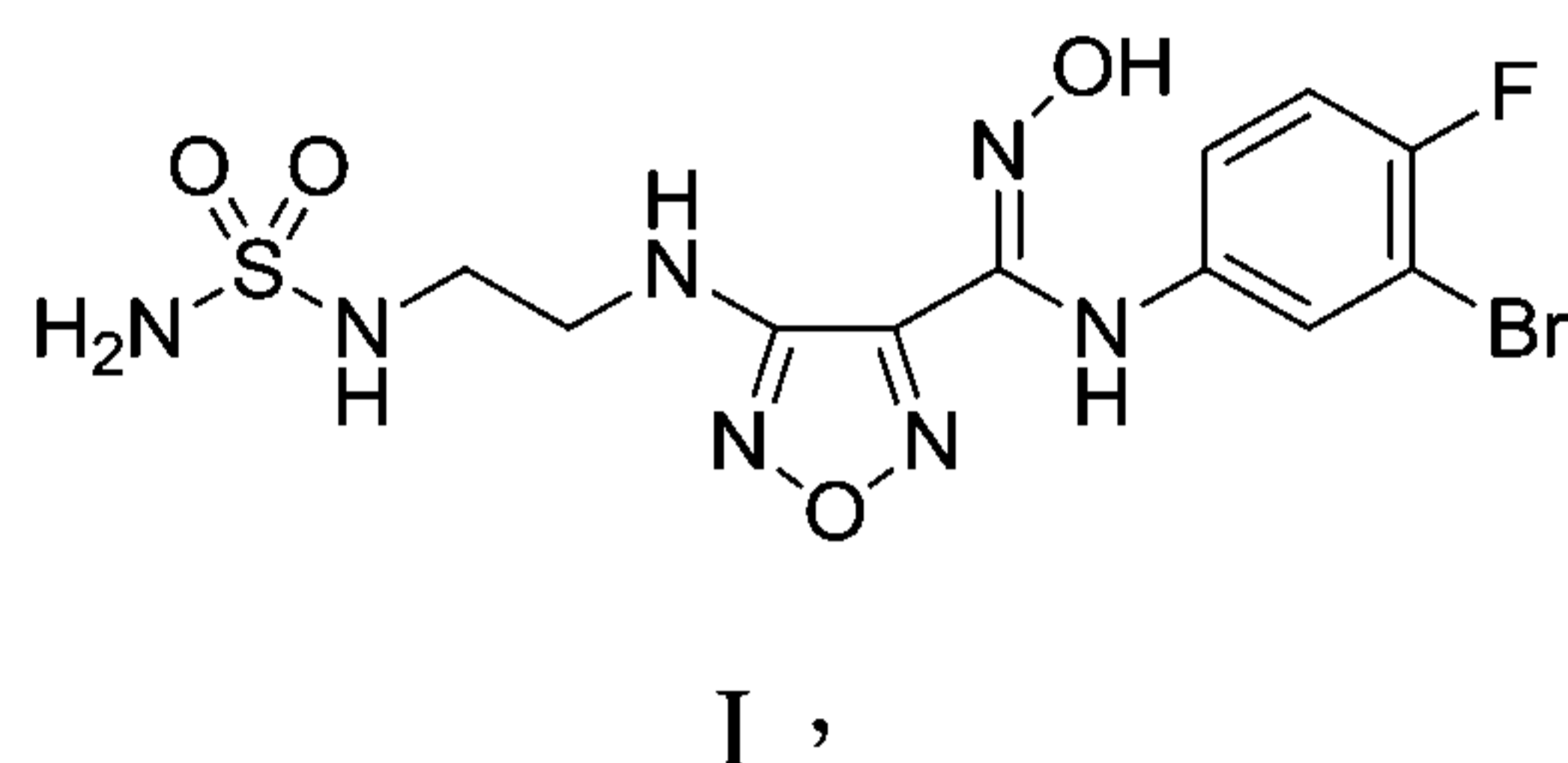
F5

以提供式F20化合物：



及

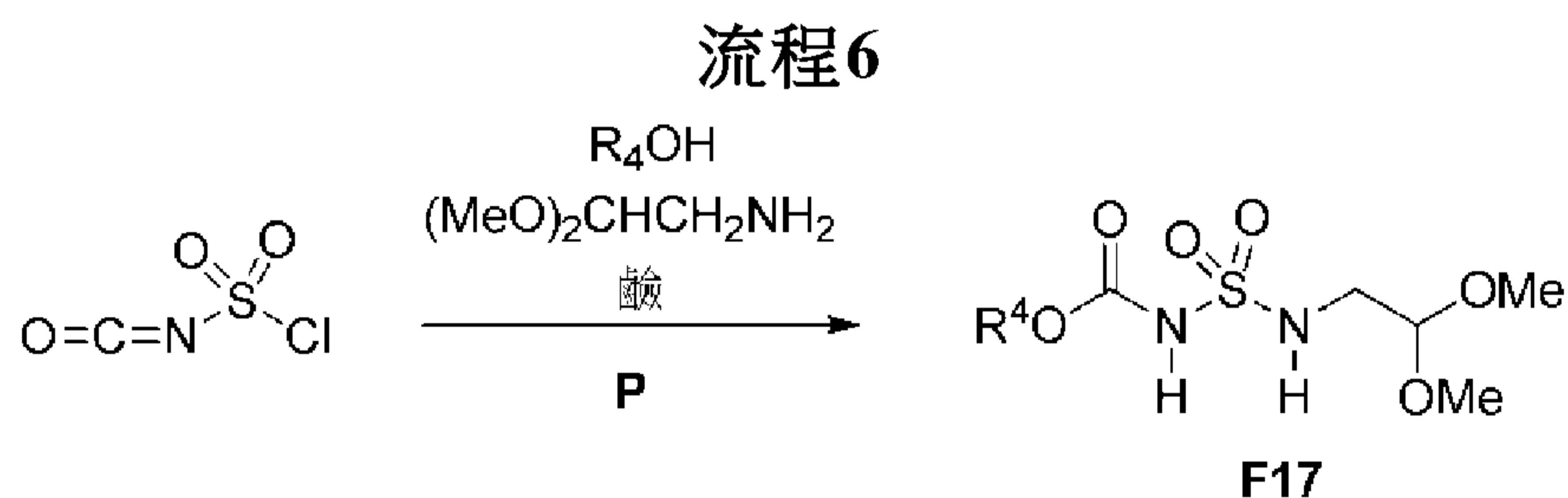
ii) 使該式F20化合物轉化為式I化合物：



其中該轉化包含使該式F20化合物在*N,N*-雙(2-胺基乙基)乙烷-1,2-二胺存在下反應以形成第一混合物；及

使該第一混合物在鹽酸水溶液存在下反應。

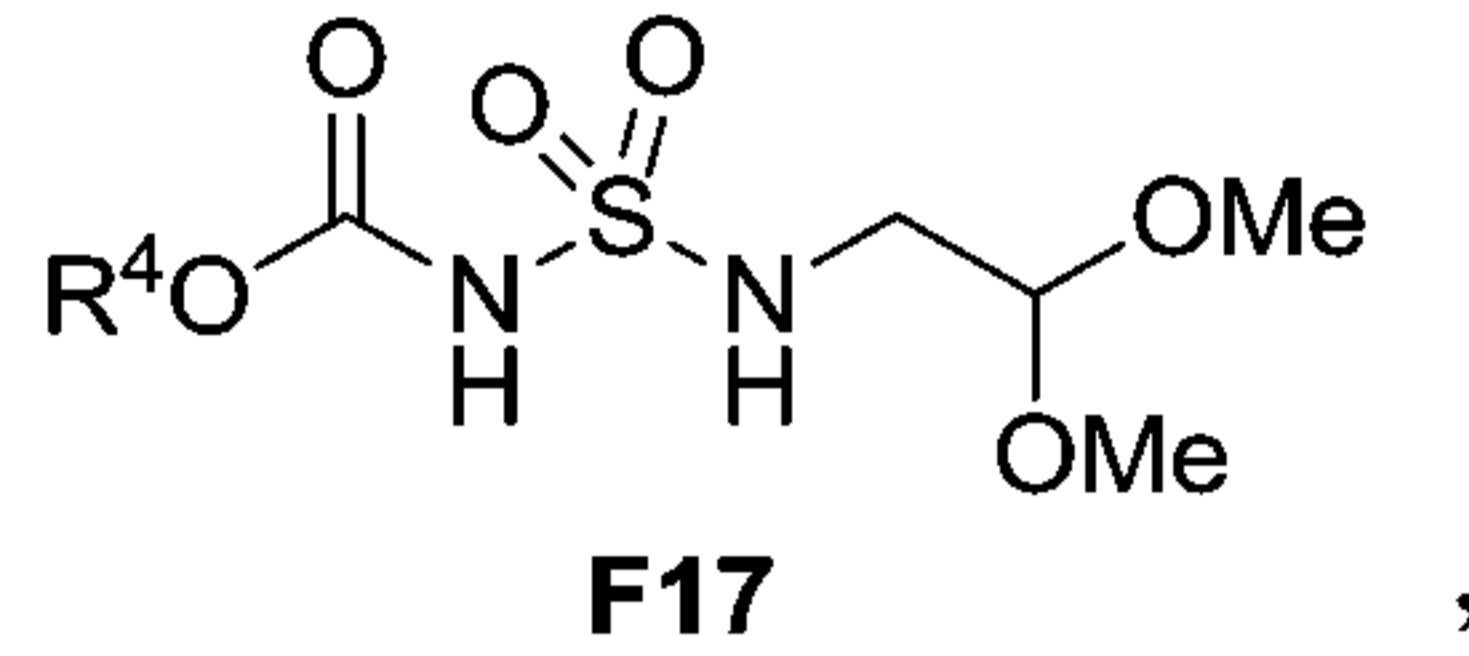
【0171】 化合物F17可藉由一步驟方法(步驟P)由氯磺醯基異氰酸酯製備，如流程6中所示。



【0172】 在一些實施例中，式F17化合物之製備可藉由用2,2-二甲氧基乙胺及醇R⁴OH(R⁴定義如上)視情況在溶劑(例如，鹵化烴溶劑，諸如二氯甲烷、氯仿、二氯乙烷、四氯乙烷)中處理氯磺醯基異氰酸酯而獲得。在一些實施例中，此步驟在鹼存在下進行。鹼可為有機鹼，諸如無環胺(例如，三乙胺、二異丙基乙胺(DIPEA)等)或環狀胺(例如，吡咯啉、哌啉等)；或無機鹼，諸如強鹼(例如NaOH、LiOH、KOH、Mg(OH)₂等)。在

一些實施例中，該反應在溶劑，例如鹵化烴溶劑，諸如二氯甲烷、氯仿、二氯乙烷或四氯乙烷中進行。

【0173】 在一些實施例中，本申請案進一步提供式F17化合物：



其中R⁴為C₁₋₆烷基、C₁₋₆鹵烷基或苯甲基。

【0174】 在一些實施例中，R⁴為第三丁基。

【0175】 在一些實施例中，R⁴為苯甲基。

【0176】 在一些實施例中，R⁴為乙基。

【0177】 在一些實施例中，R⁴為C₁₋₃鹵烷基。

【0178】 在一些實施例中，R⁴為2,2,2-三氯乙基。

【0179】 在一些實施例中，R⁴為9H-蒾-9-基甲基。

【0180】 在一些實施例中，式F17化合物為N-(2,2-二甲氧基乙基)胺磺醯基胺基甲酸第三丁酯。

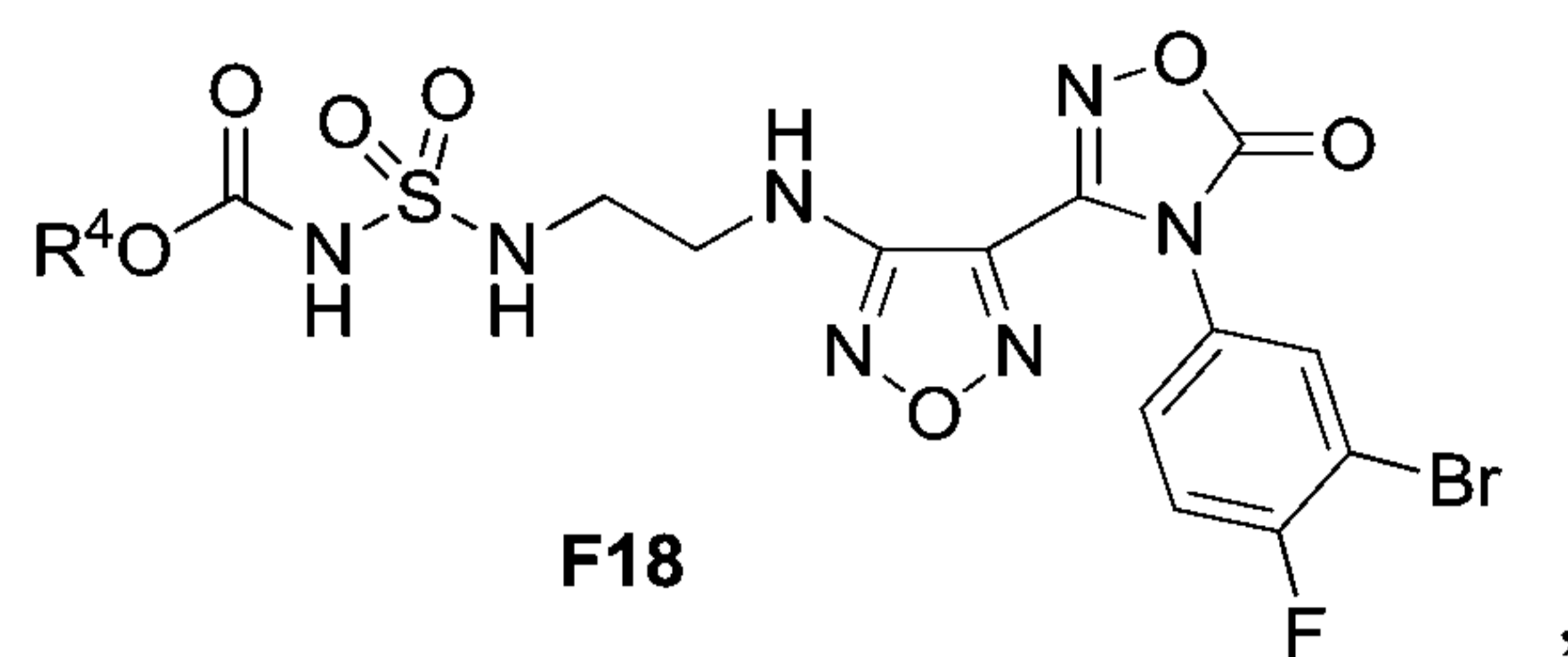
【0181】 在一些實施例中，式F17化合物為N-(2,2-二甲氧基乙基)胺磺醯基胺基甲酸苯甲酯。

【0182】 在一些實施例中，式F17化合物為N-(2,2-二甲氧基乙基)胺磺醯基胺基甲酸乙酯。

【0183】 在一些實施例中，式F17化合物為N-(2,2-二甲氧基乙基)胺磺醯基胺基甲酸2,2,2-三氯乙酯。

【0184】 在一些實施例中，式F17化合物為N-(2,2-二甲氧基乙基)胺磺醯基胺基甲酸(9H-蒾-9-基)甲酯。

【0185】 在一些實施例中，本申請案進一步提供式F18化合物：



其中R⁴為C₁₋₆烷基、C₁₋₆鹵烷基或苯甲基。

【0186】 在一些實施例中，R⁴為第三丁基。

【0187】 在一些實施例中，R⁴為苯甲基。

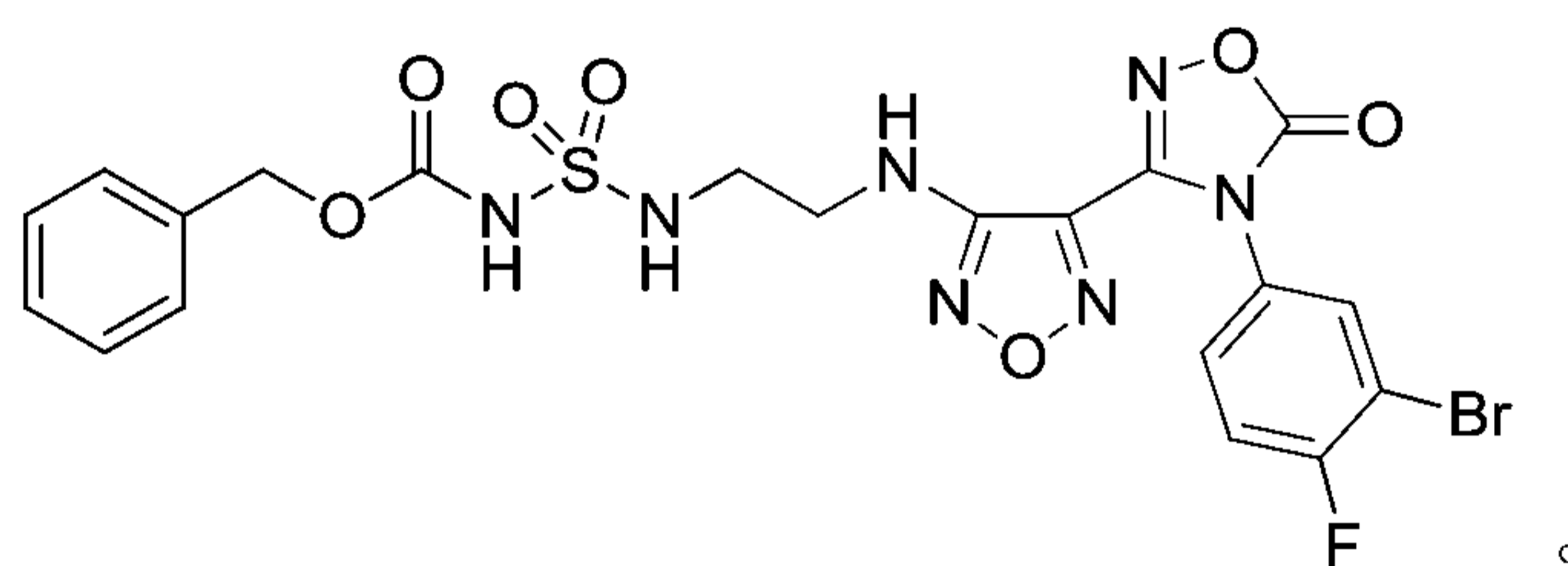
【0188】 在一些實施例中，R⁴為乙基。

【0189】 在一些實施例中，R⁴為C₁₋₃鹵烷基。

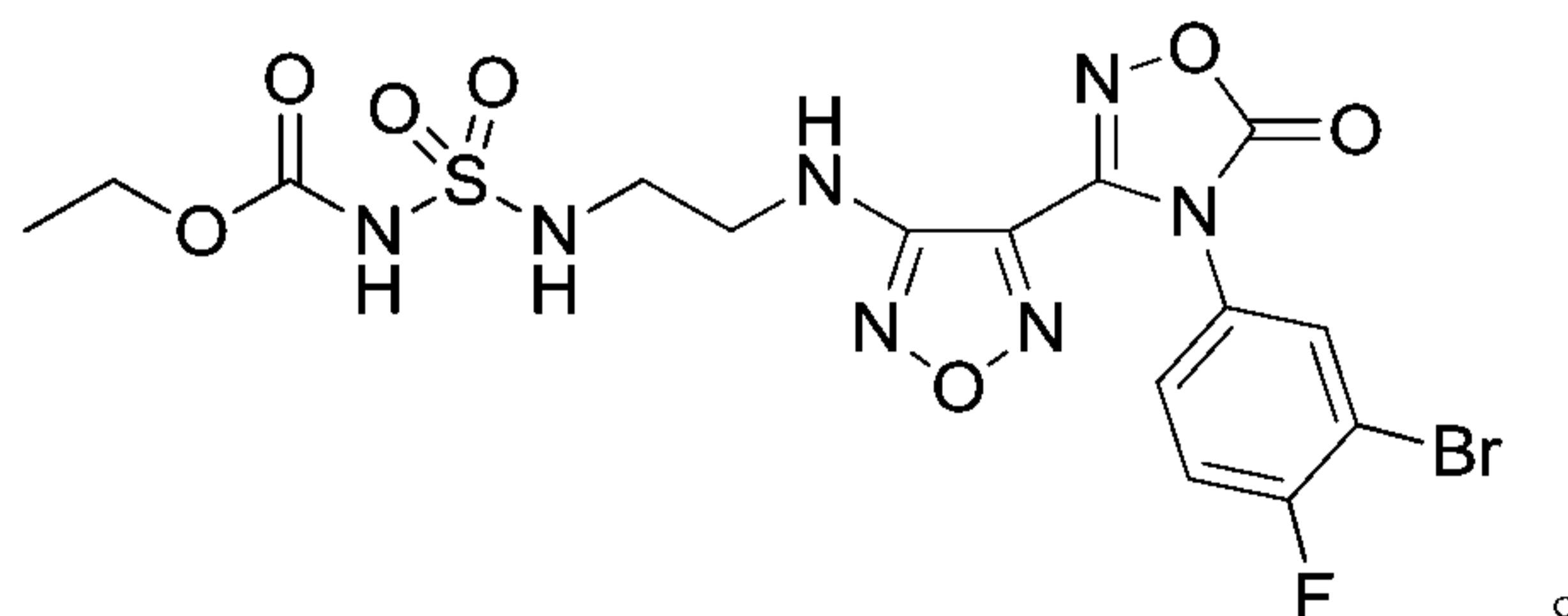
【0190】 在一些實施例中，R⁴為2,2,2-三氯乙基。

【0191】 在一些實施例中，R⁴為9*H*-第-9-基甲基。

【0192】 在一些實施例中，式F18化合物為([2-([4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基)胺基)乙基]胺基)磺醯基)胺基甲酸苯甲酯：

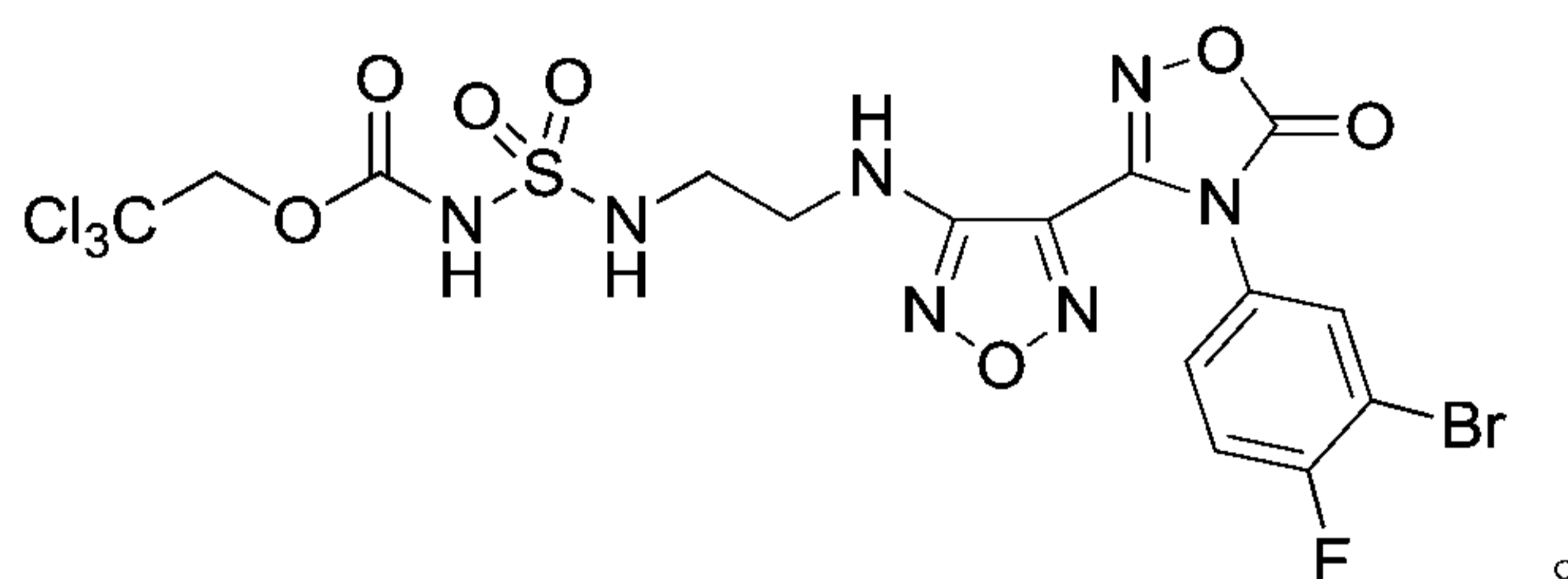


【0193】 在一些實施例中，式F18化合物為([2-([4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基)胺基)乙基]胺基)磺醯基)胺基甲酸乙酯：

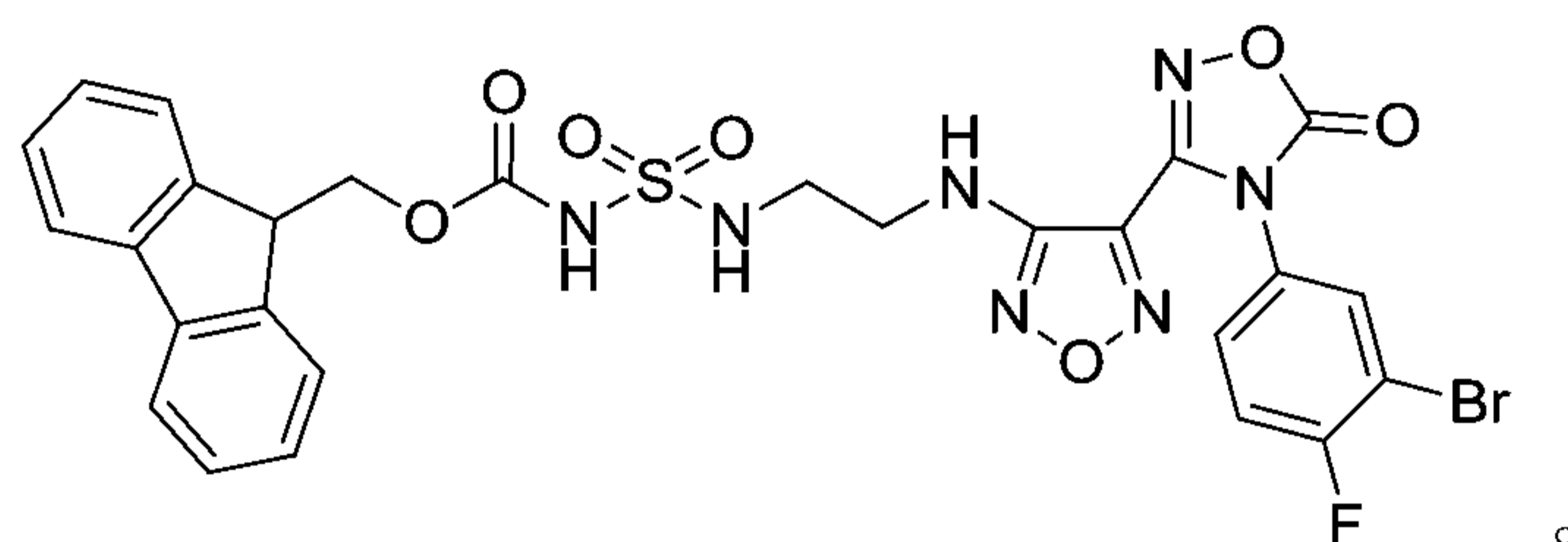


【0194】 在一些實施例中，式F18化合物為([2-([4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基)胺基)乙基]胺基)磺醯基)胺基甲酸乙酯：

基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基}磺醯基)胺基甲酸2,2,2-三氯乙酯：



【0195】 在一些實施例中，式F18化合物為N-(2-((4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基)-1,2,5-噁二唑-3-基)胺基)乙基)胺磺醯基胺基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯：



【0196】 如本文所用，術語「烷基」在單獨或與額外部分術語一起使用時係指具有1至6個碳原子、1至4個碳原子或1至3個碳原子之直鏈或分支鏈、飽和烴基。例示性烷基包括甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基及其類似基團。

【0197】 如本文所用，「烯基」係指具有一或多個碳-碳雙鍵之烷基。在一些實施例中，該烷基具有2至6個碳原子、2至4個碳原子或2至3個碳原子。例示性烯基包括乙烯基(ethenyl/vinyl)、丙烯基及其類似基團。

【0198】 如本文所用，「烯基烷基」係指式-烷基-烯基之基團。在一些實施例中，烯基烷基為烯丙基。

【0199】 如本文所用，術語「鹵烷基」在單獨或與額外部分一起使用時係指經一或多個獨立地選自F、Cl、Br及I之鹵素原子取代的烷基。例

示性鹵烷基包括 CF_3 、 CHF_2 、 CH_2CF_3 及其類似基團。

【0200】 如本文所用，術語「烷氧基」係指-O-烷基。在一些實施例中，該烷基具有1至6個碳原子、1至4個碳原子或1至3個碳原子。例示性烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基(例如正丙氧基及異丙氧基)、第三丁氧基及其類似基團。

【0201】 如本文所用，「三烷基胺」係指經三個獨立地選擇之烷基取代的氮原子。在一些實施例中，各烷基具有2至6個碳原子、2至4個碳原子或2至3個碳原子。例示性三烷基胺基團包括三甲胺、三乙胺及其類似基團。

【0202】 如本文所用，術語「烷氧羰基」係指式-C(O)-O-烷基之基團。在一些實施例中，該烷基具有2至6個碳原子、2至4個碳原子或2至3個碳原子。例示性烷氧羰基包括乙氧羰基、第三丁氧羰基(Boc)及其類似基團。

【0203】 鹵化烴溶劑係指鹵化烷烴，諸如二氯甲烷、氯仿、二氯乙烷或四氯乙烷，其中該烷烴可為具有1至12個碳原子、1至6個碳原子或1至4個碳原子且具有一或多個鹵原子之分支鏈或直鏈。在一些實施例中，鹵化烴溶劑為1至12個碳原子、1至6個碳原子或1至4個碳原子之鹵化烷烴。

【0204】 在本說明書各處，本發明化合物之取代基可以組形式或以範圍形式揭示。明確意欲本發明包括該等組及範圍之成員的各個及每一個個別子組合。

【0205】 意欲本發明化合物為穩定的。如本文所用，「穩定」係指足夠穩固以經受得住自反應混合物分離至適用純度且較佳地能夠調配至有效

治療劑中之化合物。

【0206】 進一步預期，為清晰起見描述於各別實施例之內容脈絡中的某些本發明特徵亦可組合提供於單一實施例中。相反地，為簡潔起見描述於單一實施例之內容脈絡中的各種本發明特徵亦可分別地或以任何合適子組合提供。

【0207】 本發明化合物進一步意欲包括所有可能的幾何異構體。該等化合物之順式及反式幾何異構體經描述且可以異構體混合物形式或以經分離之異構體形式分離。

【0208】 本發明化合物亦包括互變異構體。互變異構體形式由單鍵與相鄰雙鍵交換並伴隨質子遷移而產生。

【0209】 本發明化合物亦可包括中間體或最終化合物中出現之原子之所有同位素。同位素包括原子序數相同但質量數不同之彼等原子。舉例而言，氫之同位素包括氘及氚。

【0210】 在一些實施例中，本發明化合物及其鹽實質上經分離。「實質上經分離」意謂化合物自其形成或偵測時所處之環境至少部分或實質上分離。部分分離可包括例如本發明化合物增濃之組合物。實質上分離可包括含有至少約50重量%、至少約60重量%、至少約70重量%、至少約80重量%、至少約90重量%、至少約95重量%、至少約97重量%或至少約99重量%的本發明化合物或其鹽之組合物。用於分離化合物及其鹽之方法在此項技術中為常規的。

【0211】 本申請案亦包括本文所述之化合物的鹽。如本文所用，「鹽」係指所揭示化合物之衍生物，其中母體化合物藉由使現有酸或鹼部分轉化成其鹽形式而經改質。鹽之實例包括(但不限於)鹼性殘基(諸如胺)

之無機酸(諸如HCl、HBr、H₂SO₄)或有機酸(諸如乙酸、苯甲酸、三氟乙酸)鹽；酸性殘基(諸如羧酸)之鹼金屬(諸如Li、Na、K、Mg、Ca)或有機(諸如三烷基銨)鹽；及其類似物。本申請案之鹽可藉由習知化學方法自含有鹼性或酸性部分之母體化合物合成。一般而言，此類鹽可藉由使遊離酸或鹼形式之此等化合物與化學計量之量之適當鹼或酸於水中或於有機溶劑中，或於該兩者之混合物中反應來製備；一般而言，如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、異丙醇或乙腈(ACN)之非水性介質為較佳。

【0212】 本申請案亦包括本文所述之化合物的醫藥學上可接受之鹽。「醫藥學上可接受之鹽」包括上述「鹽」之子集，其為例如自無毒無機酸或有機酸形成之母體化合物的習知無毒鹽。合適之鹽的清單發現於 *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 第 17 版, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, 第 1418 頁及 *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 (1977)中，各以引用之方式全文併入本文中。片語「醫藥學上可接受」在本文中用於指在合理醫學判斷範疇內適合與人類及動物之組織接觸使用而無過度毒性、刺激、過敏反應或其他問題或併發症，符合合理的效益/風險比之彼等化合物、材料、組合物及/或劑型。

【0213】 本文所述之方法可根據此項技術中已知之任何合適方法來監測。舉例而言，產物形成可藉由以下監測：光譜手段，諸如核磁共振光譜法(例如¹H或¹³C)、紅外光譜法、分光光度測定法(例如UV-可見光)或質譜；或層析，諸如高效液相層析(HPLC)或薄層層析。藉由該等反應獲得之化合物可藉由此項技術中已知之任何合適方法來純化。例如，在合適吸附劑(例如，矽膠、氧化鋁及其類似物)上之層析(中等壓力)、HPLC或製備型薄層層析；蒸餾；昇華、濕磨或再結晶。一般而言，該等化合物之純

度藉由物理方法，諸如量測熔點(在固體之情況下)、獲得NMR譜或執行HPLC分離來測定。若熔點降低，若NMR譜中不需要之信號減少，或若HPLC跡線中之外來峰經移除，則可認為該化合物已經純化。在一些實施例中，該等化合物實質上經純化。

【0214】 化合物之製備可涉及各種化學基團之保護及脫保護。對於保護及脫保護之需求及適當保護基之選擇可容易地由熟習此項技術者確定。保護基之化學可發現於例如 Wuts 及 Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 第4版, John Wiley & Sons: New York, 2006中，其以引用的方式全文併入本文中。

【0215】 本文所述之方法之反應可在可容易由熟習有機合成技術者選擇之適合溶劑中進行。在進行反應之溫度(亦即，可自溶劑之冷凍溫度變動至溶劑之沸騰溫度之溫度)下，合適之溶劑可實質上不與起始材料(反應物)、中間體或產物反應。既定反應可在一種溶劑或一種以上溶劑之混合物中進行。視反應步驟而定，可選擇用於該特定反應步驟之合適溶劑。適當溶劑包括水、烷烴(諸如戊烷、己烷、庚烷、環己烷等或其混合物)、芳族溶劑(諸如苯、甲苯、二甲苯等)、醇(諸如甲醇、乙醇、異丙醇等)、醚(諸如二烷基醚、甲基第三丁基醚(MTBE)、四氫呋喃(THF)、二噁烷等)、酯(諸如乙酸乙酯、乙酸丁酯等)、鹵化烴溶劑(諸如二氯甲烷(DCM)、氯仿、二氯乙烷、四氯乙烷)、二甲基甲醯胺(DMF)、二甲亞砜(DMSO)、丙酮、乙腈(ACN)、六甲基磷醯胺(HMPA)及N-甲基吡咯啉酮(NMP)。該等溶劑可以其濕或無水形式使用。

【0216】 化合物之外消旋混合物的解析可藉由此項技術中已知之多種方法中的任一種來進行。例示性方法包括使用「對掌性解析酸」進行分

步再結晶，該酸為光學活性、成鹽有機酸。用於分步再結晶方法之合適解析劑為例如光學活性酸，諸如酒石酸、二乙醯基酒石酸、二苯甲醯基酒石酸、杏仁酸、蘋果酸、乳酸之D及L形式，或各種光學活性樟腦磺酸。外消旋混合物之解析亦可藉由在填充有光學活性解析劑(例如二硝基苯甲醯基苯基甘胺酸)之管柱上溶離來進行。合適之溶離溶劑組合物可由熟習此項技術者確定。

使用方法

【0217】 式I化合物可抑制酶吲哚胺-2,3-雙加氧酶(IDO)之活性。舉例而言，式I化合物可用於藉由投予抑制量之式I化合物來抑制細胞中或需要調節該酶之個體中的IDO活性。

【0218】 式I化合物可用於抑制含有表現IDO之細胞的系統(諸如組織、活生物體或細胞培養物)中之色胺酸降解之方法中。在一些實施例中，本申請案提供藉由投予有效量之式I化合物來改變(例如，增加)細胞外色胺酸含量之方法。量測色胺酸含量及色胺酸降解之方法在此項技術中為常規的。

【0219】 式I化合物可用於藉由向患者投予有效量之式I化合物來抑制患者中的免疫抑制(諸如IDO介導之免疫抑制)之方法中。IDO介導之免疫抑制已導致例如癌症、腫瘤生長、轉移、病毒感染、病毒複製等。

【0220】 式I化合物亦可用於藉由向個體(例如患者)投予治療有效量或劑量的式I化合物或其醫藥組合物來治療需要該治療之個體中與IDO之活性或表現(包括異常活性和/或過度表現)有關之疾病的方法中。例示性疾病可包括直接或間接與IDO酶之表現或活性(諸如過度表現或異常活性)有關的任何疾病、病症或病狀。IDO相關疾病亦可包括可藉由調節酶活性而

預防、改善或治癒之任何疾病、病症或病狀。IDO相關疾病之實例包括癌症、病毒感染(諸如HIV感染、HCV感染)、抑鬱、神經退化性病症(諸如阿茲海默氏病及亨廷頓氏病)、創傷、年齡相關白內障、器官移植(例如器官移植物排斥)，及自體免疫疾病，包括哮喘、類風濕性關節炎、多發性硬化症、過敏性發炎、發炎性腸病、牛皮癬及全身性紅斑狼瘡。可由本文方法治療之例示性癌症包括結腸、胰臟、乳房、前列腺、肺、腦、卵巢、子宮頸、睪丸、腎、頭及頸部之癌症、淋巴瘤、白血病、黑色素瘤及其類似癌症。式I化合物亦可適用於治療肥胖及缺血。

【0221】 如本文所用，術語「細胞」意指活體外、離體或活體內細胞。在一些實施例中，離體細胞可為自生物體(諸如哺乳動物)切除之組織樣品的一部分。在一些實施例中，活體外細胞可為細胞培養物中之細胞。在一些實施例中，活體內細胞為活在生物體(諸如哺乳動物)中之細胞。

【0222】 如本文所用，術語「接觸」係指使指定部分在活體外系統或活體內系統中集合在一起。舉例而言，使IDO酶與式I化合物「接觸」包括向具有IDO之個體或患者(諸如人類)投予式I化合物，以及例如將式I化合物引入含有包含IDO酶之細胞製劑或純化製劑之樣品中。

【0223】 如本文所用，可互換使用之術語「個體」或「患者」係指任何動物，包括哺乳動物，較佳為小鼠、大鼠、其他齧齒動物、兔、狗、貓、豬、牛、綿羊、馬或靈長類動物，且最佳為人類。

【0224】 如本文所用，片語「治療有效量」係指在組織、系統、動物、個體或人類中引出研究人員、獸醫、醫生或其他臨床醫師所尋求之生物反應或醫學反應的活性化合物或醫藥劑之量。

【0225】 如本文所用，術語「治療(treating/treatment)」係指1)預防

疾病，例如在可能易患疾病、病狀或病症但尚未經歷或顯示該疾病之病理或症狀之個體中預防疾病、病狀或病症；2)抑制疾病，例如在正在經歷或顯示疾病、病狀或病症之病理或症狀之個體中抑制疾病、病狀或病症(亦即遏制病理及/或症狀之進一步發展)，或3)改善疾病，例如在正在經歷或顯示疾病、病狀或病症之病理或症狀之個體中改善疾病、病狀或病症(亦即逆轉病理及/或症狀)。

組合療法

【0226】 一或多種額外醫藥劑或治療方法，諸如抗病毒劑、化學治療劑或其他抗癌劑、免疫增強劑、免疫抑制劑、輻射、抗腫瘤及抗病毒疫苗、細胞因子療法(例如，IL2、GM-CSF等)及/或酪胺酸激酶抑制劑可與式I化合物組合用於治療IDO相關疾病、病症或病狀。該等藥劑可與式I化合物組合於單一劑型中，或該等藥劑可作為各別劑型同時或依序投予。

【0227】 預期與式I化合物組合使用之合適抗病毒劑可包含核苷及核苷酸逆轉錄酶抑制劑(NRTI)、非核苷逆轉錄酶抑制劑(NNRTI)、蛋白酶抑制劑及其他抗病毒藥物。

【0228】 例示性合適NRTI包括齊多夫定(AZT)；地丹諾辛(ddI)；紮西他濱(ddC)；司他夫定(d4T)；拉米夫定(3TC)；阿巴卡韋(1592U89)；阿德福韋二匹伏酯(adefovir dipivoxil)[雙(POM)-PMEA]；洛布卡韋(BMS-180194)；BCH-10652；恩奇他濱[(-)-FTC]； β -L-FD4(亦稱為 β -L-D4C且命名為 β -L-2', 3'-雙脫氧-5-氟-胞嘧啶核苷)；DAPD，(((-)- β -D-2,6,-二氨基-嘌呤二氧戊環)；及洛德腺苷(FddA)。典型之合適NNRTI包括奈韋拉平(BI-RG-587)；德拉維拉丁(BHAP，U-90152)；依法韋侖(DMP-266)；PNU-142721；AG-1549；MKC-442(1-(乙氧基-甲基)-5-(1-甲基乙

基)-6-(苯基甲基)-(2,4(1H,3H)-嘓啶二酮)；及(+)-胡桐素A(NSC-675451)及B。典型之合適蛋白酶抑制劑包括沙奎那韋(Ro 31-8959)；利托那韋(ABT-538)；印地那韋(MK-639)；奈弗那韋(AG-1343)；安潑那韋(141W94)；拉西那韋(BMS-234475)；DMP-450；BMS-2322623；ABT-378；及AG-1 549。其他抗病毒劑包括羥基脲、病毒唑、IL-2、IL-12、噴他夫西及Yissum Project第11607號。

【0229】 合適之化學治療劑或其他抗癌劑包括例如烷基化劑(包括(但不限於)氮芥(nitrogen mustard)、伸乙基亞胺衍生物、烷基磺酸酯、亞硝基脲及三氮烯)，諸如尿嘓啶氮芥(uracil mustard)、氮芥(chlormethine)、環磷醯胺(Cytoxan™)、異環磷醯胺、美法侖(melphalan)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、哌泊溴烷(pipobroman)、三伸乙基-蜜胺、三伸乙基硫代磷醯胺、白消安(busulfan)、卡莫司汀(carmustine)、洛莫司汀(lomustine)、鏈佐星(streptozocin)、達卡巴嗪(dacarbazine)及替莫唑胺(temozolomide)。

【0230】 在黑色素瘤之治療中，與式I化合物組合使用之合適藥劑包括：達卡巴嗪(DTIC)，視情況連同其他化學療法藥物，諸如卡莫司汀(BCNU)及順鉑；「達特茅斯方案」，其由DTIC、BCNU、順鉑及他莫西芬組成；順鉑、長春鹼及DTIC之組合；或替莫唑胺。根據本發明之化合物亦可在黑色素瘤之治療中與免疫療法藥物，包括諸如干擾素 α 、介白素-2及腫瘤壞死因子(TNF)之細胞因子組合。

【0231】 式I化合物亦可與疫苗療法組合用於黑色素瘤之治療中。抗黑色素瘤疫苗以一些方式類似於用於預防由病毒引起的疾病(諸如脊髓灰質炎、麻疹及流行性腮腺炎)之抗病毒疫苗。弱化之黑色素瘤細胞或黑絲

素瘤細胞之部分(稱為抗原)可注射至患者中以刺激身體之免疫系統破壞黑絲素瘤細胞。

【0232】 限於臂或腿之黑色素瘤亦可使用隔離肢體熱灌注技術用包括式I化合物之藥劑組合治療。此治療方案暫時地使累及肢體之循環與身體剩餘部分分離且將高劑量之化學療法注射至供給該肢體之動脈中，因此向腫瘤區域提供高劑量而未使內部器官暴露於此等劑量，此等劑量在其他情況下可能引起嚴重副作用。通常將流體溫至102°至104°F。美法侖為最常用於此化學療法程序中之藥物。此藥物可與稱為腫瘤壞死因子(TNF)之另一藥劑一起給予(參見關於細胞因子之章節)。

【0233】 合適之化學治療劑或其他抗癌劑包括例如抗代謝物(包括(但不限於)葉酸拮抗劑、嘧啶類似物、嘌呤類似物及腺苷去胺酶抑制劑)，諸如甲胺喋呤、5-氟尿嘧啶、氟尿苷、阿糖胞苷(cytarabine)、6-巰基嘌呤、6-硫代鳥嘌呤、磷酸氟達拉濱(fludarabine phosphate)、噴司他汀(pentostatine)及吉西他賓。

【0234】 合適之化學治療劑或其他抗癌劑進一步包括例如某些天然產物及其衍生物(例如長春花生物鹼(vinca alkaloid)、抗腫瘤抗生素、酶、淋巴因子(lymphokine)及表鬼臼毒素(epipodophyllotoxin))，諸如長春鹼、長春新鹼(vincristine)、長春地辛(vindesine)、博萊黴素(bleomycin)、放線菌素D(dactinomycin)、道諾黴素(daunorubicin)、小紅莓(doxorubicin)、表柔比星(epirubicin)、伊達比星(idarubicin)、阿糖胞苷(ara-C)、太平洋紫杉醇(TAXOL™)、米拉黴素(mithramycin)、去氧助間型黴素(deoxycoformycin)、絲裂黴素-C(mitomycin-C)、L-天冬醯胺酸酶(L-asparaginase)、干擾素(尤其為IFN-a)、依託泊苷(etoposide)及替

尼泊昔(teniposide)。

【0235】 其他細胞毒性劑包括諾維本、CPT-11、阿那曲唑、來曲唑、卡培他濱、里羅克菲、環磷醯胺、異環磷醯胺及多羅克菲。

【0236】 亦合適的細胞毒性劑諸如為表鬼臼毒素；抗贅生性酶；拓撲異構酶抑制劑；丙卡巴肼；米托蒽醌；鉑配位錯合物，諸如順鉑及卡波鉑；生物反應調節劑；生長抑制劑；抗激素治療劑；甲醯四氫葉酸；替加氟；及造血生長因子。

【0237】 其他抗癌劑包括共刺激分子(諸如CTLA-4、4-1BB及PD-1)之抗體治療劑，諸如曲妥珠單抗(Herceptin)，或細胞因子(IL-10、TGF- β 等)之抗體。

【0238】 其他抗癌劑亦包括阻斷免疫細胞遷移之抗癌劑，諸如趨化因子受體(包括CCR2及CCR4)之拮抗劑。

【0239】 其他抗癌劑亦包括加強免疫系統之抗癌劑，諸如佐劑或授受T細胞轉移。

【0240】 抗癌疫苗包括樹突狀細胞、合成肽、DNA疫苗及重組病毒。

【0241】 用於安全且有效地投予大多數此等化學治療劑之方法為熟習此項技術者已知。此外，其投予描述於標準文獻中。例如，多種化學治療劑之投予描述於「Physicians' Desk Reference」(PDR，例如1996年版本，Medical Economics Company, Montvale, NJ)中，其揭示內容以引用之方式併入本文中，如同全文闡述一般。

醫藥調配物及劑型

【0242】 當用作醫藥劑時，式I化合物可以醫藥組合物形式投予，該

等醫藥組合物為式I化合物與醫藥學上可接受之載劑的組合。此等組合物可以醫藥技術中熟知之方式製備，且視需要局部治療抑或全身性治療及欲治療之區域而定，可藉由多種途徑投予。投予可為表面(包括眼部及黏膜，包括鼻內遞送、經陰道遞送及經直腸遞送)、經肺(例如藉由吸入或吹入散劑或氣霧劑，包括藉由噴霧器；氣管內、鼻內、經表皮及經皮)、眼部、經口或非經腸。用於眼部遞送之方法可包括表面投予(滴眼劑)、結膜下、眼周或玻璃體內注射，或藉由以手術方式置於結膜囊中之氣囊導管或眼部插入物來引入。非經腸投予包括靜脈內、動脈內、皮下、腹膜內或肌肉內注射或輸注；或顱內，例如鞘內或室內投予。非經腸投藥可呈單一團式劑量形式，或可例如藉由連續灌注泵達成。用於表面投藥之醫藥組合物及調配物可包括經皮貼片、軟膏劑、洗劑、乳膏劑、凝膠劑、滴劑、栓劑、噴霧劑、液體及散劑。習知醫藥載劑、水性、粉末狀或油性基質、增稠劑及其類似物可為必需或合乎需要的。

【0243】 含有式I化合物之醫藥組合物可與一或多種醫藥學上可接受之載劑組合製備。在製備本發明組合物時，活性成分通常與賦形劑混合、由賦形劑稀釋或封閉在該種載劑內呈例如膠囊、藥囊、紙或其他容器形式。當賦形劑充當稀釋劑時，其可為充當活性成分之媒劑、載劑或介質之固體、半固體或液體材料。因此，該等組合物可呈以下形式：錠劑、丸劑、散劑、口含錠、藥囊、扁囊劑、酏劑、懸浮液、乳液、溶液、糖漿、氣霧劑(呈固體形式或於液體介質中)、含有例如高達10重量%活性化合物之軟膏劑、軟及硬明膠膠囊、栓劑、無菌可注射溶液及無菌封裝粉末。

【0244】 在製備調配物時，活性化合物可在與其他成分組合之前進行研磨以提供適當粒徑。若活性化合物實質上不可溶，則其可研磨至小於

200目之粒徑。若活性化合物實質上可溶於水，則粒徑可藉由研磨來調整以提供調配物中實質上均一之分佈，例如約40目。

【0245】 合適賦形劑之一些實例包括乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、澱粉、阿拉伯膠、磷酸鈣、褐藻酸鹽、黃耆、明膠、矽酸鈣、微晶纖維素、聚乙烯吡咯啉酮、纖維素、水、糖漿及甲基纖維素。調配物可另外包括：潤滑劑，諸如滑石、硬脂酸鎂及礦物油；濕潤劑；乳化劑及懸浮劑；防腐劑，諸如羥基苯甲酸甲酯及羥基苯甲酸丙酯；甜味劑；及調味劑。本發明組合物可經調配以使活性成分在藉由使用此項技術中已知之程序投予患者之後快速、持續或延遲釋放。

【0246】 該等組合物可調配成單位劑型，各劑含有約5 mg至約100 mg，更通常約10 mg至約30 mg活性成分。術語「單位劑型」係指適合作為用於人類個體及其他哺乳動物之單位劑量之物理個別單元，各單元含有經計算以產生所要治療效果之預定量之活性材料以及合適之醫藥賦形劑。

【0247】 活性化合物可在廣泛劑量範圍內有效且通常以醫藥有效量投予。然而，應瞭解實際投予之化合物之量將通常由醫師根據相關情形來確定，該等情形包括欲治療之病狀、所選投藥途徑、投予之實際化合物、個別患者之年齡、體重及反應、患者症狀之嚴重性及其類似情形。

【0248】 為製備固體組合物，諸如錠劑，使主要活性成分與醫藥賦形劑混合以形成含有式I化合物之均質混合物的固體預調配組合物。當將此等預調配組合物稱為均質時，活性成分通常均勻分散在整個組合物中，以便組合物可易於細分成同等有效之單位劑型，諸如錠劑、丸劑及膠囊。接著將此固體預調配物細分成上述類型之單位劑型，該等單位劑型含有例如0.1 mg至約500 mg本申請案之活性成分。

【0249】 含有式I化合物之錠劑或丸劑可包覆包衣或另外經混配以提供提供延長作用之優勢的劑型。舉例而言，錠劑或丸劑可包含內部劑量組分及外部劑量組分，後者呈位於前者之上之包膜形式。兩種組分可由用於抵抗胃中之崩解且允許內部組分完整進入十二指腸或延遲釋放之腸溶層分離。多種材料可用於該等腸溶層或包衣，該等材料包括多種聚合酸及聚合酸與諸如蟲膠、十六醇及乙酸纖維素之材料之混合物。

【0250】 可併有本申請案之化合物及組合物以便經口或藉由注射投予之液體形式包括水溶液、經適合調味之糖漿、水性或油性懸浮液，及用可食用油(諸如棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油)調味之乳液，以及酞劑及類似醫藥媒劑。

【0251】 用於吸入或吹入之組合物包括於醫藥學上可接受之水性或有機溶劑或其混合物中之溶液及懸浮液、及散劑。液體或固體組合物可含有如上所述之合適醫藥學上可接受之賦形劑。在一些實施例中，組合物藉由經口或經鼻呼吸途徑投予以達成局部或全身性作用。組合物可藉由使用惰性氣體進行霧化。霧化溶液可直接自霧化裝置呼吸，或霧化裝置可連接於面罩或間歇式正壓呼吸機。溶液、懸浮液或散劑組合物可經口或經鼻自以適當方式遞送調配物之裝置投予。

【0252】 投予患者之化合物或組合物之量將視所投予物、投藥目的(諸如預防或療法)、患者狀態、投藥方式及其類似因素而變化。在治療應用中，組合物可以足以治癒或至少部分遏制疾病及其併發症之症狀的量投與已罹患該疾病之患者。有效劑量將取決於所治療之疾病狀況，以及主治臨床醫師視諸如疾病嚴重性、患者年齡、體重及一般狀況及其類似因素之因素所作的判斷。

【0253】 投予患者之組合物可呈上述醫藥組合物形式。此等組合物可藉由習知滅菌技術滅菌，或可經無菌過濾。水溶液可包裝用於按原樣使用，或可凍乾，凍乾製劑在投藥之前與無菌水性載劑組合。化合物製劑之pH通常將在3與11之間、更佳為5至9且最佳為7至8。應瞭解使用某些上述賦形劑、載劑或穩定劑將導致形成醫藥鹽。

【0254】 式I化合物之治療劑量可根據例如治療所欲達成之特定用途、化合物之投予方式、患者之健康及狀況以及處方醫師之判斷而變化。醫藥組合物中式I化合物之比例或濃度可視許多因素而變化，該等因素包括劑量、化學特徵(例如，疏水性)及投藥途徑。舉例而言，式I化合物可以含有約0.1%至約10% w/v該化合物之生理緩衝水溶液形式提供以用於非經腸投藥。一些典型劑量範圍為每日約1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約1 g/kg 體重。在一些實施例中，劑量範圍為每日約0.01 mg/kg 至約100 mg/kg 體重。劑量可能視諸如疾病或病症之類型及進展程度、特定患者之總體健康狀態、所選化合物之相對生物功效、賦形劑之配方、及其投藥途徑之變數而定。有效劑量可自由活體外或動物模型測試系統獲得之劑量-反應曲線外推而來。

【0255】 式I化合物亦可與一或多種額外活性成分組合調配，該一或多種額外活性成分可包括任何醫藥劑，諸如抗病毒劑、疫苗、抗體、免疫增強劑、免疫抑制劑、消炎劑及其類似物。

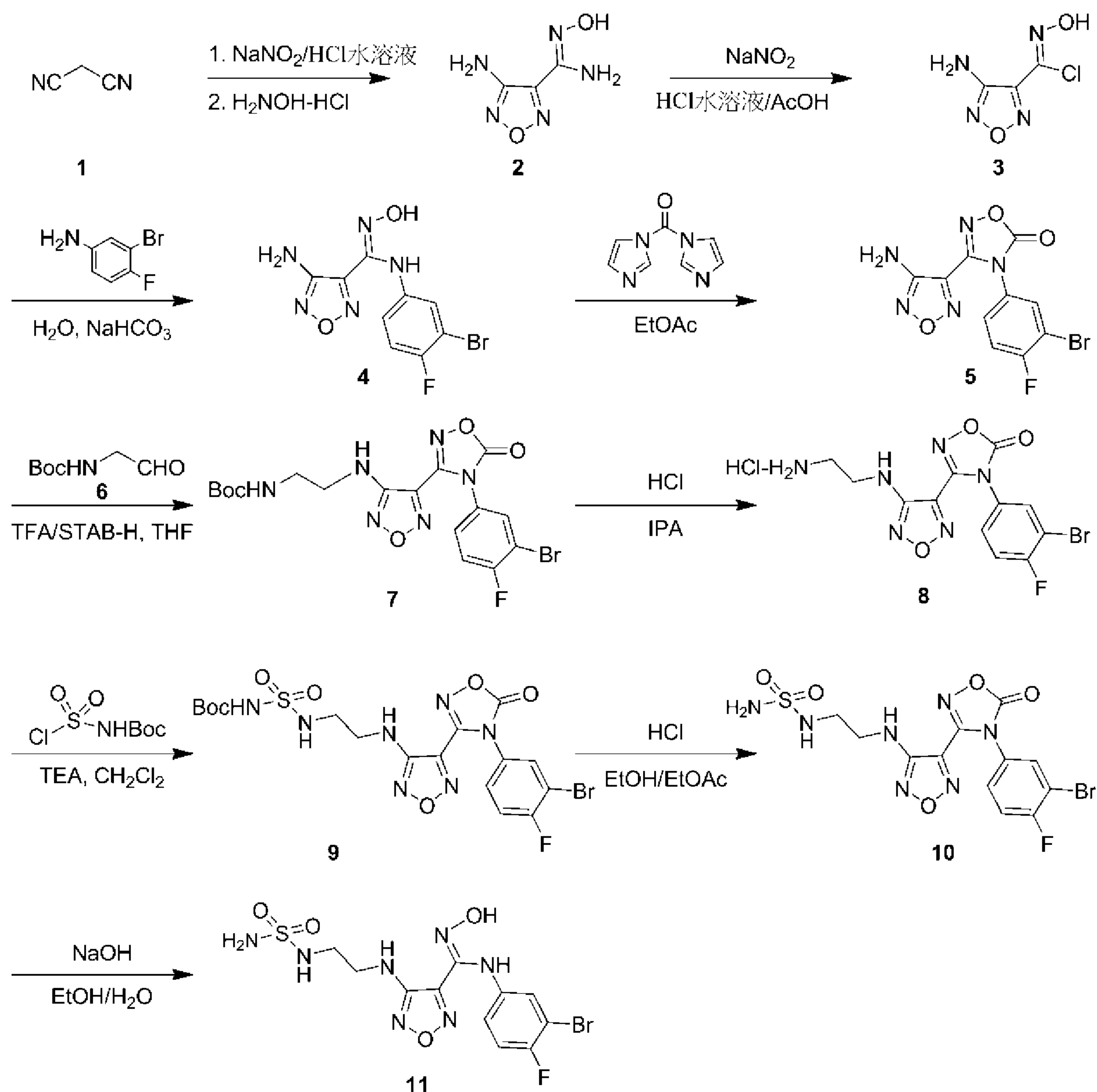
【0256】 本申請案亦包括適用於例如治療或預防IDO相關疾病或病症、肥胖、糖尿病及本文提及之其他疾病的醫藥套組，其包括一或多個容器，該一或多個容器含有包含治療有效量之式I化合物之醫藥組合物。該等套組可在必要時進一步包括各種習知醫藥套組組分之一或多者，諸如具有一或多種醫藥學上可接受之載劑之容器、額外容器等，如熟習此項技

術者應容易瞭解。呈插頁或標籤形式之說明書亦可包括於套組中，指示待投予之組分的量、投予準則及/或混合組分之準則。

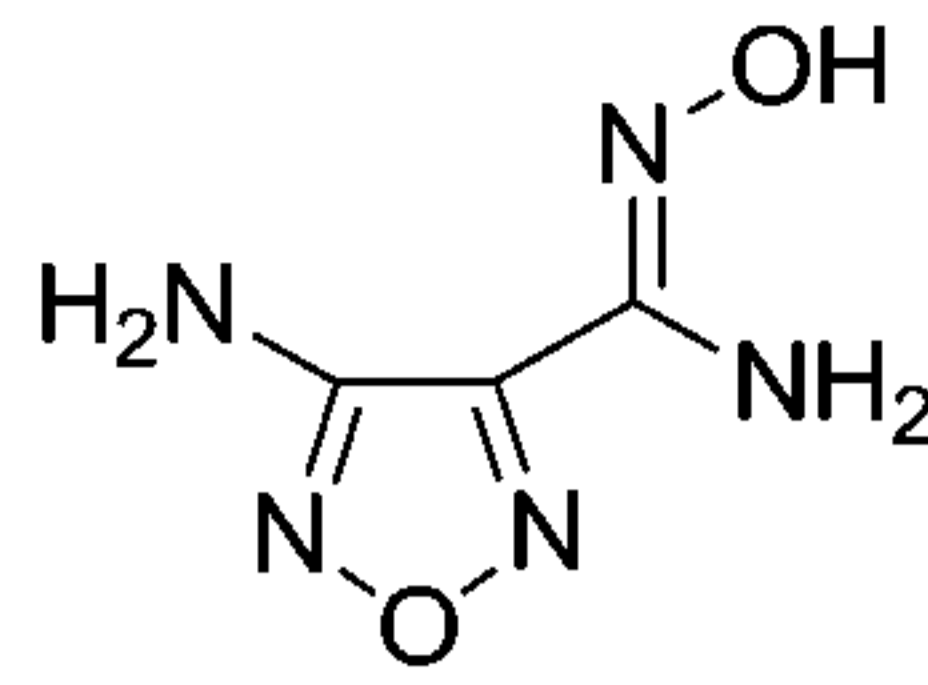
實例

【0257】 本發明將藉助於特定實例更詳細地加以描述。提供以下實例以達成說明性目的，且不欲以任何方式限制本發明。熟習此項技術者應容易瞭解可改變或修改以生成基本上相同結果之多種非關鍵性參數。

實例1. 4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒之合成

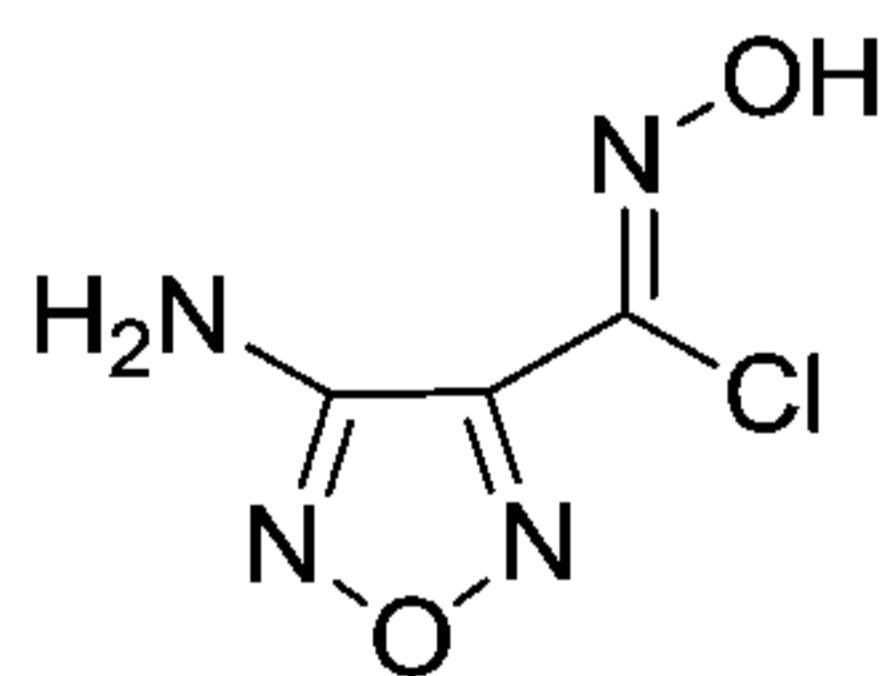


步驟A：4-胺基-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒(2)



【0258】 丙二腈[Aldrich, 產品# M1407](320.5 g, 5 mol)添加至水(7 L)中，預熱至45°C且在45°C下攪拌5分鐘。所得溶液在冰浴中冷卻，且添加亞硝酸鈉(380 g, 5.5 mol, 1.1 eq)。當溫度達到10°C時，添加6 N鹽酸(55 mL)。隨著溫度達到16°C，發生輕微放熱反應。15分鐘之後，移除冷浴且反應混合物在16-18°C下攪拌1.5 h。反應混合物冷卻至13°C，且一次性添加50%鹽酸脛胺水溶液(990 g, 15 mol, 3.0 eq)。溫度升至26°C。當放熱反應平息時，移除冷浴且在26-27°C下繼續攪拌1 h，接著使其回流。使回流維持2 h且接著使反應混合物逐漸冷卻隔夜。反應混合物在冰浴中攪拌且經40分鐘逐份添加6 N鹽酸(800 mL)以調節至pH 7.0。在冰浴中於5°C下繼續攪拌。藉由過濾收集沈澱物，用水充分洗滌且在真空烘箱中(50°C)乾燥，得到呈灰白色固體狀之所需產物(644 g, 90%)。¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD): δ 156.0, 145.9, 141.3; C₃H₅N₅O₂ (MW 143.10), LCMS (EI) *m/e* 144.0 (M⁺ + H)。

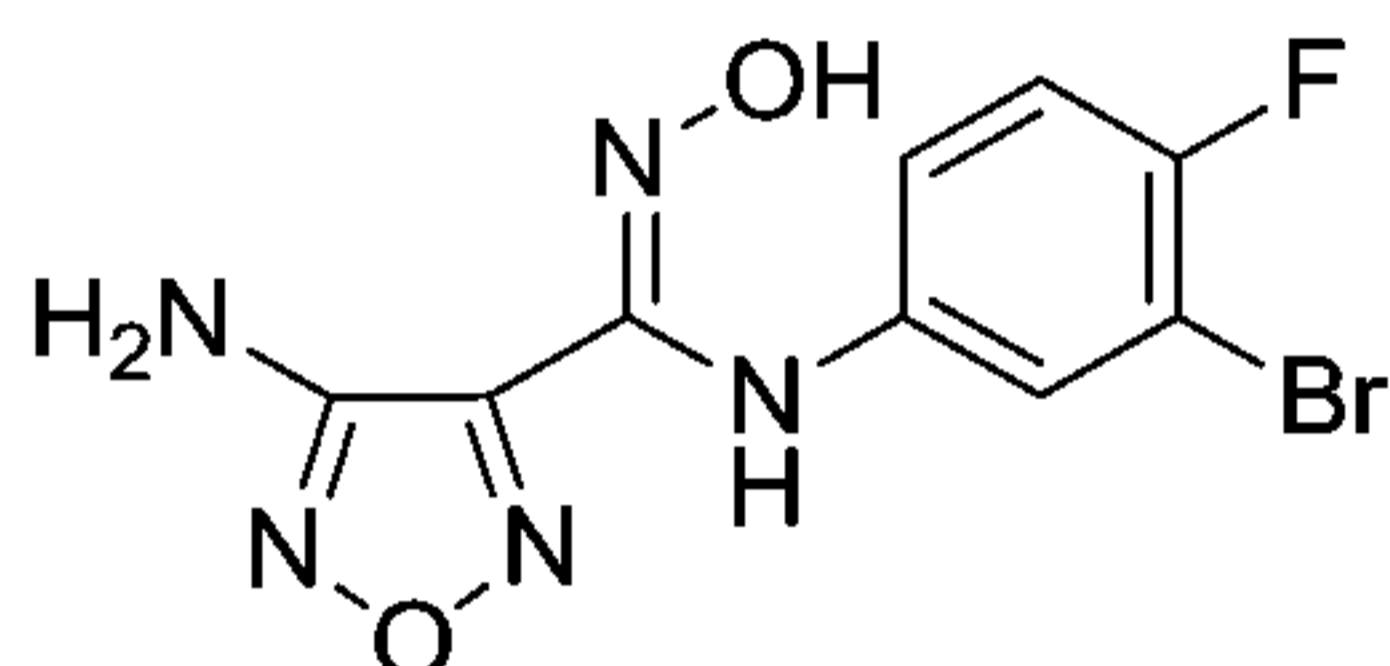
步驟B：4-胺基-N-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲亞胺鹽氯(3)



【0259】 4-胺基-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒(422 g, 2.95 mol)添加至水(5.9 L)、乙酸(3 L)及6 N鹽酸(1.475 L, 3.0 eq)之混合物中且懸浮液在42-45°C下攪拌直至獲得澄清溶液。添加氯化鈉(518 g, 3.0 eq)且此溶液在冰/水/甲醇浴中攪拌。經3.5 h添加亞硝酸鈉(199.5 g, 0.98 eq)於水

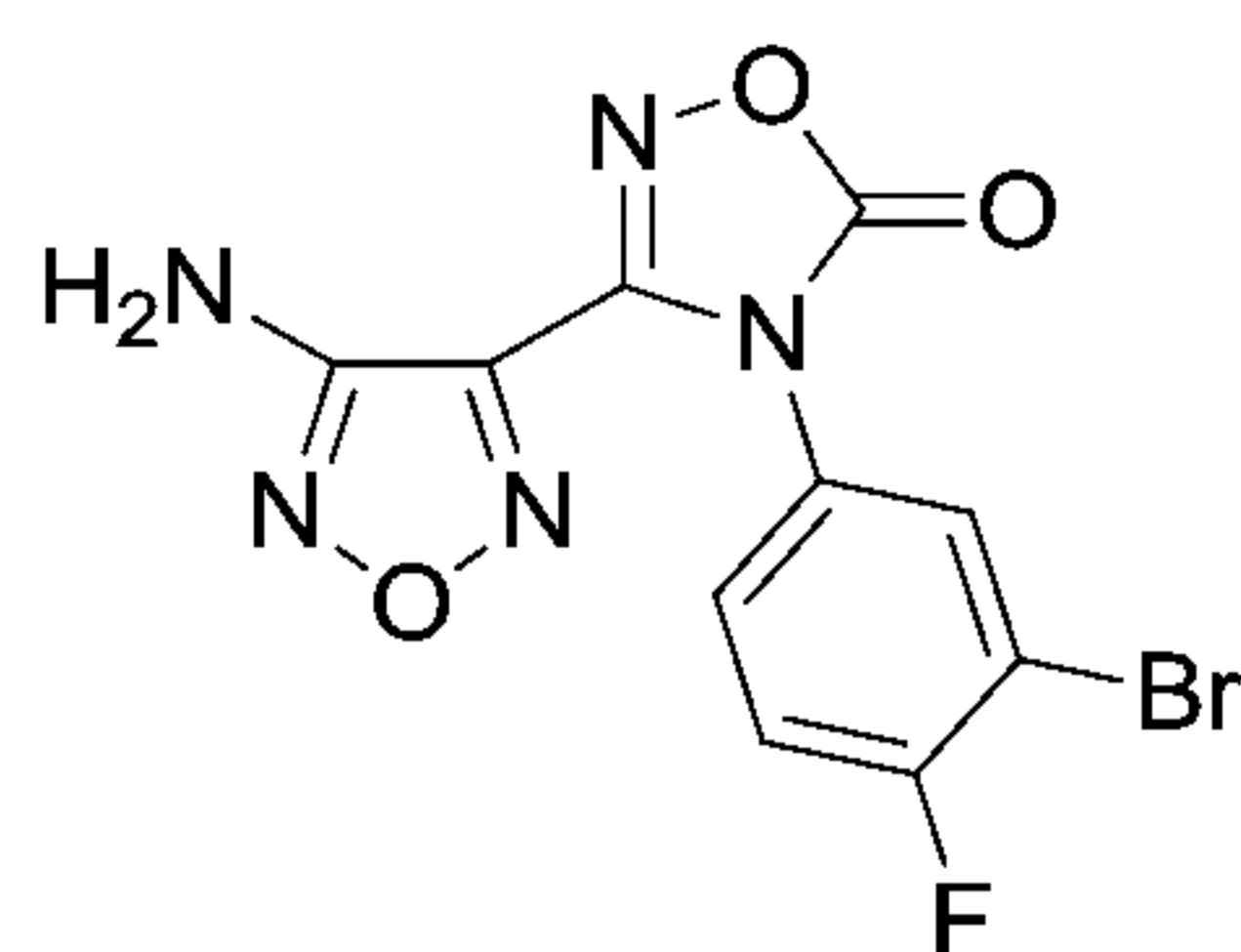
(700 mL)中之溶液，同時維持溫度低於0°C。完全添加後，在冰浴中繼續攪拌1.5 h且接著使反應混合物溫至15°C。藉由過濾收集沈澱物，用水充分洗滌，溶解於乙酸乙酯(3.4 L)中，用無水硫酸鈉(500 g)處理且在室溫下攪拌1 h。此懸浮液經硫酸鈉(200 g)過濾且濾液在旋轉蒸發器上濃縮。殘餘物溶解於甲基第三丁基醚(5.5 L)中，用活性炭(40 g)處理，在室溫下攪拌40分鐘且經矽藻土過濾。在旋轉蒸發器中移除溶劑且所得產物在真空烘箱中(45°C)乾燥，得到呈灰白色固體狀之所需產物(256 g, 53.4%)。¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 155.8, 143.4, 129.7; C₃H₃ClN₄O₂ (MW 162.53), LCMS (EI) *m/e* 163/165 (M⁺ + H)。

步驟C：4-胺基-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒(4)



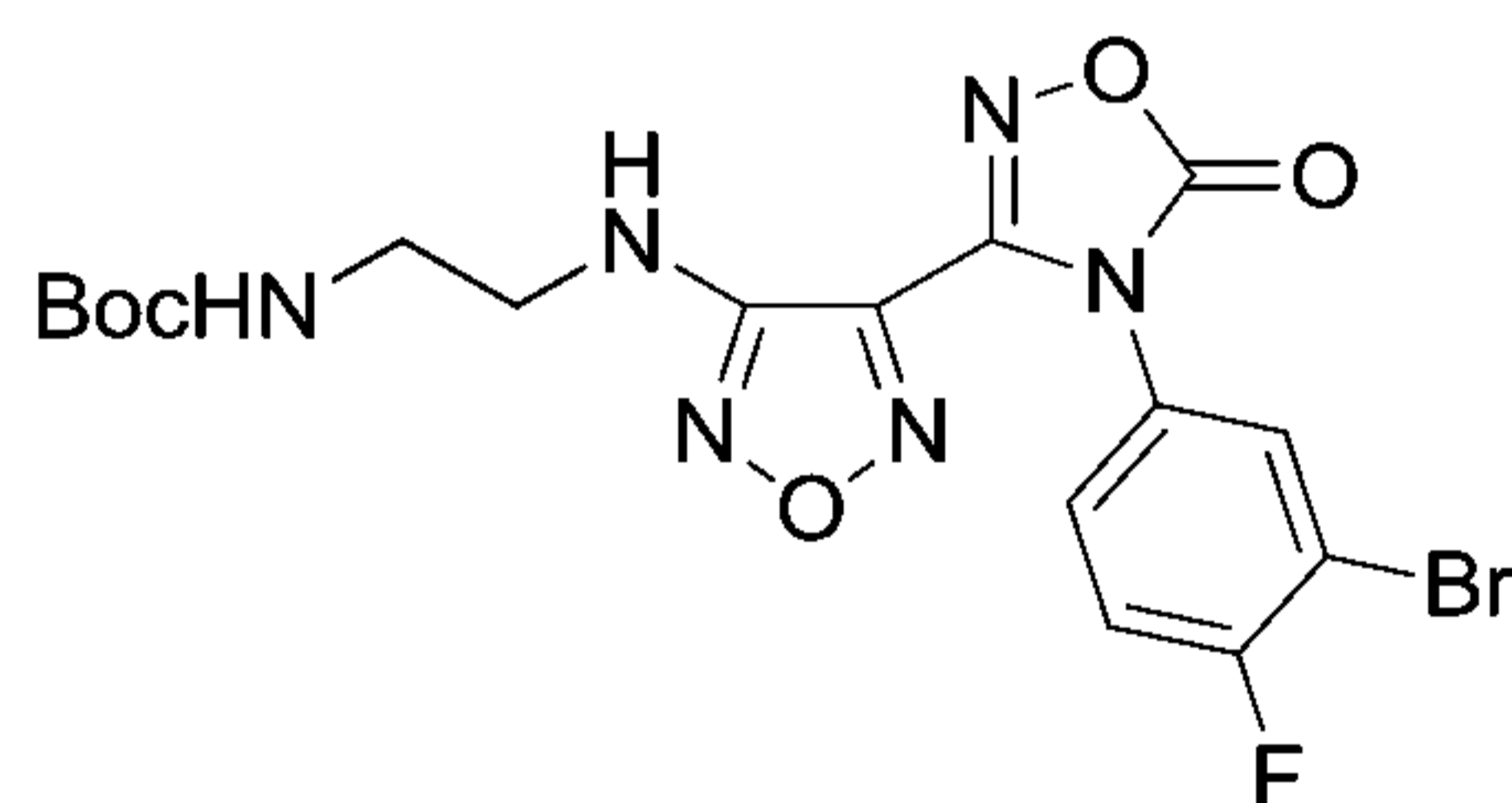
【0260】 4-胺基-N-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲亞胺醯氯(33.8 g, 208 mmol)與水(300 mL)混合。在60°C下，在攪拌下將3-溴-4-氟苯胺(Sigma-Aldrich)(43.6 g, 229 mmol, 1.1 eq)添加至懸浮液中持續10分鐘。在60°C下，在攪拌下經15分鐘添加碳酸氫鈉(26.3 g, 313 mmol, 1.5 eq)於水(300 mL)中之溶液。攪拌20分鐘之後，LCMS指示反應完成。反應混合物接著冷卻至室溫且用乙酸乙酯(2 x 300 mL)萃取。合併之乙酸乙酯溶液經無水硫酸鈉乾燥且濃縮，生成呈灰白色固體狀之所需產物(65 g, 99%)，其無需進一步純化即用於後續反應中。C₉H₇BrFN₅O₂ (MW 316.09), LCMS (EI) *m/e* 316/318 (M⁺ + H)。

步驟D：3-(4-胺基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮(5)



【0261】 4-胺基-*N*-(3-溴-4-氟苯基)-*N'*-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒 (65.7 g, 208 mmol)、*N,N*-羰基二咪唑 (Sigma-Aldrich)(50.6 g, 312 mmol, 1.5 eq)及乙酸乙酯(750 mL)之混合物加熱至60°C且攪拌20分鐘。LCMS指示反應完成。反應冷卻至室溫，用1 N鹽酸(2 x 750 mL)洗滌，經硫酸鈉乾燥，且濃縮。粗產物用二氯甲烷、乙酸乙酯及乙醚之混合物濕磨，生成呈灰白色固體狀之所需產物(60.2 g, 85%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.05 (m, 1H), 7.69 (m, 1H), 7.57 (t, 1H, *J* = 8.7 Hz), 6.58 (s, 2H); C₁₀H₅BrFN₅O₃ (MW 342.08), LCMS (EI) *m/e* 342/344 (M⁺ + H)。

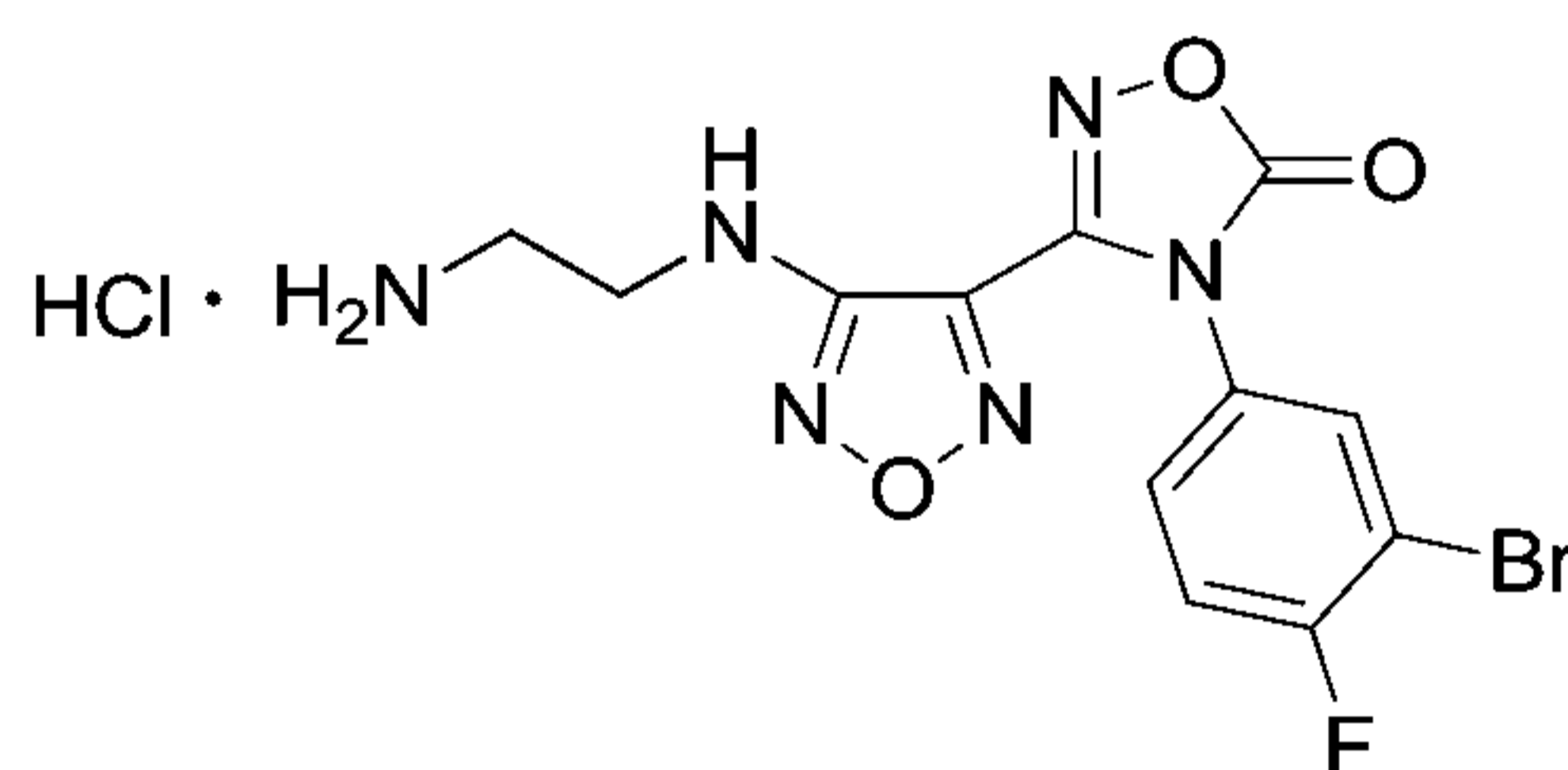
步驟E：[2-({4-[2-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-2,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基甲酸第三丁酯(7)



【0262】 在氮氣下，在攪拌下向三氟乙酸(20.0 mL)及四氫呋喃(10.0 mL)之溶液中逐份添加三乙醯氧基硼氫化鈉(10.59 g, 49.97 mmol, 10.0 eq)。此混合物在室溫下攪拌10分鐘且接著冷卻至-5°C。在攪拌下經30分鐘逐滴添加3-(4-胺基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4*H*)-酮(1.71 g, 5.0 mmol)及(2-側氧基乙基)胺基甲酸第三丁酯(Sigma-Aldrich)(1.99 g, 12.5 mmol, 2.5 eq)於THF(15.0 mL)中之溶液，同時維

持溫度低於0°C。反應在-5-0°C下攪拌且以4 h時間間隔在20分鐘、40分鐘時逐滴添加額外部分之含(2-側氧基乙基)胺基甲酸第三丁酯(0.20 g, 1.2 mmol, 0.24 eq)之THF(1.0 mL)。HPLC指示5.25 h後反應完成。反應混合物傾入冰冷碳酸氫鈉(500 mL)中且此溶液在室溫下攪拌隔夜。藉由過濾收集沈澱物且用鹽水洗滌。所得殘餘物與庚烷(40 mL)及乙醚(40 mL)混合且在室溫下攪拌5 h。藉由過濾收集沈澱物，用乙醚洗滌且在真空烘箱中乾燥，得到呈灰白色固體狀之所需產物(1953 mg, 80.5%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.08 (m, 1H), 7.71 (m, 1H), 7.59 (t, 1H, *J* = 8.7 Hz), 6.94 (m, 1H), 6.52 (m, 1H), 3.32 (m, 2H), 3.15 (m, 2H), 1.36 (s, 9H)；C₁₇H₁₈BrFN₆O₅ (MW 485.26)；LCMS (EI) *m/e* 507/509 (M⁺ + Na)。

步驟F：鹽酸3-{4-[(2-胺基乙基)胺基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮(8)



方法A(由[2-({4-[2-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-2,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基甲酸第三丁酯製備；步驟E)：

【0263】 向500-mL燒瓶中饋入[2-({4-[2-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-2,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基甲酸第三丁酯(20 g, 41.2 mmol)及異丙醇(255 mL)。在室溫下攪拌漿料。氯化氫氣體(7.55 g, 207 mmol, 5.0 eq)用表面下玻璃管經16分鐘添加至漿料中。乙酸乙酯(111 mL)接著添加至批料中且反應加熱至43°C且攪拌7.5

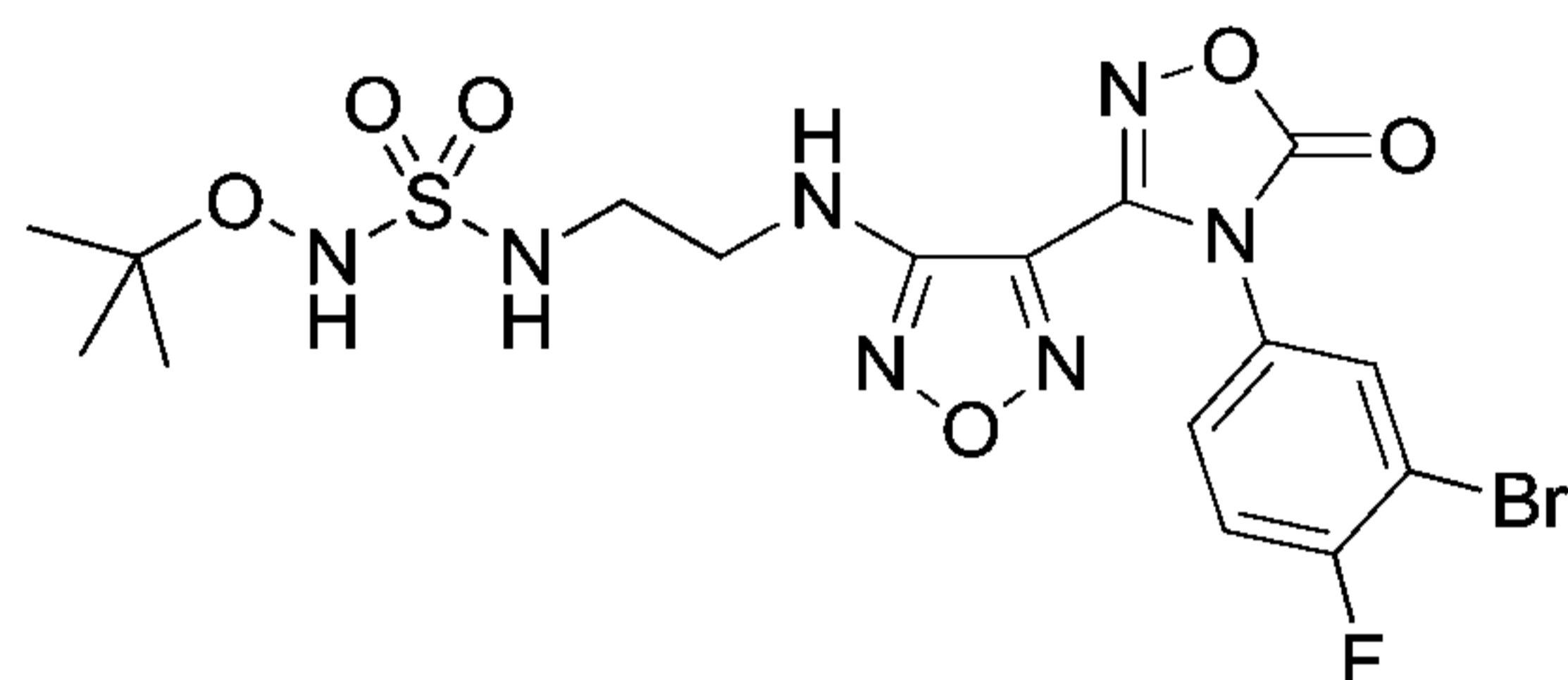
h。批料冷卻至19°C且添加乙酸乙酯(44 mL)。過濾漿料，且所得殘餘物用乙酸乙酯(2 x 55 mL)洗滌。分離之固體在減壓下於45°C下乾燥15 h，得到呈灰白色至白色固體狀之所需產物(16.61 g，95.5%產率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.11 (bs, 3H), 7.78 (m, 1H), 7.73 (m, 1H), 7.59 (t, 1H, *J* = 8.7 Hz), 6.74 (t, 1H, *J* = 6.1 Hz), 3.50 (m, 2H), 3.02 (m, 2H)；C₁₂H₁₁BrClFN₆O₃, (MW 421.61；C₁₂H₁₀BrFN₆O₃(關於游離鹼), MW 385.15), LCMS (EI) *m/e* 385/387 (M⁺ + H)。

方法B(由3-(4-胺基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮直接製備；步驟D)：

【0264】 三乙醯氧基硼氫化鈉(2.33 g，11.0 mmol，11.0 eq)與三氟乙酸(12.0 mL，155.8 mmol，155.8 eq)混合。所得溶液在室溫下混合30分鐘。在N₂下攪拌3-(4-胺基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮(5，0.342 g，1.0 mmol)及(2-側氧基乙基)胺基甲酸第三丁酯(Sigma-Aldrich)(1.04 g，6.51 mmol，6.5 eq)於二氯甲烷(10.0 mL)及乙腈(6.0 mL)中之溶液。此溶液冷卻至-5°C且經5分鐘逐滴添加三乙醯氧基硼氫化鈉及三氟乙酸之溶液。反應在室溫下攪拌4 h。HPLC及LC-MS(M⁺ - Boc + H: 385/387，溴化物圖案)指示所需產物與起始材料之比率為4:1。濃縮混合物且用二氯甲烷(10 mL)稀釋。溶液冷卻至0°C且緩慢添加4 N氫氧化鈉，同時維持溫度為0-5°C，以調節pH至8-9。水層用二氯甲烷(3 x 10 mL)萃取。合併之二氯甲烷溶液用碳酸氫鈉及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥且濃縮。粗殘餘物接著溶解於二氯甲烷(6.0 mL)中且所得溶液冷卻至0°C。在0-5°C下逐滴添加含4 N鹽酸之二噁烷(3.0 mL)。混合物在室溫下攪拌20分鐘。藉由過濾收集沈澱物，用乙醚洗滌且在真空中乾燥，

得到呈灰白色固體狀之所需產物(289 mg, 54%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.11 (bs, 3H), 7.78 (m, 1H), 7.73 (m, 1H), 7.59 (t, 1H, *J* = 8.7 Hz), 6.74 (t, 1H, *J* = 6.1 Hz), 3.50 (m, 2H), 3.02 (m, 2H); C₁₂H₁₁BrClFN₆O₃, (MW 421.61; C₁₂H₁₀BrFN₆O₃(關於游離鹼), MW 385.15), LCMS (EI) *m/e* 385/387 (M⁺ + H)。

步驟G: ({[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基}磺醯基)胺基甲酸第三丁酯 (9)



【0265】 在室溫下，在20-L玻璃反應器中饋入鹽酸3-{4-[(2-胺基乙基)胺基]-1,2,5-噁二唑-3-基}-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4*H*)-酮(1200 g, 2.846 mol)及二氯甲烷(6.5 L)。經7分鐘將三乙胺(950 g, 9.39 mol, 3.3 eq)添加至批料中。批料接著冷卻至-14.6°C。

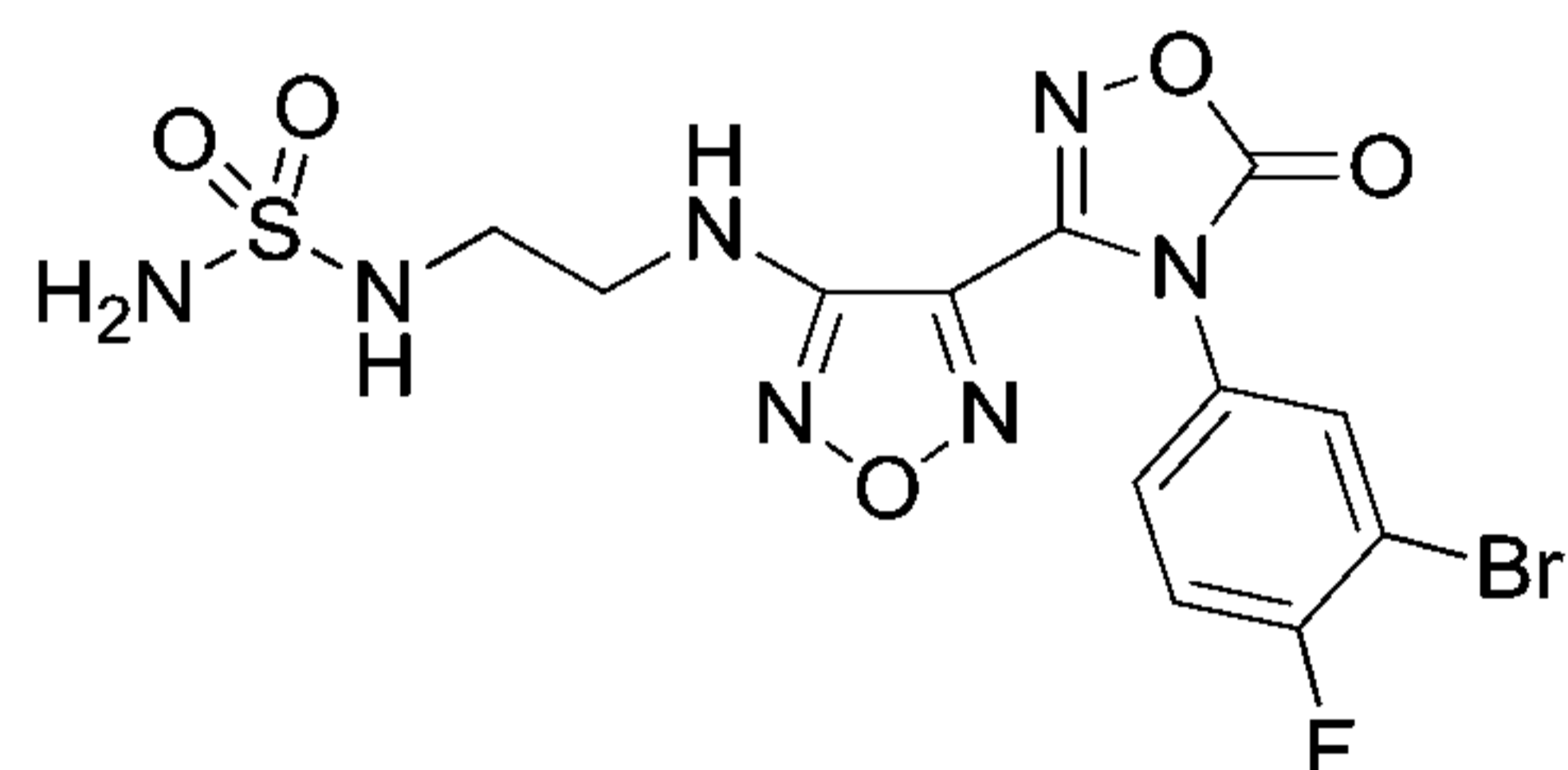
【0266】 在5-L圓底燒瓶中饋入第三丁醇(253 g, 3.41 mol, 1.2 eq)及二氯甲烷(2.6 L)。溶液冷卻至0.9°C。經43分鐘向此溶液中添加氯磺醯基異氰酸酯(463 g, 3.27 mol, 1.15 eq)，同時維持批料溫度低於10°C。所得(氯磺醯基)胺基甲酸第三丁酯溶液在3-5°C下保持1 h。

【0267】 (氯磺醯基)胺基甲酸第三丁酯溶液經73分鐘添加至反應器中，同時維持批料溫度低於0°C。批料接著經1 h溫至10°C且接著在10-14°C下攪拌1 h。水(4.8 L)添加至批料中且淬滅之反應混合物在室溫下攪拌14.5 h。使批料沈降且分離各相。分離二氯甲烷溶液，保持於反應器中且

經25分鐘饋入乙酸(513 g)以使產物沈澱。所得漿料在20°C下攪拌2.5 h。藉由過濾分離產物且用二氯甲烷(1.8 L)洗滌。產物在減壓(-30 inHg)下於45°C下乾燥16 h，得到呈白色固體狀之所需產物(1342 g，83.5%產率)。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10.90 (s, 1 H), 8.08 (dd, $J = 6.2, 2.5$ Hz, 1 H), 7.72 (m, 1 H), 7.59 (t, $J = 8.6$ Hz, 1 H), 6.58 (t, $J = 5.7$ Hz, 1 H), 3.38 (dd, $J = 12.7, 6.2$ Hz, 2 H), 3.10 (dd, $J = 12.1, 5.9$ Hz, 2 H), 1.41 (s, 9 H)。 $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{BrFN}_7\text{O}_7\text{S}$ (MW 564.34), LCMS (EI) m/e 585.9/587.9 ($\text{M}^+ + \text{Na}$)。

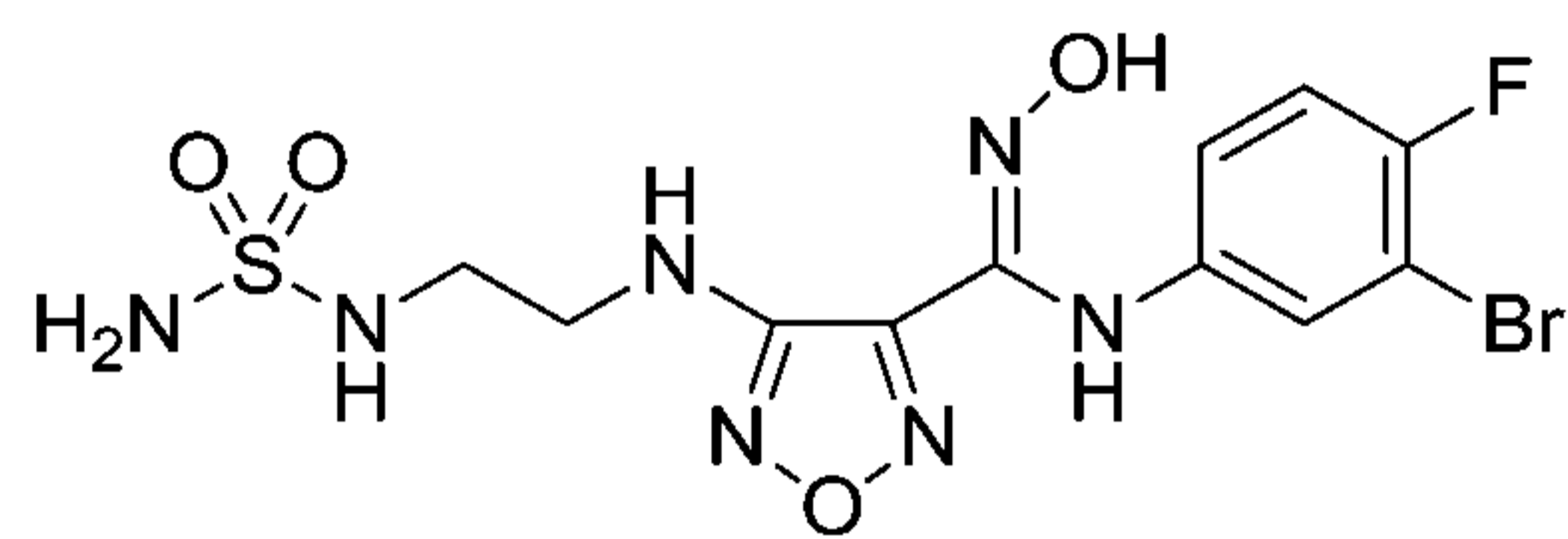
步驟H：N-[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]磺醯胺(10)



【0268】 在20°C下向含有({[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基}磺醯基)胺基甲酸第三丁酯(1200 g，2.126 mol)之20-L燒瓶中添加乙醇(12 L)。所得混合物在室溫下攪拌且饋入氯化氫氣體(472 g，12.9 mol，6.07 eq)。批料加熱至50°C且該溫度維持3 h直至反應完成。藉由在33-39°C下真空蒸餾來移除溶劑且收集6 Kg餾出物。乙酸乙酯(6.8 L，6.1 Kg)添加至批料中且蒸餾，收集5.1 Kg餾出物。乙酸乙酯(7.2 L，6.48 Kg)添加至批料中且蒸餾，收集5.1 Kg餾出物。乙酸乙酯(2.4 L，2.14 Kg)添加至批料中，以調節溶劑比率。 ^1H NMR指示乙酸乙酯與乙醇之莫耳比為1.0:0.1。溶液加熱至65°C。在60-65°C下，經43分鐘將正庚烷(4.1 kg)添加至溶液中。所得

漿料在65°C下攪拌1 h。經2.5 h將漿料冷卻至20°C且在彼溫度下攪拌15 h。藉由過濾收集產物且用正庚烷(2.42 L)洗滌。產物在減壓下於45°C下乾燥65 h，得到呈灰白色固體狀之所需產物(906 g，91.8%產率)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.08 (dd, *J* = 6.2) 7.72 (m, 1 H), 7.59 (t, *J* = 8.7 Hz, 1 H), 6.67 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 6.55 (s, 2H) 6.52 (t, *J* = 6.0 Hz, 1 H), 3.38 (dd, *J* = 12.7, 6.3 Hz, 2 H), 3.11 (dd, *J* = 12.3, 6.3 Hz, 2H); C₁₂H₁₁BrFN₇O₅S (MW 464.23), LCMS (EI) *m/e* 485.8/487.8 (M⁺ - C₅H₈O₂ + Na)。

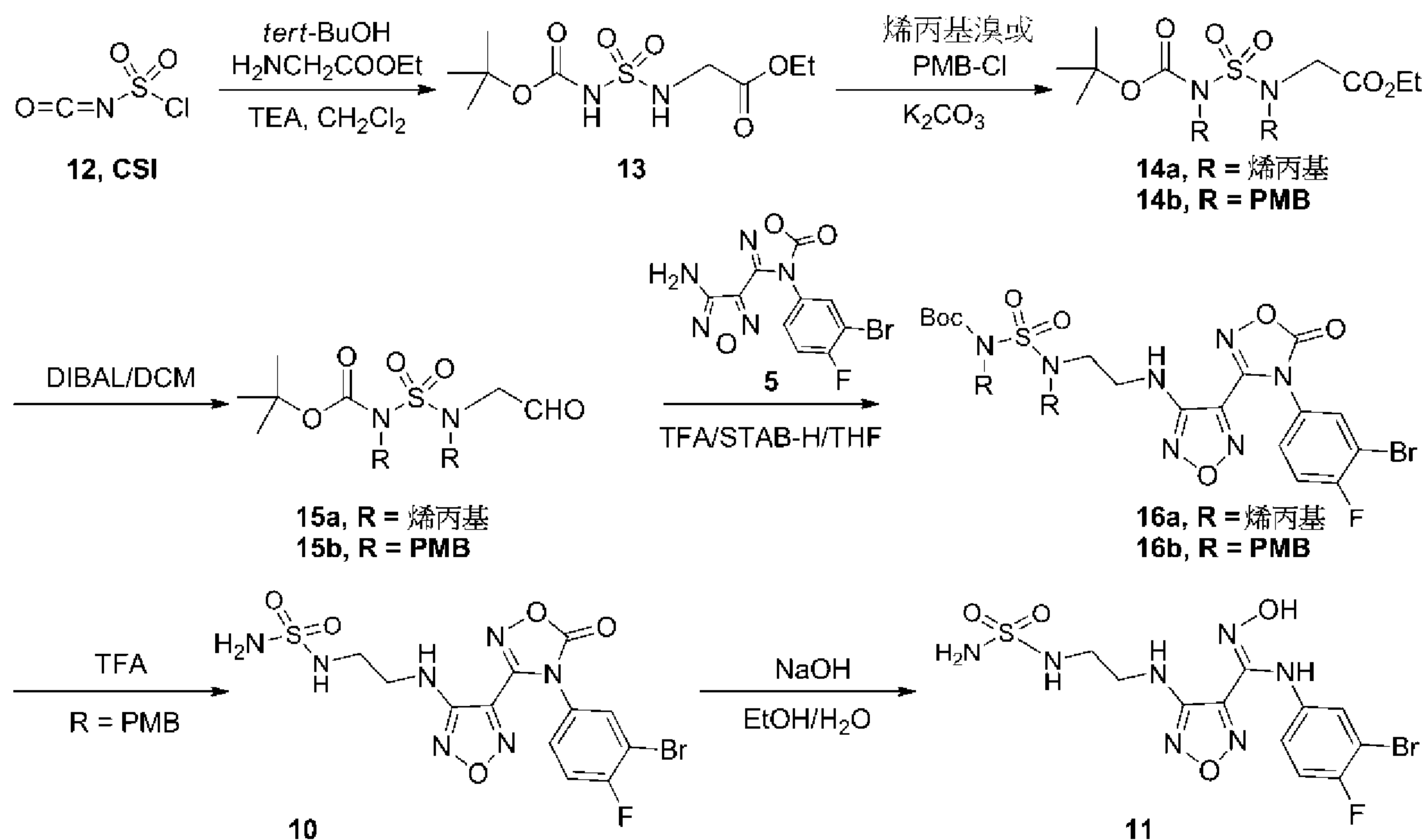
步驟I：4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-*N*-(3-溴-4-氟苯基)-*N'*-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒(11)



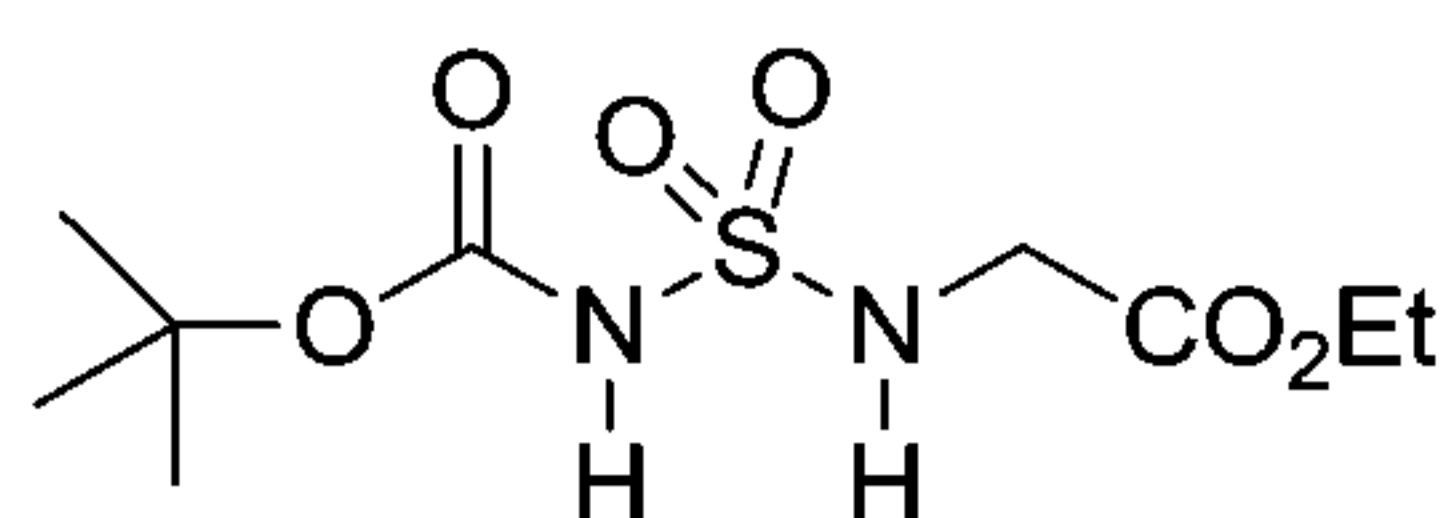
【0269】 向20-L玻璃反應器中添加*N*-[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]磺醯胺(799.4 g，1.72 mol)及THF(3.2 L)。所得溶液在20°C下攪拌7分鐘，且接著饋入水(1.6 L)。批料冷卻至2°C且經8分鐘饋入30 wt%氫氧化鈉溶液(475 mL，666.4 g，4.99 mol，2.9 eq)。批料溫至20°C且該溫度維持16 h。接著經23分鐘在批料中饋入甲基第三丁基醚(8.0 L)。添加水(2.7 L)且批料冷卻至約0°C。接著經9分鐘在批料中饋入85 wt%磷酸(370.7 g，3.22 mol，1.9 eq)。批料溫至20°C且攪拌1 h。使批料沈降且分離各相。有機層保持於反應器中且饋入水(2.9 L)及85 wt%磷酸(370.7 g，3.22 mol)且在20°C下攪拌1 h。使批料沈降且分離各相。有機層保持於反應器中且饋入水(3.2 L)且在20°C下攪拌1 h。使批料沈降且分離各相。有機溶液保持

於反應器中且在減壓下在20°C下蒸餾以移除3.4 Kg餾出物。乙醇(4.8 L)饋入批料中且使批料蒸餾至3.2 L體積。此蒸餾過程再重複一次。乙醇(0.6 L)添加至批料中以調節批料體積至4 L。批料在20°C下攪拌16 h，且接著饋入水(6.39 L)。所得漿料在20°C下攪拌5 h。藉由過濾收集產物且用乙醇(529 mL)及水(1059 mL)之混合物洗滌兩次。產物在減壓下於45°C下乾燥65 h，得到呈白色固體狀之所需產物(719.6 g，95.4%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.51 (s, 1 H), 8.90 (s, 1 H), 7.17 (t, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 7.11 (dd, *J* = 6.1, 2.7 Hz, 1 H), 6.76 (m, 1 H), 6.71 (t, *J* = 6.0 Hz, 1 H), 6.59 (s, 2 H), 6.23 (t, *J* = 6.1 Hz, 1 H), 3.35 (dd, *J* = 10.9, 7.0 Hz, 2 H), 3.10 (dd, *J* = 12.1, 6.2 Hz, 2 H); C₁₁H₁₃BrFN₇O₄S (MW 438.23), LCMS (EI) *m/e* 437.9/439.9 (M⁺ + H)。

實例2. N-[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]磺醯胺之替代製備

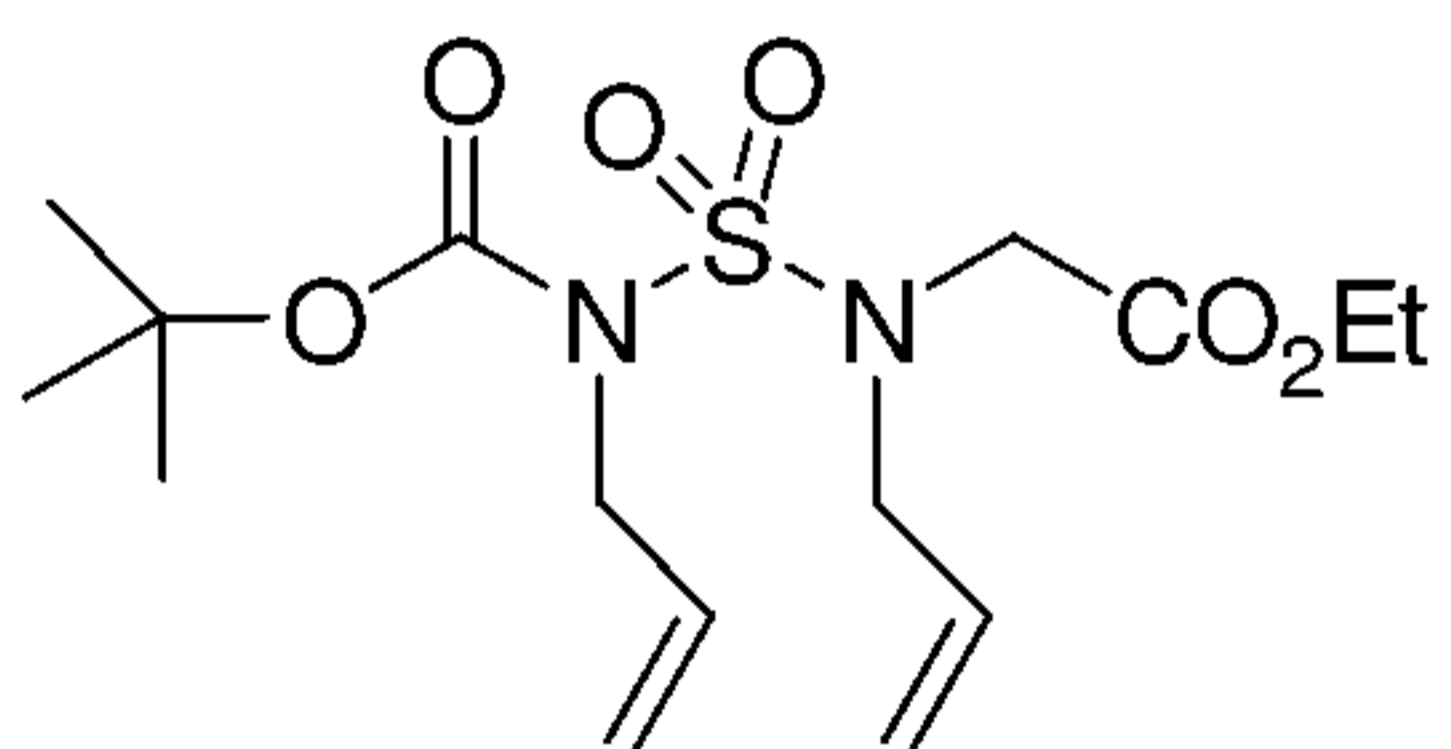


步驟1：{[(第三丁氧羰基)-胺基]磺醯基}胺基乙酸乙酯(13)



【0270】 氯磺醯基異氰酸酯(Sigma-Aldrich)(5.0 mL, 57.4 mmol)於二氯甲烷(100 mL)中之溶液冷卻至0°C。第三丁醇(4.26 g, 57.4 mmol, 1.0 eq)經由加料漏斗添加至二氯甲烷(100 mL)中。此溶液在0°C下攪拌30分鐘。在0°C下添加甘胺酸乙酯鹽酸鹽(8.82 g, 63.2 mmol, 1.1 eq), 繼而逐滴添加三乙胺(20.0 mL, 144 mmol, 2.5 eq)。此反應混合物在室溫下攪拌4 h。反應用二氯甲烷(100 mL)稀釋且用0.1 N鹽酸及鹽水洗滌。有機層經硫酸鈉乾燥且濃縮, 生成呈粗灰白色固體狀之所需產物(13.2 g, 81.4%), 其無需進一步純化即用於後續反應中。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.88 (s, 1H), 8.07 (t, 1H, *J* = 6.1 Hz), 4.08 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 3.78 (d, 2H, *J* = 6.1 Hz), 1.40 (s, 9H), 1.18 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz)。

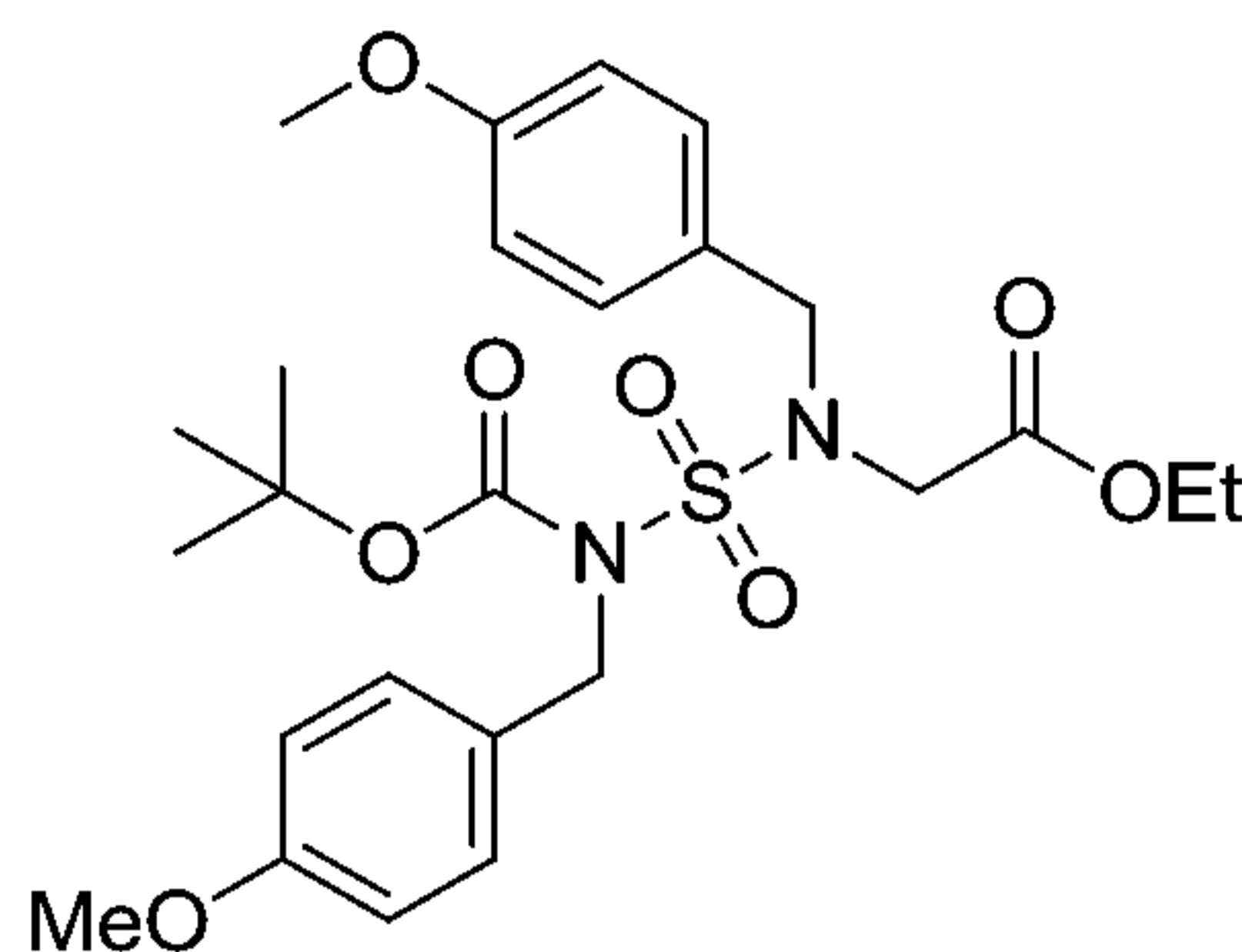
步驟2a. (烯丙基{[烯丙基(第三丁氧羰基)胺基]磺醯基}胺基)乙酸乙酯 (14a)



【0271】 在N₂下, 在室溫下({[(第三丁氧羰基)胺基]磺醯基}胺基)乙酸乙酯(1.0 g, 3.54 mmol)與碳酸鉀(2.45 g, 17.7 mmol, 5.0 eq)及乙腈(23.0 mL)混合。逐滴添加烯丙基溴(1.84 mL, 21.2 mmol, 6.0 eq)。此反應混合物加熱至70°C且在彼溫度下攪拌14 h。HPLC及LCMS指示反應完成。過濾反應, 且濃縮濾液。殘餘物溶解於二氯甲烷中且用碳酸氫鈉及鹽水洗滌。有機層經硫酸鈉乾燥且濃縮, 生成呈粗灰白色固體狀之所需產物(1.11 g, 87%), 其無需進一步純化即用於後續反應中。¹H NMR (300

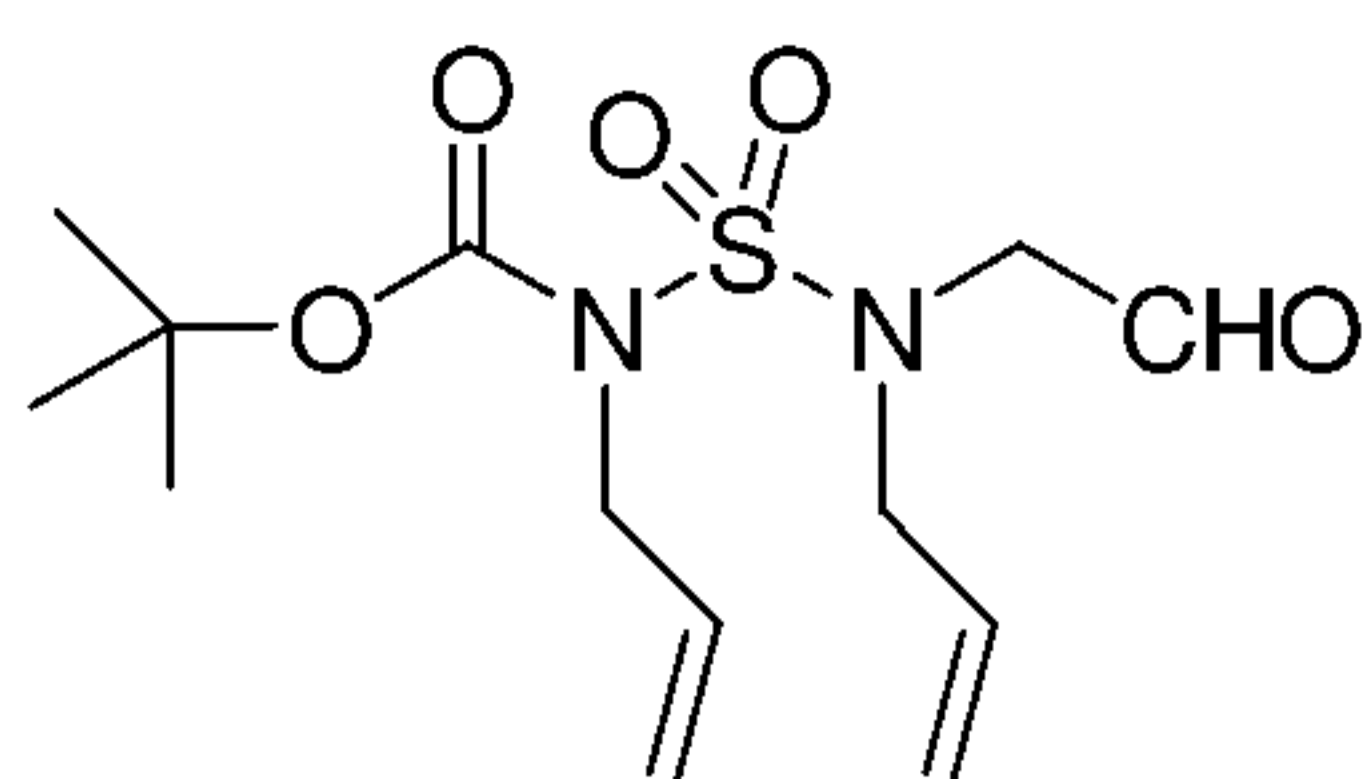
MHz, DMSO- d_6) δ 5.75 (m, 2H), 5.20 (m, 4H), 4.12 (m, 6H), 3.89 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.18 (t, 3H, $J = 8.7$ Hz)。

步驟2b. [{{[(第三丁氧羰基)(4-甲氧基苯甲基)胺基]磺醯基}(4-甲氧基苯甲基)胺基]乙酸乙酯(14b)



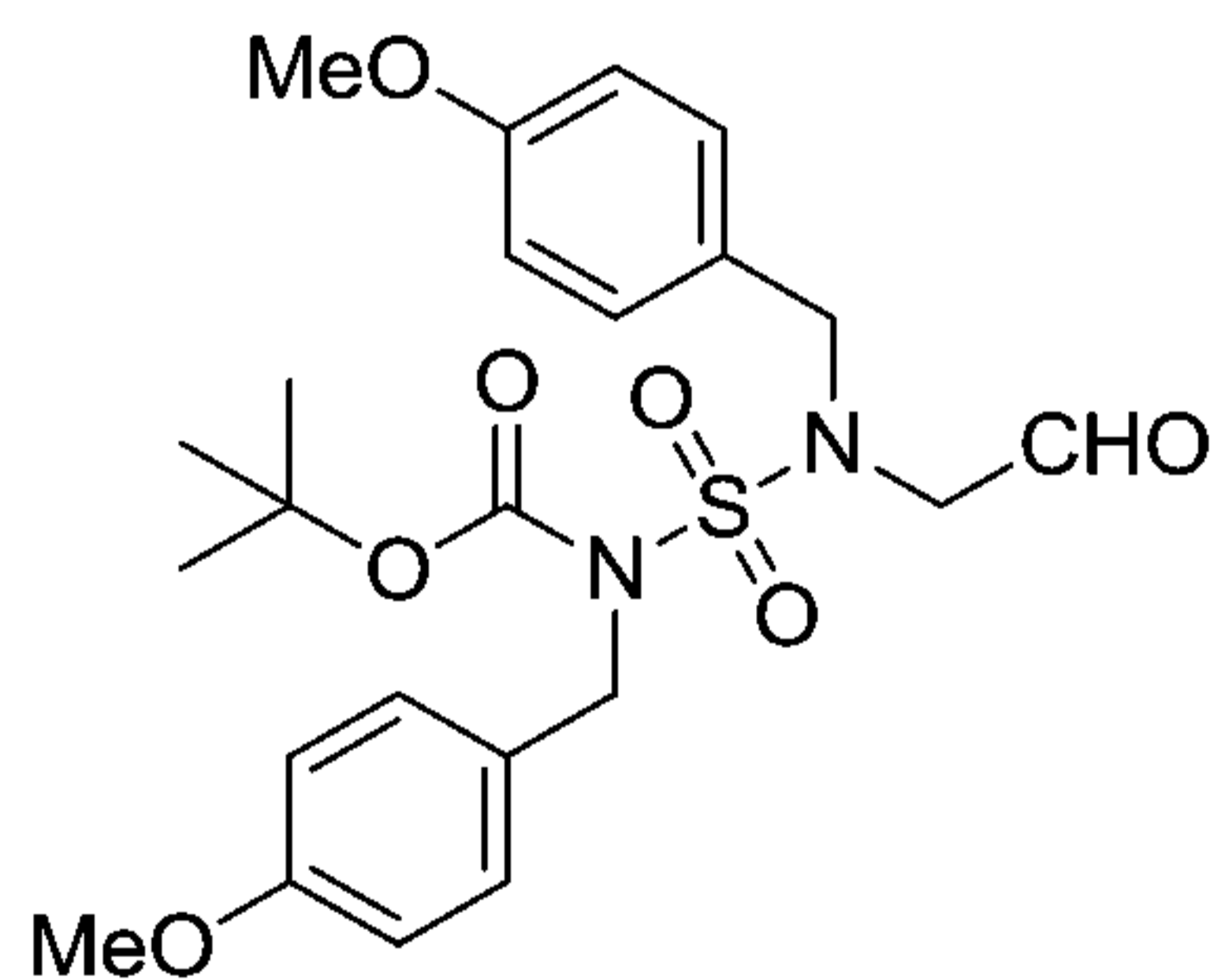
【0272】 在室溫下，({[(第三丁氧羰基)胺基]磺醯基}胺基)乙酸乙酯(1.00 g, 4.0 mmol)與 N,N -二甲基甲醯胺(DMF, 6.0 mL)混合且攪拌。碘化鈉(0.01 g, 0.1 mmol, 0.025 eq)、碳酸鉀(2.40 g, 20 mmol, 5.0 eq)及對甲氧基苯甲基氯(2.64 mL, 19.5 mmol, 4.875 eq)添加至混合物中。此反應溫至 80°C 且在 80°C 下攪拌2 h。LCMS指示反應完成。反應冷卻至室溫且經矽藻土過濾。矽藻土床用二氯甲烷洗滌且濃縮合併之有機濾液。濃縮之殘餘物溶解於二氯甲烷(20 mL)中且用碳酸氫鈉(5 x 12 mL)及鹽水洗滌。有機層經硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物經矽膠(0–40%乙酸乙酯/己烷梯度溶離)純化，生成呈灰白色固體狀之所需產物(1.39 g, 80%)。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 7.22 (m, 2H), 7.14 (m, 2H), 6.88 (m, 4H), 4.64 (s, 2H), 4.33 (s, 2H), 4.03 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz), 3.92 (s, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 1.39 (s, 9H), 1.14 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz)。

步驟3a. 烯丙基[{{烯丙基(2-側氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基]甲酸第三丁酯(15a)



【0273】 (烯丙基{[烯丙基(第三丁氧羰基)胺基]磺醯基}胺基)乙酸乙酯(1.11 g, 3.05 mmol)於二氯甲烷(15 mL)中之溶液在 -78°C 下在 N_2 下用含1.0 M二異丁基氫化鋁之二氯甲烷(3.66 mL, 3.66 mmol, 1.2 eq)處理。反應混合物在 -78°C 下攪拌1 h且接著用甲醇(1.5 mL)淬滅，且用飽和酒石酸鉀鈉溶液(65 mL)處理。此溶液在室溫下攪拌隔夜。水層接著用二氯甲烷(3 x 20 mL)萃取。合併之二氯甲烷溶液用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾且濃縮，生成呈粗黏稠無色油狀之所需產物(0.62 g, 64%)，其無需進一步純化即用於後續反應中。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.45 (s, 1H), 5.76 (m, 2H), 5.18 (m, 4H), 4.15 (m, 4H), 3.72 (m, 2H), 1.43 (s, 9H)。

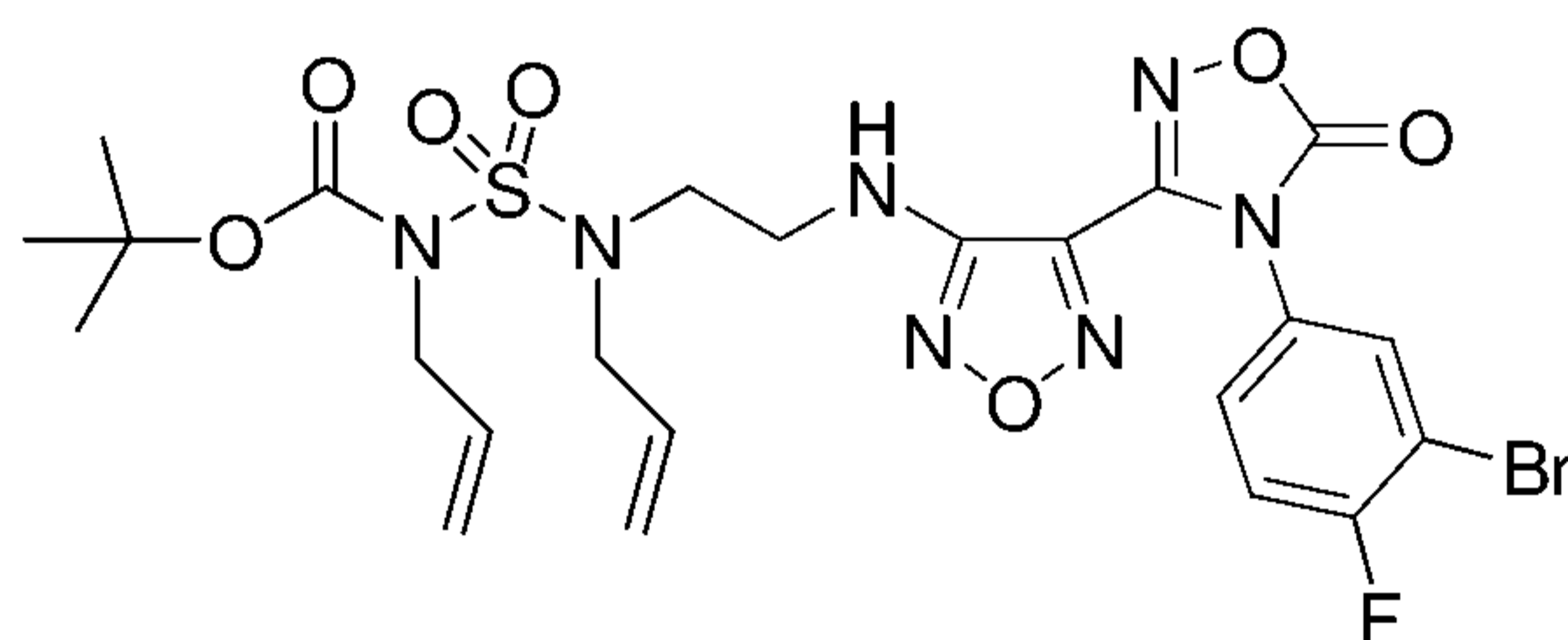
步驟3b. (4-甲氧基苯甲基){[(4-甲氧基苯甲基)(2-側氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸第三丁酯(15b)



【0274】 [[[(第三丁氧羰基)(4-甲氧基苯甲基)胺基]磺醯基](4-甲氧基苯甲基)胺基]乙酸乙酯(5.30 g, 10 mmol)於二氯甲烷(20.0 mL)中之溶液在 -78°C 下在 N_2 下用含1.0 M二異丁基氫化鋁之二氯甲烷(12.2 mL, 12.2 mmol, 1.22 eq)處理。反應混合物在 -78°C 下攪拌3 h。反應接著用甲醇(3 mL)淬滅且用二氯甲烷(100 mL)及飽和酒石酸鉀鈉溶液(150 mL)處理。此

溶液在室溫下攪拌隔夜。水層接著用二氯甲烷(3 x 20 mL)萃取。合併之二氯甲烷溶液用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物接著經矽膠(0-30%乙酸乙酯/己烷梯度溶離)純化，生成呈灰白色固體狀之所需產物(3.45 g, 71%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.24 (s, 1H), 7.23 (m, 4H), 6.88 (m, 4H), 4.68 (s, 2H), 4.31 (s, 2H), 4.07 (s, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 1.40 (s, 9H)。

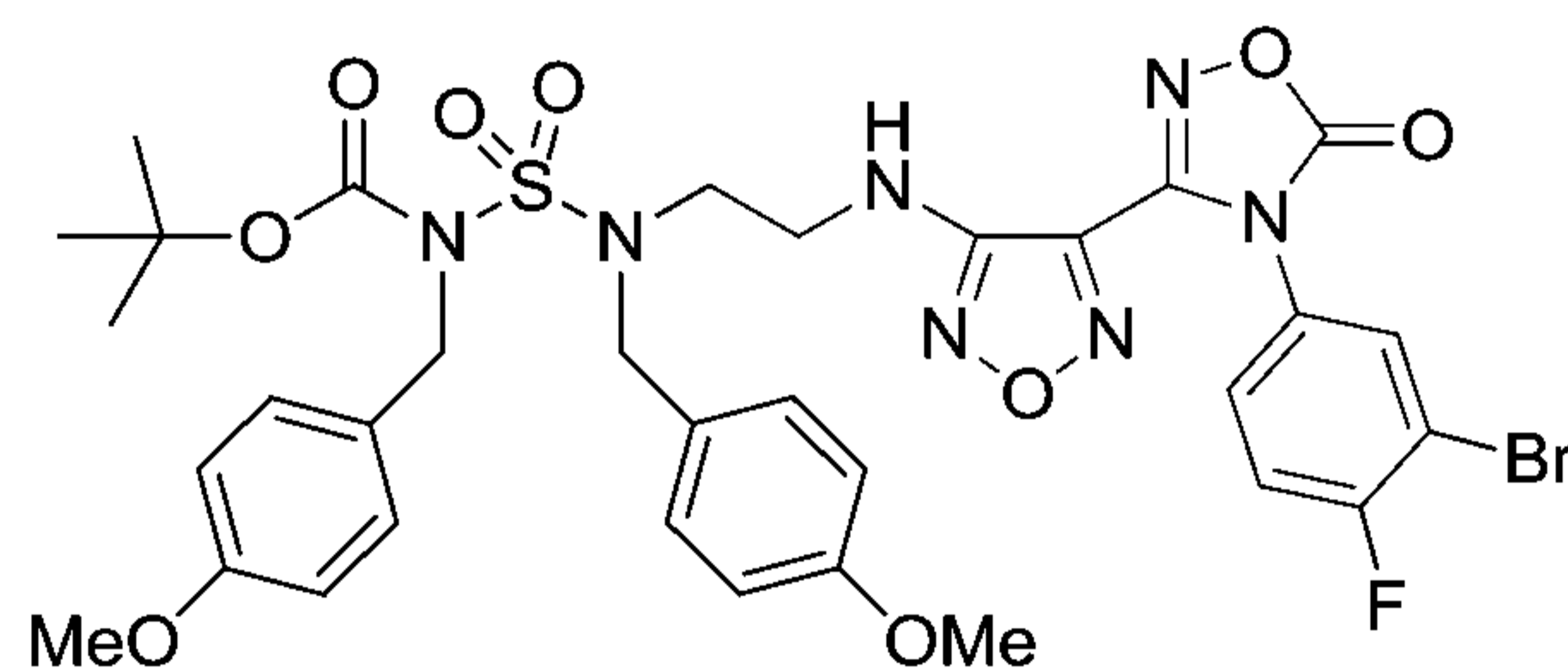
步驟4a. 烯丙基(*N*-烯丙基-*N*-(2-(4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基)-1,2,5-噁二唑-3-基胺基)乙基)胺磺醯基)胺基甲酸第三丁酯(16a)



【0275】 在環境溫度下向50-mL燒瓶中添加三乙醯氧基硼氫化鈉(1.06 g, 5.0 mmol, 1.0 eq)、三氟乙酸(TFA, 2.0 mL, 26 mmol)及四氫呋喃(THF, 1.0 mL)。此混合物在N₂下冷卻至-5°C且在0-5°C下攪拌10分鐘。在0-5°C下經5分鐘向此溶液中逐滴添加含3-(4-胺基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4*H*)-酮(0.171 g, 5.0 mmol; 步驟D)及烯丙基{[烯丙基(2-側氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸第三丁酯(0.398 g, 2.5 mmol, 0.5 eq)之THF(1.5 mL)。所得反應混合物在N₂下在0-5°C下攪拌。在20分鐘、40分鐘及2.5 h時間點，在0-5°C下逐滴添加烯丙基{[烯丙基(2-側氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸第三丁酯(0.040 g, 0.125 mmol, 0.25 eq)於THF(0.20 mL)中之溶液。在2.5 h，在0-5°C下添加三乙醯氧基硼氫化鈉(0.211 g, 1.0 mmol, 0.2 eq)於三氟乙酸(TFA,

1.5 mL, 9.5 mmol)中之溶液。反應溫至室溫且攪拌隔夜。反應混合物接著傾入冰冷飽和碳酸鈉溶液(50 mL)中且用二氯甲烷(3 x 20 mL)萃取。合併之二氯甲烷萃取物用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物接著經矽膠(0-75%乙酸乙酯/己烷梯度溶離)純化，生成呈灰白色固體狀之所需產物(0.239 g, 74.2%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.07 (m, 1H), 7.71 (m, 1H), 7.58 (t, 1H, J = 8.7 Hz), 6.62 (m, 1H), 5.77 (m, 2H), 5.19 (m, 4H), 4.17 (m, 2H), 3.89 (m, 2H), 3.44 (m, 2H), 3.38 (m, 2H), 1.42 (s, 9H); C₂₃H₂₇BrFN₇O₇S (MW 644.47), LCMS (EI) *m/e* 544/546 (M⁺ - Boc + H)。

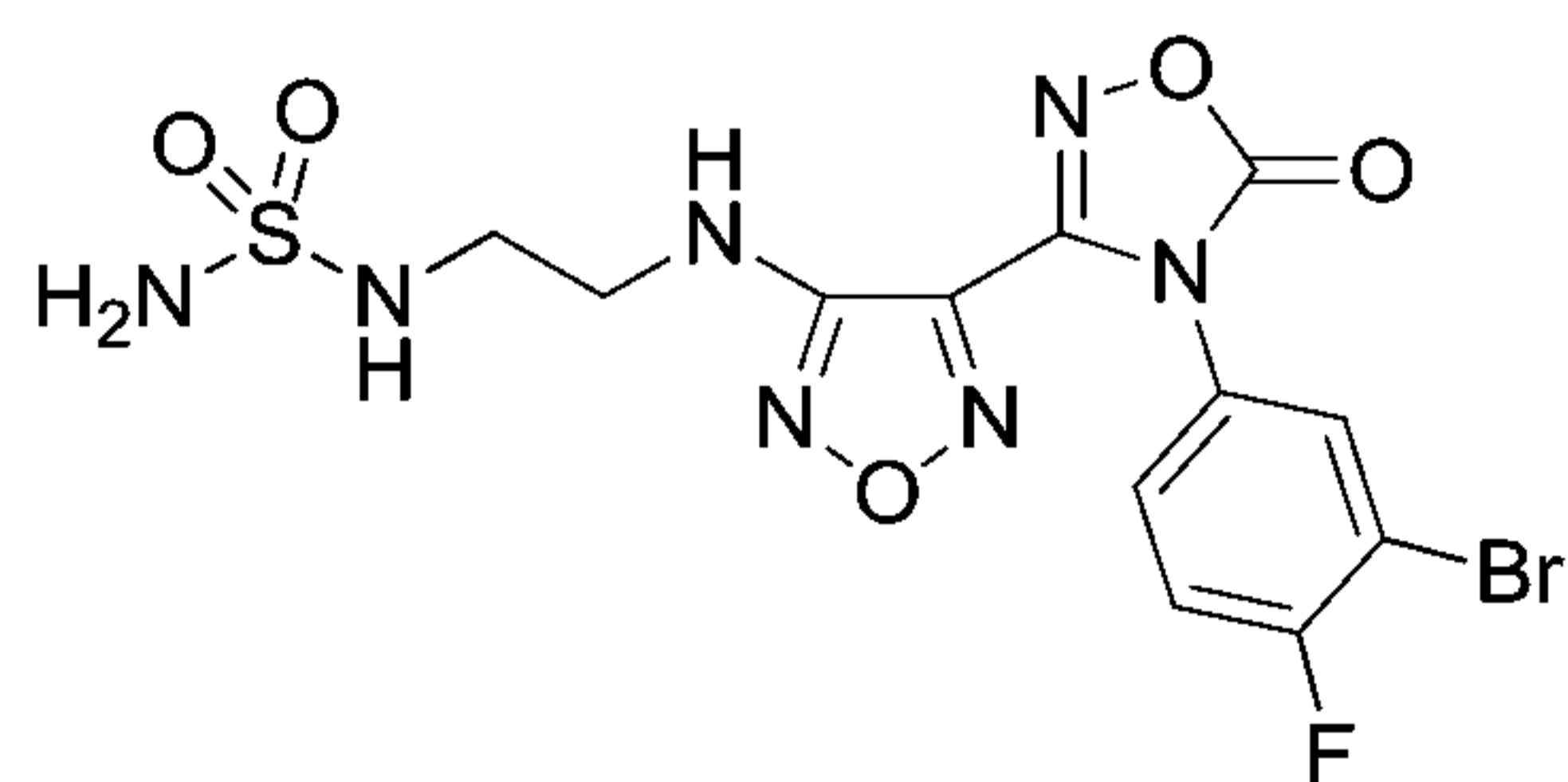
步驟4b. *N*-(2-(4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基)-1,2,5-噁二唑-3-基胺基)乙基)-*N*-(4-甲氧基苯甲基)胺磺醯基(4-甲氧基苯甲基)胺基甲酸第三丁酯(16b)



【0276】 在環境溫度下向50-mL燒瓶中添加三乙醯氧基硼氫化鈉(0.50 g, 2.37 mmol, 4.74 eq)、三氟乙酸(TFA, 1.0 mL, 13 mmol)及四氫呋喃。此混合物在N₂下冷卻至0-5°C且在0-5°C下攪拌10分鐘。在0-5°C下向此溶液中添加含(4-甲氧基苯甲基){[(4-甲氧基苯甲基)(2-側氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸第三丁酯(0.40 g, 0.84 mmol, 1.68 eq)及3-(4-胺基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮(0.17 g, 0.50 mmol; 步驟D)之四氫呋喃(THF, 1.50 mL)。反應在0-5°C下攪拌45分鐘且接著在0-5°C下添加(4-甲氧基苯甲基){[(4-甲氧基苯甲基)(2-側氧

基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸第三丁酯(0.12 g, 0.20 mmol, 0.4 eq)於THF(0.50 mL)中之溶液。在0-5°C下攪拌1 h之後，反應在攪拌下逐漸溫至室溫。在2.5 h及4.5 h時間點，添加三氟乙酸(0.25 mL)。在5 h，添加(4-甲氧基苯甲基){[(4-甲氧基苯甲基)(2-側氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸第三丁酯(0.060 g, 0.1 mmol, 0.2 eq)於THF(0.20 mL)中之溶液。在6.5 h，添加三乙醯氧基硼氫化鈉(0.060 g, 0.24 mmol, 0.48 eq)於三氟乙酸(0.25 mL)中之溶液。HPLC指示約4%之3-(4-胺基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮起始材料(來自步驟D)仍保留。反應混合物在室溫下攪拌隔夜。HPLC指示反應完成。反應混合物傾入冰冷飽和碳酸鈉溶液(50 mL)中且混合物用二氯甲烷(3 x 20 mL)萃取。合併之二氯甲烷萃取物用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物接著經矽膠(0-30%乙酸乙酯/己烷梯度溶離)純化，生成呈灰白色固體狀之所需產物(0.33 g, 82.5%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.06 (m, 1H), 7.69 (m, 1H), 7.57 (t, 1H, *J* = 8.7 Hz), 7.22 (m, 4H), 6.87 (m, 4H), 6.48 (m, 1H), 4.72 (s, 2H), 4.36 (s, 2H), 3.70 (s, 6H), 3.39 (m, 2H), 3.31 (m, 2H), 1.37 (s, 9H) ; C₃₃H₃₅BrFN₇O₉S (MW 804.64), LCMS (EI) *m/e* 826/828 (M⁺ - Boc + Na)。

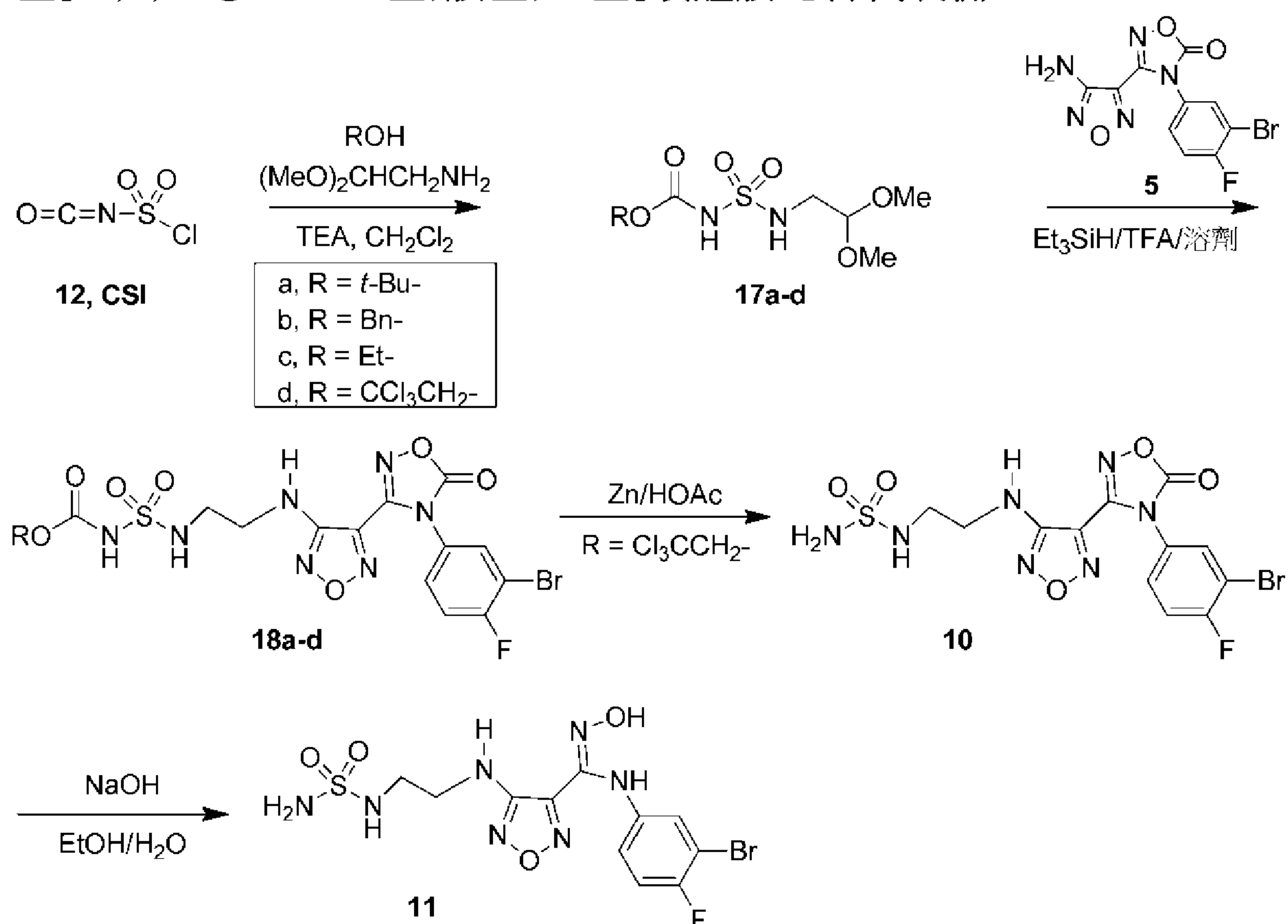
步驟5 : *N*-[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]磺醯胺(10)



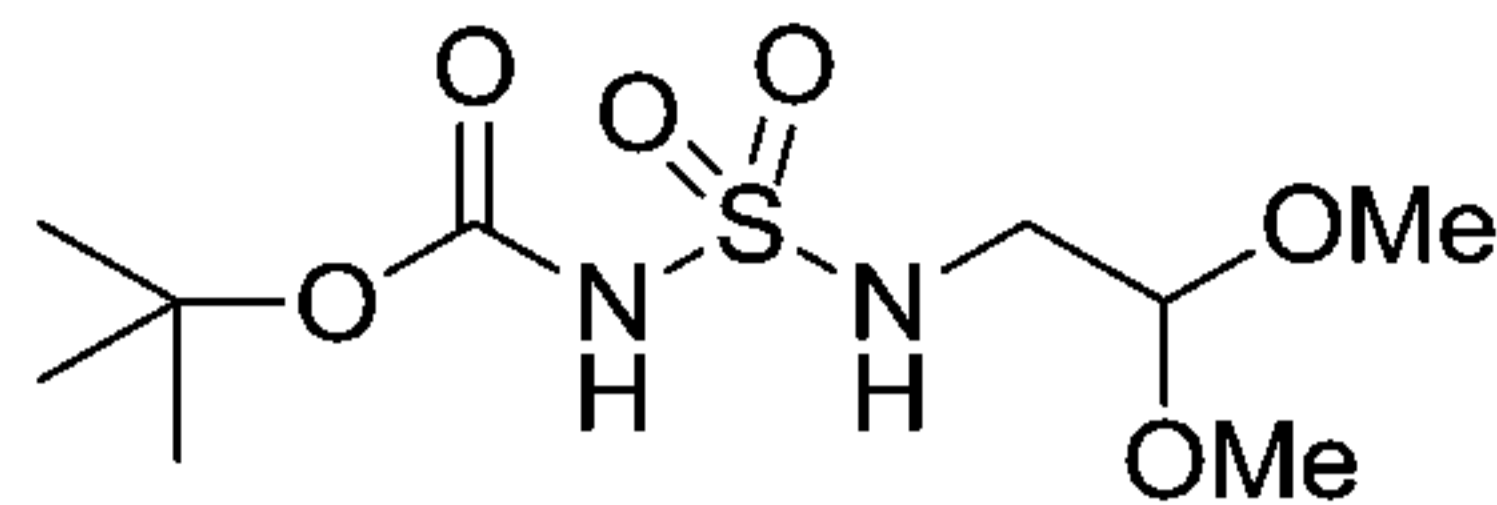
【0277】 在環境溫度下向25-mL燒瓶中添加含{[[2-({4-[4-(3-溴-4-氟

苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基](4-甲氧基苯甲基)胺基]磺醯基}(4-甲氧基苯甲基)胺基甲酸第三丁酯(40.2 mg, 0.050 mmol)之三氟乙酸(TFA, 0.50mL, 6.5 mmol)。此反應混合物在N₂下加熱至70°C且攪拌1 h。HPLC指示反應完成。反應混合物冷卻至室溫且TFA蒸發。殘餘TFA藉由用二氯甲烷(3 x 10 mL)處理，接著在真空下蒸發來移除。殘餘物接著用二氯甲烷及甲醇濕磨，生成呈粗灰白色固體狀之所需產物(20 mg, 87%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.08 (dd, *J* = 6.2, 2.5 Hz, 1 H), 7.72 (m, 1 H), 7.59 (t, *J* = 8.7 Hz, 1 H), 6.67 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 6.55 (s, 2H) 6.52 (t, *J* = 6.0 Hz, 1 H), 3.38 (dd, *J* = 12.7, 6.3 Hz, 2 H), 3.11 (dd, *J* = 12.3, 6.3 Hz, 2H); C₁₂H₁₁BrFN₇O₅S (MW 464.23), LCMS (EI) *m/e* 487.8/489.8 (M⁺ + Na)。

實例3. *N*-[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基)胺基)乙基]磺醯胺之替代製備

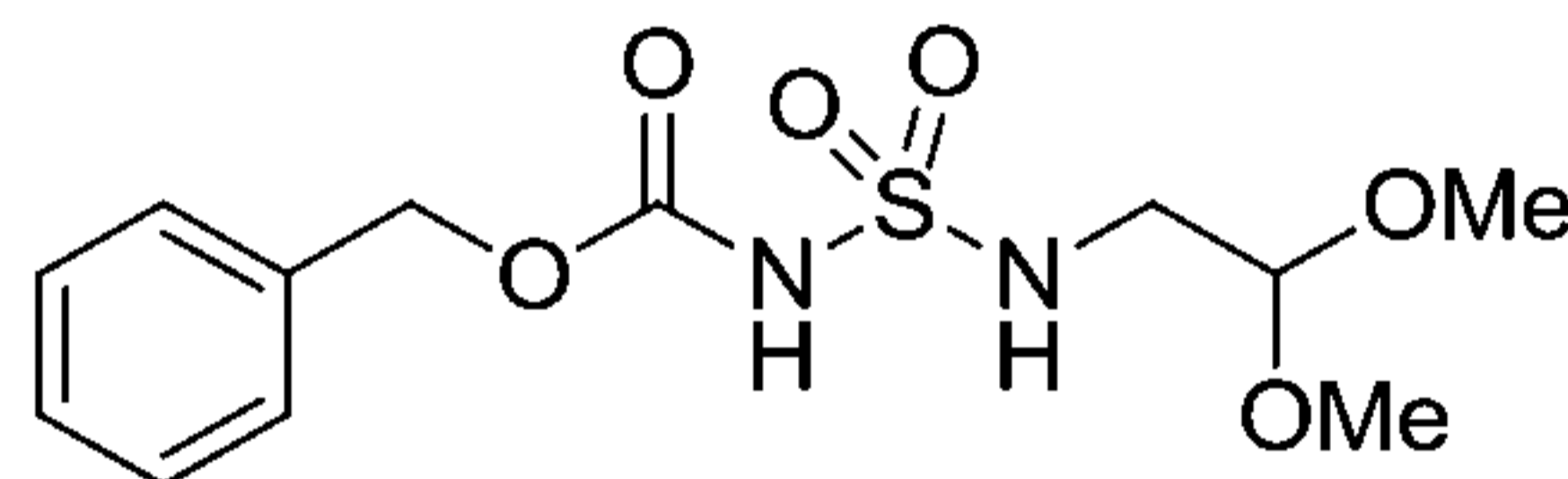


步驟1a. *N*-(2,2-二甲氧基乙基)胺磺醯基胺基甲酸第三丁酯(17a)



【0278】 氯磺醯基異氰酸酯(11.32 g, 80 mmol)於二氯甲烷(120 mL)中之溶液冷卻至0°C。第三丁醇(7.65 mL, 80.0 mmol, 1.0 eq)經由加料漏斗添加。混合物在0°C下攪拌1.5 h。經由加料漏斗向此混合物中逐滴添加胺基乙醛二甲縮醛(8.76 mL, 80.0 mmol, 1.0 eq)及三乙胺(TEA, 33.4 mL, 240 mmol, 3.0 eq)於二氯甲烷(DCM, 120.0 mL)中之溶液。反應溫至室溫且攪拌隔夜。反應用0.1 N鹽酸處理，且有機層用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥且濃縮，生成呈粗灰白色固體狀之所需產物(15.6 g, 68.5%)，其無需進一步純化即用於後續反應中：¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.84 (s, 1H), 7.62 (t, 1H, *J* = 6.0 Hz), 4.38 (t, 1H, *J* = 5.5 Hz), 3.24 (s, 6H), 2.96 (dd, 2H, *J* = 5.8 Hz), 1.41(s, 9H)。

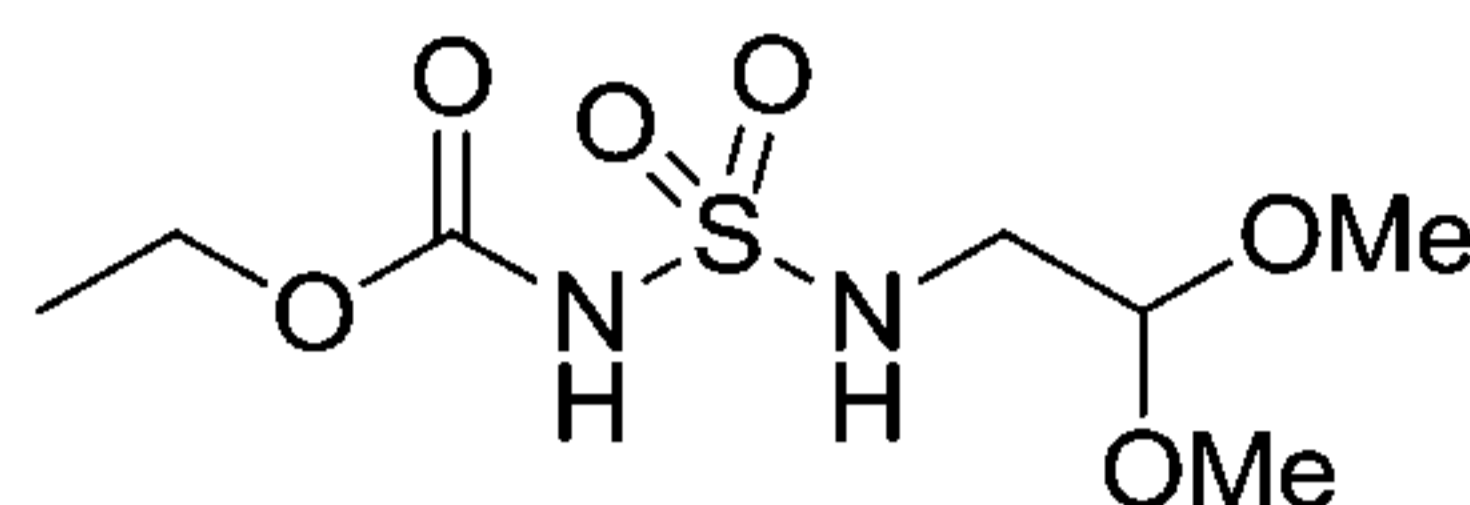
步驟1b. *N*-(2,2-二甲氧基乙基)胺磺醯基胺基甲酸苯甲酯(17b)



【0279】 氯磺醯基異氰酸酯(16.26 g, 114.9 mmol)於二氯甲烷(100 mL)中之溶液冷卻至0°C。苯甲醇(12.44 g, 115.0 mmol, 1.0 eq)經由加料漏斗添加。混合物在0°C下攪拌0.5 h。在低於15°C下經由加料漏斗向此混合物中逐滴添加胺基乙醛二甲縮醛(13.25 g, 126.0 mmol, 1.1 eq)及三乙胺(TEA, 17.4 g, 172 mmol, 1.5 eq)之混合物。反應溫至室溫且攪拌隔夜。反應混合物用0.5 N鹽酸(100 mL)處理且收集之有機相用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥且在真空中濃縮，生成呈粗灰白色固體狀之所需產物(23.5 g, 64.3%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.29 (s, 1H), 7.90

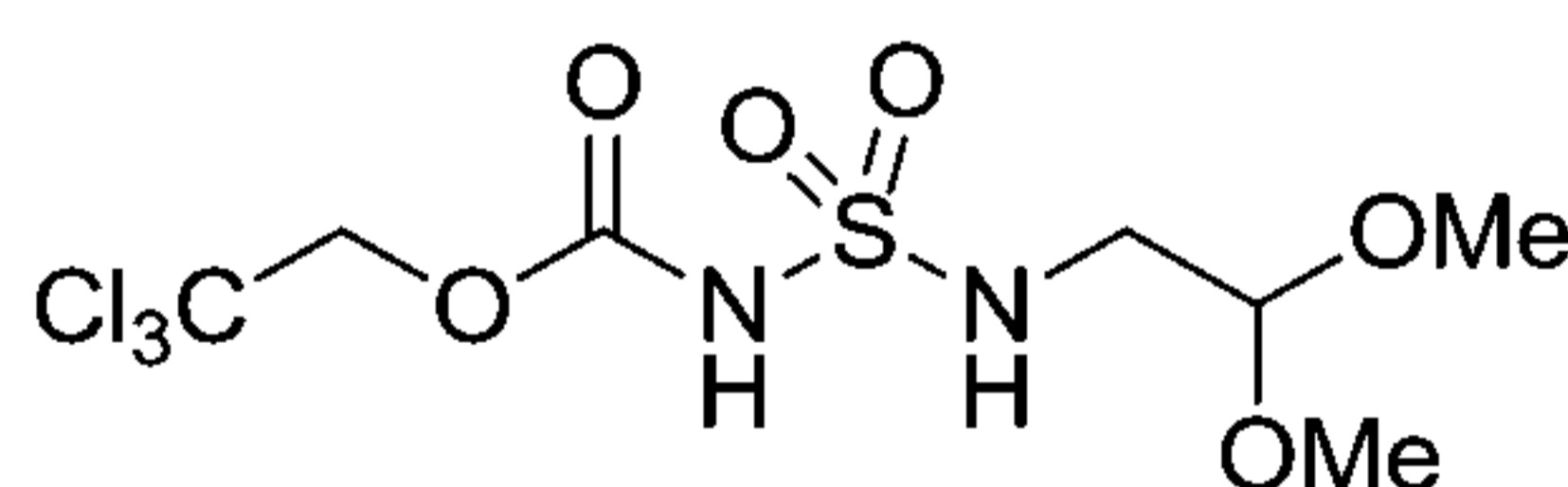
(t, 1H, $J = 6.0$ Hz), 7.37 (m, 5H), 5.12 (s, 2H), 4.35 (t, 1H, $J = 5.5$ Hz), 3.21 (s, 6H), 2.97 (dd, 2H, $J = 5.8$ Hz)。

步驟1c. *N*-(2,2-二甲氧基乙基)胺磺醯基胺基甲酸乙酯(17c)



【0280】 氯磺醯基異氰酸酯(11.32 g, 80 mmol)於二氯甲烷(120 mL)中之溶液冷卻至0°C。乙醇(4.67 mL, 80.0 mmol, 1.0 eq)經由加料漏斗添加。混合物在0°C下攪拌1.5 h。在0°C下經由加料漏斗向此混合物中逐滴添加胺基乙醛二甲縮醛(8.76 mL, 80.0 mmol, 1.0 eq)、三乙胺(TEA, 33.4 mL, 240 mmol, 3.0 eq)於二氯甲烷(DCM, 120.0 mL)中之溶液。反應溫至室溫且攪拌隔夜。反應用0.1 N鹽酸處理且收集之有機相用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥且在真空中濃縮，生成呈粗灰白色固體狀之所需產物(11.2 g, 55%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.13 (s, 1H), 7.81 (t, 1H, $J = 6.0$ Hz), 4.37 (t, 1H, $J = 5.5$ Hz), 4.09 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz), 3.23 (s, 6H), 2.97 (dd, 2H, $J = 5.8$ Hz), 1.19 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz)。

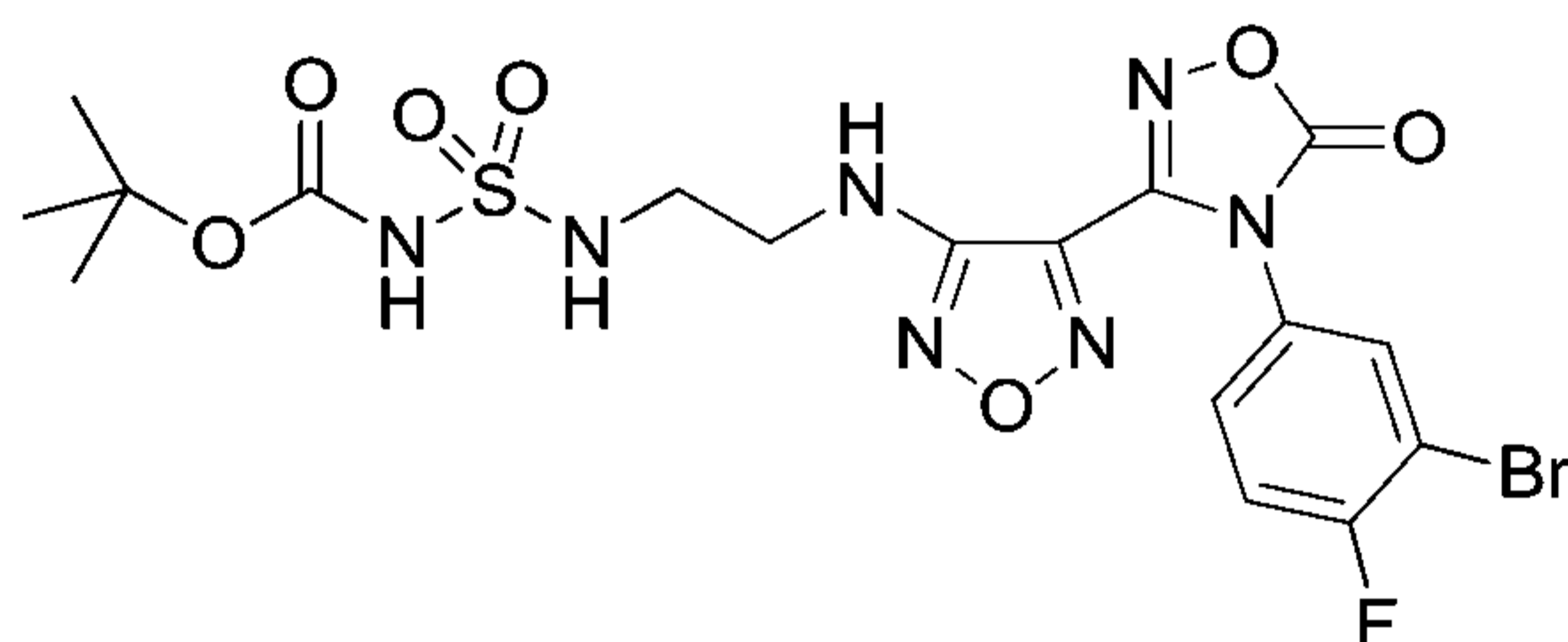
步驟1d. *N*-(2,2-二甲氧基乙基)胺磺醯基胺基甲酸2,2,2-三氯乙酯(17d)



【0281】 氯磺醯基異氰酸酯(6.96 mL, 80 mmol)於二氯甲烷(120 mL)中之溶液冷卻至0°C。在0°C下，2,2,2-三氯乙醇(7.67 mL, 80.0 mmol, 1.0 eq)經由加料漏斗添加。此混合物在0°C下攪拌1.5 h。接著在0°C下經由加料漏斗向此混合物中逐滴添加胺基乙醛二甲縮醛(8.76 mL, 80.0 mmol, 1.0 eq)及三乙胺(TEA, 33.4 mL, 240 mmol, 3.0 eq)於二

氯甲烷(DCM, 120.0 mL)中之溶液。反應溫至室溫且在室溫下攪拌隔夜。反應用0.1 N鹽酸處理，且收集之有機相用鹽水洗滌，經Na₂SO₄乾燥且濃縮，生成呈粗灰白色固體狀之所需產物(28.01 g, 97%)，其無需進一步純化即用於後續反應中。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.79 (s, 1H), 8.08 (t, 1H, *J* = 5.9 Hz), 4.90 (s, 2H), 4.37 (t, 1H, *J* = 5.5 Hz), 3.23 (s, 6H), 3.00 (dd, 2H, *J* = 5.7 Hz)。

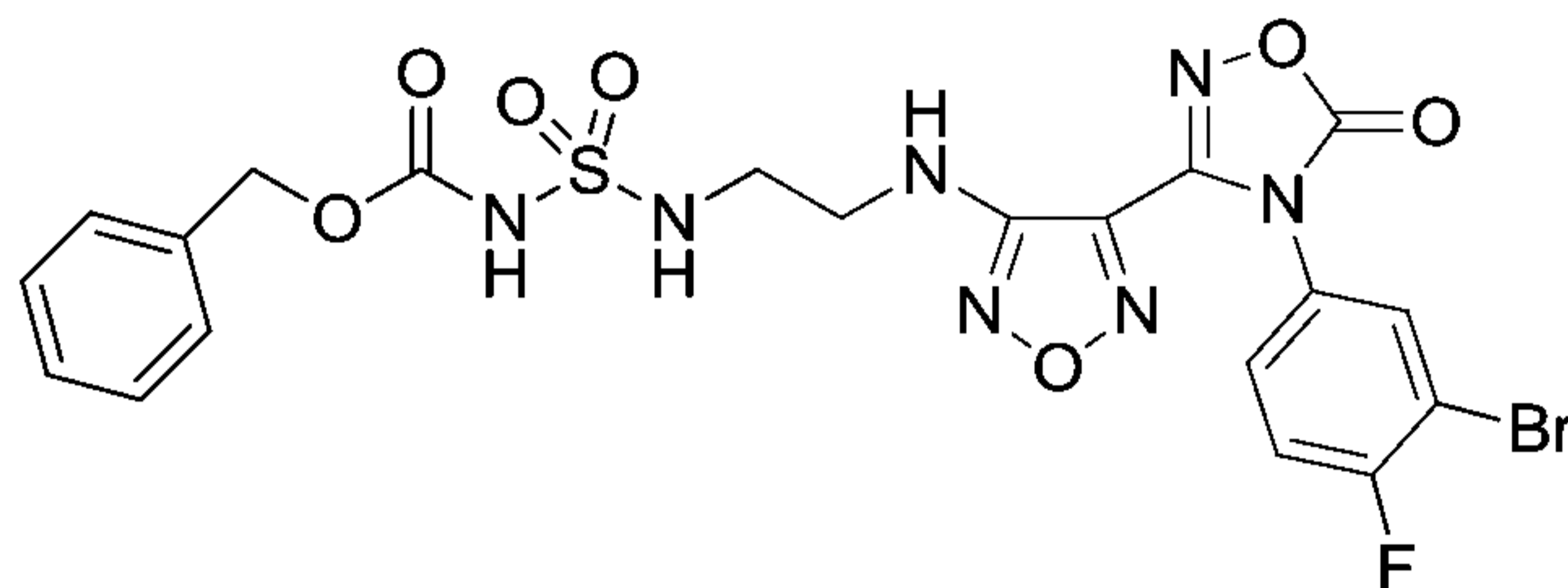
步驟2a. ({{[2-({[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基}磺醯基)胺基甲酸第三丁酯(18a)



【0282】 在N₂下在室溫下攪拌3-(4-胺基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4*H*)-酮(103 mg, 0.302 mmol, 1.5 eq; 步驟D)及*N*-(2,2-二甲氧基乙基)胺磺醯基胺基甲酸第三丁酯(57.2 mg, 0.201 mmol)於二氯甲烷(1.0 mL)中之混合物。向此混合物中逐滴添加三氟乙酸(0.50 mL, 6.5 mmol)及三乙基矽烷(80.2 μL, 0.502 mmol, 2.5 eq)。此反應混合物在室溫下攪拌2 h。HPLC指示約30%轉化。反應混合物冷卻至0°C且用飽和碳酸氫鈉淬滅至pH約為8。混合物用乙酸乙酯(3 x 10 mL)萃取。合併之有機萃取物用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物藉由製備型TLC(50%乙酸乙酯/己烷)純化，生成呈灰白色固體狀之所需產物(27.5 mg, 29.5%)。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): 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,

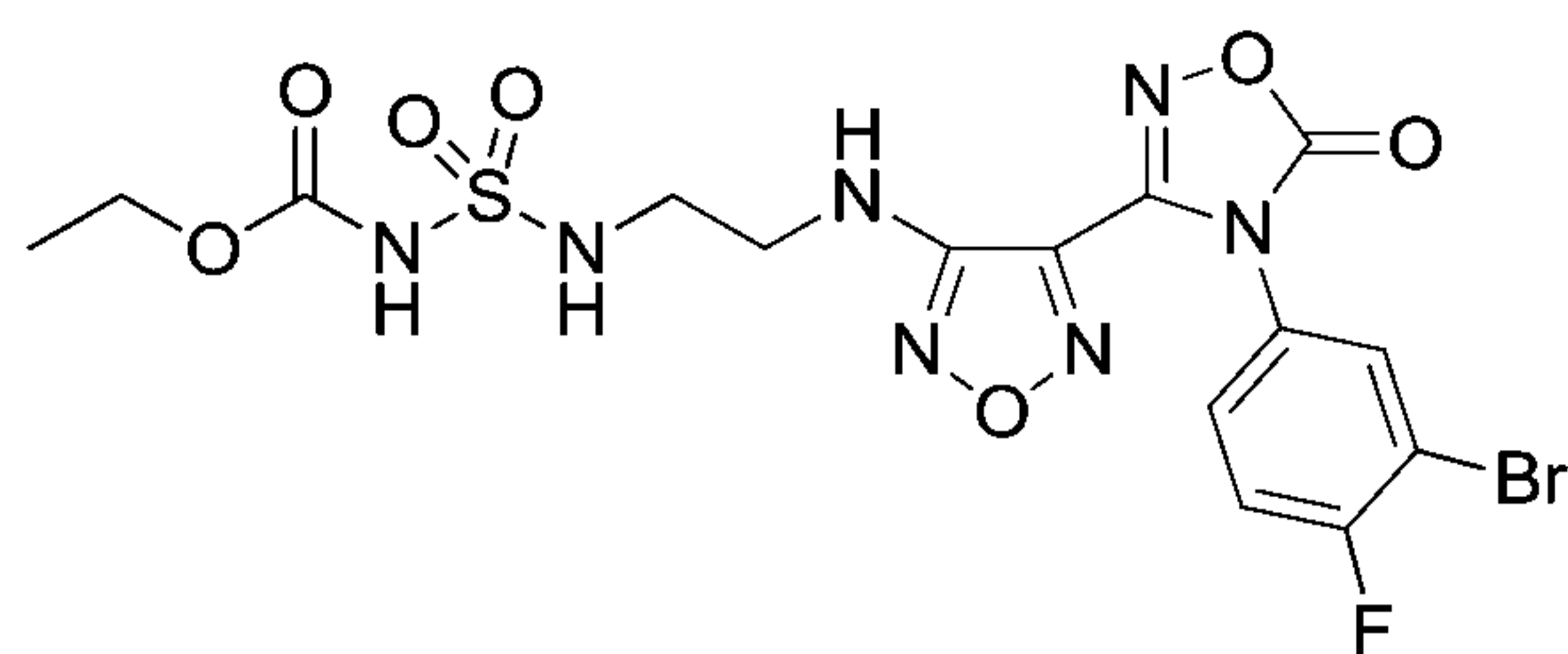
5.9Hz, 2H), 1.41 (s, 9H)。C₁₇H₁₉BrFN₇O₇S (MW 564.34), LCMS (EI) *m/e* 485.8/487.8 (M⁺ - C₅H₈O₂ + Na)。

步驟2b. ([2-([4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基)胺基)乙基胺基]磺醯基)胺基甲酸苯甲酯(18b)



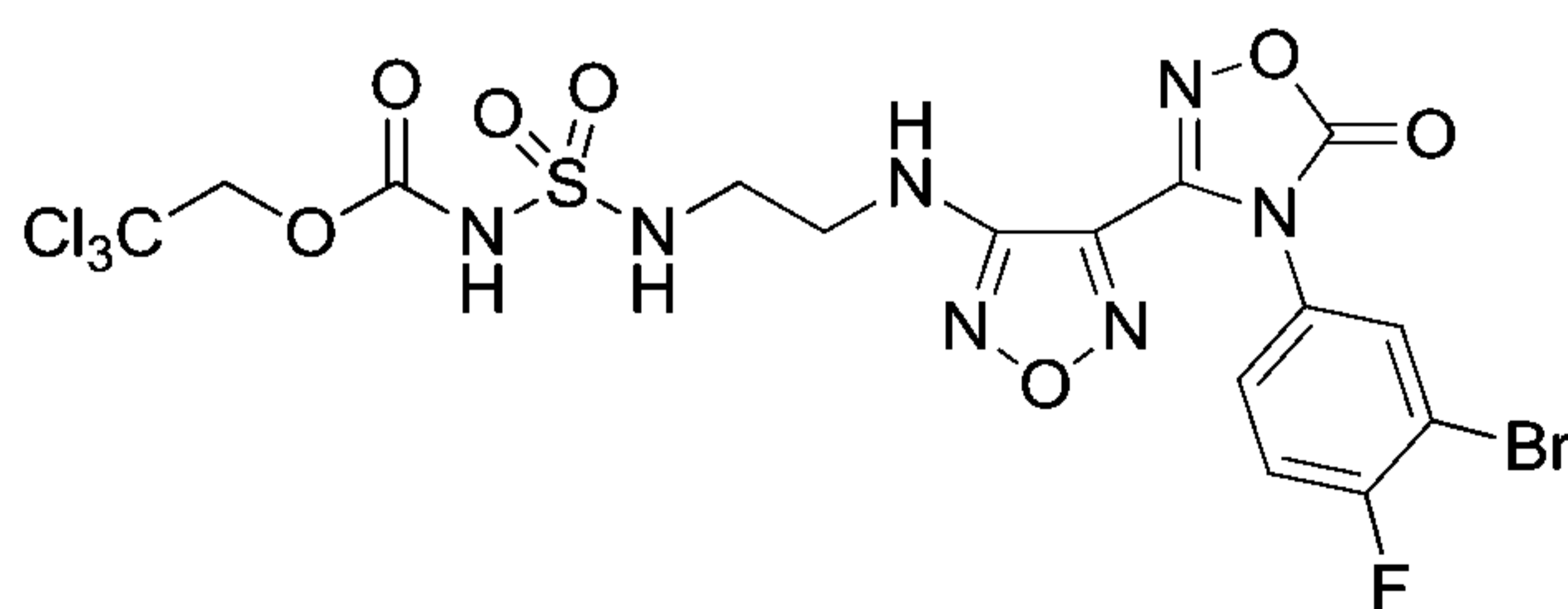
【0283】 3-(4-胺基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4*H*)-酮(68 mg, 0.20 mmol; 來自步驟D)及{[(2,2-二甲氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸苯甲酯(191 mg, 0.60 mmol, 3.0 eq)於1,2-二氯乙烷(3.0 mL)中之混合物冷卻至0°C。向此混合物中逐滴添加三氟乙酸(1.0 mL, 13.0 mmol)及三乙基矽烷(105 μL, 0.66 mmol, 3.3 eq)。此反應混合物在0°C下攪拌2 h。HPLC指示反應完成。反應混合物冷卻至0°C且用飽和碳酸氫鈉淬滅至pH約為8。且淬滅之反應混合物用EtOAc(3 x 10 mL)萃取。合併之有機萃取物用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物接著在庚烷及乙醚之混合物中攪拌隔夜。藉由過濾收集固體，用庚烷洗滌且在真空中乾燥，得到呈粗灰白色固體狀之所需產物(125 mg, 99%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.31 (s, 1H), 8.05 (m, 1H), 7.87 (m, 1H), 7.68 (m, 1H), 7.56 (m, 1H), 7.32 (m, 5H), 6.54 (m, 1H), 5.07 (s, 2H), 3.29 (m, 2H), 3.09 (m, 2H); C₂₀H₁₇BrFN₇O₇S (MW 598.36), LCMS *m/e* 598/600 (M⁺ + H)。

步驟2c. ([2-([4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基]胺基)乙基胺基]磺醯基)胺基甲酸乙酯(18c)



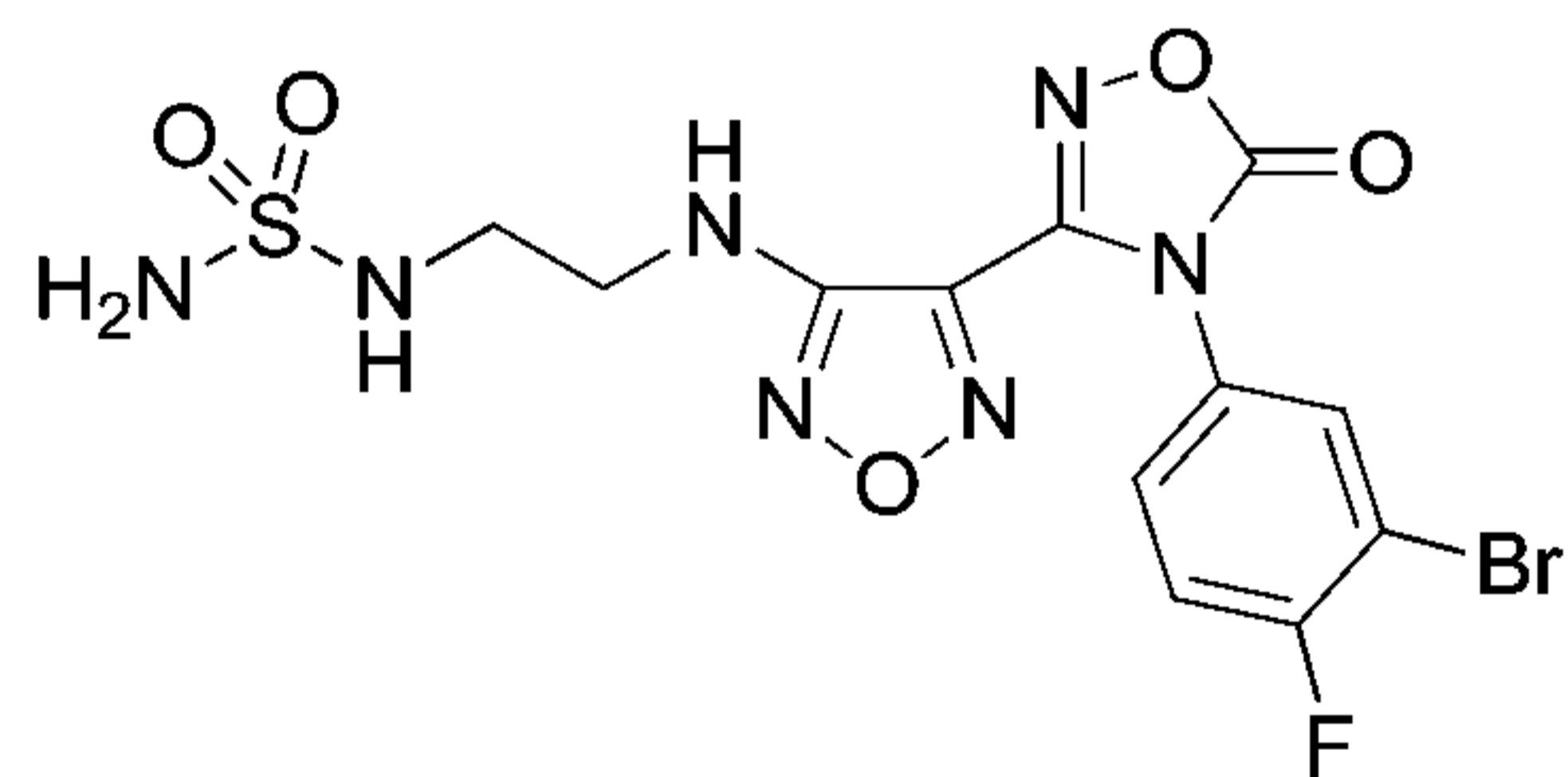
【0284】 在0℃下攪拌3-(4-胺基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4*H*)-酮(68 mg, 0.20 mmol; 來自步驟D)及{[(2,2-二甲氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸乙酯(154 mg, 0.600 mmol, 3.0 eq)於1,2-二氯乙烷(2.50 mL, 31.7 mmol)中之混合物。向此混合物中逐滴添加三氟乙酸(1.00 mL, 13.0 mmol)及三乙基矽烷(105 μ L, 0.66 mmol, 3.3 eq)。反應混合物在0℃下攪拌3 h。HPLC指示97.5%轉化為所需產物。反應混合物冷卻至0℃且用飽和碳酸氫鈉淬滅至pH約為8。混合物用乙酸乙酯(3 x 10 mL)萃取。合併之有機萃取物用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物在庚烷及乙醚之混合物中攪拌隔夜。藉由過濾收集固體，用庚烷洗滌，得到呈粗灰白色固體狀之所需產物(95 mg, 88%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.18 (s, 1H), 8.08 (m, 1H), 7.70 (m, 2H), 7.59 (t, 1H, *J* = 8.7 Hz), 6.56 (s, 1H), 4.04 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 3.35 (m, 2H), 3.11 (m, 2H), 1.15 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz); C₁₅H₁₅BrFN₇O₇S (MW 536.29), LCMS (EI) *m/e* 536/538 (M⁺ + H)。

步驟2d. ({[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基}磺醯基)胺基甲酸2,2,2-三氯乙酯(18d)



【0285】 在室溫下攪拌3-(4-胺基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮(**5**，0.680 g，1.99 mmol)及{[(2,2-二甲氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸2,2,2-三氯乙酯(**17d**，2.22 g，6.17 mmol，3.1 eq)於二氯甲烷(DCM，6.0 mL)中之懸浮液。向此混合物中添加三乙基矽烷(1.27 mL，7.95 mmol，4.0 eq)及三氟乙酸(TFA，3.0 mL，39.0 mmol)於二氯甲烷(DCM，2.0 mL)中之溶液，同時維持反應溫度低於30°C。在室溫下攪拌5分鐘之後，反應混合物變得均勻，且在室溫下攪拌1 h。HPLC指示反應完成。過濾反應且沈澱物懸浮於二氯甲烷及庚烷之混合物(二氯甲烷與庚烷之比率以體積計為1:9)中。懸浮液在室溫下攪拌隔夜。藉由過濾收集沈澱物且用含10%二氯甲烷之庚烷洗滌且在真空中乾燥，生成呈粗灰白色固體狀之所需產物(1.15 g，90.4%)，其無需進一步純化即用於後續反應中。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.85 (s, 1H), 8.07 (m, 2H), 7.70 (m, 1H), 7.57 (t, 1H, *J* = 8.7 Hz), 6.56 (m, 1H), 4.88 (m, 2H), 3.37 (m, 2H), 3.16 (m, 2H)；C₁₅H₁₂BrCl₃FN₇O₇S (MW 639.62), LCMS (EI) *m/e* 638/640/642 (M⁺ + H)。

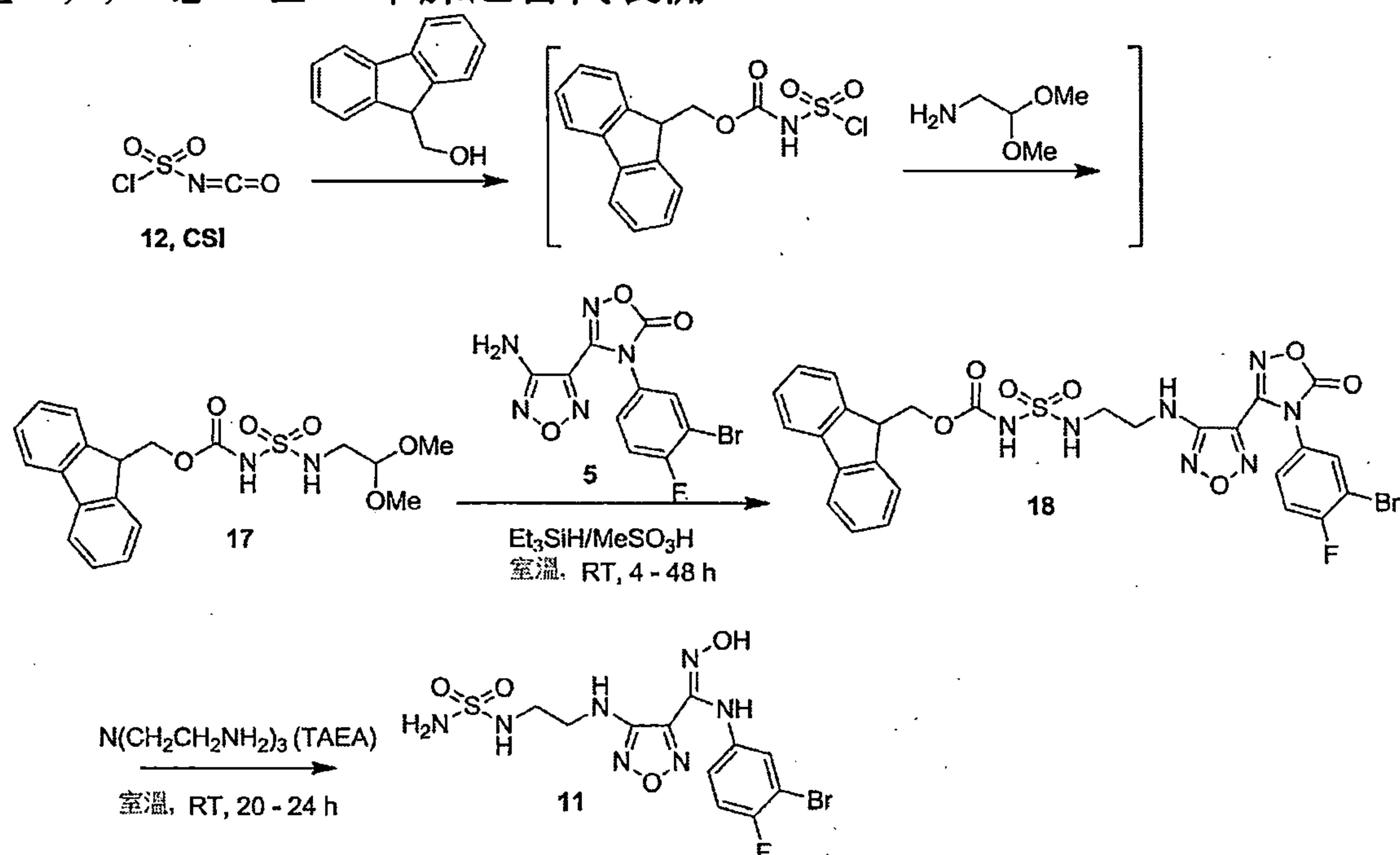
步驟3. *N*-[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]磺醯胺(**10**)



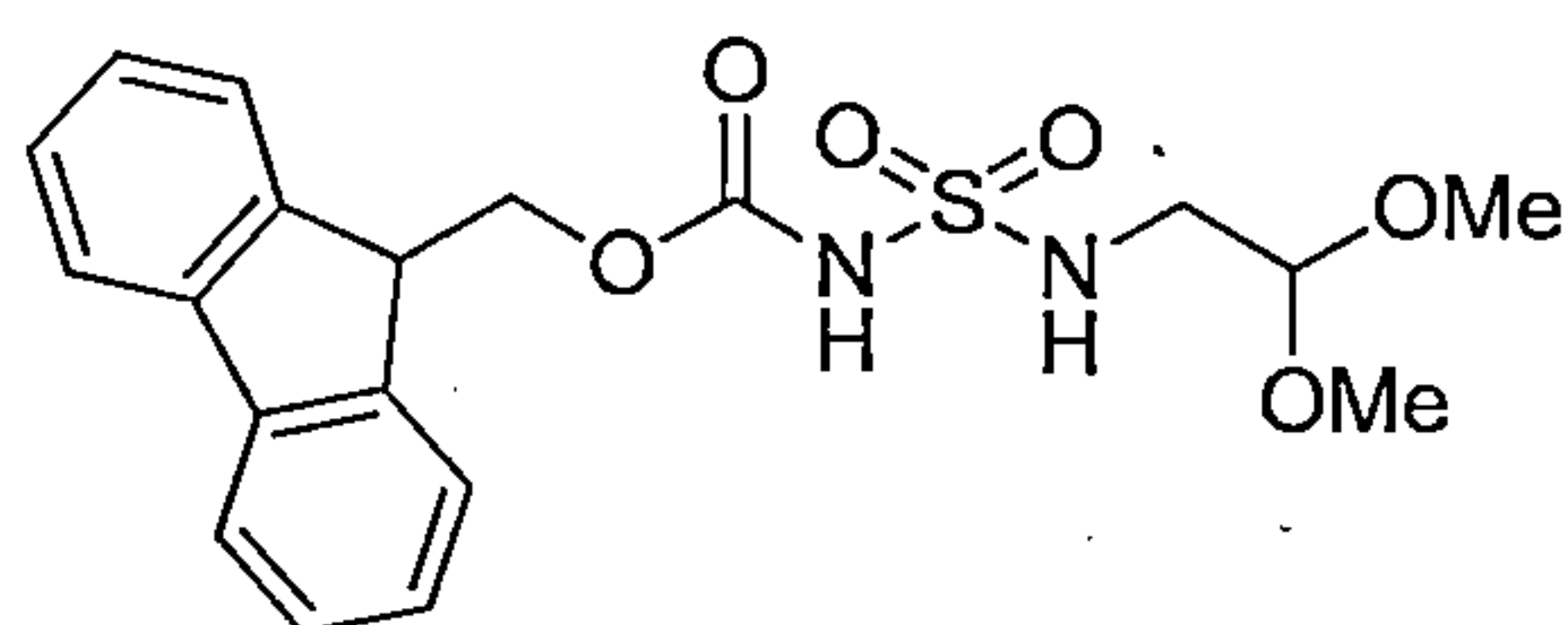
【0286】 在室溫下攪拌({[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基}磺醯基)胺基甲酸2,2,2-三氯乙酯(320 mg，0.50 mmol；來自步驟Q，方法D)於四氫呋喃

(THF, 4.0 mL)中之溶液。依序添加乙酸(0.30 mL, 5.3 mmol)及薄鋅片(160 mg, 2.5 mmol, 5.0 eq)。此反應混合物在室溫下攪拌3 h。HPLC指示反應完成。反應混合物經矽藻土過濾，且矽藻土用THF洗滌。合併之濾液在真空中濃縮且所得殘餘物溶解於乙酸乙酯(20 mL)中。乙酸乙酯溶液用飽和碳酸鈉及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥且濃縮。粗材料自乙酸乙酯及乙醚結晶，生成呈灰白色固體狀之所需產物(147 mg, 63%)。

實例4. 4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒之替代製備



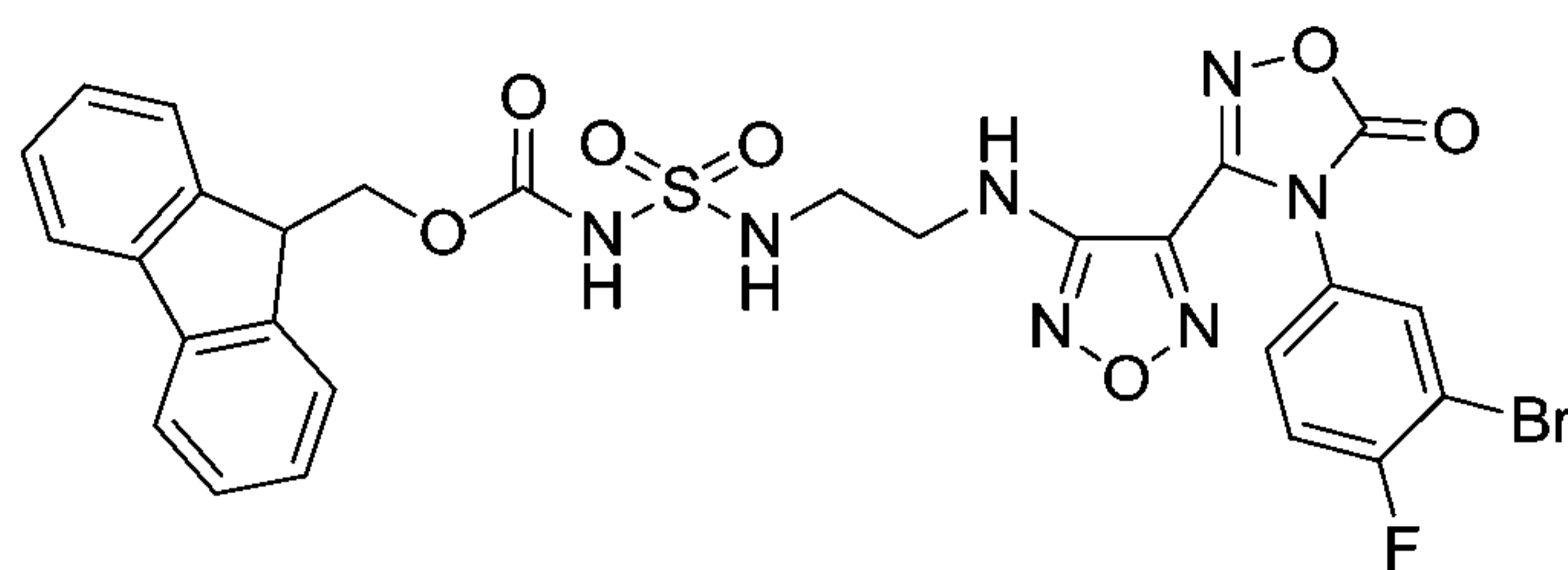
步驟1. N-(2,2-二甲氧基乙基)胺磺醯基胺基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯



【0287】 在室溫下向烘箱乾燥之2 L 4-頸圓底燒瓶中饋入9-芴基甲醇(50.0 g, 255 mmol)及無水DCM(382 mL)。所得漿料在冰浴中冷卻至約0-5 °C。氯磺醯基異氰酸酯(CSI, 23.0 mL, 264 mmol)於無水DCM(127

mL)中之溶液經22分鐘經由加料漏斗逐滴添加至漿料中，維持反應混合物溫度 $< 5^{\circ}\text{C}$ 。所得混合物在 $0-5^{\circ}\text{C}$ 下攪拌1.75 h，產生黏稠白色漿料。胺基乙醛二甲縮醛(27.9 mL, 255 mmol)於無水DCM(382 mL)及4-甲基嗎啉(84.0 mL, 764 mmol)中之溶液在約 $0-5^{\circ}\text{C}$ 下經71分鐘添加至混合物中。所得反應混合物接著在冰浴中攪拌1.5小時。當HPLC顯示反應完成時，藉由經22分鐘逐滴添加1.0 M磷酸(H_3PO_4 水溶液, 640 mL)至pH 1-2來酸化反應混合物。接著添加水(300 mL)、EtOAc(2150 mL)及庚烷(250 mL)且所得混合物攪拌10分鐘。分離該兩相且有機相依序用水(500 mL)、庚烷(300 mL)及水(2 x 500 mL)洗滌且經 MgSO_4 乾燥。濾液在真空下濃縮至乾。所得固體在 65°C 下再溶解於EtOAc(600 mL)中且溫溶液過濾至潔淨3 L圓底燒瓶中。濾液冷卻至室溫且攪拌2.5 h，接著經80分鐘經由加料漏斗添加庚烷(1200 mL)。在室溫下攪拌隔夜之後，混合物接著在冰浴中冷卻1 h。所得固體藉由過濾來收集，用25% EtOAc/庚烷(250 mL)洗滌，且在約 $40-45^{\circ}\text{C}$ 下在真空下乾燥隔夜，得到呈白色粉末狀之{[(2,2-二甲氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸9H-芴-9-基甲酯(91.3 g, 88%產率)。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.43 (s, 1H), 7.98 – 7.85 (m, 3H), 7.76 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.43 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.33 (td, $J = 7.4, 1.1$ Hz, 2H), 4.44 – 4.33 (m, 3H), 4.33 – 4.22 (m, 1H), 3.23 (s, 6H), 2.99 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H) ppm。

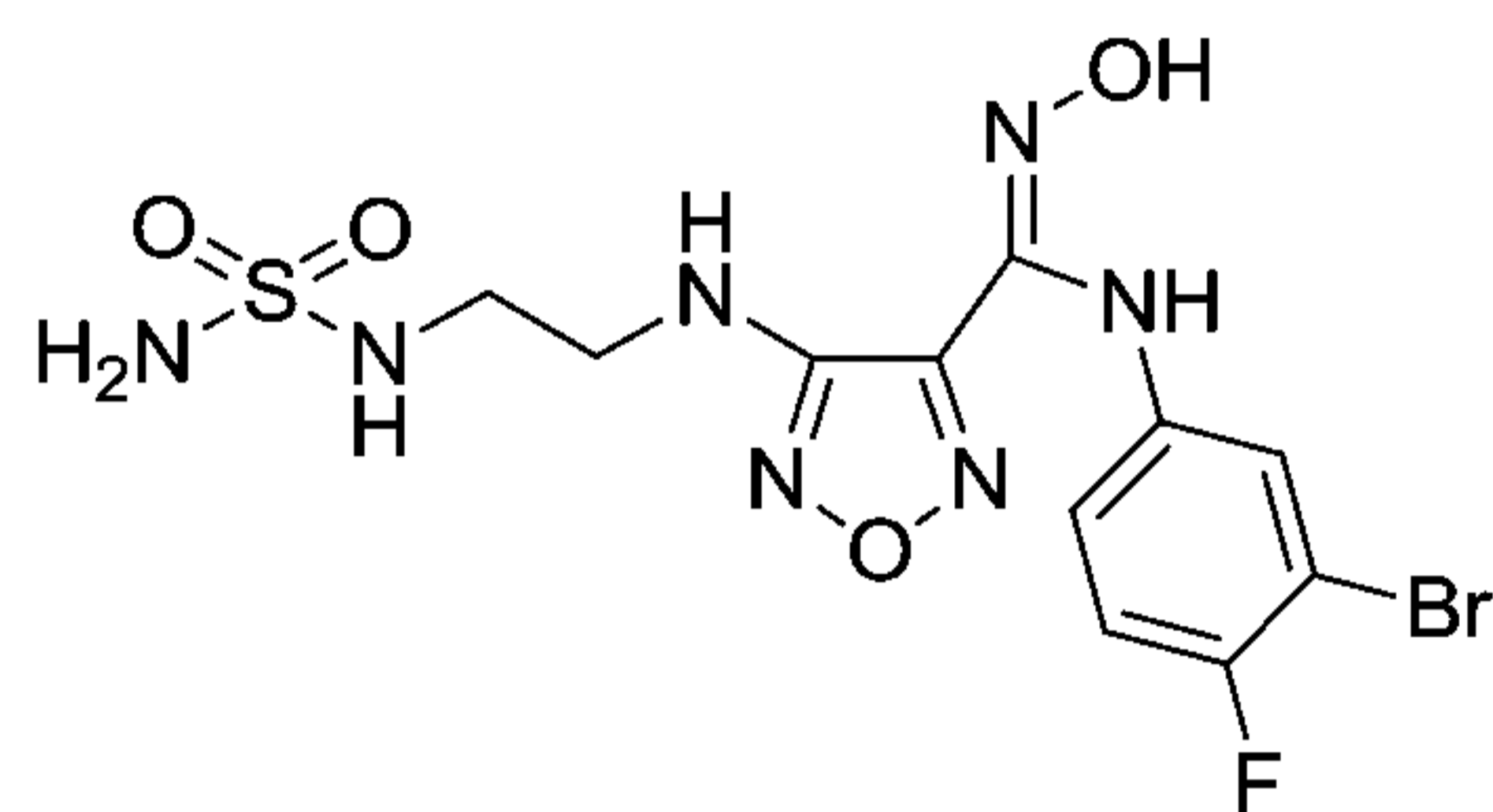
步驟2. ({[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基}磺醯基)胺基甲酸9H-芴-9-基甲酯



【0288】 在環境溫度下經10分鐘向3-(4-胺基-1,2,5-噁二唑-3-基)-4-(3-溴-4-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-5(4*H*)-酮 (10.00 g, 29.23 mmol) 於DCM(160 mL)中之攪拌懸浮液中添加甲烷磺酸(MeSO_3H , 8.46 g, 88.04 mmol)及三乙基矽烷(Et_3SiH , 8.37 g, 71.96 mmol), 生成漿料。逐份添加(1 g/3-4分鐘; 經1 h)固體{[(2,2-二甲氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸9*H*-蒾-9-基甲酯(12.25 g, 30.14 mmol), 同時使用水浴維持內部溫度低於約20°C。添加之後, 所得混合物在約13-22°C下攪拌3天。添加額外三乙基矽烷(Et_3SiH , 0.1755 g, 1.51 mmol)及{[(2,2-二甲氧基乙基)胺基]磺醯基}胺基甲酸9*H*-蒾-9-基甲酯(0.3082 g, 0.76 mmol)且所得混合物在環境溫度下再攪拌23 h。添加異丙醇(IPA, 15 mL)且所得混合物在環境溫度下攪拌1 h。添加庚烷(100 mL)且混合物在環境溫度下再攪拌2 h。藉由過濾收集固體, 用IPA/庚烷(1/5; 2 x 30 mL)及庚烷(2 x 30 mL)洗滌且在真空下乾燥, 得到呈白色固體狀之({[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基}磺醯基)胺基甲酸9*H*-蒾-9-基甲酯(18.30 g, 91.1%產率)。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.44 (s, 1H), 8.07 (dd, $J = 6.2, 2.5$ Hz, 1H), 7.90 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.72 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 7.71 (ddd, $J = 8.9, 4.3, 2.6$ Hz, 1H), 7.57 (dd, $J = 8.7, 8.7$ Hz, 1H), 7.40 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.31 (td, $J = 7.4, 1.0$ Hz, 2H), 6.55 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 4.35 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 4.25 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 3.39 (q, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.15 (q, J

= 6.3 Hz, 2H) ; ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 159.03 (d, J = 248.7 Hz), 156.61 (s), 155.22 (s), 151.55 (s), 148.67 (s), 143.29 (s), 140.68 (s), 133.82 (s), 133.39 (s), 130.05 (d, J = 8.5 Hz), 128.54 (d, J = 3.2 Hz), 127.73 (s), 127.07 (s), 125.24 (s), 120.11 (s), 117.42 (d, J = 24.0 Hz), 108.19 (d, J = 22.5 Hz), 66.70 (s), 46.17 (s), 43.34 (s), 40.79 (s) ppm ; ^{19}F NMR (376 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ -103.99 – -107.39 (m) ppm。

步驟3. 4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-*N*-(3-溴-4-氟苯基)-*N'*-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒



【0289】 在環境溫度下向1 L 4-頸圓底燒瓶中饋入({[2-({4-[4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基}磺醯基)胺基甲酸9*H*-第-9-基甲酯(25.0 g, 36.4 mmol)及無水THF(250 mL)，產生均勻溶液。溶液接著在冰浴中冷卻至0–5 °C，接著經35分鐘經由加料漏斗逐滴添加*N,N*-雙(2-胺基乙基)乙烷-1,2-二胺(114 mL, 728 mmol)。加料漏斗用無水THF(50 mL)沖洗且沖洗液添加至反應混合物中。移除冷浴且反應逐漸溫至環境溫度且在環境溫度下攪拌2.5 h。添加EtOAc(400 mL)且所得混合物轉移至2 L 4-頸圓底燒瓶且在冰浴中冷卻至約0-5 °C。經由加料漏斗逐滴添加2.0 M HCl水溶液(400 mL, 800.0 mmol)，同時維持內部溫度低於10 °C。分離該兩相，且水相用EtOAc(200 mL)萃取。合併有機部分且冷卻至約6-7 °C。逐滴添加2.0 M HCl水溶液(200.0 mL, 400.0 mmol)至冷有機部分中，維持內部溫度低於

10 °C。分離該兩相且有機相用水(2 x 400 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥且在減壓下濃縮成淺黃色糖漿。糖漿溶解於EtOAc(60.0 mL)中，生成均勻溶液。向溶液中逐滴添加DCM(250.0 mL)及第三丁基甲基醚(TBME，100.0 mL)之溶液。所得漿料在室溫下攪拌隔夜，接著在冰浴中冷卻1 h。藉由過濾收集固體，用冰冷250 mL DCM溶液(150 mL)及TBME(100 mL)洗滌且在真空下乾燥，生成14.4 g呈白色固體狀之粗所需產物。

【0290】 粗產物在60 °C下溶解於EtOAc(140.0 mL)中且過濾溫溶液。濾液冷卻至室溫，接著經55分鐘逐滴添加庚烷(100.0 mL)。所得混合物接著在室溫下攪拌隔夜。藉由過濾收集固體，用庚烷及EtOAc之2:1混合物(75 mL)洗滌且在真空下在40–50 °C下乾燥至恆重，提供呈白色固體狀之4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒(12.9 g，81%產率)。

實例A：人類吲哚胺2,3-雙加氧酶(IDO)酶分析

【0291】 具有N端His標籤之人類吲哚胺2,3-雙加氧酶(IDO)在大腸桿菌中表現且純化至均質。IDO催化色胺酸之吲哚核的吡咯環之氧化裂解，生成N'-甲醯基犬尿胺酸。該等分析在室溫下如文獻中所述使用95 nM IDO及2 mM D-Trp在20 mM抗壞血酸鹽、5 μM亞甲基藍及0.2 mg/mL過氧化氫酶存在下在50 mM磷酸鉀緩衝液(pH 6.5)中執行。藉由連續追蹤在321 nm下歸因於N'-甲醯基犬尿胺酸形成之吸光度增加來記錄初始反應速率(參看：Sono, M.等人, 1980, *J. Biol. Chem.* 255, 1339-1345)。在實例A之分析中測試式I化合物且發現其具有< 200 nM之IC₅₀。

實例B：在基於海拉細胞之吲哚胺2,3-雙加氧酶(IDO)/犬尿胺酸分析中測定抑制劑活性

【0292】 海拉細胞 (#CCL-2) 獲自美國菌種保存中心 (ATCC, Manassas, VA) 且常規地維持於具有 2 mM L-麩醯胺酸及 Earle 氏 BSS 且經調節以含有 1.5 g/L 碳酸氫鈉、0.1 mM 非必需氨基酸、1 mM 丙酮酸鈉及 10% 胎牛血清 (均來自 Invitrogen) 之最低必需培養基 (eagle) 中。細胞在 37 °C 下保持於供應 5% CO₂ 之含濕氣培育箱中。該分析執行如下：海拉細胞以 5×10^3 /孔之密度接種於 96 孔培養盤中且生長隔夜。次日，IFN- γ (50 ng/mL 最終濃度) 及化合物之連續稀釋液 (200 μ L 培養基之總體積) 添加至細胞中。48 小時培育之後，將每孔 140 μ L 上清液轉移至新的 96 孔盤中。10 μ L 6.1 N 三氯乙酸 (#T0699, Sigma) 混入各孔中且在 50 °C 下培育 30 分鐘以將藉由吡啶胺 2,3-雙加氧酶產生之 *N*-甲醯基犬尿胺酸水解為犬尿胺酸。反應混合物接著在 2500 rpm 下離心 10 分鐘以移除沈積物。100 μ L 上清液/孔轉移至另一 96 孔盤中且與 100 μ l 含 2% (w/v) 對二甲基胺基苯甲醛 (#15647-7, Sigma-Aldrich) 之乙酸混合。源於犬尿胺酸之黃色在 480 nm 下使用 SPECTRAmax 250 微定量盤式讀取器 (Molecular Devices) 量測。L-犬尿胺酸 (#K8625, Sigma) 用作標準物。在 100 μ L 培養基中製備標準物 (240、120、60、30、15、7.5、3.75、1.87 μ M) 且與相等體積之 2% (w/v) 對二甲基胺基苯甲醛混合。測定在個別濃度下之抑制百分比且獲得雙重複值之平均值。藉由使用非線性迴歸來分析數據，產生 IC₅₀ 值 (Prism Graphpad)。參看：Takikawa O 等人, 1988, *J. Biol. Chem.*, 263(4): 2041-8。

實例 C：測定 IDO 抑制劑對藉由表現 IDO 之樹突狀細胞抑制的 T 細胞增殖之效應

【0293】 藉由白血球電泳法自人類外周單核細胞收集單核細胞。接著使用補充有 10% 胎牛血清及 2 mM L-麩醯胺酸之 RPMI 1640 培養基 (均來

自Invitrogen)將單核細胞以 1×10^6 個細胞/孔之密度接種於96孔盤中。黏附細胞在37°C下隔夜培養之後保留於該盤上。黏附單核細胞接著用100 ng/ml GM-CSF(# 300-03, PeproTech)及250 ng/ml IL-4(#200-04, PeproTech)刺激5-7天, 繼而用5 μ g/mL來自鼠傷寒沙門桿菌之LPS(#437650, Sigma)及50 ng/mL IFN- γ (# 285-IF, R&D Systems)再活化2天以誘導樹突狀細胞成熟。

【0294】 在樹突狀細胞活化之後, 培養基用補充有100-200 U/mL IL-2(#CYT-209, ProSpec-Tany TechnoGene)及100 ng/mL抗CD3抗體(#555336, PharMingen)、T細胞($2-3 \times 10^5$ 個細胞/孔)及IDO化合物之連續稀釋液之完全RPMI 1640更換。再培育2天之後, 藉由BrdU併入分析, 使用比色細胞增殖ELISA套組根據製造商之說明書(#1647229, Roche Molecular Biochemicals)量測T細胞增殖。細胞在10 μ M BrdU標記溶液存在下連續培養16-18 h。接著, 移除標記培養基, 且每孔200 μ L FixDenat添加至細胞中且在室溫下培育30分鐘。移除FixDenat溶液且添加每孔100 μ L抗BrdU-POD抗體結合物工作溶液。反應在室溫下進行90分鐘。接著移除抗體結合物, 且用每孔200 μ L洗滌溶液沖洗細胞3次。最後, 添加每孔100 μ L基質溶液且在顯色期間使用微定量盤式讀取器(Spectra Max PLUS, Molecular Devices)獲得結果。獲得各時間點處之多個讀數以確保數據在線性範圍內。數據常規地自重複實驗獲得, 且適當對照包括在內。參看: Terness P等人 2002, *J. Exp. Med.*, 196(4): 447-57; 及Hwu, P等人 2000, *J. Immunol.*, 164(7): 3596-9。

實例D：針對抗腫瘤活性之IDO抑制劑活體內測試

【0295】 活體內抗腫瘤功效可使用經修改之腫瘤同種異體移植/異

種移植物方案來測試。例如，文獻中已描述IDO抑制作用可在免疫勝任小鼠中用細胞毒性化學療法起增效作用(Muller, A.J.等人 2005, *Nat. Med.* 11:312-319)。藉由比較研究性IDO抑制劑在免疫勝任同基因型小鼠中生長之鼠類腫瘤異種移植物模型(例如，B16及相關變異體CT-26、LLC)中之增效作用與用中和性抗CD4抗體治療之同基因型小鼠中或在免疫功能不全小鼠(例如nu/nu)中生長之相同腫瘤中觀察到的增效作用，顯示此增效作用依賴於T細胞。

【0296】 在免疫勝任相對免疫功能不全小鼠中之差異抗腫瘤效應之觀念亦可允許測試呈單一藥劑形式之研究性IDO抑制劑。例如，LLC腫瘤在其同基因型宿主菌株C57B1/6中生長良好。然而，若此等小鼠用IDO抑制劑1-MT治療(相對安慰劑)，則腫瘤形成顯著延遲，暗示IDO抑制作用為生長抑制性的(Friberg, M.等人 2002, *Int. J. Cancer* 101:151-155)。根據此邏輯，可檢查C57B1/6免疫勝任小鼠中生長之LLC異種移植物腫瘤模型中IDO抑制作用之功效，且將其與IDO抑制劑對裸或SCID小鼠(或用中和T細胞活性之抗體治療的C57B1/6小鼠)中生長之LLC腫瘤的效應進行比較。由於減少IDO之腫瘤介導免疫抑制活性之效應將可能視不同腫瘤模型之免疫原潛能而不同，可對腫瘤細胞進行遺傳修飾以增強其免疫原潛能。例如，GM-CSF在B16.F10細胞中之表現會增強其免疫原潛能(Dranoff, G.等人 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 90:3539-3543)。因而，在一些腫瘤模型(例如B16.F10)中，可產生表現免疫刺激蛋白(諸如GM-CSF)之[多]純系且在免疫勝任及免疫功能不全小鼠中測試IDO抑制劑針對由此等腫瘤細胞建立之腫瘤的生長抑制效應。

【0297】 用於分析IDO抑制劑活體內功效之第三種方法採用『免疫

前』鼠類腫瘤同種異體移植/異種移植模型。在此等模型中，使免疫勝任小鼠對一或多種特異性腫瘤抗原敏化以模擬治療性抗腫瘤疫苗接種。在異種移植實驗中，此舉針對當小鼠隨後用鼠類腫瘤細胞株(具有類似於用於免疫化之抗原的腫瘤抗原)攻擊時由免疫系統介導之抗腫瘤反應激活小鼠。IDO之表現已顯示鈍化抗腫瘤反應且允許異種移植更快速地生長。重要的是，此模型中腫瘤之生長藉由IDO抑制劑1-MT抑制(Uyttenhove, C.等人 2003, *Nat. Med.* 9:1269-1274)。此模型為尤其有吸引力的，因為IDO活性為P815腫瘤生長所許可且IDO之特異性抑制應因此為生長抑制性的。

【0298】 最後，可使用治療性免疫化來評估IDO抑制劑之活體內影響。例如，已使用B16-BL6細胞證實，可藉由靜脈內注射腫瘤細胞，繼而用由該等腫瘤細胞表現之經充分表徵的免疫原肽(例如TRP-2)處理來攻擊Blk/6小鼠(Ji等人, 2005, *J. Immunol.*, 175: 1456-63)。重要的是，諸如抗CTL-4抗體之免疫系統調節劑可改良對該等治療性免疫化之反應。IDO抑制劑之影響可以類似方式，使用或不使用IDO抑制劑進行腫瘤肽免疫化來評估。功效藉由動物存活(距發病之時間)或藉由量測在規定時間點處肺及/或其他器官之腫瘤轉移來分析。

【0299】 在任何/所有上文所提及之模型中，亦可能直接及/或間接量測腫瘤反應性免疫細胞之數目及/或活性。用於量測腫瘤反應性免疫細胞之數目及/或活性之方法已充分建立且可使用熟習此項技術者所熟悉之技術來執行(*Current Protocols in Immunology*, 第4卷, Coligan, J. E.等人; *Immunotherapy of Cancer*, Human Press, 2006, Disis, M.L., 及其中之參考文獻)。概念上，IDO之免疫抑制性效應之減少可導致腫瘤特異性免疫

細胞之數目或反應性增加。此外，IDO抑制作用當與其他治療劑，例如化學治療劑及/或免疫調節劑(例如，抗CTLA4抗體)組合時可進一步增加腫瘤反應性免疫細胞之數目或反應性。

【0300】 所有同種異體移植物/異種移植物實驗均可使用標準腫瘤技術來執行(由Corbett等人，在*Cancer Drug Discovery and Development: Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval*，第2版。Teicher, B.A.及Andrews, P.A., Humana Press Inc.: Totowa, NJ, 2004中回顧)。基因(例如IDO、GM-CSF)選殖且引入至腫瘤細胞株中可使用熟習此項技術者所熟悉之技術來執行(在Sambrook, J.及Russel, D., *Molecular Cloning: A laboratory Manual* (第3版), Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, NY, 2001中回顧)。

實例E：人類免疫缺乏病毒-1(HIV-1)腦炎模型中IDO抑制劑之活體內測試

1. 細胞分離及病毒感染

【0301】 單核細胞及PBL可藉由自HIV-1、2及B型肝炎血清陰性供體逆流離心淘析白血球電泳包而獲得。在懸浮培養物中使用鐵氟龍燒瓶在補充有10%熱不活化彙集之人類血清、1%麩醯胺酸、50 µg/mL慶大黴素、10 µg/mL卷鬚黴素(Sigma)及1000 U/mL高度純化之重組人類巨噬細胞菌落刺激因子之杜貝克氏改質伊格爾氏培養基(DMEM，Sigma-Aldrich)中培養單核細胞。培養7天之後，用HIV-1_{ADA}以0.01之感染倍率感染MDM。

2. Hu-PBL-NOD/SCID HIVE小鼠

【0302】 可購得四週齡雄性 NOD/C.B-17 SCID 小鼠 (Jackson Laboratory)。動物維持於無菌微型隔離器籠中之無病原體條件下。所有動物均在PBL移植之前3天腹膜內注射大鼠抗CD122(0.25 mg/小鼠)，且兩隻動物在PBL注射(20×10^6 個細胞/小鼠)之前1天及之後3天注射兔 asialo-GM1 抗體(0.2 mg/小鼠) (Wako)。在PBL重構之後8天，顱內(i.c.)注射 HIV-1_{ADA} 感染之 MDM(3×10^5 個細胞於 10 μ L 中)，產生 hu-PBL-NOD/SCID HIVE 小鼠。在i.c.注射HIV-1感染之MDM之後即刻，hu-PBL-NOD/SCID HIVE 小鼠皮下(s.c)植入對照(媒劑)或化合物球粒(14或28天緩慢釋放，Innovative Research)。設計初始實驗以確認用IDO化合物治療之 hu PBL-NOD/SCID HIVE 動物中誘導病毒特異性CTL。這藉由四聚體染色及自腦組織消除MDM之神經病理學分析來確認。接著，設計實驗以分析人類淋巴細胞重構、體液免疫反應及神經病理學改變。在此等實驗中，動物在i.c.注射人類MDM之後第7天放血且在14及21天處死。在含EDTA之管中收集的血液用於流動式細胞測量術且血漿用於使用ELISA(Beckman Coulter™)偵測HIV-1 p24。HIV-1特異性抗體藉由西方墨點測試根據製造商說明書(Cambridge Biotech HIV-1西方墨點套組, Calypte Biomedical)來偵測。在對照及化合物治療之動物中偵測類似量之病毒特異性抗體。可使用三個不同人類白血球供體來執行總計三個獨立實驗。

3. hu PBL-NOD/SCID HIVE 小鼠中之末梢血液及脾臟之FACScan

【0303】 可在i.c.注射人類MDM之後第1-3週對末梢血液且在第2週及第3週對脾細胞執行兩色FACS分析。在4°C下，細胞與螢光染料結合之單株人類CD4、CD8、CD56、CD3、IFN- γ Ab(mAb)(eBioscience)一起

培育30分鐘。為了評估細胞免疫反應，與抗人類CD8及FITC結合之抗小鼠CD45組合執行IFN- γ 細胞內染色以排除鼠類細胞。為了測定Ag特異性CTL，對植物血凝素/介白素-2(PHA/IL-2)刺激之脾細胞執行針對HIV-1^{gag}(p17 (aa77-85) SLYNTVATL，SL-9)及HIV-1^{pol} [(aa476-485) ILKEPVHGV，IL-9]之別藻藍蛋白結合四聚體染色。根據NIH/國立過敏及傳染病研究所(NIH/National Institute of Allergy and Infections Disease)之國立四聚體核心設施之建議對細胞染色。用FACS Calibur™使用CellQuest軟體(Becton Dickinson Immunocytometry System)分析數據。

4. 組織病理學及影像分析

【0304】 在i.c.注射MDM之後14天及21天收集腦組織，固定於4%磷酸鹽緩衝多聚甲醛中且包埋於石蠟中或在-80℃下冷凍以供稍後使用。切割包埋塊之冠狀面以鑒別注射位點。對於各小鼠，自人類MDM注射位點切割30-100個(5- μ m厚)連續切片且分析3-7個載片(10個切片分開)。用二甲苯使腦切片脫蠟且在梯度醇中水合。免疫組織化學染色遵循使用抗原修復之基礎間接方案，藉由在0.01 mol/L檸檬酸鹽緩衝液中加熱至95℃持續30分鐘以用於抗原修復。為了鑒別小鼠腦中之人類細胞，使用波形蛋白之mAb(1:50，純系3B4，Dako Corporation)，其鑒別所有人類白血球。分別用CD68(1:50稀釋，純系KP 1)及CD8(1:50稀釋，純系144B)偵測人類MDM及CD8⁺淋巴細胞。用HIV-1 p24之mAb(1:10，純系Kal-1，均來自Dako)標記病毒感染之細胞。用Iba-1抗體(1:500，Wako)偵測反應性鼠類微神經膠質細胞。用獲自日本筭幌北海道大學醫學研究所之中央研究院細胞藥理學系(Department of Cell Pharmacology, Central Research

Institute, Graduate School of Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan)之Ab觀測人類IDO(huIDO)之表現。用適當生物素化二級抗體偵測初級抗體且用抗生物素蛋白-生物素複合物(Vectastain Elite ABC套組, Vector Laboratories)及辣根過氧化酶(HRP)偶聯之葡聚糖聚合物(EnVision, Dako Corporation)觀測。用梅爾氏蘇木精(Mayer's hematoxylin)對免疫染色之切片進行對比染色。缺失初級抗體或併入無關IgG同型之切片用作對照。兩個採用盲方式之獨立觀測者計數來自各小鼠之各切片中CD8⁺淋巴細胞、CD68⁺ MDM及HIV-1 p24⁺細胞之數目。用Nikon Eclipse 800顯微鏡(Nikon Instruments Inc)執行光學顯微鏡檢查。如先前所述藉由計算機輔助影像分析(Image-Pro®Plus, Media Cybernetics)進行Iba1之半定量分析(藉由免疫染色佔據之面積的百分比)。

5. 統計學分析

【0305】 可使用Prism(Graph Pad)及史都登 t 測試分析數據以供比較及ANOVA用。 P -值 < 0.05 被視為顯著的。

6. 參考文獻

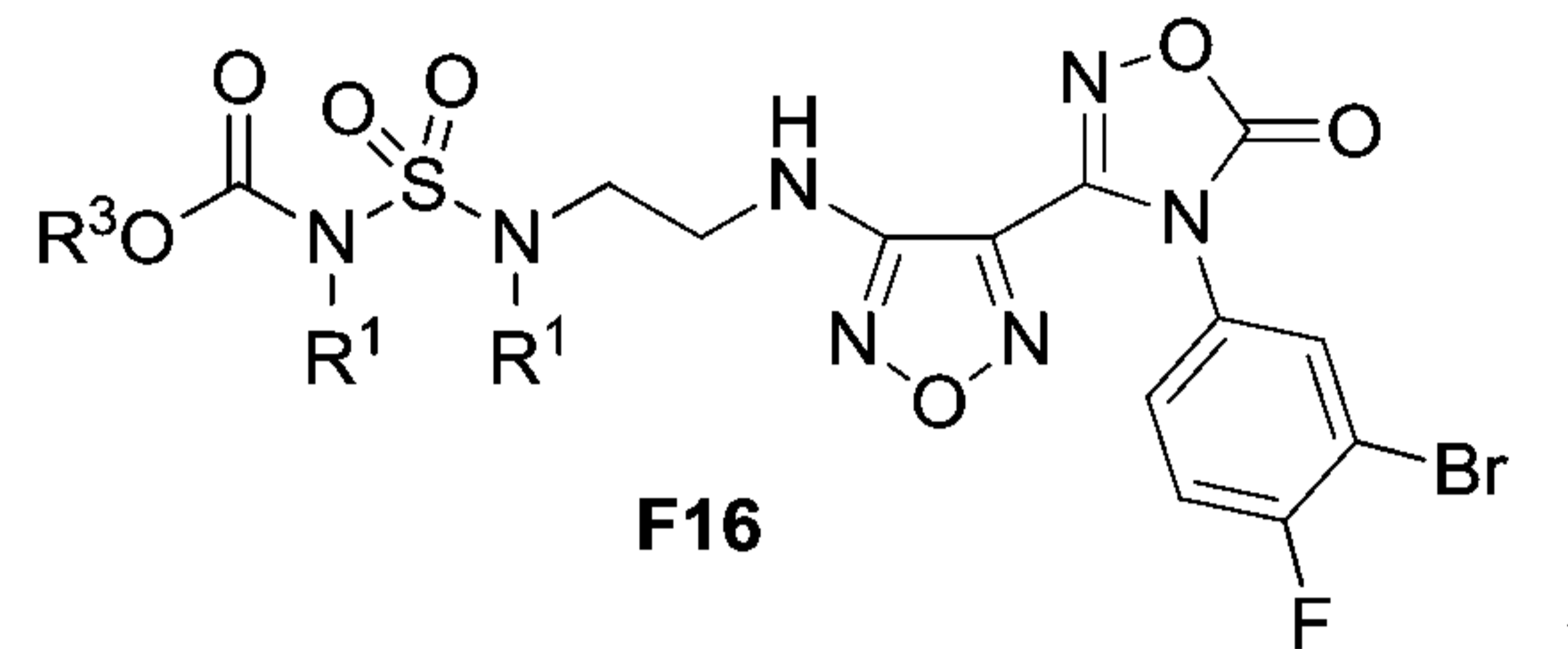
【0306】 Poluektova LY, Munn DH, Persidsky Y及Gendelman HE (2002). Generation of cytotoxic T cells against virus-infected human brain macrophages in a murine model of HIV-1 encephalitis. *J. Immunol.* 168(8):3941-9。

【0307】 除本文所述之修改之外，本發明之各種修改亦將為熟習此項技術者根據以上描述所顯而易知。該等修改亦意欲屬於隨附申請專利範圍之範疇內。本申請案中引用之各參照案，包括所有專利、專利申請案及公開案皆以全文引用的方式併入本文中。

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種式F16之化合物或其鹽：



其中：

各R¹獨立地為胺基保護基；且

R³為C₁₋₆烷基或苯甲基。

【第2項】

如申請專利範圍第1項之化合物或其鹽，其中R¹為C₂₋₄烯基-C₁₋₃烷基或苯基-C₁₋₃烷基，其中該苯基-C₁₋₃烷基視情況經1、2或3個獨立地選擇之C₁₋₄烷氧基取代。

【第3項】

如申請專利範圍第1項之化合物或其鹽，其中R¹為烯丙基。

【第4項】

如申請專利範圍第1項之化合物或其鹽，其中R¹為4-甲氧基苯甲基。

【第5項】

如申請專利範圍第1項之化合物或其鹽，其中R³為C₁₋₆烷基。

【第6項】

如申請專利範圍第1項之化合物或其鹽，其中R³為C₁₋₄烷基。

【第7項】

如申請專利範圍第1項之化合物或其鹽，其中R³為第三丁基。

【第8項】

如申請專利範圍第1項之化合物或其鹽，其中R³為丁基。

【第9項】

如申請專利範圍第1項之化合物或其鹽，其中該式F16之化合物為烯丙基(*N*-烯丙基-*N*-(2-(4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基)-1,2,5-噁二唑-3-基胺基)乙基)胺磺醯基)胺基甲酸第三丁酯，或其鹽。

【第10項】

如申請專利範圍第1項之化合物或其鹽，其中該式F16之化合物為烯丙基(*N*-烯丙基-*N*-(2-(4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基)-1,2,5-噁二唑-3-基胺基)乙基)胺磺醯基)胺基甲酸第三丁酯。

【第11項】

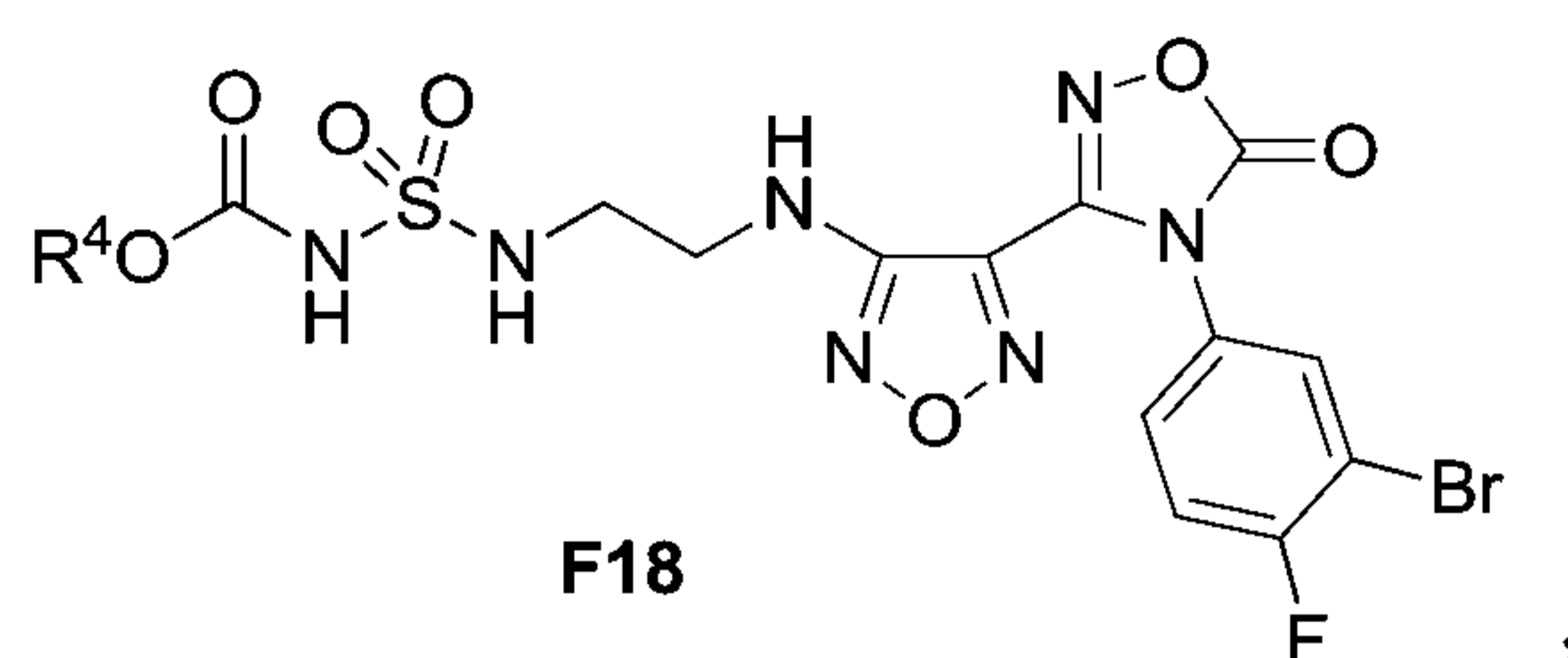
如申請專利範圍第1項之化合物或其鹽，其中該式F16之化合物為(4-甲氧基苯甲基)-(*N*-(4-甲氧基苯甲基)-*N*-(2-(4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基)-1,2,5-噁二唑-3-基胺基)乙基)胺磺醯基)胺基甲酸第三丁酯，或其鹽。

【第12項】

如申請專利範圍第1項之化合物或其鹽，其中該式F16之化合物為(4-甲氧基苯甲基)-(*N*-(4-甲氧基苯甲基)-*N*-(2-(4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基)-1,2,5-噁二唑-3-基胺基)乙基)胺磺醯基)胺基甲酸第三丁酯。

【第13項】

一種式F18之化合物：



其中 R^4 為苯甲基、乙基、 C_{1-3} 鹵烷基、2,2,2-三氯乙基或9*H*-芴-9-基甲基。

【第14項】

如申請專利範圍第13項之化合物，其中 R^4 為苯甲基。

【第15項】

如申請專利範圍第13項之化合物，其中 R^4 為乙基。

【第16項】

如申請專利範圍第13項之化合物，其中 R^4 為 C_{1-3} 鹵烷基。

【第17項】

如申請專利範圍第13項之化合物，其中 R^4 為2,2,2-三氯乙基。

【第18項】

如申請專利範圍第13項之化合物，其中 R^4 為9*H*-芴-9-基甲基。

【第19項】

如申請專利範圍第13項之化合物，其中該化合物係選自：

（{[2-（{[4-（3-溴-4-氟苯基）-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基}磺醯基)胺基甲酸苯甲酯；

（{[2-（{[4-（3-溴-4-氟苯基）-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基}磺醯基)胺基甲酸乙酯；

（{[2-（{[4-（3-溴-4-氟苯基）-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基]-1,2,5-噁二唑-3-基}胺基)乙基]胺基}磺醯基)胺基甲酸2,2,2-三氯乙

酯；及

N-(2-((4-(4-(3-溴-4-氟苯基)-5-側氧基-4,5-二氫-1,2,4-噁二唑-3-基)-1,2,5-噁二唑-3-基)胺基)乙基)胺磺醯基胺基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯。