



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2496580 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/55 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2014.04.07
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2013.12.11
(86)	Europeisk søknadsnr	10740654.8
(86)	Europeisk innleveringsdag	2010.08.06
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2012.09.12
(30)	Prioritet	2009.11.05, GB, 0919433 2010.06.22, GB, 201010509
(84)	Utpekte stater	AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO SE SI SK SM TR
	Utpekte samarbeidende stater	BA ME RS
(73)	Innehaver	GlaxoSmithKline LLC, Corporation Service Company 2711 Centreville Road Suite 400, Wilmington, Delaware 19808, US-USA
(72)	Oppfinner	GOSMINI, Romain Luc Marie, c/o Laboratoire GlaxoSmithKlineCentre de RecherchesZ.A. de Courtboeuf25 Avenue du Quebec, F-91940 Les Ulis, FR-Frankrike MIRGUET, Olivier, Laboratoire GlaxoSmithKlineCentre de RecherchesZ.A. de Courtaboeuf25 Avenue du Quebec, F-91940 Les Ulis, FR-Frankrike
(74)	Fullmektig	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	Benzodiazepin bromdomeneinhibitor
(56)	Anførte publikasjoner	EP-A1- 0 934 940 US-A- 5 116 971 WO-A1-2009/084693

Beskrivelse

Oppfinnelsens område

[0001] Foreliggende oppfinnelse angår en benzodiazepinforbindelse, fremgangsmåter for fremstilling, farmasøytiske preparater inneholdende en slik forbindelse og dens anvendelse i terapi.

Bakgrunn for oppfinnelsen

[0002] Genomet til eukaryote organismer er svært velorganisert i cellekjernen. De lange trådene av dupleks DNA er omviklet rundt en oktomer av histonproteiner (normalt omfattende to kopier av histonene H2A, H2B H3 og H4) for å danne et nukleosom. Denne baseenhet er deretter ytterligere sammenpresset gjennom aggregering og folding av nukleosomer for å gi en meget kondensert kromatinstruktur. En variasjonsbredde med ulike kondensasjonstilstander er mulig og tettheten av denne strukturen varierer under cellecyklusen, og er mest kompakt under celledelingen. Kromatinstruktur spiller en kritisk rolle i regulering av gentranskripsjon, som ikke skjer effektivt fra svært kondensert kromatin. Kromatinstrukturen kontrolleres av en serie av post-translasjonelle modifikasjoner til histonproteiner, særlig histonene H3 og H4 og mest vanlig i histonhalene som strekker seg utover kjernenukleosomstrukturen. Disse modifikasjonene omfatter acetylering, metylering, fosforylering, ubikitynering og SUMOylering. Disse epigenetiske spor skrives og slettes av spesifikke enzymer, som plasserer markører på spesifikke residuer på histonhalen, og derved gir en epigenetisk kode, som deretter tolkes av cellen for å tillate genspesifikk regulering av kromatinstrukturen og derved transkripsjon.

[0003] Histonacetylering er mest normalt forbundet med aktivering av gentranskripsjon, da modifiseringen løsgjør interaksjonen av DNA og histonoktomerer ved å endre de elektrostatiske egenskapene. I tillegg til denne fysikalske forandring binder spesifikke proteiner til acetylte lysinrester i histonene for å lese den epigenetiske koden. Bromdomener er små (-110 aminosyrer) distinkte domener i proteinene som normalt binder til acetylte lysinrester, men ikke utelukkende i konteksten av histoner. Det er en familie av rundt 50 proteiner kjent for å inneholde bromdomener og de har ulike funksjoner i cellen.

[0004] Bet-familien av bromdomer inneholdende proteiner omfatter 4 proteiner (BRD2, BRD3, BRD4 og BRD-t) som inneholder tandem bromdomener i stand til å binde til to acetylte lysinrester i tett nærhet, hvilket øker spesifisiteten av interaksjonen. BRD2 og

BRD3 er angitt å assosiere med histoner langs aktivt transkriberte gener og kan medvirke i å lette transkripsjonell forlengelse (Leroy et al, Mol. Cell. 2008 30(1):51-60), mens BRD4 synes å medvirke i rekrutteringen av pTEF-B komplekset til induserbare gener, hvilket resulterer i fosforylering av RNA polymerase og øket transkripsjonelt utbytte (Hargreaves et al, Cell, 2009 138(1): 129-145). Det har også vært angitt at BRD4 og BRD3 fusjonerer med NUT (nukleært protein i testikkel) og danner et nytt fusjonsonkogen, BRD4-NUT, i en meget ondartet form av epitelial neoplasi (French et al. Cancer Research, 2003, 63, 304-307 og French et al, Journal of Clinical Oncology, 2004, 22 (20), 4135-4139). Data indikerer at BRD-NUT fusjonsproteiner bidrar til carcinogense (Oncogene, 2008, 27, 2237-2242). BRD-t er unikt uttrykt i testiklene og eggstokkene. Alle familiemedlemmer er rapportert å ha noen funksjon i å kontrollere eller utøve aspekter ved cellecyklusen og er vist å forblir i kompleks med kromosomer under celledeling - hvilket indikerer en rolle i opprettholdelse av epigenetisk hukommelse. I tillegg anvender noen virus seg av disse proteiner for å binde deres genomer til vertscellenkromatinet, som del av prosessen ved viral replikasjon (You et al Cell, 2004 117(3):349-60).

[0005] Japansk patentsøknad JP2008-156311 beskriver et benzimidazolderivat som er nevnte å være et BRD2 bromdomenebindemiddel som er anvendelige med hensyn til virusinfeksjon / proliferasjon.

[0006] Patentsøknad WO2009/084693A1 beskriver en serie av tienotriazolodiazepienderivater som er nevnt å hemme bindingen mellom et acetylt histon og et bromdomene inneholdende protein som er angitt å være anvendelige som anti-kreft midler.

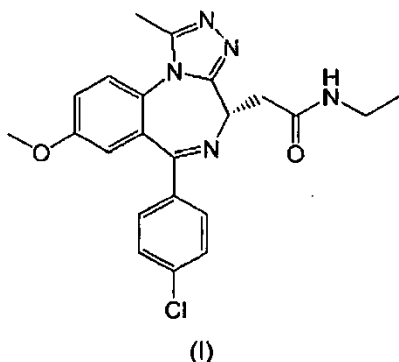
[0007] Europeisk patentsøknad EP0934940 beskriver en serie av triazepin- eller diazepinforbindelser som er nevnt å være cytokinproduksjoninhibitorer.

[0008] US-patent US5116971 beskriver en serie av substituerte-1 ,4-diazepiner som er angitt å være anvendelige ved behandling av sykdommer som er modulert av blodplateaktiverende faktor (PAF).

[0009] En forbindelse er funnet som hemmer bindingen av bromdomener med dens beslektede acetylte proteiner, mer spesielt som hemmer bindingen av Bet-familie bromdomener til acetylte lysinrester. En slik forbindelse vil heretter være referert til som en "bromdomeneinhibitor".

Oppsummering av oppfinnelsen

[0010] I et først aspekt av foreliggende oppfinnelse, tilveiebringes en forbindelse med formel (I) eller et salt derav



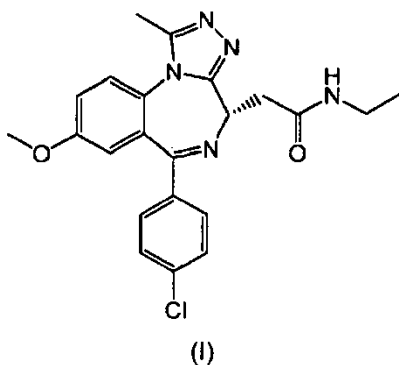
[0011] I et andre aspekt av foreliggende oppfinnelse, tilveiebringes et farmasøytisk preparat omfattende en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav og én eller flere farmasøytisk akseptable bærere, fortynningsmidler eller tilsetningsmidler.

[0012] I et tredje aspekt av foreliggende oppfinnelse, tilveiebringes en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for anvendelse i terapi, spesielt ved behandling av sykdommer eller lidelser for hvilken en bromdomene inhibitor er angitt.

[0013] I et fjerde aspekt av foreliggende oppfinnelse, tilveiebringes anvendelse av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav ved fremstilling av et medikament for behandling av sykdommer eller lidelser for hvilken en bromdomene inhibitor er angitt.

Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

[0014] Foreliggende oppfinnelse angår en forbindelse med formel (I) som er 2-[(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]-N-etylacetamid



eller et salt derav.

[0015] Det vil forstås at foreliggende oppfinnelse dekker forbindelser med formel (I) som den frie basen og som salter derav, for eksempel som et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

[0016] I én utførelsesform tilveiebringes en forbindelse som er 2-[(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]-N-etylacetamid.

[0017] På grunn av deres potensielle anvendelse i medisin er salter av forbindelsene med formel (I) fortrinnsvis farmasøytisk akseptable. I en annen utførelsesform tilveiebringes en forbindelse som er 2-[(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]-N-etylacetamid eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

[0018] Egnede farmasøytisk akseptable salter kan omfatte syre eller baseaddisjonssalter. For en oversikt over egnede salter se Berge et al., J. Pharm. Sci., 66:1-19, (1977). Typisk kan et farmasøytisk akseptabelt salt lett fremstilles ved anvendelse av en passende ønsket syre eller base. Det resulterende salt kan felles ut fra løsning og oppsamles ved filtrering eller kan gjenvinnes ved avdampning av løsningsmidlet.

[0019] Et farmasøytisk akseptabelt baseaddisjonssalt kan dannes ved reaksjon av en forbindelse med formel (I) med en egnet uorganisk eller organisk base, (f.eks. trietylamin, etanolamin, trietanolamin, cholin, arginin, lysin eller histidin), eventuelt i et egnet løsningsmiddel, hvilket gir baseaddisjonssalt som vanligvis isoleres, for eksempel ved krystallisasjon og filtrering. Farmasøytisk akseptable basesalter omfatter ammoniumsalter, alkalimetallsalter så som natrium og kalium, jordalkalimetallsalter så som kalsium og magnesium og salter med organiske baser, omfattende salter av

primære, sekundære og tertiære aminer, så som isopropylamin, dietylamin, etanolamin, trimetylamin, dicykloheksyl amin og N-metyl-D-glucamin.

[0020] Et farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt kan dannes ved reaksjon av en forbindelse med formel (I) med en egnet uorganisk eller organisk syre (så som bromhydrogensyre, saltsyre, svovelsyre, salpetersyre, fosforsyre, ravsyre, maleinsyre, eddiksyre, propionsyre, fumarsyre, sitronsyre, vinsyre, melkesyre, benzosyre, salicylsyre, glutaminsyre, asparaginsyre, p-toluensulfonsyre, benzensulfonsyre, metansulfonsyre, etansulfonsyre, naftalensulfonsyre så som 2-naftalensulfonsyre eller heksansyre), eventuelt i et egnet løsningsmiddel så som et organisk løsningsmiddel, hvilket gir saltet som vanligvis isoleres, for eksempel ved krystallisasjon og filtrering. Et farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt av en forbindelse med formel (I) kan omfatte eller være, for eksempel et hydrobromid, hydroklorid, sulfat, nitrat, fosfat, succinat, maleat, acetat, propionat, fumarat, citrat, tartrat, laktat, benzoat, salicylat, glutamat, aspartat, p-toluensulfonat, benzensulfonat, metansulfonat, etansulfonat, naftalensulfonat (f.eks. 2-naftalensulfonat) eller heksanoatsalt.

[0021] Andre ikke-farmasøytisk akseptable salter, f.eks. formiater, oksalater eller trifluoracetater, kan anvendes, for eksempel i isoleringen av forbindelsen med formel (I) og omfattes av omfanget av foreliggende oppfinnelse.

[0022] Oppfinnelsen omfatter innenfor sitt omfang alle mulig støkiometrisk og ikke-støkiometrisk former av saltene av forbindelsen med formel (I).

[0023] Det vil forstås at mange organiske forbindelser kan danne komplekser med løsningsmidler fra hvilket de blir omsatt eller fra hvilke de er utfelt eller krystallisert. Disse komplekser er kjent som "solvater". For eksempel er et kompleks med vann kjent som et "hydrat". Løsningsmidler med høy kokepunkt og/eller som er i stand til danne hydrogenbindinger så som vann, xylen, *N*-metyl pyrrolidinon, metanol og etanol kan anvendes for å danne solvater. Metoder for identifikasjon av solvater omfatter, men er ikke begrenset til, NMR og mikroanalyse. Solvater av forbindelsen med formel (I) er innenfor omfanget ifølge oppfinnelsen.

[0024] Oppfinnelsen omfatter innenfor sitt omfang alle mulig støkiometrisk og ikke-støkiometrisk former av solvatene av forbindelsen med formel (I).

[0025] Oppfinnelsen omfatter alle prodroger, av forbindelsen med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter derav, som ved administrering til mottageren kan gi

(direkte eller indirekte) en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav eller en aktiv metabolitt eller rest derav. Slike derivater er gjenkjennbare for fagfolk på området, uten unødvendig eksperimentering. Allikevel er referanse gjort til the teaching of Burger's Medicinal Chemistry og Drug Discovery, 5te Utgave, Vol 1: Principles and Practice, som er inntatt her ved referanse til slike derivater.

[0026] Forbindelsen med formel (I) kan være i krystallinsk eller amorf form. Videre kan noen av de krystallinske former av forbindelsen med formel (I) eksistere som polymorfer, hvilke omfattes av omfanget av foreliggende oppfinnelse. Polymorfe former av forbindelsen med formel (I) kan karakteriseres og differensieres ved anvendelse av flere konvensjonelle analytisk teknikker, omfattende, men ikke begrenset til, røntgen pulverdiffraksjons (XRPD) mønstre, infrarød (IR) spektra, Raman spektra, differensiell scanning kalorimetri (DSC), termogravimetrisk analyse (TGA) og faststofft kjernemagnetisk resonans (SSNMR).

[0027] Forbindelsen med formel (I) er en individuell isomer isolert hovedsakelig fri for den andre isomer (dvs. enantiomerisk ren) slik at mindre enn 10%, spesielt mindre enn ca. 1%, for eksempel mindre enn ca. 0,1 % av den andre enantiomer er tilstede.

[0028] Separasjon av isomerer kan oppnås ved konvensjonelle metoder kjent for fagfolk på området, f.eks. ved fraksjonert krystallisasjon, kromatografi eller HPLC.

[0029] Forbindelsen med formel (I) kan eksistere i én av mange tautomere former. Det vil forstås at foreliggende oppfinnelse omfatter alle tautomerer av forbindelsen med formel (I) hvorvidt som individuelle tautomerer eller som blandinger derav.

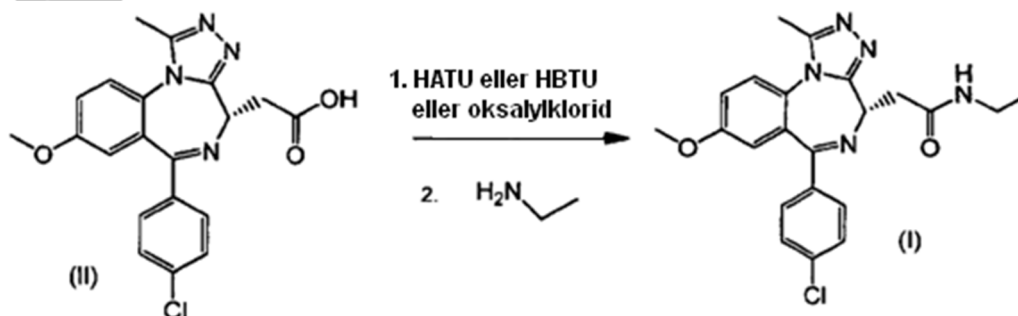
[0030] Det vil forstås fra foregående at omfattet innenfor omfanget ifølge oppfinnelsen er solvater, isomerer og polymorfe former av forbindelsen med formel (I) og salter derav.

[0031] Forbindelsen med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter derav kan fremstilles ved en rekke metoder, omfattende standard kjemi. Illustrative generelle syntesemetoder er angitt nedenfor og deretter er spesifikke forbindelse med formel (I) fremstilt som utførelseseksempler. Disse prosesser utgjør ytterligere aspekter ved foreliggende oppfinnelse.

[0032] Forbindelsen med formel (I) kan fremstilles i henhold til reaksjonsskjema 1 gjennom reaksjon av en forbindelse med formel (II) med EtNH₂ i nærvær av HATU eller

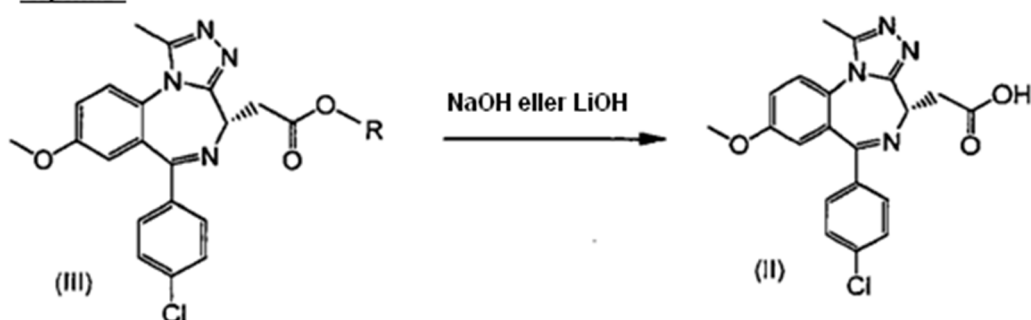
HBTU og DIEA ved romtemperatur. Alternativt kan forbindelser med formel (I) fremstilles ved omsetning av forbindelsen med formel (II) med oksalyklorid fulgt av tilsetning av EtNH₂ i nærvær av trietylamin.

Skjema 1



[0033] Forbindelsen med formel (II) kan fremstilles i henhold til reaksjonsskjema 2. Egnede reaksjonsbetingelser omfatter omsetning av en forbindelse med formel (III) med alkalisk hydroksid, fortrinnsvis natriumhydroksid eller litiumhydroksid.

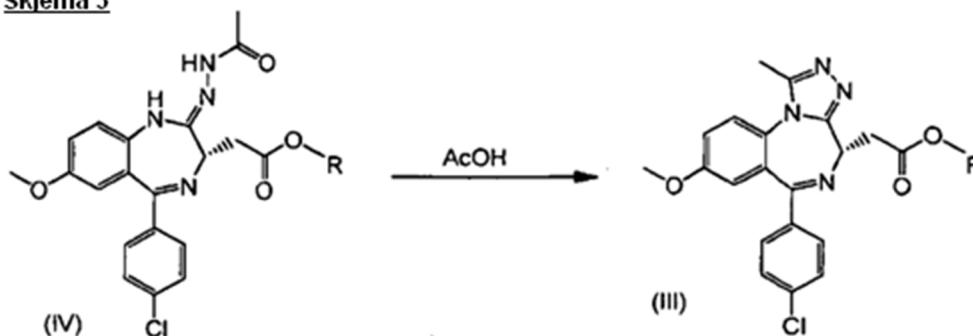
Skjema 2



hvor R representerer C₁₋₆alkyl så som metyl.

[0034] Forbindelser med formel (III), kan fremstilles i henhold til reaksjonsskjema 3 ved omsetning av forbindelser med formel (IV) med AcOH.

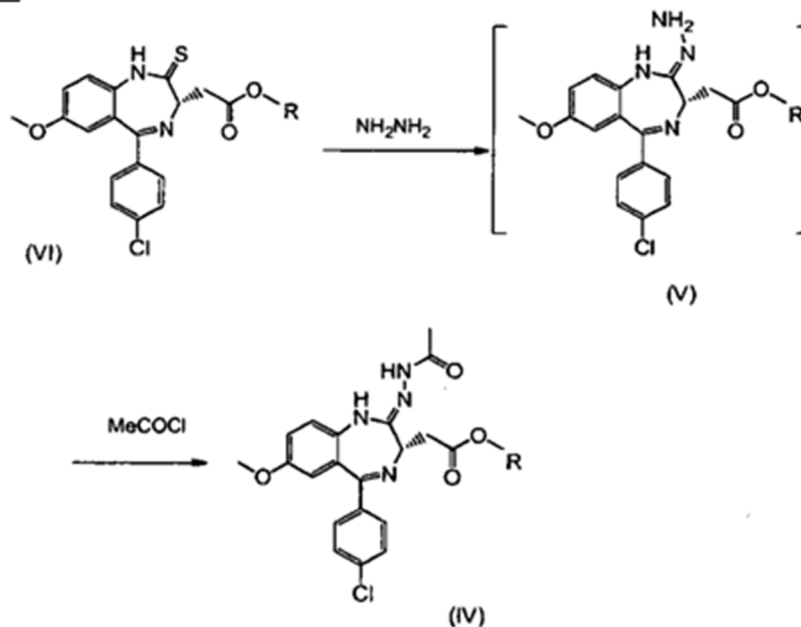
Skjema 3



[0035] Forbindelser med formel (IV) kan fremstilles i henhold til reaksjonsskjema 4 ved

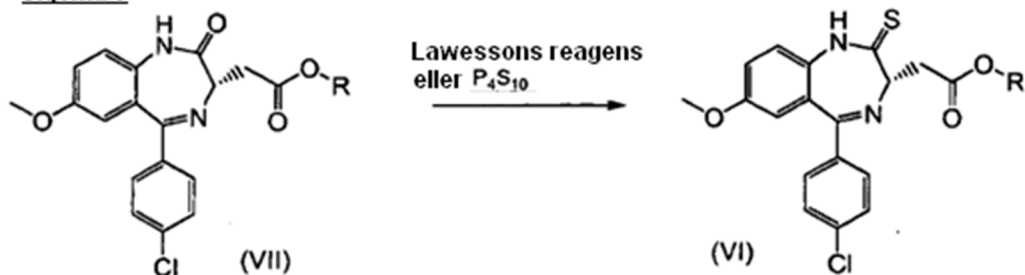
omsetning av forbindelser med formel (VI) med hydrazin under 15 °C fulgt av omsetning av den resulterende hydrazon (V) med MeCOCl ved 0°C. Generelt blir hydrazon (V) anvendt uten ytterligere rensning og blir omsatt med MeCOCl ved, for eksempel 0 °C.

Skjema 4



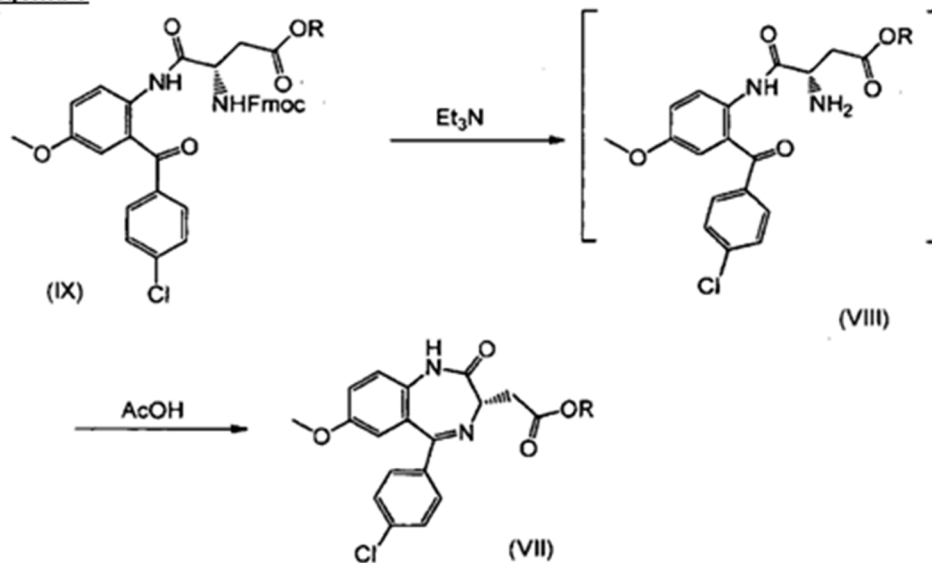
[0036] Forbindelser med formel (VI) hvor R er C_{1-6} alkyl (så som metyl) kan fremstilles i henhold til reaksjonsskjema 5 fra forbindelser med formel (VII) ved behandling med Lawessons reagens eller P_4S_{10} . Egnede reaksjonsbetingelser omfatter omsetning av forbindelser med formel (VIII) med P_4S_{10} i 1,2-dikloreten ved, for eksempel 70 °C.

Skjema 5

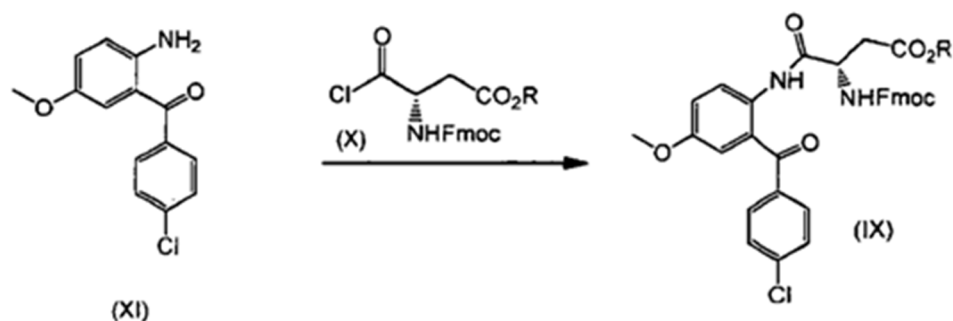


[0037] Forbindelser med formel (VII) kan fremstilles i henhold til reaksjonsskjema 6, ved omsetning av forbindelser med formel (IX) med en organisk base så som trietylamin fulgt av omsetning av den resulterende amin (VIII) med eddiksyre. Generelt blir amin (VIII) anvendt uten ytterligere rensning og blir omsatt med AcOH ved, for eksempel 60

°C.

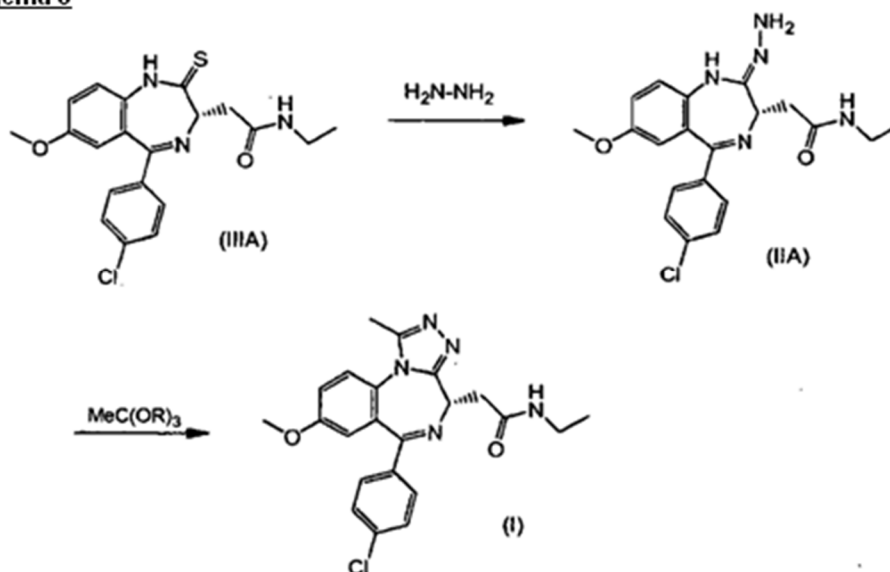
Skjema 6

[0038] Forbindelser med formel (IX) kan fremstilles i henhold til reaksjonsskjema 7, ved omsetning av forbindelser med formel (XI) med acylkloridet (X) avledet fra beskyttet asparaginsyre.

Skjema 7

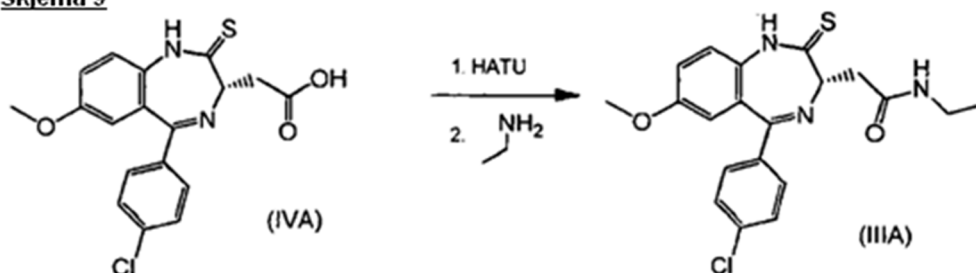
Forbindelser med formel (XI) kan fremstilles i henhold til prosedyrer beskrevet i Synthesis 1980, 677-688. Acylklorider med formel (X) kan fremstilles i henhold til prosedyrer beskrevet i J. Org. Chem., 1990, 55, 3068-3074 og J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 2001, 1673-1695.

[0039] Alternativt kan forbindelsen med formel (I) fremstilles i henhold til reaksjonsskjema 8.

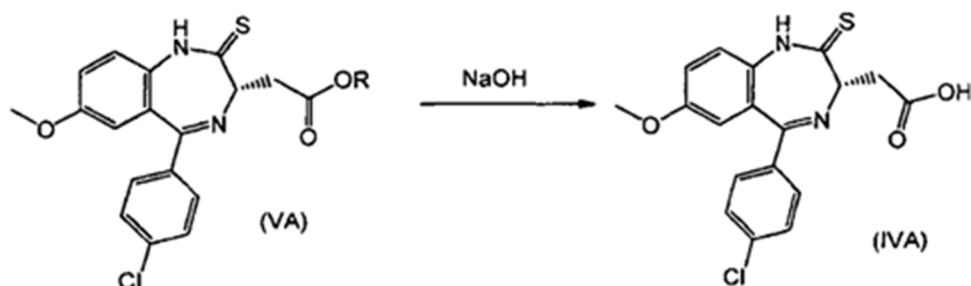
Skjema 8

hvor R representerer C_{1-4} alkyl så som metyl.

[0040] Forbindelsen med formel (IIIA) kan fremstilles i henhold til reaksjonsskjema 9 ved omsetning av forbindelser med formel (IVA) med EtNH_2 i nærvær av HATU og DIEA at, for eksempel ved romtemperatur.

Skjema 9

[0041] Forbindelsen med formel (IVA) kan fremstilles i henhold til reaksjonsskjema 10. Egnede reaksjonsbetingelser omfatter omsetning av forbindelser med formel (VI) med alkalisk hydroksid så som natriumhydroksid.

Skjema 10

[0042] Det vil forstås av fagfolk på området at det kan være fordelaktig å beskytte én eller flere funksjonelle grupper av forbindelsene beskrevet i prosessen ovenfor. Eksempler på beskyttelsesgrupper og midler for deres fjerning kan finnes i T. W. Greene 'Protective Groups in Organic Synthesis' (4th utgave, J. Wiley og Sons, 2006). Egnede aminbeskyttelsesgrupper omfatter acyl (f.eks. acetyl, karbamat (f.eks. 2',2',2'-trikloretoksykarbonyl, benzyloksykarbonyl eller t-butoksykarbonyl) og arylalkyl (f.eks. benzyl), som kan fjernes ved hydrolyse (f.eks. ved anvendelse av en syre så som saltsyre i dioksan eller trifluorediksyre i diklormetan) eller reduktivt (f.eks. hydrogenolyse av en benzyl- eller benzyloksykarbonylgruppe eller reduktiv fjerning av en 2',2',2'-trikloretoksykarbonylgruppe ved anvendelse av sink i eddiksyre) som passende. Andre egnede aminbeskyttelsesgrupper omfatter trifluoracetyl ($-\text{COCF}_3$) som kan fjernes med basekatalysert hydrolyse.

[0043] Det vil forstås at i hvilken som helst av veiene beskrevet ovenfor kan den nøyaktige rekkefølgen av de syntetiske trinn ved hvilken de forskjellige grupper og enheter blir innført i molekylet varieres. Det vil være innenfor fagmannens kunnskaper på området å sikre at grupper eller enheter som innføres i ett trinn i fremgangsmåten ikke påvirker påfølgende transformasjoner og reaksjoner og følgelig å velge rekkefølgen av syntetiske trinn.

[0044] Visse mellomproduktforbindelser beskrevet ovenfor er antatt å være nye og utgjør derfor et ytterligere aspekt ifølge oppfinnelsen.

[0045] Forbindelsen med formel (I) og salter derav er en bromdomeneinhibitor og er således antatt å ha potensiell nytte ved behandling av sykdommer eller lidelser for hvilken et bromdomene er angitt.

[0046] Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer således en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for anvendelse i terapi. Forbindelsen med formel (I) eller farmasøytisk salt derav kan være for anvendelse ved behandling av sykdommer eller lidelser for hvilken en bromdomeneinhibitor er angitt.

[0047] I én utførelsesform tilveiebringes en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for anvendelse ved behandling av sykdommer eller lidelser for hvilken et bromdomene er angitt. I en annen utførelsesform, tilveiebringes en forbindelse eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for anvendelse ved behandling av en kronisk autoimmun og/eller inflammatorisk tilstand. I en ytterligere utførelsesform,

tilveiebringes en forbindelse eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for anvendelse ved behandling av kreft, så som midlin karsinom (NMC).

[0048] I én utførelsesform tilveiebringes anvendelse av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav ved fremstilling av et medikament for behandling av sykdommer eller lidelser for hvilken en bromdomeneinhibitor er angitt. I en annen utførelsesform, tilveiebringes anvendelse av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav ved fremstilling av et medikament for behandling av en kronisk autoimmun og/eller inflammatorisk tilstand. I en ytterligere utførelsesform, tilveiebringes anvendelse av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav ved fremstilling av et medikament for behandling av kreft, så som midlin karsinom.

[0049] Beskrevet er en metode for behandling av en sykdom eller lidelse, for hvilken en bromdomeneinhibitor er angitt, hos et individ med behov for dette som omfatter administrering av en terapeutisk effektiv mengde av forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav. Ytterligere beskrevet er en metode for behandling av en kronisk autoimmun og/eller inflammatorisk tilstand, hos et individ med behov for dette som omfatter administrering av en terapeutisk effektiv mengde av forbindelsen med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav. Ytterligere beskrevet er en metode for behandling av kreft, så som midlin karsinom, hos et individ med behov for dette som omfatter administrering av en terapeutisk effektiv mengde av forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

[0050] I én utførelsesform er individet med behov for dette et pattedyr, spesielt et menneske.

[0051] Som anvendt her betyr betegnelsen "effektiv mengde" den mengde av et medikament eller farmasøytiske middel som fremkaller den biologiske eller medisinske respons i et vev, system, dyr eller menneske som søkes, for eksempel, av en forsker eller kliniker. Videre betyr betegnelsen "terapeutisk effektiv mengde" hvilken som helst mengde som, sammenlignet med et tilsvarende individ som ikke mottar en slik mengde, resulterer i forbedret behandling, helbredelse, forebygging eller forbedring av en sykdom, lidelse eller bivirkning eller en reduksjon i hastigheten av utvikling av en sykdom eller lidelse. Betegnelsen omfatter også innenfor sitt omfang mengder som er effektive for å forbedre normal fysiologisk funksjon.

[0052] Bromdomeneinhibitorer er antatt å være anvendelige ved behandling av en

rekke sykdommer eller lidelser relatert til systemisk eller vevinflammasjon, inflammatoriske responser ved infeksjon eller hypoksi, cellulær aktivering og proliferasjon, lipidmetabolisme, fibrose og ved forebygging og behandling av virale infeksjoner.

[0053] Bromdomeneinhibitorer kan være anvendelige ved behandling av en rekke kronisk autoimmune og inflammatoriske tilstander så som revmatoid artritt, osteoartritt, akutt gikt, psoriasis, systemisk lupus erythematosus, multippel sklerose, inflammatorisk tarmsykdom (Crohns sykdom og Ulcerativ kolitt), astma, kronisk obstruktiv luftveissykdom, pneumonitt, myokarditt, pericarditt, myositt, eksem, dermatitt, alopeci, vitiligo, bullous hudsykdommer, nefritt, vaskulitt, aterosklerose, Alzheimers sykdom, depresjon, retinititt, uveitt, sclerititt, hepatitt, pankreatitt, primær gallecirrhose, scleroserende kolangitt, Addisons sykdom, hypophysitt, thyreoiditt, type I diabetes og akutt avvisning av transplanterte organer.

[0054] Bromdomeneinhibitorer kan være anvendelige ved behandling av en rekke akutte inflammatoriske tilstander så som akutt gikt, kjempecelle arteritt, nefritt omfattende lupus nefritt, vaskulitt med organinvolvering så som glomerulonefritt, vaskulitt omfattende kjempecelle arteritt, Wegeners granulomatose, Polyarteritt nodosa, Behcets sykdom, Kawasaki sykdom, Takayasu Arteritt og akutt avvisning av transplanterte organer.

[0055] Bromdomeneinhibitorer kan være anvendelige i forebygging eller behandling av sykdommer eller lidelser som involverer inflammatoriske responser ved infeksjoner med bakterier, virus, sopper, parasitter eller deres toksiner, så som sepsis, sepsis syndrom, septisk sjokk, endotoksaemi, systemisk inflammatorisk respons syndrom (SIRS), multi-organ dysfunksjonssyndrom, toksisk sjokk syndrom, akutt lunge skade, ARDS (voksen åndenødssyndrom), akutt nyresvikt, fulminant hepatitt, brannså, akutt pankreatitt, post-kirurgiske syndromer, sarkoidose, Herxheimer reaksjoner, encefalitt, myelititt, meningitt, malaria, SIRS forbundet med virale infeksjoner så som influensa, herpes zoster, herpes simplex og coronavirus.

[0056] Bromdomeneinhibitorer kan være anvendelige i forebygging eller behandling av lidelser forbundet med ischemi-reperfusjonsskade så som myokardialt infarkt, cerebrovaskulær ischemi (slag), akutt koronar syndrom, nyre- reperfusjonsskade, organtransplantasjon, koronararterie bypass grafting, kardio-pulmonal bypass prosedyrer og pulmonal, nyre-, hepatisk, gastro-intestinal eller perifert lem-emboli.

[0057] Bromdomeneinhibitorer kan være anvendelige ved behandling av lidelser ved lipidmetabolisme via regulering av APO-A1 så som hyperkolesterolemi, aterosklerose og Alzheimers sykdom.

[0058] Bromdomene inhibitorer kan være anvendelige ved behandling av fibrotisk tilstander så som idiopatisk pulmonal fibrose, nyre- fibrose, post-operative stricture, keloid dannelse, sklerodermi og hjerte- fibrose.

[0059] Bromdomeneinhibitorer kan være anvendelige ved forebygging og behandling av virale infeksjoner så som herpes virus, humant papillomavirus, adenovirus, poxvirus og andre DNA virus.

[0060] Bromdomeneinhibitorer kan være anvendelige ved behandling av kreft, omfattende hematologisk (så som leukemi), epitelial omfattende lunge, bryst og kolon-karsinomer, midlin karsinomer, mesenkymal, hepatisk, nyre- og nevrologiske tumorer.

[0061] Bromdomeneinhibitorer kan være anvendelige ved behandling av oftamologiske indikasjoner så som tørre øyne.

[0062] I én utførelsesform er sykdommen eller tilstanden for hvilken en bromdomeneinhibitor er angitt valgt fra sykdommer forbundet med systemisk inflammatorisk respons syndrom, så som sepsis, brannså, pankreatitt, vesentlig traume, blødning og ischemi. I denne utførelsesform vil bromdomeneinhibitoren administreres ved diagnosetidspunktet for å redusere forekomst av: SIRS, begynnende sjokk, multi-organ dysfunksjon syndrom, som omfatter begynnende akutt lungeskade, ARDS, akutt nyre-, hepatisk, hjerte- og gastro-intestinal skade og dødelighet. I en annen utførelsesform ville bromdomeneinhibitoren administreres før kirurgiske eller andre prosedyrer forbundet med en høy risiko for sepsis, blødning, omfattende vevskade, SIRS eller MODS. I en spesiell utførelsesform er sykdommen eller tilstanden for hvilken en bromdomeneinhibitor angitt sepsis, sepsis syndrom, septisk sjokk og/eller endotoksaemi. I en annen utførelsesform er bromdomeneinhibitoren angitt for behandling av akutt eller kronisk pankreatitt. I en annen utførelsesform er bromdomene angitt for behandling av bums.

[0063] I én utførelsesform er sykdommen eller tilstanden for hvilken en bromdomeneinhibitor er angitt valgt fra herpes simplex infeksjoner og reaktiveringer, kalde sår, herpes zoster infeksjoner og reaktiveringer, vannkopper, helvetesild, human

papilloma virus, cervikal neoplas, adenovirusinfeksjoner, omfattende akutt respiratorisk sykdom og poxvirusinfeksjoner så som kukopper og koppper og afrikansk svinefebervirus. I én spesiell utførelsesform er en bromdomeneinhibitor angitt for behandling av Human papilloma virusinfeksjoner i hud eller cervikalt epitel.

[0064] Betegnelsen "sykdommer eller lidelser for hvilken en bromdomeneinhibitor er angitt", omfatter hvilken som helst eller alle de ovenfornevnte sykdomstilstander.

[0065] Mens det er mulig at for anvendelse i terapi kan en forbindelse med formel (I) så vel som farmasøytisk akseptable salter derav administreres som det rå kjemikalium er det normalt å presentere den aktive bestanddel som et farmasøytisk preparat.

[0066] Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer derfor i et ytterligere aspekt et farmasøytisk preparat omfattende en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav og én eller flere farmasøytisk akseptable bærere, fortynningsmidler eller tilsetningsmidler.

[0067] Således tilveiebringes et farmasøytisk preparat for behandling av sykdommer eller lidelser hvor en bromdomeneinhibitor er angitt omfattende en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

[0068] Bæreren(e), fortynningsmiddel (midlene) eller tilsetningsmiddel (midlene) anvendt i slike farmasøytiske preparater må være akseptable i forståelsen av å være kompatible med de andre bestanddelene i preparatet og ikke skadelig for mottageren derav. I henhold til et annet aspekt ved oppfinnelsen tilveiebringes det også en fremgangsmåte for fremstilling av et farmasøytisk preparat omfattende blanding av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, med én eller flere farmasøytisk akseptable bærere, fortynningsmidler eller tilsetningsmidler. Det farmasøytiske preparatet kan være for anvendelse ved behandling av hvilken som helst av tilstandene beskrevet her.

[0069] Siden forbindelsen med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter derav er ment for anvendelse i farmasøytiske preparater vil det lett forstås at de hver er fortrinnsvis i en hovedsakelig ren form, for eksempel minst 60% ren, mer hensiktsmessig minst 75% ren og fortrinnsvis minst 85% ren, spesielt minst 98% ren (% i en vekt på vekt basis).

[0070] Farmasøytiske preparater kan presenteres i enhetsdoseformer inneholdende en

forutbestemt mengde av aktiv bestanddel pr. enhetsdose. Foretrukne enhetsdosepreparater er de som inneholder en daglig dose eller under-dose eller en passende fraksjon derav, av en aktiv bestanddel. Slike enhetsdoser kan derfor administreres mer enn én gang pr. dag. Foretrukne enhetsdosepreparater er de som inneholder en daglig dose eller under-dose (for administrering mer enn én gang pr. dag), som her ovenfor angitt eller en passende fraksjon derav, av en aktiv bestanddel.

[0071] Farmasøytiske preparater kan være tilpasset for administrering ved hvilken som helst passende rute, for eksempel oral (omfattende bukkal eller sublingual), rektal, inhalert, intranasal, topisk (omfattende bukkal, sublingual eller transdermal), vaginal eller parenteral (omfattende subkutan, intramuskulær, intravenøs eller intradermal) rute. Slike preparater kan fremstilles ved hvilken som helst metode kjent på farmasiområdet, for eksempel ved å bringe den aktive bestanddel sammen med med bærer(e) eller tilsetningsmiddel (midlene).

[0072] I én utførelsesform er det farmasøytiske preparatet tilpasset for oral administrering.

[0073] I én utførelsesform er det farmasøytiske preparatet tilpasset for parenteral administrering, spesielt intravenøs administrering.

[0074] Farmasøytiske preparater tilpasset for parenteral administrering omfatter vandige og ikke-vandige sterile injeksjonsløsninger som kan inneholde antioksidanter, buffere, bakteriostatiske midler og løsemidler som gjør preparatet isotonisk med blodet til den tilsiktede mottager; og vandige og ikke-vandige sterile suspensjoner som kan omfatte suspensjonsmidler og fortykningsmidler. Preparatene kan presenteres i enhetsdose eller multidosebeholdere, for eksempel forseglede ampuller og medisinglass og kan lagres i en frysetørket (lyofilisert) tilstand som bare krever tilsetning av den sterile flytende bærer, for eksempel vann for injeksjoner, umiddelbart før anvendelse. Ekstemporaninjeksjonsløsninger og suspensjoner kan fremstilles fra sterile pulvere, granuler og tabletter.

[0075] Farmasøytiske preparater tilpasset for oral administrering kan presenteres som adskilte enheter så som kapsler eller tabletter; pulvere eller granuler; løsninger eller suspensjoner i vandige eller ikke-vandige væsker; spiselig skum eller krem; eller olje-i-vann flytende emulsjoner eller vann-i-olje flytende emulsjoner.

[0076] For eksempel, for oral administrering i form av en tablett eller kapsel, kan den

aktive medikamentkomponent kombineres med en oral, ikke-toksisk farmasøytisk akseptabel inert bærer så som etanol, glycerol, vann og lignende. Pulvere egnet for bruk i tabletter eller kapsler kan fremstilles ved reduksjon av forbindelsen til en egnet fin størrelse (f.eks. ved mikronisering) og blanding med en tilsvarende fremstilt farmasøytisk bærer så som et spiselige karbohydrat, som for eksempel stivelse eller mannitol. Smaksmidler, konserveringsmiddel, dispergeringsmiddel og fargemiddel kan også være til stede.

[0077] Kapsler kan fremstilles ved fremstilling av en pulverblanding, som beskrevet ovenfor og fylling i gelatinkapsler. Flytfremmende midler og glattemidler så som kolloidal silika, talk, magnesiumstearat, kalsiumstearat eller faststoff polyetylenglykol kan tilsettes pulverblandingen før fylling i kapselen. Et disintegreringsmiddel eller solubiliseringsmiddel så som agar-agar, kalsiumkarbonat eller natriumkarbonat kan også være satt til for å forbedre tilgjengeligheten av medikamentet når kapselen er inntatt.

[0078] Videre, når ønsket eller nødvendig, kan egnede bindemidler, flytfremmende midler, glattemidler, søtningsmidler, smaksmidler, desintegreringsmidler og fargemidler også innføres i blandingen. Egnede bindemidler omfatter stivelse, gelatin, naturlige sukkere så som glukose eller beta-laktose, mais søtningsmidler, naturlige og syntetiske gummier så som akasie, tragant eller natriumalginat, karboksymetylcellulose, polyetylenglykol, vokser og lignende. Glattemidler anvendt i disse doseformer omfatter natriumoleat, natriumstearat, magnesiumstearat, natrium benzoat, natriumacetat, natriumklorid og lignende. Disintegratorer omfatter, uten begrensning, stivelse, metylcellulose, agar, bentonitt, xantan gummi og lignende. Tabletter formuleres for eksempel ved fremstilling av en pulverblanding, granulering eller støting, tilsetning av et glattemiddel og disintegrant og pressing til tabletter. En pulverblanding fremstilles ved blanding av forbindelsen, hensiktsmessig pulverisert, med et fortynningsmiddel eller base som beskrevet ovenfor og eventuelt, med et bindemiddel så som karboksymetylcellulose, et alginat, gelatin eller polyvinyl pyrrolidon, en løsning av retardant så som paraffin, en resorpsjonsakselerator så som et kvaternær salt og/eller et absorpsjonsmiddel så som bentonitt, kaolin eller dikalsiumfosfat. Pulverblandingen kan granuleres ved fukting med et bindemiddel så som sirup, stivelsespasta, acadiaslim eller løsninger av cellulosiske eller polymere materialer og pressing gjennom en sikt. Som et alternativ til granulering, kan pulverblandingen kjøres gjennom tablettmaskinen og resultatet er ikke-perfekt dannede plugg brukket opp i granuler. Granulene kan smøres for å forhindre klebing til tablett-dannede piller ved hjelp av tilsetning av stearinsyre, et stearat salt, talk eller mineralolje. Den smurte blandingen presses deretter til tabletter. Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan også kombineres med en frittstrømmende inert bærer og

presses direkte til tabletter uten forutgående granulerings eller støtetrinn. Et klart eller ikke-gjennomsiktig beskyttende belegg bestående av et lukkende belegg av skjellakk, et belegg av sukker eller polymere materialer og et polerende belegg av voks kan anvendes. Fargestoffer kan tilsettes til disse belegg for å atskille ulike enhetsdoser.

[0079] Orale fluider så som løsninger, siruper og eliksirer kan fremstilles i doseenhetsform slik at en gitt mengde inneholder en forutbestemt mengde av forbindelsen. Siruper kan fremstilles ved oppløsning av forbindelsen i en hensiktsmessig smaksatt vandig løsning, mens eliksirer fremstilles gjennom anvendelse av en ikke-toksisk alkoholisk konstituent. Suspensjoner kan formuleres ved å dispergere forbindelsen i en ikke-toksisk konstituent. Solubiliseringssmidler og emulgeringssmidler så som etoksyliert isostearylalkoholer og polyoksyetylen sorbitoletere, konserveringssmidler, smaksmiddeladditiver så som peppermynteolje eller naturlige søtningsmidler eller sakkarin eller andre kunstige søtningsmidler og lignende kan også tilsettes.

[0080] Hvor passende kan doseenhetspreparater for oral administrering mikroinnkapslet. Formulering kan også fremstilles for å forlenge eller tilbakeholde frigjøringen som for eksempel gjennom belegg eller innstøping av partikkelholdig materiale i polymerer, med voks eller lignende.

[0081] Forbindelsene med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter derav kan også administreres i form av liposome leveringssystemer, så som små unilamellære blærer, store unilamellære blærer og multilamellære blærer. Liposomer kan fremstilles fra en rekke fosfolipider, så som kolesterol, stearylamin eller fosfatidylcholin.

[0082] Farmasøytiske preparater tilpasset topisk administrering kan formuleres som salver, kremer, suspensjoner, losjoner, pulvere, løsninger, pastaer, geler, spray-preparater, aerosol-preparater eller oljer.

[0083] For behandlinger av øyet eller andre ytre vev, for eksempel munn og hud, anvendes preparatene fortrinnsvis som en topisk salve eller krem. Når formulert i en salve kan den aktive bestanddel anvendes sammen med enten en paraffinisk eller en vann-blandbar salvebase. Alternativt kan den aktive bestanddel formuleres i en krem med en olje-i-vann krembase eller en vann-i-oljebase.

[0084] Farmasøytiske preparater tilpasset topisk administreringer til øyet omfatter øyedråper hvor den aktive bestanddel blir oppløst eller suspendert i en egnet bærer, spesielt et vandig løsningsmiddel.

[0085] Doseformer for nasal eller inhaleringsadministrering kan hensiktsmessig formuleres som aerosol-preparater, løsninger, suspensjoner, geler eller tørre pulvere.

[0086] For preparater egnet og/eller tilpasset for inhaleringsadministrering er det foretrukket at forbindelsen med formel (I) eller farmasøytisk akseptable salter derav er i en partikkel-størrelse-redusert form f.eks. oppnådd ved mikronisering. Den foretrukne partikkelstørrelse av størrelses-redusert (f.eks. mikroniset) forbindelse eller salt er definert ved en D50 verdi på ca. 0,5 til ca. 10 mikron (for eksempel som målt ved anvendelse av laserdiffraksjon).

[0087] Aerosolformuleringer, f.eks. for inhaleringsadministrering, kan omfatte en løsning eller fin suspensjon av den aktive substans i et farmasøytisk akseptabelt vandig eller ikke-vandig løsningsmiddel. Aerosolformuleringer kan presenteres i enkle eller multidosemengder i steril form i en forseglede beholder, som kan være i form av en patron eller refill for anvendelse med en atomiseringsanordning eller inhalator. Alternativt kan den forseglede beholder være en enhetsdispenserende anordning så som en enkeltdose nasal inhalator eller en aerosol dispenser utstyrt med en måleventil (oppmålende doseinhalator) som er ment for avhending når innholdet av beholderen er oppbrukt.

[0088] Hvor doseformen omfatter en aerosoldispenser inneholder den fortrinnsvis et egnet drivmiddel under trykk så som sammenpresset luft, karbondioksid eller et organisk drivmiddel så som et hydrofluorkarbon (HFC). Egnede HFC drivmidler omfatter 1,1,1,2,3,3,3-heptafluorpropan og 1,1,1,2-tetrafluoretan. Aerosoldoseformer kan også være i form av en pumpe-atomiserere. Aerosolen under trykk kan inneholde en løsning eller en suspensjon av den aktive forbindelsen. Dette kan kreve innføring av ytterligere tilsetningsmidler f.eks. medoppløsningsmidler og/eller overflateaktive midler for å forbedre dispersjonskarakteristikk og homogenitet for suspensjonsformuleringen. Løsningsformuleringer kan også kreve tilsetning av medoppløsningsmidler så som etanol.

[0089] For farmasøytiske preparater egnet og/eller tilpasset for inhaleringsadministrering kan det farmasøytiske preparatet være et tørrpulver inhalerbart preparat. Et slikt preparat kan omfatte en pulverbase så som laktose, glukose, trehalose, mannitol eller stivelse, forbindelsen med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav (fortrinnsvis i partikkel-størrelses-redusert form, f.eks. i mikronisert form) og eventuelt en ytelsesmodifikator så som L-leucin eller en annen aminosyre og/eller metallsalter av stearinsyre så som magnesium eller kalsiumstearat. Fortrinnsvis omfatter det tørrpulver inhalerbare preparatet en tørr

pulverblanding av laktose f.eks. laktose-monohydrat og forbindelsen med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav. Slike preparater kan administreres til pasienten ved anvendelse av en egnet anordning så som DISKUS® anordningen, markedsført av GlaxoSmithKlin for eksempel er beskrevet i GB 2242134 A.

[0090] Forbindelsen med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter derav kan formuleres som en fluidformulering for levering via en fluiddispenser, for eksempel en fluiddispenser som har en dispenseringsdyse eller dispenseringsåpning gjennom hvilken en oppmålt dose av fluid ormuleringen dispensereres ved anvendelse av en brukerpåført kraft på en pumpemekanisme på fluiddispenseren. Slike fluiddispensere har normalt et reservoar med multiple oppmålte doser av fluidformuleringen hvor dosene dispensereres ved sekvensielle pumpetrykk. Dispenseringsdysen eller åpningen kan være konfigurert for innføring i neseborene til brukeren for spraydispensering av fluidformuleringen til nesehulen. En fluiddispenser av ovennevnte type er beskrevet og illustrert i WO2005/044354 A1.

[0091] En terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse med formel (I) eller farmasøytisk akseptabelt salt derav vil avhenge av flere faktorer omfattende for eksempel alderen og vekt av dyret, den nøyaktige tilstanden som krever behandling og dens alvorlighet, typen av formulering og administreringsveien og vil til slutt bestemmes av den behandlende lege eller veterinær. I det farmasøytiske preparatet inneholder hver doseenheter for oral eller parenteral administrering fortrinnsvis fra 0,01 til 3000 mg, mer foretrukket 0,5 til 1000 mg, av en forbindelse med formel (I) eller farmasøytisk akseptabelt salt derav beregnet som den frie basen. Hver doseenheter for nasal eller inhaleringsadministrering inneholder fortrinnsvis fra 0,001 til 50 mg, mer foretrukket 0,01 til 5 mg, av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, beregnet som den frie basen.

[0092] Forbindelsen med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter derav kan administreres i en daglig dose (for en voksen pasient) med, for eksempel en oral eller parenteral dose på 0,01 mg til 3000 mg pr. dag eller 0,5 til 1000 mg pr. dag eller en nasal eller inhalert dose på 0,001 til 50 mg pr. dag eller 0,01 til 5 mg pr. dag, av forbindelsen med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, beregnet som den frie basen. Denne mengden kan være gitt i en enkel dose pr. dag eller mer vanligvis i et antall (så som to, tre, fire, fem eller seks) under-doser pr. dag slik at den totale daglige dosen blir den samme. En effektiv mengde av et farmasøytisk akseptabelt salt derav, kan bestemmes som andelen av den effektive mengde av forbindelsen med formel (I) *per se*.

[0093] Således tilveiebringes et farmasøytisk preparat omfattende a) 0,01 til 3000 mg av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav og (b) 0,1 til 2 g av én eller flere farmasøytisk akseptable bærere, fortynningsmidler og/eller tilsetningsmidler.

[0094] Forbindelsen med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter derav kan anvendes alene eller i kombinasjon med andre terapeutiske midler. Kombinasjonsterapier ifølge foreliggende oppfinnelse omfatter således administrering av minst én forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav og anvendelse av minst ett andre farmasøytisk aktivt middel. Fortrinnsvis omfatter kombinasjonsterapier ifølge foreliggende oppfinnelse administrering av minst én forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav og minst ett andre farmasøytisk aktivt middel. Forbindelsen med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter derav og det andre farmasøytisk aktive middel (midler) kan administreres sammen i et enkelt farmasøytisk preparat eller separat og, når administrert separat kan dette skje samtidig eller sekvensielt i hvilken som helst rekkefølge. Mengdene av forbindelsen med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter derav og det andre farmasøytisk aktive middel (midler) og det relative tidsregimet for administrering velges for å oppnå den ønskede kombinerte terapeutiske effekt. Således i et ytterligere aspekt, tilveiebringes en kombinasjon omfattende en forbindelse med formel (I) eller farmasøytisk akseptabelt salt derav og minst ett annet farmasøytisk aktivt middel. I én utførelsesform tilveiebringes et kombinasjonsfarmasøytiskprodukt omfattende en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav sammen med én eller flere andre terapeutisk aktive midler.

[0095] Således i ett aspekt kan forbindelsen med formel (I) og farmasøytiske preparater ifølge oppfinnelsen anvendes i kombinasjon med eller omfatte ett eller flere andre terapeutiske midler, for eksempel valgt fra antibiotika, anti-virale midler, glucocorticosteroider, muskarinantagonister og beta-2 agonister.

[0096] Det vil forstås at når forbindelsen med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter derav administreres i kombinasjon med andre terapeutiske midler administreres de normalt ved inhalasjon, intravenøs, oral eller intranasal rute, og at det resulterende farmasøytiske preparat kan administreres ved samme ruter. Alternativt kan de individuelle komponenter av preparatet administreres ved ulike ruter.

[0097] En utførelsesform ifølge oppfinnelsen omfatter kombinasjoner omfattende én eller to andre terapeutiske midler.

[0098] Det vil være klart for fagfolk på området at, hvor passende, kan det andre terapeutisk bestanddel(er) anvendes i form av salter, for eksempel som alkalimetall eller aminsalter eller som syreaddisjonssalter eller som solvater, for eksempel hydrater, for å optimalisere aktiviteten og/eller stabilitet og/eller fysikalsk karakteristik, så som oppløselighet, av den terapeutiske bestanddel. Det vil også være klart at, hvor passende, kan de terapeutiske bestanddeler anvendes i optisk ren form.

[0099] Kombinasjonene referert til ovenfor kan hensiktsmessig presenteres for anvendelse i form av et farmasøytisk preparat og således representere farmasøytiske preparater en kombinasjon som definert ovenfor sammen med et farmasøytisk akseptabelt fortynningsmiddel eller bærer et ytterligere aspekt ifølge oppfinnelsen.

[0100] Forbindelsen med formel (I) kan fremstilles ved metodene beskrevet nedenfor eller ved lignende metoder. Således tjener de følgende Mellomprodukter og Eksempler til å illustrere fremstilling av forbindelsen med formel (I) og er ikke ment å være begrensende for omfanget ifølge oppfinnelsen på noen måte.

Generelle eksperimentelle detaljer

[0101] Alle temperaturer referert til er i °C.

Forkortelser

[0102]

TLC	- tynnsjiktskromatografi
AcOH	- eddiksyre
AcCl	- acetylklorid
PPTS	- pyridinium <i>p</i> -toluensulfonat
DCM	- diklormetan
1,2-DCE	- 1,2-dikloreten
DIC	- Diisopropylkarbodiimid
DIEA	- <i>N,N</i> -diisopropyletylamin
DMF	- <i>N,N</i> -dimetylformamid
DMAP	- 4-dimetylaminopyridin

Fmoc	- 9H-fluoren-9-ylmetyl)oksy]karbonyl
HATU	-O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluronium heksafluorfosfat
HBTU	- O-(benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluronium heksafluorfosfat
Et ₂ O	- dietyleter
EtOAc	- etylacetat
<i>in</i> -Pr ₂ O	- di-isopropyleter
Config.	- absolutt konfigurasjon
Lawesson's	- Reagens 2,4-bis(4-metoksyfenyl)-1,3-ditia-2,4-difosfetan-2,4-disulfid
MeCN	- acetonitril
MeOH	- metanol
Rt	- retensjonstid
THF	- tetrahydrofuran
RT	- romtemperatur
Pd/C	- palladium på karbon

[0103] LC/MS angir analyser med analytisk HPLC som ble utført på to typer av apparat:

a) På en Supelcosil LCABZ+PLUSS kolonne (3µm, 3,3cm x 4,6mm ID) under eluering med 0,1% HCO₂H og 0,01 M ammoniumacetat i vann (løsningsmiddel A) og 95% acetonitril og 0,05% HCO₂H i vann (løsningsmiddel B), ved anvendelse av de følgende elueringsgradienter 0-0,7 minutter 0%B, 0,7-4,2 minutter 0→100%B, 4,2-5,3 minutter 100%B, 5,3-5,5 minutter 100→0%B ved en strømningshastighet på 3 ml/minutt. Massespektra (MS) ble registrert på en Fisons VG Platform massespektrometer ved anvendelse av elektro spray positiv ionisasjon [(ES+ve, hvilket gir [M+H]⁺ og [M+NH₄]⁺ molekyllioner] eller elektro spray negativ ionisasjon [(ES-ve, hvilket gir [M-H]⁻ molekyllærion] modus. Analytiske data fra dette apparat er oppgitt med følgende format: [M+H]⁺ eller [M-H]⁻.

b) På en Chromolith Preformance RP 18 kolonne (100 x 4,6 mm id) under eluering med 0,01M ammoniumacetat i vann (løsningsmiddel A) og 100% acetonitril (løsningsmiddel B), ved anvendelse av følgende elueringsgradienter 0-4 minutter 0 →100% B, 4-5 minutter 100% B ved en strømningshastighet på 5 ml/minutt. Massespektra (MS) ble registrert på et mikromass Platform-LC massespektrometer ved anvendelse av atmosfærisk trykk kjemisk positiv ionisasjon [AP+ve, hvilket gir MH⁺ molekyllioner] eller atmosfærisk trykk kjemisk negativ ionisasjon [AP-ve, hvilket gir (M-H)⁻ molekyllioner] modus. Analytiske data

fra dette apparat er oppgitt med følgende format: $[M+H]^+$ eller $[M-H]^-$ med forkortelsen APCI for å angi begge massespektrometrianalysekilder.

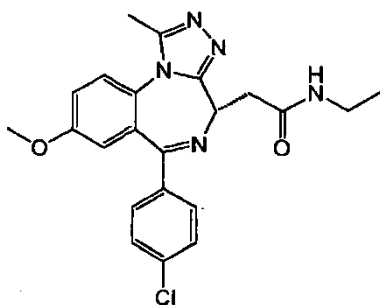
[0104] LC/HRMS: Analytisk HPLC ble utført på en Uptisphere-hsc kolonne (3 μ m 33 x 3 mm id) under eluering med 0,01M ammoniumacetat i vann (løsningsmiddel A) og 100% acetonitril (løsningsmiddel B), ved anvendelse av følgende elueringsgradient 0-0,5 minutter 5% B, 0,5-3,75 minutter 5 $\rightarrow$ 100% B, 3,75-4,5 100% B, 4,5-5 100 $\rightarrow$ 5% B, 5-5,5 5% B ved en strømningshastighet på 1,3 ml/minutt. Massespektra (MS) ble registrert på en micromass LCT massespektrometer ved anvendelse av elektropray positiv ionisasjon $[ES+ve]$, hvilket gir MH^+ molekyllioner] eller elektropray negativ ionisasjon $[ES-ve]$, hvilket gir $(M-H)^-$ molekyllioner] modus.

[0105] Massedirigert auto-prep HPLC angir metoden hvor materialet ble rensert ved høy ytelses væskekromatografi på en HPLCABZ+ 5 μ m kolonne (5cm x 10mm i.d.) med 0,1% HCO_2H i vann og 95% MeCN, 5% vann (0,5% HCO_2H) ved å anvende følgende gradientelueringbetingelser: 0-1,0 minutter 5%B, 1,0-8,0 minutter 5 $\rightarrow$ 30%B, 8,0-8,9 minutter 30%B, 8,9-9,0 minutter 30 $\rightarrow$ 95%B, 9,0-9,9 minutter 95%B, 9,9-10 minutter 95 $\rightarrow$ 0%B ved en strømningshastighet på 8ml/minutt. Gilson 202-fraction collector ble styrt av et VG Platform Massespektrometer ved deteksjon av massen av interesse.

[0106] Proton NMR (1H NMR) spektra ble registrert ved omgivelsestemperatur med et Bruker Avance 300 DPX spektrometer ved anvendelse av solvent som indre standard og proton kjemiske skift er uttrykt i ppm i det angitte løsningsmidlet. Følgende forkortelser anvendes for multiplisitet i NMR signaler: s = singlett, d = dublett, t = triplett, q = kvadruplett, dd = dobbel dublett, m = multippelt.

[0107] TLC (tynnskiktskromatografi) angir anvendelse av TLC plater fraMerck belagt med silikagel 60 F254.

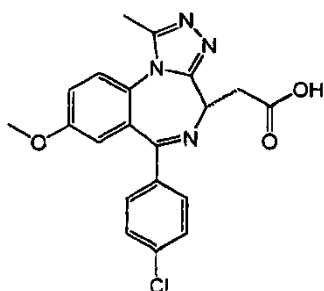
Eksempel 1: 2-[(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-(1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]-N-etylacetamid

[0108]

[0109] Til en løsning av [(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]eddiksyre (for fremstilling se Mellomprodukt 1) (16,0 g, 40 mmol) i THF ved RT ble tilsatt DIEA (14 ml, 80 mmol) fulgt av HATU (30,4 g, 80 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt i 3 timer ved denne temperatur og etylamin (40 ml, 2M i THF, 80 mmol) ble tilsatt. Blandingen ble omrørt i 48 timer før konsentrering under redusert trykk. Det rå materialet ble suspendert i vann og ekstrahert med DCM. Den organiske fasen ble tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert *i vakuum*. Det rå faste stoffet ble renset ved kromatografi på SiO₂ (DCM/MeOH 95/5) og det resulterende faste stoffet omkrystallisert i MeCN. Det faste stoffet ble deretter oppløst i DCM og utfelt med *i*-Pr₂O, hvilket gir tittelforbindelsen (8 g, 47% utbytte) som et hvitt, fast stoff.

[0110] R_f = 0,48 (DCM/MeOH : 90/10). Sm.p. >140 °C (blir gummi). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,53-7,47 (m, 2H), 7,39 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 7,37-7,31 (m, 2H), 7,20 (dd, *J* = 2,9 og 8,9 Hz, 1H), 6,86 (d, *J* = 2,9 Hz, 1 H), 6,40 (m, 1 H), 4,62 (m, 1 H), 3,80 (s, 3H), 3,51 (dd, *J* = 7,3 og 14,1 Hz, 1 H), 3,46-3,21 (m, 3H), 2,62 (s, 3H), 1,19 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H). LC/MS : m/z 424 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Rt 2,33 min.

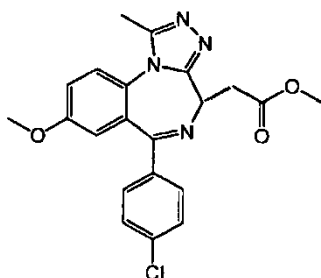
Mellomprodukt 1: [(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]eddiksyre

[0111]

[0112] Til en løsning av metyl [(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]acetat (for fremstilling se Mellomprodukt 2) (28 g, 68 mmol) i THF (450 ml) ved RT ble tilsatt 1 N NaOH (136 ml, 136 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt ved denne temperatur i 5 timer før avkjøling og behandlet med 1N HCl (136 ml). THF ble fjernet under redusert trykk og den vandige fasen ekstrahert med DCM. De kombinerte organiske faser ble tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert under redusert trykk. Det rå faste stoffet ble omkrystallisert i CH₃CN, hvilket gir tittelforbindelsen (23,9 g, 89% utbytte) som et blekgult pulver. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,55-7,48 (m, 2H), 7,41 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 7,38-7,31 (m, 2H), 7,22 (dd, J = 2,9 og 8,9 Hz, 1 H), 6,90 (d, J = 2,9 Hz, 1 H), 4,59 (dd, J = 6,9 og 6,9 Hz, 1 H), 3,81 (s, 3H), 3,70 (dd, J = 6,9 og 25,7 Hz, 1 H), 3,61 (dd, J = 6,9 og 25,7 Hz, 1 H), 2,63 (s, 3H). LC/MS: m/z 397 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Rt 2,11 min.

Mellomprodukt 2: Metyl [(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]acetat

[0113]

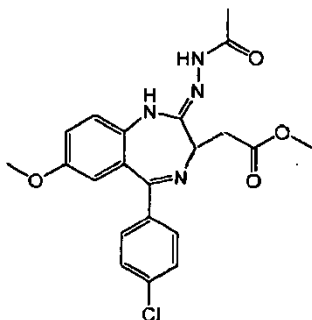


[0114] Til rå metyl [(3S)-2-[(1Z)-2-acetylhydrazino]-5-(4-klorfenyl)-7-(metyloksy)-3H-1,4-benzodiazepin-3-yl]acetat (for fremstilling se Mellomprodukt 3) (34 g, 79 mmol) suspendert i THF (200 ml) ble AcOH (200 ml) tilsatt ved RT. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved denne temperatur natten over før konsentrasjon til tørrhet. Residuet ble suspendert i mettet NaHCO₃ og ekstrahert med DCM. Den organiske fasen ble tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert *i vakuum*. Det rå faste stoffet ble rensset ved kromatografi på SiO₂ (DCM/MeOH : 90/10), hvilket gir tittelforbindelsen (28 g, 86% utbytte) som et gult pulver.

[0115] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,54-7,47 (m, 2H), 7,40 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,37-7,31 (m, 2H), 7,22 (dd, J = 2,8 og 8,8 Hz, 1 H), 6,89 (d, J = 2,8 Hz, 1 H), 4,61 (dd, J = 6,4 og 7,8 Hz, 1 H), 3,82 (s, 3H), 3,78 (s, 3H), 3,66 (dd, J = 7,8 og 16,9 Hz, 1H), 3,60 (dd, J = 6,4 og 16,9 Hz, 1H), 2,62 (s, 3H). LC/MS m/z 411 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Rt 2,88 min.

Mellomprodukt 3: Metyl [(3S)-2-[2-acetylhydrazino]-5-(4-klorfenyl)-7-(metyloksy)-3H-1,4-benzodiazepin-3-yl]acetat

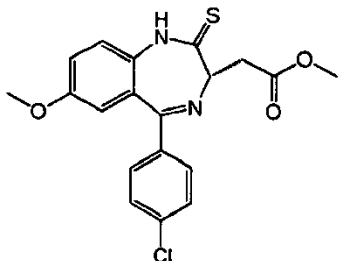
[0116]



[0117] Til en suspensjon av metyl [(3S)-5-(4-klorfenyl)-7-(metyloksy)-2-tiokso-2,3-dihydro-1H-1,4-benzodiazepin-3-yl]acetat (for fremstilling se Mellomprodukt 4) (30,2 g, 77,7 mmol) i THF (800 ml) ved 0°C ble dråpevis tilsatt hydrazinmonohydrat (11,3 ml, 233 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt i 4 timer mellom 0°C og 15°C før avkjøling ved 0°C. Et₃N (32,4 ml, 230 mmol) ble deretter langsomt tilsatt og AcCl (16,3 ml, 230 mmol) ble dråpevis tilsatt. Blandingen ble oppvarmet til romtemperatur og omrørt i 1 time og deretter behandlet med vann og konsentrert under redusert trykk. Den resulterende vandige fasen ble deretter ekstrahert med DCM og den organiske fasen ble tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert *i vakuum*, hvilket gir rå tittelforbindelse (34 g, 100% utbytte) som ble anvendt uten ytterligere rensning. LC/MS: m/z 429 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Rt 2,83 min.

Mellomprodukt 4: Metyl [(3S)-5-(4-klorfenyl)-7-(metyloksy)-2-tiokso-2,3-dihydro-1H-1,4-benzodiazepin-3-yl]acetat

[0118]

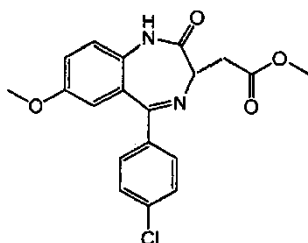


[0119] En suspensjon av P₄S₁₀ (85,8 g, 190 mmol) og Na₂CO₃ (20,5 g, 190 mmol) i 1,2-DCE (1,5 L) ved RT ble omrørt i 1 time før metyl [(3S)-5-(4-klorfenyl)-7-(metyloksy)-2-okso-2,3-dihydro-1H-1,4-benzodiazepin-3-yl]acetat (for fremstilling se Mellomprodukt

5) (40 g, 107 mmol) ble tilsatt. Den resulterende blandingen ble omrørt ved 65°C i 4 timer før avkjøling og filtrering. Det faste stoffet ble vasket med DCM og filtratet vasket med mettet NaHCO₃. Den organiske fasen ble tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert under redusert trykk. Tittelforbindelsen ble utfelt fra en DCM/*in*-Pr₂O blanding og filtrert. Filtratet ble deretter konsentrert og rensed ved flash kromatografi (DCM/MeOH : 98/2), hvilket gir en ytterligere batch produkt. Tittelforbindelsen ble oppnådd ved kombinasjon av de to fraksjoner (30,2 g, 73%) som et gult pulver. LC/MS: m/z 389 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Rt 3,29 min.

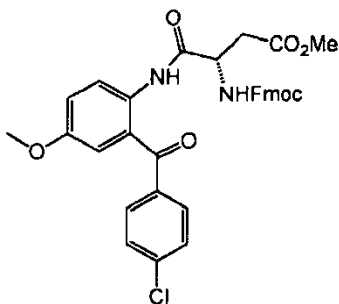
Mellomprodukt 5: Metyl [(3*S*)-5-(4-klorfenyl)-7-(metyloksy)-2-okso-2,3-dihydro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-yl]acetat

[0120]



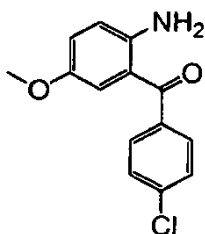
[0121] Til en løsning av rå metyl *N*¹-[2-[(4-klorfenyl)karbonyl]-4-(metyloksy)fenyl]-*N*²-{[(9*H*-fluoren-9-ylmetyl)oksy]karbonyl}-L-α-asparaginat (for fremstilling se Mellomprodukt 6) (antatt 0,2 mol) i DCM (500 ml) ble tilsatt Et₃N (500 ml, 3,65 mol) og den resulterende blandingen ble tilbakeløpskokt i 24 timer før konsentrasjon. Det resulterende rå aminet ble oppløst i 1,2-DCE (1,5 L) og AcOH (104 ml, 1,8 mol) ble forsiktig tilsatt. Reaksjonsblanding ble deretter omrørt ved 60°C i 2 timer før konsentrering *in vacuo* og oppløst i DCM. Den organiske fasen ble vasket med 1 N HCl og den vandige fasen ekstrahert med DCM (x3). De kombinerte organiske faser ble vasket to ganger med vann og saltvann, tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert under redusert trykk. Det rå faste stoffet ble omkrystallisert i MeCN hvilket gir tittelforbindelsen (51 g) som et blekgult, fast stoff. Filtratet kan konsentreres og omkrystalliseres i MeCN, hvilket gir ytterligere 10 g Mellomprodukt 9 (total: 61 g, 69% utbytte basert på gjenvunnet Mellomprodukt 12). R_f = 0,34 (DCM/MeOH : 95/5). LC/MS m/z 373 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Rt 2,76 min.

Mellomprodukt 6: Metyl *N*¹-[2-[(4-klorfenyl)karbonyl]-4-metyloksy)fenyl]-*N*²-{[(9*H*-fluoren-9-ylmetyl)oksy]karbonyl}-L-α-asparaginat

[0122]

[0123] En blanding av Metyl *N*-{[(9*H*-fluoren-9-ylmetyl)oksy]karbonyl}-L- α -aspartylklorid (fremstilt fra J. Org. Chem. 1990, 55, 3068-3074 og J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 2001, 1673-1695) (221 g, 0,57 mol) og [2-amino-5-(metyloksy)fenyl](4-klorfenyl)metanon (for fremstilling se Mellomprodukt 7) (133 g, 0,5 mol) i CHCl_3 (410 ml) ble omrørt ved 60°C i 1,5 timer før avkjøling og konsentrering under redusert trykk og anvendt videre uten ytterligere rensning. LC/MS: m/z 613 [$\text{M}(^{35}\text{Cl})+\text{H}$] $^+$, R_t = 3,89 min.

Mellomprodukt 7: [2-amino-5-(metyloksy)fenyl](4-klorfenyl)metanon

[0124]

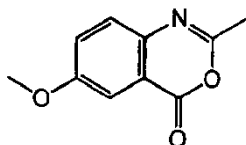
[0125] Til en løsning av 2-metyl-6-(metyloksy)-4*H*-3,1-benzoksazin-4-on (for fremstilling se Mellomprodukt 8) (40,0 g, 0,21 mol) i en toluen (560 ml)/eter (200 ml) blanding ved 0°C ble dråpevis tilsatt en løsning av 4-klorfenylmagnesiumbromid (170 ml, 1M i Et_2O , 0,17 mol). Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til romtemperatur og omrørt i 1 time før behandling med 1 N HCl. Den vandige fasen ble ekstrahert med EtOAc (3 x) og de kombinerte organiske faser vasket med saltvann, tørket over Na_2SO_4 , filtrert og konsentrert under redusert trykk. Den rå forbindelsen ble deretter oppløst i EtOH (400 ml) og 6N HCl (160 ml) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble tilbakeløpskokt i 2 timer før konsentrering under redusert trykk. Det resulterende faste stoffet ble filtrert og vasket to ganger med eter før suspensjon i EtOAc og nøytralisering med 1 N NaOH. Den vandige fasen ble ekstrahert med EtOAc (3 x) og de kombinerte organiske faser vasket med

saltvann, tørket over Na_2SO_4 , filtrert og konsentrert under redusert trykk.

Tittelforbindelsen ble oppnådd som et gult, fast stoff (39 g, 88 % utbytte) som ble anvendt videre uten ytterligere rensning.

Mellomprodukt 8 : 2-metyl-6-(metyloksy)-4H-3,1-benzoksazin-4-on

[0126]



[0127] En løsning av 5-metoksyantranilsyre (7,8 g, 46,5 mmol) ble tilbakesløpskokt i eddiksyreanhydrid (60 ml) i 2 timer15 før avkjøling og konsentrering under redusert trykk. Det rå residuet ble deretter konsentrert to ganger i nærvær av toluen før filtrering og vasking med eter, hvilket gir tittelforbindelsen (6,8 g, 77% utbytte) som et beige, fast stoff; LC/MS: m/z 192 $[\text{M}+\text{H}]^+$, R_t 1,69 min.

Fremstilling av referanseforbindelser for anvendelse i biologiske forsøk

[0128] Eksperimentelle detaljer for LC-MS metoder A og B som referert til her er som følger:

[0129] LC/MS (Metode A) ble utført på en Supelcosil LCABZ+PLUSS kolonne (3 μm , 3,3cm x 4,6mm ID) under eluering med 0,1% HCO_2H og 0,01 M ammoniumacetat i vann (løsningsmiddel A) og 95% acetonitril og 0,05% HCO_2H i vann (løsningsmiddel B), ved anvendelse av følgende elueringsgradient 0-0,7 minutter 0%B, 0,7-4,2 minutter 0 $\rightarrow$ 100%B, 4,2-5,3 minutter 100%B, 5,3-5,5 minutter 100 $\rightarrow$ 0%B ved en strømningshastighet på 3 ml/minutt. Massespektra (MS) ble registrert på en Fisons VG Platform massespektrometer ved anvendelse av elektropray positiv ionisasjon [(ES+ve, hvilket gir $[\text{M}+\text{H}]^+$ og $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ molekyllioner] eller elektropray negativ ionisasjon [(ES-ve, hvilket gir $[\text{M}-\text{H}]^-$ molekyllion] modus. Analytiske data fra dette apparat er gitt med med følgende format: $[\text{M}+\text{H}]^+$ eller $[\text{M}-\text{H}]^-$.

[0130] LC/MS (Metode B) ble utført på en Sunfire C18 kolonne (30mm x 4,6mm i.d. 3,5 μm pakkediameter) ved 30 grader celsius, under eluering med 0,1% volum/volum løsning av Trifluoreddiksyre i Vann (Løsningsmiddel A) og 0,1 % volum/volum løsning av Trifluoreddiksyre i Acetonitril (Løsningsmiddel B) ved anvendelse av følgende elueringsgradient 0-0,1 min 3%B, 0,1- 4,2min 3-100% B, 4,2-4,8min 100% B, 4,8-

4,9min 100-3%B, 4,9 - 5,0min 3% B ved en strømningshastighet på 3 ml/min. UV deteksjon ble basert på et gjennomsnittssignal fra bølglengder fra 210nm til 350nm og massespektra ble registrert på et massespektrometer ved anvendelse av positiv elektropray ionisasjon. Ionisasjonsdata ble avrundet til nærmeste hele tall.

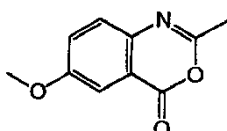
[0131] LC/HRMS: Analytisk HPLC ble utført på en Uptisphere-hsc kolonne (3µm 33 x 3 mm id) under eluering med 0,01 M ammoniumacetat i vann (løsningsmiddel A) og 100% acetonitril (løsningsmiddel B), ved anvendelse av følgende elueringsgradient 0-0,5 minutter 5% B, 0,5-3,75 minutter 5→100% B, 3,75-4,5 100% B, 4,5-5 100→5% B, 5-5,5 5% B ved en strømningshastighet på 1,3 ml/minutt. Massespektra (MS) ble registrert med et mikromass LCT massespektrometer ved anvendelse av elektropray positiv ionisasjon [ES+ve, hvilket gir MH⁺ molekyler ioner] eller elektropray negativ ionisasjon [ES-ve, hvilket gir (M-H)⁻ molekyler ioner] modus.

[0132] TLC (tynnsjiktskromatografi) angir anvendelse av TLC plater fra Merck belagt med silikagel 60 F254.

[0133] Silikakromatografiteknikker omfatter enten automatisert (Flashmaster eller Biotage SP4) teknikker eller manual kromatografi på forhåndspakkede patroner (SPE) eller manuelt-pakkede flash kolonner.

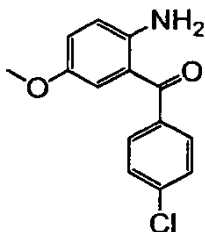
Referanseforbindelse A : 2-metyl-6-(metyloksy)-4H-3,1-benzoksazin-4-on

[0134]



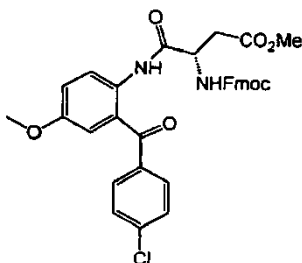
[0135] En løsning av 5-metoksytranilsyre (Lancaster) (41,8 g, 0,25 mol) ble tilbaketilbakekokt i eddiksyreanhydrid (230 ml) i 3,5 timer før konsentrering under redusert trykk. Den rå forbindelsen ble deretter konsentrert to ganger i nærvær av toluen før filtrering og vasking to ganger med eter, hvilket gir tittelforbindelsen (33,7 g, 71% utbytte) som et brunt, fast stoff; LC/MS (Metode A): m/z 192 [M+H]⁺, Rt 1,69 min.

Referanseforbindelse B: [2-amino-5-(metyloksy)fenyl](4-klorfenyl)metanon

[0136]

[0137] Til en løsning av 2-metyl-6-(metyloksy)-4*H*-3,1-benzoksazin-4-on (for fremstilling se Referanseforbindelse A) (40,0 g, 0,21 mol) i en toluen/eter (2/1) blanding (760 ml) ved 0°C ble dråpevis tilsatt en løsning av 4-klorfenylmagnesiumbromid (170 ml, 1 M i Et₂O, 0,17 mol). Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til romtemperatur og omrørt i 1 time før behandling med 1N HCl (200 ml). Den vandige fasen ble ekstrahert med EtOAc (3 x 150 ml) og de kombinerte organiske faser vasket med saltvann (100 ml), tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert under redusert trykk. Den rå forbindelsen ble deretter oppløst i EtOH (400 ml) og 6N HCl (160 ml) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble tilbakeskokt i 2 timer før konsentrering til en tredel i volum. Det resulterende faste stoffet ble filtrert og vasket to ganger med eter før suspensjon i EtOAc og nøytralisering med 1 N NaOH. Den vandige fasen ble ekstrahert med EtOAc (3 x 150 ml) og de kombinerte organiske faser ble vasket med saltvann (150 ml), tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert under redusert trykk. Tittelforbindelsen ble oppnådd som et gult, fast stoff (39 g, 88 % utbytte); LC/MS (Metode A): m/z 262 [M+H]⁺, Rt 2,57 min.

Referanseforbindelse C: Metyl N¹-[2-[(4-klorfenyl)karbonyl]-4-(metyloksy)fenyl]-N²-{[(9*H*-fluoren-9-ylmetyl)oksy]karbonyl}-L-α-asparaginat

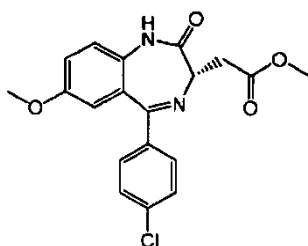
[0138]

[0139] Metyl N-{[(9*H*-fluoren-9-ylmetyl)oksy]karbonyl}-L-α-aspartylklorid (Int. J. Peptide Protein Res. 1992, 40, 13-18) (93 g, 0,24 mol) ble oppløst i CHCl₃ (270 ml) og [2-amino-5-(metyloksy)fenyl](4-klorfenyl)metanon (for fremstilling se Referanseforbindelse B) (53 g, 0,2 mol) ble tilsatt. Den resulterende blandingen ble

omrørt ved 60°C i 1 time før avkjøling og konsentrering ved 60% i volum. Eter ble tilsatt ved 0°C og det resulterende utfelte stoff ble filtrert og kastet. Filtratet ble konsentrert under redusert trykk og anvendt uten ytterligere rensning.

Referanseforbindelse D: Metyl [(3S)-5-(4-klorfenyl)-7-(metyloksy)-2-okso-2,3-dihydro-1H-1,4-benzodiazepin-3-yl]acetat

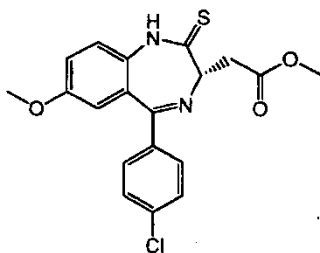
[0140]



[0141] Til en løsning av metyl N1-[2-[(4-klorfenyl)karbonyl]-4-(metyloksy)fenyl]-N2-{{[(9H-fluoren-9-ylmetyl)oksy]karbonyl}}-L- α -asparaginat (for fremstilling se Referanseforbindelse C) (antatt 0,2 mol) i DCM (500 ml) ble tilsatt Et₃N (500 ml, 3,65 mol) og den resulterende blandingen ble tilbakeløpskokt i 24 timer før konsentrering. Det resulterende rå aminet ble oppløst i 1,2-DCE (1,5 L) og AcOH (104 ml, 1,8 mol) ble forsiktig tilsatt. Reaksjonsblandingen ble deretter omrørt ved 60°C i 2 timer før konsentrering *i vakuum* og oppløst i DCM. Den organiske fasen ble vasket med 1 N HCl og den vandige fasen ble ekstrahert med DCM (x3). De kombinerte organiske faser ble vasket to ganger med vann og saltvann, tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert under redusert trykk. Det rå faste stoffet ble omkrystallisert fra MeCN hvilket gir tittelforbindelsen (51 g) som et blekgult, fast stoff. Filtratet kunne konsentreres og omkrystallisert i MeCN, hvilket gir ytterligere 10 g av det ønskede produkt R_f = 0,34 (DCM/MeOH : 95/5).

[0142] HRMS (M+H)⁺ beregnet for C₁₉H₁₈³⁵ClN₂O₄ 373,0955; funnet 373,0957.

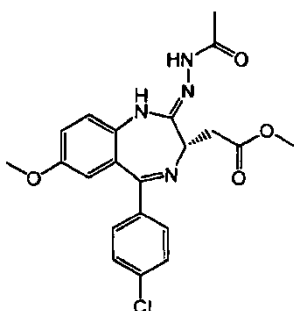
Referanseforbindelse E: Metyl [(3S)-5-(4-klorfenyl)-7-(metyloksy)-2-tiokso-2,3-dihydro-1H-1,4-benzodiazepin-3-yl]acetat

[0143]

[0144] En suspensjon av P_4S_{10} (36,1 g, 81,1 mmol) og Na_2CO_3 (8,6 g, 81,1 mmol) i 1,2-DCE (700 ml) ved romtemperatur ble omrørt i 2 timer før metyl [(3S)-5-(4-klorfenyl)-7-(metyloksy)-2-okso-2,3-dihydro-1H-1,4-benzodiazepin-3-yl]acetat (for fremstilling se Referanseforbindelse D) (16,8 g, 45,1 mmol) ble tilsatt. Den resulterende blandingen ble omrørt ved 70°C i 2 timer før avkjøling og filtrering. Det faste stoffet ble vasket to ganger med DCM og filtratet vasket med mettet $NaHCO_3$ og saltvann. Den organiske fasen ble tørket over Na_2SO_4 , filtrert og konsentrert under redusert trykk. Råproduktet ble rensed ved flash-kromatografi på silikagel (DCM/MeOH : 99/1), hvilket gir tittelforbindelsen (17,2 g, 98% utbytte) som et gulaktig fast stoff. LC/MS (Metode A): m/z 389 $[M(^{35}Cl)+H]^+$, R_t 2,64 min

[0145] HRMS $(M+H)^+$ beregnet for $C_{19}H_{18}^{35}ClN_2O_3S$ 389,0727; funnet 389,0714.

Referanseforbindelse F: Metyl [(3S)-2-[2-acetylhydrazino]-5-(4-klorfenyl)-7-(metyloksy)-3H-1,4-benzodiazepin-3-yl]acetat

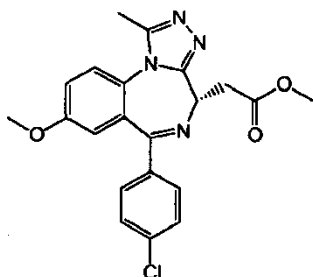
[0146]

[0147] Til en suspensjon av metyl [(3S)-5-(4-klorfenyl)-7-(metyloksy)-2-tiokso-2,3-dihydro-1 H-1,4-benzodiazepin-3-yl]acetat (for fremstilling se Referanseforbindelse E (9,0 g, 23,2 mmol) i THF (300 ml) ved 0°C ble dråpevis tilsatt hydrazin monohydrat (3,4 ml, 69,6 mmol). Reaksjonsblanding ble omrørt i 5 timer mellom 5°C og 15°C før avkjøling ved 0°C. Et_3N (9,7 ml, 69,6 mmol) ble deretter langsomt tilsatt og acetylklorid

(7,95 ml, 69,6 mmol) ble dråpevis tilsatt. Blandingen ble deretter oppvarmet til romtemperatur i 16 timer før konsentrering under redusert trykk. Råproduktet ble oppløst i DCM og vasket med vann. Den organiske fasen ble tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert *i vakuum*, hvilket gir den rå tittelforbindelsen (9,7 g, 98% utbytte) som ble anvendt videre uten ytterligere rensning. R_f = 0,49 (DCM/MeOH : 90/10).

Referanseforbindelse G: Metyl [(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]acetat

[0148]

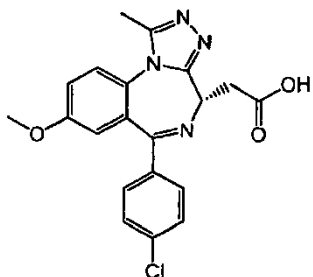


[0149] Den rå metyl [(3S)-2-[(1Z)-2-acetylhydrazino]-5-(4-klorfenyl)-7-(metyloksy)-3H-1,4-benzodiazepin-3-yl]acetat (for fremstilling se Referanseforbindelse F) (antatt 9,7 g) ble suspendert i THF (100 ml) og AcOH (60 ml) ble tilsatt ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved denne temperatur i 2 dager før konsentrering under redusert trykk. Det rå faste stoffet ble utgitt i *i*-Pr₂O og filtrert, hvilket gir tittelforbindelsen (8,7 g, 91% over 3 trinn) som et gråhvitt, fast stoff.

[0150] HRMS (M+H)⁺ beregnet for C₂₁H₂₀ClN₄O₃ 411,1229; funnet 411,1245.

Referanseforbindelse H: [(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]eddiksyre

[0151]

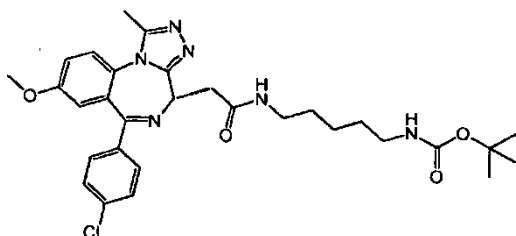


[0152] Til en løsning av metyl [(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-

[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]acetat (for fremstilling se Referanseforbindelse G) (7,4 g, 18,1 mmol) i THF (130 ml) ved romtemperatur ble tilsatt 1N NaOH (36,2 ml, 36,2 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt ved denne temperatur i 5 timer før behandling med 1 N HCl (36,2 ml) og konsentrering *i vakuum*. Vann blir deretter tilsatt og den vandige fasen ble ekstrahert med DCM (x3) og de kombinerte organiske faer ble tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert under redusert trykk, hvilket gir tittelforbindelsen (7 g, 98% utbytte) som et blekgult, fast stoff.

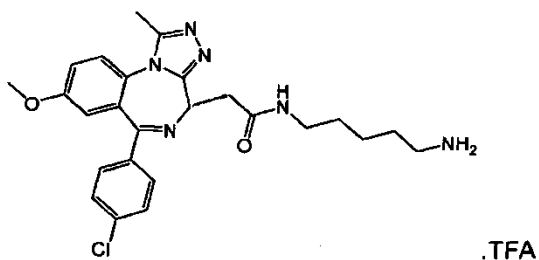
Referanseforbindelse I: 1,1-dimetyletyl[5-({[(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]acetyl}amino)pentyl]karbammat

[0153]



[0154] En blanding av [(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]eddiksyre (for fremstilling se Referanseforbindelse H) (1,0 g, 2,5 mmol), HATU (1,9 g, 5 mmol) og DIPEA (0,88 ml, 5 mmol) ble omrørt i 80 minutter ved romtemperatur og deretter tilsatt 1,1-dimetyletyl (4-aminobutyl)karbammat (1,05 ml, 5,0 mmol, tilgjengelig fra Aldrich). Reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur i 2 timer før den ble konsentrert. Residuet ble tatt opp i diklormetan og vasket med 1 N HCl. Den vandige fasen ble ekstrahert med diklormetan to ganger. Organiske faser ble vasket med 1 N natriumhydroksid, fulgt av en mettet løsning av natriumklorid, tørket over natriumsulfat og konsentrert. Residuet ble rensert ved flash-kromatografi på silika ved anvendelse av diklormetan/ metanol 95/5, hvilket gir tittelforbindelsen som et gult, fast stoff (1,2 g). LC/MS (Metode A): rt = 3,04 min.

Referanseforbindelse J: N-(5-aminopentyl)-2-[(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]acetamid trifluoracetat

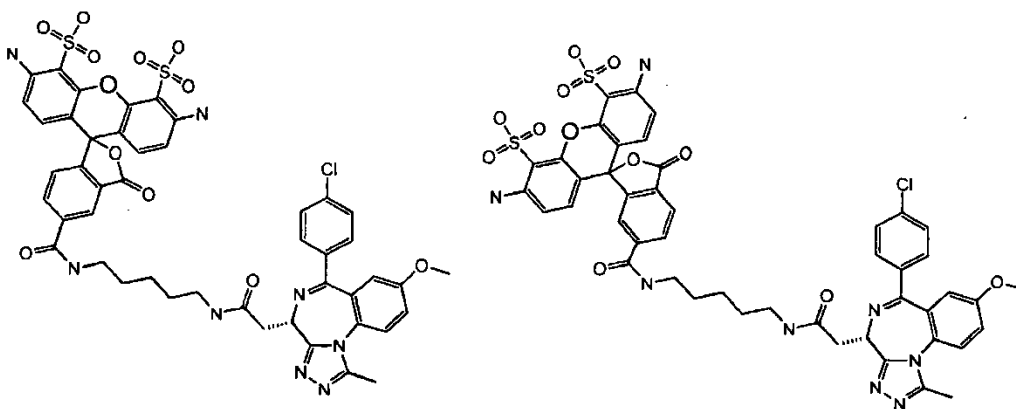
[0155]

[0156] Til en løsning av 1,1-dimetyletyl [5-({[(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]acetyl}amino)pentyl]karbamat (for fremstilling se Referanseforbindelse H) (0,2 g, 0,34 mmol) i diklormetan (3 ml) ble dråpevis tilsatt trifluoreddiksyre (0,053 ml, 0,68 mmol) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 3 timer fra 0°C til romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble konsentrert til tørrhet, hvilket gir tittelforbindelsen som en hygroskopisk gul olje (200 mg)

[0157] LC/MS (Metode A): rt = 2,33min.

[0158] HRMS (M+H)⁺ beregnet for C₂₅H₂₉ClN₆O₂ 481,2119; funnet 481,2162.

Referanseforbindelse K: Blanding av 5- og 6- isomerer av Alexa Fluor 488-N-(5-aminopentyl)-2-[(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]acetamid

[0159]

[0160] N-(5-aminopentyl)-2-[(4S)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]acetamid trifluoracetat (for fremstilling se Referanseforbindelse J)(7,65 mg, 0,013 mmol) ble oppløst i N,N-dimetylformamid (DMF)

(300 µl) og satt til Alexa Fluor 488 karboksylsyre succinimidylester (5 mg, 7,77 µmol, en blanding av 5 og 6 isomerer, tilgjengelig fra Invitrogen, produktnummer A-20100) i et Eppendorf sentrifugerør. Hunigs base (7,0 µl, 0,040 mmol) ble tilsatt og blandingen vortex-blandet natten over. Etter 18 timer ble reaksjonsblandingen inndampet til tørrhet og residuet gjenoppløst i DMSO/vann (50%, <1 ml total), påført på en preparativ Phenomenex Jupiter C18 kolonne og eluert med en gradient av 95% A: 5% B til 100% B (A = 0,1% trifluoreddiksyre i vann, B= 0,1% TFA/90% acetonitril/10% vann) ved en strømningshastighet på 10 ml/min over 150 minutter. Urene fraksjoner ble samlet og renseset ved anvendelse av samme system. Fraksjoner ble samlet og inndampet, hvilket gir tittelproduktet (2,8 mg) som en blanding av 2 regioisomerene vist over. LC/MS (Metode B):, MH⁺ = 999, rt = 1,88min.

Biologiske testmetoder

Fluorescensanisotropi bindingsforsøk

[0161] Bindingen av forbindelsen med formel (I) til bromdomenene 2, 3 og 4 ble bedømt ved anvendelse av et Fluorescensanisotropi Bindingsforsøk.

[0162] Bromdomeneproteinet, fluorescerende ligand (Referanseforbindelse K se ovenfor) og en variabel konsentrasjon av testforbindelse blir inkubert sammen til termodynamisk likevekt under betingelser slik at i fravær av testforbindelse er den fluorescerende ligand betydelig (>50%) bundet og i nærvær av en tilstrekkelig konsentrasjon på en kraftig inhibitor er anisotropien av ubundet fluorescerende ligand målbart forskjellig fra den bundne verdien.

[0163] Alle data ble normalisert til gjennomsnittet av 16 høye og 16 lave kontrollbrønner på hver plate. En fireparameters kurvetilpasning av følgende type ble deretter anvendt:

$$y = a + ((b - a) / (1 + (10^x / 10^c)^d))$$

[0164] Hvor 'a' er the minimum, 'b' er stigningskoeffisienten, 'c' er pIC50 verdien og 'd' er maksimum.

[0165] Rekombinante Humane Bromdomener (Bromdomene 2 (1-473), Bromdomene 3 (1-435) og Bromdomene 4 (1-477)) ble uttrykt i *E.coli* celler (i pET15b vektor) med en

seks-His merking av den N-terminale enden. Det His-merkede Bromdomenet ble ekstrahert fra *E.coli* celler ved anvendelse av 0,1 mg/ml lysozym og ultralydbehandling. Bromdomenet ble deretter rensset ved affinitetskromatografi på en HisTRAP HP kolonne, under eluering med en lineær 10-500mM Imidazolgradient, over 20 Cv. Ytterligere rensning ble fullført ved hjelp av en Superdex 200 prep grade størrelseseksklusjonskolonne. Renset protein ble lagret ved -80C i 20mM HEPES pH 7,5 og 100mM NaCl.

[0166] Protokoll for Bromdomene 2: Alle komponenter ble oppløst i et bufferpreparat av 50 mM HEPES pH7,4, 150mM NaCl og 0,5mM CHAPS med sluttkonsentrasjoner av Bromdomene 2, 75nM, fluorescerende ligand 5nM. 10 µl av denne reaksjonsblandingen ble tilsatt ved anvendelse av en mikro multidrop til brønner inneholdende 100nl av ulike konsentrasjoner av testforbindelse eller DMSO konstituent (1% sluttkonsentrasjon) i Greiner 384 brønners sorte lite volum mikrotiter-plater og ekvilibrert i mørket i 60 minutter ved romtemperatur. Fluorescensanisotropi ble avlest ved Envision (λ_{ex} = 485nm, λ_{EM} = 530nm; Dichroisk -505nm).

[0167] Protokoll for Bromdoamin 3: Alle komponenter ble oppløst i et bufferpreparat av 50 mM HEPES pH7,4, 150mM NaCl og 0,5mM CHAPS med sluttkonsentrasjoner av Bromdomene 3 75nM, fluorescerende ligand 5nM. 10 µl av denne reaksjonsblandingen ble tilsatt ved anvendelse av en mikro multidrop til brønner inneholdende 100nl av ulike konsentrasjoner av testforbindelse eller DMSO konstituent (1% sluttkonsentrasjon) i Greiner 384 brønners sort lite volum mikrotiter-plater og ekvilibrert i mørket i 60 minutter ved romtemperatur. Fluorescensanisotropi ble avlest i Envision (λ_{ex} = 485nm, λ_{EM} = 530nm; Dichroisk -505nm).

[0168] Protokoll for Bromdomene 4: Alle komponenter ble oppløst i et bufferpreparat av 50 mM HEPES pH7,4, 150mM NaCl og 0,5mM CHAPS med sluttkonsentrasjoner av Bromdomene 4 75nM, fluorescerende ligand 5nM. 10 µl av denne reaksjonsblandingen ble tilsatt ved anvendelse av en mikro multidrop til brønner inneholdende 100nl av ulike konsentrasjoner av testforbindelse eller DMSO konstituent (1% endelig) i Greiner 384 brønners sort lite volum mikrotiter-plater og ekvilibrert i mørket i 60 minutter ved romtemperatur. Fluorescensanisotropi ble avlest i Envision (λ_{ex} = 485nm, λ_{EM} = 530nm; Dichroisk -505nm).

[0169] Eksempel 1 hadde en $pIC_{50} \geq 6,0$ i hver av BRD2, BRD3 og BRD4 forsøkene beskrevet ovenfor.

LPS stimulert helblodmåling TNF α nivåforsøk

[0170] Aktivisering av monocytiske celler av agonister av toll-lignende reseptorer så som bakterielt lipopolysakkarid (LPS) resulterer i produksjon av nøkkelinflammatoriske mediatorer omfattende TNF α . Slike mekanismer er bredt betraktet å være sentrale i patofysiologien til et flere auto-immune og inflammatoriske lidelser.

[0171] Forbindelser som skal testes blir fortynnet, hvilket gir et område med passende konsentrasjoner og 1ul av fortynningsløsningen settes til brønner i en 96 plate. Etter tilsetning av helblod (130ul) blir platene inkubert ved 37 grader (5% CO₂) i 30 min før tilsetning av 10ul av 2,8ug/ml LPS, fortynnet i fullstendig RPMI 1640 (sluttkonsentrasjon =200ng/ml), hvilket gir et totalt volum på 140ul pr. brønn. Etter ytterligere inkubering i 24 timer ved 37 grader blir 140ul PBS satt til hver brønn. Platene forsegles, ristes i 10 minutter og sentrifugeres (2500rpm x 10 min). 100ul av supernatanten fjernes og TNF α nivåer evalueres ved immunoassay (typisk ved MesoScale Discovery technology) enten umiddelbart eller etter lagring ved -20 grader. Doserresponskurver for hver forbindelse ble generert fra dataene og en IC₅₀ verdi ble beregnet.

[0172] Eksempel 1 ble funnet å ha en pIC₅₀ > 6,0 i forsøket ovenfor.

[0173] Disse data demonstrerer at Eksempel 1 testet i forsøket ovenfor hemmet fremstilling av nøkkel inflammatorisk mediator TNF α . Dette indikerer at en slik forbindelse har en sterk anti-inflammatorisk profil, som sannsynlig kan gi en klinisk fordel ved inflammatoriske lidelser.

In vivo Mus Endotoksemimodell

[0174] Høye doser av Endotoksin (bakterielt lipopolysakkarid) administrert til dyr produserer et vesentlig sjokksyndrom omfattende en sterk inflammatorisk respons, dysregulering av kardiovaskulær funksjon, organsvikt og til slutt dødelighet. Dette responsmønster ligner meget på human sepsis og septisk sjokk, hvor kroppens respons på en betydelig bakterieinfeksjon kan være tilsvarende livstruende.

[0175] Til testforbindelsen med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter derav ble grupper av åtte Balb/c hannmus gitt en dødelig dose av 15 mg/kg LPS ved intraperitoneal injeksjon. Nitti minutter senere ble dyr dosert intravenøst med konstituent (20% cyclodekstrin 1% etanol i apyrogen vann) eller forbindelse (10 mg/kg). Overlevelse av dyr ble overvåket etter 4 dager.

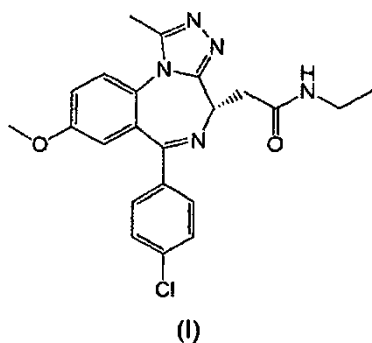
[0176] Antall overlevende dyr etter 4 dager (oppsummert ved multiple repeterte forsøk)

Konstituent	4/66	(6%)
Eksempel 1	24/56	(52%)

[0177] Disse data demonstrerer at Eksempel 1 testet i modellen ovenfor ga opphav til en betydelig overlevelseseffekt hos dyr etter intravenøs administrering. Dette indikerer at forbindelsen med formel (I) har et potensiale for en betydelig effekt på inflammatoriske responser hos mennesker.

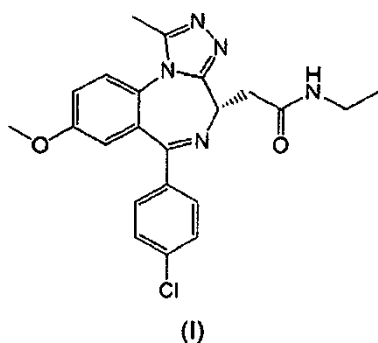
Krav

1. Forbindelse med formel (I) som er 2-[(4*S*)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4*H*-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]benzodiazepin-4-yl]-*N*-etylacetamid



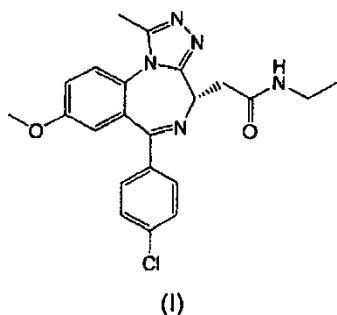
eller et salt derav.

2. Forbindelse med formel (I) ifølge krav 1 som er 2-[(4*S*)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4*H*-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]benzodiazepin-4-yl]-*N*-etylacetamid



eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

3. Forbindelse med formel (I) ifølge krav 1 som er 2-[(4*S*)-6-(4-klorfenyl)-1-metyl-8-(metyloksy)-4*H*-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]benzodiazepin-4-yl]-*N*-etylacetamid



4. Farmasøytisk preparat som omfatter en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav som definert i krav 2 og én eller flere farmasøytisk akseptable bærere, fortynningsmidler eller tilsetningsmidler.

5. Farmasøytisk preparat som omfatter en forbindelse med formel (I) som definert i krav 3 og én eller flere farmasøytisk akseptable bærere, fortynningsmidler eller tilsetningsmidler.

6. Kombinasjonsfarmasøytisk produkt omfattende en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav som definert i krav 2 eller en forbindelse med formel (I) som definert i krav 3, sammen med én eller flere andre terapeutisk aktive midler.

7. Forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav som definert i krav 2 for anvendelse i terapi.

8. Forbindelse med formel (I) som definert i krav 3 for anvendelse i terapi.

9. Forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav som definert i krav 2 eller en forbindelse med formel (I) som definert i krav 3, for anvendelse ved behandling av en kronisk autoimmun og/eller inflammatorisk tilstand.

10. Forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav som definert i krav 2 eller en forbindelse med formel (I) som definert i krav 3, for anvendelse ved behandling av kreft.

11. Forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for anvendelse ifølge krav 10 hvor kreften er valgt fra hematologisk , epitelial omfattende lunge, bryst og kolon-karsinomer, midlin karsinomer, mesenkymal, hepatisk, nyre- og nevrologiske tumorer.

12. Forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for anvendelse ifølge krav 11 hvor den hematologiske kreft er leukemi.

13. Anvendelse av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav som definert i krav 2 eller en forbindelse med formel (I) som definert i krav 3, ved fremstilling av et medikament for behandling av en kronisk autoimmun og/eller inflammatorisk tilstand.

14. Anvendelse av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav som definert i krav 2 eller en forbindelse med formel (I) som definert i krav 3, ved fremstilling av et medikament for behandling av kreft.