



(12) **Oversettelse av  
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2334378 B1**

**NORGE**

(19) NO  
(51) Int Cl.  
*C07C 259/06 (2006.01)*  
*A61K 31/16 (2006.01)*  
*A61P 11/00 (2006.01)*  
*A61P 17/06 (2006.01)*  
*A61P 19/02 (2006.01)*  
*C07C 235/06 (2006.01)*  
*C07C 235/08 (2006.01)*  
*C07C 235/10 (2006.01)*  
*C07C 235/12 (2006.01)*  
*C07C 271/64 (2006.01)*  
*C07C 275/50 (2006.01)*  
*C07D 207/16 (2006.01)*  
*C07D 263/20 (2006.01)*  
*C07D 285/12 (2006.01)*  
*C07D 295/18 (2006.01)*

**Patentstyret**

---

- (21) Oversettelse publisert 2014.09.15
- (80) Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet 2014.04.09
- (86) Europeisk søknadsnr 09791679.5
- (86) Europeisk innleveringsdag 2009.08.19
- (87) Den europeiske søknadens Publiseringsdato 2011.06.22
- (30) Prioritet 2008.08.19, US, 90163 P
- (84) Utpekte stater AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO SE SI SK SM TR
- (73) Innehaver Xenoport, Inc., 3410 Central Expressway, Santa Clara, CA 95051, USA
- (72) Oppfinner GANGAKHEDKAR, Archana, 3475 Heritage Oaks Drive, San Jose, California 95148, USA  
DAI, Xuedong, 697 Springwood Drive, San Jose, California 95129, USA  
ZERANGUE, Noa, 2323 Coronet Drive, Belmont, California 94002, USA  
VIRSIK, Peter A., 131 Escanyo Way, Portola Valley, California 94028, USA
- (74) Fullmektig Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

- 
- (54) Benevnelse **Promedikamenter av metylhydrogenfumarat, farmasøytiske sammensetninger av disse og metoder for anvendelse**
- (56) Anførte publikasjoner WO-A1-2007/006308 , US-A1- 2006 205 659 , US-A1- 2007 248 663 , US-B1- 6 277 882  
US-B1- 6 436 992 , US-B1- 6 509 376  
KAMIMURA A ET AL: "Stereoselective formation of optically active 2-oxy-1,3-oxazolidin-4-ones from chiral O-acylmandelamides or lactamides" TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 58, no. 43, 21 October 2002 (2002-10-21), pages 8763-8770, XP004390185 ISSN: 0040-4020

**PROMEDIKAMENTER AV METYLHYDROGENFUMARAT, FARMASØYTISKE  
SAMMENSETNINGER AV DISSE OG METODER FOR ANVENDELSE**

**FELT**

5

I dette dokumentet offentliggjøres promedikamenter av metylhydrogenfumarat, farmasøytiske sammensetninger omfattende promedikamenter av metylhydrogenfumarat og metoder for anvendelse av promedikamenter av metylhydrogenfumarat og farmasøytiske sammensetninger av disse, for behandling av sykdommer, slik som psoriasis, astma, multipel sklerose, inflammatorisk tarmsykdom og artritt.

10

**BAKGRUNN**

15

Fumarsyrestere (FAE-er) er godkjent i Tyskland for behandling av psoriasis, er under evaluering i USA for behandling av psoriasis og multipel sklerose og har vært foreslått anvendt i behandlingen av et bredt spekter av immunologiske, autoimmune og inflammatoriske sykdommer og tilstander.

20

FAE-er og andre fumarsyrederivater har vært foreslått anvendt i behandlingen av et bredt spekter av sykdommer og tilstander som involverer immunologiske, autoimmune og/eller inflammatoriske tilstander, inkludert psoriasis (Joshi og Strebel, WO 1999/49858; US 6,277,882; Mrowietz og Asadullah, Trends Mol. Med. 2005,111(1), 43-48; og Yazdi og Mrowietz, Clinics Dermatology 2008, 26, 522-526); astma og kronisk obstruktive lungesykdommer (KOLS) (Joshi et al., WO 2005/023241 og US 2007/0027076); hjertesvikt, inkludert venstre hjertekammerinsuffisiens, hjerteinfarkt og angina pectoris (Joshi et al., WO 2005/023241; Joshi et al., US 2007/0027076); mitokondrie- og nevrodegenereringssykdommer, slik som Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, Huntingtons sykdom, retinopati pigmentosa og mitokondrie-encefalomyopati (Joshi og Strebel, WO 2002/055063, US 2006/0205659, US 6,509,376, US 6,858,750 og US 7,157,423); transplantasjon (Joshi and Strebel, WO 2002/055063, US 2006/0205659, US 6,359,003, US 6,509,376 og US 7,157,423; og Lehmann et al., Arch Dermatol Res 2002, 294, 399-404); autoimmune sykdommer (Joshi og Strebel, WO 2002/055063, US 6,509,376, US 7,157,423 og US 2006/0205659) inkludert multipel sklerose (MS) (Joshi og Strebel, WO 1998/52549 og US 6,436,992; Went og Lieberburg, US 2008/0089896; Schimrigk

35

et al., *Eur. J. Neurology* 2006, 13, 604-610; og Schilling et al., *Clin. Experimental Immunology* 2006, 145, 101-107); iskemi og reperfusjonskade (Joshi et al., US 2007/0027076); AGE-indusert genomskade (Heidland, WO 2005/027899); inflammatorisk tarmsykdom, slik som Crohns sykdom og ulcerøs kolitt; artritt; og andre (Nilsson et al., WO 2006/037342 og Nilsson and Muller, WO 2007/042034).

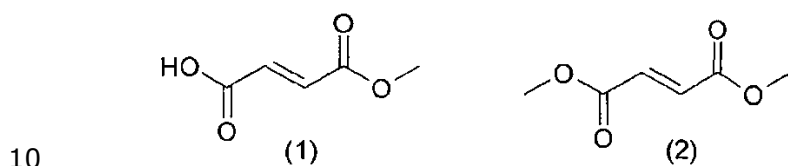
Virkningsmekanismen til fumarsyreestere antas å medieres av baner forbundet med immunologiresponsen. FAE-er fremkaller f.eks. et skifte, fra en Th1- til en Th2-immunrespons, som fordelaktig endrer cytokinprofilen; inhiberer cytokinindusert ekspresjon av festemolekyler, slik som VCAM.1, ICAM-1 og E-selektin, som derved reduserer immuncelleutsiving; og reduserer lymfocytter gjennom apoptotiske mekanismer (Lehman et al. *J. Investigative Dermatology* 2007, 127, 835-845; Gesser et al., *J. Investigative Dermatology* 2007, 127, 2129-2137; Vandermeeren et al., *Biochim. Biophys. Res. Commun.* 1997, 234, 19-23; og Treumer et al., *J. Invest. Dermatol.* 2003, 121, 1383-1388).

Nylige studier har antydnet at FAE-er inhiberer NF- $\kappa$ B-aktivering, en transkripsjonsfaktor som regulerer den induserbare ekspresjonen av proinflammatoriske mediatorsubstanser (D'Acquisito et al., *Molecular Interventions* 2002, 2(1), 22-35). FAE-er har følgelig vært foreslått for anvendelse i behandling av NF- $\kappa$ B-medierte sykdommer (Joshi et al., WO 2002/055066; og Joshi og Strebel, WO 2002/055063, US 2006/0205659, US 7,157,423 og US 6,509,376). Inhibitorer av NF- $\kappa$ B-aktivering har også vært vist å være nyttige i angiostatisk behandling (Tabruyn og Griffioen, *Angiogenesis* 2008, 11, 101-106), inflammatorisk tarmsykdom (Atreya et al. *J. Intern. Med.* 2008, 263(6), 591-6); og i dyremodeller for sykdommer som involverer inflammasjon, inkludert nøytrofil alveolitt, astma, hepatitt, inflammatorisk tarmsykdom, neurodegenerering, iskemi/reperfusjon, septisk sjokk, glomerulonefritt og revmatoid artritt (D'Acquisito et al., *Molecular Interventions* 2002, 2(1), 22-35).

Studier indikerer også at NF- $\kappa$ B-inhibering ved anvendelse av FAE-er kan medieres ved interaksjon med tumor nekrosefaktor (TNF)-signalisering. Dimetylfumarat inhiberer TNF-indusert vevsfaktor mRNA- og proteinekspresjon og TNF-indusert DNA-binding av NF- $\kappa$ B-proteiner, og inhiberer TNF-indusert nukleæringang for aktiverte NF- $\kappa$ B-proteiner og inhiberer slik inflammatorisk genaktivering (Loewe et al. *J. Immunology* 2002, 168, 4781-4787). TNF-signaliseringsbaner er involvert i patogenesen til immunmedierte

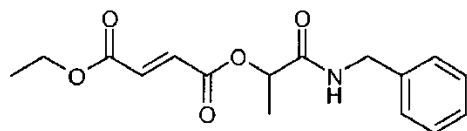
inflammatoriske sykdommer, slik som revmatoid artritt, Crohns sykdom, psoriasis, psoriasisartritt, juvenil idiopatisk artritt og leddstivhetsspondylitt (Tracey et al., Pharmacology & Therapeutics 2008, 117, 244-279).

- 5 Fumaderm®, en magesaftresistent, belagt tablett som inneholder en saltblanding av monoetylfumarat og dimetylfumarat (DMF) (2), som hydrolyseres raskt til monometylfumarat (MHF) (1), ansett å være den viktigste bioaktive metabolitten, ble godkjent i Tyskland i 1994 for behandling av psoriasis.



15 Fumaderm® er dosert TID med 1–2 gram/døgnet administrert for behandling av psoriasis. Fumaderm® viser høy grad av variabilitet mellom pasienter med hensyn til legemiddelabsorpsjon, og mat reduserer biotilgjengeligheten kraftig. Absorpsjon antas å finne sted i tynntarmen, med oppnådde toppnivåer 5–6 timer etter oral administrering. Signifikante bivirkninger oppstår i 70–90 % av pasientene (Brewer og Rogers, Clin. Expt'l Dermatology 2007, 32, 246-49; og Hoefnagel et al., Br. J. Dermatology 2003, 149, 363-369). Bivirkninger fra nåværende FAE-terapi inkluderer mage-tarmproblemer, inkludert kvalme, oppkast og diaré; forbigående 20 rødme i huden. DMF viser også dårlig vannløselighet.

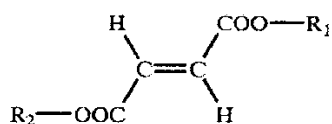
25 Fumarsyrederivater (Joshi og Strebel, WO 2002/055063, US 2006/0205659 og US 7,157,423 (amidforbindelser og proteinfumaratforbindelser); Joshi et WO 2002/055066 og Joshi og Strebel, US 6,355,676 (mono- og dialkylestere); Joshi og Strebel, WO 2003/087174 (karboksyl- og oksakarboksylsammensetninger); Joshi et al., WO 2006/122652 (tiosukkinater); Joshi et al., US 2008/0233185 (dialkyl- og diarylestere) og salter (Nilsson et US 2008/0004344) har blitt utviklet i et forsøk på å overkomme svakhetene ved nåværende FAE-terapi. Farmasøytiske sammensetninger for kontrollert frisetting omfattende 30 fumarsyreestere er offentliggjort av Nilsson og Müller WO 2007/042034. Glykoamidesterpromedikamenter er beskrevet av Nielsen og Bundgaard, J. Pharm. Sc. 1988, 77(4), 285-298.



5 Kamimura et al. 2002, Tetrahedron, Vol. 58, ss. 8763-8770 beskriver den stereoselektive dannelsen av visse optisk aktive 2-oksy-1,3-oksazolidin-4-oner fra kiral *O*-acylmandelamider eller laktamider. Forbindelse 2 g (oppføring 7 i tabell 1 på side 8764 deri) synes å ha den følgende strukturen:

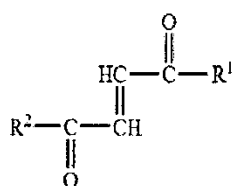
10 US 6,509,376 B1 (Joshi et. al., 21. januar 2003) og US2007/0248663 A1 (Joshi et al., 25. oktober 2007) beskriver visse dialkylfumarater av følgende formel (hvor  $R_1$  og  $R_2$  kan være den samme eller forskjellige, og representerer uavhengig en lineær, grenet eller syklisk, mettet eller umettet  $C_{1-20}$ -alkylradikal, som alternativt kan erstattes med halogen (Cl, F, I, Br), hydrokxy,  $C_{1-4}$ -alkoksy, nitro eller cyan) og deres bruk i behandlingen av visse sykdommer, inkludert multippel sklerose og psoriasis.

15



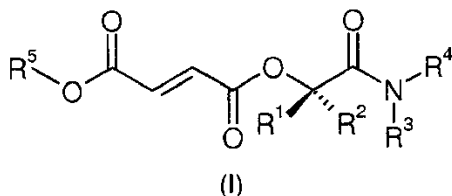
20 US2006/0205659 A1 (Joshi et al. 14. september 2006) beskriver visse aminosyreaminder av fumarsyre av følgende formel (hvor  $R^1$  representerer  $OR^3$  eller en D- eller L-aminosyreradikal  $-NH-CHR^4-COOH$  bundet via et amidbånd, hvor  $R^3$  er hydrogen, en rettkjedet eller forgrenet, alternativt erstattet  $C_{1-24}$ -alkylradikal, fortrinnsvis en  $C_{1-4}$ -alkylradikal, en fenyldradikal eller  $C_{6-10}$ -aralkylradikal og  $R^4$  er en sidekjede med en naturlig eller syntetisk aminosyre og  $R^2$  representerer en D- eller L-aminosyreradikal  $-NH-CHR^5-COOH$  bundet via en aminbinding eller en peptidradikal omfattende 2 til 100, fortrinnsvis 2 til 30 aminosyrer bundet via et amidbånd, hvor  $R^5$  er en sidegren av en naturlig eller syntetisk aminosyre) og deres anvendelse i behandlingen av visse sykdommer, inkludert multippel sklerose og psoriasis.

30



**KORT BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN**

Et første aspekt av oppfinnelsen er en forbindelse av formel (I):



5

eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvori:

$R^1$  og  $R^2$  velges uavhengig fra hydrogen,  $C_{1-6}$ -alkyl og substituert  $C_{1-6}$ -alkyl;

$R^3$  og  $R^4$  velges uavhengig fra hydrogen,  $C_{1-6}$ -alkyl, substituert  $C_{1-6}$ -alkyl,  $C_{1-6}$ -heteroalkyl, substituert  $C_{1-6}$ -heteroalkyl,  $C_{4-12}$ -sykloalkylalkyl, substituert  $C_{4-12}$ -sykloalkylalkyl,  $C_{7-12}$ -arylalkyl og substituert  $C_{7-12}$ -arylalkyl;

eller  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra en  $C_{5-10}$ -heteroaryl, substituert  $C_{5-10}$ -heteroaryl,  $C_{5-10}$ -heterosykloalkyl og substituert  $C_{5-10}$ -heterocycloalkyl; og

$R^5$  er metyl;

hvori hver substitueringsgruppe velges uavhengig fra halogen, -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, =O, -NO<sub>2</sub>, benzyl, -C(O)NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup>, -C(O)R<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver R<sup>11</sup> velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl.

I én utførelsesform, er hver av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen.

I én utførelsesform, er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra metyl, etyl, *n*-propyl, isopropyl, *n*-butyl, isobutyl, *sek*-butyl og *tert*-butyl.

I én utførelsesform velges  $R^3$  og  $R^4$  uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-6}$  alkyl.

I én utførelsesform danner  $R^3$  og  $R^4$  en  $C_{5-10}$ -heterosykloalkylring, sammen med nitrogenet de er bundet til.

I én utførelsesform, hvori  $R^3$  og  $R^4$  danner en ring valgt fra pierazin-, 1,3-okaszolidinyl-, pyrrolidin- og morfolinring, sammen med nitrogenet de er bundet til.

I én utførelsesform er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-6}$ -alkyl; og  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet som de er bundet til, danner en ring valgt fra morfolin, piperazin og *N*-substituert piperazin.

5 I én utførelsesform er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen; og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-6}$ -alkyl;  $R^3$  er hydrogen; og  $R^4$  velges fra hydrogen,  $C_{1-6}$ -alkyl og benzyl.

10 I én utførelsesform er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-6}$ -alkyl; og hver av  $R^3$  og  $R^4$  er  $C_{1-6}$ -alkyl.

I én utførelsesform er hver av  $R^1$   $R^2$  hydrogen; og hver av  $R^3$  og  $R^4$  er  $C_{1-6}$ -alkyl.

15 I én utførelsesform er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl;  $R^3$  er hydrogen; og  $R^4$  velges fra  $C_{1-4}$ -alkyl, substituert  $C_{1-4}$ -alkyl, hvori substitueringsgruppen velges fra =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver  $R^{11}$  velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl.

20 I én utførelsesform er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  er metyl;  $R^3$  er hydrogen; og  $R^4$  velges fra  $C_{1-4}$ -alkyl, substituert  $C_{1-4}$ -alkyl, hvori substitueringsgruppen velges fra =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver  $R^{11}$  velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl.

25 I én utførelsesform er hver av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen;  $R^3$  er hydrogen; og  $R^4$  velges fra  $C_{1-4}$ -alkyl, substituert  $C_{1-4}$ -alkyl, hvori substitueringsgruppen velges fra =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver  $R^{11}$  velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl.

30 I én utførelsesform er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-6}$ -alkyl; og  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-, substituert  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-,  $C_{5-6}$ -heteroaryl- og  $C_{5-6}$ -heteroarylring.

35 I én utførelsesform er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  er metyl; og  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra en  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-, substituert  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-,  $C_{5-6}$  -heteroaryl- og substituert  $C_{5-6}$ -heteroarylring.

I én utførelsesform er én av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> hydrogen og den andre av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> er metyl; og R<sup>3</sup> og R<sup>4</sup> sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra en C<sub>5-6</sub>-heterosykloalkyl-, substituert C<sub>5-6</sub>-heterosykloalkyl-, C<sub>5-6</sub> -heteroaryl- og substituert C<sub>5-6</sub>-heteroarylring.

5

I én utførelsesform er én av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> hydrogen og den andre av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> velges fra hydrogen og C<sub>1-6</sub>-alkyl; og R<sup>3</sup> og R<sup>4</sup> sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra morfolin, piperazin og N-substitutert piperazin.

10

I én utførelsesform velges forbindelsen fra:

(N,N-dietylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl [N-benzylkarbamoyl]metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl 2-morfolin-4-yl-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

(N-butylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

15

[N-(2-metoksyetyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

2-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]acetylamino}eddiksyre;

4-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]acetylamino};smørsyre;

(N,N-dimetylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

bis-(2-metoksyetylamino)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

20

[N-(metoksykarbonyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl 2-okso-2-piperazinyletyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl 2-okso-2-(2-okso(1,3-oksazolidin-3yl)etyl)etyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

{N-[2-(dimetylamino)etyl]karbamoyl}metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl 2-(4-metyl piperazinyl)-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

25

metyl {N-[(propylamino)karbonyl]karbamoyl}metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

2-((4-acetyl piperazinyl)-2-oksoetyl)metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

{N,N-bis[2-(metyletoksy)etyl]karbamoyl}metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl 2-(4-benzyl piperazinyl)-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

[N,N-bis(2-etoksyetyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

30

2-(((2S)-2-[(tert-butyl)oksykarbonyl]pyrrolidinyl)-2-oksoetyl)metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

1-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]acetyl}(2S)pyrrolidin-2-karboksylysyre;

(N-{[(tert-butyl)oksykarbonyl]metyl}-N-metylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

35

{N-(etoksykarbonyl)metyl}-N-metylkarbamoyl}metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat; metyl-1-metyl-2-morfolin-4-yl-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;



[*N,N*-bis(2-metoksyetyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

(*N,N*-dimetylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

2-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksyl]-*N*-

metylacetylamino}eddiksyre;

5 (*N*-{[(*tert*-butyl)oksykarbonyl]metyl}karbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl (*N*-metyl-*N*-{[(metyletyl)oksykarbonyl]metyl}karbamoyl)metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

10 {*N*-[(etoksykarbonyl)metyl]-*N*-benzylkarbamoyl}metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

{*N*-[(etoksykarbonyl)metyl]-*N*-benzylkarbamoyl}etylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

{*N*-[(etoksykarbonyl)metyl]-*N*-metylkarbamoyl}etylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

(1 *S*)-1-metyl-2-morfolin-4-yl-2-oksoetylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

(1*S*)-1-[*N,N*-bis(2-metoksyetyl)karbamoyl]etylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

15 (1 *R*)-1-(*N,N*-dietylkarbamoyl)etylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

(*N*-[(metoksykarbonyl)etyl]karbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

2-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]acetylamino}propionsyre; og farmasøytiske akseptable salter av det foregående.

20 I én utførelsesform er forbindelsen (*N,N*-dietylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

I én utførelsesform er forbindelsen metyl 2-morfolin-4-yl-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

25

I én utførelsesform er forbindelsen (*N,N*-dimetylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

30 I én utførelsesform er forbindelsen bis-(2-metoksyetyl-amino)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat.

Et andre aspekt av oppfinnelsen er en farmasøytisk sammensetning omfattende en sammensetning av det første aspektet og i det minste ett farmasøytisk akseptabelt bæremiddel.

35

I én utførelsesform er den farmasøytiske sammensetningen en oralformulering.

I én utførelsesform er den farmasøytiske sammensetningen en oralformulering med kontrollert frisetting.

5 I én utførelsesform er den farmasøytiske sammensetningen en oralformulering med forlenget frisetting.

I én utførelsesform omfatter den farmasøytiske sammensetningen videre et annet terapeutisk middel.

10 I én utførelsesform er det andre terapeutiske midlet effektivt i minimering av en bivirkning forbundet med sammensetningen.

15 Et tredje aspekt av oppfinnelsen er en forbindelse av det første aspektet eller en farmasøytisk sammensetning av det andre aspektet for anvendelse i behandling av menneske- eller dyrekroppen ved terapi.

20 Et fjerde aspekt av oppfinnelsen er en forbindelse av det første aspektet eller en farmasøytisk sammensetning av det andre aspektet for anvendelse i behandling av psoriasis, multippel sklerose, en inflammatorisk tarmsykdom, astma, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS) eller artritt.

25 Et femte aspekt av oppfinnelsen er en forbindelse av det første aspektet eller en farmasøytisk sammensetning av det andre aspektet for anvendelse i behandling av psoriasis.

Et sjette aspekt av oppfinnelsen er en forbindelse av det første aspektet eller en farmasøytisk sammensetning av det andre aspektet for anvendelse i behandling av multippel sklerose.

30 Et syvende aspekt av oppfinnelsen er en forbindelse av det første aspektet eller en farmasøytisk sammensetning av det andre aspektet for anvendelse i behandling av psoriasis, astma, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), hjerteinsuffisiens, venstre hjertekammerinsuffisiens, myokardieinfarkt, angina pectoris, Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, Huntingtons sykdom,  
35 retinopati pigmentosa, mitokondrie- encefalomyopati, transplantasjonsavvisning, multippel sklerose, iskemi, reperfusjonsskade, AGE-indusert genomskade, inflammatorisk tarmsykdom, Crohns sykdom eller ulcerøs kolitt.

Et åttende aspekt av oppfinnelsen er en forbindelse av det første aspektet eller en farmasøytisk sammensetning av det andre aspektet for anvendelse i behandling av revmatismer, granuloma annulare, lupus, autoimmun hjertebetennelse, eksem, sarkoidose, akutt encefalomyelitt med spredning, Addisons sykdom, alopecia areata, ankyloserende spondylitt, antifosfolipidsyndrom, autoimmun hemolytisk anemi, autoimmun hepatitt, autoimmun sykdom i indre øre, bulløs pemfigoid, Behçets sykdom, cøliaki, Chagas sykdom, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), Crohns sykdom, dermatomyositt, diabetes mellitus type I, endometriose, Goodpastures syndrom, Graves sykdom, Guillain-Barré-syndrom, Hashimotos sykdom, svettekjertelbetennelse, Kawasakis sykdom, IgA-nevropati, idiopatisk trombocytopeni purpura, interstitial cystitt, lupus erytematose, blandet bindevevssykdom, morfea, multippel sklerose, myasthenia gravis, narkolepsi, neuromyotoni, pemfigus vulgaris, pernisiøs anemi, psoriasis, psoriasisartritt, polymyositt, primær biliær cirrhose, reumatoid artritt, schizofreni, sklerodermi, Sjøgrens syndrom, autoimmunt stivhetssyndrom, temporalarteritt, ulcerøs kolitt, vaskulitt (karbetennelse), vitiligo eller Wegeners granulomatose.

Et niende aspekt av oppfinnelsen er en forbindelse av det første aspektet eller en farmasøytisk sammensetning av det andre aspektet for anvendelse i behandling av alopecia areata.

Et tiende aspekt av oppfinnelsen er anvendelsen av en forbindelse av det første aspektet eller en farmasøytisk sammensetning av det andre aspektet i fremstillingen av et medikament for behandling av psoriasis, multippel sklerose, en inflammatorisk tarmsykdom, astma, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS) eller artritt.

Et ellevte aspekt av oppfinnelsen er anvendelsen av en forbindelse av det første aspektet eller en farmasøytisk sammensetning av det andre aspektet i fremstillingen av et medikament for behandling av psoriasis.

Et tolvte aspekt av oppfinnelsen er anvendelsen av en forbindelse av det første aspektet eller en farmasøytisk sammensetning av det andre aspektet i fremstillingen av et medikament for behandling av multippel sklerose.

Et trettede aspekt av oppfinnelsen er anvendelsen av en forbindelse av det første aspektet eller en farmasøytisk sammensetning av det andre aspektet i fremstillingen av et medikament for behandling av psoriasis, astma, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), hjerteinsuffisiens, venstre hjertekammerinsuffisiens, myokardieinfarkt, angina pectoris, Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, Huntingtons sykdom, retinopati pigmentosa, mitokondrie-encefalomyopati, transplantasjonsavvisning, multippel sklerose, iskemi, reperfusjonsskade, AGE-indusert genomskade, inflammatorisk tarmsykdom, Crohns sykdom, ulcerøs kolitt eller en NF- $\kappa$ B-mediert sykdom.

10

Et fjortende aspekt av oppfinnelsen er anvendelsen av en forbindelse av det første aspektet eller en farmasøytisk sammensetning av det andre aspektet i fremstillingen av et medikament for behandling av revmatismer, granuloma annulare, lupus, autoimmun hjertebetennelse, eksem, sarkoidose, akutt encefalomyelitt med spredning, Addisons sykdom, alopecia areata, ankyloserende spondylitt, antifosfolipidsyndrom, autoimmun hemolytisk anemi, autoimmun hepatitt, autoimmun sykdom i indre øre, bulløs pemfigoid, Behçets sykdom, cøliaki, Chagas sykdom, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), Crohns sykdom, dermatomyositis, diabetes mellitus type I, endometriose, Goodpastures syndrom, Graves sykdom, Guillain-Barré-syndrom, Hashimotos sykdom, svettekjertelbetennelse, Kawasakis sykdom, IgA-nevropati, idiopatisk trombocytopeni purpura, interstitial cystitt, lupus erytematose, blandet bindevevssykdom, morfea, multippel sklerose, myasthenia gravis, narkolepsi, neuromyotoni, pemfigus vulgaris, pernisiøs anemi, psoriasis, psoriasisartritt, polymyositt, primær biliær cirrhose, reumatoid artritt, schizofreni, sklerodermi, Sjögrens syndrom, autoimmunt stivhetssyndrom, temporalarteritt, ulcerøs kolitt, vaskulitt (karbetennelse), vitiligo eller Wegeners granulomatose.

15

20

25

30

Et femtende aspekt av oppfinnelsen er anvendelsen av en forbindelse av det første aspektet eller en farmasøytisk sammensetning av det andre aspektet i fremstillingen av et medikament for behandling av alopecia areata.

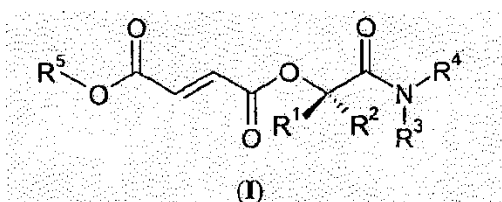
### **DETALJERT BESKRIVELSE**

35

MHF-promedikamenter med høy mage-tarm-permeabilitet og/eller -absorpsjon, forbedret løselighet, ordnet hydrolyse (dvs. foretrukket kløyving av forløpergrupper) og minimal kløyving i tarmblodkar eller enterocyttoplasma er

ønskelig. Slike MHF-promedikamenter som gir høyere oral biotilgjengelighet og plasmanivåer av MHF, DMF og/eller andre metabolitter, kan forsterke effektiviteten/responsraten, sammenlignet med nåværende fumarsyreestere; lette anvendelsen av lavere doser, redusere doseringshyppighet og standardisering av doseringsregimer; redusere påvirkning av mat; redusere mage-tarm-bivirkninger/toksisitet; og redusere behandlingsvariasjoner mellom pasienter.

I dette dokumentet presenteres forbindelser av formel (I):



eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvori:

$R^1$  og  $R^2$  velges uavhengig fra hydrogen,  $C_{1-6}$ -alkyl og substituert  $C_{1-6}$ -alkyl;

$R^3$  og  $R^4$  velges uavhengig fra hydrogen,  $C_{1-6}$ -alkyl, substituert  $C_{1-6}$ -alkyl,  $C_{1-6}$ -heteroalkyl, substituert  $C_{1-6}$ -heteroalkyl,  $C_{4-12}$ -sykloalkylalkyl, substituert  $C_{4-12}$ -sykloalkylalkyl,  $C_{7-12}$ -arylalkyl og substituert  $C_{7-12}$ -arylalkyl; eller  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet som de er bundet til, danner en ring valgt fra en  $C_{5-10}$ -heteroaryl, substituert  $C_{5-10}$ -heteroaryl,  $C_{5-10}$ -heterosykloalkyl og substituert  $C_{5-10}$ -heterocycloalkyl; og

$R^5$  er metyl;

hvori hver substitueringsgruppe velges uavhengig fra halogen; -OH, -CN,  $-CF_3$ , =O,  $-NO_2$ , benzyl,  $-C(O)NR^{11}_2$ ,  $-R^{11}$ ,  $-OR^{11}$ ,  $-C(O)R^{11}$ ,  $-COOR^{11}$  og  $-NR^{11}_2$ , hvori hver  $R^{11}$  velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl.

I dette dokumentet gis og beskrives også farmasøytiske sammensetninger omfattende en forbindelse av formel (I) og i det minste ett farmasøytisk akseptabelt bæremiddel.

I dette dokumentet gis og beskrives også metoder for behandling av en sykdom hos en pasient, omfattende administrering til en pasient i behov av slik behandling av en farmasøytisk sammensetning omfattende en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse av formel (I). I visse utførelsesformer velges sykdommen fra psoriasis, multippel sklerose, en inflammatorisk magesykdom, astma, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS) og artritt.

I dette dokumentet gis og beskrives også metoder for inhibering av NF- $\kappa$ B-aktivering hos en pasient, omfattende administrering til en pasient i behov av slik behandling, av en farmasøytisk sammensetning omfattende en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse av formel (I).

I dette dokumentet gis og beskrives også metoder for inhibering av TNF-funksjon hos en pasient, omfattende administrering til en pasient av en farmasøytisk sammensetning omfattende en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse av formel (I).

### Definisjoner

En bindestrek («-») som ikke er mellom to bokstaver eller symboler, anvendes til å indikere et festepunkt for en halvdel eller substituent, f.eks. er  $-\text{CONH}_2$  bundet gjennom karbonatomet.

«-Alkyl» viser til en mettet eller umettet, forgrenet eller rettkjedet, monovalent hydrokarbonradikal avledet ved fjerning av ett hydrogenatom fra et enkelt karbonatom i en alkan-, alken eller alkyn-mor-ring. Eksempler på slike alkyl-grupper inkluderer, men er ikke begrenset til metyl; etyler, slik som etanyl, etenyl og etynyl; propyler, slik som propan-1-yl, propan-2-yl, prop-1-en-1-yl, prop-1-en-2-yl, prop-2-en-1-yl (allyl), prop-1-yn-1-yl, prop-2-yn-1-yl osv.; butyler, slik som butan-1-yl, butan-2-yl, 2-metyl-propan-1-yl, 2-metyl-propan-2-yl, but-1-en-1-yl, but-1-en-2-yl, 2-metyl-prop-1-en-1-yl, but-2-en-1-yl, but-2-en-2-yl, buta-1,3-dien-1-yl, buta-1,3-dien-2-yl, but-1-yn-1-yl, but-1-yn-3-yl, but-3-yn-1-yl osv.; og lignende.

Begrepet «alkyl» er spesifikt ment å inkludere grupper med enhver grad eller ethvert nivå av metning, dvs. grupper med eksklusivt enkle karbon-karbon-bindinger, grupper med mer enn ett eller flere doble karbon-karbon-bånd, grupper med ett eller flere trippel karbon-karbon-bånd og grupper med kombinasjoner av enkle, doble og trippel karbon-karbon-bånd. Der et spesifikt metningsnivå er ment, brukes begrepene alkanyl, alkenyl og alkynyl. I visse utførelsesformer kan alkyl-gruppen ha fra 1 til 20 karbonatomer ( $\text{C}_{1-20}$ ), i visse utførelsesformer fra 1 til 10 karbonatomer ( $\text{C}_{1-10}$ ), i visse utførelsesformer fra 1 til 8 karbonatomer ( $\text{C}_{1-8}$ ), i visse

utførelsesformer fra 1 til 6 karbonatomer ( $C_{1-6}$ ), i visse utførelsesformer fra 1 til 4 karbonatomer ( $C_{1-4}$ ) og i visse utførelsesformer fra 1 til 3 karbonatomer ( $C_{1-3}$ ).

«Aryl» viser til en monovalent aromatisk hydrokarbonradikal avledet ved fjerningen av ett hydrogenatom fra et enkelt karbonatom i et aromatisk morringsystem. Arylbenzen; bisykliske ringsystemer hvori minst én ring er karboksyl og aromatisk, f.eks. naftalen, indan og tetralin; og trisykliske ringsystemer hvori minst én ring er karboksyl og aromatisk, f.eks. fluoren. Aryl omfatter flere ringsystemer med én aromatisk karboksylring fusjonert til minst én aromatisk karboksylring, sykloalkylring eller heterosykloalkylring. Aryl inkluderer f.eks. en fenyling fusjonert til en 5- til 7-delt heterosykloalkylring inneholdende ett eller flere heteroatomer valgt fra N, O og S. For slike fusjonerte, bisykliske ringsystemer hvori kun én av ringene er en aromatisk karbosyklisk ring, kan det radikale karbonatomet være ved den aromatiske karbosykliske ringen eller ved den heterosykloalkylringen. Eksempler på arylgrupper inkluderer, men er ikke begrenset til grupper avledet fra aceantrylen, acenaftylen, acefenantrylen, antracen, azulen, benzen, krysen, koronen, fluoranten, fluoren, heksasen, heksafen, heksalen, as-indasen, s-indasen, indan, inden, naftalen, oktasen, oktafen, oktalen, ovalen, penta-2,4-dien, pentasen, pentalen, pentafen, perylen, fenalen, fenantren, pisen, pleiaden, pyren, pyrantren, rubisen, trifenylen, trinaftalen og lignende. I visse utførelsesformer kan en arylgruppe ha fra 6 til 20 karbonatomer ( $C_{6-20}$ ), fra 6 til 12 karbonatomer ( $C_{6-12}$ ), fra 6 til 10 karbonatomer ( $C_{6-10}$ ) og i visse utførelsesformer fra 6 til 8 karbonatomer ( $C_{6-8}$ ). Aryl innbefatter eller overlapper imidlertid ikke på noen måte med heteroaryl, som separat definert i dette dokumentet.

«Arylalkyl» viser til en asyklisk alkylradikal, i hvilken ett av hydrogenatomene som binder til et karbonatom, vanligvis et terminal- eller  $sp^3$ -karbonatom, skiftes ut med en arylgruppe. Eksempler på arylalkylgrupper inkluderer, men er ikke begrenset til benzyl, 2-fenyletan-1-yl, 2-fenyleten-1-yl, naftylmetyl, 2-naftyletan-1-yl, 2-naftyleten-1-yl, naftobenzyl, 2-naftofenyletan-1-yl og lignende. Der spesifikke alkylhalvdeler er ment, brukes nomenklaturet arylalkanyl, arylalkenyl eller arylalkynyl. I visse utførelsesformer er en arylalkylgruppe  $C_{7-30}$ -arylalkyl, f.eks. er alkanyl-, alkenyl- eller alkynylhalvdelen i arylalkylgruppen  $C_{1-10}$  og arylhalvdelen er  $C_{6-20}$ , i visse utførelsesformer er en arylalkylgruppe  $C_{6-18}$ -arylalkyl, f.eks. er alkanyl-, alkenyl- eller alkynylhalvdelen

av arylalkylgruppen  $C_{1-8}$  og arylhalvdelen er  $C_{6-10}$ . I visse utførelsesformer er en arylalkylgruppe  $C_{7-12}$ -arylalkyl.

5 «Forbindelser» av formel (I) som offentliggjøres i dette dokumentet, inkluderer enhver spesifikk forbindelse innenfor disse formlene. Sammensetninger kan enten identifiseres ved deres kjemiske struktur og/eller kjemiske navn. Forbindelser navngis ved bruk av Chemistry 4-D Draw Pro, versjon 7.01c (ChemInnovation Software, Inc., San Diego, CA). Når den kjemiske strukturen og det kjemiske navnet er i konflikt, er den kjemiske strukturen bestemmende for forbindelsens identitet. Forbindelsene som beskrives i dette dokumentet, kan omfatte ett eller flere kiralsentre og/eller doble bindinger og kan derfor eksistere som stereoisomerer, slik som dobbeltbindingsisomerer (f.eks. geometriske isomerer), enantiomerer eller diastereomerer. Enhver kjemisk struktur innenfor omfanget av de beskrevne spesifikasjonene omfatter, helt eller delvis, med en relativ konfigurasjon, alle mulige enantiomerer og stereoisomerer av de 10 illustrerte forbindelsene, inkludert den stereoisomerisk rene formen (f.eks. geometrisk rene, enantiomerisk rene eller diastereomerisk rene) og enantiomere og stereoisomere blandinger. Enantiomere og stereoisomere blandinger kan løses opp til sine bestandige enantiomerer eller stereoisomerer, ved bruk av 15 separasjonsteknikker eller kiralsynteseteknikker velkjent for fagfolk. Forbindelser av formel (I) inkluderer, men er ikke begrenset til, optiske isomerer av forbindelser av formel (I), racemater av denne og andre blandinger derav. I slike utførelsesformer, kan et enkelt enantiomer eller diastereomer, dvs. optisk aktiv form, oppnås ved asymmetrisk syntese eller ved gjenoppløsning av racematene. 20 Gjenoppløsning av racematene kan gjennomføres f.eks. ved bruk av konvensjonelle metoder, slik som krystallisering i nærvær av et gjenoppløsningsmiddel, eller kromatografi, f.eks. ved bruk av faste kiralfaser. Til tross for det foregående er konfigurasjonen av den illustrerte dobbeltbindingen i forbindelsene av formel (I) kun i E-konfigurasjonen (dvs. trans- 25 konfigurasjonen).

30 Forbindelser av formel (I) kan også forekomme i flere tautomere former, inkludert enolformen, ketoformen og blandinger derav. De kjemiske strukturene som beskrives i dette dokumentet, innbefatter følgelig alle mulige tautomere 35 former av de illustrerte forbindelsene. Forbindelser av formel (I) inkluderer også isotopt merkede forbindelser, hvor ett eller flere atomer har en atommasse forskjellig fra atommassen som vanligvis finnes i naturen. Eksempler på isotoper



som kan inkorporeres inn i forbindelsene som offentliggjøres i dette dokumentet, inkluderer, men er ikke begrenset til,  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$  osv. Forbindelser kan forekomme i ikke-oppløste former, samt oppløste former, inkludert hydrerte former og som N-oksider. Generelt kan forbindelsene som henvises til i dette dokumentet, være fri syre, hydrerte, oppløste eller N-oksider. Visse forbindelser kan forekomme i flere krystall-, co-krystall- eller amorfformer. Forbindelser av formel **(I)** inkluderer farmasøytisk akseptable salter derav, eller farmasøytisk akseptable løsninger av den frie syreformen av noen av de foregående, samt krystallformer av noen av de foregående.

Forbindelser av formel (I) inkluderer også oppløsninger. En oppløsning viser til et molekylkompleks av en forbindelse med ett eller flere løsningsmolekyler i en støkiometrisk eller ikke-støkiometrisk mengde. Slike løsemiddel-molekyler er de som vanlig anvendes i farmasøytisk teknikk, som er kjent for å være ufarlige for en pasient, f.eks. vann, etanol og lignende. Et molekylkompleks av en forbindelse eller halvdel av en forbindelse og et løsemiddel kan stabiliseres av ikke-kovalente intra-molekylære krefter, slik som f.eks. elektrostatiske krefter, van der Waals-krefter eller hydrogenbånd. Begrepet «hydrat» viser til en oppløsning i hvilken det ene eller flere av løsningsmolekylene er vann.

Når delvise strukturer av forbindelsene illustreres, indikerer videre en stjerne (\*) punktet for feste av den delvise strukturen til resten av molekylet.

«Sykloalkyl» viser til en mettet eller delvis umettet syklisk alkylradikal. Der et spesifikt metningsnivå er ment, brukes nomenklaturet sykloalkanyl eller sykloalkenyl. Eksempler på sykloalkylgrupper inkluderer, men er ikke begrenset til, grupper avledet fra syklopropan, syklobutan, syklopentan, sykloheksan og lignende. I visse utførelsesformer er en sykloalkylgruppe  $\text{C}_{3-15}$ -sykloalkyl,  $\text{C}_{3-12}$ -sykloalkyl og i visse utførelsesformer,  $\text{C}_{3-8}$ -sykloalkyl.

«Sykloalkyl» viser til en asyklisk alkylradikal, i hvilken ett av hydrogenatomene som binder til et karbonatom, vanligvis et terminal- eller  $\text{sp}^3$ -karbonatom, skiftes ut med en sykloalkylgruppe. Der spesifikke alkylhalvdeler er ment, brukes nomenklaturet sykloalkylalkanyl, sykloalkylalkenyl eller sykloalkylalkynyl. I visse utførelsesformer er en sykloalkylgruppe  $\text{C}_{4-30}$ -sykloalkylalkyl, f.eks. er alkanyl-, alkenyl- eller alkynylhalvdelen i sykloalkylgruppen  $\text{C}_{1-10}$  og sykloalkylhalvdelen er  $\text{C}_{3-20}$ , i visse utførelsesformer er en sykloalkylalkylgruppe

C<sub>3-20</sub>-sykloalkylalkyl, f.eks. er alkanyl-, alkenyl- eller alkynylhalvdelen av sykloalkylalkylgruppen C<sub>1-8</sub> og sykloalkylhalvdelen er C<sub>3-12</sub>. I visse utførelsesformer er en sykloalkylgruppe C<sub>4-12</sub>-sykloalkylalkyl.

5 «Sykdom» viser til en sykdom, lidelse, tilstand eller symptom på noen av de foregående.

10 «Legemiddel» som definert under 21 U.S.C. § 321 (g) (1) betyr «(A) artikler anerkjent i den offisielle amerikanske farmakopé, offisielle amerikanske homeopatiske farmakopé eller offisielle legemiddelhåndbok eller noe supplement til noen av disse; og (B) artikler ment for anvendelse i diagnosen, helbredelse, avhjelping, behandlingen eller forebygging av sykdom hos mennesket eller andre dyr; og (C) artikler (annet enn mat) ment å påvirke strukturen eller noen funksjon i kroppen til menneske eller andre dyr ...».

15 «Halogen» viser til en fluor-, klor-, brom- eller jodgruppe. I visse utførelsesformer viser halogen til en klorgruppe.

20 «Heteroalkyl» i seg selv eller som del av annen substituent, viser til en alkylgruppe hvor ett eller flere av karbonatomene (og visse tilknyttede hydrogenatomer) skiftes ut uavhengig med de samme eller forskjellige heteroatomgrupper. Eksempler på heteroatomgrupper inkluderer, men er ikke begrenset til -O-, -S-, -O-O-, -S-S-, -O-S-, -NR<sup>13</sup>, =N-N=, -N=N-, -N=N-NR<sup>13</sup>-PR<sup>13</sup>-, -P(O)<sub>2</sub>-, -POR<sup>13</sup>- -O-P(O)<sub>2</sub>-, -SO-, -SO<sub>2</sub>-, -Sn(R<sup>13</sup>)<sub>2</sub>- og lignende, hvor  
 25 hver R<sup>13</sup> velges uavhengig fra hydrogen, C<sub>1-6</sub>-alkyl, substituert C<sub>1-6</sub>-alkyl, C<sub>6-12</sub>-aryl, substituert C<sub>6-12</sub>-aryl, C<sub>7-18</sub>-arylalkyl, substituert C<sub>7-18</sub>-arylalkyl, C<sub>3-7</sub>-sykloalkyl, substituert C<sub>3-7</sub>-sykloalkyl, C<sub>3-7</sub>-heterosykloalkyl, substituert C<sub>3-7</sub>-heterosykloalkyl, C<sub>1-6</sub>-heteroalkyl, substituert C<sub>1-6</sub>-heteroalkyl, C<sub>6-12</sub>-heteroaryl, substituert C<sub>6-12</sub>-heteroaryl, C<sub>7-18</sub>-heteroarylalkyl eller substituert C<sub>7-18</sub>-heteroarylalkyl.  
 30 Henviing til f.eks. en C<sub>1-6</sub>-heteroalkyl, betyr en C<sub>1-6</sub>-alkylgruppe i hvilken i det minste ett av karbonatomene (og visse tilknyttede hydrogenatomer) skiftes ut med et heteroatom. C<sub>1-6</sub>-heteroalkyl inkluderer f.eks. grupper med fem karbonatomer og ett heteroatom, grupper med fire karbonatomer og to heteroatomer osv. I visse utførelsesformer velges hver R<sup>13</sup>  
 35 uavhengig fra hydrogen og C<sub>1-3</sub>-alkyl. I visse utførelsesformer velges en heteroatomgruppe fra -O-, -S-, -NH-, -N(CH<sub>3</sub>)- og -SO<sub>2</sub>-; og i visse utførelsesformer er heteroatomgruppen -O-.

«Heteroaryl» viser til en monovalent heteroaromatradikal avledet ved fjerningen av ett hydrogenatom fra et enkelt atom i et heteroaromatisk mor-ringsystem. Heteroaryl innbefatter flere ringsystemer med i det minste én heteroaromatisk ring fusjonert til minst én annen ring, som kan være aromatisk eller ikke-aromatisk. Heteroaryl innbefatter f.eks. bisykliske ringer i hvilken én ring er heteroaromatisk og den andre ringen er en heterosykloalkylring. For slike fusjonerte bisykliske heteroarylringssystemer hvori kun én av ringene inneholder ett eller flere heteroatomer, kan karbonradikalen være ved den aromatiske ringen eller ved heterosykloalkylringen. I visse utførelsesformer, når det samlede antallet N-, S- og O-atomer i heteroarylgruppen er større enn ett, er heteroatomene ikke ved siden av hverandre. I visse utførelsesformer er det samlede antallet heteroatomer i heteroarylgruppen ikke mer enn to.

Eksempler på heteroarylgrupper inkluderer, men er ikke begrenset til grupper avledet fra akridin, arsindol, karbazol,  $\beta$ -karbolin, kroman, kromen, cinnolin, furan, imidazol, indazol, indol, indolin, indolizin, isobenzofuran, isokromen, isoindol, isoindolin, isoquinolin, isotiazol, isoksazol, naftyridine, oksadiazol, oksazol, perimidin, fenantridin, fenantrolin, fenazin, ftalazin, pteridin, purin, pyran, pyrazin, pyrazol, pyridazin, pyridin, pyrimidin, pyrrol, pyrrolizin, quinazolin, quinolin, quinolizin, quinoksalin, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiofen, triazol, xanten, tiazolidin, oksazolidin og lignende. I visse utførelsesformer er en heteroarylgruppe fra 4- til 20-delt heteroaryl ( $C_{4-20}$ ) og i visse utførelsesformer fra 4- til 12-delt heteroaryl ( $C_{4-10}$ ). I visse utførelsesformer er heteroarylgruppene de som avledes fra tiofen, pyrrol, benzotiofen, benzofuran, indol, pyridin, quinolin, imidazol, oksazol eller pyrazin. I visse utførelsesformer kan  $C_5$ -heteroaryl f.eks. være furyl, tienyl, pyrrolyl, imidazolyl, pyrazolyl, isotiazolyl, isoksazolyl.

«Heterosykloalkyl» viser til en mettet eller umettet syklisk alkylradikal i hvilken ett eller flere karbonatomer (og visse tilknyttede hydrogenatomer) skiftes ut uavhengig med det samme eller forskjellig heteroatomet; eller til et aromatisk mor-ringsystem i hvilket ett eller flere karbonatomer (og visse tilknyttede hydrogenatomer) skiftes ut uavhengig med det samme eller forskjellig heteroatomet, slik at ringsystemet ikke lenger inneholder minst én aromatisk ring. Eksempler på heteroatomer til å skifte ut karbonatomet(-ene) med inkluderer, men er ikke begrenset til, N, P, O, S, Si osv. Eksempler på heterosykloalkylgrupper inkluderer, men er ikke begrenset til, grupper avledet fra epoksider, aziriner, tiiraner, imidazolidin, morfolin, piperazin,

piperidin, purazolidin, purrolidin, quinuclidin og lignende. I visse utførelsesformer er en heterosykloalkylgruppe C<sub>5-10</sub>-heterosykloalkyl, C<sub>5-8</sub>-heterosykloalkyl og i visse utførelsesformer, C<sub>5-6</sub>-heterosykloalkyl.

5 «Avgangsgruppe» har den betydning som vanligvis forbundet med begrepet i syntetisk organisk kjemi, dvs. et atom eller en gruppe som har kapasitet til omplussing av en nukleofil, og inkluderer halogen, slik som klor, brom, fluor og jod, acyloksy (alkoksykarbonyl), slik som acetoksy og benzoyloksy, aryloksykarbonyl, mesyloksy, tosyloksi, trifluormetansulfonyloksy, aryloksy, 10 slik som 2,4-dinitrofenoksy, metoksy, *N*, *O*-dimetylhydroksylamino, *p*-nitrofenolat, imidazolyl og lignende.

«Aromatisk mor-ringsystem» viser til et umettet syklisk eller polysyklisk ringsystem med et konjugert  $\pi$  (pi)-elektronsystem. Inkludert innenfor definisjonen av 15 «aromatisk mor-ringsystem» er fusjonerte ringsystemer i hvilke én eller flere ringer er aromatiske og én eller flere av ringene er mettet eller umettet, slik som f.eks. fluoren, indan, inden, fenalen osv. Eksempler på aromatiske mor-ringsystemer inkluderer, men er ikke begrenset til, aceantrylen, acenaftylen, acefenantrylen, antracen, azulen, benzen, krysen, koronen, fluoranten, fluoren, 20 heksasen, heksafen, heksalen, *as*-indacen, *s*-indacen, indan, inden, naftalen, oktasen, oktafen, oktalen, ovalen, penta-2,4-dien, pentasen, pentalen, pentafen, perylen, fenalen, fenantrene, picen, pleiaden, pyren, pyrantren, rubicen, trifenylen, trinaftalene og lignende.

25 «Heteroaromatisk mor-ringsystem» viser til et aromatisk ringsystem i hvilket ett eller flere karbonatomer (og ethvert tilknyttet hydrogenatom) skiftes ut uavhengig med det samme eller et forskjellig heteroatom på en slik måte at det fortløpende  $\pi$ -elektronsystemet karakteristisk for aromatiske systemer og en rekke utenfor-planet  $n$ -elektroner tilsvarende Hückel-regelen ( $4n + 2$ ) 30 opprettholdes. Eksempler på heteroatomer til utskifting av karbonatomene inkluderer, men er ikke begrenset til N, P, O, S og Si osv. Spesifikt inkludert i definisjonen av «heteroaromatisk mor-ringsystem», er fusjonerte ringsystemer i hvilke én eller flere av ringene er aromatiske og én eller flere av ringene er mettede eller umettede, slik som f.eks. arsindol, benzodiksan, benzofuran, 35 kroman, kromen, indol, indolin, xanten osv. Eksempler på heteroaromatisk mor-ringsystemer inkluderer, men er ikke begrenset til, arsindol, karbazol,  $\beta$ -karbolin, kroman, kromen, cinnolin, furan, imidazol, indazol, indol, indolin,

indolizin, isobenzofuran, isokromen, isoindol, isoindolin, isoquinolin, isotiazole, isoksazol, naftyridin, oksadiazol, oksazol, perimidin, fenantridin, fenantrolin, fenazin, ftalazin, pteridin, purin, pyran, pyrazin, pyrazol, pyridazin, pyridin, pyrimidin, pyrrol, pyrrolizin, quinazolin, quinolin, quinolizin, quinoksalin, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiofen, triazol, xanten, tiazolidin, oksazolidin og lignende.

«Pasient» viser til et pattedyr, f.eks. et menneske.

«Farmasøytisk akseptabel» viser til godkjent eller godkjennbar av en føderal eller statlig reguleringsmyndighet eller oppført i Den amerikanske farmakopé eller en annen generelt anerkjent farmakopé for anvendelse hos pattedyr, og nærmere bestemt hos mennesker.

«Farmasøytisk akseptabelt salt» viser til et salt av en forbindelse som har den ønskede farmakologiske aktiviteten til morforbindelsen. Slike salter inkluderer syretilsetningssalter dannet med uorganiske syrer, slik som hydroklorisyre, hydrobromsyre, svovelsyre, salpetersyre, fosforsyre og lignende; eller dannet med organiske syrer, slik som eddiksyre, propionsyre, heksansyre, syklopentanpropionsyre, glykolsyre, pyrodruesyre, melkesyre, malonsyre, ravsyre, maleinsyre, fumarinsyre, visyre, sitronsyre, benzoinisyre, 3-(4-hydroksybenzoyl) benzoinisyre, kanelsyre, mandelsyre, metansvovelsyre, etansvovelsyre, 1,2-etanedisulfonsyre, 2-hydroksyetansulfonsyre, benzensulfonsyre, 4-klorbensensulfonsyre, 2-naftalensulfonsyre, 4-toluenesulfonsyre, kamfersulfonsyre, 4-metylbisyklo[2.2.2]-okt-2-en-1-karboksylysyre, glukohheptonsyre, 3-fenylpropionsyre, trimetyleddiksyre, tertiær butyleddiksyre, laurylsvovelsyre, glukonsyre, glutaminsyre, hydroksynaftoinsyre, salisylysyre, stearinsyre, mukonsyre og lignende; og salter dannet når et syreproton i nærvær av morforbindelsen skiftes ut med et metallion, f.eks. et alkalmetallion, et alkalisk jordion eller et aluminiumion; eller koordinater med en organisk base, slik som etanolamin, dietanolamin, trietanolamin, *N*-metylglukamin og lignende. I visse utførelsesformer er et farmasøytisk akseptabelt salt hydrokloridsaltet. I visse utførelsesformer er et farmasøytisk akseptabelt salt natriumsaltet.

«Farmasøytisk akseptabelt bindemiddel» viser til et farmasøytisk akseptabelt fortynningsmiddel, en farmasøytisk akseptabel adjuvant, et farmasøytisk akseptabelt bæremiddel, en farmasøytisk akseptabel bærer eller en kombinasjon av enhver av foregående med hvilken en forbindelse tilveiebragt av oppfinnelsen

i dette dokumentet, kan administreres til en pasient og som ikke ødelegger den farmakologiske aktiviteten derav og som er ikke-toksisk når administrert i doser tilstrekkelig til å tilføre en terapeutisk effektiv mengde av forbindelsen.

5 «Farmasøytisk sammensetning» viser til en forbindelse av formel (I) og minst ett farmasøytisk akseptabelt bindemiddel, med hvilken forbindelsen av formel (I) administreres til en pasient.

10 «Substituert» viser til en gruppe i hvilken ett eller flere hydrogenatomer skiftes ut uavhengig med den samme eller substituerende gruppe(r). I visse utførelsesformer velges hver substitueringsgruppe uavhengig fra halogen, -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, =O, -NO<sub>2</sub>, benzyl, -C(O)NH<sub>2</sub>, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup>, -C(O)R<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver R<sup>11</sup> velges uavhengig fra hydrogen og C<sub>1-4</sub>-alkyl. I visse utførelsesformer velges hver substitueringsgruppe uavhengig fra halogen, -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, benzyl, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver R<sup>11</sup> velges uavhengig fra hydrogen og C<sub>1-4</sub>-alkyl. I visse utførelsesformer velges hver substitueringsgruppe uavhengig fra halogen, -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, =O, -NO<sub>2</sub>, benzyl, -C(O)NH<sub>2</sub>, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup>, -C(O)R<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver R<sup>11</sup> velges uavhengig fra hydrogen og C<sub>1-4</sub>-alkyl. I visse utførelsesformer velges hver substitueringsgruppe uavhengig fra -OH, C<sub>1-4</sub> alkyl og -NH<sub>2</sub>.

20 «Behandle» eller «behandling» av en hvilken som helst sykdom viser til reversering, lindring, arrest eller endring av en sykdom eller i det minste ett av de kliniske symptomene på en sykdom, reduksjon av risikoen for å få en sykdom eller i det minste ett av de kliniske symptomene på en sykdom, inhibering av progresjonen av en sykdom eller minst ett av de kliniske symptomene på sykdommen eller reduksjon av risikoen for å utvikle en sykdom eller i det minste ett av de kliniske symptomene på en sykdom. «Behandle» eller «behandling» viser også til inhibering av sykdommen, enten fysisk (f.eks. stabilisering av et observerbart symptom), fysiologisk (f.eks. stabilisering av en fysisk parameter) eller begge, og inhibering av minst én fysisk parameter som kan eller ikke kan være observerbar for pasienten. I visse utførelsesformer viser «behandle» eller «behandling» til forsinkelse av utvikling av sykdommen eller minst ett eller flere symptomer derav hos en pasient som kan eksponeres for eller er predisponert for en sykdom selv om den pasienten ikke enda opplever eller viser symptomer på sykdommen.

35

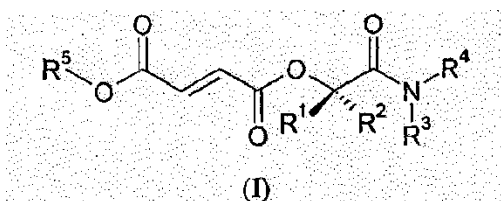
«Terapeutisk effektiv mengde» viser til mengden av en forbindelse som, når administrert til et subjekt for behandling av en sykdom, eller i det minste ett av de kliniske symptomene på en sykdom, er tilstrekkelig til å bevirke slik behandling av sykdommen eller symptomene derpå. Den «terapeutisk effektive mengden» kan variere, avhengig f.eks. av forbindelsen, sykdommen og/eller symptomene på sykdommen, alvorsgraden av sykdommen og/eller symptomene på sykdommen eller lidelsen, alderen, vekten og/eller helsen til pasienten som skal behandles og vurderingen til den foreskrivende legen. En passende mengde i ethvert gitt tilfelle kan fastsettes av de med ferdigheter i faget eller som kan bestemme dette ved rutinemessig eksperimentering.

«Terapeutisk effektiv dose» viser til en dose som gir effektiv behandling av en sykdom eller lidelse hos en pasient. En terapeutisk effektiv dose kan variere fra forbindelse til forbindelse, og fra pasient til pasient og kan avhenge av slike faktorer som tilstanden til pasienten og leveringsmåte. En terapeutisk effektiv dose kan fastsettes i henhold til rutinemessige farmakologiske prosedyrer kjent for de med ferdigheter i faget.

Det vises nå i detalj til visse utførelsesformer av forbindelser, sammensetninger og metoder. De offentliggjorte utførelsesformene er ikke ment å være begrensende for patentkravene. Tvert imot er patentkravene ment å dekke alle alternativer, modifikasjoner og ekvivalenter.

### Forbindelser

I dette dokumentet beskrives en forbindelse med formel (I):



eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvori:

R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> velges uavhengig fra hydrogen, C<sub>1-6</sub>-alkyl og substituert C<sub>1-6</sub>-alkyl;

R<sup>3</sup> og R<sup>4</sup> velges uavhengig fra hydrogen, C<sub>1-6</sub>-alkyl; substituert C<sub>1-6</sub>-alkyl, C<sub>1-6</sub>-heteroalkyl, substituert C<sub>1-6</sub>-heteroalkyl, C<sub>4-12</sub>-sykloalkylalkyl, substituert C<sub>4-12</sub>-sykloalkylalkyl, C<sub>7-12</sub>-arylalkyl og substituert C<sub>7-12</sub>-arylalkyl; eller R<sup>3</sup> og R<sup>4</sup>

sammen med nitrogenet som de er bundet til, danner en ring valgt fra en C<sub>5-10</sub>-heteroaryl, substituert C<sub>5-10</sub>-heteroaryl, C<sub>5-10</sub>-heterosykloalkyl og substituert C<sub>5-10</sub>-heterocycloalkyl; og

R<sup>5</sup> er metyl;

5 hvori hver substitueringsgruppe velges uavhengig fra halogen, -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, =O, -NO<sub>2</sub>, benzyl, -C(O)NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup>, -C(O)R<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver R<sup>11</sup> velges uavhengig fra hydrogen og C<sub>1-4</sub>-alkyl.

10 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** velges hver substitueringsgruppe uavhengig fra halogen, -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver R<sup>11</sup> velges uavhengig fra hydrogen og C<sub>1-4</sub>-alkyl. I visse utførelsesformer velges hver substitueringsgruppe uavhengig fra -OH og -COOH.

15 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** velges hver substitueringsgruppe uavhengig fra =O, C<sub>1-4</sub>-alkyl og -COOR<sup>11</sup> hvori R<sup>11</sup> velges fra hydrogen og C<sub>1-4</sub>-alkyl.

20 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er hver av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> hydrogen.

I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er én av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> hydrogen og den andre av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> er C<sub>1-4</sub>-alkyl.

25 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er én av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> hydrogen og den andre av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> velges fra metyl, etyl, *n*-propyl, isopropyl, *n*-butyl, isobutyl, *sek*-butyl og *tert*-butyl.

30 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er én av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> hydrogen og den andre av R<sup>2</sup> og R<sup>2</sup> er metyl.

I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** velges R<sup>3</sup> og R<sup>4</sup> uavhengig fra hydrogen og C<sub>1-6</sub>-alkyl.

35 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** velges R<sup>3</sup> og R<sup>4</sup> uavhengig fra hydrogen og C<sub>1-4</sub>-alkyl.



I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** velges  $R^3$  og  $R^4$  uavhengig fra hydrogen, metyl og etyl.

5 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er hver av  $R^3$  og  $R^4$  hydrogen; i visse utførelsesformer er hver av  $R^3$  og  $R^4$  metyl; og i visse utførelsesformer er hver av  $R^3$  og  $R^4$  etyl.

10 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er  $R^3$  hydrogen; og  $R^4$  velges fra  $C_{1-4}$ -alkyl, substituert  $C_{1-4}$ -alkyl, hvori substitueringgruppen velges fra =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver  $R^{11}$  velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl.

15 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er  $R^3$  hydrogen; og  $R^4$  velges fra  $C_{1-4}$ -alkyl, benzyl, 2-metoksyetyl, karboksymetyl, karboksypropyl, 1,2,4-tiadoksolyl; metoksy, 2-metoksykatonyl, 2-okso(1,3-oksazolidinyl), 2-(metyletoksy)etyl, 2-etoksyetyl, (tert-butylloksykarbonyl)metyl, (etoksykarbonyl)metyl, karboksymetyl, (metyletyl)oksykarbonylmetyl og etoksykarbonylmetyl.

20 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** danner  $R^3$  og  $R^4$ , sammen med nitrogenet de er bundet til, en ring valgt fra en  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-, substituert  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-,  $C_{5-6}$  -heteroaryl- og substituert  $C_{5-6}$ -heteroarylring. I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** danner  $R^3$  og  $R^4$ , sammen med nitrogenet de er bundet til, en ring valgt fra en  $C_5$ -heterosykloalkyl-, substituert  $C_5$ -heterosykloalkyl-,  $C_5$  -heteroaryl- og substituert  $C_5$ -heteroarylring. I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** danner  $R^3$  og  $R^4$ , sammen med nitrogenet de er bundet til, en ring valgt fra en  $C_6$ -heterosykloalkyl-, substituert  $C_6$ -heterosykloalkyl-,  $C_6$  -heteroaryl- og substituert  $C_6$ -heteroarylring. I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** danner  $R^3$  og  $R^4$ , sammen med nitrogenet de er bundet til, en ring valgt fra pierazin-, 1,3-okasolidinyl-, pyrrolidin- og morfolinring.

25  
30

I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** danner  $R^3$  og  $R^4$ , sammen med nitrogenet de er bundet til, en  $C_{5-10}$ -heterosykloalkylring.

35

$R^5$  er metyl.

I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  er  $C_{1-6}$ -alkyl;  $R^3$  er hydrogen;  $R^4$  velges fra hydrogen,  $C_{1-6}$ -alkyl og benzyl.

5 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  er  $C_{1-6}$ -alkyl;  $R^3$  er hydrogen;  $R^4$  velges fra hydrogen,  $C_{1-6}$ -alkyl og benzyl; og  $R^5$  er metyl.

10 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra  $C_{1-6}$ -alkyl; og hver av  $R^3$  og  $R^4$  er  $C_{1-6}$ -alkyl.

15 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-6}$ -alkyl; hver av  $R^3$  og  $R^4$  er  $C_{1-6}$ -alkyl; og  $R^5$  er metyl. I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)**, er hver av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen; hver av  $R^3$  og  $R^4$  er  $C_{1-6}$ -alkyl; og  $R^5$  er metyl.

20 I visse utførelseformer av en forbindelse av formel **(I)** er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl;  $R^3$  er hydrogen;  $R^4$  velges fra  $C_{1-4}$ -alkyl, substituert  $C_{1-4}$ -alkyl, hvori substitueringsgruppen velges fra =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver R<sup>11</sup> velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl; og  $R^5$  er metyl. I visse utførelseformer av en forbindelse av formel **(I)** er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  er metyl;  $R^3$  er hydrogen;  $R^4$  velges fra  $C_{1-4}$ -alkyl, substituert  $C_{1-4}$ -alkyl, hvori substitueringsgruppen velges fra =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver R<sup>11</sup> velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl; og  $R^5$  er metyl. I visse utførelseformer av en forbindelse av formel **(I)** er hver av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen;  $R^3$  er hydrogen;  $R^4$  velges fra  $C_{1-4}$ -alkyl, substituert  $C_{1-4}$ -alkyl, hvori substitueringsgruppen velges fra =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver R<sup>11</sup> velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl; og  $R^5$  er metyl.

30 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** danner  $R^3$  og  $R^4$ , sammen med nitrogenet de er bundet til, en  $C_{5-10}$ -heterosykloalkylring.

35 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er én av  $R^1$  og  $R^2$  hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-6}$ -alkyl;  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra en  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-, substituert  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-,  $C_{5-6}$ -heteroaryl- og  $C_{5-6}$ -heteroarylring; og  $R^5$  er

- metyl. I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er én av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> hydrogen og den andre av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> er metyl; R<sup>3</sup> og R<sup>4</sup>, sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra en C<sub>5-6</sub>-heterosykloalkyl-, substituert C<sub>5-6</sub>-heterosykloalkyl-, C<sub>5-6</sub>-heteroaryl- og substituert C<sub>5-6</sub>-heteroarylring; og R<sup>5</sup> er metyl.
- 5 metyl. I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er hver av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> hydrogen, R<sup>3</sup> og R<sup>4</sup>, sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra en C<sub>5-6</sub>-heterosykloalkyl-, substituert C<sub>5-6</sub>-heterosykloalkyl-, C<sub>5-6</sub>-heteroaryl- og substituert C<sub>5-6</sub>-heteroarylring; og R<sup>5</sup> er metyl.
- 10 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er én av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> hydrogen og den andre av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> velges fra hydrogen og C<sub>1-6</sub>-alkyl; og R<sup>3</sup> og R<sup>4</sup>, sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra morfolin, piperazin og *N*-substitutert piperazin.
- 15 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** er én av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> hydrogen og den andre av R<sup>1</sup> og R<sup>2</sup> velges fra hydrogen og C<sub>1-6</sub>-alkyl; R<sup>3</sup> og R<sup>4</sup>, sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra morfolin, piperazin og *N*-substitutert piperazin; og R<sup>5</sup> er metyl.
- 20 I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** R<sup>1</sup> er hydrogen og i visse utførelsesformer er R<sup>2</sup> hydrogen.
- I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** velges forbindelsen fra:
- (*N,N*-dietylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;
- 25 metyl [*N*-benzylkarbamoyl]metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;
- metyl 2-morfolin-4-yl-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;
- (*N*-butylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;
- [*N*-(2-metoksyetyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;
- 2-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksylacetylamino]}eddiksyre;
- 30 4-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksyl]acetylamino};smørsyre;
- metyl(*N*-(1,3,4-tiadiazol-2yl)karbamoyl)metyl(2E)but-2-en-1,4-dioat;
- (*N,N*-dimetylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;
- (*N*-metoksy-*N*-metylkarbamoyl)metylmetyl(2E)but-2-en-1,4-dioat; bis-(2-
- metoksyetylamino)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;
- 35 [*N*-(metoksykarbonyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;
- 4-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksyl]acetylamino};smørsyre, natriumsalt;

- metyl 2-okso-2-piperazinyetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 metyl 2-okso-2-(2-okso(1,3-oksazolidin-3yl)etyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 {N-[2-(dimetylamino)etyl]karbamoyl}metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 metyl 2-(4-metyl piperazinyl)-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 5 metyl {N-[(propylamino)karbonyl]karbamoyl}metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 2-((4-acetyl piperazinyl)-2-oksoetyl)metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 {N,N-bis[2-(metyletoksy)etyl]karbamoyl}metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 metyl 2-(4-benzyl piperazinyl)-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 [N,N-bis(2-etoksyetyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 10 2-(((2S)-2-[(tert-butyl)oksykarbonyl]pyrrolidiny])-2-oksoetyl)metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 1-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]acetyl}(2S)pyrrolidin-2-karboksylysyre;  
 (N-{[(tert-butyl)oksykarbonyl]metyl}-N-metylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 15 {N-[(etoksykarbonyl)metyl]-N-metylkarbamoyl}metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 metyl 1-metyl-2-morfolin-4-yl-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 [N,N-bis(2-metoksyetyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 20 (N,N-dimetylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 2-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksyl]-N-metylacetylamino}eddiksyre;  
 (N-[[tert-butyl)oksykarbonyl]metyl]karbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 25 metyl (N-metyl-N-[[metyletyl)oksykarbonyl]metyl]karbamoyl)metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 {N-[(etoksykarbonyl)metyl]-N-benzylkarbamoyl}metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 {N-[(etoksykarbonyl)metyl]-N-benzylkarbamoyl}etyl)metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 30 {N-[(etoksykarbonyl)metyl]-N-metylkarbamoyl}etyl)metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 (1S)-1-metyl-2-morfolin-4-yl-2-oksoetyl)metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 (1S)-1-[N,N-bis(2-metoksyetyl)karbamoyl]etyl)metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 35 (1R)-1-(N,N-dietylkarbamoyl)etyl)metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat; og  
 et farmasøytisk akseptabelt salt av noen av de foregående.

I visse utførelsesformer av en forbindelse av formel **(I)** velges forbindelsen fra:

(*N,N*-dietylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl [*N*-benzylkarbamoyl]metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl 2-morfolin-4-yl-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

5 (*N*-butylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

[*N*-(2-metoksyetyl)karbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

2-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]acetylamino}eddiksyre;

4-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]acetylamino}; smørsyre;

metyl(*N*-(1,3,4-tiadiazol-2yl)karbamoyl)metyl(2E)but-2-en-1,4-dioat;

10 (*N,N*-dimetylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

(*N*-metoksy-*N*-metylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

bis-(2-metoksyetylamino)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

[*N*-(metoksykarbonyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl 2-okso-2-piperazinyletyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

15 metyl 2-okso-2-(2-okso(1,3-oksazolidin-3yl)etyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

{*N*-[2-(dimetylamino)etyl]karbamoyl}metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

(*N*-[(metoksykarbonyl)etyl]karbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

2-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]acetylamino}propionsyre, og et farmasøytisk akseptabelt salt av noen av de foregående.

20

I visse utførelseformer av en forbindelse av formel **(I)** velges R<sup>3</sup> og R<sup>4</sup> uavhengig fra hydrogen, C<sub>1-6</sub>-alkyl, substituert C<sub>1-6</sub>-alkyl, C<sub>6-10</sub>-aryl, substituert C<sub>6-10</sub>-aryl, C<sub>4-12</sub>-sykloalkylalkyl, substituert C<sub>4-12</sub>-sykloalkylalkyl, C<sub>7-12</sub>-arylalkyl, substituert C<sub>7-12</sub>-arylalkyl, C<sub>1-6</sub>-heteroalkyl, substituert C<sub>1-6</sub>-heteroalkyl, C<sub>6-10</sub>-heteroaryl, substituert C<sub>6-10</sub>-heteroaryl, C<sub>4-12</sub>-heterosykloalkylalkyl, substituert C<sub>4-12</sub>-heterosykloalkylalkyl, C<sub>7-12</sub>-heteroarylalkyl, substituert C<sub>7-12</sub>-heteroarylalkyl; eller R<sup>3</sup> og R<sup>4</sup>, sammen med nitrogenet de er bundet til, danner er ring valgt fra en C<sub>5-10</sub>-heteroaryl-, substituert C<sub>5-10</sub>-heteroaryl-, C<sub>5-10</sub>-heterosykloalkyl- og substituert C<sub>5-10</sub>-heterosykloalkyl.

30

### Syntese

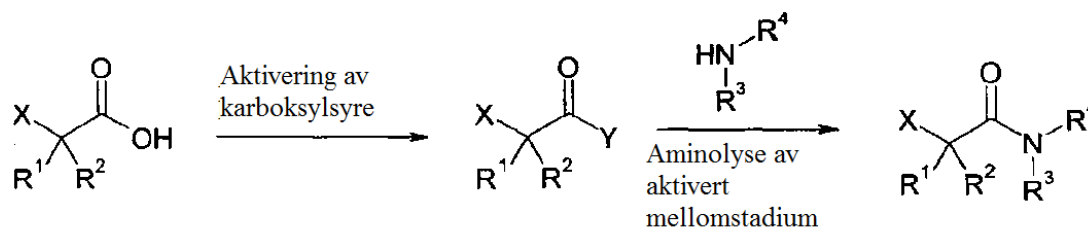
Forbindelser som offentliggjøres i dette dokumentet, kan oppnås *via* de syntetiske metodene illustrert i skjema 1 til og med 9. Generelle syntetiske metoder nyttige i syntesen av forbindelser som beskrives i dette dokumentet, er tilgjengelig i faget. Startmaterialer nyttige for tilberedningen av forbindelser og mellomstadier av disse og/eller gjennomføringsmetoder som beskrives i dette dokumentet, er

35

kommersielt tilgjengelige eller kan tilberedes ved bruk av velkjente syntetiske metoder. Metodene som presenteres i skjemaene tilveiebragt i offentliggjøringen i dette dokumentet, er illustrerende heller enn uttømmende. Det vil være klart for de med ferdigheter i faget at mange modifikasjoner, både av materialer og metoder, kan praktiseres uten avvik fra offentliggjøringens omfang.

Visse av de ikke-substituerte, 1-mono-substituerte eller 1,1-bis-substituerte haloacetamidene nyttige for tilberedning av forbindelser av formel **(I)**, er tilgjengelig fra kommersielle kilder. Ikke-kommersielt tilgjengelig ikke-substituert, 1-mono-substituerte eller 1,1-bis-substituerte haloacetamider nyttige for tilberedningen av forbindelser av formel **(I)** og mellomstadier derav, kan tilberedes ved bruk av velkjente syntetiske metoder, slik som dem som beskrives i skjema 1 og 2.

Funksjonaliserte 1-haloacetamider nyttige i tilberedningen av MHF-acetamidpromedikamenter av formel **(I)**, kan tilberedes ifølge skjema 1:



Skjema 1

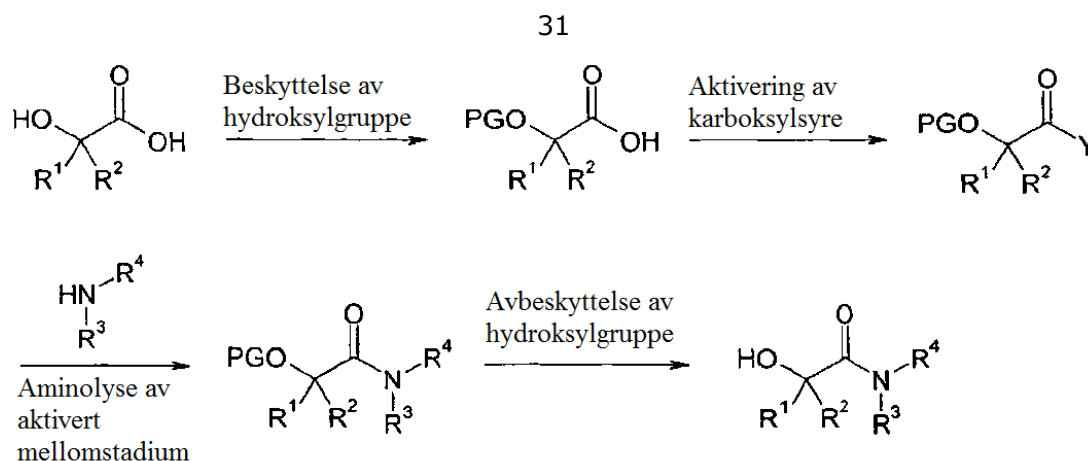
hvor X og Y er avgående grupper, slik som halogen og  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  og  $R^4$  er som definert i dette dokumentet. I visse utførelsesformer av skjema 1 er X klor og Y er klor eller en *O*-acylisourea.

Kjemisk aktivering av karboksylsyren til det korresponderende karboksylsyrekloret, som vist i skjema 1, kan oppnås ved reaksjon med kloreringsmidler, slik som tionylklorid ( $\text{SOCl}_2$ ), oksalyklorid ( $\text{C}_2\text{O}_2\text{Cl}_2$ ) eller fosforpentaklorid ( $\text{PCl}_5$ ), alternativt i nærvær av en egnet katalysator, slik som *N,N*-dimetylformamid (DMF) og enten i substans (fravær av løsningsmiddel) eller i et inaktivt løsningsmiddel, slik som diklormetan (DCM) ved en egnet temperatur, slik som fra omtrent 0 °C til omtrent 70 °C. Kjemisk aktivering av karboksylsyren kan gjennomføres *in situ* og uten isolering av det aktiverte substratet før de følgende aminolysetrinnene. Den aktiverte karboksylsyren kan alternativt isoleres og/eller renses ved anvendelse av metoder som er velkjente i faget, dvs. fraksjonsdestillasjon.

Karbodiimiddehydreringsmidler, slik som *N,N*-diisopropylkarbodiimid (DIC), *N,N'*-disykloheksylkarbodiimid (DCC) eller 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl) karbodiimid (EDAC, EDC), alternativt i nærvær av en katalyserende eller støkiometrisk mengde av en egnet tilsetning, slik som 4-(*N,N*-dimetylaminopyridin (DMAP) (*Steglich*-esterifiseringsbetingelser), 1-hydroksybenzotriazol (HOBt), 1-hydroksy-7-aza-benzotriazol (HOAt) eller *N*-hydroksysukinimid (NHS); uronium- eller fosfoniumsalter med ikke-nukleofile anioner, slik som *N*-[(1*H*-benzotriazol-1-yl)(dimetylamino)metylen]-*N*-metylmetanaminium heksafluorofosfat (HBTU), *N*-[(dimetylamino)-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]pyridin-1-ylmetylen]-*N*-metylmetanaminiumheksafluorofosfat *N*-oksid (HATU), *N*-[(1*H*-benzotriazol-1-yl)(dimetylamino)metylen]-*N*-metylmetanaminiumtetrafluoroborat (TBTU) eller benzotriazol-1-yl-oksytripyrrolidinofosfoniumheksafluorofosfat (PyBOP), kan tas i bruk for dannelse av en aktivert karboksylsyreavledning. Organiske, tertiære baser, slik som trietylamin (TEA) eller diisopropyletylamin (DIEA) kan også tas i bruk. Dannelsen av den aktiverte karboksylsyreavledningen kan finne sted i et inaktivt løsemiddel, slik som diklormetan (DCM), *N,N*-dimetylformamid (DMF), *N*-metylpyrrolidon (NMP), *N,N*-dimetylacetamid (DMA, DMAc) eller blandinger av noen av de foregående ved en passende temperatur, slik som fra omtrent 0 °C til omtrent 40 °C.

Aminolyse av *in situ*-genererte eller isolasjonsaktiverte karboksylsyreavledninger med den passende funksjonaliserte aminavledningen ( $\text{HNR}^3\text{R}^4$ ) (skjema 2) kan finne sted i nærvær av en egnet base, slik som en organisk tertiær base, dvs. trietylamin (TEA), dietylamoetylamin (DIEA), pyridin eller blandinger av noen av de foregående, alternativt i nærvær av egnede tilsetninger, slik som nukleofilacetyleringskatalysatorer, dvs. 4-(*N,N*-dimetylaminopyridin (DMAP), og i det samme eller annet inaktivt løsemiddel som anvendt for aktiveringstrinnet, slik som diklormetan (DCM), *N,N*-dimetylformamid (DMF), *N*-metylpyrrolidon (NMP), *N,N*-dimetylacetamid (DMA, DMAc) eller blandinger av noen av de foregående, ved en passende temperatur, slik som fra omtrent 0 °C til omtrent 70 °C.

Funksjonaliserte 1-hydroksyacetamider nyttige i tilberedningen av MHF-acetamidpromedikamenter av formel **(I)**, kan tilberedes ifølge skjema 2:



hvor PG er en hydroksylbeskyttelsesgruppe; Y en avgangsgruppe, slik som klor eller en *O*-isoureaavledet radikal; og R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> og R<sup>4</sup> er som definert i dette dokumentet.

5

Visse av de funksjonaliserte og aktiverte 1-hydroksyeddiksyreavledningene er kommersielt tilgjengelige, dvs. benzyloksyeddiksyre og *tert*-butyloksymelkesyre. Metoder for introduksjon av hydroksylbeskyttende grupper (PG-er) er velkjent i faget. Nyttige beskyttelsesgrupper for midlertidig blokkering av hydroksylgruppen med funksjonaliserte 1-hydroksyeddiksyre inkluderer visse alkylter, slik som (substituerte) benzylketere, *tert*-butyletere, trityleter eller forskjellige silyletere, slik som *tert*-butyldimetylsilyleter, triisopropylsilyleter eller *tert*-butyldifenylsilyleter.

10

Visse beskyttede, funksjonaliserte og aktiverte 1-hydroksyeddiksyreavledninger er kommersielt tilgjengelige, dvs. benzyloksacetylkorid. Den kjemiske aktiveringen av den beskyttede og funksjonaliserte 1-hydroksyeddiksyreavledningen til den tilsvarende aktiverte karboksylsyreavledningen, dvs. karboksylsyrekloridet, *O*-acylisourea, aktiverte estere osv., kan alternativt oppnås ved anvendelse av lignende reaksjonsprosedyrer og -betingelser som de beskrevet i skjema 1 for aktivering av funksjonaliserte 1-haloeddiksyreavledninger.

15

20

Aminolyse av *in situ*-genererte eller -isolerte beskyttede, funksjonaliserte og aktiverte 1-hydroksyeddiksyreavledninger med funksjonaliserte aminer (HNR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>) kan finne sted ved anvendelse av lignende reaksjonsprosedyrer og -betingelser som de beskrevet i skjema 1 for aminolysen av funksjonaliserte, beskyttede og aktiverte 1-haloeddiksyreavledninger.

25

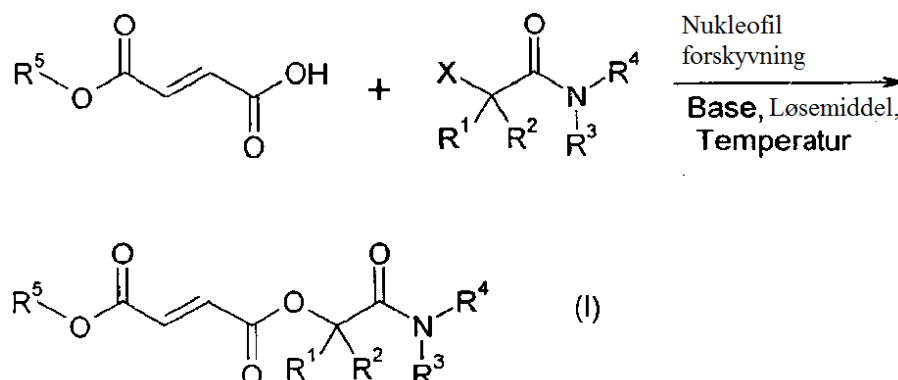


Ortogonal (eller ordnet) avbeskyttelse av den beskyttede 1-hydroksyeddiksyreavledningen frigjør den tilsvarende frie hydroksylgruppen. Avbeskyttelsesmetoder, -prosedyrer og -praksiser er velkjente i faget.

- 5 I visse utførelsesformer kan beskyttelsesgruppen være en alkylgruppe, slik som en tert-butylgruppe. Avbeskyttelse kan gjennomføres ved å sette en tert-butylbeskyttet funksjonalisert 1-hydroksyacetiavledning i kontakt med en overdrevet mengde sterk Brønsted-syre, slik som trifluoreddiksyre (TFA) eller hydrogenklorid (HCl) i et inaktivt løsemiddel, slik som diklormetan (DCM),  
 10 dietyleter (Et<sub>2</sub>O), 1,4-dioksan eller blandingen av noen av de foregående, ved passende temperaturer, slik som fra omtrent 0 °C til omtrent 40 °C.

- I visse utførelsesformer kan beskyttelsesgruppen velges fra en alkylgruppe, slik som en benzylgruppe. Når beskyttelsesgruppen er en benzylgruppe, kan  
 15 avbeskyttelse gjennomføres ved reaksjon av den funksjonaliserte 1-hydroksyacetiavledningen med hydrogen (H<sub>2</sub>) i nærvær av en heterogen katalysator, dvs. 5–10 vektprosent palladium på (aktivert eller våt kull) i en løsning, slik som metanol (MeOH), etanol (EtOH), etylacetat (EtOAc) eller blandinger av noen av de foregående, alternativt i nærvær av en liten  
 20 mengde aktivator, slik som 1 N vandig hydroklorisyre ved en passende temperatur, slik som fra omtrent 0 °C til omtrent 40 °C og under en hydrogenatmosfære ved et trykk på omtrent 15 psi til omtrent 60 psi.

- Acetamid-MHF-promedikamenter av formel **(I)** kan tilberedes i henhold til  
 25 skjema 3:

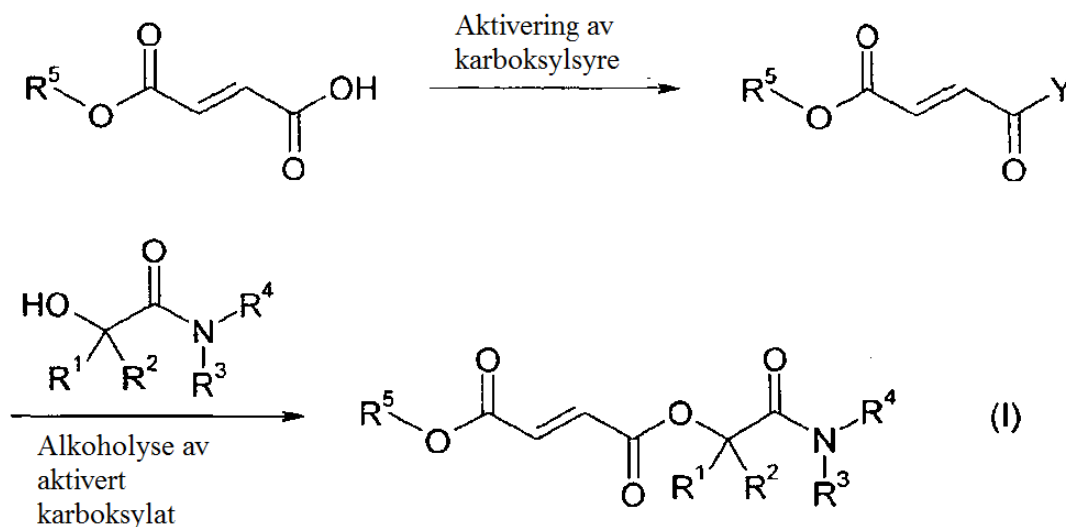


Skjema 3

hvor X og Y er avgående grupper, slik som halogen, og R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> og R<sup>5</sup> er som definert i dette dokumentet. I visse utførelsesformer av skjema 3 er X klor og R<sup>5</sup> er alkyl, slik som metyl.

- 5 Nukleofil forskyvning av monoalkylfumarsyren med den funksjonaliserte 1-haloacetamiden (skjema 1), som vist i skjema 3, kan finne sted i nærvær av en uorganisk base, slik som et alkalikarbonat, slik som cesiumhydrogenkarbonat (CsHCO<sub>3</sub>), cesiumkarbonat (Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) eller kaliumkarbonat (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Alternativt kan det anvendes andre organiske tertiære baser, slik som trietylamin (TEA),  
 10 diisopropyletylamin (DIEA) eller amidin; guanidinbaserte baser, slik som 1,5-diazabisyklo[4.3.0]non-5-en (DBN) eller 1,8-diazabisyklo[5.4.0]undec-7-en (DBU), 1,1,3,3-tetrametylguanidin (TMG); sølvsalter, slik som sølv(I)oksid (Ag<sub>2</sub>O) eller sølv(I)karbonat (Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>); eller andre halide utvaskere kjent i faget. De tilsvarende alkali-, tri- og tetraalkylammoniakk-, amidine- eller  
 15 guanidsaltene av monoalkylfumaratet, kan genereres in situ eller kan, alternativt, tilberedes separat. Reaksjonen kan finne sted i en inaktiv løsning, slik som *N,N*-dimetylformamid (DMF), *N*-metylpyrrolidon (NMP), *N,N*-dimetylacetamid (DMA, DMAc), dimetylsulfoksid (DMSO), tetrahydrofuran (THF), toluen eller blandinger av noen av de foregående ved en egnet  
 20 temperatur, slik som fra omtrent romtemperatur til omtrent 70 °C.

Acetamid-MHF-promedikamenter av formel **(I)** kan også tilberedes i henhold til skjema 4:



hvori Y er en egnet avgangsgruppe, slik som halogen, en *O*-acylisourea, forskjellige triazoloestere eller andre; og R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> og R<sup>5</sup> er som definert i dette dokumentet. I visse utførelsesformer av skjema 4 er Y klor og R<sup>5</sup> er alkyl, slik som metyl.

5

Kjemisk aktivering av karboksylsyren til det korresponderende karboksylsyrekloret som vist i skjema 4, kan oppnås ved reaksjon med et kloreringsmiddel, slik som tionylklorid (SOCl<sub>2</sub>), oksalylklorid (C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) eller fosforpentaklorid (PCl<sub>5</sub>) eller andre, alternativt i nærvær av en egnet katalysator, slik som *N,N*-dimetylformamid (DMF) og enten i substans (fravær av løsningsmiddel) eller i et inaktivt løsningsmiddel, slik som diklormetan (DCM) ved en egnet temperatur, slik som fra omtrent 0 °C til omtrent 70 °C. Kjemisk aktivering av karboksylsyren som vist i skjema 4, kan gjennomføres *in situ* og uten isolering av det aktiverte substratet før de følgende alkolysetrinnene. Alternativt kan det aktiverte karboksylsyrekloridet alternativt isoleres og/eller renses ved anvendelse av metoder som er velkjente i faget, dvs. fraksjonsdestillasjon.

10

15

20

25

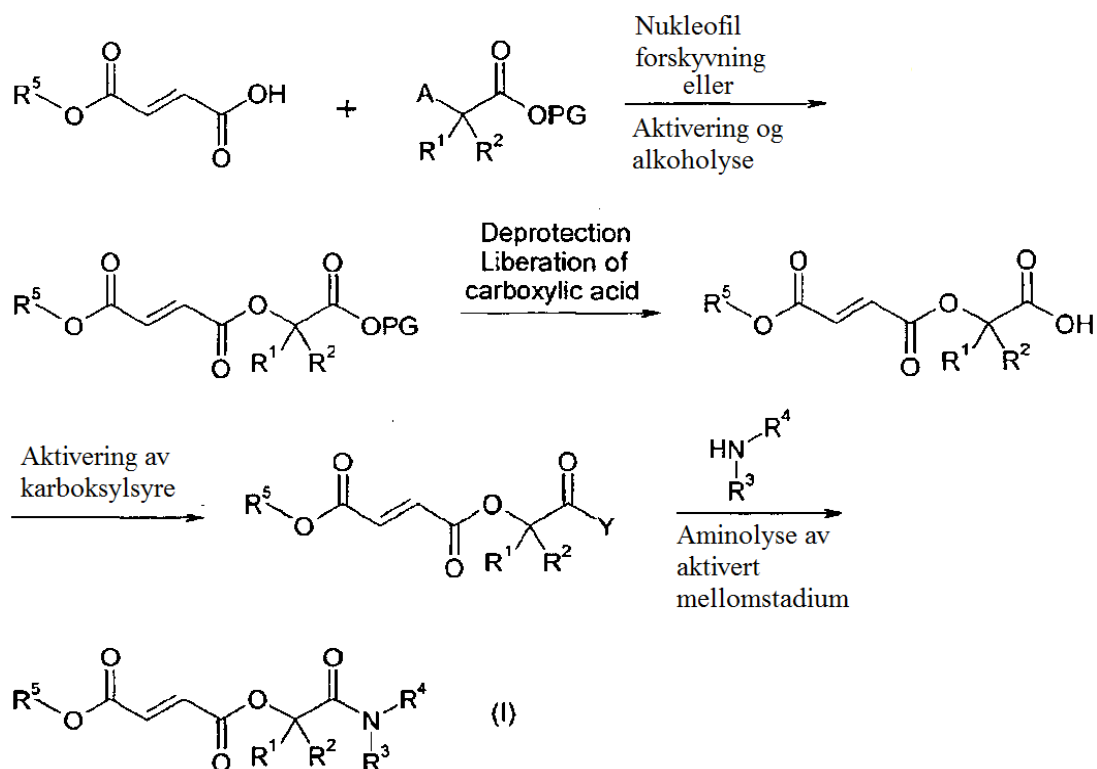
30

35

Karbodiimiddehydreringsmidler, slik som *N,N*-diisopropylkarbodiimid (DIC), *N,N'*-disykloheksylkarbodiimid (DCC) eller 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl) karbodiimid (EDAC, EDC), alternativt i nærvær av en katalyserende eller støkiometrisk mengde av en tilsetning, slik som 4-(*N,N*-dimetylaminopyridin (DMAP) (*Steglich*-esterifiseringstbetingelser), 1-hydroksybenzotriazol (HOBt), 1-hydroksy-7-aza-benzotriazol (HOAt) eller *N*-hydroksysukinimid (HOSu); et uronium- eller fosfoniumsalt med ikke-nukleofile anioner, slik som *N*-[(1*H*-benzotriazol-1-yl)(dimetylamino)metylen]-*N*-metylmolanaminium heksafluorofosfat (HBTU), *N*-[(dimetylamino)-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]pyridin-1-ylmetylen]-*N*-metylmolanaminiumheksafluorofosfat *N*-oksid (HATU), *N*-[(1*H*-benzotriazol-1-yl)(dimetylamino)metylen]-*N*-metylmolanaminiumtetrafluoroborat (TBTU) eller benzotriazol-1-yl-oksytripyrrolidinofosfoniumheksafluorofosfat (PyBOP), kan alternativt tas i bruk for dannelsen av en aktivert monoalkylfumaratavledning. Organiske, tertiære baser, slik som trietylamin (TEA) eller diisopropyletylamin (DIEA) kan alternativt også tas i bruk. Dannelsen av aktiverte karboksylsyreavledninger kan finne sted i et inaktivt løsemiddel, slik som diklormetan (DCM), *N,N*-dimetylformamid (DMF), *N*-metylpyrrolidon (NMP), *N,N*-dimetylacetamid (DMA, DMAc) eller blandinger av noen av de foregående ved en egnet temperatur, slik som fra omtrent romtemperatur til omtrent 70 °C.

Alkolyse av den aktiverte monoalkylfumaratavledningen med en funksjonalisert hydroksyacetaamidavledning (skjema 2) kan finne sted i nærvær av en base, f.eks. en organisk tertiær base, slik som trietylamin (TEA), dietylaminetylamin (DIEA) eller pyridin, alternativt i nærvær av et tilsetningsstoff, slik som nukleofilacyleringskatalysator, dvs. 4-(*N,N*-dimetylaminopyridin (DMAP) (Steglich-esterifiseringsbetingelser) og i det samme eller annet inaktivt løsemiddel som anvendt for aktiveringstrinnet, slik som diklormetan (DCM), *N,N*-dimetylformamid (DMF), *N*-metylpyrrolidon (NMP), *N,N*-dimetylacetamid (DMA, DMAc) eller blandingen av noen av de foregående ved en egnet temperatur, slik som fra omtrent 0 °C til omtrent 70 °C.

Acetamid-MHF-promedikamenter av formel (I) kan også tilberedes i henhold til skjema 5:



15

Skjema 5

20

hvor A enten er en avgående gruppe, slik som halogen eller en nukleofil koblingsgruppe, slik som hydroksyl; Y er en avgående gruppe, slik som halogen, en *O*-acylisourea, forskjellige triazololestere eller andre; PG en en karboksylbeskyttende gruppe; og R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> og R<sup>5</sup> er som definert i dette dokumentet. I visse utførelsesformer av skjema 5 er X brom, PG er tert-butyl,

hver av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen, og elektrofilen er tert-butylbromacetat. I visse utførelsesformer av skjema 5 er Y klor- eller *O*-acylisourea avledet fra 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)karbodiimid (EDAC) og  $R^5$  er alkyl, slik som metyl.

5 Den nukleofile forskyvningsreaksjonen av monoalkylfumarsyren med en beskyttet og funksjonalisert 1-halo-eddiksyreavledning, dvs. kommersielt tilgjengelig tert-butylbromacetat eller andre, kan finne sted ved anvendelse av lignende reaksjonsprosedyrer og -betingelser som de beskrevet i skjema 3 for den direkte dannelsen av funksjonaliserte acetamid-MHF-promedikamenter av formel **(I)** fra en  
10 monoalkyl fumarsyre og en egnet funksjonalisert 1-halo-acetamid.

Alkoholyse av en mellomstadiumaktivert monoalkyl fumarsyreavledning og en beskyttet og funksjonalisert 1-hydroksyeddiksyreavledning kan finne sted ved anvendelse av lignende reaksjonsprosedyrer og -betingelser, som de anvendt i  
15 skjema 4 for den direkte dannelsen av funksjonaliserte acetamid-MHF-promedikamenter av formel **(I)** fra en monoalkyl fumarsyre og en egnet funksjonalisert 1-hydroksyacetamid.

Ortogonal (eller ordnet) avbeskyttelse av en beskyttet monoalkyl fumarsyre-funksjonalisert eddiksyreavledning frigjør det tilsvarende frie monoalkyle fumarestermellomstadiet som bærer en fri karboksylsyrehalvdel. Når beskyttelsesgruppen er en tert-butylgruppe, kan avbeskyttelse gjennomføres ved å sette tert-butylbeskyttede fumarsyreavledningen med en overdrevet  
20 mengde sterk Brønsted-syre, slik som trifluoreddiksyre (TFA) eller hydrogenklorid (HCl) i et inaktivt løsemiddel, slik som diklormetan (DCM), dietyleter ( $\text{Et}_2\text{O}$ ), 1,4-dioksan eller blandinger av noen av de foregående ved  
25 en egnet temperatur, slik som fra omtrent 0 °C til omtrent 40 °C.

Kjemisk aktivering av den frigjorte monoalkylfumarat-funksjonaliserte  
30 hydroksyeddiksyreavledningen (karboksylsyre) til den tilsvarende aktiverte karboksylsyreavledningen, dvs. karboksylsyreklorid, *O*-acylisourea, aktiverte estere osv. kan oppnås ved anvendelse av reaksjonsprosedyrer og -betingelser lignende de beskrevet i skjema 4 for aktivering av monoalkyl fumarsyre, direkte dannelsen av funksjonalisert acetamid-MHF-promedikamenter av formel **(I)** fra den monoalkyle  
35 fumarsyren og den tilsvarende funksjonaliserte hydroksylacetamiden.

Aminolyse av in situ-genererte eller -isolerte aktiverte monoalkylfumarat-funksjonaliserte hydroksyeddiksyreavledninger med funksjonaliserte aminer (HNR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>) kan finne sted ved anvendelse av reaksjonsprosedyrer og -betingelser lignende de som er beskrevet i skjema 1 og 2 for aminolysen av beskyttede, 5 passende funksjonaliserte og aktiverte hydroksyeddiksyreavledninger.

#### Farmasøytiske sammensetninger

10 Farmasøytiske sammensetninger tilveiebragt av offentliggjøringen i dette dokumentet kan omfatte en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse av formel **(I)**, sammen med en egnet mengde av ett eller flere farmasøytisk akseptable bindemidler, for slik å tilveiebringe en sammensetning for egnet administrering til en pasient. Egnede farmasøytiske bindemidler er beskrevet i faget.

15

I visse utførelsesformer kan en forbindelse av formel **(I)** inkorporeres i farmasøytiske sammensetninger som skal administreres oralt. Oraladministrering av slike farmasøytiske sammensetninger kan resultere i opptak av en sammensetning av formel **(I)** gjennom tarmen og inngang til 20 systemisk sirkulasjon. Slike oralsammensetninger kan tilberedes på en måte kjent i farmasifaget og omfatter en forbindelse av formel **(I)** og minst ett farmasøytisk akseptabelt bindemiddel. Orale farmasøytiske sammensetninger kan inkludere en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse av formel **(I)** og en egnet mengde av et farmasøytisk akseptabelt bæremiddel, for slik å 25 tilveiebringe en egnet form for administrering til en pasient.

Forbindelser av formel **(I)** kan inkorporeres inn i farmasøytiske sammensetninger for administrering via andre egnede administrasjonsveier, inkludert intradermalt, intramuskulært, intraperiontalt, intravenøst, subkutant, 30 intranasalt, epiduralt, oralt, sublinguallt, intracerebralt, intravaginalt, transdermalt, rektalt, inhalering eller topisk.

Farmasøytiske sammensetninger omfattende en forbindelse av formel **(I)** og som kan fremstilles ved bruk av vanlige blandings-, oppløsnings-, granulerings-, 35 drasjerings-, dekanterings-, emulgerings-, innkapslings-, oppfangings- eller frysetørkingsprosesser. Farmasøytiske sammensetninger kan formuleres på en konvensjonell måte ved anvendelse av ett eller flere fysiologisk akseptable

bindemidler, fortynningsmidler, bæremidler eller tilsetninger, som letter behandling av forbindelser av formel **(I)** eller krystallformer derav og ett eller flere farmasøytisk akseptable bæremidler inn i formuleringer som kan anvendes farmasøytisk. Riktig formulering avhenger av den valgte administrasjonsveien.

5 Farmasøytiske sammensetninger som tilveiebringes i offentliggjøringen i dette dokumentet, kan ta form av løsninger, suspensjoner, emulsjon, tablett, piller, pelleter, kapsler, kapsler inneholdende væsker, pulvere, formuleringer for vedvarende frisetting, stikkpiller, emulsjoner, aerosoler, sprayer, suspensjoner eller hvilken som helst annen form egnet for administrering til en pasient.

10

Farmasøytiske sammensetninger som tilveiebringes i offentliggjøringen i dette dokumentet, kan formuleres i en enhetsdoseform. En enhetsdoseform viser til en fysisk avgrenset mengde egnet som en enhetlig dose for pasienter som mottar behandling, hvor hver enhet inneholder en forhåndsbestemt mengde av en forbindelse av formel **(I)** beregnet for produksjon av en ment terapeutisk effekt. En enhetsdoseform kan være for en enkelt daglig dose, for administrering 2 ganger om dagen eller én av flere daglige doser, f.eks. 3 eller flere per dag. Når det brukes flere daglige doser, kan en enhetsdoseform være den samme eller forskjellig for hver dose. Én eller flere doseformer kan omfatte en dose, som kan administreres til en pasient på et enkelt tidspunkt eller i løpet av et tidsintervall.

15

20

Farmasøytiske sammensetninger omfattende en forbindelse av formel **(I)** kan formuleres for umiddelbar frisetting.

25

I visse utførelsesformer kan en oral doseform tilveiebragt av offentliggjøringen i dette dokumentet, være en kontrollert frisettingsform. Kontrollerte leveringsteknologier kan forbedre absorpsjonen av et legemiddel i en bestemt region eller regioner i mage-tarmkanalen. Kontrollert legemiddelleveringssystemer kan designes for levering av et legemiddel på en slik måte at legemiddelnivået opprettholdes med et terapeutisk effektivt vindu og effektive og sikre blodnivåer opprettholdes for en så lang periode som systemet fortsetter leveringen av legemidlet med en bestemt frisettingsprofil i mage-tarmkanalen. Kontrollert legemiddellevering kan produsere hovedsakelig konstante blodnivåer av et legemiddel over en tidsperiode, sammenlignet med fluktuasjoner observert med doseformer for umiddelbar frisetting. For noen legemidler er opprettholdelse av konstante blod- og vevskonsentrasjoner i løpet av hele behandlingsperioden den mest ønskelige behandlingsformen.

30

35

Umiddelbar frisetting av legemidler kan forårsake at blodnivåer stiger over det påkrevde nivået for å utløse en ønsket respons, noe som kan føre til at legemidlet går til spille og forårsake eller forverre toksiske bivirkninger. Kontrollert legemiddellevering kan resultere i optimal behandling og kan ikke bare redusere dosehyppigheten, men kan også redusere alvorsgraden av bivirkninger. Eksempler på doseformer for kontrollert frisetting inkluderer oppløsningskontrollerte systemer, diffusjonskontrollerte systemer, ioneutvekslingsresiner, osmotisk kontrollerte systemer, nedbrytingsmatriser-systemer, pH-uavhengige formuleringer, gastroretensjonssystemer og lignende.

En egnet oraldoseform for en bestemt farmasøytisk sammensetning tilveiebragt av offentliggjøringen i dette dokumentet kan avhenge, i det minste delvis, på mage-tarmabsorpsjonsegenskapene til en forbindelse av formel **(I)**, stabiliteten til en forbindelse av formel **(I)** i mage-tarmkanalen, farmakokinetikken til en forbindelse av formel **(I)** og den mente terapeutiske profilen. En egnet kontrollert frisetting oraldoseform, kan velges for en bestemt forbindelse av formel **(I)**. Tarmretensjonsoraldoseformer kan f.eks. være egnet for forbindelser som absorberes primært fra den øvre tarmkanalen, og oraldoseformer med forlenget frisetting kan være egnet for forbindelser som absorberes primært fra den nedre tarmkanalen. Visse forbindelser absorberes primært fra tynntarmen. Generelt beveger forbindelser seg gjennom hele tynntarmen i løpet av 3 til 5 timer. For forbindelser som ikke absorberes lett i tynntarmen eller som ikke oppløses lett, kan vinduet for absorpsjon av det aktive midlet i tynntarmen være for kort for å gi en ønsket terapeutisk virkning.

I visse utførelsesformer kan farmasøytiske sammensetninger tilveiebragt i denne offentliggjøringen, praktiseres med doseformer som er tilpasset for å gi forlenget frisetting av en forbindelse av formel **(I)** ved oraladministrering. Oraldoseformer med forlenget frisetting kan anvendes til frisetting av legemidler over et lengre tidsrom og er nyttige når det er ønsket at legemidlet eller legemiddelformen kan leveres til den nedre tarmkanalen. Oraldoseformer med forlenget frisetting inkluderer enhver oraldoseform som opprettholder terapeutiske konsentrasjoner av et legemiddel i en biologisk væske slik som plasmaet, blodet, cerebrospinalvæsken eller i et vev eller organ over et lengre tidsrom. Oraldoseformer med forlenget frisetting inkluderer diffusjonskontrollerte systemer, slik som reservoarmekanismer og matrisemekanismer, oppløsningskontrollerte



systemer, osmotiske systemer og erosjonskontrollerte systemer. Oraldoseformer med forlenget frisetting og tilberedningsmetoder for samme, er velkjent i faget.

5 En passende dose av en forbindelse av formel **(I)** eller farmasøytisk sammensetning omfattende en forbindelse av formel **(I)** kan fastsettes i henhold til en hvilken som helst av flere veletablerte protokoller. Dyrestudier slik som studier som nytter mus, rotter, hunder og/eller apekatter kan f.eks. anvendes til fastsetting av en passende dose av en farmasøytisk forbindelse. Resultater fra dyrestudier kan ekstrapoleres for fastsetting av doser for bruk i andre arter, slik  
10 som f.eks. mennesker.

### Anvendelser

15 Forbindelser av formel **(I)** er promedikamenter for MHF. Forbindelser av formel **(I)** og farmasøytiske sammensetninger derav kan administreres til en pasient som lider av en hvilken som helst lidelse, tilstand eller symptom for hvilken MHF er kjent eller senere oppdages å være terapeutisk effektiv. Indikasjoner for hvilke MHF har blitt foreskrevet, og for hvilke en forbindelse av formel **(I)** eller farmasøytiske sammensetninger derav også forventes derfor å være effektive,  
20 inkluderer psoriasis. Andre indikasjoner for hvilke forbindelser av formel **(I)** kan være terapeutisk effektive inkluderer multipel sklerose, en inflammatorisk tarmsykdom, astma, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS) og artritt.

25 Metoder for behandling av en sykdom hos en pasient tilveiebragt i denne offentliggjøringen, omfatter administrering til en pasient i behov av slik behandling av en terapeutisk effektiv mengde av et MHF-promedikament av formel **(I)**. Forbindelser av formel **(I)** eller farmasøytiske sammensetninger derav kan gi terapeutiske eller profylaktiske plasma- og/eller blodkonsentrasjoner av MHF etterfølgende administrering til en pasient.

30 MHF-promedikamenter av formel **(I)** kan inkluderes i en farmasøytisk sammensetning og/eller doseform tilpasset for oraladministrasjon, selv om MHF-promedikament av formel **(I)** også kan administreres ad enhver annen egnet vei, slik som f.eks. ved injeksjon, inhalering, transdermalt eller absorpsjon gjennom  
35 epitel- eller slimhinne membraner (f.eks. oral-, rektal- og/eller tarmslimhinner).

MHF-promedikamenter av formel **(I)** kan administreres i en mengde og ved bruk av en doseringsplan som passende for behandling av en bestemt sykdom. Daglige doser av et MHF-promedikament av formel **(I)** kan strekke seg fra omtrent 0,01 mg/kg til omtrent 50 mg/kg, fra omtrent 0,1 mg/kg til omtrent 50 mg/kg, fra omtrent 1 mg/kg til omtrent 50 mg/kg og i visse utførelsesformer fra omtrent 5 mg/kg til omtrent 25 mg/kg. I visse utførelsesformer kan MHF-promedikamenter av formel **(I)** administreres ved en dose over tid, fra omtrent 1 mg til omtrent 5 g per døgn, fra omtrent 10 mg til omtrent 4 g per døgn og i visse utførelsesformer fra omtrent 20 mg til omtrent 2 g per døgn. En passende dose av et MHF-promedikament av formel **(I)** kan fastsettes basert på flere faktorer, inkludert, f.eks. kroppsvekten og/eller tilstanden til pasienten som behandles, alvorsgraden av sykdommen som behandles, forekomst og/eller alvorlighetsgrad av bivirkninger, administrasjonsmåten og vurderingen til den foreskrivende legen. Passende doseringsrekkevidder kan fastsettes ved metoder kjent for fagfolk.

MHF-promedikamenter av formel **(I)** kan testes *in vitro* og *in vivo* for ønsket terapeutisk eller profylaktisk aktivitet før bruk hos mennesker. *In vivo*-tester, f.eks. ved bruk av egnede dyremodeller, kan også anvendes til fastsetting av om administrasjon av et MHF-promedikament av formel **(I)** er terapeutisk effektivt.

I visse utførelsesformer kan en terapeutisk effektiv dose av et MHF-promedikament av formel **(I)** gi terapeutiske fordeler, uten å forårsake substansiell toksisitet inkludert skadelige bivirkninger. Toksisiteten til MHF-promedikamenter av formel **(I)** og/eller metabolitter derav kan fastsettes ved bruk av standard farmasøytiske prosedyrer og kan fastslås av de med ferdigheter i faget. Doseforholdet mellom toksisk og terapeutisk virkning er den terapeutiske indeksen. En dose med et MHF-promedikament av formel **(I)** kan være innenfor rekkevidden med kapasitet til etablering og opprettholdelse av en terapeutisk effektiv sirkulerende plasma- og/eller blodkonsentrasjon av et MHF-promedikament av formel **(I)**, som viser liten eller ingen toksisitet.

MHF-promedikament av formel **(I)** kan anvendes til behandling av sykdommer, lidelser, tilstander og symptomer på en hvilken som helst av foregående som MHF er kjent for å gi eller senere finnes å gi terapeutiske fordeler for. MHF er kjent å være effektiv i behandlingen av psoriasis, multippel sklerose, en inflammatorisk tarmsykdom, astma, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS) og artritt. MHF-promedikamenter av formel **(I)** kan altså anvendes til behandling

av en hvilken som helst av foregående sykdommer og lidelser. Den underliggende etiologien til en hvilken som helst av de foregående sykdommene som behandles, kan ha flere opprinnelser. I visse utførelsesformer kan videre en terapeutisk effektiv mengde av én eller flere forbindelser av formel **(I)** administreres til en pasient, slik som et menneske, som et preventivt tiltak mot forskjellige sykdommer eller lidelser. En terapeutisk effektiv mengde av én eller flere forbindelser av formel **(I)** kan administreres som et preventivt tiltak til en pasient med predisposisjon for og/eller historie med immunologiske, autoimmune og/eller inflammatoriske sykdommer, inkludert psoriasis, astma og KOLS, hjerteinsuffisiens, inkludert venstre hjertekammerinsuffisiens, myokardieinfarkt og angina pectoris, mitokondrie- og nevrodegenerative sykdommer, slik som Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, Huntingtons sykdom, retinopati pigmentosa og mitokondrie-encefalomyopati, transplantatavvisning, autoimmune sykdommer, inkludert multippel sklerose, iskemi- og reperfusjonsskade, AGE-indusert genomskade, inflammatorisk tarmsykdommer slik som Crohns sykdom og ulcerøs kolitt; og NF- $\kappa$ B-medierte sykdommer.

### Psoriasis

Psoriasis karakteriseres av hyperkeratose og fortykning av epidermis, samt av økt vaskularitet og infiltrasjon av inflammatoriske celler i dermis. Psoriasis vulgaris manifesterer som sølvfarget, skjullet, erytematos plakk, typisk på hodebunnen, albue, knærne og sete. Guttat psoriasis oppstår som lesjoner på størrelse med en tåre.

Fumarsyreestere er kjent for behandling av psoriasis og dimetylfumerat er godkjent for systemisk behandling av psoriasis i Tyskland (Mrowietz og Asadullah, Trends Mol. Med. 2005, 11(1), 43-48; og Mrowietz et al., Br. J. Dermatology 1999, 141, 424-429).

Virkeevnen til MHF-promedikamenter i behandling av psoriasis kan fastsettes ved bruk av dyremodeller og i kliniske forsøk.

### Inflammatorisk artritt

Inflammatorisk artritt inkluderer sykdommer slik som revmatoid artritt, juvenil revmatoid artritt (juvenil idiopatisk artritt), psoriasisartritt og ankyloserende spondylitt som produserer leddinflammasjon. Patogenesen til immunmedierte inflammatoriske sykdommer inkludert inflammatorisk artritt er antatt å involvere TNF- og NK- $\kappa$ B-signalbaner (Tracey et al., *Pharmacology & Therapeutics* 2008, 117, 244-279). DMF har vært vist å inhibere TNF, og inflammatoriske sykdommer inkludert inflammatorisk artritt, er antatt å involvere TNF- og NK- $\kappa$ B-signalisering og kan derfor være nyttig i behandlingen av inflammatorisk artritt (Lowewe et al., *J Immunology* 2002, 168, 4781-4787).

Virkeevnen til MHF-promedikamenter i behandling av artritt kan fastsettes ved bruk av dyremodeller og i kliniske forsøk.

### Multippel sklerose

Multippel sklerose (MS) er en inflammatorisk autoimmun sykdom i sentralnervesystemet forårsaket av et autoimmunangrep på de isolerende myelinskjedene i sentralnervesystemet. Demyelinisering leder til sammenbrudd i ledeevne og til alvorlig sykdom, med ødeleggelse av lokale aksoner og irreversibel neuroncelledød. Symptomene på MS varierer betydelig, hvor hver individuelle pasient viser et bestemt mønster av motor-, fornufte (kognitive)- og sanseforstyrrelser. MS er patologisk typifisert av flere inflammatoriske fokus, plakk fra demyelinisering, glisose og aksonpatologi i hjernen og ryggmargen, som alt sammen bidrar til de kliniske manifestasjonene av nevrologisk funksjonshemming (se f.eks. Wingerchuk, *Lab. Invest.* 2001, 81, 263-281; og Virley, *NeuroRx* 2005, 2(4), 638-649). Selv om årsaksforholdene som løper forut for MS, ikke er fullstendig forstått, impliserer data en autoimmun etiologi sammen med miljøfaktorer, samt spesifikke genetiske predisposisjoner. Funksjonshindring, funksjonshemming og handikap uttrykkes som lammelser, sanse- og kognitive forstyrrelser, spasmer, skjelvninger, mangel på koordinasjon og synshemming, som påvirker livskvaliteten til den enkelte. Den kliniske utviklingen til MS kan variere fra person til person, men sykdommen kan konsistent kategoriseres i tre former: relapserende-remitterende, sekundær progressiv og primær progressiv.

Studier støtter virkeevnen til FAE-er for behandling av MS og gjennomgår fase II klinisk testing (Schimrigk et al., *Eur. J. Neurology* 2006, 13, 604-610; og Wakkee and Thio, *Current Opinion Investigational Drugs* 2007, 8(11), 955-962).

Vurdering av effekten av MS-behandling i kliniske forsøk kan oppnås ved bruk av verktøy slik som den utvidede funksjonshemningskalaen og MS-funksjonalitetsskalaen samt magnetisk resonansavbildning av lesjonsbelastning, biomarkører og egenrapportert livskvalitet. Dyremodeller av MS vist nyttig i identifisering og valideringen av mulige terapeutiske midler, inkluderer eksperimentell autoimmun/allergisk encefalomyelitt (EAE)-rottemodeller som simulerer de kliniske og patologiske manifestasjonene av MS og ikke-menneskelige primat-EAE-modeller.

10

#### Inflammatorisk tarmsykdom (Crohns sykdom, ulcerøs kolitt)

Inflammatorisk tarmsykdom (IBD) er en gruppe inflammatoriske tilstander i tykktarmen og i noen tilfeller i tynntarmen, som inkluderer Crohns sykdom og ulcerøs kolitt. Crohns sykdom, som karakteriseres av inflammete områder, med mer normale områder derimellom, kan påvirke alle deler av mage-tarmkanalen fra munnen til anus. De viktigste mage-tarmsymptomene er magesmerter, diaré, forstoppelse, oppkast, vekttap og/eller vektøkning. Crohns sykdom kan også forårsake utslett i huden, artritt og inflammasjon av øyet. Ulcerøs kolitt karakteriseres av ulcus eller åpne sår i tykktarmen eller kolon. De viktigste symptomene på ulcerøs kolitt er typisk konstant diaré blandet med blod i gradvis utvikling. Andre typer mage-tarmsykdommer inkluderer kollagen kolitt, lymfatisk kolitt, iskemisk kolitt, avledningskolitt (diversion), Behçets kolitt og mellomstadium kolitt.

25

FAE-er er inhibitorer av NF- $\kappa$ B-aktivering og kan derfor være nyttig i behandlingen av inflammatoriske tilstander, slik som Crohns sykdom og ulcerøs kolitt (Atreya et al., J. Intern. Med. 2008, 263(6), 59106).

30

Virkeevnen til MHF-promedikamenter i behandling av inflammatorisk tarmsykdom kan evalueres ved bruk av dyremodeller og i kliniske forsøk. Nyttige dyremodeller for inflammatorisk tarmsykdom er kjent.

#### Astma

35

Astma er reversibel luftveisobstruksjon hvor luftveiene til tider trekker seg sammen, blir inflammet og dekkes med en for stor mengde slim. Symptomer på

astma inkluderer dyspné, hvesing, sammentrekning i brystet og hoste. Astmaepisoder kan induseres av luftbårne allergener, matallergier, medikamenter, inhalerte irriterende, fysisk aktivitet, respiratorisk infeksjon, psykologisk stress, hormonforandringer, kaldt vær eller andre faktorer.

5

Som inhibitor av NF- $\kappa$ B-aktivering og som vist i dyrestudier (Joshi et al., US 2007/0027076), kan FAE-er være nyttige i behandlingen av lungesykdommer, slik som astma og KOLS.

10

Virkeevnen til MHF-promedikamenter av formel **(I)** for behandling av astma kan vurderes ved bruk av dyremodeller og i kliniske forsøk.

#### Kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS)

15

KOLS, også kjent som kronisk obstruktiv luftveissykdom, er en gruppe sykdommer karakterisert av patologisk begrensning av luftstrømningen i luftveiene som ikke er fullstendig reversibel, og inkluderer tilstander slik som kronisk bronkitt, emfysem samt andre lungelidelser, slik som asbestose, pneumokoniose og lungeneoplasma (se f.eks. Barnes, Pharmacological Reviews 2004, 56(4), 515-548). Luftstrømningsbegrensning er vanligvis gradvis og forbundet med en unormal inflammatorisk respons i lungene på skadelige partikler og gasser. KOLS karakteriseres av kortpustethet som varer i måneder eller år, eventuelt fulgt av hvesing og vedvarende hoste med slimproduksjon. KOLS er som regel forårsaket av tobakksrøyking, selv om det også kan forårsakes av andre luftbårne irriterende, slik som kullstøv, asbest, byforurensning eller løsemidler. KOLS omfatter kronisk obstruktiv bronkitt med fibrose og obstruksjon av små luftveier, og emfysem med forstørrelse av luftrom og destruksjon av lungeparenkym, tap av elastisitet i lungene og lukking av de små luftveiene.

20

25

30

Virkeevnen fra administrering av minst én forbindelse av formel **(I)** for behandling av KOLS kan vurderes ved bruk av dyremodeller for KOLS og i kliniske studier. Mus-/rottemodeller for KOLS er f.eks. kjent.

#### Nevrodegenerative sykdommer

35

Nevrodegenerative sykdommer, slik som Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, Huntingtons sykdom og amyotropisk lateral sklerose, karakteriseres

av gradvis dysfunksjon og nevronød. NF- $\kappa$ B-inhibering har vært foreslått som et terapeutisk mål for neurodegenerative sykdommer (Camandola og Mattson, Expert Opin. Ther. Targets 2007, 11(2), 123-32).

## 5 Parkinsons sykdom

Parkinsons sykdom er en degenerativ sykdom i nervesystemet med langsom progresjon, karakterisert av skjelvninger når musklene hviler (hvileskjelvninger), treghet i frivillige bevegelser og økt muskeltoning (rigiditet). I Parkinsons sykdom degenereres nervecellene i basal ganglia, f.eks. substantia nigra, og reduserer derved produksjonen av dopamin og antallet forbindelser mellom nervecellene i basal ganglia. Basal ganglia er som et resultat ute av stand til å jevne ut muskelbevegelser og koordinere endringer i kroppsposisjon som normalt, noe som fører til skjelvninger, mangel på koordinasjon og hemmede, reduserte bevegelser (bradykinesi) (Blandini, et al., Mol. Neurobiol. 1996, 12, 73-94).

Virkeevnen til forbindelser av formel **(I)** i behandlingen av Parkinsons sykdom kan vurderes ved bruk av dyremodeller og menneskemodeller for Parkinsons sykdom og i kliniske studier.

## Alzheimers sykdom

Alzheimers sykdom er et gradvis tap av mentale funksjoner karakterisert av degenerering av hjernevev, inkludert tap av nerveceller og utvikling av senilplakk og neurofiberknuter. Ved Alzheimers sykdom degenerer deler av hjernen, noe som ødelegger nerveceller og reduserer vedlikeholdsnevronenes evne til å respondere på neurotransmittere. Abnormiteter i hjernevev består av senil- eller nevrtrittplakk, f.eks. knuter med døde nerveceller inneholdende et unormalt, uopløselig protein kalt amyloid, og neurofiberknuter, sammenflettede kjeder med uopløselige proteiner i nervecellene.

Virkeevnen til forbindelser av formel **(I)** i behandlingen av Alzheimers sykdom kan vurderes ved bruk av dyremodeller og menneskemodeller for Alzheimers sykdom og i kliniske studier.

## Huntingtons sykdom

Huntingtons sykdom er en autosomdominant nevrodegenerativ sykdom hvor spesifikk celledød oppstår i neostriatum og cortex (Martin, N. Engl. J. Med. 1999, 340, 1970-80). Utbrudd oppstår vanligvis i det fjerde eller femte tiåret i livet, med en gjennomsnittlig overlevelse etter alder ved utbrudd på 14 til 20 år. Huntingtons sykdom har uten unntak dødelig utgang og det finnes ingen effektiv behandling. Symptomer inkluderer en karakteristisk bevegelseslidelse (Huntingtons chorea), kognitiv dysfunksjon og psykiatriske symptomer. Sykdommen forårsakes av en mutasjon som koder for en abnormal ekspansjon av CAG-kodede polyglutamingjentakelser i proteinet huntingtin.

Virkeevnen til forbindelser av formel **(I)** i behandlingen av Huntingtons sykdom kan vurderes ved bruk av dyremodeller og menneskemodeller for Huntingtons sykdom og i kliniske studier.

15

#### Amyotrofisk lateralsklerose (ALS)

Amyotrofisk lateralsklerose (ALS) er en progressiv nevrodegenerativ sykdom karakterisert av gradvist og spesifikt tap av motornevroner i hjernen, hjernestammen og ryggmargen (Rowland and Schneider, N. Engl. J. Med. 2001, 344, 1688-1700). ALS begynner med svakhet, ofte i hendene og mindre hyppig i føttene, som vanligvis utvikler seg oppover en arm eller et bein. Over tid øker svakheten og det utvikles spasmer karakterisert av muskelrykninger og -sammentrekninger, etterfulgt av muskelspasmer og muligens skjelvinger. Gjennomsnittsalderen for utbrudd er 55 år, og gjennomsnittlig forventet levetid etter klinisk utbrudd er 4 år. Den eneste kjente behandlingen for ALS er riluzol, som kun kan forlenge overlevelsen med omtrent tre måneder.

Virkeevnen av forbindelser av formel **(I)** i behandlingen av ALS kan vurderes ved bruk av dyremodeller og menneskemodeller for ALS og i kliniske studier.

30

#### Andre

Andre sykdommer og lidelser som forbindelser av formel **(I)** kan være nyttige i behandlingen av, inkluderer reumatisme, granuloma annulare, lupus, autoimmun hjertebetennelse, eksem, sarkoidose og autoimmune sykdommer inkludert akutt encefalomyelitt med spredning, Addisons sykdom, alopecia

35



areata, ankyloserende spondylitt, antifosfolipidsyndrom, autoimmun hemolytisk anemi, autoimmun hepatitt, autoimmun sykdom i indre øre, bulløs pemfigoid, Behçets sykdom, cøliaki, Chagas sykdom, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), Crohns sykdom, dermatomyositis, diabetes mellitus type I, endometriose, Goodpastures syndrom, Graves sykdom, Guillain-Barré-syndrom, Hashimotos sykdom, svettekjertelbetennelse, Kawasakis sykdom, IgA-nevropati, idiopatisk trombocytopeni purpura, interstitial cystitt, lupus erytematose, blandet bindevevssykdom, morfea, multippel sklerose, myasthenia gravis, narkolepsi, neuromyotoni, pemfigus vulgaris, pernisiøs anemi, psoriasis, psoriasisartritt, polymyositt, primær biliær cirrhose, reumatoid artritt, schizofreni, sklerodermi, Sjøgrens syndrom, autoimmunt stivhetssyndrom, temporalarteritt, ulcerøs kolitt, vaskulitt (karbetennelse), vitiligo eller Wegeners granulomatose.

### Administrasjon

MHF-promedikamenter av formel **(I)** og farmasøytiske sammensetninger derav kan administreres oralt eller ved en hvilken som helst annen vei, f.eks. ved infusjon eller bolusinjeksjon, ved absorpsjon gjennom epitel- eller mukokutanhinner (f.eks. slimhinner i munnen, rektal- og tarmslimhinner osv.). Andre egnede veier for administrasjon inkluderer, men er ikke begrenset til, intradermalt, intramuskulært, intraperitonalt, intravenøst, subkutant, intranasalt, epiduralt, oralt, sublingualt, intracerebralt, intravaginalt, transdermalt, rektalt, inhalering eller topisk.

Administrasjonen kan være systemisk eller lokal. Forskjellige leveringsystemer er kjent, f.eks. innkapsling i liposomer, mikropartikler, mikrokapsler, kapsler osv.) som kan anvendes til administrasjon av en forbindelse og/eller farmasøytisk sammensetning.

Mengden MHF-promedikament i formel **(I)** som vil være effektiv i behandlingen av en sykdom i en pasient, vil delvis avhenge av sykdommens karakter og kan fastsettes ved standard kliniske teknikker kjent i faget. I tillegg kan det anvendes *in vitro*- og *in vivo*-tester til hjelp i identifiseringen av optimale doserekkevidder. En terapeutisk effektiv mengde med et MHF-promedikament av formel **(I)** som skal administreres, kan, blant andre faktorer, også avhenge av personen som behandles, vekten til vedkommende, sykdommens alvorlighetsgrad, administrasjonsmåte og vurderingen til foreskrivende lege.

For systemisk administrasjon kan en terapeutisk effektiv dose estimeres innledningsvis fra *in vitro*-tester. En dose kan f.eks. formuleres i dyremodeller for å oppnå en fordelaktig sirkulerende sammensetningskonsentrasjonsrekkevidde. Innledende doser kan også

5 estimeres fra *in vivo*-data, f.eks. dyremodeller, ved bruk av teknikker som er kjent i faget. Slik informasjon kan nyttes til mer nøyaktig fastsetting av nyttige doser i mennesker. Én med vanlige ferdigheter i faget kan optimere administrasjon til mennesker, basert på dyredata.

10 En dose kan administreres i en enkeltdoseform eller i flerdoseformer. Når det nyttes flerdoseformer, kan mengden av forbindelsen som finnes i hver doseform, være den samme eller forskjellig. Mengden MHF-promedikament av formel **(I)** inneholdt i en dose, kan avhenge av administrasjonsveien og om sykdommen i

15 pasienten behandles effektivt ved akutt, kronisk eller en kombinasjon av akutt og kronisk administrasjon.

I visse utførelsesformer er en administrert dose mindre enn en toksisk dose. Toksisiteten til sammensetningene som beskrives i dette dokumentet kan fastsettes ved bruk av standard farmasøytiske prosedyrer i cellekulturer eller

20 dyreforsøk, f.eks. ved fastsetting av LD<sub>50</sub> (dødelig dose for 50 % av populasjonen) eller LD<sub>100</sub> (dødelig dose for 100 % av populasjonen). Doseforholdet mellom toksisk og terapeutisk effekt er den terapeutiske indeksen. I visse utførelsesformer kan et MHF-promedikament vise en høy terapeutisk indeks. Dataene oppnådd fra disse cellekulturanalysene og

25 dyreforsøkene, kan anvendes i formulering av et ikke-toksisk doseområde for anvendelse hos mennesker. En dose med et MHF-promedikament tilveiebragt av offentliggjøringen i dette dokumentet, kan være innenfor rekkevidden av sirkulerende konsentrasjoner i f.eks. blod, plasma eller sentralnervesystemet, som inkluderer den effektive dosen og som viser liten eller ingen toksisitet. En

30 dose kan variere innenfor dette området, avhengig av doseformen som benyttes og administrasjonsmåten som brukes. I visse utførelsesformer kan det administreres en stigende dose.

#### Kombinasjonsterapi

35

Metoder tilveiebragt i denne offentliggjøringen, omfatter videre administrering av én eller flere farmasøytisk aktive forbindelser i tillegg til et MHF-promedikament av formel **(I)**.

5 Slike forbindelser kan tilveiebringes for behandling av samme sykdom eller en forskjellig sykdom enn sykdommen som behandles med MHF-promedikamentet av formel **(I)**.

10 I visse utførelsesformer kan et MHF-promedikament av formel **(I)** anvendes i kombinasjon med minst ett annet terapeutisk middel. I visse utførelsesformer kan et MHF-promedikament av formel **(I)** administreres til en pasient sammen med en annen forbindelse for behandling av sykdommer og tilstander som involverer immunologiske, autoimmune og/eller inflammatoriske prosesser, inkludert: 15 hjertekammerinsuffisiens, myokardieinfarkt og angina pectoris; mitokondrie- og nevrodegenerative sykdommer, slik som Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, Huntingtons sykdom, retinopati pigmentosa og mitokondrie-encefalomyopati; transplantaatavvisning; autoimmune sykdommer, inkludert multipel sklerose (MS); iskemi- og reperfusjonsskade, AGE-indusert genomskaade, og andre. I visse 20 utførelsesformer kan et MHF-promedikament av formel **(I)** administreres til en pasient sammen med en annen forbindelse for behandling av psoriasis, multipel sklerose, en inflammatorisk tarmsykdom, astma, KOLS og artritt.

25 Et MHF-promedikament av formel **(I)** og det minst ene andre terapeutiske midlet kan virke i tillegg til, eller i visse utførelsesformer, synergistisk. Det minst ene andre terapeutiske midlet kan inkluderes i den samme doseformen som et MHF-promedikament av formel **(I)** eller kan tilveiebringes i en separat doseform. Metodene som tilveiebringes i denne offentliggjøringen, kan videre inkludere, i tillegg til administrering av et MHF-promedikament av formel **(I)**, 30 administrering av ett eller flere terapeutiske midler effektivt for behandling av den samme eller forskjellige sykdommer enn sykdommene som behandles av et MHF-promedikament av formel **(I)**. Metodene som tilveiebringes i denne offentliggjøringen, inkluderer administrering av et MHF-promedikament av formel **(I)** og ett eller flere andre terapeutiske midler, gitt at den kombinerte 35 administrasjonen ikke inhiberer den terapeutiske virkeevnen til MHF-promedikamentet og/eller ikke vanligvis produserer signifikante og/eller betydelig skadelige kombinasjonsvirkninger.

I visse utførelsesformer kan doseformer omfattende MHF-promedikamenter av formel **(I)**, administreres samtidig med administreringen av andre terapeutiske midler, som kan være en del av den samme doseformen som, eller i en forskjellig doseform fra den som omfatter et MHF-promedikament av formel **(I)**. Et MHF-promedikament av formel **(I)** kan administreres før eller etter administrering av et annet terapeutisk middel. I visse utførelsesformer av kombinasjonsterapi kan kombinasjonsterapien omfatte skifte mellom administrering av et MHF-promedikament av formel **(I)** og en sammensetning omfattende annet terapeutisk middel, f.eks. for minimering av skadelige legemiddelvirkninger forbundet med et bestemt legemiddel. Når et MHF-promedikament av formel **(I)** administreres samtidig med et annet terapeutisk middel som potensielt kan produsere skadelige legemiddelvirkninger inkludert, men ikke begrenset til, toksisitet, kan det andre terapeutiske midlet fordelaktig administreres ved en dose som faller under terskelen for hvilken den skadelige drogereaksjonen er frembrakt.

I visse utførelsesformer kan doseformene omfattende et MHF-promedikament av formel **(I)**, administreres med én eller flere substanser til forsterkning, modulering og/eller kontrollert frisetting, biotilgjengelighet, terapeutisk virkning, terapeutisk potens, stabilitet og lignende for et MHF-promedikament av formel **(I)**. For å forsterke den terapeutiske virkeevnen til et MHF-promedikament av formel **(I)** kan f.eks. MHF-promedikamentet av formel **(I)** administreres samtidig med en doseform omfattende et MHF-promedikament av formel **(I)**, omfatte én eller flere aktive substanser for å øke absorpsjonen eller diffusjonen av et MHF-promedikament av formel **(I)** fra mage-tarmkanalen for systemisk sirkulasjon eller inhibere degraderingen av MHF-promedikamentet av formel **(I)** i pasientens blod. I visse utførelsesformer kan et MHF-promedikament av formel **(I)** administreres samtidig med en aktiv substans med farmakologiske virkninger som forsterker den terapeutiske effekten av et MHF-promedikament av formel **(I)**.

I visse utførelsesformer kan et MHF-promedikament av formel **(I)** eller en farmasøytisk sammensetning derav administreres til en pasient for behandling av psoriasis i kombinasjon med en terapi eller andre terapeutiske substanser kjent eller antatt å være effektive i behandlingen av psoriasis. Medikamenter nyttige i behandlingen av psoriasis inkluderer steroider, slik som flurandrenolid, fluocinonid, alklometason, amcinonid, desonid, halcinonid, triamcinolon, klobetasol, klokortolone, mometasone, desoksimetason og

halobetasol; anti-revmatika slik som etanercept, infliximab og adalimumab; immunosuppressive substanser, slik som syklosporin, alefacept og efalizumab; psoralener slik som metokssalen; og andre slik som kalsipotrien, metotreksat, hydrokortison/pramoksin, acitretin, betametason/kalsipotrien, tazaraoten, benzocain/pyrilamin/sinkoksid og ustekinumab.

5

I visse utførelsesformer kan et MHF-promedikament av formel **(I)** eller en farmasøytisk sammensetning derav administreres til en pasient for behandling av inflammatorisk artritt slik som revmatoid artritt, juvenil revmatoid artritt, psoriasisartritt og ankyloserende spondylitt i kombinasjon med en terapi eller andre terapeutiske substanser kjent for eller antatt å være effektive i behandlingen av inflammatorisk artritt, slik som revmatoid artritt, juvenil artritt og ankyloserende spondylitt.

10

Medikamenter nyttige i behandlingen av revmatoid artritt, inkluderer ikke-steroidale anti-inflammatoriske midler, slik som ibuprofen, ketoprofen, salicylat, diklofenak, nabumeton, naproksen, meloksikam, sulindak, flurbiprofen, indometacin, tolmetin, piroksicam, fenoprofen, oksaprozin og etodolak; antirevmatika slik som etanercept, adalimumab, infliximab, hydroksykloroquin, leflunomid, azatioprin, penicillamin, metotreksat, anakinra, auranofin, rituximab, aurotioglukose, tocilizumab og golimumab; cox-2-inhibitorer, slik som celesoksib og vadesoksib; kortikosteroider slik som trimcinolon; glukokortisoider slik som metylprednisolon og prednison; og andre slik som sulfasalazin.

15

20

25

Medikamenter nyttig i behandlingen av juvenil revmatoid artritt, inkluderer adalimumab, abatacept og infliksimab.

Medikamenter nyttig i behandlingen av psoriasisartritt, inkluderer etanercept, adalimumab, triamcinolon, kortison, infliximad og golimumab.

30

Medikamenter nyttig i behandlingen av ankyloserende spondylitt, inkluderer adalimumab, celekoksib, diklofenak, etanercept, golimumab, indometacin infliksimab, naptoxen, olsalazine, salicylater, sulfindak og triamcinolon.

35

I visse utførelsesformer kan et MHF-promedikament av formel **(I)** eller en farmasøytisk sammensetning derav administreres til en pasient for behandling av psoriasisartritt i kombinasjon med en terapi eller andre terapeutiske

substanser kjent eller antatt å være effektive i behandlingen av psoriasisartritt. Medikamenter nyttig i behandlingen av psoriasisartritt, inkluderer etanercept, adalimumab, triamcinolon, kortison, infliximad og golimumab.

5 I visse utførelsesformer kan et MHF-promedikament av formel **(I)** eller en farmasøytisk sammensetning derav administreres til en pasient for behandling av autoimmune sykdommer, slik som lupus, i kombinasjon med en terapi eller andre terapeutiske midler kjent eller antatt å være effektive i behandlingen av autoimmune sykdommer, slik som lupus. Medikamenter nyttige i behandlingen av lupus, inkluderer hydroksykloquin, triamcinolon, salicylat, azathioprin og abetimus.

10 I visse utførelsesformer kan et MHF-promedikament av formel **(I)** eller en farmasøytisk sammensetning derav administreres til en pasient for behandling av multippel sklerose i kombinasjon med en terapi eller andre terapeutiske substanser kjent eller antatt å være effektive i behandlingen av multippel sklerose. Medikamenter nyttige i behandlingen av multippel sklerose, inkluderer interferon  $\beta$ -1a, interferon  $\beta$ -1b, glatiramer, modafinil, azatioprin, predisolon, mysofenolate mofetil, mitoksantron og natalizumab. Andre eksempler på medikamenter nyttige i behandlingen av MS, inkluderer kortikosteroider slik som metylprednisolon; IFN- $\beta$  slik som IFN- $\beta$ 1a og IFN- $\beta$ 1b; glatirameracetat; monoklone antistoffer som binder til det svært sene antigenet-4 (VLA-4)-integrin, slik som natalizumab; immunomodulatoriske midler slik som FTY 720 sfinogosi-1-fosfatmodulator og COX-2-inhibitorer slik som BW755c, piroksikam og fenidon; og nevrobeskyttende behandlinger inkludert inhibitorer av glutamateksitoksisitet og iNOS, frie-radikaler-utvaskere og kationkanalblokkerere; memantin; AMPA-antagonister slik som topriamat; og glysinpunkt-NMDA-antagonister.

20 I visse utførelsesformer kan et MHF-promedikament av formel **(I)** eller en farmasøytisk sammensetning derav administreres til en pasient for behandling av inflammatorisk tarmsyndrom i kombinasjon med en terapi eller andre terapeutiske substanser kjent eller antatt å være effektive i behandlingen av inflammatorisk tarmsyndrom. Medikamenter nyttig i behandlingen av inflammatorisk tarmsykdom, inkluderer kromolyn og merkaptopurin; og inkluderer mer bestemt for behandling av Crohns sykdom certolizumab, budesonid, azatioprin, sulfasalazin, metronidazol, adalimumab, merkaptopurin, infliximab, mesalamin og natalizumab; og inkluderer for behandling av ulcerøs kolitt balsalazid, infliximab, azatioprin, mesalamin og syklosporin.

I visse utførelsesformer kan MHF-promedikamenter tilveiebragt av denne offentliggjøringen og farmasøytiske sammensetninger derav administreres til en pasient for behandling av astma eller i kombinasjon med en terapi eller et annet terapeutisk middel kjent for eller antatt å være nyttig i behandlingen av astma, eller i visse utførelsesformer, en sykdom, lidelse eller tilstand forbundet med astma. Eksempler på medikamenter nyttige i behandlingen av astma inkluderer albuterol, aminofyllin, beklometason, bitolterol, budesonid, kromolyn, efedrin, epinefrin, flunisolid, flutikason, formoterol, hydrokortison, isoproterenol, levalbuterol, metylprednisolon, prednisolon, prednison, pirbuterol, metaproterenol, racepinefrin, omalizumab, oksytrifyllin, mometason, montelukast, nedokromil, okstrifyllin, pirbuterol, salmeterol, terbutalin, teofyllin, triamcinolon, zafirlukast og zileuton.

I visse utførelsesformer kan MHF-promedikamenter tilveiebragt av denne offentliggjøringen og farmasøytiske sammensetninger derav, administreres til en pasient for behandling av KOLS i kombinasjon med en terapi eller et annet terapeutisk middel kjent for eller antatt å være nyttig i behandlingen av KOLS, eller i visse utførelsesformer en sykdom, lidelse eller tilstand forbundet med KOLS. Eksempler på medikamenter nyttige i behandlingen av KOLS, inkluderer albuterol, arformoterol, azitromysin, bitolterol, epinefrin, fluticason, formoterol, ipratropium, isoproterenol, levabuterol, metaproterenol, pirbuterol, racepinefrin, salmeterol og tiotropium. Nyttige medikamenter i behandlingen av KOLS inkluderer videre bronkodilatorer slik som  $\beta_2$ -agonister slik som salbutamol, bambuterol, klenbuterol, fenoterol og formoterol; M3 antimuskariner slik som ipratropium; leukotrienantagonister slik som montelukast, pranlukast og zafirlukast; kromoner slik som kromoglisat og nedokromil; xantiner slik som teofyllin; kortikosteroider slik som beklometason, mometason og flutikason; og TNF-antagonister slik som infliksimab, adalimumab og etanersept. Andre behandlinger for KOLS inkluderer oksygenterapi og lungerehabilitering.

I visse utførelsesformer kan promedikamenter tilveiebragt av denne offentliggjøringen og farmasøytiske sammensetninger derav, administreres til en pasient for behandling av angiogenese i kombinasjon med en terapi eller andre terapeutiske substanser kjent eller antatt å være effektive i behandlingen av angiogenese. Nyttige medikamenter i behandlingen av angiogenese inkluderer angiostatin, endostatin, vitaksin, bevasizumab, talidomid, batimastat, marimastat, karboksyamidotraizol, TNP-470, CM101, IFN- $\alpha$ , IL-12, blodplatefaktor-4, suramin,

SU5416, trombospondin, VEGFR, angiostatisk steroid, bruskeledet angiogeneseinhiberingsfaktor, matrisemetalloproteinaseinhibitorer, 2-metoksyestradiol, tekogalan, trombospondin, prolaktin,  $\alpha\beta_3$ -inhibitorer og linomid.

5 I visse utførelsesformer kan promedikamenter tilveiebragt av denne offentliggjøringen og farmasøytiske sammensetninger derav, administreres til en pasient for behandling av transplantatavvisning med en terapi eller andre terapeutiske substanser kjent eller antatt å være effektive i behandlingen av transplantatavvisning. Nyttige medikamenter i behandlingen av  
10 transplantatavvisning inkluderer kalsineurininhibitorer og takrolimus, mTOR-inhibitorer slik som sirolimus og everolimus, anti-proliferativer slik som azatioprin og mykofenolsyre; kortikosteroider slik som monoklone anti-IL2R $\alpha$ -reseptorantistoffer inkludert basiliksimab og daklizumab; og polyklone anti-T-cellantistoffer inkludert anti-tymosyttglobulin og antilymfosyttglobulin.

15 I visse utførelsesformer kan promedikamenter tilveiebragt av denne offentliggjøringen og farmasøytiske sammensetninger derav, administreres til en pasient for behandling av transplantatavvisning med en terapi eller andre terapeutiske substanser kjent eller antatt å være effektive i behandlingen av  
20 transplantatavvisning. Eksempler på legemidler nyttige i transplantatavvisning, inkluderer kortikosteroider slik som deksametason, prednisolon og prednison; globuliner slik som antilymfosyttglobulin og antitymosyttglobulin; makrolidimmunosuppressiver slik som sirolimus, takrolimus og everolimus; mitotiske inhibitorer slik som azatioprin, syklofosamid og metotreksat; monoklone  
25 antistoffer slik som basiliksimab, daklizumab, infliximab, muromonoab; fungale metabolitter slik som syklosporin; og andre slik som glatiramer og mykofenolat.

I visse utførelsesformer kan promedikamenter tilveiebragt av denne offentliggjøringen og farmasøytiske sammensetninger derav, administreres til en  
30 pasient for behandling av hjerteinsuffisiens i kombinasjon med en terapi eller andre terapeutiske substanser kjent eller antatt å være effektive i behandlingen av hjerteinsuffisiens. Nyttige medikamenter i behandling av hjerteinsuffisiens inkluderer antitensin-modulerende midler, vandrivende midler slik som furosemid, bumetan, hydroklorotiazid, klortalidon, klortiazid, spironolakton,  
35 eplerenon: betablokkere slik som bisoprolol, karvedilol og metoprolol; positive inotroper slik som digoksin, milrinon og dobutamin; alternativ vasodilatorer slik som isosorbid dinitrat/hydralazin; aldosteronreseptorantagonister; rekombinante



nevroenokrine hormoner slik som nesiritid; og vasopressinreseptorantagonister slik som tolvaptan og konivaptan.

5 I visse utførelsesformer kan promedikamenter tilveiebragt av denne offentliggjøringen og farmasøytiske sammensetninger derav, administreres til en pasient for behandling av mitokondriesykdom, slik som nevrodegenerativ lidelse i kombinasjon med en terapi eller annet terapeutisk middel kjent for eller antatt å være effektivt i behandlingen av mitokondriesykdom slik som en nevrodegenerativ lidelse. I visse utførelsesformer velges en nevrodegenerativ sykdom fra Alzheimers sykdom, Parkinsons sykdom, Huntingtons sykdom og amyotrofisk lateralsklerose.

10

Terapeutiske midler nyttige i behandlingen av Parkinsons sykdom, inkluderer domaminprekursorer slik som levodopa, dopaminagonister slik som bromokriptin, pergolid, pramipeksol og ropinirol, MAO-B-inhibitorer slik som selegilin, 15 antikolinerge medikamenter slik som benztropin, triheksyfenidyl, trisykliske antidepressiva slik som amitriptylin, amoksapin, klomipramin, desipramin, doksepin, imipramin, maprotilin, nortriptylin, protriptylin, amantadin, trimipramin, noen antihistaminer slik som difenhydramin; antiviralmedikamenter slik som amantadin; og betablokkere slik som propranolol.

20

Nyttige medikamenter i behandlingen av Alzheimers sykdom inkluderer rosiglitazon, roloxifen, vitamin E, donepezil, tacrin, rivastigmin, galantamin og memantin.

Nyttige medikamenter i behandling av symptomer på Huntingtons sykdom 25 inkluderer antipsykotika slik som haloperidol, klorpromazin og olanzapin for kontroll av hallusinasjoner, vrangforestillinger og voldsomme utbrudd; antidepressiva slik som fluoksetin, sertralin og nortriptylin for kontroll av depresjon og tvangshandlinger; beroligende midler slik som benzodiazepiner, paroksetin, venflaksin og betablokkere for kontroll av angst og chorea; 30 humørstabilisatorer slik som litium, valproat og karbamzepin for kontroll av mani og bipolær lidelse; og botulintoksin for kontroll av dystoni og kjevespenninger. Nyttige medikamenter for behandling av symptomer på Huntingtons sykdom inkluderer videre selektive serotoningjenopptaksinhibitorer (SSRI-er) slik som fluoksetin, paroksetin, sertralin, eskitalopram, sitalopram, fluvosamin; 35 norepinefrin- og serotoningjenopptaksinhibitorer (NSRI-er) slik som venlafaksin og duloksetin, benzodiazepiner slik som klonazepam, alprazolam, diazepam og lorazepam, trisykliske antidepressiva slik som amitriptylin, nortriptylin og

imipramin; og atypiske antidepressiva slik som busipiron, bupriopion og mirtazepin for behandling av symptomene på angst og depresjon; atomoksetin, dekstroamfetamin og modafinil for behandling av apatisymptomer; amantadin, memantin og tetrabenazin for behandling av choreasyptomer; citalopram, 5 atomoksetin, memantin, rivastigmin og donepezil for behandling av kognitive symptomer; lorazepam og trazedon for behandling av insomnia; valproat, karbamazepin og lamotrigin for behandling av symptomer på irritabilitet; SSRI-antidepressiva slik som fluoksetin, paroksetin, sertalin og fluvoksamin, NSRI-antidepressiva slik som venlafaxin og andre slik som mirtazepin, klomipramin, 10 lomotrigin, gabapentin, valproat, karbamazepin, olanzapin, risperidon og quetiapin for behandling av symptomer på tvangslidelser; haloperidol, quetiapin, klozapin, risperidon, olanzapin, ziprasidon og paripiprazol for behandling av psykose; og pramipeksol, levodopa og amantadin for behandling av rigiditet.

15 Nyttige medikamenter i behandling av ALS inkluderer riluzol. Andre medikamenter av potensiell nytte i behandling av ALS inkluderer metamantin, tamoksifen, talidomid, seftriakson, natriumfenylbutyrat, selekoksib, glatirameracetat, busipiron, kreatin, minosykline, coenzym Q10, oksandrolon, IGF-1, topiramet, xaliproden og indinavir. Medikamenter slik som baclofen og 20 diazepam kan være nyttige i behandling av spastisitet forbundet med ALS.

I visse utførelsesformer kan et MHF-promedikament av formel **(I)** eller en farmasøytisk sammensetning derav administreres til en pasient i kombinasjon med en terapi eller andre terapeutiske substanser kjent eller antatt å være 25 effektive i inhibering av TNF-funksjon.

Eksempler på legemidler kjent å inhibere TNF-funksjon, inkluderer infliksimab, adalimumab, etanercept, sertolizumab, goliimumab, pentoksifyllin, quanylhydrozon, talidomid, flavonoider slik som narigenin, resveratol og 30 quecetin, alkaloider slik som lykorine, terpener slik som akantodsfettsyrer slik som 13-HOA og retinoder slik som retionsyre.

#### Eksempler

35 De følgende eksemplene beskriver i detalj syntesen av MHF-promedikamenter av formel **(I)**, egenskaper ved MHF-promedikamenter av formel **(I)** og anvendelser av MHF-promedikamenter av formel **(I)**.

Generelle eksperimentelle protokoller

5 Alle reaksjonsmidler og løsemidler som ble kjøpt fra kommersielle leverandører, ble anvendt uten videre rense- eller manipuleringsprosedyrer.

10 Proton NMR (400 MHz)- og karbon NMR (125 MHz)-spektra ble registrert på et Varian AS 400 NMR-spektrometer utstyrt med en autotest- og databehandlingsprogramvare.  $\text{CDCl}_3$  (99,8 % D),  $\text{DMSO-d}^6$  (99,9 % D) eller  $\text{MeOH-d}^4$  (99,8 + % D) og acetonitril- $\text{d}^3$  ble anvendt som løsemidler med mindre annet oppgis.  $\text{CHCl}_3$ -,  $\text{DMSO-d}^5$ - eller  $\text{MeOH-d}^3$ -løsemiddelsignalene ble anvendt for kalibrering av de individuelle spektraene. Analytisk tynnlagskromatografi (TLC) ble gjennomført ved anvendelse av Whatman, Schleicher & Schuell TLC- og MK6F-silikagelplater (2,5 x 7,5 cm, 250  $\mu\text{m}$  lagtykkelse). Smeltepunkter ble 15 registrert i glasskapillarer ved bruk av et Stanford Research Systems (SRS) optimalt automatiserte smeltepunktsystem, S/N 78047. Analytisk LC/MS ble gjennomført på en Waters 2790-separasjonsmodul utstyrt med et Waters Micromass QZ-massespektrometer, en Waters 996-fotodiodedetektor og en Merck Chromolith UM2072-027- eller Phenomenex Luna C-18-analysekolonne. 20 Masseveiledet forberedende PLC-rensing av endelige forbindelser ble gjennomført ved bruk av et instrument utstyrt med en Waters 600-kontroller, ZMD-mikromassespektrometer, en Waters 2996-fotodiodestrålespredningsdetektor og en Water 2700-prøveadministrator. Acetonitril-/vanngradienter inneholdende 0,05 % maursyre ble anvendt som 25 eluater i både analytiske og tilberedende HPLC-eksperimenter. Isolering av forbindelser fra vandige løsemiddelblandinger, f.eks. acetonitril-/vann/0,05 % maursyre, ble oppnådd ved primær lyofilering (frysetørking) av de frosne løsningsene under redusert trykk ved romtemperatur, ved bruk av flere frysetørkere, slik som en Heto Drywinner DW 6-85-1, en Heto FD4 eller en 30 VIRTIS Freezemobile 25 ES utstyrt med høyvakuumpumper. Når den isolerte forbindelsen hadde ioniserbare funksjonelle grupper, slik som en aminosyregruppe eller en karboksylsyre, ble frysetørking gjennomført i nærvær av en lett overvekt av én mol (1 M) hydroklorsyre for å gi de rensede forbindelsene som de tilsvarende hydrokloridsaltene (HCl-salter) eller de 35 tilsvarende protonerte frie karboksylsyrene. Når den isolerte forbindelsen hadde ioniserbare funksjonelle grupper slik som en karboksylsyre, ble frysetørking gjennomført i nærvær av equimolmengder av natriumhydrogenkarbonat

(NaHCO<sub>3</sub>) for å gi de rensede forbindelsene som de tilsvarende natriumsaltene (Na-salter). Alternativt ble de isolerte materialene videre rensed ved skylling på silikagelkolonnekromatografi, alternativt ved bruk av Biotage forhåndspakkede silikagelpatroner. Egnede organiske løsemidler slik som etylacetat (EtOAc),

5 heksan (Hxn), n-heptan (Hptn) eller blandinger og/eller gradienter derav ble anvendt som eluater for å gi målsammensetningene som fargeløse, viskøse oljer eller faste stoffer etter fordampning av løsemidlene. Kjemiske navn ble generert med Chemistry 4-D Draw Pro, versjon 7.01c (Draw Chemical Structures Intelligently© 1993-2002) fra ChemInnovation Software, Inc., San Diego, USA).

10

Ikke-kommersielt tilgjengelig passende funksjonalisert eller substituert 2-haloacetamider, 2-haloeddiksyreavledninger, 2-hydroksyacetaamider, 2-hydroksyeddiksyreavledninger, acyloksyalkylhalider eller aryloksy- eller aryloksykarbonyloksyalkylhalider ble syntetisert fra kommersielt tilgjengelige startmaterialer og ved tilpasning av metoder velkjent i faget.

15

#### Generelle syntetiske prosedyrer

#### Generell prosedyre A: Nukleofilsubstituering av 1-haloacetamider eller 1-haloeddiksyreavledninger med monometylfumarat:

20

(2E)-3-(Metoksykarbonyl)prop-2-ansyre (metylhydrogenfumarat, MHF), (2E)-3-(tert-butoksykarbonyl)prop-2-ansyre (tert-butylhydrogenfumarat) eller fumarsyre (FA) (1,0-ekvivalenter) løses opp i 5–10 ml/3,0 mmol av et inaktivt løsemiddel slik

25 som N-metylpyrrolidon (NMP), N,N-dimetylformamid (DMF), N,N-dimetylacetamid (DMA, DMAc), acetonitril (MeCN), dimetylsulfoksid (DMSO), tetrahydrofuran (THF), toluene eller blandinger derav. Løsningen 0,8 til 1,2-ekvivalenter av en egnet uorganisk base slik som cesiumhydrogenkarbonat (CsHCO<sub>3</sub>), cesiumkarbonat (Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) eller kaliumkarbonat (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) tilsettes. Alternativt kan det anvendes 0,8 bis

30 1,2 ekvivalenter av et sølvsalt slik som sølv(I)oksid (Ag<sub>2</sub>O) eller sølv(I)karbonat (Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>); en uorganisk sekundær- eller tertiærbase slik som disykloheksylamin (DCHA), trietylamin (TEA), diisopropyletylamin (DIEA), tetrabutylammoniumhydroksid (TBAOH), amidin; eller en guanidinebasert base slik

35 som 1,5-diazabisyklo[4.3.0]non-5-en (DBN), 1,8-diazabisyklo[5.4.0]undec-7-en (DBU) eller 1,1,3,3-tetrametylguanidin (TMG). Det tilsvarende alkali-, sølv-, di-, tri- og tetraalkylammonium, amidin eller guanidsalt av monoalkylfumarat kan også gjennomføres. Løsningen røres i 10–60 min. ved romtemperatur etterfulgt av

tilsetning av 0,8–1,2 ekvivalenter av en egnet funksjonalisert 1-haloacetamid, 1-haloeddiksyreavledning, acyloksyaldkylhalid eller alky- eller aryloksykarbonyloksyalkylhalid. Reaksjonsblandingen røres over natten ved en temperatur mellom 40 og 100 °C. Etter nedkjøling til romtemperatur kan faste stoffer alternativt filtreres av og reaksjonsblandingen tynnes ut med én mol (1,0 mM) hydroklorisyre (HCl) og et egnet organisk løsemiddel, slik som metyl-*tert*-butyleter (MTBE), dietyleter (Et<sub>2</sub>O), etylacetat (EtOAc) eller blandinger derav. Etter fase separering ekstraheres den vandige fasen flere ganger med det samme løsemidlet. De kombinerte organiske ekstraktene vaskes med vann, saltvann og tørkes over vannfritt magnesiumsulfat (MgSO<sub>4</sub>). Etter filtrering fjernes de organiske løsemidlene under redusert trykk ved bruk av en rotasjonsfordamper. Hvis påkrevd, renses ubehandlede reaksjonsprodukter videre ved velkjente renseteknikker, slik som silikagelflashkolonnekromatografi (dvs. Biotage), masseveiledet reversfase forberedende HPLC/frysetørring, presipitasjon eller krystallisering.

Generell prosedyre B1: Aktivering av karboksylsyreavledninger med dehydreringsmidler for aminolyse eller alkoholyse

(2*E*)-3-(Metoksykarbonyl)prop-2-ansyre (metylhydrogenfumarat, MHF), 2-[(2*E*)-3-(metoksykarbonyl) prop-2-enoyloksy]eddiksyre (**23**) eller 2-[(2*E*)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]propansyre (**24**), (1,0 ekvivalenter) reageres ved temperaturer fra ca. 0 °C (isbad) til romtemperatur med 1,0–1,5 ekvivalenter med et karbodiimiddehydreringsmiddel, slik som 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)karbodiimid (EDAC, EDC), *N,N'*-diisopropylkarbodiimid (DIC), *N,N'*-disykloheksylkarbodiimid (DCC) i et inaktivt løsemiddel, slik som diklorometan (DCM), *N,N*-dimetylformamid (DMF), *N*-metylpyrrolidon (NMP) eller *N,N*-dimetylacetamid (DMA, DMAc) (ca. 3 ml/mmol). 1,0–1,5 ekvivalenter av et passende funksjonalisert amin eller 2-hydroksyacetamid oppløst i det samme løsemidlet og, alternativt, i nærvær av en katalyserende eller støkiometrisk mengde 4-(*N,N*-dimetylaminopyridin (DMAP) tilsettes ved en temperatur fra ca. 0 °C til romtemperatur. Når aminet er en saltform, kan en ekvimolar mengde av en organisk tertiærbase, slik som trietylamin (TEA) eller diisopropyletylamin (DIEA), tilsettes for å frigi aminbasen før koblingstrinnet. Reaksjonsblandingen røres om i 4 til 12 timer ved romtemperatur. Alternativt fjernes de organiske løsemidlene under redusert trykk ved bruk av en rotasjonsfordamper og restene tynnes med et egnet ekstraksjonsløsemiddel, slik som dietyleter (Et<sub>2</sub>O), metyl-

*tert*-butyleter (MTBE), etylacetat (EtOAc) eller andre. Prosedyrene som beskrives i prosedyre A for produktisolasjon og rensing, kan anvendes.

Generell prosedyre B2: Aktivering av karboksylsyreavledninger med kloreringsmidler og aminolyse

5

10

15

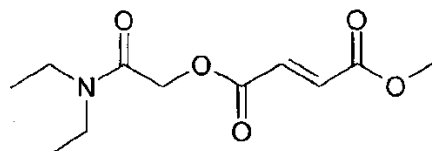
20

25

2-[(2*E*)-3-(Metoksykarbonyl) prop-2-enoyloksy]eddiksyre (**23**) eller -[(2*E*)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]propansyre (**24**) (1,0 ekvivalenter) reageres med oksalyklorid (1,0–1,5 ekvivalenter) i vannfri diklormetan (DCM), ca. 3 mL/mmol, ved en temperatur på ca. 0 °C (isbad) i nærvær av katalyserende mengde med *N,N*-dimetylformamid (DMF) i 1 til 3 timer. Løsemidlene fjernes under redusert trykk ved bruk av en rotasjonsfordamper og råmaterialet løses opp i vannfri diklormetan (DCM), ca. 3 ml/mmol. 1,0–1,5 ekvivalenter med en passende funksjonalisert nukleofil (primær- eller sekundæramin, eller alkohol) i vannfri diklormetan (DCM), ca. 3 ml/mmol, tilsettes dråpevis ved ca. 0 °C (isbad), alternativt i nærvær av en katalytisk mengde av 4-(*N,N*-dimetylamino)pyridin (DMAP). Når aminkomponenten er en saltform, tilsettes en ekvimolar mengde av en organisk tertiærbase, slik som trietylamin (TEA) eller diisopropyletylamin (DIEA) eller andre for å friggi aminbasen før koblingstrinnet. Alternativt fjernes de organiske løsemidlene under redusert trykk ved bruk av en rotasjonsfordamper og restene tynnes med et egnet ekstraksjonsløsemiddel, slik som dietyleter (Et<sub>2</sub>O), metyl-*tert*-butyleter (MTBE), etylacetat (EtOAc) eller andre. Prosedyrene som beskrives i prosedyre A for produktisolasjon og rensing, kan anvendes.

Eksempel 1

(*N,N*-Dietylkarbamoyl)metylmetyl (2*E*)but-2-en-1,4-dioat (1)



30

35

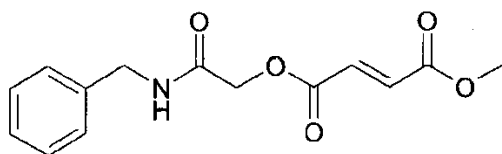
I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,39 g, 3,00 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med 2-klor-*N,N*-dietylacetamid (0,44 g, 3,00 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (0,69 g, 3,60 mmol) for å gi 0,37 g (51 % avkastning) av tittelforbindelsen (1) etter rensing av silikakolonnekromatografi (Biotage) ved bruk av en blanding med etylacetat

(EtOAc) og heksaner (1:1) som eluat. M.p.: 53–56 °C.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  6,99–6,90 (m, 2H), 4,83 (s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,39 (q,  $J=7,2$  Hz, 2H), 3,26 (q,  $J=7,2$  Hz, 2H), 1,24 (t,  $J=7,2$  Hz, 3H), 1,14 (t,  $J=7,2$  Hz, 3H). MS (ESI):  $m/z$  244,13 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

5

### Eksempel 2

#### Metyl [*N*-benzylkarbamoyl]metyl (2*E*)but-2-en-1,4-dioat (2)



10

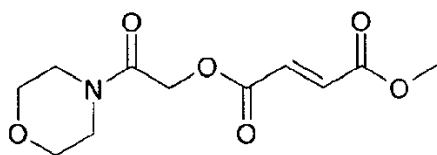
I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,50 g, 3,85 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med *N*-benzylkloracetamid (0,84 g, 4,61 mmol) i nærvær av  $\text{CsHCO}_3$  (0,89 g, 4,61 mmol) for å gi 0,56 g (53 % avkastning) av tittelforbindelsen **(2)** som et hvitt fast stoff etter rensing ved masseveiledet forberedende HPLC og frysetørking.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  7,36–7,26 (m, 5H), 6,94–6,88 (m, 2H), 6,19 (br s, 1H), 4,73 (s, 2H), 4,51 (d,  $J=5,6$  Hz, 2H), 3,81 (s, 3H). MS (ESI):  $m/z$  278,04 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

15

### Eksempel 3

20

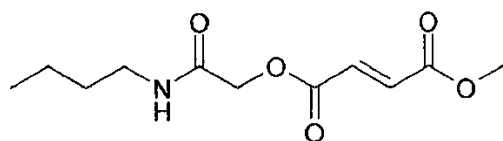
#### Metyl 2-morfolin-4-yl-2-oksoetyl (2*E*)but-2-en-1,4-dioat (3)



I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med 4-(kloracetyl)morfolin (0,75 g, 4,61 mmol) i nærvær av  $\text{CsHCO}_3$  (0,89 g, 4,61 mmol) for å gi 0,34 g (35 % avkastning) av tittelforbindelsen **(3)** som et hvitt fast stoff etter rensing ved masseveiledet forberedende HPLC og frysetørking. M.p.: 124 til 126 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  6,97–6,91 (m, 2H), 4,84 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,72–3,70 (m, 4H), 3,64–3,62 (m, 2H), 3,46–3,41 (m, 2H). MS (ESI):  $m/z$  258,04 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

30

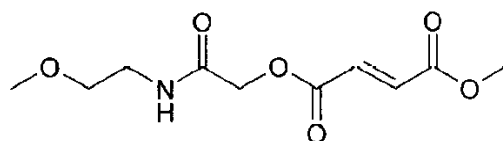
### Eksempel 4

(N-Butylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat (4)

5 I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med *N*-butylkloracetamid (0,69 g, 4,61 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmol) for å gi 0,19 g (21 % avkastning) av tittelforbindelsen **(4)** som et hvitt fast stoff etter rensing ved masseveiledet forberedende HPLC og frysetørking. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 10 400 MHz): δ 6,98–6,92 (m, 2H), 6,09 (br s, 1H), 4,68 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,34–3,29 (q, 2H, *J* = 6,4 Hz), 1,54–1,48 (m, 2H), 1,38–1,32 (m, 2H), 0,956–0,920 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H). MS (ESI): *m/z* 244,04 (M+H)<sup>+</sup>.

Eksempel 5

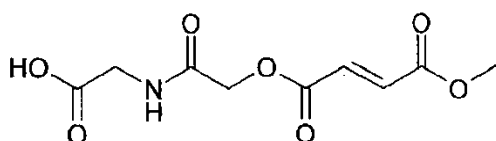
15

[N-(2-metoksyetyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat (5)

20 I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med *N*-(2-metoksyetyl)kloracetamid (0,69 g, 4,61 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmol) for å gi 0,07 g (8 % avkastning) av tittelforbindelsen (5) som et hvitt fast stoff etter rensing ved masseveiledet forberedende HPLC og frysetørking. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 25 400 MHz): δ 6,94–6,92 (m, 2H), 6,46 (br s, 1H), 4,68 (s, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,52–3,46 (m, 4H), 3,36 (s, 3H). MS (ESI): *m/z* 245,98 (M+H)<sup>+</sup>.

Eksempel 6

30

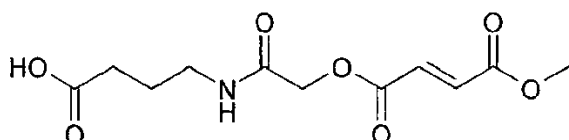
2-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksyl]acetylamino}eddiksyre (6)



I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,68 g, 5,26 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med *tert*-butyl 2-(2-kloracetylamino)acetat (0,91 g, 4,38 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (1,19 g, 6,13 mmol) av det *tert*-butyl-beskyttede mellomstadiet og deretter renses på silikagelkolonnekromatografi (Biotage) ved bruk av en blanding av etylacetat (EtOAc) og heksaner (1:2 til 2:3 til 1:1) som eluat. Det rensede produktet ble behandlet med 50 % trifluoreddiksyre (TFA) i diklormetan (DCM). Fjerning av løsemidler ga 0,13 g (12 % avkastning) av tittelforbindelsen **(6)**. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ 6,96–6,93 (m, 2H), 4,74 (s, 2H), 3,98–3,95 (m, 2H), 3,81 (s, 3H). MS (ESI): *m/z* 246,00 (M+H)<sup>+</sup>, 244,02 (M-H)<sup>-</sup>.

#### Eksempel 7

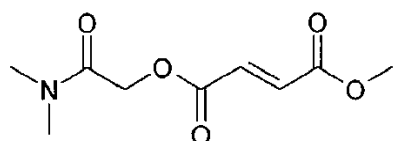
#### 4-{2-[(2*E*)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]acetylamino}smørsyre (7)



I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,56 g, 4,33 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med *tert*-butyl 4-(2-kloracetylamino)butan (0,85 g, 3,61 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (0,98 g, 5,05 mmol) av det *tert*-butyl-beskyttede mellomstadiet og deretter renses ved silikagelkolonnekromatografi (Biotage) ved bruk av en blanding av etylacetat (EtOAc) og heksaner (1:1) som eluat. Det rensede produktet ble behandlet med 50 % trifluoreddiksyre (TFA) i diklormetan (DCM). Fjerning av løsemidler ga 0,45 g (46 % avkastning) av tittelforbindelsen (7). <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ 6,94–6,91 (m, 2H), 4,65 (s, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,28 (t, *J*= 6,8 Hz, 2H), 2,33 (t, *J*= 7,2 Hz, 2H), 1,81 (p, *J*= 7,1 Hz, 2H). MS (ESI): *m/z* 274,03 (M+H)<sup>+</sup>, 272,06 (M-H)<sup>-</sup>.

#### Eksempel 9

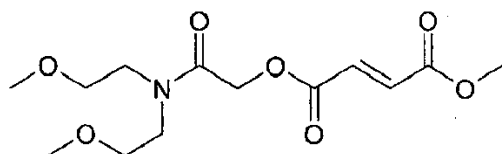
#### (*N,N*-Dietylkarbamoyl)metylmetyl (2*E*)but-2-en-1,4-dioat (9)



I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med *N,N*-dimetylkloracetamid (0,56 g, 4,61 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmol). Råmaterialet ble felt ut fra en blanding av etylacetat (EtOAc) og heksaner (Hxn) (1:1) for å gi et hvitt fast stoff. Dette faste stoffet ble videre løst opp i diklormetan (DCM) og det organiske laget vasket med vann. Etter fjerning av løsemidlene ble 0,55 g (67 % avkastning) av tittelforbindelsen (**9**) oppnådd som et fast hvitt stoff. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,98–6,90 (m, 2H), 4,84 (s, 2H), 3,80 (s, 3H), 2,99–2,97 (2s, 6H). MS (ESI): *m/z* 216 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Eksempel 11

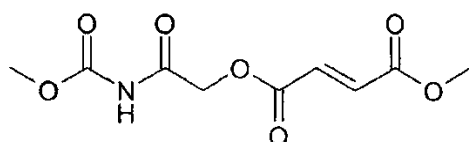
##### bis-(2-metoksyetyl-amino)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat (11)



I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med bis-(2-metoksyletyl)-kloracetamid (0,96 g, 4,61 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmol) for å gi 0,53 g (46 % avkastning) av tittelforbindelsen (**11**) som et hvitt fast stoff etter rensing ved masseveiledet forberedende HPLC og frysetørking. M.p.: 79–82 °C. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,98–6,88 (m, 2H), 4,98 (s, 2H), 3,8 (s, 3H), 3,57–3,50 (m, 8H), 3,41 (s, 3H), 3,31 (s, 3H). MS (ESI): *m/z* 304,14 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Eksempel 12

##### [N-(metoksykarbonyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat (12)



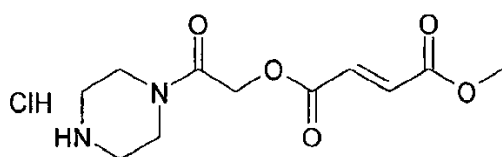
I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med metyl-*N*-(kloracetyl)karbammat (0,69 g, 4,61 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmol). Råmaterialet ble felt ut fra en dietyleter (Et<sub>2</sub>O)-oppløsning. Det

faste stoffet ble filtrert av, vasket flere ganger med diklormetan (DCM) og tørket i vakuum for å gi 0,19 g (21 % avkastning) av tittelforbindelsen **(12)** som et fast hvitt stoff.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  6,99–6,91 (m, 2H), 5,23 (s, 2H), 3,81 (s, 6H). MS (ESI):  $m/z$  246,09 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ), 268,00 ( $\text{M}+\text{Na}^+$ ) $^+$ .

5

#### Eksempel 14

#### Metyl 2-okso-2-piperazinyletyl (2E)but-2-en-1,4-dioathydroklorid (14)



10

I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (1,00 g, 7,68 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med 1-(*tert*-butyloksykonyl)-4-kloracetyl piperazin (2,42 g, 9,22 mmol) i nærvær av  $\text{CsHCO}_3$  (1,78 g, 9,22 mmol). Etter opparbeiding og fjerning av løsemidlet ble råmaterialet oppnådd som et fast hvitt stoff. Det faste stoffet ble reagert ved romtemperatur med 15 ml av en 4 mol (4 M) oppløsning med hydrogenklorid (HCl) i 1,4-dioksan. Etter fjerning av løsemidlene ble de faste hydrokloridsaltene videre rensset av masseveiledet forberedende HPLC for å gi 0,93 g (41 avkastning) av tittelforbindelsen **(14)** som et fast hvitt stoff etter frysetørking av løsemidlene i nærvær av en for stor mengde vandig 1 normal (1 N) hydroklorosyre.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz):  $\delta$  6,93–6,86 (m, 2H), 4,92 (s, 2H), 3,70–3,63 (m, 7H), 3,23 (t,  $J = 5,2$  Hz, 2H), 3,17 (t,  $J = 6$  Hz, 2H). MS (ESI):  $m/z$  257,13 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

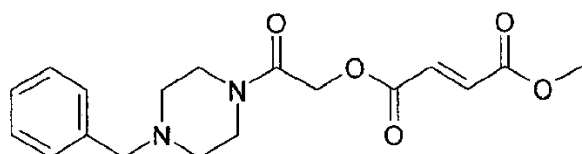
15

20

25

#### Eksempel 15

#### Metyl 2-(4-benzylpiperazinyl)-2-oksoetyl (2E) but-2-en-1,4-dioat (15)



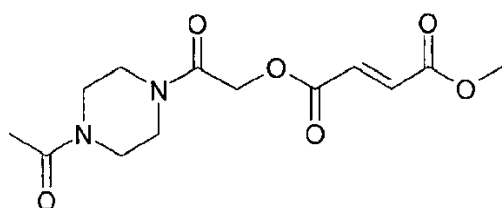
30

Metyl 2-okso-2-piperazinyletyl (2E)but-2-en-1,4-dioathydroklorid **(14)** (0,50 g, 1,71 mmol) ble reagert ved ca. 0 °C med benzylbromid (BnBr) (0,243 ml, 0,35 g, 2,05 mmol) og diisopropyletylamin (DIEA) (1,00 ml, 0,74 g, 5,76 mmol) i diklormetan (DCM)

etterfulgt av oppvarming til romtemperatur. Etter vandig opparbeiding ble råvareproduktet rensset av masseveiledet forberedende HPLC for å gi 0,18 g (27 % avkastning) av tittelforbindelsen (**15**) som et hvitt stoff.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  7,08–7,01 (m, 5H), 6,72–6,71 (m, 2H), 4,60 (s, 2H), 3,58–3,57 (s, 3H), 3,23–3,19 (br s, 2H), 3,30 (s, 2H), 3,1,19–3,11 (br s, 2H), 2,23 (br s, 4H); MS (ESI)  $m/z$  347,13 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

#### Eksempel 16

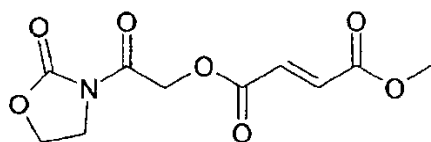
#### 10 2-(4-acetylpiperazinyl)-2oksoetylmetyl (2E)but-2en-1,4-dioat (16)



Metyl 2-okso-2-piperazinyletyl (2E)but-2-en-1,4-dioathydroklorid (14) (0,20 g, 0,68 mmol) ble reagert med acetyl med acetylklorid (AcCl) (0,60 mL, 0,66 g, 0,84 mmol) og diisopropyletylamin (0,70 ml, 0,52 g, 4,0 mmol) i diklormetan (DCM). Etter vandig opparbeiding, ble råvareproduktet rensset av silikagelflashkromatografi for å gi 0,12 g (54 % avkastning) av tittelforbindelsen (**16**) som et hvitt stoff.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  6,98–6,91 (m, 2H), 4,86 (s, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,66 3,70 (m, 4H), 3,50–3,40 (m, 2H), 2,14 (s, 3H). MS (ESI):  $m/z$  299,12 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

#### Eksempel 17

#### 25 Metyl 2-okso-2-(2-okso(1,3-oksazolidin-3yl)etyl (2E)but-2en-1,4-dioat; (17)



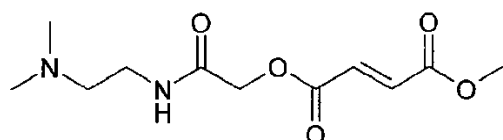
I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med 3-(kloracetyl)-1,3-oksazolidin-2-on (0,75 g, 4,61 mmol) i nærvær av  $\text{CsHCO}_3$  (0,89 g, 4,61 mmol) for å gi 0,30 g (30 % avkastning) av tittelforbindelsen (**17**) som et hvitt fast stoff etter rensing ved masseveiledet forberedende HPLC og frysetørking.  $^1\text{H}$

NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,97–6,92 (m, 2H), 5.32 (s, 2H), 4.53 (t, *J*= 8 Hz, 2H), 4.05 (t, *J*= 8.0 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H). MS (ESI); *m/z* 258,20 (M+H)<sup>+</sup>.

### Eksempel 18

5

{*N*-[2-(Dimetylamino)etyl]karbamoyl}metylmetyl (2*E*)but-2en-1,4 dioat (18)



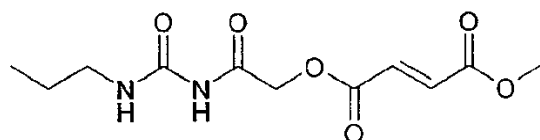
I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med *N*-dimetylenetylendiamonikloracetamid (0,75 g, 4,61 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmol) for å gi 0,02 g (2 % avkastning) av tittelforbindelsen (**18**) som et hvitt fast stoff etter rensing ved masseveiledet forberedende HPLC og frysetørking. <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ 8,27, (s, 1H), 6,87–6,78, (m, 2H), 4,63 (s, 2H), 3,68 (s, 3H), 3,51 (t, *J*= 6,2 Hz, 2H), 3,17 (t, *J*= 6,0 Hz, 2H), 2,76 (s, 6H). MS (ESI); *m/z* 259,14 (M+H)<sup>+</sup>.

15

### Eksempel 19

20

Metyl {*N*-[(propylamino)karbonyl]karbamoyl}metyl (2*E*)but-2en-1,4-dioat (19)



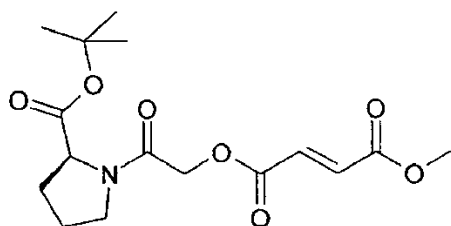
I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med 1-(2-kloroacetyl)-3-propylurea (0,82 g, 4,60 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmol) for å gi 0,02 g (2 % avkastning) av tittelforbindelsen (**19**) som et hvitt fast stoff. Tilsetning av metanol (MeOH) ga 0,49 g (48 % avkastning) med hvitt fast stoff. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,90–6,99 (m, 2H), 4,77 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,25–3,24 (q, 2H, *J*= 5,6 Hz), 1,57–1,55 (q, 2H, *J*= 7,2 Hz), 0,95–0,91 (t, 3H, *J*= 7,6 Hz). MS (ESI): *m/z* 273,08 (M+H)<sup>+</sup>.

25

30

### Eksempel 20

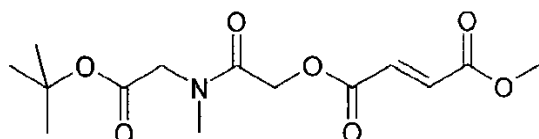
2-{(2*S*)-2-[(*tert*-Butyl)oksykarbonyl]pyrrolidinyl}-2-oksoetylmetyl (2*E*)but-2-en-1,4-dioat (20)



5 I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med *tert*-butyl (2*S*)-1-(2-kloroacetyl)pyrrolidin-2-karboksylat (0,82 g, 4,61 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmol) for å gi 0,44 g (34 % avkastning) av tittelforbindelsen **(20)** som et hvitt fast stoff etter rensing ved masseveiledet forberedende HPLC  
10 og frysetørking. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, all gjennomstrømningsmålinger): δ 6,97–6,90 (m, 2H), 4,91–4,55 (m, 2H), 4,44–4,29 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,61–3,58 (m, 2H), 2,23–2,03 (br m, 4H), 1,54–1,46 (s, 9H). MS (ESI): *m/z* 342,16 (M+H)<sup>+</sup>, 364,09 (M+Na)<sup>+</sup>.

15 Eksempel 21

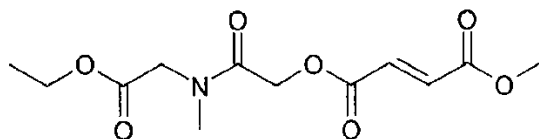
(*N*-{[*tert*-Butyl)oksykarbonyl]metyl}-*N*-metylkarbamoyl)metylmetyl (2*E*)but-2-en-1,4-dioat (21)



20 I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med *tert*-butyl 2-(2-klor-*N*-metylacetylamino)acetat (1,02 g, 4,60 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmol) for å gi 0,24 g (21 % avkastning) av tittelforbindelsen **(21)** som et  
25 hvitt fast stoff etter rensing ved silikagelflashkromatografi (Biotage). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, alle gjennomstrømningsmålinger): δ 7,00–6,93 (m, 2H), 4,90–4,79 (2s, 2H), 4,03–3,89 (2s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,4–2,99 (2S, 3H), 1,45 (S, 9H). MS (ESI): *m/z* 316,13 (M+H)<sup>+</sup>.

30 Eksempel 22

{N-(etoksykarbonyl)metyl]-N-metylkarbamoyl}metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat (22)



5 I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med etyl-2-(2-klor-N-metylacetylamino)acetat (0,89g, 4,60 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmol) for å gi 0,30 g (27 % avkastning) av tittelforbindelsen **(22)** som et hvitt fast stoff etter rensing ved silikagelflashkromatografi (Biotage). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, alle gjennomstrømningsmålinger): δ 7,00–6,93 (m, 2H), 4,90–4,79 (2s, 2H), 4,03–3,89 (2s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,4–2,99 (2S, 3H), 1,45 (S, 9H). MS (ESI): *m/z* 316,13 (M+H)<sup>+</sup>.  
 10 (Referanse)

15 Eksempel 23

2-[(2E)-3-(Metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]eddiksyre (23)

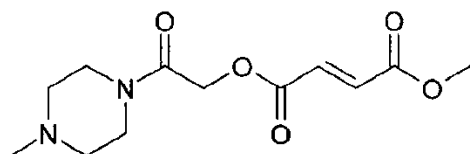
I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (6,91 g, 53,12 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med *tert*-butyl 2-kloreddiksyre (9,48 ml, 10,0 g, 66,4 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (15,41 g, 79,68 mmol) for å gi 13,11 g (81 % avkastning) av mellomstadiester som et hvitt fast stoff etter utfelling fra en konsentrert dietyleter (Et<sub>2</sub>O)-oppløsning. Materialet var tilstrekkelig rent for anvendelse i det neste trinnet. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,95–6,92 (m, 2H), 4,61 (s, 2H), 3,81 (s, 3H), 1,47 (s, 9H). Materialet ble løst opp i 50 ml med 50 volumprosent trifluoreddiksyre (TFA) i diklormetan (DCM) og reagert over natten ved romtemperatur. Etter fjerning av løsemidlene ble råmaterialet felt ut fra en blanding av aceton og heksaner (1:3) for å gi 12,3 g (92 % avkastning) av tittelforbindelsen **(23)** som et hvitt fast stoff. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7,02–6,92 (m, 2H), 4,79 (s, 2H), 3,82 (s, 3H). MS (ESI): *m/z* 189,07 (M+H)<sup>+</sup>. MS (ESI): *m/z* 189,07 (M+H)<sup>+</sup>.  
 20  
 25  
 30

(Referanse)

Eksempel 24

rac-2-1(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksylpropansyre (24)

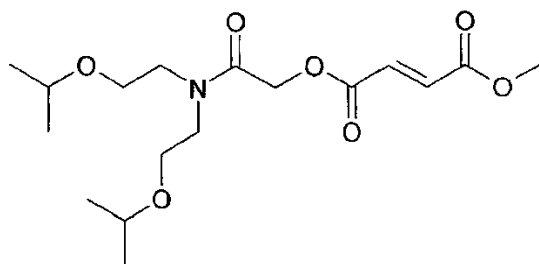
I henhold til generell prosedyre A ble metylhydrogenfumarat (MHF) (4,68 g, 36,0 mmol) oppløst i NMP reagert ved ca. 55 °C med rac-*tert*-butyl 2-brompropionsyre (4,98 ml, 6,27 g, 30,0 mmol) i nærvær av CsHCO<sub>3</sub> (6,40 g, 33,0 mmol) for å gi mellomstadiesteren. Materialet var tilstrekkelig rent for anvendelse i det neste trinnet. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,93–6,88 (m, 2H), 5,02 (q, *J*= 7,2 Hz, 2H), 3,79 (s, 3H), 1,49 (d, *J*= 7,2 Hz, 3H), 1,44 (s, 9H). Materialet ble løst opp i 50 ml med 25 volumprosent trifluoreddiksyre (TFA) i diklormetan (DCM) og reagert over natten ved romtemperatur. Etter fjerning av løsemidlene ble tittelforbindelsen (**24**) oppnådd som et hvitt fast stoff som var tilstrekkelig rent for anvendelse i senere trinn. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,97–6,92 (m, 2H), 5,22 (q, *J*= 7,2 Hz, 2H), 3,82 (s, 3H), 1,60 (d, *J*= 7,2 Hz, 3H).

Eksempel 25Metyl 2-(4-metylpiperazinyl)-2-oksoetyl (2E) but-2-en-1,4-dioat (25)

I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]eddiksyre (**23**) (0,50 g, 2,65 mmol) aktivert med N-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-etylkarbodiimidhydroklorid (EDAC) (0,60 g, 3,18 mmol) i 10 ml med diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C. *N*-metylpiperazin (0,353 ml, 0,31g, 3,18 mmol) og 4-(*N,N*-dimetyl)aminopyridin (DMAP) (0,40 g, 3,18 mmol) ble lagt til den aktiverte karboksylsyren. Etter opparbeiding og isolering ga rensing av masseveiledet forberedende HPLC 0,09 g (13 % avkastning) av tittelforbindelsene (**25**) som et hvitt fast stoff etter frysetørking. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,93–6,78 (m, 2H), 4,77 (s, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,56–3,54 (m, 2H), 3,35–3,25 (m, 2H), 2,37–2,33 (m, 4H), 2,31 (s, 3H). MS (ESI): *m/z* 271,13 (M+H)<sup>+</sup>.

Eksempel 26{*N,N*-bis[2-(metyletoksyetyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat (26)

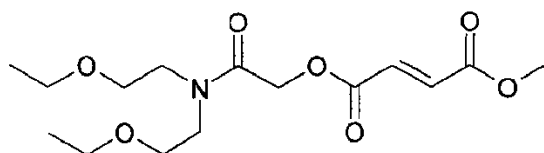




I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloxy]eddiksyre (**23**) (0,50 g, 2,65 mmol) aktivert med N-(3-dimetylaminopropyl)-N-etylkarbodiimidhydroklorid (EDAC) (0,60 g, 3,18 mmol) i 10 ml med diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C. bis(2-isopropoksyetyl)amin (0,60 g, 3,18 mmol) og 4-(N,N-dimetyl)aminopyridin (DMAP) (0,40 g, 3,18 mmol) ble lagt til den aktiverte karboksylsyren. Etter opparbeiding og isolering, og rensing på silikagelflashkolonnekromatografi (Biotage) ved bruk av etylacetat (EtOAc) og heksaner (1:1), ble det oppnådd 0,30 g (32 % avkastning) av tittelforbindelsen (**26**) som et hvitt fast stoff etter nedkjøling i kjøleskap. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,95–6,86 (m, 2H), 4,98 (s, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,50–3,47 (m, 8H), 1,10–1,05 (m, 12H). MS (ESI): *m/z* 360,16 (M+H)<sup>+</sup>.

#### 15 Eksempel 27

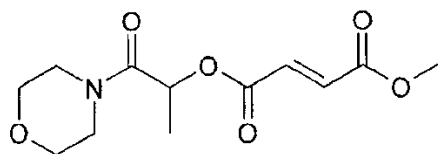
##### [N,N-bis(2-etoksyetyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat (27)



20 I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloxy]eddiksyre (**23**) (0,80 g, 6,14 mmol) aktivert med N-(3-dimetylaminopropyl)-N'-etylkarbodiimidhydroklorid (EDAC) (1,40 g, 7,37 mmol) i 20 ml med diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C. bis(2-etoksyetyl)aminhydroklorid (1,18 g, 7,37 mmol) og diisopropyletylamin (DIEA) (1,34 ml, 0,99 g, 7,67 mmol) ble tilsatt til den aktiverte karboksylsyren. Etter opparbeiding og isolering, og rensing på silikagelflashkolonnekromatografi (Biotage) ved bruk av etylacetat (EtOAc) og heksaner (1:1), ble det oppnådd 0,30 g (15 % avkastning) av tittelforbindelsen (**27**) som et hvitt fast stoff. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,97 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 5,01 (s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,56–3,43 (m, 12H), 1,19 (q, *J* = 7,6 Hz, 6H). MS (ESI): *m/z* 332,20 (M+H)<sup>+</sup>.

Eksempel 28Metyl 1-metyl-2-morfolin-4-yl-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat

5



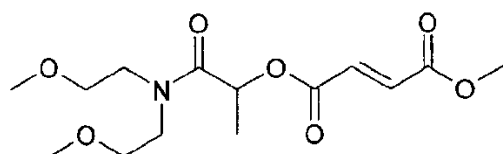
10

I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]propansyre (**24**) (0,48 g, 2,40 mmol) aktivert med N-(3-dimetylaminopropyl)-N-etylkarbodiimidhydroklorid (EDAC) (0,64 g, 3,36 mmol) i 10 ml med diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C. Morfolin (0,25 ml, 0,25 g, 2,88 mmol) ble tilsatt den aktiverte karboksylsyren. Etter opparbeiding og isolering, ga rensing av masseveiledet forberedende HPLC 0,22 g (33 % avkastning) av tittelforbindelsene (**28**) som et hvitt fast stoff etter frysetørking. M.p.: 70–73 °C. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,95–6,89 (m, 2H), 5,45 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,71–3,68 (m, 4H), 3,58–3,54 (m, 4H), 1,48 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H). MS (ESI): *m/z* 272,13 (M+H)<sup>+</sup>.

15

Eksempel 29

20

[N,N-bis(2-metoksyetyl)karbamoyl]etylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat (29)

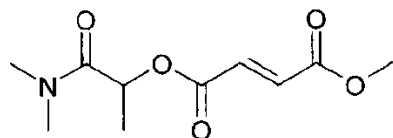
25

I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]propansyre (**24**) (0,48 g, 2,40 mmol) aktivert med N-(3-dimetylaminopropyl)-N-etylkarbodiimidhydroklorid (EDAC) (0,64 g, 3,36 mmol) i 10 ml med diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C. bis(2-metoksyetyl)amin (0,42 ml, 0,37 g, 2,88 mmol) ble tilsatt den aktiverte karboksylsyren. Etter opparbeiding og isolering ga rensing av masseveiledet forberedende HPLC 0,29 g (38 % avkastning) av tittelforbindelsene (**29**) som et hvitt fast stoff etter frysetørking. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,94–6,88 (m, 2H), 5,52 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,57–3,49 (m, 8H), 3,33–3,54 (2s, 6H), 1,48 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). MS (ESI): *m/z* 318,13 (M+H)<sup>+</sup>.

30

Eksempel 30(*N,N*-dimetylkarbamoyl)etylmetyl (*2E*)but-2-en-1,4-dioat (30)

5



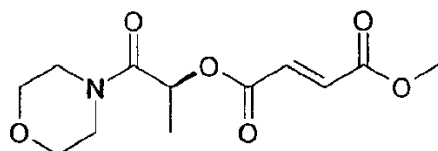
10

15

I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(*2E*)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]propansyre (**24**) (0,48 g, 2,40 mmol) aktivert med *N*-(3-dimetylaminopropyl)-*N*-etylkarbodiimidhydroklorid (EDAC) (0,64 g, 3,36 mmol) i 10 ml med diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C. *N,N*-dimetylaminhydroklorid (0,23 g, 2,88 mmol) og diisopropyletylamin (DIEA) (0,63 ml, 0,467 g, 3,61 mmol) ble tilsatt den aktiverte karboksylsyren. Etter opparbeiding og isolering ga rensing av masseveiledet forberedende HPLC 0,25 g (46 % avkastning) av tittelforbindelsene (**30**) som et hvitt fast stoff etter frysetørking. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,93–6,86 (m, 2H), 5,46 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,06–2,97 (m, 6H), 1,47 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). MS (ESI): *m/z* 230,13 (M+H)<sup>+</sup>.

Eksempel 31(*1S*)-1-Metyl-2-morfolin-4-yl-2-oksoetylmetyl (*2E*)but-2-en-1,4-dioat (31)

20



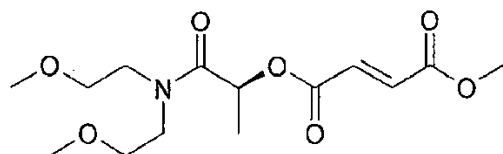
25

30

I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(*2E*)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksyre (metylhydrogenfumarat, MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) aktivert med *N*-(3-dimetylaminopropyl)-*N*-etylkarbodiimidhydroklorid (EDAC) (0,81 g, 4,20 mmol) i 10 ml med diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C. (*2S*)-2-hydroksy-1-morfolin-4yl-propan-1-on (0,48 g, 3,07 mmol) og 4-(*N,N*-dimetyl)aminopyridin (DMAP) (0,40 g, 3,18 mmol) ble lagt til den aktiverte karboksylsyren. Etter opparbeiding og isolering samt rensing på silikaflashkolonnekromatografi (Biotage) ved bruk av etylacetat (EtOAc) og heksaner (ca. 3:2) ble det oppnådd 0,42 g (51 % avkastning) av tittelforbindelsen (31) som et fast hvitt stoff. M.p.: 79–82 °C. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>CN, 400 MHz): δ 6,90–6,81 (m, 2H), 5,44 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,65–3,60 (m, 4H), 3,51–3,50 (m, 4H), 1,42 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H). MS (ESI): *m/z* 272,05 (M+H)<sup>+</sup>.

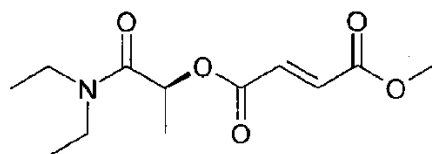
Eksempel 32(1S)-1-[N,N-bis(2-metoksetyl)karbamoyl]etylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat (32)

5



I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enolsyre (metylhydrogenfumarat, MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) aktivert med N-(3-dimetylaminopropyl)-N-etylkarbodiimidhydroklorid (EDAC) (0,88 g, 4,60 mmol) i 20 ml med diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C. (2S)-2-hydroksy-N,N-bis(2-metoksyetyl)propanamid (0,63 g, 3,07 mmol) og 4-(N,N-dimetyl)aminopyridin (DMAP) (0,40 g, 3,18 mmol) ble lagt til den aktiverte karboksylsyren. Etter opparbeiding og isolering samt rensing på silikagelflashkolonnekromatografi (Biotage) ved bruk av etylacetat (EtOAc) og heksaner (2:1) ble det oppnådd 0,16 g (14 % avkastning) av tittelforbindelsen **(32)** som en klar olje. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,93–6,77 (m, 2H), 5,53 (q, J = 6,4 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,58–3,50 (m, 8H), 3,47–3,32 (2s, 6H), 1,49 (d, J = 6,8 Hz, 3H). MS (ESI): m/z 318,05 (M+H)<sup>+</sup>.

20

Eksempel 33(1S)-1-(N,N-dietylkarbamoyl)etylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat (33)

25

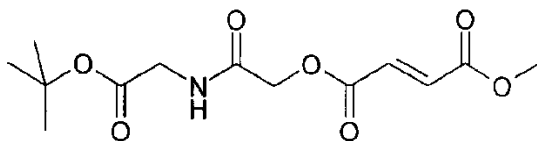
30

I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enolsyre (metylhydrogenfumarat, MHF) (0,50 g, 3,84 mmol) aktivert med N-(3-dimetylaminopropyl)-N-etylkarbodiimidhydroklorid (EDAC) (0,88 g, 4,60 mmol) i 12 ml med diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C. (2S)-N,N-dietyl-2-hydroksypropanamid (0,44 g, 3,07 mmol) (0,44 g, 3,07 mmol) og 4-(N,N-dimetyl)aminopyridin (DMAP) (0,40 g, 3,18 mmol) ble tilsatt den aktiverte karboksylsyren. Etter opparbeiding og isolering, og rensing på masseveiledet forberedende HPLC/frysetørring og på silikagelflashkolonnekromatografi (Biotage) ved bruk av etylacetat (EtOAc) og heksaner ga 0,17 g (18 % avkastning) av tittelforbindelsen (33) som en klar olje.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  6,95–6,87 (m, 2H), 5,43 (q,  $J = 6,8$  Hz, 1H) 3,80 (s, 3H), 3,50–3,26 (m, 4H), 1,49 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H), 1,26 (t,  $J = 6,8$ , 3H), 1,12 (t,  $J = 7,6$  Hz, 3H). MS (ESI):  $m/z$  258,06 (M+H) $^+$ .

5 Eksempel 34

(*N*-{[(*tert*-butyl)oksykarbonyl]metyl}karbamoyl)metylmetyl (*2E*)but-2-en-1,4-dioat (34)



10

I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(*2E*)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]eddiksyre (**23**) (0,50 g, 2,65 mmol) aktivert med oksalylklorid (0,30 ml, 0,40 g, 3,18 mmol) i diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C og i nærvær av en katalytisk mengde med *N,N*-dimetylformamid (DMF). En DCM-oppløsning av den nytilberedte rå syrekloriden ble reagert ved ca. 0 °C (isbad) md glycin-*tert*-butylester (H-GlyOtBu) (0,53 g, 3,18 mmol) i DCM og i nærvær av 4-(*N,N*-dimetyl)aminopyridin (DMAP) (0,40 g, 3,18 mmol). Etter vandig opparbeiding og isolering ga rensing på silikagelflashkromatografi 0,16 g (20 % avkastning av tittelforbindelsen (**34**) som et halvfast materiale.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz, alle gjennomstrømningsmålinger):  $\delta$  6,95–6,69 (m, 2H), 6,63 (br. m, 1H), 4,73 (s, 2H), 3,99 (d,  $J = 4,8$  Hz, 2H), 3,83 (s, 3H), 1,48 (s, 9H). MS (ESI):  $m/z$  324,05 (M+Na $^+$ ) $^+$ .

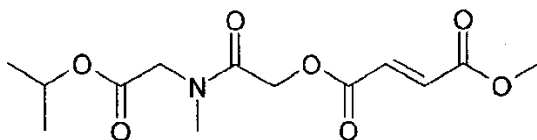
15

20

Eksempel 35

25

Metyl (*N*-metyl-*N*-{[(metyletyl)oksykarbonyl]metyl}karbamoyl)metyl (*2E*)but-2-en-1,4-dioat (35)



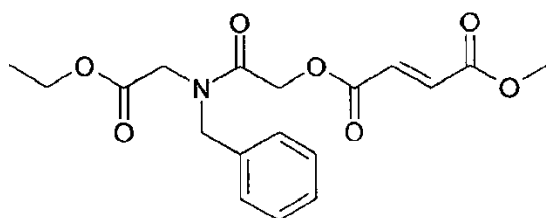
30

I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(*2E*)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]eddiksyre (23) (0,50 g, 2,65 mmol) aktivert med oksalylklorid (0,30 ml, 0,40 g, 3,18 mmol) i diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C og i nærvær av en katalytisk mengde med *N,N*-dimetylformamid (DMF). En DCM-oppløsning av den nytilberedte rå syrekloriden ble reagert ved ca. 0 °C (isbad) med sarkosinisopropylester (H-Sar-OiPr) (0,41 g, 3,18 mmol) og

diisopropyletylamin (DIEA) (0,41 ml, 0,304 g, 2,35 mmol) i DCM og i nærvær av 4-(*N,N*-dimetyl)aminopyridin (DMAP) (0,10 g, 0,82 mmol). Etter vandig opparbeiding og isolasjon ga rensing på silikagelflashkromatografi 0,214 g (27 % avkastning) av tittelforbindelsen (35) som et blekgult fast stoff. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, alle gjennomstrømningsmålinger): δ 6,94–6,90 (m, 2H), 5,09–4,99 (m, 1H), 4,89–4,79 (2s, 2H), 4,07–3,95 (2s, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,04–2,98 (2s, 3H), 1,27–1,21 (m, 6H). MS (ESI): *m/z* 302,04 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Eksempel 36

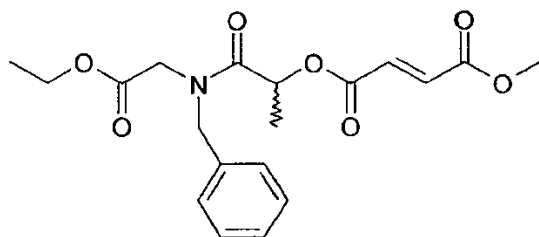
{*N*-[(Etoksykarbonyl)metyl]-*N*-benzylkarbamoyl}metylmetyl (2*E*)but-2-en-1,4-dioat (36)



I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(2*E*)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]eddiksyre (**23**) (0,50 g, 2,65 mmol) aktivert med oksalyklorid (0,27 ml, 0,40 g, 3,15 mmol) i diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C og i nærvær av en katalytisk mengde med *N,N*-dimetylformamid (DMF). En DCM-oppløsning av den nytillberedte rå syrekloriden ble reagert ved ca. 0 °C (isbad) med *N*-benzylglycinyylester (Bn-Gly-OEt) (0,61 g, 3,18 mmol) i DCM og en for stor mengde diisopropyletylamin (DIEA) i nærvær av en katalyserende mengde 4-(*N,N*-dimetyl)aminopyridin (DMAP). Etter vandig opparbeiding og isolasjon ga rensing på silikagelflashkromatografi 0,12 g (13 % avkastning) av tittelforbindelsen (**36**) som et hvitt fast stoff. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, alle gjennomstrømningsmålinger): δ 7,37–7,20 (m, 5H), 6,97–6,86 (m, 2H), 4,94–4,83 (2s, 2H), 4,63–4,55 (2s, 2H), 4,18–4,14 (m, 2H), 4,04–3,88 (2s, 2H), 3,79 (s, 3H), 1,24–1,20 (m, 3H). MS (ESI): *m/z* 364,15 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Eksempel 37

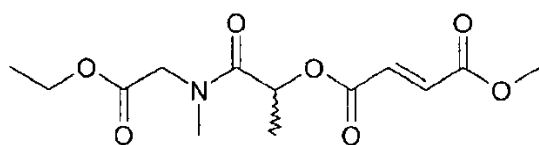
{*N*-[(Etoksykarbonyl)metyl]-*N*-benzylkarbamoyl}metylmetyl (2*E*)but-2-en-1,4-dioat (37)



I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]propansyre (**24**) (0,50 g, 2,47 mmol) aktivert med oksalyklorid (0,25 ml, 0,35 g, 2,71 mmol) i diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C og i nærvær av en katalytisk mengde med *N,N*-dimetylformamid (DMF). En DCM-oppløsning av den nytilberedte rå syrekloriden ble reagert ved ca. 0 °C (isbad) med *N*-benzylglycinyylester (Bn-Gly-OEt) (0,56 g, 2,90 mmol) i DCM og diisopropyletylamin (DIEA) (0,506 ml, 0,376 g, 2,90 mmol) i nærvær av en katalyserende mengde 4-(*N,N*-dimetyl)aminopyridin (DMAP). Etter vandig opparbeiding og isolasjon ga rensing på silikagelflashkromatografi 0,31 g (33 % avkastning) av tittelforbindelsen (**37**) som et hvitt fast stoff. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, alle gjennomstrømningsmålinger): δ 7,37–7,17 (m, 5H), 6,88–6,77 (m, 2H), 5,49 (q, *J* = 6,4 Hz, 0,75H), 5,33 (q, *J* = 6,4 Hz, 0,25 H), 4,7–4,27 (m, 3H), 4,16–4,13 (m, 2H), 3,83–3,63 (m, 4H), 1,53 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 1,21 (t, *J* = 4,0 Hz, 3H). MS (ESI): *m/z* 378,10 (M+H)<sup>+</sup>.

### Eksempel 38

{*N*-[(Etoksykarbonyl)metyl]-*N*-metylkarbamoyl}etylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat (**38**)



I henhold til generell prosedyre B2 ble 2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]propansyre (**24**) (0,50 g, 2,47 mmol) aktivert med oksalyklorid (0,25 ml, 0,35 g, 2,71 mmol) i diklormetan (DCM) ved ca. 0 °C og i nærvær av en katalytisk mengde med *N,N*-dimetylformamid (DMF). En DCM-oppløsning av den nytilberedte rå syrekloriden ble reagert ved ca. 0 °C (isbad) med sarkosinyylester (H-Sar-OEt) (0,43 g, 2,90 mmol) og diisopropyletylamin (DIEA) (0,506 ml, 0,376 g, 2,90 mmol) i DCM i nærvær av en katalyserende mengde 4-(*N,N*-dimetyl)aminopyridin (DMAP). Etter vandig opparbeiding og isolasjon ga rensing på silikagelflashkromatografi 0,30 g (39 % avkastning) av tittelforbindelsen (**38**) som et hvitt fast stoff. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, alle

gjennomstrømningsmålinger):  $\delta$  6,88–6,81 (m, 2H), 5,47 (q, 0,75 H,  $J = 6,8$  Hz), 5,32 (q, 0,25H,  $J = 6,8$  Hz), 4,40–4,33 (m, 1H), 4,16–4,11 (m, 2H), 3,94–3,75 (m, 4H), 3,10 (s, 2,25H), 2,96 (s, 0,75H), 1,50–1,44 (dd, 3H), 1,26–1,20 (m, 3H). MS (ESI):  $m/z$  302,09 (M+H)<sup>+</sup>.

5

### Eksempel 52

#### Metoder for fastsetting av stabiliteten til promedikamenter *in vitro*

- 10 For et promedikament kan det være ønskelig at promedikamentet bevarer  
intakt (dvs. ikke oppdelt) mens i den systemiske sirkulasjonen og kløyves (dvs.  
for frisetting av mormedikamentet) i målvevet. Alternativt kan det være  
ønskelig at promedikamentet blir værende intakt (dvs. ikke oppdelt) mens i  
mage-tarmkanalen og kløyves (dvs. for frisetting av mormedikamentet) etter  
15 absorpsjon eller opptak fra mage-tarmblodkar, f.eks. enten i enterocytthinnen i  
mage-tarmblodkarene eller i blodet. Et nyttig stabilitetsnivå kan i det minste  
delvis fastsettes av mekanismen og farmakokinetikken til promedikamentet.  
Generelt kan promedikamenter som er mer stabile i pankreas- eller  
tarmvaskprøver og er mer labile i rotteplasma-, menneskelig plasma -,  
20 rottelever S9- og/eller menneskelig lever S9-tilberedninger, være nyttige som  
et oralt administrert promedikament. Generelt kan promedikamenter som er  
mer stabile i rotteplasma-, menneskelig plasma, rottelever S9- og/eller  
menneskelig lever S9-tilberedninger og som er mer labile i  
cellehomogenattilberedninger, slik som CaCo2 S9-tilberedninger, være nyttige  
25 som systemisk administrerte promedikamenter og/eller mer effektive i levering  
av et promedikament til et målvev. Generelt kan promedikamenter som er mer  
stabile i en rekkevidde for pH-fysiologiske buffere (pH 6,0 til pH 8,5), være  
mer nyttige som promedikamenter. Generelt kan promedikamenter som er mer  
labile i cellehomogenattilberedninger, slik som CaCo2 S9-tilberedninger,  
30 kløyves inni cellen for frisetting av mormedikamentet til et målvev. Resultatet  
av tester, slik som de er beskrevet i dette eksemplet, for fastsetting av den  
enzymatiske eller kjemiske kløyvingen av promedikamenter *in vitro*, kan  
anvendes til å velge promedikamenter for *in vivo*-testing.
- 35 Stabiliteten til promedikamenter kan evalueres i ett eller flere *in vitro*-systemer  
ved bruk av en rekke preparater og metoder kjent i faget. Metoder som f.eks.  
anvendes til fastsetting stabiliteten til promedikamenter i Caco2 S9-homogenat-,



rottelever S9-, rotteplasma-, svinebukspytt-, rottetarmvask og pH 8,0-buffer, beskrives i dette dokumentet.

5 CaCo2 S9-homogenat ble tilberedt ved bruk av følgende prosedyre. CaCo2-celler ble dyrket i kultur i 21 dager før høsting. Kulturmedium ble fjernet fra kulturmidlet og monolaget ble rensset to ganger med 10–15 ml nedkjølt-PBS-buffer. PBS-buffer (7–10 ml) ble tilsatt flasken og cellene skrappt av vekstoverflaten og overført til et sentrifugeringsrør. Cellene ble pelleterte ved sentrifugering ved 1500 rpm i 5 minutter ved 4 °C. Supernatanten ble fjernet og cellepelleten vasket med iskjølt PBS og pelletert på nytt ved sentrifugering. 10 Supernatanten ble fjernet og pelleten på nytt suspendert i cellelysebuffer (0,15 M KCl og 10 mm natriumfosfatbuffer pH 7,4). Celler ble lysert ved lydbehandling ved 4 °C ved bruk av en sondesonikator. De lyserte cellene ble deretter overført til vialer og sentrifugert ved 1600 rpm for 10 min. ved 4 °C for å fjerne intakte celler, nuklei og større celleavfall. Supernatanten ble fjernet og overført til et rør for sentrifugering ved 8600 rpm i 20 min. ved 4 °C. Etter sentrifugering ble den resulterende supernatanten som representerte CaCo2-cellehomogenatet S9, forsiktig fjernet og alikvotert inn i rør ved -80 °C inntil tid for bruk. Ved tidspunktet for bruk ble CaCo2 S9-lysatet tynnet ut 0,5 mg/ml i 0,1 M Tris-buffer, pH 7,4. 20

Rottelever S9 (XenoTech, Lenexa, KS; R1000.S9, 20 mg/ml) ble fortynnet til 0,5 mg/ml i 0,1 M kaliumfosfatbuffer ved pH 7,4 og 1 mM NADPH-cofaktor.

25 Rotteplasma (Pel-Freez® Biologicals, Rogers, AR; 36150) ble anvendt som mottatt fra leverandøren.

Svinebukspytt (Sigma Aldrich, St. Louis, MO; P1625-100G) ble fortynnet til 10 mg/ml i 0,1M Tris-buffer, pH 7,4.

30 For klargjøring av rottetarmvask ble tarmen mellom ceacum og rectum skåret bort fra en avlivet rotte. Fem til 10 ml med PBS pH 7,4-buffer (avhengig av rottens vekt) ble skylt inn i blodkarene i tykktarmen og samlet opp i et 250 ml glasskolbe ved 0 °C (isbad). Tarmvask ble overført til 10 ml koniske rør ved bruk av en 10 ml sprøyte utstyrt med et filter. Prøver med 0,5 ml tarmvask lagres ved -80 °C inntil tid for bruk. Tarmvasken ble anvendt uten fortykning. 35

Enzymstabilitetsprøver for promedikament i CaCo2 S9, rottelever S9, rotteplasma, svinebukspytt og rottetarm ble utført ved bruk av følgende prosedyre. Nitti (90) µl med lysat fordeles i reserverte rør på stikkprøveplater. Lysatet ble preinkubert i 10 min. ved 37 °C. Med unntak av t(0)-tidspunktet ble 10 µl med en 400 µM oppløsning av prøveforbindelsen i 0,1M Tris-buffer, pH 7,4 tilsatt flere brønner representerende forskjellige inkubasjonstider. Prøvene ble inkubert ved 37 °C. På hvert tidspunkt ble reaksjonen bråkjølt ved tilsetning av 300 µl med 100 % etanol. Prøvene ble grundig blandet, rørene overført til en V-bunnplate og lagret ved 20 °C. For t(0)-tidspunktet ble lysatet bråkjølt med 300 µl med iskald 100 % etanol, grundig blandet, 10 µl med 400 µM-testforbindelse ble tilsatt og blandet, og prøven røroverført til en V-bunnplate og lagret ved -20 °C. For analyse ble 180 µl fra hver prøve overført til en 96-brønn-V-bunnplate og forseglet. Etter at alle tidspunktene var registrert, ble platen sentrifugert i 10 min. ved 5600 rpm ved 4 °C. Ett hundre og femti (150) µl fra hver brønn ble deretter overført til en 96-brønns rundbunnsplate. Prøver ble analysert ved bruk av LC/MC/MS for å fastsette konsentrasjoner av promedikament og mor-medikament.

For pH 8,0-stabilitetsstudie ble 190 µl med 150 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-buffer pH 8,0 tilsatt hvert prøverør. 10 (10) µl med 20 mM prøvesammensetning ble tilsatt hvert rør og blandet. Prøvene ble inkubert i 60 min. ved 37 °C. Etter inkubering ble prøvene overført til romtemperatur og 800 µl med 50 % ACN i vann ble tilsatt hvert rør. Prøver ble analysert ved bruk av LC/MC/MS for å fastsette konsentrasjoner av promedikament og mor-medikament.

LC-MS/MS-analyse av MHF ble gjennomført ved bruk av en API 4000 utstyrt med en Agilent 1100 HPLC og en Leap Technologies-autosampler. En HPLC Phenomenex Onyx Monolithic C18 (CH0-7644)-kolonne ved en temperatur på 35 °C, strømningsrate på 2,0 ml/min., injeksjonsvolum på 30 µl og kjøretid på 3 min. ble brukt. Mobilfase AI var 0,1 % maursyre i vann og mobilfase AII var 0,1 % maursyre i acetonitril. Gradienten var 98 % AI / 2 % AII ved tid 0; 98 % AI / 2 % AII ved tid 0,1 min; 5 % AI / 95 % AII ved tid 1,4 min.; 5 % AI / 95 % AII ved tid 2,2 min.; 98 % AI / 2 % AII ved tid 2,3 min.; og 98 % AI / 2 % AII ved 3,0 min. MHF-innhold ble fastsatt ved bruk av negativ ionemodus (Q1 128.94; Q2 71).

Stabiliteten til DMF- og visse MHF-promedikamenter tilveiebragt i denne offentliggjøringen i forskjellige medier, presenteres i tabell 1.

Tabell 1. Stabilitet for MHF-promedikamenter i biologiske medier.

5

<b>T<sub>1/2</sub> mor-medikamentkløyving (min)</b>						
<b>Cmpd</b>	<b>CaCo2</b>	<b>rLiver</b>	<b>rPlasma</b>	<b>pPancreatin</b>	<b>rColon-vask</b>	<b>pH 8,0§</b>
DMF	2	1	2	0	>60	0
10	3	1	1	4	>60	42
4	5	2	1	2	33	40
2	4	9	9	1	25	17
9	8	6	1	4	>60	47
1	8	2	1	8	>60	63
5	30	10	2	3	>60	53
3	56	22	1	8	>60	53
8	52	23	6	15	27	141

§ prosent DMF eller promedikament gjenværende etter 60 min.

### Eksempel 53

10

#### Biotilgjengelig metylhydrogenfumarat etter oraladministrasjon av metylhydrogenfumaratpromedikamenter

Rotter ble anskaffet kommersielt og ble forhåndskanalysert i halsvenen. Dyrene var bevisste på eksperimenttidspunktet. Alle dyrene ble fastet over natten og inntil 4 timer etter post-dosering med et promedikament av formel **(I)**.

15

Rotteblodprøver (0,3 ml/prøve) ble samlet inn fra alle dyrene før dosering og ved forskjellige tidspunkt inntil 24 t. post-dose i rør inneholdende EDTA. To alikvoter (100 µl hver) ble bråkjølt med 300 µl metanol og lagret ved -20 °C før analyse.

Til preparering av analysestandarder ble 90 µl rotteblod bråkjølt med 300 µl metanol etterfulgt av 10 µl taggingsstandard og/eller 20 µl intern standard. Prøverørene ble spunnet i minst 2 min. og deretter sentrifugert ved 3400 rpm i 20 min. Supernatanten ble deretter overført til en injeksjonsampulle eller plate for analyse med LC-MS-MS.

For å preparere prøver for analyse ble 20 µl intern standard tilsatt hver bråkjølte prøvetube. Prøverørene ble spunnet i minst 2 min. og deretter sentrifugert ved 3400 rpm i 20 min. Supernatanten ble deretter overført til en injeksjonsampulle eller plate for analyse med LC-MS-MS.

LC-MS/MS-analyse ble utført ved bruk en API 4000 (MS12) utstyrt med en Agilent 1100 HPLC og en Leap Technologies-autosampler. De følgende HPLC-kolonnebetingelsene ble brukt: HPLC-kolonne: Onyx Monolithic C18 Phenomex (PN CH0-7644), 35C; strømningsrate 2,0 ml/min.; injeksjonsvolum 30 µl; kjøretid 3 min; mobilfase A: 0,1 % maursyre i vann; mobilfase B: 0,1 % maursyre i acetonitril (ACN); gradient: 98 %A / 2 %B ved 0,0 min.; 98 %A / 2 %B ved 0,1 min.; 5 %A / 95 %B ved 1,4 min.; 5 %A / 95 %B ved 2,2 min.; 98 %A / 2 %B ved 2,3 min.; og 98 %A / 2 %B ved 3,0 min. MHF ble overvåket i negativ ionemodus.

Ikke-kompartimentalisert analyse ble gjennomført ved bruk av WinNonlin-programvare (v.3.1 Professional Version, Pharsight Corporation, Mountain View, California) på individuelle dyreprofiler. Sammenfattende statistikker på hovedparameterestimer ble utført for  $C_{max}$  (topp, observert konsentrasjon etter dosering),  $T_{max}$  (tid til maksimum konsentrasjon er tidspunktet på hvilket toppkonsentrasjonen ble observert),  $AUC_{(0-t)}$  (område under plasmakonsentrasjonstidskurven fra tid null til siste innsamlingstidspunkt, estimert ved bruk av log-lineær trapesformet metode),  $AUC_{(0-\infty)}$ , (område under plasmakonsentrasjonstidskurven fra tid null til uendelig, estimert ved bruk av log-lineær trapesformet metode til det siste innsamlingstidspunktet med ekstrapolering til uendelig) og  $t_{1/2,z}$  (dødelig halveringstid).

MHF-, DMF- eller MHF-promedikament ble administrert med oralsonde i grupper på fire til seks voksne Sprague-Dawley-rotter (omtrent 250 g). Dyrene var bevisste på eksperimenttidspunktet. MHF-, DMF- eller MHF-promedikament

ble administrert oralt eller til tarmen i 3,4 % Phosal i en dose på 70 mg-ekvivalenter MHF pr. kg kroppsvekt.

5 Prosentandelen relativ biotilgjengelighet (F %) med MHF ble fastsatt ved sammenligning av området under MHF-konsentrasjonen vs. tidskurve (AUC) etter oral- eller tarmadministrasjon av DMF-, MHF- eller MH-promedikament med AUC for MHF-konsentrasjonen vs. tidskurve etter intravenøs administrasjon av MHF på en dosenormalisert basis.

10 MHF-promedikamentene (3), (9) og (11) når administrert peroralt til rotter i en dose på 30 mg/kg MHF-ekvivalenter i 50 mM-natriumacetat pH 4,6, viste en absolutt oral biotilgjengelighet (i forhold til IV) i rekkevidden fra omtrent 43 % til omtrent 60 % med en gjennomsnittlig biotilgjengelighet på omtrent 51 %.

15 Eksempel 54

EAE-dyremodell for vurdering av terapeutisk virkeevne til MHF-promedikamenter for behandling av multippel sklerose

20 Dyr og EAE-induksjon

C57BL/6-hunnmus, 8–10 uker gamle (Harlan Laboratories, Livermore, CA), ble immunisert subkutan i flankene og midten av skulderbladområdet med 200 µg med myelinoligodendrosyttglykoproteinpeptid (MOG<sub>35-55</sub>) (syntetisert av Invitrogen) emulgert (1:1 volumforhold) med fullstendig Freund's adjuvans (CFA) (inneholdende 4 mg/ml *Mycobacterium tuberculosis*). Emulsjon ble tilberedt ved sprøyteekstrusjonsmetoden med to glass Luer-låssprøyter med en 3-veisstoppbane. Mus ble også gitt en intraperitonealinjeksjon med 200 ng pertussistoksin (List Biological Laboratories, Inc, Campbell, CA) på immuniseringsdagen og ved dag to etter immunisering. Musene ble veid og undersøkt daglig for kliniske tegn på eksperimentell autoimmun encefalomyelitt (EAE). Mat og vann var fritt tilgjengelig og så snart dyrene begynte å vise sykdom, ble mat gitt i bunnen av buret. Alle eksperimentene var godkjent av komiteen for dyrepleie og -bruk ved institusjonen.

35 Klinisk evaluering

Musene ble skåret daglig med oppstart 7. dag etter immuniseringen. Den kliniske skåringsskalaen var som følger (Miller og Karplus, Current Protocols in Immunology 2007, 15.1.1-15.1.18): 0 = normal; 1 = kraftløs hale eller svakhet i bakre lemmer (definert av antall glipp med føttene mellom strengene på toppen av buret under gange); 2 = kraftløs hale og svakhet i bakre lemmer; 3 = delvis lammelse i bakre lemmer (definert som manglende evne til å bære vekt på bakre lemmer, selv om enten den ene eller begge lemmer i noen grad kan beveges fremdeles); 4 = fullstendig lammelse i bakre lemmer; 5 = døende tilstand (inkluderer lammelse i fremre lemmer) eller død.

5

10

### Behandling

DMF eller MHF-promedikament løses opp i 0,5 % metocellulose/0,1 % Tween80 i destillert vann og administreres med oralsonde to ganger daglig med oppstart dag 3 etter immunisering inntil slutt. Deksametason ble løst opp i 1X PBS-buffer og administrert subkutan én gang daglig. Behandlingsgruppene var som følger: bæremiddel alene, 15 mg/kg DMF, 20 mg/kg MHF-promedikament og 1 mg/kg deksametason.

15

20

### Beskrivelse 1

#### Bruk av dyremodeller til å vurdere virkeevne i behandling av psoriasis

Musmodellen for alvorlig, kombinert immunsvekkelse (SCID) kan nyttes til evaluering av virkeevnen til forbindelser for behandling av psoriasis hos mennesker (Boehncke, Ernst Schering Res Found Workshop 2005, 50, 213-34; og Bhagavathula et al., J. Pharmacol. Expt'l Therapeutics 2008, 324(3), 938-947).

25

30

35

SCID-mus brukes som vevsmottakere. Én biopsi for hver normale eller psoriatiske frivillige transplanteres til den dorsale overflaten hos en mottakermus. Behandlingen initieres 1 til 2 uker etter transplantasjonen. Dyrene med de menneskelige hudtransplantatene deles inn i behandlingsgrupper. Dyrene behandles to ganger daglig i 14 dager. Ved slutten av behandlingen ble dyrene fotografert og deretter avlivet. Det transplanterte menneskelige vevet, sammen med den omkringliggende musehuden, fjernes kirurgisk og fikseres i 10 % formalin og prøver hentet ut for mikroskopi. Epidermistykkelse måles. Vevsseksjoner farges med et antistoff til det proliferasjonsforbundne antigenet Ki-67 og med et anti-menneskelig CD3<sup>+</sup>

monoklont antistoff, for å identifisere menneskelige T-lymfocytter i transplantatvevet. Seksjoner undersøkes også med antistoffer for c-myc og  $\beta$ -katenin. En positiv respons på behandlingen reflekteres i en reduksjon av gjennomsnittlig epidermtykkelse i de psoriatiske hudtransplantatene. En positiv respons er også forbundet med redusert ekspresjon av Ki-67 i keratinocytter.

## Beskrivelse 2

### Dyremodell for vurdering av terapeutisk virkeevne til MHF-promedikamenter i behandlingen av multippel sklerose

Eksperimenter gjennomføres på hunnmus i alderen 4–6 uker tilhørende C57BL/6-stammen med vekt 17–20 g. Eksperimentell autoimmun encefalomyelitt (EAE) induseres aktivt ved bruk av  $\geq 95$  % rent syntetisk myelinoligodendrocyttglykoproteinpeptid 35-55 (MOG35-55, MEVGWYRSPFSRVVHLYRNGK). Hver mus bedøves og får 200  $\mu$ g med MOG-peptid og 15  $\mu$ g med Saponin-ekstrakt fra Quilija-bark emulgert i 100  $\mu$ L med fosfatbufret saltvann. Et volum på 25  $\mu$ L injiseres subkuttant over fire flankeområder. Mus injiseres også intraperitonealt med 200 ng med pertussistoksin i 200  $\mu$ L PBS. En andre, identisk injeksjon av pertussistoksin gis etter 48 t.

Et MHF-promedikament administreres i varierte doser. Kontrolldyr mottar 25  $\mu$ L av DMSO. Daglig behandling strekker seg fra dag 26 til dag 36 etter immunisering. Kliniske skårer registreres daglig fra dag 0 etter immunisering inntil dag 60. Kliniske tegn skåres ved bruk av følgende protokoll: 0, ingen observerbare tegn; 0,5, kraftløshet distalt i halen, krocket fremtoning og rolig oppførsel; 1, fullstendig kraftløs hale; 1,5, kraftløs hale og svakhet i bakre lemmer (usikker gange og dårlig grep med bakre lemmer); 2, unilateral delvis lammelse i bakre lemmer; 2.5, bilateral lammelse i bakre lemmer; 3, fullstendig lateral lammelse i bakre lemmer; 3.5, fullstendig lammelse i bakre lemmer og unilateral lammelse i fremre lemmer; 4, total lammelse i bakre og fremre lemmer (Eugster et al., Eur. J. Immunol. 2001, 31, 2302-2312).

Inflammasjon og demyelinisering vurderes etter histologi på seksjoner fra NSN hos EAE-mus. Musene avlives etter 30 eller 60 dager og hele ryggmargen fjernes og plasseres i 0,32 M-sukroseoppløsning ved 4 °C over natten. Vevet klargjøres og seksjoneres. Luxol Fast Blue (LFB)-farge brukes til observasjon

av områder med demyelinering. Hematoksylin- og eosinfarging brukes til fremheving av inflammerte områder ved mørkfarging av nuklei i mononukleære celler. Immunceller merket med H&E telles på en blind måte under lysmikroskopi. Seksjoner deles inn i grå og hvit materie og hver sektor 5 telles manuelt før kombinerer for å gi et total for seksjonen. T-celler immunmerkes med anti-CD3+ monoklont antistoff. Etter vasking inkuberes seksjonene med sekundær anti-rotte HRP-antistoff fra geit. Seksjonene vaskes deretter og motfarges med metylgrønt. Splenocytter isolert fra mus ved 30 og 60 dager etter immunisering, behandles med lysisbuffer for å fjerne røde 10 blodceller. Cellene resuspenderes deretter i PBS og telles. Celler med en tetthet på omtrent  $3 \times 10^6$  celler/ml inkuberes over natten med 20 µg/ml MOG-peptid. Supernatanter fra stimulerte celler testes for IFN-γ-proteinnivåer ved bruk av et egnet IFN-γ-protein immunprøvesystem for mus.

### 15 Beskrivelse 3

#### Bruk av dyremodeller til å vurdere virkeevne i behandling av: Inflammatorisk tarmsykdom

20 Dyremodeller for inflammatorisk tarmsykdom er beskrevet av Jurjus et al., J. Pharmacol. Toxicol. Methods 2004, 50, 81-92; Villegas et al., Int'l Immunopharmacol. 2003, 3, 1731-1741; og Murakami et al., Biochemical Pharmacol. 2003, 66, 1253-1261. Den følgende protokollen kan f.eks. nyttes til vurdering av virkeevnen til en forbindelse for behandling av inflammatorisk 25 tarmsykdom.

Det nyttes ICR-hunnmus. Musene deles inn i behandlingsgrupper. Gruppene gis enten vann (kontroll), 5 % DSS i vann fra springen ved begynnelsen av eksperimentet for induksjon av kolitt eller forskjellige konsentrasjoner av 30 testforbindelsen. Etter administrering av testforbindelsen i 1 uke administreres det også 5 % DSS i 1 uke i vann fra springen til gruppene som mottar testforbindelsen. Ved slutten av eksperimentet avlives alle musene og tykktarmen fjernes. Prøver av slimhinner fra tarmen tas ut og homogeniseres. Proinflammatoriske mediatorer (f.eks. IL-1α, IL-1β, TNF-α, PGE2 og PGF2α) og 35 proteinkonsentrasjoner kvantifiseres. Hver utskårne tykktarm undersøkes histologisk og skaden på tarmen skåres.



#### Beskrivelse 4

##### Klinisk forsøk for vurdering av virkeevne i behandling av astma

5 Voksne frivillige (ikke-røykere) med stabil til moderat astma rekrutteres (se f.eks. Van Schoor og Pauwels, Eur. Respir. J. 2002, 19, 997-1002). En randomisert, dobbeltblindet, placebokontrollert krysningdesign for to perioder anvendes. Ved screening dag 1 gjennomgår pasienter en metakolinutfordring (< 8 mg/mL). Baselinje tvunget ekspirasjonsvolum i ett sekund (FEV1) før hver etterfølgende  
10 utfordring må være innen 15 % av screening baselinje FEV1 innhentet ved første besøk. En neurokininutfordring ( $1 \times 10^{-6}$  mol/ml) ved screening dag 2 utføres 24–27 t. senere. Studieperioden starter innen 10 dager etter det andre besøket. Først utføres en metakolin- og en neurokinin-A (NKA)-utfordring på henholdsvis dag 1 og dag 0. Ved fjerde besøk administreres testforbindelsen i en passende dose og i et  
15 passende tidsrom. På de siste 2 dagene av behandlingsperioden gjentas metakolin- og NKA-utfordringene. Etterfølgende behandlingsperiode én er det en utvaskingsperiode i omtrent 5 uker, hvoretter pasientene krysses over til et annet medikament eller placebo i studieperiode to, som er identisk med den første perioden. Lungefunksjonstester gjennomføres ved bruk av et spirometer.  
20 Metakolinutfordringen gjennomføres ved inhalering av doble konsentrasjoner av metakolin inntil FEV1 faller med >20 % av FEV1-baselinje etter utpusting på den dagen som beskrevet av Cockcroft et al., Clin. Allergy 1977, 7, 235-243. NKA-utfordringen gjennomføres ved inhalering av NKA-konsentrasjoner som beskrevet av Van Schoor et al., Eur. Respir. J. 1998, 12, 17-23. Effekten av en behandling på  
25 luftveisresponsiviteten bestemmes ved bruk av egnede statistiske metoder.

#### Beskrivelse 5

##### Bruk av en dyremodell for vurdering av virkeevne i behandling av KOLS

30 En dyremodell som bruker mus kronisk utsatt for sigaretttrøyk, kan anvendes til vurdering av effekt i behandling av emfysem (se f.eks. Martorana et al., Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2005, 172, 848-835; og Cavarra et al., Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2001, 164, 886-890). Det brukes seks uker gamle C57B1/6J-hannmus. I  
35 akuttstudien eksponeres musene enten for romluft eller for røyken fra fem sigaretter i 20 minutter. I den kroniske studien eksponeres musene enten for romluft eller for røyken fra tre sigaretter daglig i 5 dager/uke i 7 måneder.

5 For akuttstudien deles mus inn i tre grupper med 40 dyr i hver. Disse gruppene  
deles deretter inn i fire undergrupper på 10 mus i hver som følger: (1) ingen  
behandling/lufteksponert; (2) ingen behandling/røykekspont; (3) en første dose  
med testforbindelsen pluss røykekspont; og (4) en andre dose testforbindelse. I  
10 den første gruppen ble antioksidantkapasiteten for troloksekvivalens vurdert ved  
slutten av eksponeringen i bronkoalveolær lavagevæske. I den andre gruppen  
bestemmes cytokiner og kjemokiner i bronkoalveolær væske ved bruk av et  
kommersielt cytokinpanel ved 4 timer; og i den tredje gruppen vurderes  
10 bronkoalveolær lavagevæskecelletallet ved 24 timer.

15 For den kroniske studien brukes 5 grupper dyr: (1) ingen behandling/lufteksponert;  
(2) en første dose av en testforbindelse pluss lufteksponert; (3) ingen  
behandling/røykekspont; (4) en andre dose med testforbindelsen pluss  
røykekspont; og (5) den første dosen med testforbindelsen pluss  
røykekspont. Sju måneder etter kronisk eksponert for romluft eller  
sigaretttryk avlives 5 til 12 dyr i hver gruppe og lungene fikseres intratrakert med  
formalin, Lungevolum måles ved vannforskyvning. Lungene farges. Vurdering av  
emfysem inkluderer gjennomsnittlig lineært avbrudd og indre overflateområde.  
20 Volumtettheten for makrofager, merket immunohistologisk med antimus Mc-3  
monoklon antikropper fastsettes ved punkttelling. En mus ansees å ha  
goblettcellemetaplasti når minst én eller flere mellomstore bronki/lunger viser en  
positiv periodisk syre-Schiff-farging. For fastsettingen av desmosin homogeneres,  
behandles og analyseres friske lunger ved høytrykks væsekromatografi.

25

### Beskrivelse 6

#### Dyremodeller for vurdering av: terapeutisk virkeevne av MHF-promedikamenter i behandling av Parkinsons sykdom

30

#### MPTP-indusert nevrotisitet

35

MPTP eller 1-metyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin er et nevrotoksin som  
produserer Parkinson-symptomer hos både mennesker og eksperimentdyr. Studier  
av nevrotoksisitetsmekanismen for MPTP viser at den involverer genereringen av en  
hovedmetabolitt, MPP<sup>+</sup>, formet av aktiviteten til monoaminoksidase på MPTP.  
Inhibitorer av monoaminoksidase blokkerer nevrotoksisiteten til MPTP i både mus

og primater. Spesifisiteten til nevrotoksiske effekter av MPP<sup>+</sup> for dopaminerge nevroner synes å komme av opptak av MPP<sup>+</sup> ved den synaptiske dopamintransporteren. Midler som blokkerer denne transporteren, forhindrer MPP<sup>+</sup>-nevrotoksisitet. MPP<sup>+</sup> har vært vist å være en relativt spesifikk inhibitor av mitokondriekompleks I-aktivitet, som binder seg til kompleks I ved retononbindingsstedet og hindrer oksidativ fosforylering. *In vivo*-studier har vist at MPTP kan forringe striale ATP-konsentrasjoner i mus. Det har vært demonstrert at MPP<sup>+</sup> administrert intrastrialt til rotter produserer signifikant utarming av ATP samt økt laktatkonsentrasjon avgrenset til striatum ved injeksjonsstedet. Forbindelser som forbedrer ATP-produksjon, kan beskytte mot MPTP-toksisitet i mus.

Et promedikament av formel **(I)** administreres til dyr, slik som mus eller rotter, i tre uker før behandling med MPTP. MPTP administreres som en egnet dose, i egnet doseintervall og administrasjonsmåte i 1 uke før avlivning. Kontrollgrupper fikk enten normalt saltvann eller MPTP-hydroklorid alene. Etter avlivning ble de to striatene raskt dissekert og plassert i nedkjølt 0,1 M perklorosyre. Vevet ble senere lydbehandlet og alikvoter analysert for proteininnhold ved bruk av en fluorometerprøve. Dopamin, 3,4-dihydroksyfenyleddisyre (DOPAC) og homovanillinsyre (HVA) kvantifiseres også. Konsentrasjoner av dopamin og metabolitter uttrykkes som nmol/mg-protein.

Promedikamenter av formel **(I)** som beskytter mot DOPAC-utarming induisert av MPTP, HVA og/eller dopaminutarming er nevrobeskyttende og kan derfor være nyttig i behandlingen av Parkinsons sykdom.

#### Haloperidol-indusert hypobevegelse

En forbindelses evne til å reversere de adferdsmessige undertrykkingseffektene av dopaminantagonister slik som haloperidol, hos rotter, anses å være en gyldig metode for screening av medikamenter med potensiell antiparkinson-virkeevne (Mandhane, et al., Eur. J. Pharmacol. 1997, 328, 135-141). Evnen til promedikamenter av formel **(I)** til å blokkere haloperidolinduserte defisitter i bevegelsesaktivitet i mus, kan altså brukes til vurdering både *in vivo*- og potensiell antiparkinson-virkeevne.

Mus anvendt i eksperimentene, huses i et kontrollert miljø og tillates akklimatiseres før eksperimentell bruk. Én og en halv time (1,5) før testing administreres

0,2 mg/kg haloperidol til musene, en dose som reduserer baselinje lokomotoraktivitet med minst 50 %. En testforbindelse administreres 5–60 min. før testing. Dyrene plasseres deretter individuelt i rene, gjennomslukte polykarbonatbur med et flatt perforert lokk. Horisontal lokomotoraktivitet fastsettes ved å plassere burene inni en ramme inneholdende en 3 x 6 matrise med fotoceller i grensesnitt med en datamaskin for tabulering av strålingsavbruddene. Musene las være uforstyrret for å utforske i 1 t., og antallet strålingsavbrudd foretatt i løpet av denne perioden, tjener som en indikator for lokomotoraktivitet, som sammenlignes med data for kontrolldyr for statistisk signifikante forskjeller.

10

#### 6-Hydroksydopamin dyremodell

De nevrokjemiske defisittene observert ved Parkinsons sykdom, kan reproduseres ved lokalinjeksjon av det dopaminerge nevrotoksinet 6-hydroksydopamin (6-OHDA) inn i hjerneregioner inneholdende enten cellekroppene eller aksonfibrene til nigrostriatale nevroner. Ved unilateral lesjonering av de nigrostriatale banene kun på én side av hjernen observeres adferdsmessig asymmetri i bevegelsehindring. Selv om unilateralt lesjonerte dyr enda er mobile og i stand til å ta vare på seg selv, blir de gjenværende dopaminsensitive nevronene på lesjonssiden hypersensitive for stimulering. Dette demonstreres av observasjonen at etter systemisk administrasjon av dopaminagonister, slik som apomorfin, viser dyr en tydelig rotasjon i en retning kontralateralt til lesjonssiden. Forbindelsenes evne til induksjon av kontralaterale rotasjoner i 6-OHDA-lesjonerte rotter har vært vist å være en følsom modell for prediksjon av medikamentvirkeevne i behandlingen av Parkinsons sykdom.

25

Sprague-Dawley-hannrotter huses i et kontrollert miljø og tillates å akklimatisere seg før eksperimentell bruk. Femten minutter før kirurgi, gis dyrene en intraperitoneal injeksjon av den noradrenerge opptakshemmeren desipramin (25 mg/kg) for å hindre skade på ikke-dopaminnevroner. Dyrene plasseres deretter i et anestesikammer og bedøves ved bruk av en blanding av oksygen og isofluran. Så snart dyrene er bevisstløse, overføres de til en stereotaksramme, hvor anestesi opprettholdes gjennom en maske. Toppen av hodet barberes og steriliseres ved bruk av en jodoppløsning. Så snart dette har tørket, gjøres et 2 cm langt innsnitt langs midtlinjen av hodebunnen og huden trekkes tilbake og klippes tilbake for eksponering av hodebunnen. Deretter bores det et lite hull gjennom hodebunnen over injeksjonsstedet. For å lesjonere den nigrostriatale

35

- banen senkes injeksjonskanylen sakte i posisjon over høyre mediale forhjernebunten ved -3,2 mm anterior posterior, -1,5 mm medial lateralt fra bregma og til en dybde på 7,2 mm under duramater. To minutter etter innsenkning av kanylen infuseres 6-OHDA i en rate på 0,5 µl/min over 4 min., for
- 5 å gi en endelig dose på 8 µg. Kanylen blir stående på plass i ytterligere 5 min. for å bidra til diffusjon før sakte å bli trukket ut. Huden sutureres deretter sammen, dyret fjernes fra den stererotaksiske rammen og returneres til huset sitt. Rottene får deretter lov til å komme seg etter kirurgien i to uker, før adferdstesting.
- 10 Rotasjonsadferd måles ved bruk av et rotasjonsmålingssystem med boller i rustfritt stål (45 cm. diam. x 15 cm høyde) innelukket i et gjennomsiktig pleksiglassdekke rundt kanten av bollen og som strekker seg til en høyde på 29 cm. For å vurdere rotasjon plasseres rottene i en tekstillomme festet til en fjærstreng tilkoblet en
- 15 optisk rotasjonsmåler plassert over bollen, som vurderer bevegelsene til venstre eller høyre enten som delvise (45°) eller fullstendige (360°) rotasjoner.
- For å redusere stress under administrasjon av testforbindelsen habitueres rottene innledningsvis til apparatet i 15 min. i fire fortløpende dager. På
- 20 testdagen gis rottene en testforbindelse, f.eks. et promedikament av formel **(I)**. Rett før testing gis dyrene en subkutan injeksjon med en subterskeldose med apomorfin, og plasseres deretter i seletøyet og antallet rotasjoner registreres i én time. Det samlede antallet fullstendige kontralaterale rotasjoner i løpet av testtiden tjener som en indeks for medikamentets antiparkinson-virkeevne.
- 25 Beskrivelse 7
- Dyremodell for vurdering av terapeutisk virkeevne av MHF-promedikamenter i behandlingen av Alzheimers sykdom
- 30 Heterozyge transgenetiske mus som viser det svenske AD-mutantgenet, hAPPK670N, M671L (Tg2576; Hsiao, Learning & Memory 2001, 8, 301-308), brukes som en dyremodell for Alzheimers sykdom. Dyrene huses under
- 35 standardbetingelser med en 12:12 lys/mørk-syklus og mat og vann er fritt tilgjengelig. Ved 9 måneder deles musene inn i to grupper. De første to gruppene med dyr får økende doser med et MHF-promedikament over seks uker. Den gjenværende kontrollgruppen får daglige saltvannsinjeksjoner i seks uker.

Adferdstesting utføres ved hver medikamentdose, ved bruk av samme sekvens over to uker i alle eksperimentgruppene: (1) spatial reversjonslæring, (2) bevegelse, (3) fryktbetinging og (4) sjokksensitivitet.

5 Innhenting av det spatiale læringsparadigmet og reversjonslæring testes under de første fem dagene med administrering av testforbindelsen, ved bruk av en T-vannlabyrint som beskrevet i in Bardgett et al., Brain Res Bull 2003, 60, 131-142. Musene habitueres til T-vannlabyringen på dag 1-3 og oppgaveregistrering begynner på dag 4. På dag 4 trenes musene til å finne fluktplattformen i én mulig arm av labyrinten inntil 6 til 8 riktige valg er gjort ved fortløpende forsøk. Reversjonslæringsfasen gjennomføres deretter på dag 10 5. Under reversjonslæringsfasen trenes musene til å finne fluktplattformen i armvalget motsatt fra stedet for fluktplattformen på dag 4. De samme adferdskriteriene og testintervallene brukes som under oppgavelæringen.

15 Store ambulerende bevegelser vurderes for fastsetting av at resultatene av spatialreversjonslæringsparadigmet ikke påvirkes av ambuleringskapasiteten. Etter en hvileperiode på to dager vurderes horisontale ambulerende bevegelser, ekskludert vertikale og finmotorbevegelser, i et kammer utstyrt med en matrise med bevegelsessensitive detektorer, på dag 8. Antallet bevegelser fulgt av samtidig blokkering og avblokkering av en detektor i den horisontale dimensjonen måles under en én-timesperiode.

25 Et dyrs kapasitet for kontekstuell og utløst minne testes ved bruk av et fryktbetingingsparadigme, med oppstart på dag 9. Testing finner sted i et kammer som inneholder et stykke absorberende bomull trukket i en luktende oppløsning, slik som mintekstrakt plassert under matrisegulvet. En 5 min., tredje test 80 db, 2800 Hz tone-fotsjokksekvens administreres for å trene dyrene på dag 9. På dag 10 testes minne for kontekst ved å returnere hver mus til kammeret uten eksponering for tonen og fotsjokket, og forekomst eller fravær av frysende adferd 30 hvert 10. sekund registreres i 8 minutter. Frysing defineres som fravær av bevegelse, slik som ambulering, sniffing eller stereotypi annet enn pusting.

35 På dag 11 testes dyrets respons på vekslende kontekst, og lydsignalrespons testes. Kokosnøttekstrakt plasseres i en kopp og 80 db-tonen presenteres, men det leveres ikke noe fotsjokk. Forekomst eller fravær av frysing i respons på den vekslende konteksten fastsettes deretter under de første 2 minuttene av prøven.

Tonen presenteres deretter fortløpende i de gjenværende 8 minuttene av prøven, og forekomst eller fravær av frysing i respons på tonen fastsettes.

5 På dag 12 testes dyrene for vurdering av sensitivitet til betingelsesstimuli, dvs. fotsjokk.

Etter siste dag med adferdstesting bedøves dyrene og hjernen fjernes, post-fikseres over natten og seksjoner skjæres inn i hippocampus. Seksjonene farges for avbildning av  $\beta$ -amyloidplakk.

10

Data analyseres ved bruk av egnede statistiske metoder.

### Beskrivelse 8

15 Dyremodeller for vurdering av: Terapeutisk virkeevne av MHF-promedikamenter i behandling av Huntingtons sykdom

#### Nevrobeskyttende effekter i en transgen musmodell for Huntingtons sykdom

20 Transgene HD-mus av N171-82Q-stammen og ikke-transgene kullmedlemmer behandles med et promedikament av formel **(I)** eller et bæremiddel fra de er 10 uker gamle. Musene plasseres på en rotasjonsstav («rotastav»). Hvor lenge det går før en mus faller fra rotasjonsstaven, registreres som et mål på motorkoordinasjon. Den samlede avstanden tilbakelagt av en mus, registreres

25 også som et mål på generell bevegelse. Mus som har fått administrert promedikamenter av formel **(I)**, som er nevrobeskyttet i den transgene N171-82Q HD-musmodellen, blir værende på rotasjonsstaven i en lengre periode og beveger seg lengre enn mus som har fått administrert bæremiddel.

30 Malonat-modell for Huntingtons sykdom

En serie reversible og irreversible inhibitorer med enzymer involvert i energigenererende baner, har blitt brukt til generering av dyremodeller for neurodegenerative sykdommer, slik som Parkinsons og Huntingtons sykdom.

35 Særlig har inhibitorer av sukkinatdehydrogenase, et enzym som påvirker celleenergihomeostase, blitt brukt til generering av en modell for Huntingtons sykdom.

For å evaluere effekten av MHF-promedikamenter av formel **(I)** i denne malonatmodellen for Huntingtons sykdom administreres et promedikament av formel **(I)** i en egnet dose, doseringsintervall og vei, til Sprague-Dawley-hannrotter. Et promedikament administreres i to uker før administrasjonen av malonat og deretter i ytterligere en uke før avlivning. Malonat løses opp i destillert avionisert vann og pH-en justeres til 7,4 med 0,1 M HCl. Intrastriatale injeksjoner med 1,5 µk med 3 µl malonat foretas i venstre striatum på nivå med Bregma 2,4 mm lateralt for midtlinjen og 4,5 mm ventralt for dura. Dyrene avlives etter 7 dager ved dekapitering og hjernene fjernes raskt og plasseres i iskald 0,9 % saltvannsoppløsning. Hjernene seksjoneres ved 2 mm intervaller i en hjerneform. Skivene plasseres med baksiden ned i 2 % 2,3,5-tifenyltetrazoliumklorid Skivene farges i mørket ved romtemperatur i 30 minutter, og fjernes deretter og plasseres i 4 % paraformaldehyd, pH 7,3. Lesjoner, merket av blek farging, evalueres på den bakre overflaten på hver seksjon. Målingene valideres ved sammenligning med målinger innhentet på nærliggende Nissl-fargeseksjoner. Forbindelser som viser en neuropeptid effekt og derfor potensielt er nyttige i behandling av Huntingtons sykdom, viser en reduksjon i malonat-induserte lesjoner.

## 20 Beskrivelse 9

### Dyremodell for vurdering av terapeutisk virkeevne til MHF-promedikamenter i behandlingen av amyotrofisk lateral sklerose

25 En mus-/rottemodell av SOD1-mutasjonforbundet LS har blitt utviklet, hvor mus uttrykker det menneskelige superoksidismutase (SOD)-mutasjonsglysin→alaninet ved rest 93 (SOD1). Disse SOD1-musene viser en dominant ervervelse av den skadelige egenskapen ved SOD, og utvikler motornevrondegenerering og dysfunksjon lignende menneskelig ALS. SOD1-transgene mus viser tegn på 30 svakheter i baklemmer ved omtrent 3 måneders alder og dør ved 4 måneder. Fellestrekk med menneskelig ALS inkluderer astrycystose, mikrogliose, oksideringsstress, økte nivåer av syklooksygenase/prostaglandin og, etter hvert som sykdommen skrider frem, betydelig tap av motornevroner.

35 Studier gjennomføres på transgene mus med overekspresjon av menneskelige Cu/Zn-SOD G93A-mutasjoner (B6SJL-TgN (SOD1-G93A) 1 Gur) og ikke-transgene B6/SJL-mus og deres ville kulløsken. Mus huses under en 12-t.



dag/lys-syklus og (oppstart ved alder 45 d) gis fri tilgang til enten testforbindelsestilsatt fôr, eller som en kontroll, kaldpresset fôr etter vanlig formel behandlet til identiske pellets. Genotyping kan gjennomføres når musene er 21 dager gamle, som beskrevet i Gurney et al., Science 1994, 264(5166), 1772-1775. SOD1-musene deles inn i to grupper og behandles med en testforbindelse, f.eks. et MHF-promedikament, eller tjener som kontroller.

Musene observeres daglig og veies ukentlig. For å vurdere helsestatusen veies musene ukentlig og undersøkes for endringer i tåreproduksjon/spyttavsondring, lukking av øyelokk, ørerykninger og pupilleresponser, følehårretning, postur og korreksjonsreflekser og generell kroppsskåre. En generell patologisk undersøkelse gjennomføres ved avlivningstidspunktet.

Motorkoordinasjonsgjennomføring hos dyrene kan vurderes ved én eller flere kjente metoder, kjent for de med ferdigheter i faget. Motorkoordinasjon kan f.eks. vurderes ved bruk av nevrologiske skåringsmetoder. I nevrologisk skåring overvåkes den nevrologiske skåren for hvert lem og registreres i henhold til en definert 4-punkts skala: 0 - normal refleks på baklemmene (dyret vil spre baklemmene når løftet etter halen); 1 - abnormal refleks i baklemmene (manglende spredning av baklemvekt når dyret løftes etter halen); 2 - abnormal refleks i lemmene og tegn på lammelse; 3 - manglende refleks og fullstendig lammelse; og 4 - uten evne til å snu seg når plassert på siden i 30 sekunder eller funnet død. Primærendepunktet er overlevelse med sekundærendepunkt på nevrologisk skåre og kroppsvekt. Nevrologisk skåreobservasjoner og kroppsvekt foretas og registreres fem dager pr. uke. Dataanalyse gjennomføres ved bruk av egnede statistiske metoder.

Rotasjonsstavtesten evaluerer et dyrs evne til å bli værende på rotasjonshjulet slik at motorkoordinasjon proprioseptiv sensitivitet kan måles. Apparatet er en automatisert stav på 3 cm i diameter som dreier ved f.eks. 12 runder i minuttet. Rotasjonsstavtesten måler hvor lenge musen kan holde seg på staven uten å falle av. Testen kan stoppes etter en tilfeldig tidsgrense på 120 sek. Hvis dyret faller ned før 120 sek., registreres ytelsen og ytterligere to prøver gjennomføres. Gjennomsnittstiden for 3 forsøk beregnes. En motordeficit indikeres ved en reduksjon av gangetiden.

I matrisetesten plasseres mus på en matrise (lengde: 37 cm, bredde: 10,5 cm, maskestørrelse: 1 x 1 cm<sup>2</sup>) plassert over en flat støtte. Antallet ganger musen stikker potene sine gjennom matrisen, telles og tjener som et mål på motorkoordinasjon.

5

Hengetesten vurderer dyrets evne til å henge på en streng. Apparatet er en streng strukket horisontalt 40 cm over bordet. Dyret festes til strengen med forpotene. Tiden det tar for dyret å henge seg på strengen med bakpotene, registreres (60 sek. maks) under tre fortløpende forsøk.

10

Elektrofysiologiske målinger (EMG) kan også nyttes til vurdering av motoraktivitetstilstand. Elektromyografiske registreringer gjennomføres ved bruk av et elektromyografiapparat. Musene bedøves under EMG-overvåking. De målte parametrene er amplituden og latensen for forbindelsens muskelaksjonspotensiale (CMAP). CMAP måles i gastrocnemiusmuskel etter stimulering av isjasnerven. En referanseelektrode settes inn nær akillessenen og en aktiv nål plasseres ved haleroten. En grunn nål settes inn i musens nedre rygg. Isjasnerven stimuleres med en enkelt 0,2 msek. puls ved supramaksimal intensitet (12,9 mA). Amplituden (mV) og latensen ved responsen (ms) måles. Amplituden er indikativ for antallet aktive motornevronenheter, mens distal latens reflekterer motornerveledningshastighet.

15

20

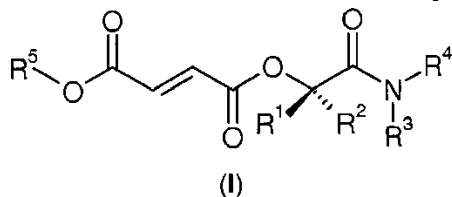
Virkeevnen av testforbindelser kan også evalueres ved bruk av biomarkøranalyse. For å vurdere reguleringen av proteinbiomarkører i SOD1-mus under oppstart av motorhemminger legges prøve av lumbaryggmarg (proteinekstrakter) på ProteinChip-rekker med forskjellige overflate, kjemiske/biokjemiske egenskaper og analyseres, f.eks. av surface-enhanced laser desorption ionization time-of-flight (SELDI-TOF)-teknikk for flashmassespektroskopi. Deretter, ved bruk av integrert proteinmasseprofilanalysemetoder, anvendes data til å sammenligne proteinekspresjonsprofiler for de forskjellige behandlingsgruppene. Analyse gjennomføres ved bruk av egnede statistiske metoder.

25

30

**PATENTKRAV**

1. Forbindelse med formel **(I)**:



5 eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvori:

$R^1$  og  $R^2$  velges uavhengig fra hydrogen,  $C_{1-6}$ -alkyl og substituert  $C_{1-6}$ -alkyl;

$R^3$  og  $R^4$  velges uavhengig fra hydrogen,  $C_{1-6}$ -alkyl, substituert  $C_{1-6}$ -alkyl,  $C_{1-6}$ -heteroalkyl, substituert  $C_{1-6}$ -heteroalkyl,  $C_{4-12}$ -sykloalkylalkyl, substituert  $C_{4-12}$ -sykloalkylalkyl,  $C_{7-12}$ -arylalkyl og substituert  $C_{7-12}$ -arylalkyl;

10 eller  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra en  $C_{5-10}$ -heteroaryl, substituert  $C_{5-10}$ -heteroaryl,  $C_{5-10}$ -heterosykloalkyl og substituert  $C_{5-10}$ -heterocycloalkyl; og

$R^5$  er metyl;

15 hvori hver substitueringsgruppe velges uavhengig fra halogen, -OH, -CN,  $-CF_3$ , =O,  $-NO_2$ , benzyl,  $-C(O)NR^{11}_2$ ,  $-R^{11}$ ,  $-OR^{11}$ ,  $-C(O)R^{11}$ ,  $-COOR^{11}$  og  $-NR^{11}_2$ , hvori hver  $R^{11}$  velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl.

2. Forbindelse ifølge krav 1, hvori hver av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen.

20 3. Forbindelse ifølge krav 1, hvori én av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra metyl, etyl, *n*-propyl, isopropyl, *n*-butyl, isobutyl, *sek*-butyl og *tert*-butyl.

25 4. Forbindelse ifølge krav 1, hvori  $R^3$  og  $R^4$  velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-6}$ -alkyl.

5. Forbindelse ifølge krav 1, hvor  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet som de er bundet til, danner en  $C_{5-10}$ -heterosykloalkylring.

30 6. Forbindelse ifølge krav 1, hvori  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra pierazin-, 1,3-okaszolidinyl-, pyrrolidin- og morfolinring.

**7.** Forbindelse ifølge krav 1, hvori én av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-6}$ -alkyl; og  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra morfolin, piperazin og *N*-substitutert piperazin.

5

**8.** Forbindelse ifølge krav 1, hvori én av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen; og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-6}$ -alkyl;  $R^3$  er hydrogen; og  $R^4$  velges fra hydrogen,  $C_{1-6}$ -alkyl og benzyl.

10

**9.** Forbindelse ifølge krav 1, hvori én av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen; og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-6}$ -alkyl; og hver av  $R^3$  og  $R^4$  er  $C_{1-6}$ -alkyl.

**10.** Forbindelse ifølge krav 1, hvori hver av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen; og hver av  $R^3$  og  $R^4$  er  $C_{1-6}$ -alkyl.

15

**11.** Forbindelse ifølge krav 1, hvori én av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl;  $R^3$  er hydrogen; og  $R^4$  velges fra  $C_{1-4}$ -alkyl, substituert  $C_{1-4}$ -alkyl, hvori substitueringsgruppen velges fra =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver  $R^{11}$  velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl.

20

**12.** Forbindelse ifølge krav 1, hvori én av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  er metyl;  $R^3$  er hydrogen; og  $R^4$  velges fra  $C_{1-4}$ -alkyl, substituert  $C_{1-4}$ -alkyl, hvori substitueringsgruppen velges fra =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver  $R^{11}$  velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl.

25

**13.** Forbindelse ifølge krav 1, hvori hver av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen;  $R^3$  er hydrogen; og  $R^4$  velges fra  $C_{1-4}$ -alkyl, substituert  $C_{1-4}$ -alkyl, hvori substitueringsgruppen velges fra =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> og -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, hvori hver  $R^{11}$  velges uavhengig fra hydrogen og  $C_{1-4}$ -alkyl.

30

**14.** Forbindelse ifølge krav 1, hvor én av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-6}$ -alkyl; og  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra en  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-, substituert  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-,  $C_{5-6}$ -heteroaryl- og substituert  $C_{5-6}$ -heteroarylring.

35

**15.** Forbindelse ifølge krav 1, hvori én av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  er metyl; og  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra en  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-, substituert  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-,  $C_{5-6}$ -heteroaryl- og substituert  $C_{5-6}$ -heteroarylring.

5

**16.** Forbindelse ifølge krav 1, hvor hver av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen; og  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra en  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-, substituert  $C_{5-6}$ -heterosykloalkyl-,  $C_{5-6}$ -heteroaryl- og substituert  $C_{5-6}$ -heteroarylring.

10

**17.** Forbindelse ifølge krav 1, hvori én av  $R^1$  og  $R^2$  er hydrogen og den andre av  $R^1$  og  $R^2$  velges fra hydrogen og  $C_{1-6}$ -alkyl; og  $R^3$  og  $R^4$  sammen med nitrogenet de er bundet til, danner en ring valgt fra morfolin, piperazin og  $N$ -substitutert piperazin.

15

**18.** Forbindelse ifølge krav 1, hvor forbindelsen velges fra:

(*N,N*-dietylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl [*N*-benzylkarbamoyl]metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl 2-morfolin-4-yl-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

20

(*N*-butylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

[*N*-(2-metoksyetyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

2-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]acetylamino}eddiksyre;

4-{2-[(2E)-3-(metoksykarbonyl)prop-2-enoyloksy]acetylamino}; smørsyre;

(*N,N*-dimetylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

25

bis-(2-metoksyetylamino)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

[*N*-(metoksykarbonyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl 2-okso-2-piperazinyletyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl 2-okso-2-(2-okso(1,3-oksazolidin-3yl)etyl) (2E)but-2-en-1,4-dioat;

{*N*-[2-(dimetylamino)etyl]karbamoyl}metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

30

metyl 2-(4-metyl piperazinyl)-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl {*N*-[(propylamino)karbonyl]karbamoyl}metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

2-((4-acetyl piperazinyl)-2-oksoetyl)metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

{*N,N*-bis[2-(metyletoksy)etyl]karbamoyl}metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

metyl 2-(4-benzyl piperazinyl)-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

35

[*N,N*-bis(2-etoksyetyl)karbamoyl]metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

2-(((2S)-2-[(tert-butyl)oksykarbonyl]pyrrolidiny])-2-oksoetyl)metyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;

- 1- $\{2-\{(2E)-3-(\text{metoksykarbonyl})\text{prop-2-enoyloksy}\}\text{acetyl}\}$ (2S)pyrrolidin-2-karboksylsyre;  
 (N- $\{[\text{tert-butyl}]\text{oksykarbonyl}\}$ metyl)-N-metylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 5  $\{N-[(\text{etoksykarbonyl})\text{metyl}]-N\text{-metylkarbamoyl}\}$ metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 metyl 1-metyl-2-morfolin-4-yl-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 [N,N-bis(2-metoksyetyl)karbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 (N,N-dimetylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 10 2- $\{2-[(2E)-3-(\text{metoksykarbonyl})\text{prop-2-enoyloksyl}]-N\text{-metylacetylamino}\}$ eddiksyre;  
 (N- $\{[(\text{tert-butyl})\text{oksykarbonyl}]\}$ metyl}karbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 metyl (N-metyl-N- $\{[(\text{metyletyl})\text{oksykarbonyl}]\}$ metyl}karbamoyl)metyl (2E)but-  
 15 2-en-1,4-dioat;  
 $\{N-[(\text{etoksykarbonyl})\text{metyl}]-N\text{-benzyllkarbamoyl}\}$ metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 $\{N-[(\text{etoksykarbonyl})\text{metyl}]-N\text{-benzyllkarbamoyl}\}$ etylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 $\{N-[(\text{etoksykarbonyl})\text{metyl}]-N\text{-metylkarbamoyl}\}$ etylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 20 (1S)-1-metyl-2-morfolin-4-yl-2-oksoetylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 (1S)-1-[N,N-bis(2-metoksyetyl)karbamoyl]etylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 (1R)-1-(N,N-dietylkarbamoyl)etylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 (N- $\{(\text{metoksykarbonyl})\text{etyl}\}$ karbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat;  
 2- $\{2-[(2E)-3-(\text{metoksykarbonyl})\text{prop-2-enoyloksy}\}\text{acetylamino}\}$ propionsyre;  
 25 og farmasøytisk akseptable salter av de foregående.

**19.** Forbindelse ifølge krav 1, som er:

(N,N-dietylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat.

30 **20.** Forbindelse ifølge krav 1, som er:

metyl 2-morfolin-4-yl-2-oksoetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat.

**21.** Forbindelse ifølge krav 1, som er:

(N,N-dimetylkarbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat.

35

**22.** Forbindelse ifølge krav 1, som er:

bis-(2-metoksyetylamino)karbamoyl)metylmetyl (2E)but-2-en-1,4-dioat.

- 23.** Farmasøytisk sammensetning omfattende en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 og minst ett farmasøytisk akseptabelt bærestoff.
- 5 **24.** Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 23, som er en oralformulering.
- 25.** Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 23, som er en oral kontrollert frisettingsformulering.
- 10 **26.** Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 23, som er en oral kontrollert frisettingsformulering med forlenget virkning.
- 27.** Farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 26, videre omfattende et annet terapeutisk middel.
- 15 **28.** Farmasøytisk forbindelse ifølge krav 27, hvor det andre terapeutiske midlet er effektivt i minimering av en skadelig virkning forbundet med forbindelsen.
- 20 **29.** Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28 for anvendelse i behandlingen av menneske- eller dyrekroppen ved terapi.
- 25 **30.** Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28 for anvendelse i behandlingen av psoriasis, multippel sklerose, en inflammatorisk tarmsykdom, astma, kronisk obstruktiv lungesykdom eller artritt.
- 30 **31.** Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28 for anvendelse i behandlingen av psoriasis.
- 35 **32.** Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28 for anvendelse i behandlingen av multippel sklerose.

- 5       **33.** Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28 for anvendelse i behandling av psoriasis, astma, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), hjerteinsuffisiens, venstre hjertekammerinsuffisiens, myokardieinfarkt, angina pectoris, Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, Huntingtons sykdom, retinopati pigmentosa, mitokondrie- encefalomyopati, transplantasjonsavvisning, multippel sklerose, iskemi, reperfusjonsskade, AGE-indusert genomskade, inflammatorisk tarmsykdom, Crohns sykdom eller ulcerøs kolitt.
- 10       **34.** Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28 for anvendelse i behandling av reumatismer, granuloma annulare, lupus, autoimmun hjertebetennelse, eksem, sarkoidose, akutt encefalomyelitt med spredning, Addisons sykdom, alopecia areata, ankyloserende spondylitt, antifosfolipidsyndrom, 15 autoimmun hemolytisk anemi, autoimmun hepatitt, autoimmun sykdom i indre øre, bulløs pemfigoid, Behçets sykdom, cøliaki, Chagas sykdom, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), Crohns sykdom, dermatomyositis, diabetes mellitus type I, endometriose, Goodpastures syndrom, Graves sykdom, Guillain-Barré-syndrom, Hashimotos sykdom, svettekjertelbetennelse, Kawasakis sykdom, IgA-nevropati, 20 idiopatisk trombocytopeni purpura, interstitial cystitt, lupus erytematose, blandet bindevevssykdom, morfea, multippel sklerose, myasthenia gravis, narkolepsi, neuromyotoni, pemfigus vulgaris, pernisiøs anemi, psoriasis, psoriasisartritt, polymyositt, primær biliær cirrhose, reumatoid artritt, schizofreni, sklerodermi, Sjøgrens syndrom, autoimmunt stivhetssyndrom, temporalarteritt, ulcerøs kolitt, 25 vaskulitt (karbetennelse), vitiligo eller Wegeners granulomatose.
- 30       **35.** Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28 for anvendelse i behandlingen av alopecia areata.
- 35       **36.** Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28 i fremstillingen av et medikament for behandling av psoriasis, multippel sklerose, en inflammatorisk tarmsykdom, astma, kronisk obstruktiv lungesykdom eller artritt.



**37.** Anvendelse av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28 i fremstillingen av et medikament for behandling av psoriasis.

5 **38.** Anvendelse av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28 i fremstillingen av et medikament for behandling av multippel sklerose.

10 **39.** Anvendelse av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28 for anvendelse i behandling av psoriasis, astma, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), hjerteinsuffisiens, venstre hjertekammerinsuffisiens, myokardieinfarkt, angina pectoris, Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, Huntingtons sykdom, retinopati pigmentosa, mitokondrie-encefalomyopati, transplantasjonsavvisning, 15 multippel sklerose, iskemi, reperfusjonsskade, AGE-indusert genomskade, inflammatorisk tarmsykdom, Crohns sykdom eller ulcerøs kolitt.

20 **40.** Anvendelse av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28 i fremstillingen av et medikament for behandling av reumatismer, granuloma annulare, lupus, autoimmun hjertebetennelse, eksem, sarkoidose, akutt encefalomyelitt med spredning, Addisons sykdom, alopecia areata, ankyloserende spondylitt, antifosfolipidsyndrom, autoimmun hemolytisk anemi, autoimmun hepatitt, autoimmun sykdom i indre øre, bulløs pemfigoid, Behçets 25 sykdom, cøliaki, Chagas sykdom, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), Crohns sykdom, dermatomyositis, diabetes mellitus type I, endometriose, Goodpastures syndrom, Graves sykdom, Guillain-Barré-syndrom, Hashimotos sykdom, svettekjertelbetennelse, Kawasakis sykdom, IgA-nevropati, idiopatisk trombocytopeni purpura, interstitial cystitt, lupus erytematose, blandet 30 bindevevssykdom, morfea, multippel sklerose, myasthenia gravis, narkolepsi, neuromyotoni, pemfigus vulgaris, pernisiøs anemi, psoriasis, psoriasisartritt, polymyositt, primær biliær cirrhose, reumatoid artritt, schizofreni, sklerodermi, Sjøgrens syndrom, autoimmunt stivhetssyndrom, temporalarteritt, ulcerøs kolitt, vaskulitt (karbetennelse), vitiligo eller Wegeners granulomatose.

35

**41.** Anvendelse av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 22 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28 i fremstillingen av et medikament for behandling av alopecia areata.