



NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
C07D 209/94 (2006.01)
A61K 31/403 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61P 5/26 (2006.01)
A61P 19/10 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)
C07D 401/06 (2006.01)
C07D 403/06 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2013.03.04
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2012.10.31
(86)	Europeisk søknadsnr	09747531.3
(86)	Europeisk innleveringsdag	2009.05.14
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2011.03.23
(30)	Prioritet	2008.05.16, US, 53722
(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 TR
(73)	Innehaver	Eli Lilly & Company, Lilly Corporate Center, Indianapolis, IN 46285, US-USA
(72)	Oppfinner	JADHAV, Prabhakar, Kondaji, Eli Lilly And CompanyLilly Corporate Center, Indianapolis, IN 46285, US-USA KRISHNAN, Venkatesh, Eli Lilly And CompanyLilly Corporate Center, Indianapolis, IN 46285, US-USA KIM, Euibong, Jemes, Eli Lilly And CompanyLilly Corporate Center, Indianapolis, IN 46285, US-USA
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	Tetrahydrocyklopenta [b]indol-androgenreseptor-modulatorer
(56)	Anførte publikasjoner	WO-A-2007/002181 WO-A-2008/063867 CADILLA R ET AL: "Selective androgen receptor modulators in drug discovery: medicinal chemistry and therapeutic potential" CURRENT TOPICS IN MEDICINAL CHEMISTRY, BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, HILVERSUM, NL, vol. 6, no. 3, 1 January 2006 (2006-01-01), pages 245-270, XP002482017 ISSN: 1568-0266

TETRAHYDROSYKLOPENTA[b]INDOL-ANDROGENRESEPTOR-MODULATORER

Beskrivelse

5 Endogene steroide androgener (f.eks. testosteron og 5 α -dihydrotestosteron (DHT) har en dyptgripende påvirkning på en rekke fysiologiske funksjoner. Klinisk er androgenerterapi blitt brukt i behandlingen av hypogonadisme hos menn. I det vesentlige har androgenerstatningsterapi hos hypogonadale menn også vist seg å redusere benresorpsjon og øke benmassen. Andre indikasjoner
10 androgener har vært brukt for klinisk, inkluderer osteoporose og muskelsvinnsykdommer. I tillegg er androgenerstatningsterapi nylig blitt brukt hos aldrende menn og for regulering av mannlig fertilitet. Hos kvinner er androgenerterapi blitt brukt klinisk til behandling av seksuell dysfunksjon eller redusert libido.

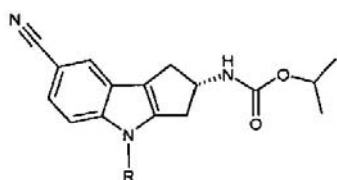
15 Androgenerterapi har imidlertid begrensninger. Uønskede bivirkninger av steroid androgenerterapi inkluderer for eksempel vekststimulering av prostata og seminale vesikler. I tillegg har stimulering av prostatatumorer og økning i prostataspesifikt antigen (PSA) (en indikasjon på økt risiko for prostatakreft)
20 vært assosiert med androgenbruk. Videre er preparater av steroide androgener funnet å ha ulempene hurtig nedbrytning i leveren, noe som fører til dårlig oral biotilgjengelighet og kort varighet av aktivitet etter parenteral administrering, variasjoner i plasmanivåene, hepatotoksisitet, eller kryssreaktivitet med andre steroide hormonreseptorer (f.eks. glukokortikoidreseptoren (GR),
25 mineralokortikoidreseptoren (MR) og progesteronreseptoren (PR)). Videre kan anvendelse av steroide androgener hos kvinner medføre hirsutisme eller virilisering.

30 Det forblir således et behov i teknikken for alternativer til steroid androgenerterapi. Fortrinnsvis viser slike alternativer de fordelaktige farmakologiske egenskapene ved steroide androgener, men med redusert sannsynlighet for eller forekomst av de typiske begrensningene knyttet til steroid androgenerterapi. Det er derfor et formål med den foreliggende oppfinnelsen å tilveiebringe ikke-steroide AR-ligander som viser androgenagonistaktivitet. Det
35 er nærmere bestemt et formål å tilveiebringe ikke-steroide androgenagonister som binder til AR med større affinitet i forhold til de andre steroide

hormonreseptorenene. Enda nærmere bestemt er det et formål å tilveiebringe vevsselektive androgenreseptormodulatorer (SARM) som viser androgenagonistaktivitet i muskel eller ben, men bare delvis agonistaktivitet, delvis antagonistaktivitet eller antagonistaktivitet i androgene vev som prostata eller seminal vesikkel.

Det følgende tilveiebringer eksempler på dagens kjente teknikk: Cadilla et al., Cuirr. Top. Med Chem (2006); 6(3): 245–270 gir en gjennomgang av androgenreseptormodulatorer; Segal et al., Expert Opin. Investig. Drugs (2006); 15(4); 377–387 gir en oversikt over androgenreseptormodulatorer; parallell internasjonal patentsøknad PCT/US07/83745 beskriver tetrahydrocyklopenta[b]indolforbindelser som androgenreseptormodulatorer; og publisert internasjonal patentsøknad WO 2007/002181 beskriver tetrahydrokarbazoler som androgenreseptormodulatorer.

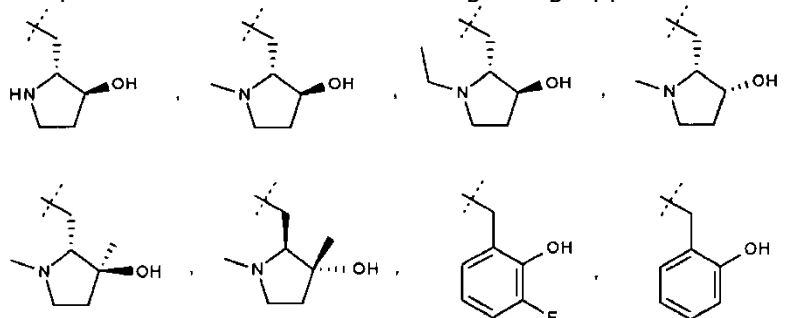
Den foreliggende oppfinnelsen er rettet mot visse tetrahydrocyklopenta[b]indolforbindelser, som definert ved formel (I) nedenfor, som viser særlige aktivitetsprofiler ved *in vitro*- og *in vivo*-testing, hvilket indikerer at de er nyttige ved behandling av forstyrrelser som reagerer på behandling med steroide androgener. Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer således en forbindelse med formel (I):

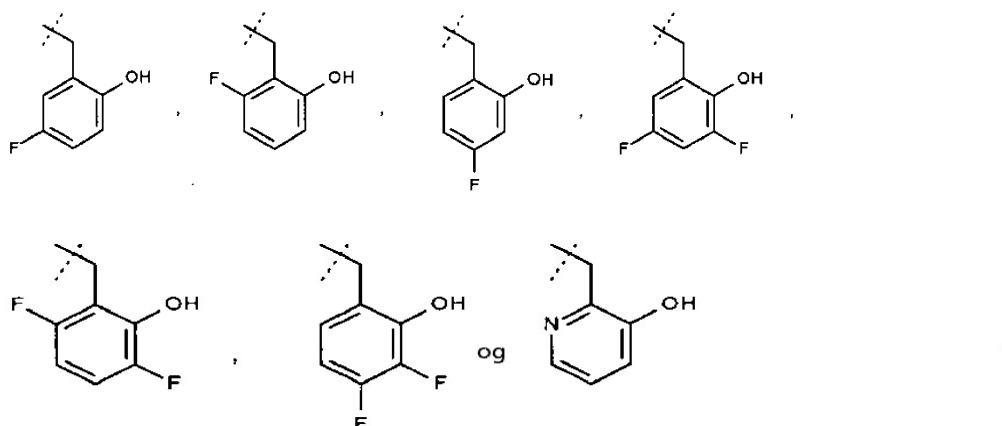


Formel (I)

hvor

R representerer en substituent valgt fra gruppen bestående av





5

eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

I en annen utførelsesform tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en forbindelse med formel (I), eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, for anvendelse ved behandling eller forebygging av hypogonadisme, redusert benmasse eller -tetthet, osteoporose, osteopeni, redusert muskelmasse eller -styrke, mannlig eller kvinnelig seksuell dysfunksjon, erektil dysfunksjon eller redusert libido. Nærmere bestemt tilveiebringer oppfinnelsen en forbindelse med formel (I), eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, for anvendelse ved behandling eller forebygging av redusert benmasse eller -tetthet, osteoporose, osteopeni, redusert muskelmasse eller -styrke eller erektil dysfunksjon. Enda nærmere bestemt tilveiebringer oppfinnelsen en forbindelse med formel (I), eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, for anvendelse ved behandling eller forebygging av redusert benmasse eller -tetthet, osteoporose, osteopeni, redusert muskelmasse eller -styrke induert av immobilisering, manglende anvendelse eller traume, eller erektil dysfunksjon. I tillegg tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en forbindelse med formel (I), eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, til anvendelse til behandling.

I en annen utførelsesform tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen anvendelsen av en forbindelse med formel (I), eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, for fremstilling av et medikament til behandling eller forebygging av hypogonadisme, redusert benmasse eller -tetthet, osteoporose, osteopeni, redusert muskelmasse eller -styrke, mannlig eller kvinnelig seksuell dysfunksjon, erektil dysfunksjon eller redusert libido. Nærmere bestemt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen anvendelsen av en forbindelse med formel (I) for fremstillingen av et medikament til behandling eller forebygging av redusert

30

benmasse eller -tetthet, osteoporose, osteopeni, redusert muskelmasse eller -styrke eller erektil dysfunksjon. Enda nærmere bestemt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen anvendelsen av en forbindelse med formel (I) for fremstillingen av et medikament til behandling eller forebygging av redusert benmasse eller -tetthet, osteoporose, osteopeni, redusert muskelmasse eller -styrke induisert av immobilisering, manglende anvendelse eller traume, eller erektil dysfunksjon.

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer i tillegg en farmasøytisk sammensetning omfattende en forbindelse med formel (I), eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i kombinasjon med ett av flere farmasøytisk akseptable bærestoffer, fortynningsmidler eller eksipienter. Nærmere bestemt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en farmasøytisk sammensetning til behandling av redusert benmasse eller -tetthet, osteoporose, osteopeni, redusert muskelmasse eller -styrke eller erektil dysfunksjon omfattende en forbindelse med formel (I), eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i kombinasjon med ett eller flere farmasøytisk akseptable bærestoffer, fortynningsmidler eller eksipienter. Enda nærmere bestemt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en farmasøytisk sammensetning til behandling av redusert benmasse eller -tetthet, osteoporose, osteopeni, redusert muskelmasse eller -styrke induisert av immobilisering, manglende anvendelse eller traume, eller erektil dysfunksjon.

Den foreliggende oppfinnelsen omfatter også hittil ukjente mellomprodukter og prosesser som er nyttige for syntesen av en forbindelse med formel (I).

Den foreliggende oppfinnelsen vedrører også farmasøytisk akseptable salter av forbindelsen med formel (I). Eksempler på farmasøytisk akseptable salter og fremgangsmåter for deres fremstilling er godt kjent for fagmannen. I tillegg vedrører den foreliggende oppfinnelsen også solvater av forbindelsen med formel (I) eller de farmasøytisk akseptable saltene av forbindelser med formel (I). Som sådan, anvendt heri inkluderer betegnelsen "formel (I)", eller en hvilken som helst særlig forbindelse med formel (I), innenfor sin betydning et hvilket som helst solvat av forbindelsen.

Forbindelsene med formel (I) kan ha ett eller flere kirale sentre og kan derfor finnes i spesifikke stereoisomere konfigurasjoner. Betegnelsene "R" og "S"

anvendes heri som de vanligvis anvendes i organisk kjemi til å betegne spesifikke konfigurasjoner av et kiralt senter. Betegnelsene "(±)" eller "RS" betyr en konfigurasjon av et kiralt senter omfattende en racemat. En delvis liste over prioriteringer og en drøftelse av stereokjemi finnes i "Nomenclature of Organic Compounds: Principles and Practice", (J.H. Fletcher, et al., eds., 1974). Røntgenanalyse og korrelasjon med kiral HPLC-retensjonstid.

De spesifikke stereoisomerer og enantiomerer av forbindelser med formel I kan fremstilles av en fagmann ved hjelp av velkjente teknikker og prosesser, slik som dem beskrevet av Eliel og Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., 1994, kapittel 7, Separation of Stereoisomers, Resolution, Racemization og av Collet og Wilen, "Enantiomers, Racemats, and Resolutions", John Wiley & Sons, Inc., 1981. For eksempel kan spesifikke stereoisomerer og enantiomerer fremstilles ved stereospesifikke syntesiser ved hjelp av enantiomert og geometrisk rene, eller enantiomert eller geometrisk anrikede utgangsmaterialer. De spesifikke stereoisomerene og enantiomerene kan i tillegg oppløses og gjenvinnes ved teknikker slik som kromatografi på kirale stasjonære faser, enzymatisk oppløsning eller fraksjonert rekrySTALLISERING av addisjonssalter i tillegg til teknikkene som er tilveiebrakt i skjemaene og eksemplene heri.

Betegnelsen "  " betyr en binding som går fremover ut av sidens plan.

Betegnelsen "  " betyr en binding som går bakover ut av sidens plan.

Betegnelsen "  " betyr en binding som eksisterer som en blanding av bindinger som både går fremover og bakover ut av sidens plan.

Som anvendt heri betyr betegnelsen "pasient" et humant eller ikke-humant pattedyr slik som en hund, katt, ku, ape, hest eller sau. Betegnelsen "pasient" betyr nærmere bestemt et menneske. Betegnelsen "behandling" (eller "behandle") som anvendt heri inkluderer forhindring, begrensning, bremsing, stopping eller reversering av progresjonen eller alvorlighetsgraden av et eksisterende symptom eller en eksisterende forstyrrelse. Betegnelsen "forebygging" (eller "forebygge") betyr som anvendt heri forhindring, begrensning eller inhibering av insidensen eller forekomsten av et symptom eller en forstyrrelse. Som en fagmann vil forstå, kan det foreligge fysiologiske

forstyrrelser som en "kronisk" tilstand, eller som en "akutt" episode. Behandlingen av forstyrrelser tenkes således å omfatte både akutte hendelser og kroniske tilstander. I en akutt hendelse administreres forbindelse ved forekomst av symptomer og seponeres når symptomene forsvinner, mens en kronisk tilstand behandles gjennom hele sykdomsforløpet.

Forbindelser ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan formuleres som del av en farmasøytisk sammensetning. En farmasøytisk sammensetning omfattende en forbindelse med formel (I), eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, er i kombinasjon med et farmasøytisk akseptabelt bærestoff, fortynningsmiddel eller eksipient som sådan en viktig utførelsesform ifølge oppfinnelsen. Eksempler på farmasøytiske sammensetninger og fremgangsmåter for deres fremstilling er velkjente i teknikken. En forbindelse med formel (I), eller en sammensetning omfattende en forbindelse med formel (I), kan administreres ved en hvilken som helst vei som gjør forbindelsen biotilgjengelig, herunder orale og parenterale veier.

Betegnelsen "virkningsfull mengde" betyr som anvendt heri mengden eller dosen av en forbindelse med formel (I) som ved administrering av enkel eller multippel dose til pasienten tilveiebringer ønsket virkning hos pasienten under diagnose eller behandling. En virkningsfull mengde kan enkelt bestemmes av behandlende diagnostiker, som fagmann, ved å ta hensyn til et antall av faktorer slik som arten av pattedyr, dets størrelse, alder og allmennhelse, den spesifikke involverte sykdommen, sykdommens grad eller alvorlighetsgrad, den individuelle pasientens respons, den særlige administrerte forbindelsen, administreringsmåten, det administrerte preparatets biotilgjengelighetskarakteristikker, det valgte doseregimet og anvendelsen av eventuelle samtidige legemidler.

Forbindelsene og sammensetningene ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan administreres eller anvendes i et medikament, enten alene eller i kombinasjon med alminnelige terapeutiske midler som anvendes til en bestemt forstyrrelse. Hvis forbindelsene eller sammensetningene ifølge den foreliggende oppfinnelsen anvendes som del av en kombinasjon, kan forbindelsen eller sammensetningen omfattende formel (I) administreres enten separat eller som del av en formulering omfattende det terapeutiske middelet hvormed den skal kombineres.

Spesielt kan tradisjonelle terapeutiske midler til behandling av erektil dysfunksjon fordelaktig kombineres med forbindelsene med formel (I) eller sammensetninger omfattende en forbindelse med formel (I). Tradisjonelle midler til behandling av erektil dysfunksjon omfatter fosfodiesterase type 5 (PDE5)-inhibitorer, tadalafil (Cialis™), sildenafilsitrat (Viagra™) og vardenafilhydroklorid (Levitra™). Således tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen også en forbindelse med formel (I), eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, for anvendelse til behandling eller forebygging av erektil dysfunksjon i kombinasjon med et middel valgt fra gruppen bestående av tadalafil, sildenafilsitrat og vardenafilhydroklorid. Nærmere bestemt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en forbindelse med formel (I), eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, for anvendelse til behandling eller forebygging av erektil dysfunksjon i kombinasjon med et middel valgt fra gruppen bestående av Cialis™, Viagra™ og Levitra™.

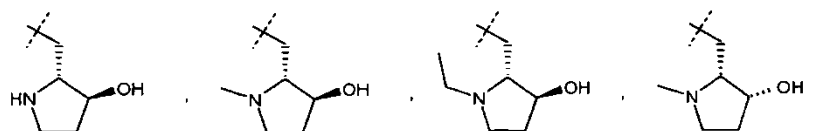
Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer videre en kombinasjonsterapiformulering som omfatter: (a) en forbindelse med formel (I), (b) ett eller flere ytterligere virkestoffer som er tradisjonelle til behandling av erektil dysfunksjon, valgt fra gruppen bestående av tadalafil, sildenafilsitrat og vardenafilhydroklorid, og eventuelt (c) et farmasøytisk akseptabelt bærerstoff, fortynningsmiddel eller eksipient. Nærmere bestemt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en kombinasjonsterapiformel som omfatter: (a) en forbindelse med formel (I), (b) ett eller flere ytterligere virkestoffer som er tradisjonelle til behandling av erektil dysfunksjon, valgt fra gruppen bestående av Cialis™, Viagra™ og Levitra™, og eventuelt (c) et farmasøytisk akseptabelt bærerstoff, fortynningsmiddel eller eksipient.

Særlige aspekter ved oppfinnelsen

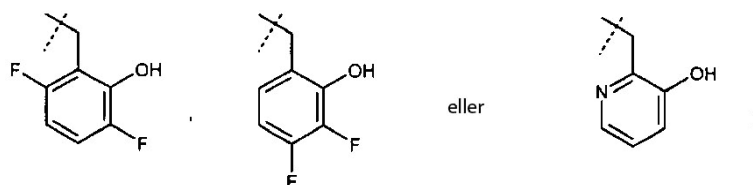
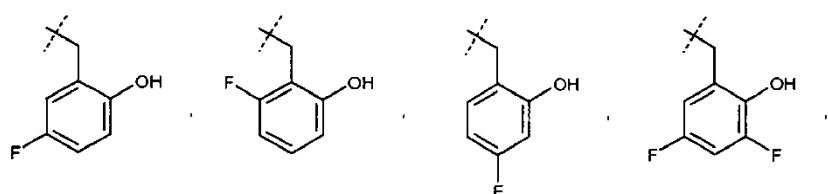
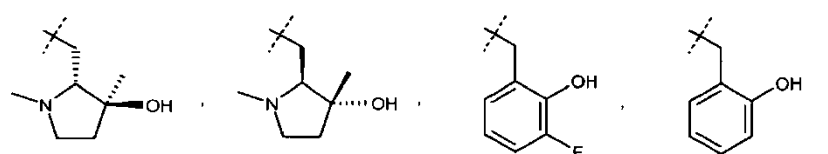
Den følgende listen angir flere grupperinger av særlige substituentter og særlige variabler for forbindelser med formel (I). Det skal forstås at forbindelser med formel (I) med slike særlige substituentter eller variabler, og fremgangsmåter og anvendelser som anvender slike forbindelser, representerer særlige aspekter ved den foreliggende oppfinnelsen.

Følgelig er et særlig aspekt ved den foreliggende oppfinnelsen en forbindelse med formel I(a) hvor:

(a) R representerer



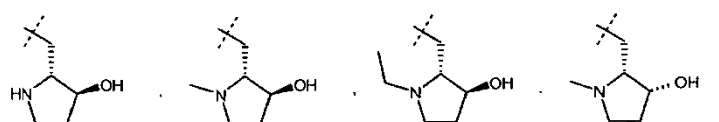
5



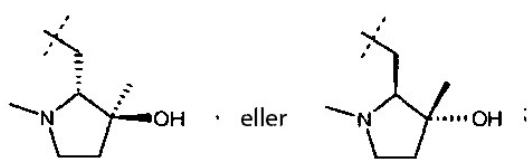
10

eller

(b) R representerer

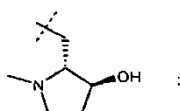


9



eller

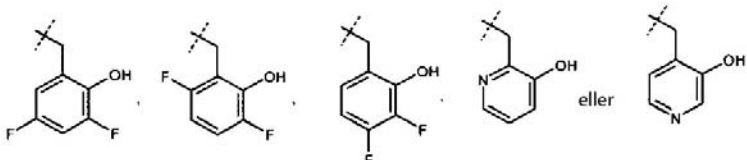
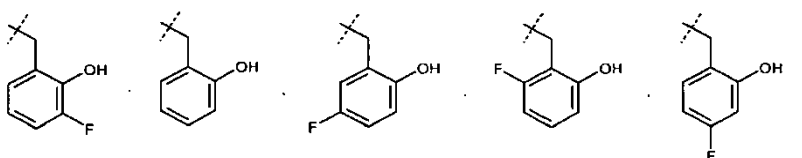
(c) R representerer



5

eller

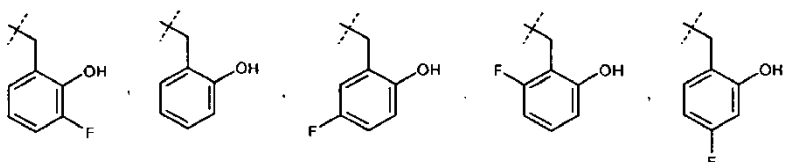
(d) R representerer

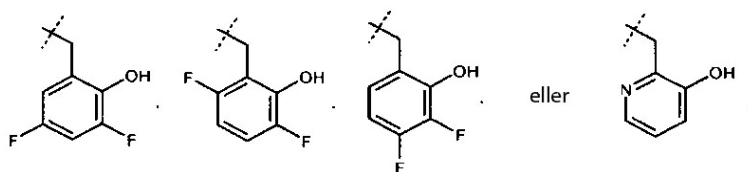


10

eller

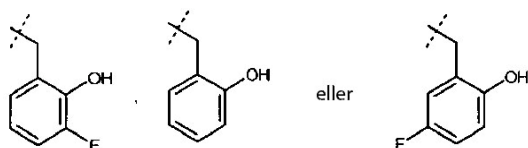
(e) R representerer





eller

(f) R representerer



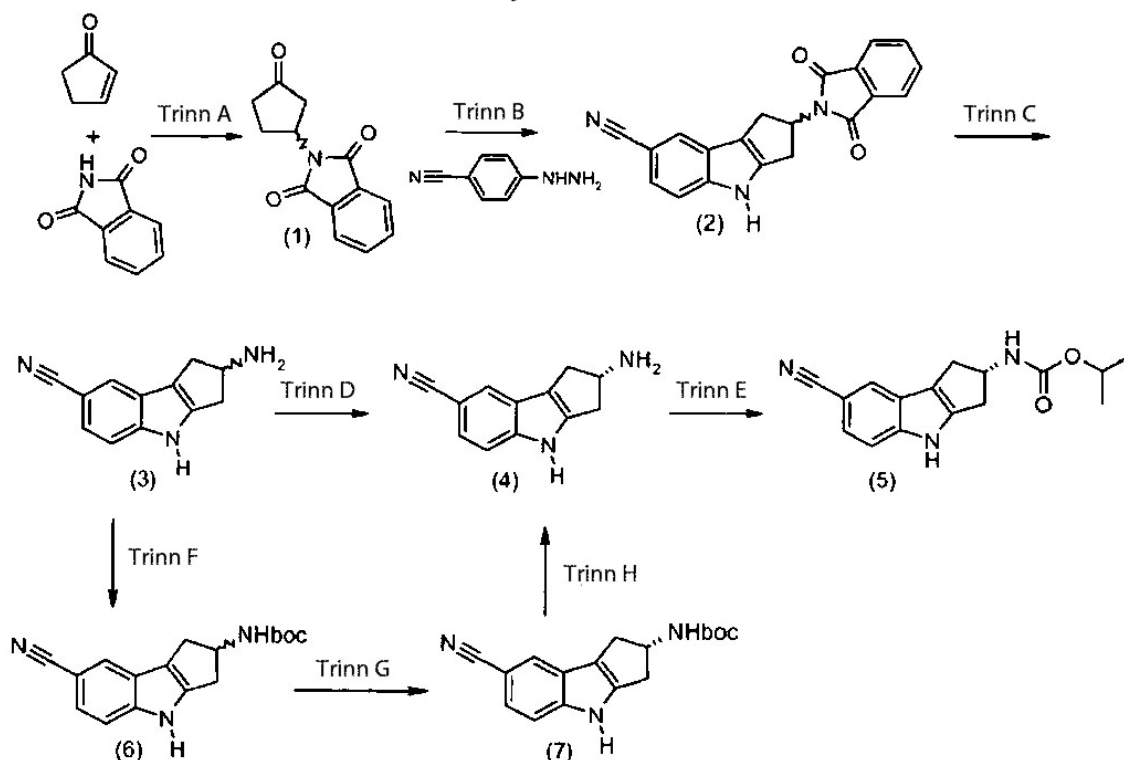
- 5 I tillegg er en særlig utførelsesform ifølge den foreliggende oppfinnelsen tilveiebrakt av de forbindelsene med formel (I) som er eksemplifisert heri, og enda nærmere bestemt forbindelsene [(S)-7-cyano-4-((2R,3S)-3-hydroksy-1-metylpyrrolidin-2-ylmetyl)-1,2,3,4-tetrahydrosyklopenta[b]indol-2-yl]-
- 10 karbamidsyreisopropylester, [(S)-7-cyano-4-(3-fluor-2-hydroksybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydrosyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester, [(S)-7-cyano-4-(2-hydroksybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydrosyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester og [(S)-7-cyano-4-(5-fluor-2-hydroksybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydrosyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester.
- 15 Forbindelsene med formel (I) kan fremstilles ved en rekke fremgangsmåter som er kjent i teknikken, og dem beskrevet i skjemaene, preparatene og eksemplene nedenfor. Men følgende drøftelse er ikke ment å begrense omfanget av den foreliggende oppfinnelsen på noen som helst måte. De spesifikke syntetiske trinnene for hver av de beskrevne veiene kan for eksempel kombineres på
- 20 forskjellige måter, eller i sammenheng med trinn fra forskjellige skjemaer, for å fremstille ytterligere forbindelser med formel (I).

Substituentene er som tidligere definert, med mindre annet er angitt. Reagensene og utgangsmaterialene er lett tilgjengelige for en fagmann eller kan fremstilles ved prosedyrer som er valgt fra standardteknikker for organisk og

25 heterosyklisk kjemi, teknikker som er analoge med syntesene av kjente strukturelt lignende forbindelser, og prosedyrene beskrevet i eksemplene nedenfor, herunder hvilke som helst hittil ukjente prosedyrer. Som anvendt heri

har følgende betegnelser disse angitte betydningene: "MeOH" betyr metanol, "EtOH" betyr etanol, "i-PrOH" betyr isopropanol, "EtOAc" betyr etylacetat, "DMF" betyr dimetylformamid, "DMSO" betyr metylsulfoksid, "NMP" betyr 1-metyl-2-pyrrolidinon, "TFA" betyr trifluoreddiksyre, "THF" betyr tetrahydrofuran, "DEAD" betyr diethylazodikarboksylat, "DIAD" betyr diisopropyldiazodikarboksylat, "NBS" betyr N-bromsuksinimid, "t-boc" eller "boc" betyr *tert*-butoksykarbonyl, "TBDMS" betyr t-butyldimetylsilyl og "PtG" betyr beskyttende gruppe.

Skjema 1



10 Dannelse av et mellomprodukt med formel (5) kan utføres i samsvar med reaksjoner som angitt i skjema 1.

15 I skjema 1, trinn A, er syklopentenon omsatt med ftalimid i en Michael-tilsetning for å gi (R,S)-2-(3-oksosyklopentyl)-isoindol-1,3-dion (1). Reaksjonen utføres i metanol / 2 N Na₂CO₃ i et volumforhold på 10/1 fortrinnsvis ved omgivelsestemperatur under betingelser som ligner de som er beskrevet av O. Nowitzki, et. al. i Tetrahedron 1996, 52, 11799–11810. Produktet isoleres ved tilsetning av vann og (1) oppnås som et hvitt fast stoff.

I trinn B omsettes (*R,S*)-2-(3-oksosyklopentyl)-isoindol-1,3-dion (1) med 4-cyanofenylhydrazin i en typisk Fischer-indolsyntese for å gi et tetrahydrocyklopenta[b]indol med formel (2). En fagmann vil forstå at det er en rekke sure betingelser som kan påvirke en Fischer-indolsyntese, inkludert både proton og Lewis-syrer. De foretrukne betingelsene anvender en blanding av iseddiksyre med 4 N HCl i dioksan, ved en temperatur på omtrent 50 °C til løsningsmiddelets refluksstemperatur i ca. 4 til 24 timer. Produktet isoleres ved tilsetning av vann etterfulgt av filtrering av det resulterende faste stoffet. Det faste stoffet ultralydbehandles i metanol for å gi materiale av tilstrekkelig renhet. Alternativt utføres reaksjonen ved hjelp av en Lewis-syre, slik som sinkklorid, i en mengde på omkring 2 til 4 ekvivalenter. Andre foretrukne betingelser for trinn B anvender etanol ved refluksstemperatur i ca. 4 til 24 timer. Produktet isoleres og kan renses ved filtrering av reaksjonsblandingen, etterfulgt av silikagelkromatografi av filtratet.

I skjema 1, trinn C, blir ftalimidgruppen til tetrahydrocyklopenta[b]indolet med formel (2) spaltet med hydrazin eller hydrazinhydrat for å gi et aminotetrahydrocyklopenta[b]indol med formel (3) ved hjelp av betingelser som beskrevet av M. Alajarín, et al. (Eur. J. Org. Chem. 2002, 4222–4227). Reaksjonen forløper i en løsningsmiddelblanding av tetrahydrofuran/etanol i et volumforhold på ca. 5,5/1 ved en temperatur på 0 til 50 °C, fortrinnsvis ved omkring romtemperatur, i 4 til 72 timer. Det resulterende ftalhydrazidet fjernes ved filtrering, og produktet isoleres ved konsentrering av filtratet. Det kan renses ved kromatografi under anvendelse av teknikker kjent innen faget.

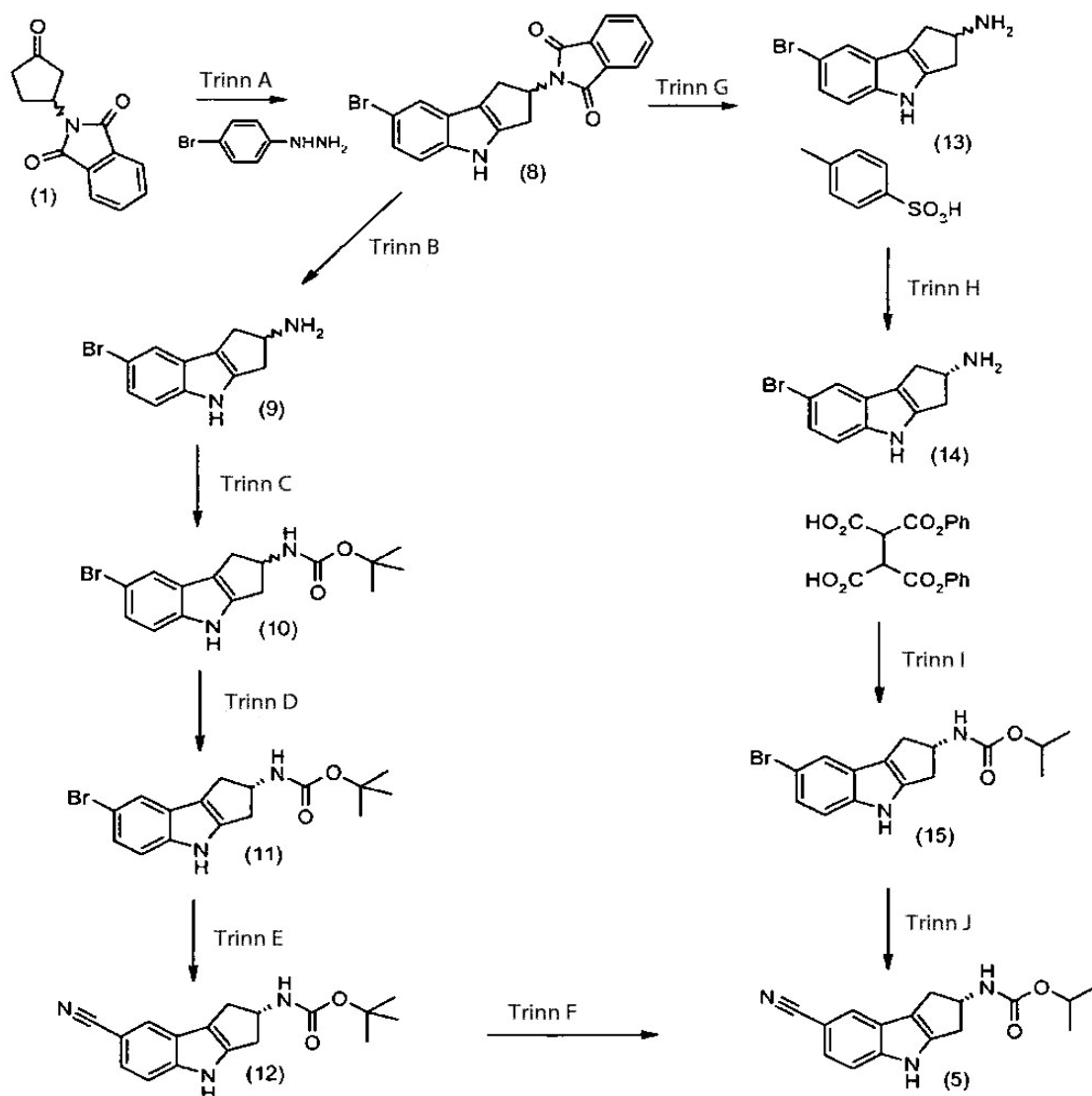
I skjema 1, trinn D, løses det racemiske aminotetrahydrocyklopenta[b]indolet med formel (3) til det kirale (*S*)-aminotetrahydrocyklopenta[b]indolet med formel (4). Aminet blir oppløst i et passende løsningsmiddel, slik som etanol, og rekrystallisert som saltet av D-pyroglutaminsyre. Etter isolering av saltet oppnås den frie basen med formel (4) ved oppløsning i vann og justering av pH til 9 ved hjelp av konsentrert vandig ammoniakk. Det resulterende faste stoffet filtreres for å gi (*S*)-2-amino-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-7-karbonitril (4) med spesifikk rotasjon: $[\alpha]_D^{25} -68,3^\circ$ (MeOH).

I trinn E blir aminet med formel (4) acylert med isopropylklorformiat for å gi et karbamat med formel (5), ved hjelp av betingelser som er velkjente for

fagmannen. Aminet kombineres med et overskudd av en organisk aminbase som trietylamin eller diisopropyletylamin i et inert løsningsmiddel slik som tetrahydrofuran, toluen, dikloretan eller diklormetan, N-metylpyrrolidinon eller N,N-dimetylformamid, eller en blanding derav. Foretrukne betingelser anvender diisopropyletylamin i diklormetan i nærvær av isopropylklorformiat ved en temperatur på ca. 0 til 40 °C i 1 til 72 timer. Produktet isoleres ved tilsetning av vann og dietyleter, etterfulgt av røring og oppsamling av det resulterende faste stoffet. Hvis produktet er tilstrekkelig løselig i et passende organisk løsningsmiddel, kan det isoleres ved hjelp av ekstraksjonsteknikker.

Eventuelt, som vist i trinn F, er det racemiske aminet med formel (3) beskyttet som det *t*-butoksykarbonyl(boc)-beskyttede aminet med formel (6) ved hjelp av betingelser som er vanlige i teknikken. I trinn G løses deretter den racemiske blandingen ved anvendelse av kiral kromatografi for å oppnå (*S*)-enantiomeren med formel (7). Boc-gruppen blir deretter fjernet ved hjelp av typiske sure betingelser med HCl eller TFA for å oppnå det kirale aminet med formel (4).

Skjema 2



I skjema 2 avbildes det alternative synteser for mellomproduktet med formel (5).

5

I skjema 2, trinn A, omsettes (*R,S*)-2-(3-oksosyklopentyl)-isoindol-1,3-dion (1) med 4-bromfenylhydrazinhydroklorid i en typisk Fischer-indolsyntese. Foretrukne betingelser anvender iseddiksyre ved ca. 50 til 80 °C i 2 til 24 timer.

10

I trinn B spaltes ftalimidgruppen til tetrahydrosyklopenta[b]indolet med formel (8) med hydrazin eller hydrazinhydrat for å tilveiebringe et aminotetrahydrosyklopenta[b]indol med formel (9). Foretrukne betingelser

anvender tetrahydrofuran/etanol i en blanding på omtrent 20/1 basert på volum ved en temperatur på ca. 40 til 70 °C i 1 til 12 timer. Det resulterende ftalhydrazidet fjernes ved filtrering, og produktet isoleres ved konsentrering av filtratet.

5

I skjema 2, trinn C, blir aminet med formel (9) beskyttet med en *t*-boc-gruppe for å gi det beskyttede aminet med formel (10). Foretrukne betingelser anvender di-*tert*-butyldikarbonat i et inert løsningsmiddel slik som THF eller dioksan i nærvær av en uorganisk base slik som NaHCO₃. I trinn D løses det racemiske *t*-boc-materialet med formel (10) ved hjelp av kiralt HPLC for å oppnå (*S*)-enantiomeren med formel (11).

10

I trinn E blir (*S*)-bromkarbamatet med formel (11) omdannet til nitrilet med formel (5). Reaksjonen kjøres i et inert løsningsmiddel, slik som N,N'-dimetylacetamid i nærvær av en blanding av sinkacetat eller sinkformiat, sinkcyanid og sinkstøv. En palladiumkatalysator anvendes, slik som 1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen)-palladium-(II)-klorid. Reaksjonsblandingen oppvarmes ved ca. 80 til 120 °C i ca. 2 til 24 timer.

15

20

I trinn F blir boc-gruppen fjernet ved hjelp av typiske sure betingelser slik som HCl/dioksan eller TFA for å oppnå det kirale aminet med formel (4) (se skjema 1), som så acyleres, som beskrevet i skjema 1, trinn E, med isopropylklorformiat for å gi et karbamat med formel (5).

25

I skjema 2, trinn G, blir eventuelt ftalimidgruppen til tetrahydrosyklopenta[b]indolet med formel (8) spaltet med hydrazin eller hydrazinhydrat for å tilveiebringe et aminotetrahydrosyklopenta[b]indol med formel (9) som tidligere beskrevet i trinn B. Deretter konverteres det resulterende frie aminet til p-toluensulfonsyresalt i etanol.

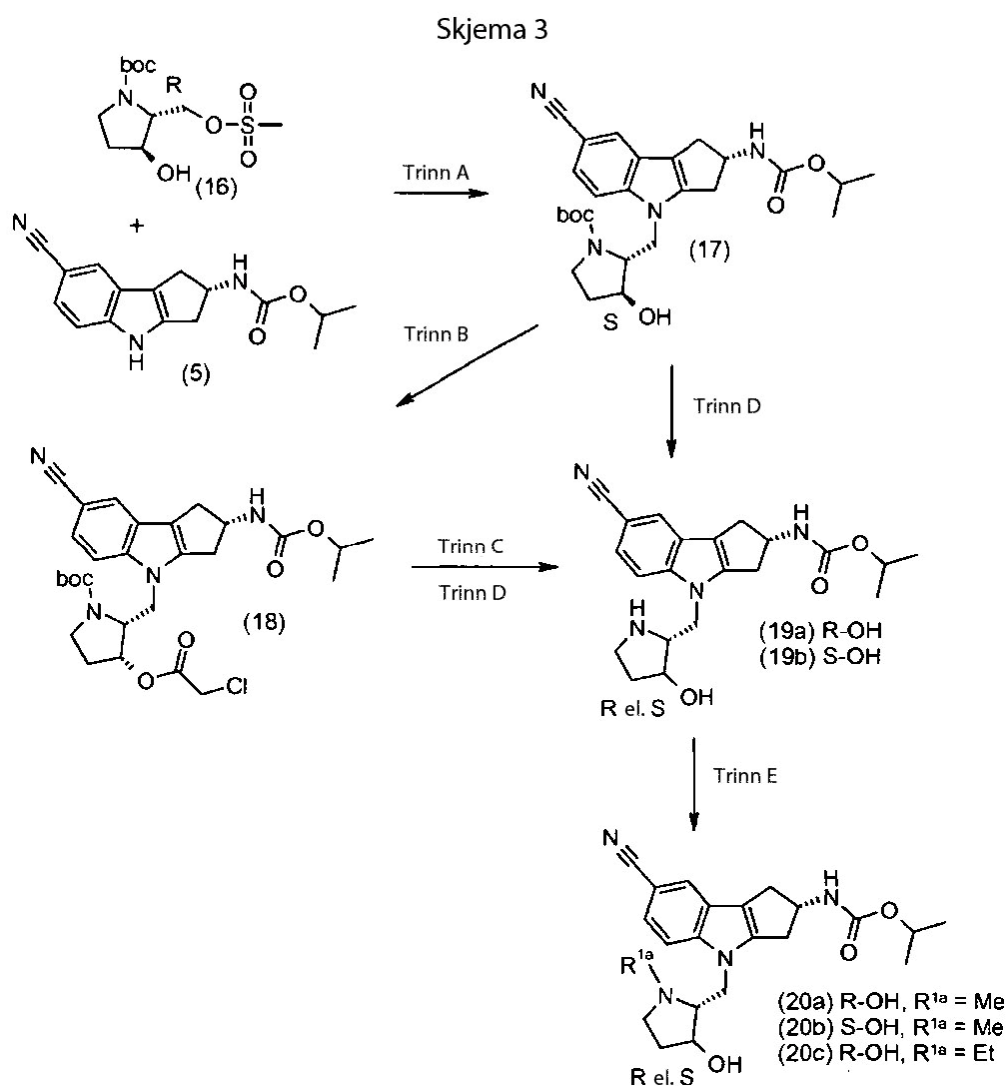
30

I trinn H frigjøres det racemiske aminotetrahydrosyklopenta[b]indoltosylatsaltet med formel (13), og det resulterende frie aminet løses ved hjelp av dibenzyl-D-vinsyre for å oppnå vinsyresaltet av (*S*)-aminotetrahydrosyklopenta[b]indolet med formel (14). Saltdannelsen blir fortrinnsvis gjort i en løsningsmiddelblanding av etanol og vann med reflux i ca. 1 til 6 timer, etterfulgt av avkjøling for å oppnå den ønskede enantiomeren.

35

I trinn I blir saltet med formel (14) nøytralisert til den frie basen og deretter acylert for å oppnå et karbamat med formel (15). Saltet nøytraliseres med en uorganisk base, slik som natriumhydroksidløsning. Den frie basen oppnås ved ekstraksjon etterfulgt av acylering med isopropylklorformiat i nærvær av et organisk amin slik som diisopropyletylamin i inert løsningsmiddel eller løsningsmiddelblanding av tetrahydrofuran og metyl-t-butyleter.

I skjema 2, trinn J, blir bromkarbamatet med formel (15) omdannet til nitrilet med formel (5) som tidligere beskrevet for trinn E.



Dannelse av forbindelser ifølge oppfinnelsen med formel (20a, b eller c) kan utføres i samsvar med reaksjoner som angitt i skjema 3.

I skjema 3, trinn A, alkyleres cyanotetrahydrosyklopenta[b]indolet med formel (5) med alkylmesylatet med formel (16) for å tilveiebringe det alkylerte tetrahydrosyklopenta[b]indolet med formel (17). Reaksjonen forløper i et inert løsningsmiddel, slik som DMF, i nærvær av en uorganisk base, slik som cesiumkarbonat med tilsetning av kaliumjodid. Reaksjonen skjer ved en temperatur på ca. 50 til 100 °C i ca. 8 til 72 timer.

I skjema 3, trinn B, omdannes kiraliteten til hydroksylgruppen til pyrrolidinet med formel (17) fra (3*S*) til (3*R*). Den kirale omdanningen gjennomføres ved anvendelse av en Mitsunobu-reaksjon for å tilveiebringe kloracetoksyppyrrolidinet med formel (18). Fagmannen vil gjenkjenne at det er benyttet forskjellige Mitsunobu-betingelser i teknikken. For eksempel løses alkoholet med formel (17) er i et egnet vannfritt løsningsmiddel som THF, CH₂Cl₂ eller toluen og behandles med et trialkyl- eller triarylfosfin slik som Me₃P, Bu₃P eller Ph₃P og et dialkylazodikarboksylat slik som DEAD eller DIAD.

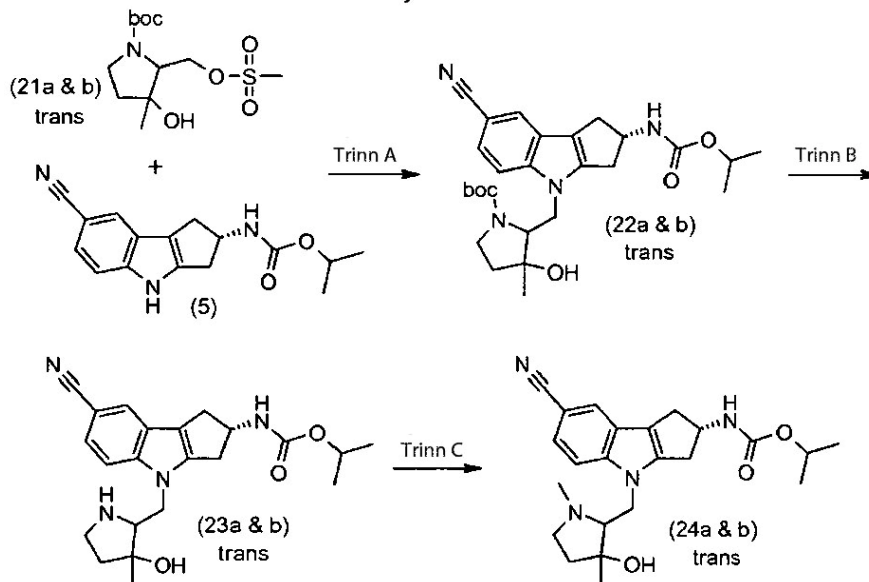
I trinn C hydrolyseres 3*R*-kloracetoksyppyrrolidinet med formel (18) til 3*R*-hydroksypyrrolidinet med formel (19a). Hydrolysen oppnås ved hjelp av en uorganisk base, slik som litiumhydroksid, i et løsningsmiddel slik som metanol, ved 0 til 50 °C i 4 til 24 timer. I trinn D fjernes den beskyttende boc-gruppen ved hjelp av sure betingelser slik som TFA eller fortrinnsvis 4 N HCl i dioksan for å tilveiebringe 3*S*-hydroksypyrrolidinet med formel (19b).

I skjema 3, trinn E, alkyleres hydroksypyrrolidinet med formel (19a eller b) ved anvendelse av reduktive amineringsbetingelser for å gi et N-alkylpyrrolidin med formel (20a, b eller c). Reaksjonen finner sted i et inert løsningsmiddel, slik som THF, diklormetan eller fortrinnsvis kloroform med et reduserende reagens, slik som natriumtriacetoksyborhydrid fra ca. 0 til 50 °C i 8 til 24 timer. Aldehydet som anvendes, kan være enten formaldehyd eller acetaldehyd for å tilveiebringe forbindelser med formel (20a, b eller c).

(2*R*,3*S*)-3-hydroksy-2-metansulfonyloksymetylpyrrolidin-1-karboksytsyre-*tert*-butylester (16) kan lett fremstilles ved fremgangsmåter som ligner de som er beskrevet heri, eller ved anvendelse av prosedyrer som er etablert i teknikken. For eksempel kan 3-hydroksy-L-prolin beskyttes med boc for å gi (2*S*,3*S*)-1-

(*tert*-butoksykarbonyl)-3-hydroksypyrrolidin-2-karboksylysyre. Karboksylysyren blir redusert til alkoholet og omdannes deretter til mesylatet med formel (16).

Skjema 4



- 5 Dannelsen av forbindelser ifølge oppfinnelsen med formel (24a og b) kan utføres i samsvar med reaksjoner som angitt i skjema 4.

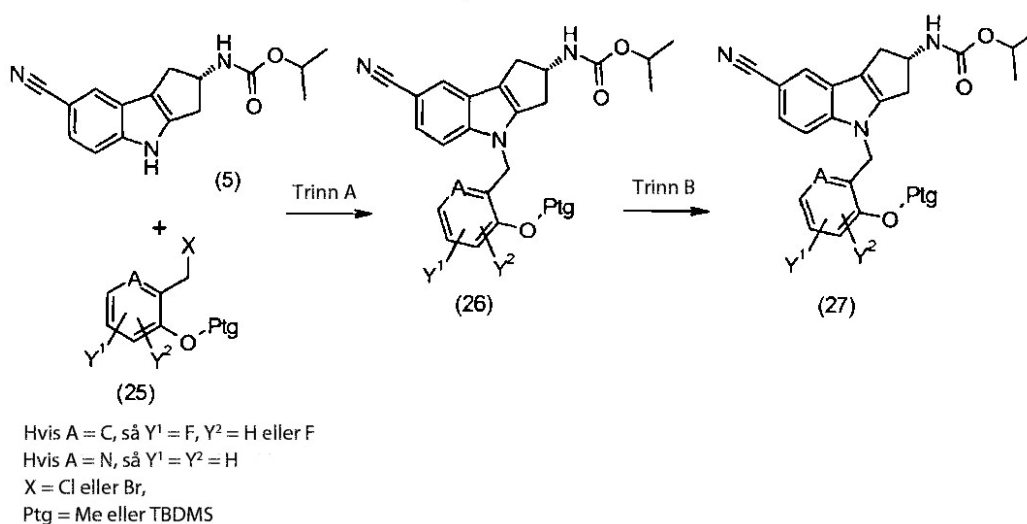
I skjema 4, trinn A, alkyleres cyanotetrahydrocyclopenta[b]indoleet med formel (5) med alkylmesylatet med formel (21a og b) for å tilveiebringe det alkylerte tetrahydrocyclopenta[b]indoleet med formel (22a og b). Alkylmesylatet med formel (21a og b) anvendes som en blanding av de to transenantiomerene. Alkyleringen utføres tilsvarende betingelsene beskrevet i skjema 3, trinn A, ovenfor.

- 15 I trinn B fjernes den beskyttende boc-gruppen ved anvendelse av sure betingelser slik som TFA eller fortrinnsvis 4 N HCl i dioksan.

I skjema 4, trinn C, alkyleres hydroksypyrrolinet med formel (23a eller b) ved anvendelse av reduktive amineringsbetingelser som tidligere beskrevet for skjema 3, trinn E, for å gi en blanding av transenantiomerene som formel (24a og b). Enantiomerene kan separeres ved hjelp av kiral kromatografi.

trans-3-hydroksy-2-metansulfonyloksymetyl-3-metylpyrrolidin-1-karboksytsyre-*tert*-butylester (21a og b) kan lett fremstilles ved fremgangsmåter som ligner de som er beskrevet heri, eller ved anvendelse av prosedyrer som er etablert i teknikken. For eksempel kan *trans*-2-benzyloksymetyl-3-metylpyrrolidin-3-ol oppnås ved omdannelse i samme beholder av egnet 2,3-aziridin-1-ol (J. Schomaker og S. Bhattacharjee, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129, 1996–2003). Nitrogenet i pyrrolidinolet blir deretter beskyttet med t-boc, og benzylgruppen fjernes ved hydrogenering. Det resulterende alkoholet mesyleres for å gi transenantiomerene med formel (21a og b).

Skjema 5



Dannelse av forbindelser ifølge oppfinnelsen med formel (27) kan utføres i samsvar med reaksjoner som angitt i skjema 5.

I skjema 5, trinn A, alkyleres cyanotetrahydrocyklopenta[b]indoleet med formel (5) med benzylet eller pyridylmetylhalidet med formel (25) for å tilveiebringe det alkylerte tetrahydrocyklopenta[b]indoleet med formel (26). Fenyl- eller pyridylringen substitueres med hydroksylfunksjonalitet, som er beskyttet med beskyttende grupper (Ptg) kjent innen teknikken, for eksempel som metyleteren eller silyleteren. Alkyleringen utføres på lignende måte som betingelsene beskrevet i skjema 3, trinn A, ovenfor.

I trinn B fjernes den beskyttende gruppen for å tilveiebringe fenolet eller hydroksypyridinet med formel (27). For eksempel omdannes metyleter til det frie hydroksylet ved omsetning med bortribromid i et inert løsningsmiddel slik

som diklormetan ved en temperatur fra ca. -20 til 25 °C. Eventuelt kan en beskyttende silylgruppe fjernes med fluoridanion ved anvendelse av reagenser slik som cesiumfluorid eller fortrinnsvis tetrabutylammoniumfluorid.

- 5 Benzyhalidene med formel (25) kan lett fremstilles ved fremgangsmåter som ligner de som er beskrevet heri, eller ved anvendelse av prosedyrer som er etablert i teknikken. For eksempel kan fluor- eller difluor-2-hydroksybenzaldehyder alkyleres med jodmetan for å tilveiebringe 2-metoksybenzaldehydet. Benzaldehydet kan reduseres til den tilsvarende
- 10 benzyalkoholen og deretter omdannes til (klormetyl)-2-metoksybenzenet med formel (25) hvor $X = Cl$ og $Ptg = Me$. Eventuelt kan fluor- eller difluor-2-metylfenoler silyleres med *t*-butyldimetylklorsilan etterfulgt av omsetning med N-bromsuccinimid for å oppnå benzybromid med formel (25), hvor $X = Br$ og $Ptg = TBDMS$. 2-(klormetyl)-3-metoksy-pyridin kan oppnås fra 3-metoksy-2-pikolin ved klorering med $POCl_3$.
- 15

Bestemmelse av biologisk aktivitet:

- Som vist ved testing *in vitro* og *in vivo* har eksemplifiserte forbindelser med formel (I) aktivitetsprofiler som tyder på at de kan anvendes til behandling av
- 20 forstyrrelser som reagerer på steroid androgenterapi. Særlig er eksempelforbindelser ifølge eksempel 1-10 og 12 med formel (I) potente AR-ligander som agoniserer androgenreseptoren. I tillegg binder eksempelforbindelsene ifølge eksemplene 1-10 og 12 med formel (I) selektivt til AR i forhold til hver av MR, GR og PR.
- 25

- " K_d " betyr som anvendt heri likevektsdissosiasjonskonstanten for et ligand-reseptor-kompleks, " K_i " betyr likevektsdissosiasjonskonstanten for et legemiddel-reseptor-kompleks og er en indikasjon på konsentrasjonen av legemiddel som vil binde til halvparten av bindingsstedene ved likevekt, " K_b "
- 30 betyr likevektsdissosiasjonskonstanten for et antagonist-reseptor-kompleks, "IC50" betyr konsentrasjonen av et middel som produserer 50 % av den største inhiberende responsen som er mulig for det middelet, eller alternativt konsentrasjonen av et middel som produserer 50 % fortrenkning av ligandbinding til reseptoren, "EC50" betyr konsentrasjonen av et middel som produserer 50 % av den største responsen som er mulig for det middelet, og
- 35

"ED50" betyr dosen av et administrert terapeutisk middel som produserer 50 % av den største responsen for det middelet.

Bindingsanalyse for nukleære steroidhormonreseptorer:

5 Cellelysater fra humane embryoniske HEK293-nyreceller som overuttrykker human MR (mineralkortikoidreseptor), GR (glukokortikoidreseptor), AR (androgenreseptor) eller PR (progesteronreseptor), anvendes til kompetitive reseptorligandbindingsanalyser for å bestemme K_i -verdier. Typiske prosedyrer er tilveiebrakt nedenfor

10

Kompetitive steroidreseptorbindingsanalyser utføres kort fortalt i en buffer inneholdende 20 mM HEPES-buffer (pH = 7,6), 0,2 mM EDTA, 75 mM NaCl, 1,5 mM $MgCl_2$, 20 % glyserol, 20 mM natriummolybdat, 0,2 mM DTT (ditiotreitol), 20 μ g/ml aprotinin og 20 μ g/ml leupeptin (analysebuffer).

15

Steroidreseptorbindingsanalyser inkluderer typisk radiomerkede ligander, slik som 0,25 nM [3H]-aldosteron for MR-binding, 0,3 nM [3H]-deksametason for GR-binding, 0,36 nM [3H]-metyltrienolon for AR-binding og 0,29 nM [3H]-metyltrienolon for PR-binding, og enten 20 μ g 293-MR-lysat, 20 μ g 293-GR-lysat, 22 μ g 293-AR-lysat eller 40 μ g 293-PR-lysat per brønn. Analysene utføres typisk i 96-brønners format. Konkurrerende testforbindelser tilsettes ved forskjellige konsentrasjoner fra cirka 0,01 nM til 10 μ M. Ikke-spesifikk binding bestemmes under nærvær av 500 nM aldosteron for MR-binding, 500 nM deksametason for GR-binding eller 500 nM metyltrienolon for AR- og PR-binding.

20

Bindingsreaksjonene (140 μ l) inkuberes over natten ved 4 °C, deretter tilsettes 70 μ l kald trekull-dekstran-buffer (inneholdende per 50 ml analysebuffer, 0,75 g trekull og 0,25 g dekstran) til hver reaksjon. Plater blandes i 8 minutter på en orbitalrister ved 4 °C. Platene sentrifugeres deretter ved 3000 o/min ved 4 °C i 10 minutter. En alikvot på 120 μ l bindingsreaksjonsblanding overføres deretter til en annen 96-brønners plate, og 175 μ l Wallac Optiphase Hisafe 3™-scintilleringsvæske tilsettes i hver brønn. Platene forsegles og ristes omhyggelig på en orbitalrister. Etter en inkubering på 2 timer avleses platene i en Wallac Microbeta-teller.

25

30

35

Dataene anvendes til å beregne en estimert IC50 og prosentvis inhibering ved 10 μ M. K_d for [3H]-aldosteron for MR-binding, [3H]-deksametason for GR-

binding, [^3H]-metyltrienolon for AR-binding eller [^3H]-metyltrienolon for PR-binding bestemmes ved metningsbinding. IC50-verdiene for forbindelser omdannes til K_i ved hjelp av Cheng-Prusoff-ligningen.

- 5 Etter en protokoll i det vesentlige som beskrevet ovenfor viser forbindelsene ifølge eksempel 1–10 og 12 en K_i i AR-bindingsanalysen på ≤ 500 nM. Nærmere bestemt viste forbindelsene ifølge eksempel 1, 2, 6 og 9 en K_i i AR-bindingsanalysen på henholdsvis cirka 51 nM, 11 nM, 13 nM og 0,8 nM, hvilket således viser at forbindelser innenfor den foreliggende oppfinnelsens omfang er
- 10 potente ligander av human AR.

Funksjonelle analyser for modulasjon av nukleære steroidhormonreseptorer:

- 15 Androgener øver sine fysiologiske virkninger gjennom interaksjon med androgenreseptoren. Etter cytoplasmisk binding av et androgen til AR translokteres ligand-reseptor-komplekset til cellekjernen hvor det binder til hormonresponsgrunnstoffer på DNA for å initiere ekspresjon av målgener. Virkningene av androgener kan karakteriseres som anabole eller androgene av natur. Androgenenes anabole (dvs. vevsoppbyggende) virkninger omfatter
- 20 økning av muskelmasse og -styrke samt benmasse, mens androgene (dvs. mannliggjørende) virkninger inkluderer utvikling av mannlige sekundære seksuelle karakteristikk som de interne reproduktive vev (dvs. prostata og seminal vesikkel), de eksterne genitalia (penis og scrotum), libido og hårvekstmønstre.

- 25 For å demonstrere evnen som forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen har til å modulere aktiviteten til steroidhormonreseptorer (dvs. enten agonisere, delvis agonisere, delvis antagonisere eller antagonisere) utføres bioanalyser som detekterer funksjonell modulasjon av målgenekspresjon i celler kortvarig
- 30 transfektert med et nukleært reseptorprotein og en hormonresponselement-reportergen-konstruksjon. Løsningsmidlene, reagensene og ligandene benyttet i den funksjonelle analysen er lett tilgjengelige fra kommersielle kilder eller kan fremstilles av en fagmann. Det følgende tilveiebringer typiske prosedyrer for funksjonelle analyser for nukleære hormonreseptorer.

A. Panelscreening for nukleære hormonreseptorer

Humane embryoniske HEK293-nyreceller transfekteres med steroidhormonreseptor og reporterplasmider ved hjelp av et egnet transfeksjonsreagens slik som Fugene™. Reporterplasmidet inneholdende to kopier av probasin ARE- og TK-aktivator (TK, tymidinkinase) oppstrøms for luciferasereporterens cDNA transfekteres til HEK293-celler med et plasmid som konstitutivt uttrykker human androgenreseptor (AR) ved hjelp av viral CMV-aktivator (CMV, cytomegalovirus). Reporterplasmidet inneholdende to kopier av GRE- og TK-aktivator oppstrøms for luciferasereporterens cDNA transfekteres med et plasmid som konstitutivt uttrykker enten human glukokortikoidreseptor (GR), human mineralkortikoidreseptor (MR) eller human progesteronreseptor (PR) ved hjelp av viral CMV-aktivator. Celler transfekteres i T150 cm kolber i DMEM-medier med 5 % trekullavdrevet føtalt bovint serum (FBS). Etter en inkubering over natten trypsiniseres transfekterte celler, plasseres i 96-brønners plater i DMEM-medier inneholdende 5 % trekullavdrevet FBS, inkuberes i 4 timer og eksponeres deretter for forskjellige konsentrasjoner av testforbindelser fra cirka 0,01 nM til 10 µM. I antagonistmodus for analysene tilsettes lave konsentrasjoner av agonist for hver respektiv reseptor til mediene (0,08 nM aldosteron for MR, 0,25 nM deksametason for GR, 0,66 nM metyltrienolon for AR og 0,08 nM promegeston for PR). Etter 24 timers inkubering med testforbindelser lyseres celler, og luciferaseaktivitet bestemmes ved hjelp av standardteknikker.

Data tilpasses til en fire parameter-tilpasset logistisk kurve for å bestemme EC50-verdier. Prosentvis virkning (forbindelser med mettede største responser) eller prosentvis største stimulering (forbindelser med største responser som ikke metter) bestemmes i forhold til største stimulering oppnådd med følgende referanseagonister: 30 nM aldosteron for MR-analyse, 100 nM metyltrienolon for AR-analyse, 30 nM promegeston for PR-analyse og med 100 nM deksametason for GR-analyse. IC50-verdier bestemmes likeledes ved hjelp av analysedata i antagonistmodus. I antagonistmodus bestemmes prosentvis inhiberinger ved sammenligning av testforbindelsesaktivitet under nærvær av lav konsentrasjon av agonist (0,08 nM aldosteron for MR, 0,25 nM deksametason for GR, 0,66 nM metyltrienolon for AR og 0,08 nM promegeston for PR) med responsen produsert ved samme lave konsentrasjon av agonist under fravær av testforbindelse.

B. C2C12 AR/ARE-reporteranalyse:

- Som en indikator på agonistaktivitet i muskelvev utføres C2C12 AR/ARE-reporteranalysen. Kort fortalt transfekteres myoblast-C2C12-celler fra mus samtidig ved anvendelse av Fugene™-reagens. Et reporterplasmid inneholdende GRE/ARE (glukokortikoid responselement / androgenresponselement) og TK-aktivator oppstrøms for luciferasereporterens cDNA, transfekteres med et plasmid som konstitutivt uttrykker human androgenreseptor (AR) ved anvendelse av viral CMV-aktivator. Celler transfekteres i T150 cm² kolber i DMEM-medier med 4 % trekullavdrevet føtalt bovint serum (FBS). Etter en 5 timers inkubering trypsiniseres transfekterte celler, plasseres i 96-brønners plater i DMEM-medier inneholdende 4 % trekullavdrevet FBS, inkuberes i 2 timer og eksponeres deretter for forskjellige konsentrasjoner av testforbindelser fra cirka 0,01 nM til 10 µM. Etter 48 timers inkubering med testforbindelser lyseres celler, og luciferaseaktivitet bestemmes ved hjelp av alminnelige teknikker. Data tilpasses en fire parameter-tilpasset logistisk kurve for å bestemme EC50-verdier. Virkning i % bestemmes sammenlignet med maksimal stimulering oppnådd med 10 nM metyltrienolon.
- Funksjonelle analyser av nukleær hormonreseptormodulering av steroidhormon lignende de som er beskrevet ovenfor kan lett utformes av en fagmann. Etter en protokoll i det vesentlige som beskrevet ovenfor viser forbindelsene ifølge eksempel 1–10 og 12 en EC50 i C2C12 AR/ARE-reporteranalysen på ≤ 2000 nM. Nærmere bestemt viste forbindelsene i eksempel 1, 2, 6 og 9 en EC50 i C2C12-AR/ARE-reporteranalysen på henholdsvis cirka 20, 1,0, 0,3 og 0,3, hvilket således viser at forbindelser innenfor den foreliggende oppfinnelsens omfang er agonister for human AR.

Modell av effektivitet og selektivitet:

- Sprague Dawley-hannrotter (24 uker gamle) kastreres (ved gonadektomi eller "GDX") i henhold til godkjente prosedyrer og ble deretter ikke brukt i åtte uker. Sham-opererte mus av samme alder blir også forberedt. Dyrene blir plassert i et

temperaturkontrollert rom (24 °C) med reversert 12-timers lys-/mørkesyklus og vann og mat tilgjengelig *ad libitum*.

5 Dyrene blir randomisert basert på kroppsvekt før de tillegges et testspor. Forbindelser ifølge den foreliggende oppfinnelsen blir administrert daglig ved oral tvangsfôring til de kastrerte trettito uker gamle rottene (kroppsvekt ca. 450–500 g) ved hjelp av en konvensjonell vehikkel slik som 1 % natriumkarboksymetylcellulose (CMC) + 0,25 % Tween 80 + 0,05 % AntiFoam®) i sterilt H₂O. Sham-opererte rotter behandlet kun med vehikkel
10 anvendes som behandlingspositiv kontroll mens kastrerte rotter behandlet kun med vehikkel anvendes som behandlingsnegativ kontroll.

Testdyr blir dosert daglig over en to- eller åtte-ukers tidsramme med for eksempel 0,3, 1, 2, 3 eller 6 mg/kg/dag av en forbindelse ifølge den foreliggende
15 oppfinnelsen. Etter behandlingsperioden blir dyrene avlivet, og våtvekten av levator ani-muskelen (LA) og bulbocavernosus-muskelen i hver testgruppe kan bestemmes og sammenlignes med våtvekten av levator ani-muskelen og bulbocavernosus-muskelen fra den kastrerte kontrollgruppen som kun er gitt vehikkel (etter veiing kan bulbocavernosus-muskelen hurtigfryses i flytende nitrogen for senere anvendelse til måling av nitrogenoksidsyntase-mRNA, som
20 beskrevet nedenfor). Som en indikator for vevsselektiv aktivitet kan våtvekten av prostata fra testdyrene på en tilsvarende måte sammenlignes med våtvekten av prostata fra den kastrerte kontrollgruppen som kun er gitt vehikkel.

25 I tråd med en protokoll vesentlig som beskrevet ovenfor ved anvendelse av en åtte ukers behandlingsperiode, produserte studier med forbindelsen ifølge eksempel 2 følgende resultater: Sham (kun vehikkel) viste en gjennomsnittlig våtvekt av LA på ca. 0,255 g, en gjennomsnittlig våtvekt av prostata på ca. 824,5 mg og en gjennomsnittlig våtvekt av bulbocavernosus på ca. 0,93 g; de
30 kastrerte dyrene / kun vehikkel-dyrene viste en gjennomsnittlig våtvekt av LA på ca. 0,094 g, en gjennomsnittlig våtvekt av prostata på ca. 103,8 mg og en gjennomsnittlig våtvekt av bulbocavernosus på ca. 0,362 g; studiegruppene med 0,3 mg/kg viste en gjennomsnittlig våtvekt av LA på ca. 0,137 g, en gjennomsnittlig våtvekt av prostata på ca. 72,4 mg og en gjennomsnittlig
35 våtvekt av bulbocavernosus på ca. 0,476 g; studiegruppene med 1,0 mg/kg viste en gjennomsnittlig våtvekt av LA på ca. 0,182 g, en gjennomsnittlig

våttvekt av prostata på ca. 102,8 mg og en gjennomsnittlig våttvekt av bulbocavernosus på ca. 0,582 g; studiegruppene med 3,0 mg/kg viste en gjennomsnittlig våttvekt av LA på ca. 0,205 g, en gjennomsnittlig våttvekt av prostata på ca. 147,4 mg og en gjennomsnittlig våttvekt av bulbocavernosus på ca. 0,698 g, og studiegruppene med 6,0 mg/kg viste en gjennomsnittlig våttvekt av LA på ca. 0,264 g, en gjennomsnittlig våttvekt av prostata på ca. 271,8 mg og en gjennomsnittlig våttvekt av bulbocavernosus på ca. 0,955 g.

Altså produserte behandling med forbindelsen ifølge eksempel 2 en doseavhengig økning i vekten av levator ani og bulbocavernosus sammenlignet med den kastrerte kontrollgruppen.

In vitro-analyse av erektile aktivitet

Nitrogenoksid syntase / syklisk guanosinmonofosfat-veien (NOS/cGMP) er avgjørende for erektile aktivitet. NOS-ekspressjon fører til generering av nitrogenoksid (NO) som i sin tur fremmer generering av cGMP gjennom aktivisering av guanylylsykase. cGMP fremmer proteinkinase G-aktivitet (PKG) som formidler avslapning av svampegemet for å lette ereksjon. Bevis støtter at androgener spiller en rolle i regulering av ekspressjon og aktivitet av NOS-isoformer i corpus cavernosum i eksperimentelle dyremodeller. Traish et al., European Urology, 52; 54–70 (2007). Dermed antas androgenreseptormodulatorer, som er i stand til å øke ekspressjonen av NOS-isoformer, å ha en rolle i regulering av erektile aktivitet i penis.

For å bestemme evnen til forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen til å opp-regulere ekspressjonen av NOS-isoformer, kan følgende in vitro-fremgangsmåter anvendes.

RNA isoleres fra frossent bulbocavernosus-vev og corpus cavernosum-vev som er oppnådd ved obduksjon fra kastrerte Sprague Dawley-rotter som i det vesentlige er forberedt og dosert som beskrevet ovenfor under Modell for effektivitet og selektivitet. cDNA syntetiseres fra 2 µg RNA ved hjelp av et høykapasitets cDNA-sett i henhold til produsentens instruksjoner.

Kvantitativ PCR i sanntid blir deretter utført i henhold til den fluorescerende TaqMan®-metoden (Applied Biosystems). Assays-on-Demand™-sonder (Applied Biosystems) anvendes til rottens epitelnitrogenoksid syntasetranskript (eNOS) mens sonder utformes for rottepenisens spesifikke isoform av nevronal nitrogenoksid syntase (pnNOS) ved anvendelse av sondedesignerprogramvare (Applied Biosystems). Sondene er utformet for å strekke seg over en 102 bp region av rottens nevronale nitrogenoksid syntasegen (pnNOS) som er spesifikt for pnNOS (posisjon 2865–2967). MGB™ Primer-sekvenser er S'CCGGAACCCTTGCGTTT 3' (SEQ ID NO:1) (fremover) og 5'CAGACTGTGGGCTTCAGAGTCA 3' (SEQ ID NO:2) (bakover), og sondesekvensen er 5'CCCGTAAAGGGCCT 3' (SEQ ID NO:3) (FAM NFQ). Assays-on-Demand™-sondesett for PPIB-transkriptet anvendes som internkontroll. PCR utføres på et ABI Prism 7700-sekvensdeteksjonssystem med følgende termosykluserbetingelser: 2 min. ved 50 °C, 10 min. ved 95 °C og 40 sykluser ved 95 °C i 30 s, og 60 °C i 1 min. Alle reaksjoner utføres i triplikat.

Ved anvendelse av prosedyrer i det vesentlige som beskrevet heri, viser forbindelsen ifølge eksempel 2 en doseavhengig økning i penisens nitrogenoksid syntase-mRNA (pnNOS) i bulbo cavernosus-vevene oppnådd fra kasterte Sprague Dawley-rotter behandlet over en åtte ukers tidsramme. Nærmere bestemt viste studiegruppene med 0,3 mg/kg pnNOS-ekspresjon på ca. 97 % av kontroll, studiegruppen med 1,0 mg/kg viste pnNOS-ekspresjon på ca. 93 % av kontroll, studiegruppen med 3,0 mg/kg viste pnNOS-ekspresjon på ca. 153 % av kontroll, og studiegruppen med 6,0 mg/kg viste pnNOS-ekspresjon på ca. 248 % av kontroll.

I en separat kohort viser forbindelsen ifølge eksempel 2 i tillegg en økning i epitelnitrogenoksid syntase-mRNA (eNOS) i corpus cavernosum-vev oppnådd fra kasterte Sprague Dawley-rotter behandlet over en to ukers tidsramme med 2 mg/kg/dag. Nærmere bestemt var eNOS-ekspresjon i studiegruppen ca. 159 % av kontroll.

Reduksjoner i muskelmasse eller -styrke kan oppstå som et resultat av immobilisering eller manglende bruk, for eksempel som følge av benbrudd eller utskiftning av hofte eller kne. For å bestemme evnen som forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen har til å behandle eller forhindre tap av

muskelmasse eller -styrke indusert av immobilisering, manglende anvendelse eller traumer, kan følgende dyremodeller anvendes.

Modell for muskeltap indusert av immobilisering

- 5 En bakre ekstremitet hos 12 uker gamle ICR-hannmus blir immobilisert i plantarfleksjonstilling ved at det legges gips på ekstremiteten. Etter syv dager med immobilisering blir musene behandlet med en daglig administrering av en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen i ulike tidsperioder. Kontroll dyr, med og uten gips, behandles på samme måte med vehikkel i ulike tidsperioder.
- 10 På slutten av behandlingsprotokollen blir musene avlivet, våtvekten til de gipsede gastrocnemius bestemmes, og de enkelte behandlingsgruppene blir sammenlignet med vehikkelkontrollene. Se generelt Am. J. Endocrinol. Metab. 289: 969–980 (2005).

Modell for muskelskader og traumer

- 15 ICR-hannmus kastreres ved 8 ukers alder og blir ikke brukt i ytterligere åtte uker. Musene plasseres i individuelle bur og holdes på en 12-timers lys-/mørkesyklus ved 22 °C med ad lib tilgang til mat og vann. Mus blir bedøvet med isofluoran (1–5 %), og den høyre gastrocnemius-muskelen injiseres
- 20 bilateralt med 100 µl av et 10 µM kardiotoxin (naja naja atra, Sigma Aldrich) for å indusere muskelskade. Dyrene våkner fra anestesi og gjenopptar normal aktivitet innen 5 minutter. På dag 5 etter injeksjon behandles dyrene med forskjellige doser av en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen. Etter dag 14 etter injeksjon blir de behandlede musene avlivet, veid, og det høstes
- 25 gastrocnemius-muskelvev fra både ikke-injisert (kontralateral kontroll) og kardiotoxininjisert ben. Muskelvektene ble sammenlignet med ikke-injisert og ubehandlet kontroll for å fastslå prosentvis bedring fra traumer.

- 30 For å demonstrere at forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen har kapasitet til å behandle forstyrrelser forbundet med bentap, slik som osteoporose eller osteopeni, kan andre dyremodeller som er velkjente for fagmannen, anvendes. Eksempler på slike modeller er tilveiebrakt i Y. L. Ma et al., Japanese Journal of Bone og Mineral Metabolism 23 (suppl.): 62–68 (2005);

Y.L. Ma et al., Endocrinology 144: 2008–2015 (2003) og K. Hanada et al., Biol. Pharm. Bull. 26(11): 1563–1569 (2003). Spesielt nevnes hunnrottemodellen for østrogenmangelosteopeni induisert av ovariectomi, og hannrottemodellen for androgenmangelosteopeni induisert av orkidektomi.

5

Modell for østrogenmangelosteopeni induisert av ovariectomi:

Seks måneder gamle, jomfru Sprague Dawley-hunnrotter som veier ca. 220 g, plasseres med *ad libitum* tilgang på mat og vann. Bilaterale ovariectomier (Ovx) blir utført på dyrene (unntatt sham-opererte kontroller) og de blir deretter randomisert i behandlingsgrupper på 7–8 rotter per gruppe. Hver analyse inneholder typisk minst 2 sett kontroller, inkludert sham-ovariectomi (Sham) og ovariectomiserte kontroller (Ovx) behandlet med vehikkel. Ovx-rotter tillates å miste ben i 1 måned for å fastslå osteopeni før behandling med testforbindelse. Testforbindelser administreres oralt ved tvangsfôring til Ovx-dyr i 8 uker. Som en positiv kontroll kan rekombinant humant PTH (1–38) (omtrent 10 µg/kg/d, subkutan) gis til en undergruppe av Ovx-dyr. Etter gjennomføring av testprotokollen anvendes kvantitativ computertomografi (QCT) til å analysere den volumetriske benmineraltettheten (BMD, mg/cc) av lumbalvirvel L-5 og femur. Biomekaniske analyser av trepunktsbøying på midtre del av femurskaft og belastning til svikt på den proksimale femur utføres ved hjelp av en materialmekanisk testmaskin og analyseres ved hjelp av TestWorks 4®-programvare.

Modell for androgenmangelosteopeni induisert av orkidektomi:

Seks måneder gamle Sprague Dawley-hannrotter som veier ca. 485 g, plasseres med *ad libitum* tilgang på mat og vann. Bilateral orkidektomi (Orx) blir utført på dyrene (unntatt sham-opererte kontroller) og de blir deretter randomisert i behandlingsgrupper på 7–8 rotter per gruppe. Hver analyse inneholder typisk minst 2 sett kontroller, inkludert sham-orkidektomiserte (Sham) og orkidektomiserte kontroller (Orx) behandlet med vehikkel. Orx-rotter tillates å miste ben i 2 måneder for å fastslå osteopeni før behandling med testforbindelsen. Testforbindelsene administreres oralt ved tvangsfôring til Orx-dyr i 8 uker. Som en positiv kontroll kan rekombinant humant PTH (1–38)

(omtrent 10 µg/kg/d, subkutant) gis til en undergruppe av Orx-dyr. Etter gjennomføring av testprotokollen kan det utføres BMD av vertebrae og femur, samt biomekaniske analyser av femur som beskrevet ovenfor for den ovariektomiserte hunnrotte-modellen.

- 5 (Se generelt Ma et al., JBMR 17:2256–2264 (2002) og Turner et al., Bone [Review] 14:595–608 (1993)).

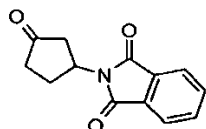
Som det vil forstås av en fagmann kan dyremodellprotokollene beskrevet ovenfor lett tilpasses for anvendelse i kombinasjon med forbindelsene og fremgangsmåtene ifølge den foreliggende oppfinnelsen.

Følgende preparater og eksempler illustrerer oppfinnelsen ytterligere og representerer typisk syntese av forbindelsene med formel (I), inkludert eventuelle nye forbindelser, som beskrevet generelt ovenfor. Reagensene og utgangsmaterialene er lett tilgjengelige for, eller kan lett syntetiseres av en fagmann. Det skal forstås at preparatene og eksemplene er anført som illustrasjon og ikke som begrensning, og at forskjellige modifikasjoner kan bli gjort av en fagmann.

20 R- eller S-konfigurasjonen av forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan bestemmes ved standardteknikker som røntgenanalyse og korrelasjon med kiral HPLC-retensjonstid. Navnene på forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen er generelt tilveiebrakt av Autonom 2000 for ISIS Draw add-in.

25 **Preparat 1**

(R,S)-2-(3-oksosyklopentyl)-isoindol-1,3-dion

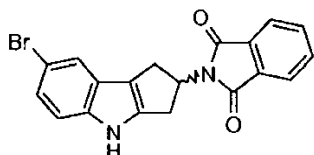


Under kraftig omrøring med et mekanisk røreapparat tilsettes 2 M vandig Na₂CO₃ (79 ml, 0,158 mol) i en oppslemming av syklopentenon (100 g, 1,22 mol) og ftalimid (180 g, 1,22 mol) i MeOH (886 ml). Etter ca. 2 timer dannes det et tykt hvitt presipitat. Blandingen omrøres ved romtemperatur i 24 timer. Det hvite

5 faste stoffet samles ved vakuumfiltrering og renses med metanol (1 l). Det faste stoffet suspenderes i vann (1 l) og omrøres i 3 timer. Det faste stoffet samles og tørkes i en vakuumovn ved 40 °C natten over for å gi 198 g (71 %) av tittelforbindelsen som et hvitt fast stoff. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 7,85–7,77 (m, 4H), 4,90 (m, 1H), 2,67 (ddd, 1H, *J*=18,5, 6,2, 1,3 Hz), 2,54 (dd, 1H, *J*=18,5, 9,2 Hz), 2,45 (m, 1H), 2,32–2,21 (m, 3H), ES/MS *m/z* 230 (*M*+1, svak). MERK: Produktet vil lett gjennomgå retro-Michael-reaksjon ved behandling med vandig base.

10 Preparat 2

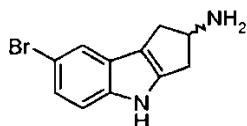
(*R,S*)-2-(7-brom-1,2,3,4-tetrahydrosyklopenta[*b*]indol-2-yl)-isoindol-1,3-dion



15 I en 5 l kolbe blandes (*R,S*)-2-(3-oksosyklopentyl)-isoindol-1,3-dion (295,3 g, 1,29 mol), 4-bromfenylhydrazin-HCl (287,9 g, 1,29 mol) og iseddiksyre (3 l) med mekanisk omrøring. Reaksjonen reflukseres i 5 timer og avkjøles deretter til romtemperatur. Reaksjonen helles i vann (4 l) med hurtig omrøring. Det faste stoffet samles ved vakuumfiltrering, vaskes med vann (4 l) og lufttørkes i 30 min. Det faste stoffet slemmes med MeOH (700 ml), samles ved vakuumfiltrering og renses med MeOH (100 ml). Det grå faste stoffet lufttørkes i 2 timer, tørkes deretter natten over i en 50 °C vakuumovn for å oppnå 414,67 g (84 %) av tittelforbindelsen som et mørkt fast stoff. ES/MS *m/z* (⁷⁹Br/⁸¹Br) 381/383 [*M*+H]⁺.

25 Preparat 3

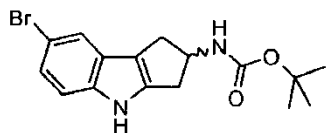
(*R,S*)-7-brom-1,2,3,4-tetrahydrosyklopenta[*b*]indol-2-ylamin



I en løsning av (*R,S*)-2-(7-brom-1,2,3,4-tetrahydrosyklopenta[b]indol-2-yl)-isoindol-1,3-dion (150 g, 393 mmol) i THF (1000 ml) og EtOH (150 ml) tilsettes det hydrazinmonohydrat (35,0 g, 34,0 ml, 699 mmol). Reaksjonsblandingen omrøres med mekanisk omrøring ved romtemperatur i 18 timer og deretter i 2 timer ved 55 °C, hvorved reaksjonen blir svært viskøs, og THF (425 ml) og EtOH (75 ml) tilsettes. Oppvarming ved 55 °C fortsetter i ytterligere 2 timer. Reaksjonen avkjøles til romtemperatur, filtreres gjennom kiselgur, renses med THF og konsentreres til tørrhet. Resten blandes med toluen og EtOH og konsentreres på nytt til tørrhet. Produktet plasseres under høyvakuum i 3 timer for å gi 94 g (95 %) av tittelforbindelsen som et fast stoff. LC-ES/MS *m/z* (⁷⁹Br/⁸¹Br,) 251/253 [M+H]⁺, T_R = 1,14 min.

Preparat 4

((*R,S*)-7-brom-1,2,3,4-tetrahydrosyklopenta[b]indol-2-yl)-karbamidsyre-*tert*-butylester

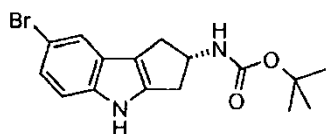


En blanding av (*R,S*)-7-brom-1,2,3,4-tetrahydrosyklopenta[b]indol-2-ylamin (81,5 g, 325 mmol) i THF (800 ml) og mettet vandig NaHCO₃ (200 ml) behandles med di-*tert*-butyldikarbonat (80,3 g, 357 mmol) i porsjoner og omrøres ved romtemperatur i en time. Reaksjonen fortynnes med EtOAc (300 ml) og saltløsning (100 ml). Sjøktene separeres og det organiske sjiktet tørkes over MgSO₄, filtreres og konsentreres til et mørkt, oljeaktig fast stoff. Det faste stoffet blandes med CH₂Cl₂ (400 ml), avkjøles i et isbad og filtreres. Det faste stoffet renses med CH₂Cl₂ og heksaner for å gi 28,1 g (34 %) av tittelforbindelsen som et fast stoff. Ytterligere 78,8 g (60 %) av tittelforbindelsen oppnås ved konsentrasjon av filtratet og rensing ved kromatografi (1 l silikagel, påført som en konsentrert CH₂Cl₂-løsning og eluert med 30 % heksaner/CH₂Cl₂, 100 % CH₂Cl₂, deretter 3 % EtOAc/CH₂Cl₂). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,98-

7,91 (m, 1H), 7,54 (s, 1H), 7,25 (s, 2H), 7,20-7,15 (m, 2H), 5,05-5,02 (m, 2H), 3,37-3,29 (m, 2H), 2,77-2,70 (m, 1H), 2,62-2,57 (m, 1H), 1,46 (s, 9H).

Preparat 5

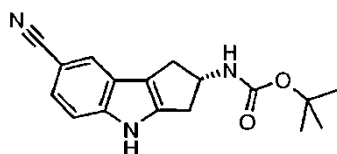
5 **((S)-7-brom-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl)-karbamidsyre-tert-butylester**



10 ((R,S)-7-brom-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl)-karbamidsyre-tert-butylester (635 g, 1810 mmol) tritureres først med kald Et₂O og renses deretter ved kiralt HPLC (kolonne: Chiralcel OJ 8 × 32 cm; eluent: 100 % MeOH) for å gi 310 g av tittelforbindelsen (andre eluerende isomer) som et brunt fast stoff. Kiralt HPLC OJ-H, 100 % MeOH, UV-deteksjon ved 250 nm T_R = 7,6 min, 97,8 % ee.

15 Preparat 6

((S)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl)-karbamidsyre-tert-butylester

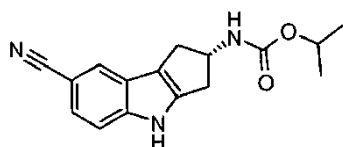


20 De følgende reagenser omrøres sammen i DMF (250 ml) ved 100 °C i 18 timer: ((S)-7-brom-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl)-karbamidsyre-tert-butylester (50,0 g, 142 mmol), sinkcyanid (11,9 g, 99,7 mmol), sinkacetat (5,22 g, 28,5 mmol), 1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen)-palladium-(II)-klorid (Pd(dppf)₂Cl₂) (1,74 g, 2,14 mmol) og sink (3,72 g, 56,9 mmol). Reaksjonen
25 konsentreres til tørrhet og fordeles mellom vann og etylacetat. De organiske fasene vaskes med vann og saltløsning og konsentreres deretter for å gi et fast

stoff. Det faste stoffet kromatograferes i to like porsjoner på silikagel (1600 ml) som følger: last som en løsning i CH_2Cl_2 og eluer med 2 % EtOAc i CH_2Cl_2 (3 l), deretter 5 % EtOAc i CH_2Cl_2 . Produktet utvinnes fra de to kolonnene for å gi 29 g (69 %) av tittelforbindelsen som et hvitt fast stoff. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,39 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,34 (d, J = 1,8 Hz, 2H), 5,05-4,96 (m, 2H), 3,37-3,25 (m, 2H), 2,80-2,63 (m, 2H), 1,46 (s, 9H).

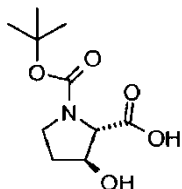
Preparat 7

((S)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl)- karbamidsyreisopropylester



((S)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl)-karbamidsyre-*tert*-butylester (10 g, 33,63 mmol) løses i 1,4-dioksan (102 ml) og behandles med 4 M HCl/dioksan (102 ml) ved romtemperatur. Etter 18 timer filtreres et fast stoff bort og vaskes med Et_2O (50 ml) og tørkes deretter *in vacuo*.

Det faste stoffet slemmes i diklormetan (168 ml) og behandles med diisopropyletylamin (9,13 g, 12,3 ml, 70,1 mmol) og isopropylklorformiat (1,0 M i toluen, 34,0 ml, 34,0 mmol) ved romtemperatur. Etter 4 timer behandles reaksjonen med vann (50 ml) og konsentreres for å gi en vandig oppslemming av produktet. Reaksjonen fortynnes ytterligere med vann (500 ml) og ultralydbehandles i 15 min. i et ultralydbad. Et brunt fast stoff filtreres bort og tørkes *in vacuo* ved 40 °C. Det faste stoffet slemmes i Et_2O (100 ml), ultralydbehandles i 10 min. i et ultralydbad, filtreres, vaskes med Et_2O (50 ml) og tørkes deretter *in vacuo* for å gi 8,20 g (86 % utbytte) av tittelforbindelsen som et brunt fast stoff. LC-ES/MS m/z 284 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 282 $[\text{M}-\text{H}]^-$, T_R = 2,20 min; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11,44 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,52 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,28 (dd, J = 1,8, 8,4 Hz, 1H), 4,77-4,63 (m, 2H), 3,18-3,04 (m, 2H), 2,70 (dd, J = 6,2, 15,8 Hz, 1H), 2,58 (dd, J = 6,2, 14,5 Hz, 1H), 1,13 (d, J = 6,2 Hz, 6H).

Preparat 8**(2S,3S)-1-(tert-butoksykarbonyl)-3-hydroksypyrrolidin-2-karboksylsyre**

5

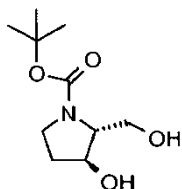
En suspensjon av *trans*-3-hydroksy-L-proline (5 g, 37,56 mmol) i metanol (100 ml) behandles med diisopropyletylamin (6,55 ml, 37,56 mmol) og deretter di-t-butyldikarbonat (8,87 g, 39,44 mmol) ved romtemperatur. Den resulterende suspensjonen omrøres i 2 timer ved romtemperatur mens den blir til en homogen løsning. Løsningsmiddelet fjernes *in vacuo*, og resten løses i etylacetat (120 ml). Den organiske løsningen vaskes med 1 N vandig hydrogenklorid. Det vandige sjiktet kasseres, og det organiske sjiktet vaskes med saltløsning, tørkes over natriumsulfat, konsentreres og tørkes under vakuum for å gi 8,0 g (90 %) av tittelforbindelsen. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 12,60 (s, br, 1H), 5,40 (s, br, 1H), 4,20-4,12 (m, 1H), 3,87 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H), 3,25-3,42 (m, 2H), 1,90-1,75 (s, br, 1H), 1,74-1,65 (s, br, 1H), 1,30 (d, $J = 7,1$ Hz, 9H).

10

15

Preparat 9**(2R,3S)-tert-butyl-3-hydroksy-2-(hydroksymetyl)-pyrrolidin-1-karboksylat**

20

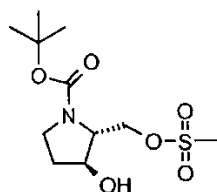


En løsning av 3-hydroksypyrrolidin-1,2-dikarboksylsyre-1-*tert*-butylester (13,29 g, 57,47 mmol) i tetrahydrofuran (130 ml) behandles med

boranmetylsulfidkompleks (16,06 ml, 172,41 mmol) dråpevis og omrøres natten over ved romtemperatur. Blandingen avkjøles til 5 °C i et vannisbad og behandles med 3 N vandig hydrogenkloridløsning (5 ml) dråpevis inntil gassutviklingen har opphørt. Den resulterende suspensjonen omrøres ytterligere i 30 min og fortynnes med 5 N vandig natriumhydroksidløsning inntil et hvitt fast stoff oppløses. Dette ekstraheres med etylacetat (3 × 100 ml). Det organiske sjiktet vaskes med vann (2 × 100 ml) og saltløsning, tørkes over natriumsulfat, filtreres og konsentreres til tørrhet. Den resulterende oljen tørkes under vakuum for å gi 10,03 g (80 %) av tittelforbindelsen. LC-ES/MS m/z 457,2 $[2M+Na]^+$, T_R = 1,59 min.

Preparat 10

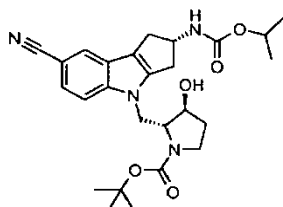
(2*R*,3*S*)-3-hydroksy-2-metansulfonyloksymetylpyrrolidin-1-karboksytsyre-*tert*-butylester



En suspensjon av (2*R*,3*S*)-*tert*-butyl-3-hydroksy-2-(hydroksymetyl)-pyrrolidin-1-karboksyilat (5,04 g, 23,20 mmol) og dibutyloksostannan (7,07 g, 27,84 mmol) i toluen (50 ml) reflukses i et 130 °C oljebad i 2 timer. Blandingen avkjøles til 0 °C i et isbad i 30 min. og behandles med metansulfonylchlorid (2,15 ml, 27,84 mmol) umiddelbart. Reaksjonen omrøres i 30 min. ved 0 °C, og deretter tillates blandingen å oppvarmes gradvis til omgivelsestemperatur natten over. Løsningen konsentreres, og den resulterende resten renses ved mellomtrykksvæskeskromatografi, eluering med etylacetat : heksan (8 : 2). Fraksjoner inneholdende rent produkt kombineres og konsentreres for å gi 6,14 g (96 %) av tett olje som tittelforbindelsen. LC-ES/MS m/z 318,2 $[M+Na]^+$, T_R = 2,34 min.

Preparat 11

(2*R*,3*S*)-2-((*S*)-7-cyano-2-isopropoksykarbonylamino-2,3-dihydro-1*H*-syklopenta[*b*]indol-4-ylmetyl)-3-hydroksypyrrolidin-1-karboksytsyre-*tert*-butylester



5

En blanding av ((*S*)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[*b*]indol-2-yl)-karbamidsyreisopropylester (1,50 g, 5,29 mmol), (2*R*,3*S*)-3-hydroksy-2-metansulfonyloksymetylpyrrolidin-1-karboksytsyre-*tert*-butylester (3,13 g, 10,59 mmol), cesiumkarbonat (3,45 g, 10,59 mmol) og kaliumjodid (88 mg, 529 µmol) i dimetylformamid (50 ml) oppvarmes i et 60 °C oljebad i to dager. Etter avkjøling til omgivelsestemperatur fortynnes reaksjonen med etylacetat (120 ml) og vaskes med vann (3 × 100 ml) og saltløsning. Den organiske porsjonen tørkes over natriumsulfat, filtreres og konsentreres til tørrhet. Den resulterende resten renses ved mellomtrykksvæskeskromatografi etter eluering med etylacetat : kloroform (2 : 8). Fraksjoner inneholdende rent produkt kombineres og konsentreres for å gi 1,59 g (62 %) av tittelforbindelsen. LC-ES/MS *m/z* 505,2 [*M*+Na]⁺, *T_R* = 3,97 min.

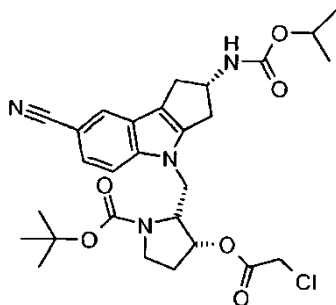
10

15

Preparat 12

(2*R*,3*R*)-3-(2-klor-acetoksy)-2-((*S*)-7-cyano-2-isopropoksykarbonylamino-2,3-dihydro-1*H*-syklopenta[*b*]indol-4-ylmetyl)-pyrrolidin-1-karboksytsyre-*tert*-butylester

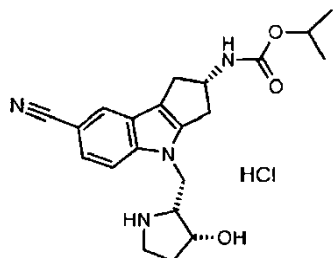
20



En blanding av (2*R*,3*S*)-2-((*S*)-7-cyano-2-isopropoksykarbonylamino-2,3-dihydro-1*H*-syklopenta[*b*]indol-4-ylmetyl)-3-hydroksypyrrolidin-1-karboksylsyre-*tert*-butylester (950 mg, 1,97 mmol), kloreddiksyre (227 mg, 2,36 mmol) og trifenyfosfin (626 mg, 2,36 mmol) i tetrahydrofuran (20 ml) behandles dråpevis med dietylazodikarboksylat (374 µl, 2,36 mmol) ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen omrøres natten over. Reaksjonen fortynnes med etylacetat (50 ml) og vaskes deretter med vann og saltløsning. Den organiske porsjonen tørkes over natriumsulfat og konsentreres. Den resulterende resten renses ved mellomtrykksvæskerkromatografi etter eluering med etylacetat : heksan (1 : 1). Fraksjoner inneholdende rent produkt kombineres og konsentreres for å gi 0,59 g (54 %) av tittelforbindelsen. LC-ES/MS *m/z* 581,0 [*M*+Na]⁺, *T_R* = 4,46 min.

Preparat 13

[(*S*)-7-cyano-4-((2*R*,3*R*)-3-hydroksypyrrolidin-2-ylmetyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[*b*]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylesterhydroklorid

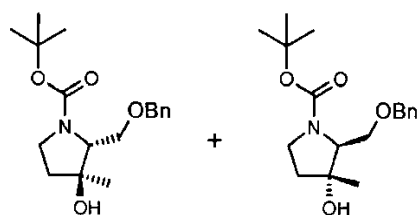


En løsning av (2*R*,3*R*)-3-(2-kloracetoksy)-2-((*S*)-7-cyano-2-isopropoksykarbonylamino-2,3-dihydro-1*H*-syklopenta[*b*]indol-4-ylmetyl)-pyrrolidin-1-karboksylsyre-*tert*-butylester (500 mg, 894,4 µmol) i MeOH (2 ml) behandles med 2 N LiOH-løsning (2 ml) og suspensjonen omrøres i 4 timer ved romtemperatur. Suspensjonen fortynnes med etylacetat (60 ml) og vaskes med vann og saltløsning. Den organiske porsjonen tørkes over natriumsulfat, filtreres og konsentreres. Resten (0,39 g) løses i 10 ml MeOH (10 ml) og behandles med 4 N HCl i 1,4-dioksanløsning (10 ml). Løsningen omrøres i 2 timer og

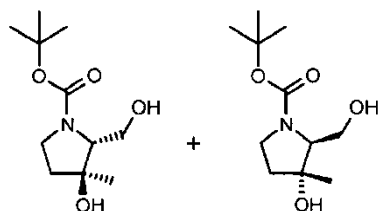
konsentreres *in vacuo* for å gi 0,37 g (92 %) av tittelforbindelsen. LC-ES/MS m/z 383,2 $[M+H]^+$, $T_R = 1,86$ min.

Preparat 14

5 ***trans*-2-benzyloksymetyl-3-hydroksy-3-metylpyrrolidin-1-karboksytsyre-*tert*-butylester**



En løsning av *trans*-1-benzensulfonyl-2-benzyloksymetyl-3-metylpyrrolidin-3-ol (13,42 g, 35,74 mmol) (J. Schomaker og S. Bhattacharjee, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129, 1996-2003) i vannfritt metanol (100 ml) behandles med magnesiumspon (5,26 g, 214,4 mmol) og ultralydbehandles i 45 min. i et vannbad. Den resulterende blakkede suspensjonen omrøres i 40 °C oljebad i 20 timer. Silikagel (30 ml) tilsettes i reaksjonsblandingen og fortynnes med metanol (50 ml) inntil suspensjonen er blandbar. Suspensjonen omrøres i 30 min. og konsentreres. Resten tørkes under vakuum natten over. Silikaresten ble lagt på en DASI®65-kassett, eluering med kloroform : metanol : vandig ammoniakk (90 : 9 : 1). Startmaterialet *trans*-1-benzensulfonyl-2-benzyloksymetyl-3-metylpyrrolidin-3-ol (4,0 g) oppnås, så vel som det ønskede avbeskyttede materialet (5,47 g). Oppløs det avbeskyttede materialet i tetrahydrofuran (20 ml) og behandle med di-*t*-butyldikarbonat (5,7 g, 26,1 mmol). Løsningen omrøres i én time og konsentreres. Resten fortynnes med etylacetat (100 ml) og vaskes med 0,5 N vandig natriumhydroksid (50 ml) og saltløsning. Den organiske porsjonen tørkes over natriumsulfat, filtreres og konsentreres. Den resulterende resten renses ved mellomtrykksvæskeskromatografi, eluering med etylacetat : heksan (1 : 1). Fraksjoner inneholdende rent produkt kombineres og konsentreres for å gi 8,15 g (71 %) av tittelforbindelsen. LC-ES/MS m/z 344,2 $[M+Na]^+$, $T_R = 3,71$ min.

Preparat 15***trans*-3-hydroksy-2-hydroksymetyl-3-metylpyrrolidin-1-karboksylysyre-*tert*-butylester**

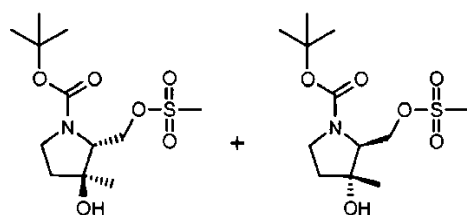
5

En løsning av *trans*-3-hydroksy-2-hydroksymetyl-3-metylpyrrolidin-1-karboksylysyre-*tert*-butylester (8,12 g, 25,26 mmol) i metanol (100 ml) behandles med 5 % palladium over trekull (50 % fuktet, 3 g, 28,19 mmol) og hydrogeneres ved 350 kPa natten over. Katalysatoren fjernes ved filtrering, og filtratet konsentreres. Den resulterende oljen tørkes under vakuum for å gi 5,8 g (99 %) av tittelforbindelsen. GC-MS m/z 231 $[M]^+$.

10

Preparat 16***trans*-3-hydroksy-2-metansulfonyloksymetyl-3-metylpyrrolidin-1-karboksylysyre-*tert*-butylester**

15



En blanding av *trans*-3-hydroksy-2-metansulfonyloksymetyl-3-metylpyrrolidin-1-karboksylysyre-*tert*-butylester (2,69 g, 11,63 mmol) og trietylamin (1,78 ml, 12,79 mmol) i diklormetan (100 ml) avkjøles i et acetonitril-/tørrisbad (-40 °C) i 30 min. og behandles med metansulfonylchlorid (945,21 µl, 12,21 mmol) umiddelbart. Løsningen omrøres i én time ved -40 °C og helles i en separasjonstrakt inneholdende diklormetan (50 ml) og vann (100 ml). Den organiske løsningen vaskes med vann og saltløsning, tørkes over natriumsulfat,

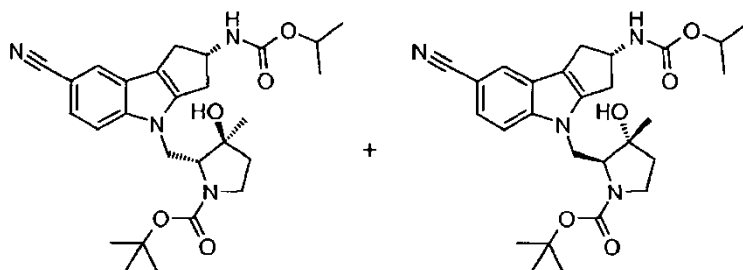
20

filtreres og konsentreres. Resten renses ved mellomtrykksvæskerkromatografi, eluering med etylacetat : heksan (8 : 2). Fraksjoner inneholdende rent produkt kombineres og konsentreres for å gi 3,30 g (91 %) av tittelforbindelsen. LC-ES/MS m/z 640,6 $[2M+Na]^+$, $T_R = 2,27$ min.

5

Preparat 17

***trans*-2-((*S*)-7-cyano-2-isopropoksykarbonylamino-2,3-dihydro-1H-syklopenta[b]indol-4-ylmetyl)-3-hydroksy-3-metylpyrrolidin-1-karboksytsyre-*tert*-butylester**



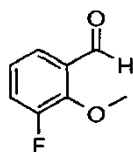
10

En blanding av ((*S*)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydro-5H-syklopenta[b]indol-2-yl)-karbamidsyreisopropylester (2,00 g, 7,06 mmol), *trans*-3-hydroksy-2-metansulfonyloksymetyl-3-metylpyrrolidin-1-karboksytsyre-*tert*-butylester (3,28 g, 10,59 mmol), cesiumkarbonat (5,11 g, 15,53 mmol) og kaliumjodid (118 mg, 705,9 μ mol) i dimetylformamid (40 ml) omrøres under en argonatmosfære i et 60 °C oljebad i 48 timer. Den resulterende suspensjonen avkjøles til romtemperatur og fortynnes med etylacetat (120 ml), og vaskes deretter med vann (3 $\times$ 100 ml) og saltløsning. Den organiske porsjonen tørkes over natriumsulfat, filtreres og konsentreres til tørrhet. Den resulterende resten renses ved mellomtrykksvæskerkromatografi, eluering med etylacetat : heksan (1 : 1). Fraksjoner inneholdende rent produkt kombineres og konsentreres for å gi 2,5 g (71 %) av tittelforbindelsen. LC-ES/MS m/z 519,2 $[M+Na]^+$, $T_R = 3,77$, 3,81 min.

25

Preparat 18

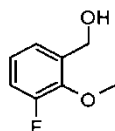
3-fluor-2-metoksybenzaldehyd



En blanding av 3-fluorsalicylaldehyd (3,52 g, 25,12 mmol) og cesiumkarbonat (20,46 g, 62,81 mmol) i N,N-dimetylformamid (30 ml) behandles med jodmetan
 5 (3,13 ml, 50,2 mmol) og omrøres ved romtemperatur under nitrogen i 2 timer. Reaksjonsblandingen fortynnes med dietyleter (150 ml) og vaskes med 0,5 M saltsyre (2 × 150 ml). Den organiske porsjonen tørkes over vannfritt natriumsulfat, filtreres og konsentreres for å gi 3,42 g (88 %) av
 10 tittelforbindelsen som en klar olje. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,59 (d, 1H), 7,32 (dd, 1H), 7,04 (m, 1H), 4,04 (s, 3H).

Preparat 19

(3-fluor-2-metoksyfenyl)metanol



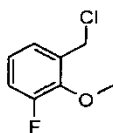
15

I en løsning av 3-fluor-2-metoksybenzaldehyd (3,41 g, 22,1 mmol) i metanol (20 ml) tilsettes det natriumborhydrid (1,00 g, 26,6 mmol) langsomt porsjonsvis. Reaksjonen omrøres ved romtemperatur under nitrogen natten
 over. Reaksjonen fortynnes med dietyleter, vaskes med vann to ganger, tørkes
 20 over vannfritt natriumsulfat, filtreres og konsentreres for å gi 3,02 g (87 %) av tittelforbindelsen som en klar, fargeløs olje. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,09-6,92 (m, 3H), 4,65 (d, 2H), 3,97 (s, 3H), 2,14 (t, 1H, OH).

Preparat 20

25

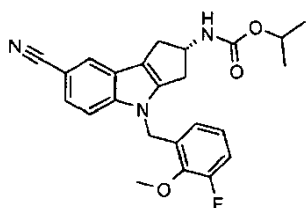
1-(klormetyl)-3-fluor-2-metoksybenzen



En løsning av (3-fluor-2-metoksyfenyl)metanol (3,02 g, 19,3 mmol) og trietylamin (6,74 ml, 48,4 mmol) i diklormetan (20 ml) behandles med metansulfonylchlorid (2,99 ml, 38,7 mmol) langsomt ved romtemperatur og omrøres under nitrogen i 3 timer. Reaksjonen fortynnes med dietyleter, vaskes med 0,5 M saltsyre to ganger, tørkes over vannfritt natriumsulfat, filtreres og konsentreres for å gi tittelforbindelsen som en gul olje (2,71 g, 80 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,15-6,93 (m, 3H), 4,61 (s, 2H), 4,00 (s, 3H).

Preparat 21

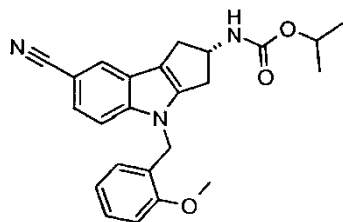
(S)-7-cyano-4-(3-fluor-2-metoksybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-ylkarbamidsyreisopropylester



En løsning av (S)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-ylkarbamidsyreisopropylester (1,50 g, 5,29 mmol) og 1-(klormetyl)-3-fluor-2-metoksybenzen (1,11 g, 6,35 mmol) i N, N-dimetylformamid (10 ml) behandles med cesiumkarbonat (2,59 g, 7,94 mmol) ved romtemperatur og omrøres natten over under nitrogen. Reaksjonsblandingen fortynnes med vann og eter/heksaner. De hvite faste stoffene som bryter ut av løsningen, filtreres, renses med vann, eter, heksaner og tørkes under vakuum ved 50 °C i 48 timer for å oppnå tittelforbindelsen som et hvitt fast stoff (2,18 g, 98 %). LC-ES/MS *m/z* 422,2 [M+H]⁺, T_R = 4,57 min.

Preparat 22

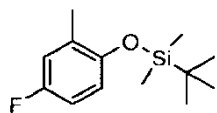
[(S)-7-cyano-4-(2-metoksybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester



- 5 En blanding av ((S)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl)-karbamidsyreisopropylester (2,0 g, 7,06 mmol) og cesiumkarbonat (3,22 g, 9,88 mmol) i DMF (40 ml) behandles med 2-metoksybenzylklorid (1,16 g, 7,41 mmol). Reaksjonen oppvarmes ved 50 °C i 18 timer. Reaksjonen avkjøles til romtemperatur og fortynnes med vann (300 ml). Det hvite faste stoffet
- 10 samles og vaskes med vann. Det faste stoffet tørkes i en 40 °C vakuumovn. Etter tørking oppnås 2,80 g (98 %) produkt som et hvitt fast stoff. LC-ES/MS m/z 404 $[M+H]^+$, T_R = 2,83 min.

Preparat 23

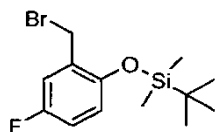
- 15 ***tert*-butyl-(4-fluor-2-metylfenoksy)-dimetylsilan,**



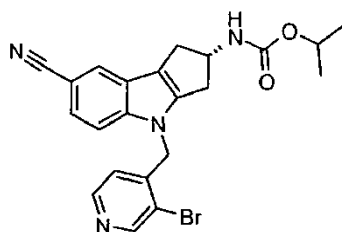
- t-butyldimetylklorosilan (14,34 g, 93,24 mmol) kombineres med 4-fluor-2-metylfenol (10,00 g, 77,70 mmol) og 1H-imidazol (13,32 g, 194,24 mmol) i dimetylformamid (100 ml) og omrøres ved romtemperatur natten over.
- 20 Reaksjonen fortynnes med eter (200 ml) og vaskes med vann (2 × 100 ml) og saltløsning. Den organiske porsjonen tørkes med natriumsulfat, filtreres og konsentreres for å gi 18,9 g (100 %) av tittelforbindelsen. GC-ES m/z 240 $[M]^+$, T_R = 4,06 min.

25

Preparat 24

(2-brommetyl-4-fluorfenoksy)-tert-butyldimetylsilan

En blanding av *tert*-butyl-(4-fluor-2-metylbenzyl)-dimetylsilan (6,20 g, 25,79 mmol) og N-bromsuksinimid (4,75 g, 26,31 mmol) i karbontetraklorid (50 ml) reflukses i et 90 °C oljebad i 10 min. og behandles med benzoylperoksid (64 mg, 258 µmol). Den resulterende suspensjonen reflukses i 2 timer og avkjøles til romtemperatur. Det faste stoffet fjernes ved filtrering, og filtratet konsentreres *in vacuo*. Den resulterende resten legges på en ReadySep®-kassett (25 g) og elueres med heksan (300 ml) for å gi 6,4 g (78 %) av tittelforbindelsen som en klar olje. GC-ES *m/z* (⁷⁹Br) 318 [M]⁺, T_R = 5,06 min.

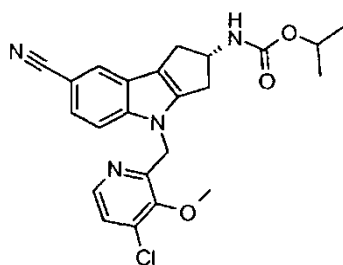
Preparat 25**(S)-4-((3-brompyridin-4-yl)metyl)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-ylkarbamidsyreisopropylester**

En blanding av 3-brom-4-(klormetyl)pyridin (3,16 g, 11,5 mmol), ((S)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl)-karbamidsyreisopropylester (2,50 g, 8,82 mmol) og cesiumkarbonat (4,31 g, 13,2 mmol) i dimetylformamid (20 ml) omrøres ved romtemperatur under nitrogen natten over. Reaksjonsblandingen fortynnes deretter med etylacetat, diklormetan og vann. Den organiske fasen separeres, vaskes med vann to ganger, tørkes over vannfritt natriumsulfat, filtreres og konsentreres *in vacuo* for å oppnå en brun olje (~4,75 g). Oljen tritureres med heksaner to ganger, deretter med eter to ganger. Den renses

deretter ved flashkromatografi etter eluering med 30 til 60 % etylacetat/heksaner for å oppnå et offwhite fast stoff (3,23 g, 81 %). LC-ES/MS m/z ($^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$) 453,0/455,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5 Preparat 26

(S)-4-((4-klor-3-metoksy-pyridin-2-yl)metyl)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydro-syklopenta[b]indol-2-ylkarbamidsyreisopropylester

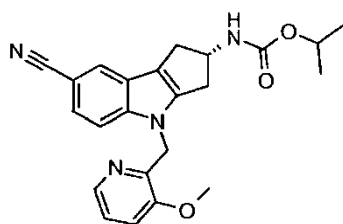


- 10 I en løsning av (S)-isopropyl-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydro-syklopenta[b]indol-2-ylkarbamid (680 mg, 2,40 mmol) og 4-klor-2-(klormetyl)-3-metoksy-pyridin (553 mg, 2,88 mmol) i dimetylformamid (5 ml) tilsettes cesiumkarbonat (1,17 g, 3,60 mmol), og blandingen omrøres ved romtemperatur natten over. Reaksjonsblandingen fortynnes med vann og det beige faste stoffet filtreres. Det
- 15 renses med vann og tørkes deretter i en vakuumovn ved 50 °C i 48 timer for å oppnå et grått fast stoff (970 mg, 92 %). LC-ES/MS m/z 439,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Preparat 27

(S)-4-((3-metoksy-pyridin-2-yl)metyl)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydro-syklopenta[b]indol-2-ylkarbamidsyreisopropylester

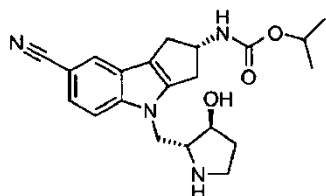
20



En blanding av (*S*)-isopropyl 4-((4-klor-3-metoksypyridin-2-yl)metyl)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[*b*]indol-2-ylkarbamat (12,53 g, 28,55 mmol) og 10 % palladium på karbon (1,00 g) i metanol (150 ml) hydrogeneres ved 50 psi ved romtemperatur natten over. En fersk batch av 10 % palladium på karbon (1,2 g) slemmes i vann (~2 ml) og tilsettes i reaksjonsblandingen, som hydrogeneres (50 psi) ved romtemperatur natten over. Katalysatoren filtreres bort og løsningen konsentreres under redusert trykk for å oppnå et blekgult fast stoff. Det faste stoffet tritureres med eter to ganger og tørkes under høyvakuum for å gi et gult fast stoff (10,80 g, 94 %). LC-ES/MS *m/z* 405,2 [*M*+*H*]⁺

Eksempel 1

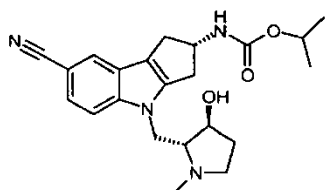
[(*S*)-7-cyano-4-((2*R*,3*S*)-3-hydroksy-pyrrolidin-2-ylmetyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[*b*]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester



En løsning av (2*R*,3*S*)-2-((*S*)-7-cyano-2-isopropoksykarbonylamino-2,3-dihydro-1*H*-syklopenta[*b*]indol-4-ylmetyl)-3-hydroksypyrrolidin-1-karboksyisyre-*tert*-butylester (0,50 g, 1,04 mmol) i metanol (20 ml) behandles med 4 N hydrogenklorid i 1,4-dioksan (20 ml), omrøres ved romtemperatur i 3 timer og konsentreres. Resten suspenderes i etylacetat (200 ml) og behandles med 2 N vandig natriumhydroksidløsning (20 ml). Det organiske sjiktet vaskes med saltløsning, tørkes over natriumsulfat og konsentreres. Den resulterende resten renses ved mellomtrykksvæskekromatografi, eluering med metanol : kloroform (5 : 95). Fraksjoner inneholdende rent produkt kombineres og konsentreres for å gi 0,38 g (96 %) av tittelforbindelsen. LC-ES/MS/MS *m/z* 383,2 [*M*+*H*]⁺, *T_R* = 1,86 min.

Eksempel 2

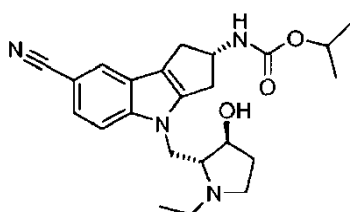
[(*S*)-7-cyano-4-((2*R*,3*S*)-3-hydroksy-1-metylpyrrolidin-2-ylmetyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[*b*]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester,



En løsning av (2*R*,3*S*)-2-((*S*)-7-cyano-2-isopropoksykarbonylamino-2,3-dihydro-1*H*-syklopenta[*b*]indol-4-ylmetyl)-3-hydroksypyrrolidin-1-karboksyisyre-*tert*-butylester (3,10 g, 6,42 mmol) i etanol (20 ml) behandles med 4 N hydrogenklorid i 1,4-dioksan (20 ml) og omrøres ved romtemperatur i 3 timer. Den resulterende løsningen konsentreres *in vacuo* og suspenderes i etylacetat (200 ml) og behandles med 2 N vandig natriumhydroksid (70 ml). Det organiske sjiktet vaskes med saltløsning, tørkes over natriumsulfat og konsentreres. Den resulterende resten løses i kloroform (100 ml) og behandles med formaldehyd (1,45 ml, 19,27 mmol) og natriumtriacetoksyborhydrid (4,25 g, 19,27 mmol). Den resulterende suspensjonen omrøres natten over ved romtemperatur. Suspensjonen behandles med mettet natriumbikarbonatløsning (40 ml) og omrøres i 30 min. Den resulterende suspensjonen fortynnes med diklormetan (100 ml) og vaskes med vann (3 × 100 ml) og saltløsning. Den organiske porsjonen tørkes over natriumsulfat, filtreres og konsentreres til tørrhet. Den resulterende resten renses ved mellomtrykksvæskeskromatografi, eluering med metanol : kloroform (5 : 95). Fraksjoner inneholdende rent produkt kombineres og konsentreres for å gi 1,6 g (63 %) av tittelforbindelsen. LC-ES/MS *m/z* 397,2 [M+H]⁺, T_R = 1,78 min.

Eksempel 3

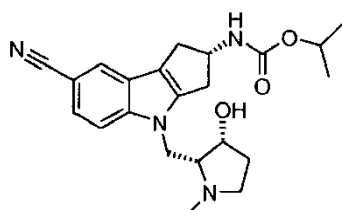
[(*S*)-7-cyano-4-((2*R*,3*S*)-3-hydroksy-1-etylpyrrolidin-2-ylmetyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[*b*]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester



En løsning av [(*S*)-7-cyano-4-((2*R*,3*S*)-3-hydroksypyrrolidin-2-ylmetyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[*b*]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester (300 mg, 784,4 μ mol) i acetonitril (20 ml) behandles med acetaldehyd (1,0 ml, 17,80 mmol) og natriumtriacetoksyborhydrid (520 mg, 2,35 mmol) og omrøres ved romtemperatur natten over. Suspensjonen behandles med mettet natriumbikarbonatløsning (40 ml) og omrøres i 30 min. Den resulterende suspensjonen fortynnes med diklormetan (100 ml) og vaskes med vann (3 $\times$ 100 ml) og saltløsning. Den organiske porsjonen tørkes over natriumsulfat, filtreres og konsentreres til tørrhet. Den resulterende resten renses ved mellomtrykksvæskerkromatografi, eluering med metanol : kloroform (5 : 95). Fraksjoner inneholdende rent produkt kombineres og konsentreres for å gi 0,1 g (31 %) av tittelforbindelsen. LC-ES/MS m/z 144,2 $[M+H]^+$, T_R = 1,94 min.

Eksempel 4

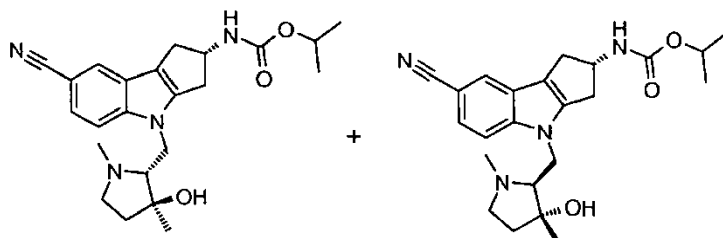
[(*S*)-7-cyano-4-((2*R*,3*R*)-3-hydroksy-1-metylpyrrolidin-2-ylmetyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[*b*]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester



En løsning av [(*S*)-7-cyano-4-((2*R*,3*R*)-3-hydroksypyrrolidin-2-ylmetyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[*b*]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylesterhydrokloridsalt (380 mg, 907,1 μ mol) i acetonitril (50 ml) behandles med metanol (5 ml) inntil det meste av det faste stoffet er oppløst og behandles deretter med formaldehyd (136,3 μ l, 1,81 mmol) og natriumtriacetoksyborhydrid (400,5 mg, 1,81 mmol). Reaksjonen omrøres ved romtemperatur natten over. Mettet vandig natriumbikarbonatløsning (50 ml) tilsettes og omrøres i 30 min. Blandingen fortynnes med etylacetat (120 ml) og den resulterende suspensjonen vaskes med vann (3 $\times$ 100 ml) og saltløsning. Den organiske porsjonen tørkes over natriumsulfat, filtreres og konsentreres til tørrhet. Resten renses ved mellomtrykksvæskerkromatografi, eluering med metanol : kloroform (5 : 95). Fraksjoner inneholdende rent produkt kombineres og konsentreres for å gi 0,2 g (61 %) av tittelforbindelsen. LC-ES/MS m/z 397,2 $[M+H]^+$, T_R = 1,87 min.

Eksempel 5

[(S)-7-cyano-4-(trans-3-hydroksy-1-metyl-3-metylpyrrolidin-2-ylmetyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester (racemisk)



5

En blanding av *trans*-2-((S)-7-cyano-2-isopropoksykarbonylamino-2,3-dihydro-1H-syklopenta[b]indol-4-ylmetyl)-3-hydroksy-3-metylpyrrolidin-1-karboksylysyre-*tert*-butylester (2,50 g, 5,03 mmol) i 1,4-dioksan (15 ml) og metanol (2 ml) behandles med 4 N hydrogenklorid i 1,4-dioksan (15 ml) og omrøres ved romtemperatur i 3 timer. Reaksjonen blir en hvit faststoff-suspensjon med en rødaktig løsning. Suspensjonen konsentreres og resten suspenderes i acetonitril (30 ml) og behandles med 30 % vandig formaldehydløsning (1,13 ml, 15,10 mmol) og natriumtriacetoksyborhydrid (3,33 g, 15,10 mmol). Den resulterende suspensjonen omrøres natten over. Behandle suspensjonen med mettet vandig natriumbikarbonat og omrør i 30 min. Fortynn suspensjonen med etylacetat (120 ml) og vask den med vann (3 × 100 ml) og saltløsning. Tørk den organiske porsjonen over natriumsulfat, filtrer og konsentrer til tørrhet. Rens resten ved mellomtrykksvæskechromatografi, eluering med etylacetat : heksan (1 : 1). Fraksjoner inneholdende rent produkt kombineres og konsentreres for å gi 1,75 g (84 %) av tittelforbindelsen. LC-ES/MS *m/z* 411,2 [M+H]⁺, T_R = 1,96 min.

10

15

20

Eksempel 6 og 7

Isomer 1 og isomer 2 av [(S)-7-cyano-4-(trans-3-hydroksy-1-metyl-3-metylpyrrolidin-2-ylmetyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester

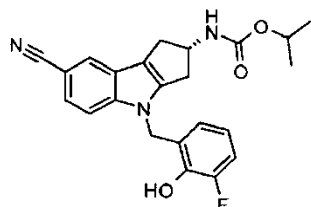
25

[(S)-7-cyano-4-(trans-3-hydroksy-1-metyl-3-metylpyrrolidin-2-ylmetyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester (racemisk)

(2,15 g, 5,24 mmol) separeres med chiralpak® AD-H, 4,6 × 150 mm kolonne, eluering 1 ml/min med acetonitril : metanol : dimetyletylamin (30 : 70 : 0,2), påvist ved 225 nm. Samle topp nr. 1 fra 2,0 minutt til 2,5 minutt og topp nr. 2 fra 4,0 minutter til 7,0 minutter. Fraksjoner inneholdende rent produkt kombineres og konsentreres for å gi 0,926 g (43 %) av isomer 1 og 0,822 g (38 %) av isomer 2.

Eksempel 8

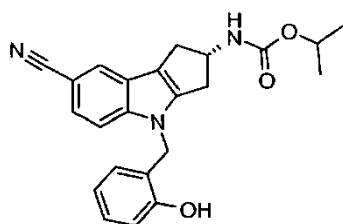
[(S)-7-cyano-4-(3-fluor-2-hydroksybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester



I en løsning av (S)-isopropyl-7-cyano-4-(3-fluor-2-metoksybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-ylkarbamat (1,88 g, 4,46 mmol) i diklormetan (50 ml) tilsettes 1 M borttribromid i diklormetan (13,4 ml, 13,4 mmol) ved 0 °C og omrøres natten over. Reaksjonen stanses med lett fuktet acetonitril. De flyktige stoffene fjernes under redusert trykk og resten tørkes under høyvakuum. Det renses deretter ved kolonnekromatografi med 5 % etylacetat i kloroform for å oppnå et gult fast stoff. Det faste stoffet suspenderes i en minimumsmengde av diklormetan og tillates å stå ved romtemperatur. Hvite faste stoffer bryter ut. De filtreres og renses kortvarig med diklormetan. Modervæsken konsentreres og fremgangsmåten gjentas med resten tre ganger. De hvite faste stoffene kombineres for å gi tittelforbindelsen (1,17 g, 64 %). LC-ES m/z 408,2 $[M+H]^+$, T_R = 4,08 min.

Eksempel 9

[(S)-7-cyano-4-(2-hydroksybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester

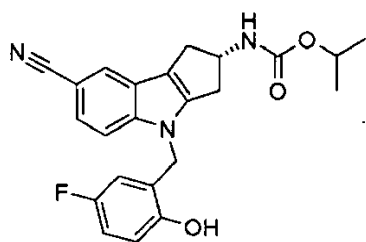


I en 0 °C løsning av [(S)-7-cyano-4-(2-metoksybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydro-5H-indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester (1,50 g, 3,72 mmol) i diklormetan (37 ml) tilsettes BBr₃ (1,0 M i diklormetan, 11,2 ml, 11,2 mmol). Reaksjonen tillates å oppvarmes til romtemperatur og omrøres i 18 timer. Reaksjonen stanses med mettet vandig NH₄Cl. Vann (70 ml) tilsettes og det ubearbeidede produktet ekstraheres med diklormetan (75 ml) og EtOAc (2 × 75 ml). De kombinerte organiske fasene tørkes over Na₂SO₄, filtreres og konsentreres. Det ubearbeidede produktet renses på silikagel (40 g, 30 % EtOAc/heksaner) og renses deretter på silikagel (40 g, 5 % acetonitril/diklormetan) for å gi 1,00 g av produkt som er ca. 90 % rent.

Reaksjonen gjentas på 1,77 g (4,38 mmol) og bearbeides på samme måte. Det ubearbeidede produktet kombineres med det 90 % rene produktet fra den forrige runden, og det kombinerte produktet renses på silikagel (240 g, 2 : 33 : 65 MeOH/diklormetan/heksaner) for å gi 991 mg (37 % kombinert utbytte for de to reaksjonene) av tittelforbindelsen som et hvitt fast stoff. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,70 (s, 1H), 7,33 (d, J= 8,8 Hz, 1H), 7,27–7,23 (m, 1H), 7,12–7,08 (m, 1H), 6,79–6,71 (m, 3H), 6,14–6,11 (m, 1H), 5,19 (s, 2H), 5,05–4,97 (m, 1H), 4,93–4,80 (m, 2H), 3,30–3,23 (m, 2H), 2,69–2,62 (m, 2H), 1,21 (t, J= 5,9 Hz, 6H).

Eksempel 10

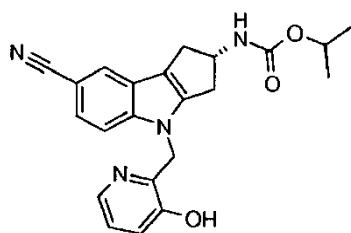
[(S)-7-cyano-4-(5-fluor-2-hydroksybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydro-5H-indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester



En blanding av ((S)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydro-5H-pyrido[4,3-b]indol-2-yl)-
 5 karbamidsyreisopropylester (1,15 g, 4,06 mmol) og cesiumkarbonat (1,60 g,
 4,87 mmol) i dimetylformamid (15 ml) omrøres ved -40 °C (tørrisbad) i 30 min.
 og behandles med (2-brommetyl-4-fluorfenoksy)-tert-butyldimetylsilan (1,56 g,
 4,87 mmol). Reaksjonen omrøres ved -40 °C (tørrisbad) i 5 timer og oppvarmes
 til romtemperatur i 6 timer. Den resulterende suspensjonen fortynnes med
 etylacetat (120 ml) og vaskes med vann (3 × 100 ml) og saltløsning. Den
 10 organiske porsjonen tørkes over natriumsulfat, filtreres og konsentreres til
 tørrhet. Den resulterende resten renses ved mellomtrykksvæskerkromatografi,
 eluering med etylacetat : heksan (1 : 1). Fraksjoner inneholdende rent produkt
 kombineres og konsentreres for å gi 0,6 g av det silylbeskyttede materialet.
 Oppløs det i tetrahydrofuran (10 ml) og tilsett tetrabutylammoniumfluoridløsning
 15 (1 M, 5 ml) ved romtemperatur. Omrør blandingen i én time og konsentrer.
 Resten fortynnes med etylacetat (100 ml) og vaskes med vann og saltløsning.
 Den organiske porsjonen tørkes over natriumsulfat og konsentreres. Den
 resulterende resten renses ved mellomtrykksvæskerkromatografi, eluering med
 acetonitril : diklormetan (8 : 92). Fraksjoner inneholdende rent produkt
 20 kombineres og konsentreres. Et hvitt fast stoff oppnås og rekrystalliseres med
 acetonitril for å gi 0,35 g (21 %) av tittelforbindelsen. LC-ES m/z 408,2 $[M+H]^+$,
 $T_R = 4,09$ min.

Eksempel 12

25 **(S)-7-cyano-4-((3-hydroksypyridin-2-yl)metyl)-1,2,3,4-
 tetrahydro-5H-pyrido[4,3-b]indol-2-ylkarbamidsyreisopropylester**



(S)-4-((3-metoksy-pyridin-2-yl)metyl)-7-cyano-1,2,3,4-

tetrahydro-syklopenta[b]indol-2-ylkarbamidsyreisopropylester (4,59 g,

5 11,4 mmol) og pyridinhydroklorid (21,0 g, 182 mmol) blandes med en magnetisk omrører i en 75 ml lukket beholder som nedsenkes i et forhåndsoppvarmet oljebad (170 °C). De faste stoffene smelter innen ca. 30 sek.

og omrøres i 60 min. Blandingen avkjøles til romtemperatur, overføres til en annen kolbe og løses i tetrahydrofuran (100 ml) og vann (100 ml).

10 Kaliumkarbonat (40 g) tilsettes langsomt porsjonsvis, og etter omrøring i 5 min. tilsettes en 1 M løsning av isopropylklorformiat i toluen (34,0 ml, 34,0 mmol) ved romtemperatur. En porsjon av løsningsmiddelet fjernes under redusert trykk

og resten fortynnes med diklormetan og etylacetat. Den brune uløselige resten filtreres bort og fasene separeres. Den organiske fasen vaskes med 10 %

15 kaliumkarbonat én gang, tørkes over vannfritt natriumsulfat, filtreres og konsentreres *in vacuo* for å oppnå et brunt skum. Skummet løses i metanol (20 ml), 2 M natriumhydroksid (10 ml) tilsettes og reaksjonen omrøres ved romtemperatur i 1 time. Løsningsmiddelet fjernes under redusert trykk. Resten

løses i 0,5 M HCl/EtOAc/CHCl₃ og det andre sjiktet filtreres. Det surgjøres deretter til pH 7–8 med 5 % kaliumkarbonat. Fasene separeres og den organiske

fasen vaskes med 5 % kaliumkarbonat én gang, tørkes over vannfritt natriumsulfat, filtreres og konsentreres *in vacuo* for å oppnå et oransje skum.

Skummet renses ved silikaflashkromatografi eluering med 10 til 40 % etylacetat/kloroform for å oppnå et rødt fast stoff (3,33 g). Det faste stoffet

25 løses i 0,5 M natriumhydroksid (30 ml). Det vandige sjiktet vaskes med diklormetan to ganger, og de organiske sjiktene kastes. Det vandige sjiktet justeres til pH 4–5 med 5 M saltsyre. Et offwhite/gult fast stoff bryter ut av løsningen. pH justeres til 8–9 med kaliumkarbonat, det gule faste stoffet samles

ved filtrering og lufttørkes i én time. Det suspenderes deretter i en minimumsmengde av acetonitril, filtreres og renses med en minimumsmengde

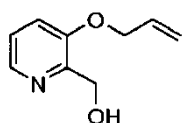
30 av acetonitril. Modervæsken konsentreres og fremgangsmåten gjentas to ganger for å gi et hvitt pulver, som tørkes under høyvakuum natten over for å oppnå

tittelforbindelsen som et hvitt fast stoff (1,45 g, 33 %). LC-ES/MS m/z 391,2 $[M+H]^+$, $T_R = 3,32$ min.

Alternativ syntese til eksempel 12:

Preparat 27

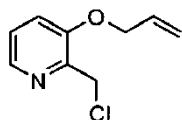
5 (3-allyloksypyridin-2-yl)-metanol



Hydroksy-2-(hydroksymetyl)-pyridinhydroklorid (50 g, 339,6 mmol) og metanol (250 ml) kombineres under nitrogen og avkjøles til 22 °C. Under kraftig omrøring tilsettes blandingen 4,5 M natriummetoksid i MeOH (170,8 ml, 747,2 mmol). Blandingen omrøres ved romtemperatur i 2 timer og deretter avdampes løsningsmiddelet. Det resulterende materialet løses i DMSO (250 ml), allylbromid (41 g, 339,6 mmol) tilsettes og blandingen omrøres i 18 timer ved romtemperatur. Reaksjonsblanding tilsettes i vann (800 ml) og ekstraheres med metylenklorid (3 × 80 ml). De organiske porsjonene kombineres og tørkes over natriumsulfat, filtreres og løsningsmiddelet avdampes for å gi tittelforbindelsen (34,4 g, 62 %). LC-ES/MS m/z 166,1 $[M+H]^+$.

Preparat 28

3-allyloksy-2-klormetylpyridin

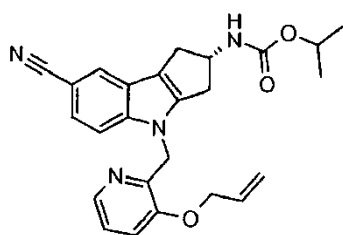


(3-allyloksypyridin-2-yl)-metanol (34 g, 205,8 mmol) løses i diklormetan (340 ml) under nitrogen, og trietylamin (34,4 ml, 247 mmol) tilsettes ved 22 °C. Blandingens varmes opp til romtemperatur i et vannbad og metansulfonylklorid (16,7 ml, 216 mmol) tilsettes mens temperaturen holdes under 30 °C. Reaksjonen tillates å omrøres natten over ved romtemperatur. Vann (500 ml)

tilsettes og blandingen omrøres i 10 min. Den organiske porsjonen separeres og vaskes med en løsning av mettet NaHCO_3 (100 ml). Den organiske porsjonen tørkes over natriumsulfat, filtreres og løsningsmiddelet avdampes. Den resulterende resten tørkes under vakuum til konstant vekt for å gi tittelforbindelsen (29 g, 79 %). LC-ES/MS m/z : 184,6 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Preparat 29

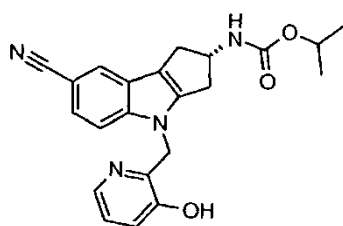
[(S)-4-(3-allyloksypyridin-2-ylmetyl)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester



((S)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl)-karbamidsyreisopropylester (25 g, 88,2 mmol) løses i dimetylformamid (150 ml) under nitrogen. Cesiumkarbonat (57,5 g, 176,5 mmol) og 3-allyloksy-2-klormetylpyridin (16,2 g, 88,2 mmol) tilsettes i rekkefølge. Reaksjonsblandingen omrøres ved 40 °C i 16 timer. Reaksjonen avkjøles til romtemperatur og tilsettes i vann (1250 ml). Etter én times omrøring filtreres et blekt kremfarget fast stoff. Råmaterialet renses ved rekrySTALLISERING fra i-PrOH og tørkes deretter under vakuum til konstant vekt for å gi tittelforbindelsen (32 g, 84 %). LC-ES/MS m/z : 431,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Eksempel 12a

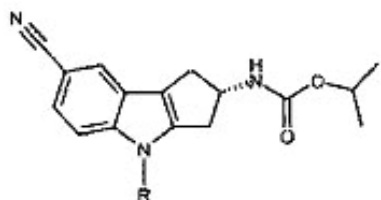
[(S)-7-cyano-4-(3-hydroksypyridin-2-ylmetyl)-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester



[(S)-4-(3-allyloksypyridin-2-ylmetyl)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahydrocyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester (40 g, 87,3 mmol) og 1,4-dioksan (400 ml) kombineres, og blandingen avgasses ved
5 gjennombobling i nitrogen i én time. Deretter tilsettes trietylamin (24,4 ml, 174,7 mmol) og maursyre (6,60 ml, 174,7), og blandingen oppvarmes under nitrogen ved 80 °C. Tetrakis(trifenylfosfin)palladium (1,02 g, 0,87 mmol) tilsettes mens nitrogenatmosfæren opprettholdes. Reaksjonen oppvarmes ved 80 °C i 3 timer og avkjøles deretter til romtemperatur. Reaksjonen filtreres
10 gjennom en pute av kiselgur. Filtratet inndampes og råmaterialet tørkes under vakuum for å gi et brunt fast stoff. Det faste stoffet løses i NMP (100 ml) og tilsettes deretter i vann (1,2 l). Et blekt kremfarget fast stoff samles ved filtrering og tørkes natten over under vakuum for å gi 41 g av råmaterialet. Materialet renses ved rekrystallisering fra acetonitril og tørkes deretter under
15 vakuum til konstant vekt for å gi tittelforbindelsen (29,5 g, 86 %). LC-ES/MS m/z: 391,1 [M+H]⁺.

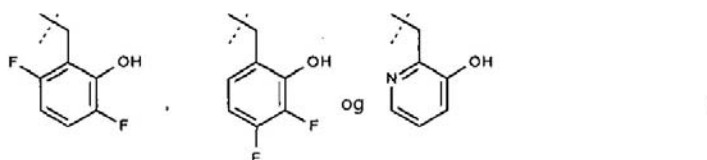
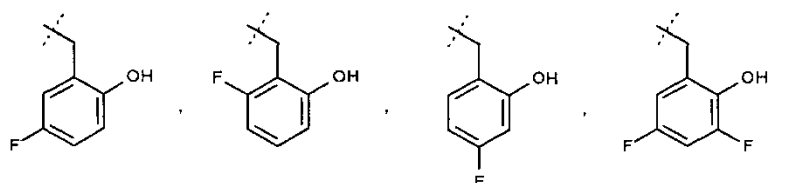
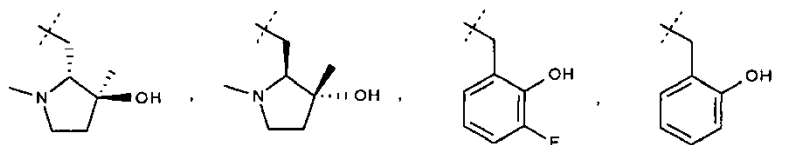
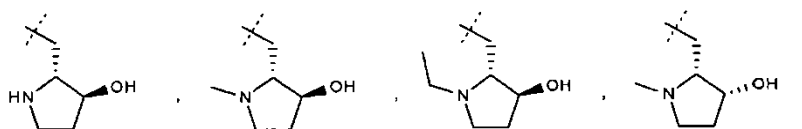
Patentkrav

1. Forbindelse med formel (I):

**Formel (I)**

hvor

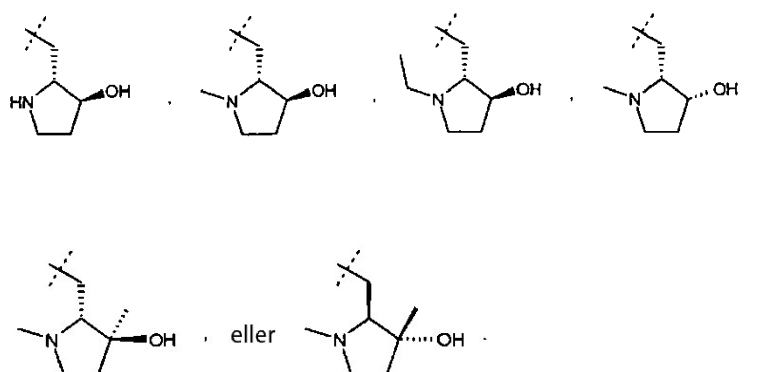
R repræsenterer en substituent valgt fra gruppen bestående af



eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

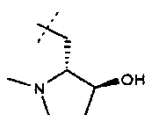
2. Forbindelsen eller saltet ifølge krav 1 hvor R repræsenterer

59



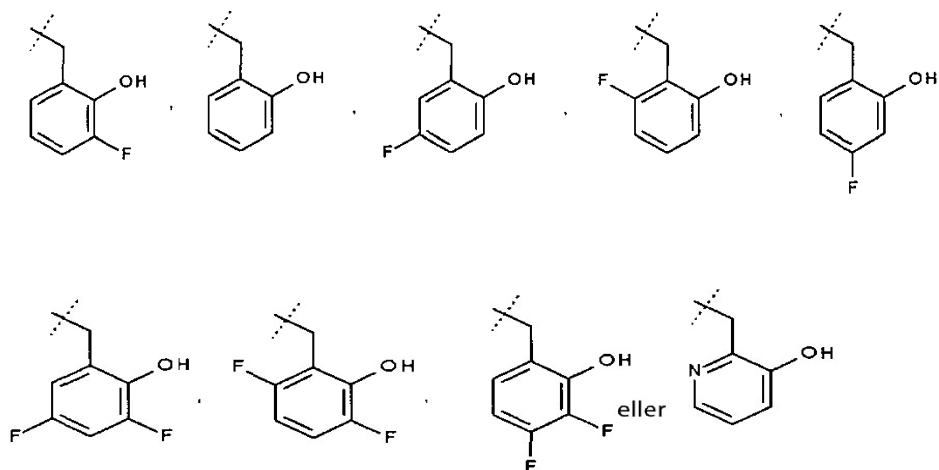
5

3. Forbindelsen eller saltet ifølge krav 2 hvori R representerer



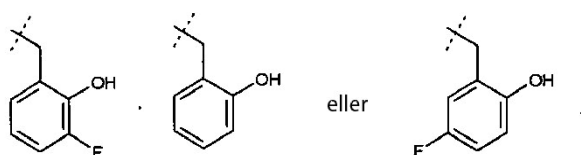
10

4. Forbindelsen eller saltet ifølge krav 1 hvori R representerer



15

5. Forbindelsen eller saltet ifølge krav 4 hvori R representerer



6. Forbindelse ifølge krav 1 valgt fra gruppen bestående av [(S)-7-cyano-4-((2R,3S)-3-hydroksy-1-metylpyrrolidin-2-ylmetyl)-1,2,3,4-tetrahydrosyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester, [(S)-7-cyano-4-(3-fluor-2-hydroksybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydrosyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester, [(S)-7-cyano-4-(2-hydroksybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydrosyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester og [(S)-7-cyano-4-(5-fluor-2-hydroksybenzyl)-1,2,3,4-tetrahydrosyklopenta[b]indol-2-yl]-karbamidsyreisopropylester eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.
7. Forbindelse eller salt ifølge hvilket som helst av krav 1–6 til anvendelse ved behandling.
8. Forbindelse eller salt ifølge hvilket som helst av krav 1–6 for anvendelse ved behandling eller forebygging av redusert benmasse eller -tetthet, osteoporose, osteopeni, redusert muskelmasse eller -styrke eller erektil dysfunksjon.
9. Forbindelsen eller saltet for anvendelse ifølge krav 8 til behandling eller forbygging av erektil dysfunksjon.
10. Farmasøytisk sammensetning omfattende en forbindelse eller et salt ifølge hvilket som helst av krav 1–6 i kombinasjon med ett eller flere farmasøytisk akseptable bærestoffer, fortynningsmidler eller eksipienter.
11. Sammensetningen ifølge krav 10 videre omfattende en forbindelse valgt fra gruppen bestående av tadalafil, sildenafilsitrat og vardenafilhydroklorid.

SEKVENSLISTE

<110> Eli Lilly and Company

<120> TETRAHYDROCYCLOPENTA[b]INDOLE ANDROGEN RECEPTOR
MODULATORS

<130> X-17700

<160> 3

<170> PatentIn version 3,5

<210> 1

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 1

ccggaaccct tgcgttt 17

<210> 2

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

2

<400> 2

cagactgtgg gcttcagagt ca 22

<210> 3

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 3

cccgtaaagg gcct 14