



(12) PATENT

(19) NO

(11) 341137

(13) B1

NORGE

(51) Int Cl.
C07D 491/04 (2006.01)
A61K 31/58 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20071264	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2005.08.26 PCT/US2005/30406
(22)	Inng.dag	2007.03.08	(85)	Videreføringsdag	2007.03.08
(24)	Løpedag	2005.08.26	(30)	Prioritet	2004.08.27, US, 60/605,020 2004.10.08, US, 60/617,170 2004.11.05, US, 60/625,676 2005.05.19, US, 60/683,169
(41)	Alm.tilgj	2007.05.15			
(45)	Meddelt	2017.08.28			
(73)	Innehaver	Infinity Pharmaceuticals Inc, 780 Memorial Drive, US-MA02139 CAMBRIDGE, USA Julian Adams, 280 Newbury Street #5, US-MA02116 BOSTON, USA James R Porter, 10 Lake Shore Court #2, US-MA02135 BRIGHTON, USA Alfredo C Castro, 43 Wildwood Street, US-MA01890 WINCHESTER, USA Michael A Foley, 94 Shaw Road, US-MA02467 CHESTNUT HILL, USA Somarajan Nair Janardanan Nair, 39 Fleet Road, US-MA02478 BELMONT, USA Marta Nevalainen, 145 A Suomi Road, Unit 1, US-MA02169 QUINCY, USA Martin Tremblay, 16 Willard Avenue, #2, US-MA02155 MEDFORD, USA			
(72)	Oppfinner				
(74)	Fullmektig	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge			
(54)	Benevnelse	Steroidalkaloider og anvendelse derav, samt farmasøytisk sammensetning			
(56)	Anførte publikasjoner				WO 0041545 A2 WO 0149279 A2 WO 0230462 A2
(57)	Sammendrag				

Det er beskrevet sammensetninger og fremgangsmåter for modulering av smootheneddependent baneaktivering. Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer analoger av syklopamin som kan bli anvendt for å motvirke de fenotypiske effektene til uønsket aktivering av en pinnsvinreaksjon ved reaksjonsveien, så som er et resultat av pinnsvin forøket funksjon. Ptc-tap av funksjon eller mildere økning av funksjonsmutasjoner. Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse er spesielt nyttige for behandling av cancer.

Bakgrunn for oppfinnelsen

Hedgehogsignaliseringsreaksjonsveien er vesentlig for en mengde prosesser i løpet av embryonisk utvikling. Medlemmer av hedgehogfamilien av
5 utskilte proteiner kontrollerer celleproliferasjon, differensiering og vevsmønstre. Reaksjonsveien ble først utledet i fruktfluen *Drosophila*, men er senere blitt vist å være sterkt konserverv i virvelløse dyr og virveldyr, inkludert mennesker. Totalaktiviteten til hedgehog signaliseringsreaksjonsveien reduseres etter embryogenese i de fleste cellene, men reaksjonsveien forblir aktiv i visse
10 celletyper fra voksne. Nylig er det blitt vist at ukontrollert aktivisering av hedgehogreaksjonsveien resulterer i visse typer av cancer som beskrevet nedenfor.

Hedgehogpolypeptidet er et utskilt protein som virker som en signaliserende ligand i hedgehogreaksjonsveien. Eksempler på hedgehoggener og proteiner er
15 beskrevet i PCT publikasjonene WO 95/18856 og WO 96/17824. Tre forskjellige former av hedgehogprotein finnes i mennesker; Sonic hedgehog (Shh), Destert hedgehog (Dhh) og Indian hedgehog (Ihh). Sonic hedgehog er det mest utbredte hedgehogmedlemmet i pattedyr og også den best karakteriserte liganden i hedgehogfamilien. Før utskillelse gjennomgår Shh en intramolekylær spaltning og
20 lipidmodifikasjonsreaksjon. Det lipidmodifiserte peptidet er ansvarlig for alle signaliseringsaktivitetene.

To transmembrane proteiner er involvert i signaltransduksjon i hedgehogreaksjonsveien, tolv-transmembranvertsreseptor (Ptc) og syv-transmembran smoothened protein (Smo).

25 Funn i fagområdet tyder på at hedgehog virker ved binding til Ptc for derved å frigjøre en inhibitorisk effekt av Ptc på Smo. På grunn av at Ptc og Smo er begge transmembranproteiner utgjør et foreslått scenario at de fysisk assosierer for å danne et reseptorkompleks selv om indirekte visningsmekanismer også er mulig. Derepresjon av Smo fra Ptc-inhibisjon involverer sannsynligvis en
30 transformasjonsmessig forandring i Smo. Ptc er derimot ikke vesentlig for Smo sin aktivitet siden Smo blir konstitutivt aktivert i fullstendig fravær av patched protein (Alcedo et al., supra, Quirk et al. (1997) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 62: 217-226). Når Smo er derepresert blir det hurtig og sterkt fosforylert og

transduserer et signal som aktiverer transkripsjonen via Glitranskripsjonsfaktorer (homolog av *Drosophila* Ci-protein) (Alexandre et al. (1996) Genes Dev. 10: 2003-13)). Gli1-transkripsjonsfaktor oppregulerer mange gener involvert i vekst og utvikling (Alexandre et al., supra). Hedgehog-signalisering er vesentlig i mange utviklingsstadier, spesielt ved dannelsen av venstre-høyre-symmetri. Tap eller reduksjon av hedgehog-signalisering fører til mange utviklingsmangler og feildannelser og én av disse mest betydelige er sykloopia (Belloni et al. (1996) Nature Genetics 14: 353-6).

Det er nylig blitt rapportert at aktiverende hedgehog-reaksjonsveimutasjoner oppstår i sporadiske basalcellekarsinomer (Xie et al. (1998) Nature 391: 90-2) og primitive nevroektodermale tumorer i sentralnervesystemet (Reifenberger et al. (1998) Cancer Res. 58: 1798-803). Ukontrollert aktivisering av hedgehog-reaksjonsveien er også blitt vist i en mengde cancertyper så som GI-kanalcancere inkludert pankreas, spiserør, magecancer (Berman et al. (2003) Nature 425: 846-51, Thayer et al. (2003) Nature 425: 851-56) luncancer (Watkins et al. (2003) Nature 422: 313-317, prostatacancer (Karhadkar et al. (2004) Nature 431: 707-12, Sheng et al. (2004) Molecular Cancer 3: 29-42, Fan et al. (2004) Endocrinology 145: 3961-70), brystcancer (Kubo et al. (2004) Cancer Research 64: 6071-74, Lewis et al. (2004) Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia 2: 165-181) og hepatocellulær cancer (Sicklick et al. (2005) ASCO conference, Mohini et al. (2005) AACR conference).

Småmolekylinhibisjon av hedgehog-reaksjonsveiaktivitet er også blitt vist å resultere i celledød i en mengde forskjellige cancertyper som har ukontrollert hedgehog-reaksjonsveiaktivisering (se f.eks. Berman et al., 2003 Nature 425: 846-51).

Hedgehog-reaksjonsveiantagonister blir for tiden utforsket i et stort antall kliniske tilstander hvor en terapeutisk effekt kan bli oppnådd for en tilstand eller forstyrrelse med inhibering av ett eller flere aspekter av hedgehog-reaksjonsveiaktiviteten. Til tross for at det primære fokuset har vært på cancer, har forskere oppdaget at småmolekylinhibisjon av hedgehog-reaksjonsveien er blitt vist å lindre symptomene på psoriasis (Tas et al., 2004 Dermatology 209: 126-131, publisert US patentsøknad 2004 0072913). Psoriasis er en meget vanlig, kronisk hudforstyrrelse typisk karakterisert med hudlesjoner som vanligvis

inneholder erytematøse papler og plakk med et sølvskall til tross for at det er variasjoner både på hud og i andre deler av kroppen. Psoriasis blir for tiden anvendt å være en autoimmun sykdom, men dets etiologi er fortsatt ikke kjent.

En hedgehog-reaksjonsveihinhibitor som har vært av stor interesse er det naturlige produktet syklopamin. Syklopamin ble først isolert fra lily *Veratrum californicum* i 1966 etter at det var funnet at avkommet av beitende sauer ble født med alvorlige medfødte avvik. I et forsøk på å identifisere midlet(ene) ansvarlige for å forårsake disse medfødte avvikene undersøkte FDA mulige kilder for tetragener og identifiserte jervinfamilien av steroidale alkaloider, inkludert forbindelsen syklopamin, som tetragenene ansvarlige for de medfødte avvikene.

Mye senere ble det oppdaget at virkningsmekanismen til syklopamin var gjennom inhibisjon av hedgehog-reaksjonsveiaaktiviteten (Cooper et al. (1998) Science 280: 1603-7, Chen et al., (2002) Genes and Development 16: 2743-8). Syklopamin og beslektede forbindelser er blitt vist å ha anti-canceraktiviteter gjennom virkningen av hedgehog-reaksjonsveien. Til tross for det tidligere lovet har ingen medlemmer av denne familien av forbindelser, eller analoger derav, blitt vellykket utviklet som et anti-cancermiddel. Foreliggende oppfinnelse oppfyller dette behovet og har også andre fordeler.

Oppsummering av oppfinnelsen

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer steroidalkaloider og anvendelse derav, samt farmasøytisk sammensetning. Analogene av steroidalkaloider av syklopamidfamilien er nyttige for inhibering av proliferasjonen av celler og/eller fremming av apoptose i en celle, så som ved behandling av proliferative forstyrrelser så som cancer. Hedgehog-reaksjonsveiantagonistene kan bli anvendt for å hemme proliferasjon (eller andre biologiske konsekvenser) av celler eller vev, så som i en pasient, kjennetegnet ved å ha en Ptc-tap-av-funksjon fenotype, en Smo økning-av-funksjon fenotype eller en hedgehog økning-av-funksjon fenotype.

I visse anvendelser blir fremgangsmåter anvendt for å motvirke de fenotypiske effektene til den uønskede aktiveringen av en hedgehog-reaksjonsvei, så som er et resultat av hedgehog økning-av-funksjonen ("gain-of-function"), Ptc tap-av-funksjonen ("loss-of-function") eller Smo økning-av-funksjonen mutasjoner. Blant annet kan fremgangsmåter involvere kontakting av en celle (in vitro eller in

vivo) med en hedgehog-reaksjonsveiantagonist beskrevet heri (definert nedenfor i en mengde som er tilstrekkelig for å antagonisere Smo-avhengig reaksjonsveiaktivering). En slik antagonist vil stoppe eller redusere uønsket celleproliferasjon og kan føre til celledød.

5 I visse utførelsesformer kan forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse bli anvendt for å regulere proliferasjonen av celler og/eller celledød in vitro og/eller in vivo så som ved behandling av maligne forstyrrelser i hode, nakke, nasalhulrom, paranasal sinuser, nasofarynks, oralt hulrom, orofarynks, larynks, hypofarynks, spyttkjertler, paragangliomer, pankreas, mage, hud, spiserør, lever og galletré,
10 ben, tarm, tynntarm, rektum, ovarier, prostata, lunge, bryst, lymfesystem, blod, benmarg, sentralnervesystem eller hjerne.

I visse utførelsesformer kan forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse bli anvendt for å behandle symptomer på psoriasis i et individ. Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan bli anvendt for å behandle psoriasis som et
15 enkelt middel eller i kombinasjon med én eller flere anti-psoriasismidler. I spesielle utførelsesformer blir forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse administrert topisk til et individ som trenger det.

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan videre bli formulert som et farmasøytisk preparat omfattende en farmasøytisk akseptabel eksipient, for
20 administrering til en pasient som en metode for behandling av cancer. Hedgehog-reaksjonsveiantagonistene og/eller prepareringer som omfatter dem kan bli administrert til en pasient for å behandle tilstander som involverer uønsket celleproliferasjon, f.eks., cancer og/eller tumorer i hode, nakke, nasalhulrom, paranasalsinus, nasofarynks, orale hulrom, orofarynks, larynks, hypofarynks,
25 spyttkjertler, paragangliomer, pankreas, mage, hud, spiserør, lever og galletré, ben, tarm, tynntarm, rektum, ovarier, prostata, lunge, bryst, lymfesystem, blod, benmargssentralnervesystem og hjerne. I visse utførelsesformer blir slike forbindelser eller prepareringer administrert systemisk, f.eks. parenteralt og/eller lokalt, f.eks. topisk.

30

Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

Definisjoner

Definisjoner av angivelser anvendt heri er ment å inkorporere definisjoner anvendt innenfor dette fagområdet som er kjent innen kjemiske og farmasøytiske områder. Hvor hensiktsmessig er eksemplifisering gitt. Definisjonene gjelder for angivelser som de blir anvendt i gjennom beskrivelsen, dersom ikke det er

5 begrenset i spesielle tilfeller, enten individuelt eller som del av en større gruppe.

Betegnelsen "heteroatom" er kjent innenfor fagområdet og refererer til et atom av et hvilket som helst element forskjellig fra karbon eller hydrogen. Illustrerende heteroatomer inkluderer boron, nitrogen, oksygen, fosfor, svovel og selenium.

10 Betegnelsen "alkyl" er kjent innenfor fagområdet og inkluderer mettede alifatiske grupper, inkludert lineære alkylgrupper, forgrenede alkylgrupper, sykloalkyl (alisykliske) grupper, alkylsubstituerte sykloalkylgrupper og sykloalkylsubstituerte alkylgrupper. I visse utførelsesformer har en lineær eller forgrenet alkyl omtrent 30 eller færre karbonatomer i dets skjelett (f.eks. C₁-C₃₀ for

15 lineær, C₃-C₃₀ for forgrenet), og alternativt, omtrent 20 eller færre. Likeledes har sykloalkyl fra omtrent 3 til omtrent 10 karbonatomer i deres ringstruktur og alternativt omtrent 5, 6 eller 7 karboner i ringstrukturen. Alkylgrupper kan dersom ikke annet er angitt eventuelt være substituert med egnede substituent. Antall substituent blir typisk begrenset av antallet av tilgjengelige valenser på

20 alkylgruppen. Følgelig kan en alkylgruppe bli substituert ved erstatning av én eller flere av hydrogenatomene som vil være tilstede på den usubstituerte gruppen. Egnede substituent for alkylgruppene inkluderer halogen, =O, =N-CN, =N-OR', =NR', OR', NR'₂, SR', SO₂R', SO₂NR'₂, NR'SO₂R', NR'CONR'₂, NR'COOR', NR'COR', CN, COOR', CONR'₂, OOCR', COR' og NO₂, hvor hver R' er uavhengig

25 H, C₁-C₆-alkyl, C₂-C₆-heteroalkyl, C₁-C₆-acyl, C₂-C₆-heteroacyl, C₆-C₁₀-aryl, C₅-C₁₀-heteroaryl, C₇-C₁₂-arylalkyl, eller C₆-C₁₂-heteroarylalkyl, idet hver er eventuelt substituert med én eller flere grupper valgt fra halogen, C₁-C₄-alkyl, C₁-C₄-heteroalkyl, C₁-C₆-acyl, C₁-C₆-heteroacyl, hydroksy, amino og =O, og hvor to R' på samme substituent eller på nabostilte atomer kan bli koblet for å danne en 3-7-

30 leddet ring eventuelt inneholdende opptil 3 heteroatomer valgt fra N, O og S.

Hvis ikke antall karboner er spesifisert på annen måte, refererer "lavere alkyl" til en alkylgruppe, som definert ovenfor, men som har fra 1 til omtrent 10

karboner, alternativt fra 1 til omtrent 6 karbonatomer i dets skjelettstruktur. Likeledes har "lavere alkenyl" og "lavere alkynyl" lignende kjedelengder.

Betegnelsen "aralkyl" er kjent innenfor fagområdet og refererer til en alkylgruppe substituert med en arylgruppe (f.eks. en aromatisk eller heteroaromatisk gruppe).

Betegnelsene "alkenyl" og "alkynyl" er kjent innenfor fagområdet og refererer til umettede alifatiske grupper analoge i lengde og mulig substitusjon til alkylene beskrevet ovenfor, men som inneholder minst én dobbel- eller trippelbinding og kan inneholde en blanding av både dobbel- og trippelbindinger. Alkenyl og alkynylgrupper er også eventuelt substituert dersom ikke annet er angitt med de samme substituentene som beskrevet ovenfor for alkylgruppene.

"Heteroalkyl", "heteroalkenyl" og "heteroalkynyl" og lignende er definert som tilsvarende hydrokarbyl (alkyl, alkenyl og alkynyl)-grupper, men "hetero"-angivelse refererer til grupper som inneholder 1-3 O, S eller N heteroatomer eller kombinasjoner derav innenfor skjelettresten og følgelig er minst ett karbonatom av tilsvarende alkyl-, alkenyl eller alkynylgruppe erstattet av én av de spesifiserte heteroatomene for å danne en heteroalkyl-, heteroalkenyl- eller heteroalkynylgruppe. De typiske og foretrukne størrelsene for heteroatomer av alkyl-, alkenyl- og alkynylgrupper er generelt de samme som for tilsvarende hydrokarbylgrupper, og substituentene som kan være tilstede på heteroformer er de samme som de beskrevet ovenfor for hydrokarbylgruppene. Grunnet kjemisk stabilitet er det også underforstått at, dersom ikke annet er angitt, inkluderer slike grupper ikke mer enn to ved siden av liggende heteroatomer, unntatt hvor en oksogruppe er tilstede på N eller S som i sulfonylgruppen.

Betegnelsen "aryl" er kjent innenfor fagområdet og refererer til 5-, 6- og 7-leddede enkeltring-aromatiske grupper som kan inkludere fra 0-4 heteroatomer, f.eks., benzen, naftalen, antracen, pyren, pyrrol, furan, tiofen, imidazol, oksazol, tiazol, triazol, pyrazol, pyridin, pyrazin, pyridazin og pyrimidin og lignende. De arylgruppene som har heteroatomer i ringstrukturen kan også bli referert til som "arylheterosykler" eller "heteromatiske stoffer". Den aromatiske ringen kan være substituert ved én eller flere ringposisjoner med slike substituentter som de som er beskrevet ovenfor, f.eks. halogen, azid, alkyl, aralkyl, alkenyl, alkynyl, sykloalkyl, hydroksyl, alkoksyl, amino, nitro, sulfhydryl, imino, amido, fosfonat, fosfinat,

karbonyl, karboksy, silyl, eter, alkyltio, sulfonyl, sulfonamid, keton, aldehyd, ester, heterosyklyl, aromatske eller heteroaromatiske grupper, -CF₃, -CN eller lignende. Betegnelsen "aryl" inkluderer også polysykliske ringsystemer som har to eller flere sykliske ringer hvor to eller flere karboner er felles med to koblede ringer (ringene er "fusjonerte ringer"), hvor minst én av ringene er aromatiske, f.eks. de andre sykliske ringene kan være sykloalkyler, sykloalkenyler, sykloalkynyler, aryler og/eller heterosyklyler.

Betegnelsene orto, meta og para er kjent innenfor fagområdet og refererer til 1,2-, 1,3- og 1,4-substituerte benzener. F.eks. er navnene 1,2-dimetylbenzen og orto-dimetylbenzen synonyme.

Betegnelsene "heterosyklyl", "heteroaryl", eller "heterosyklisk gruppe" er kjent innenfor fagområdet og refererer til 3- til omtrent 10-leddede ringstrukturer, alternativt 3- til omtrent 7-leddede ringer, idet ringstrukturene inkluderer 1-4 heteroatomer. Heterosykler kan også være polysykler. Heterosyklylgrupper inkluderer, f.eks., tiofen, tiantren, furan, pyran, isobenzofuran, kromen, xanten, fenoksanten, pyrrol, imidazol, pyrazol, isotiazol, isoksazol, pyridin, pyrazin, pyrimidin, pyridazin, indolizin, isoindol, indol, indazol, purin, kinolizin, isokinolin, kinolin, ftalazin, naftyridin, kinoksalin, kinazolin, cinnolin, pteridin, karbazol, karbolin, fenantridin, akridin, pyrimidin, fenantrolin, fenazin, fenarsazin, pentotiazin, furazan, fenoksazin, pyrrolidin, oksolan, tiolan, oksazol, piperidin, piperazin, morfolin, laktoner, laktamer, så som azetidinoner og pyrrolidinoner, sultamer, sultanoner og lignende. Den heterosykliske ringen kan være substituert ved én eller flere posisjoner med slike substituenten som beskrevet ovenfor, som f.eks., halogen, alkyl, aralkyl, alkenyl, alkynyl, sykloalkyl, hydroksyl, amino, nitro, sulfhydryl, imino, amido, fosfonat, fosfinat, karbonyl, karboksyl, silyl, eter, alkyltio, sulfonyl, keton, aldehyd, ester, en heterosyklyl, en aromatisk eller heteroaromatisk gruppe, -CF₃, -CN eller lignende.

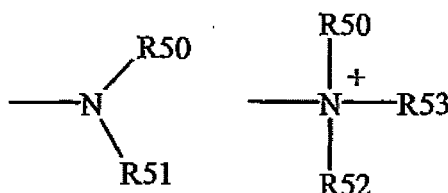
Betegnelsen "polysyklyl" eller "polysyklisk gruppe" er kjent innenfor fagområdet og refererer til to eller flere ringer (f.eks. sykloalkyler, sykloalkenyler, sykloalkynyler, aryler og/eller heterosyklyler) hvor to eller flere karboner felles med to koblende ringer, f.eks., ringene er "fusjonerte ringer". Ringene som er koblet gjennom ikke-nabostilte atomer er betegnet "brodannede" ringer. Hver av ringene til polysykelen kan være substituert med slike substituenten som beskrevet

ovenfor, som f.eks., halogen, alkyl, aralkyl, alkenyl, alkynyl, sykloalkyl, hydroksyl, amino, nitro, sulfhydryl, imino, amido, fosfonat, fosfinat, karbonyl, karboksyl, silyl, alkyltio, sulfonyl, keton, aldehyd, ester, en heterosyklyl eller en aromatisk eller heteroaromatisk gruppe, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$ eller lignende.

5 Betegnelsen "karbosykel" er kjent innenfor fagområdet og refererer til en aromatisk eller ikke-aromatisk ring hvor hvert atom i ringen er karbon.

Betegnelsen "nitro" er kjent innenfor fagområdet og refererer til $-\text{NO}_2$; betegnelsen "halogen" er kjent innenfor fagområdet og refererer til $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$ eller I ; betegnelsen "sulfhydryl" er kjent innenfor fagområdet og refererer til SH ; 10 betegnelsen "hydroksyl" betyr OH ; og betegnelsen "sulfonyl" er kjent innenfor fagområdet og refererer til SO_2 . "Halid" angir det korresponderende anionet av halogenet, og "pseudohalid" har definisjonen angitt ved 560 i "Advanced Inorganic Chemistry" av Cotton og Wilkinson.

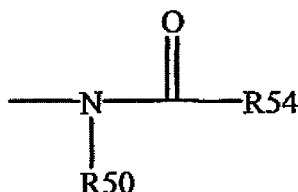
Betegnelsene "amin", "amino" og "ammonium" som er kjent innenfor 15 fagområdet og refererer til både usubstituerte og substituerte aminer, f.eks. en gruppe som blir representert ved de generelle formlene:



hvor R50, R51 og R52 representerer hver uavhengig et hydrogen, en alkyl, en alkenyl, $-(\text{CH}_2)_m\text{-R61}$ eller R50 og R51, tatt sammen med N-atomet hvortil de er 20 koblet fullfører en heterosykel med fra 4-8 atomer i ringstrukturen; R61 representerer en aryl, en sykloalkyl, en sykloalkenyl, en heterosykel eller en polysykel; og m er null eller et tall i området 1-8. I andre utførelsesformer er R50 og R51 (og eventuelt R52) hver uavhengig et hydrogen, en alkyl, en alkenyl eller $-(\text{CH}_2)_m\text{-R61}$. Følgelig inkluderer betegnelsen "alkylamin" en amingruppe, som 25 definert ovenfor, som har en substituert eller usubstituert alkyl koblet dertil, dvs. minst én av R50 og R51 er en alkylgruppe.

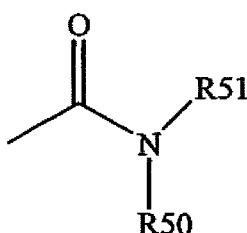
Betegnelsen "acylamino" er kjent innenfor fagområdet og refererer til en gruppe som kan bli representert ved den generelle formelen:

9



hvor R50 er som definert ovenfor, og R54 representerer en hydrogen, en alkyl, en alkenyl eller $-(CH_2)_m-R61$, hvor m og R61 er som definert ovenfor.

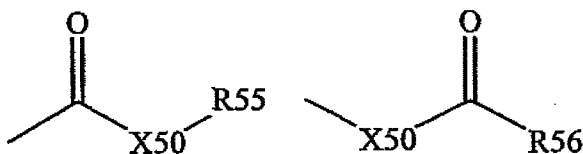
Betegnelsen "amido" er kjent innenfor fagområdet som en amino-substituert karbonyl og inkluderer en gruppe som kan bli representert ved den generelle formel:



hvor R50 og R51 er som definert ovenfor. Visse utførelsesformer av amidet i foreliggende oppfinnelse vil ikke inkludere imider som kan være ustabile.

Betegnelsen "alkyltio" refererer til en alkylgruppe, som definert ovenfor, som har en svovelrest koblet dertil. I visse utførelsesformer er "alkyltio"-gruppene representert ved én av -S-alkyl, -S-alkenyl, -S-alkynyl og -S- $(CH_2)_m-R61$, hvor m og R61 er som definert ovenfor. Representative alkyltiogrupper inkluderer metyltio, etyltio og lignende.

Betegnelsen "karboksyl" er kjent innenfor fagområdet og inkluderer slike grupper som kan bli representert ved de generelle formlene:



hvor X50 er en binding eller representerer en oksygen eller en svovel, og R55 og R56 representerer en hydrogen, en alkyl, en alkenyl, $-(CH_2)_m-R61$ eller et

farmasøytisk akseptabelt salt, R56 representerer en hydrogen, en alkyl, en alkenyl eller $-(CH_2)_m-R61$, hvor m og R61 er definert ovenfor. Hvor X50 er et oksygenatom og R55 og R56 ikke er hydrogen representerer formelen en "ester". Når X50 er et oksygenatom og R55 er som definert ovenfor blir gruppen referert til heri som en

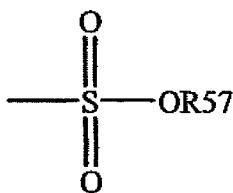
karboksylgruppe og spesielt når R55 er et hydrogenatom representerer formelen en "karboksylsyre". Når eksemplet er et oksygenatom og R56 er hydrogen representerer formelen et "format". Generelt, når oksygenatomet av overnevnte formel blir erstattet av svovel representerer formelen en "tiolkarbonyl"-gruppe. Når X50 er et svovelatom og R55 eller R56 ikke er hydrogen representerer formelen en "tiolester". Når X50 er et svovelatom og R55 er hydrogen representerer formelen en "tiolkarboksylsyre". Når X50 er et svovelatom og R56 er et hydrogenatom representerer formelen et "tiolformat". Derimot, når X50 er en binding og R55 ikke er hydrogen representerer overnevnte formel en "ketongruppe". Når X50 er en binding og R55 er hydrogen representerer overnevnte formel en "aldehyd"-gruppe.

Betegnelsen "karbamoyl" refererer til $-O(C=O)NRR'$, hvor R og R' er uavhengig H, alifatiske grupper, arylgrupper eller heteroarylgrupper.

Betegnelsen "okso" refererer til en karbonyloksygen ($=O$).

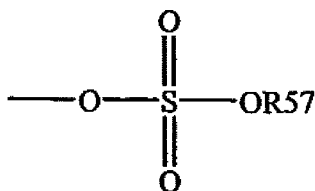
Betegnelsen "alkoksyl" eller "alkoksy" er kjent innenfor fagområdet og refererer til en alkylgruppe, som definert ovenfor, som har en oksygenrest koblet dertil. Representative alkoksygrupper inkluderer metoksy, etoksy, propyloksy, tert-butoksy og lignende. En "eter" er to hydrokarboner kovalent koblet av et oksygenatom. Følgelig, substituenten til en alkyl som gjør den alkylen til en eter er eller ligner en alkoksyl, som kan bli representert ved én av -O-alkyl, -O-alkenyl, -O-alkynyl, $-O-(CH_2)_m-R61$ er beskrevet over.

Betegnelsen "sulfonat" er kjent innenfor fagområdet og refererer til en gruppe som kan bli representert med generell formel:



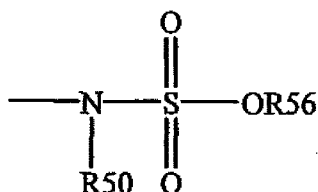
hvor R57 er et elektronpar, hydrogen, alkyl, sykloalkyl eller aryl.

Betegnelsen "sulfat" er kjent innenfor fagområdet og inkluderer en gruppe som kan bli representert ved den generelle formelen:



hvor R57 er som definert ovenfor.

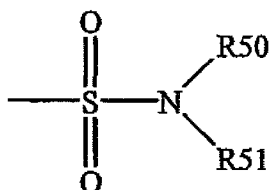
Betegnelsen "sulfonamido" er kjent innenfor fagområdet og inkluderer en gruppe som kan bli representert ved den generelle formelen:



5

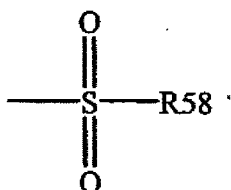
hvor R50 og R56 er som definert ovenfor.

Betegnelsen "sulfamoyl" er kjent innenfor fagområdet og refererer til en gruppe som kan bli representert ved den generelle formelen:



10 hvor R50 og R51 er som definert ovenfor.

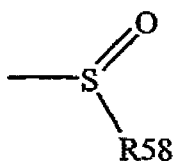
Betegnelsen "sulfonyl" er kjent innenfor fagområdet og refererer til en gruppe som kan bli representert ved den generelle formelen:



15

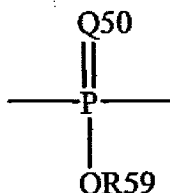
hvor R58 er én av følgende: hydrogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, sykloalkyl, heterosyklyl, aryl eller heteroaryl.

Betegnelsen "sulfoksido" er kjent innenfor fagområdet og refererer til en gruppe som kan bli representert ved den generelle formelen:

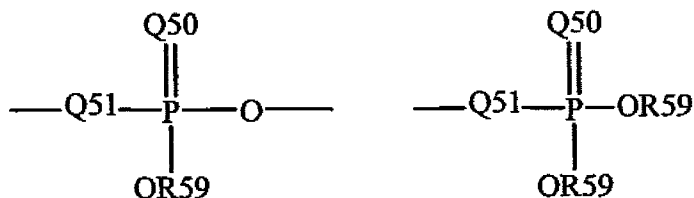


hvor R58 er definert ovenfor.

Betegnelsen "fosforyl" er kjent innenfor fagområdet og kan generelt bli representert ved formelen:

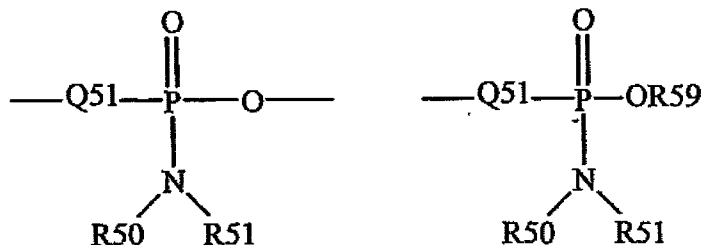


- 5 hvor Q50 representerer S eller O, og R59 representerer hydrogen, en lavere alkyl eller en aryl. Når anvendt for å substituere, f.eks. en alkyl, kan fosforylgruppen til fosforylalkyl bli representert ved de generelle formlene:



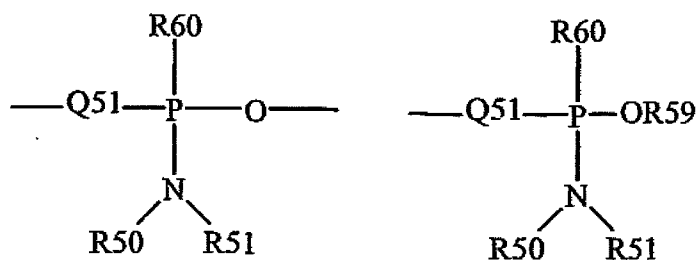
- 10 hvor Q50 og R59, hver uavhengig er definert ovenfor, og Q51 representerer O, S eller N. Når Q50 er S er fosforylgruppen et "fosfortioat".

Betegnelsen "fosforamiditt" er kjent innenfor fagområdet og kan bli representert ved de generelle formlene:



hvor Q51, R51 og R59 er som definert ovenfor.

- 15 Betegnelsen "fosfonamiditt" er kjent innenfor fagområdet og kan bli representert ved de generelle formlene:



hvor Q51, R50, R51 og R59 er som definert ovenfor, og R60 representerer en lavere alkyl eller en aryl.

Analoge substitusjoner kan bli utført på alkenyl- og alkynylgrupper for å produsere, f.eks., aminoalkenyler, aminoalkynyler, amindoalkenyler, amidoalkynyler, iminoalkenyler, iminoalkynyler, tioalkenyler, tioalkenyler, karbonyl-substituerte alkenyler eller alkynyler.

Definisjonen av hvert uttrykk, f.eks. alkyl, m, n og lignende, når det oppstår mer enn én gang i en struktur er ment å være uavhengig av dets definisjon andre steder i samme struktur.

Betegnelsen "selenoalkyl" er kjent innenfor fagområdet og refererer til en alkylgruppe som har en substituert selenogruppe koblet dertil. Eksempelvis "selenoetere" som kan bli substituert på alkyl er valgt fra én av -Se-alkyl, -Se-alkenyl, -Se-alkynyl, og -Se-(CH₂)_m-R61, m og R61 er definert ovenfor.

Betegnelsene triflyl, tosyl, mesyl og nonaflyl er kjent innenfor fagområdet og refererer til henholdsvis trifluormetansulfonyl-, p-toluensulfonyl-, metansulfonyl- og nonafluorbutansulfonylgrupper. Betegnelsene triflat, tosylat, mesylat og nonaflat er kjent innenfor fagområdet og refererer til trifluormetansulfonater, p-toluensulfonater, metansulfonater og nonafluorbutansulfonater funksjonelle grupper og molekyler som inneholder nevnte grupper.

Forkortelsene Me, Et, Ph, Tf, Nf, Ts og Ms representerer henholdsvis metyl, etyl, fenyl, trifluormetansulfonyl, nonafluorbutansulfonyl, p-toluensulfonyl og metansulfonyl. En mer omfattende liste av forkortelsene anvendt av kjemikere innen organisk kjemi med kunnskap innenfor fagområdet fremkommer i første utgave av hvert volum av Journal of Organic Chemistry; og denne listen er typisk presentert i en tabell med tittelen Standard List of Abbreviations.

Visse forbindelser innbefattet i sammensetningen ifølge foreliggende oppfinnelse kan eksistere i bestemte geometriske eller stereoisomere former. Foreliggende oppfinnelse omfatter alle slike forbindelser, inkludert cis- og trans-isomerer, *R*- og *S*-enantiomerer, diastereomerer, (D)-isomerer, (L)-isomerer, racemiske blandinger derav og andre blandinger derav, som faller inn under rammen av oppfinnelsen. Ytterligere asymmetriske karbonatomer kan bli presentert i en substituent så som en alkylgruppe. Alle slike isomerer, samt blandinger derav, er ment å være inkludert i denne oppfinnelsen.

Hvis blant annet en bestemt enantiomer av forbindelsen ifølge denne oppfinnelsen er ønskelig kan den bli fremstilt ved asymmetrisk syntese, eller ved derivasjon med et chiralt hjelpemiddel, hvor den resulterende diastereomere blandingen er separert og hjelpegruppen spaltet for å tilveiebringe de rene
5 ønskede enantiomerene. Alternativt, hvor molekylet inneholder en basisk funksjonell gruppe, så som amino, eller en sur funksjonell gruppe, så som karboksyl, blir diastereomere salter dannet med en hensiktsmessig optisk aktiv syre eller base, etterfulgt av oppløsning av diastereomerene som derved blir dannet ved fraksjonskrystallisering eller kromatografiske metoder velkjente
10 innenfor fagområdet, og deretter isolering av de rene enantiomerene. Likeledes kan en bestemt enantiomer i en racemisk blanding bli separert fra dets enantiomer via chirale kromatografiske metoder kjent innenfor fagområdet.

Det er kjent at "substitusjon" eller "substituert med" inkluderer den implisitte forutsetningen at en slik substitusjon er i henhold til tillatte valenser for substituert
15 atom og substituenten, og at substitusjonen resulterer i en stabil forbindelse, f.eks. som ikke spontant gjennomgår transformasjon så som ved rearrangement, syklisering, eliminering eller annen reaksjon.

Betegnelsen "substituert" er også betraktet å inkludere alle mulige substituenten av de organiske forbindelsene. I et bredt aspekt inkluderer
20 godtagbare substituenten asykliske og sykliske, forgrenede og lineære, karbocykliske og heterosykliske, aromatiske og ikke-aromatiske substituenten av de organiske forbindelsene. Illustrerende substituenten inkluderer f.eks. de beskrevet ovenfor. Godtagbare substituenten kan være én eller flere av like eller forskjellige for hensiktsmessige organiske forbindelser. For formål av denne
25 oppfinnelsen kan heteroatomene så som nitrogen ha hydrogensubstituenten og/eller hvilke som helst godtagbare substituenten av organiske forbindelser beskrevet heri som tilfredsstillende valensene til heteroatomene.

Betegnelsen "beskyttelsesgruppe" som anvendt heri betyr temporære substituenten som beskytter en potensielt reaktiv funksjonell gruppe fra uønskede
30 kjemiske transformasjoner. Eksempler for slike beskyttelsesgrupper inkluderer estere av karboksylsyrer, silyletere av alkoholer og acetalen og ketalen av aldehyder og ketoner. Området beskyttelsesgruppekjemi er blitt beskrevet

(Greene, T. W., Wuts, P.G.M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2. utgave, Wiley: New York, 1991). Beskyttede former er beskrevet heri.

For formål i denne oppfinnelsen blir kjemiske elementer identifisert i henhold til the Periodic Table of the Elements, CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 67. utgave, 1986-87, innsidecoveret.

Angivelsen "avvikende modifikasjon eller mutasjon" av et gen refererer til slike genetiske lesjoner slik som f.eks. delesjoner, substitusjon eller addisjon av nukleotider til et gen, samt omfattende kromosomale rearrangementer av genet og/eller unormal metylering av genet. Likeledes refererer mis-ekspressjon av et gen til avvikende nivåer av transkripsjon av genet i forhold til de nivåene som er en normal celle under lignende betingelser, samt ikke-villtypespleising av mRNA transkribert fra genet.

"Basal cellekarsinomer" eksisterer i forskjellige kliniske og histologiske former så som nodulær-ulcerative, kunstige ("superficial"), pigmenterte, morfealignende ("morphealike"), fibroepiteliom og nevoid syndrom.

Basalcellekarsinomer er de mest vanlige kutane neoplasmer som finnes i mennesker. Hoveddelen av de nye tilfelle av ikke-melanomhudcancerer faller inn under denne kategorien.

Betegnelsen "karsinom" refererer til en malign ny vekst dannet av epitelceller som har en tendens til å infiltrere omgivende vev og å gi opphav til metastaser. Eksempelvis inkluderer: "basalcellekarsinom" som er en epiteltumor i huden som har potensiale for lokal invasjon og destruksjoner selv om de sjelden metastaseres, "squamous cellekarsinom" som refererer til karsinomer som oppstår fra squamous epitel og som har tuboidceller; "karsinosarkom" som inkluderer maligne tumorer bestående av karsinomatøse og sarkomatøse vev; "adenocytisk karsinom", karsinomer merket med sylindre eller bånd av hyalin eller mukinøs stroma separert eller omgitt av sammenfildrede eller strenger av små epitelceller, oppstår i bryst og spyttkjertler og slimhinnekjertler i respiratorisk kanal; "epidermoid karsinom", som refererer til cancerøse celler som har en tendens til å differensiere på samme måte som de i epidermis; dvs. de har en tendens til å danne "prickle" celler og gjennomgå forkorning; "nasofaryngialt karsinom" som refererer til en malign tumor som oppstår i epitelkledningen av området bak nesen;

og "nyrecellekarsinom" som vedrører karsinom i nyreparenchymal bestående av tubulære celler i forskjellige arrangementer.

Andre karsinomatøse epitelcekker er "papillomer", som refererer til benigne tumorer oppnådd fra epitel og som har et papillomavirus som et forårsakende middel; og "epidermoider", som refererer til en cerebral eller meningeal tumor dannet ved inklusjon av ofektodermale elementer ved tidspunktet for lukning av nevralkløften.

Betegnelsen "ED50" betyr dosen av et medikament som produserer 50 % av dets maksimale respons eller effekt.

En "effektiv mengde" av en gjeldende forbindelse, med hensyn på foreliggende fremgangsmåte for behandling, refererer til en mengde av antagonist i et preparat som, når overført som del av et ønsket doseregime tilveiebringer f.eks. en forandring i raten for celleproliferasjon og/eller raten av overlevelse av en celle ifølge klinisk akseptable standarder for forstyrrelsen som blir behandlet.

Betegnelsen "epitel", "epitelisk" og "epitelium" refererer til den cellulære dekkingen av indre og ytre kroppsoverflater (kutant, slimhinne og serøs), inkludert kjertler og andre strukturer avledet derfra, f.eks. korneal, esofogeal, epidermal og hårfollikelepitelialceller. Andre eksempelvis epitelialvev inkluderer: olfactory epitelium, som er pseudostratifisert epitel som kler olfactory-regionen av nasalhulrommet, og som inneholder reseptorer for luktefølelse; glandulært epitelium, som refererer til epitelium bestående av utskillende celler; squamous epitelium, som refererer til epitelium bestående av flate platelignende celler. Betegnelsen epitelium kan også referere til transisjonelt epitelium, som vanligvis kler hule organer som stor mekanisk forandring grunnet sammentrekning og utvidelse, f.eks. vev som representerer en overgang mellom stratifisert squamous og kolumnar epitelium.

"Veksttilstand" av en celle refererer til proliferasjonsraten av cellen og/eller differensieringstilstanden til cellen. En "endret veksttilstand" er en veksttilstand kjennetegnet ved en unormal proliferasjonsrate f.eks. en celle som utviser en øket eller redusert proliferasjonsrate i forhold til en normal celle.

Betegnelsen "hedgehog-reaksjonsvei antagonist" refererer til et middel som inhiberer funksjonen av hedgehog-reaksjonsveien, f.eks. undertrykker

transkripsjonen av målgener (Gli1- og Ptc-gener), som i normale celler blir induisert ved kontakt av cellen med hedgehog. I tillegg til endring av en smoothened-avhengig reaksjonsvei, kan i visse utførelsesformer hedgehog-reaksjonsveisantagonister ifølge foreliggende oppfinnelse bli anvendt for å komme over en Ptc tap-av-funksjon, smoothened økning-av-funksjon og/eller en hedgehog økning-av-funksjon. Betegnelsene "tap-av-funksjon" og "økning-av-funksjon", refererer etter behov til en avvikende modifikasjon eller mutasjon av, f.eks. et Ptc-gen, hedgehog-gen eller smoothened gen, eller en reduksjon eller økning i nivå av ekspresjon av et slikt gen, som resulterer i en fenotype, f.eks., som ligner kontakting av en celle med et hedgehog-protein, så som avvikende aktivering av en hedgehog-reaksjonsvei eller ligner tap av Smo-funksjonen. Mutasjon kan inkludere et tap av evnen som Ptc- eller Smo-genproduktet(ene) har til å regulere nivået av aktivitet til Gli/Ci-proteiner, f.eks. Gli1, Gli2 og Gli3.

Som anvendt her refererer "udødeliggjorte celler" til celler som er blitt endret via kjemiske og/eller rekombinante midler slik at cellene har evnen til å vokse gjennom et uendelig antall delinger i kulturer.

Betegnelsen "LD50" betyr dosen av et medikament som er dødelig i 50 % av forsøksindividene.

En "pasient" eller "individ" som skal bli behandlet ved foreliggende metode kan bety enten et humant eller ikke-humant dyr.

Angivelsen "farmasøytisk akseptabel" blir anvendt heri for å referere til de forbindelsene, materialene, sammensetningene og/eller doseringsformene som er, innenfor omfanget av sunn medisinsk vurdering, egnede for anvendelser i kontakt med vevet til mennesker og dyr uten omfattende toksisitet, irritasjon, allergisk respons eller annet problem eller komplikasjon, i samsvar med et fornuftig fordel/risikoforhold.

Angivelsen "farmasøytisk akseptabel bærer" som anvendt heri betyr et farmasøytisk akseptabelt materiale, sammensetning eller bærer, så som et liquid eller fast fyllstoff, fortynningsmiddel, eksipient, fremstillingshjelpemiddel (f.eks. smøremiddel, talk, magnesium, kalsium eller sinkstearat, eller stearinsyre), eller løsningsmiddelinnkapslingsmateriale, involvert i bæring eller transportering av gjeldende forbindelse fra ett organ, eller del av kroppen, til et annet organ eller del av kroppen. Hver bærer må være "akseptabel" ved at det å være kompatibelt med

andre ingredienser av formuleringen og ikke skadelig for pasienten. Noen eksempler på materialet som kan virke som farmasøytisk akseptable bærere inkluderer (1) sukre, så som laktose, glukose og sukrose; (2) stivelser, så som maisstivelse og potetstivelse; (3) cellulose, og derivater derav, så som

5 natriumkarboksymetylcellulose, etylcellulose og celluloseacetat; (4) pulverformet tragakant; (5) malt; (6) gelatin; (7) talk; (8) eksipienter, så som kakaosmør og suppositorievoks; (9) oljer, så som peanøttolje, bomullsfrøolje, safranolje, sesamolje, olivenolje, maisolje og soyabønneolje; (10) glykoler, så som propylenglykol; (11) polyoler, så som glyserin, sorbitol, mannitol og

10 polyetylenglykol; (12) estere, så som etyloleat og etyllaurat; (13) agar; (14) bufringsmidler, så som magnesiumhydroksid og aluminiumhydroksid; (15) alginsyre; (16) pyrogenfritt vann; (17) isotonisk saltvann; (18) Ringers løsning; (19) etylalkohol; (20) pH-bufrede løsninger; (21) polyestere, polykarbonater og/eller polyanhydrider; og (22) andre ikke-toksiske compatible substanser anvendt innen

15 farmasøytiske formuleringer.

Betegnelsen "prodroge" er ment å omfatte forbindelser som under fysiologiske betingelser blir omdannet til terapeutisk aktive midler. En vanlig metode for å danne en prodroge er å inkludere valgte grupper som blir hydrolysert under fysiologiske betingelser for å fremkomme med det ønskede molekylet. I

20 andre utførelsesformer blir prodrogen omdannet ved en enzymatisk aktivitet (eller annen fysiologisk aktivitet) til vertsdycet.

Som anvendt heri refererer "proliferering" og "proliferasjon" til celler som gjennomgår mitose. I denne søknaden refererer betegnelsen "proliferativ hudforstyrrelse" til en hvilken som helst sykdom/forstyrrelse i huden omfattet av

25 uønsket eller avvikende proliferasjon av kutant vev. Denne tilstanden er typisk karakterisert ved epidermal celleproliferasjon eller ufullstendig celledifferensiering og inkluderer f.eks. X-koblet iktiose, psoriasis, atopisk dermatitt, allergisk kontaktdermatitt, epidermolyttisk hyperkeratose og seporreisk dermatitt. F.eks. er epidermodysplasi en form for uriktig utvikling av epidermis. Et annet eksempel er

30 "epidermolyse" som refererer til løsnende tilstand av epidermis med dannelse av blemmer og bulker enten spontant eller med traumestedet.

Betegnelsen "terapeutisk indeks" refererer til den terapeutiske indeksen til et medikament definert som LD50/ED50.

Betegnelsen "transformerte celler" refererer til celler som er blitt spontant omdannet til en tilstand med ubegrenset vekst, dvs. de har ervervet evnen til å vokse gjennom et ubegrenset antall delinger i kultur. Transformerte celler kan bli karakterisert slike betegnelser som neoplastisk, anaplastisk og/eller hyperplastisk, med hensyn på deres tap av vekstkontroll. Betegnelsen "individ" som anvendt heri refererer til et dyr, et pattedyr eller et menneske, som er blitt utsatt for behandling, observasjon og/eller eksperiment. Når angivelsen blir anvendt i sammenheng med administrering av en forbindelse eller medikament da har individet blitt utsatt for behandling, observasjon og/eller administrering av forbindelsen eller medikamentet. Angivelsen "terapeutisk effektiv mengde" som anvendt heri betyr den mengden av en forbindelse, materiale eller sammensetning som omfatter en forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse som er effektiv for produsering en viss ønsket terapeutisk effekt i minst en sub-populasjon av celler i et dyr med et forsvarlig fordel/risikoforhold anvendbart for en hvilken som helst medisinsk behandling.

Angivelsene "parenteral administrering" og "administrert parenteralt" som anvendt heri betyr administreringsmåter andre enn enteral og topisk administrering, vanligvis ved injeksjon, og inkluderer, uten begrensning, intravenøs, intramuskulær, intraarteriell, intratekal, intrakapsulær, intraorbital, intrahjerte, intradermal, intraperitoneal, transtracheal, subkutan, subkutikulær, interartikulær, subkapsulær, subaracnoid, intraspinal og intrasternal injeksjon og infusjon.

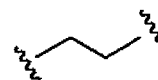
Angivelsen "systemisk administrering", "administrert systemisk", "perifer administrering" og "administrert perifert" som anvendt heri betyr administrering av en forbindelse, medikament eller annet materiale på annen måte enn direkte til setet for hedgehog-reaksjonsveimedierte forstyrrelser, slik at de går inn i systemet til pasienten og som følgelig er utsatt for metabolisme og andre lignende prosesser, f.eks., subkutan administrering.

Betegnelsen "sukker" som anvendt heri refererer til et naturlig eller et unaturlig monosakkarid, disakkarid eller oligosakkarid omfattende én eller flere pyranose- eller furanoseringer. Sukkeret kan være kovalentlig bundet til stereoidalkaloidet ifølge foreliggende oppfinnelse gjennom en eterbinding og gjennom en alkylbinding. I visse utførelsesformer kan sakkaridgruppen være

kovalentlig bundet til et steroid alkaloid ifølge foreliggende oppfinnelse ved et anomerisk senter av en sakkaridring.

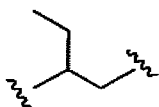
Betegnelsen "diradikal" som anvendt heri refererer til hvilke som helst av seriene av divalente grupper fra alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, sykloalkyl,

heterosykloalkyl, aralkyl, heteroaryl og heteroaralkylgrupper. F.eks.

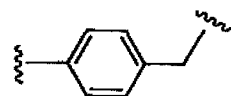


er

en alkylradikal;

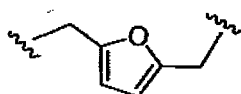


er også en alkylradikal;



er en

aralkylradikal; og

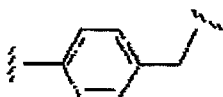


er en (alkyl)heteroaralkylradikal. Typiske

eksempler inkluderer alkylener ifølge generell struktur $(CH_2)_x$ hvor X er 1-6, og

tilsvarende alkenylen- og alkynylenbindinger med 2-6 karbonatomer og én eller

flere dobbel- eller trippelbindinger, sykloalkylengrupper med 3-8 ringmedlemmer, og aralkylgrupper hvori én åpen valens er på arylringen og én er på alkylidenen så

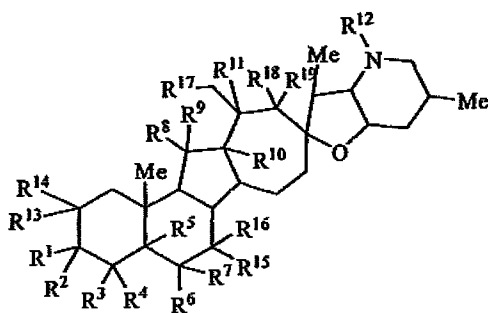


som

og dets isomerer.

Forbindelser ifølge oppfinnelsen

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer forbindelse, med formel 1:



(I)

eller farmasøytisk akseptabelt salt derav;

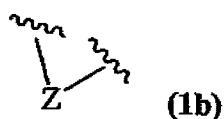
hvor R^1 og R^2 er henholdsvis H og OH, eller tatt sammen danner $=O$;

R^3 er H; R^4 - R^6 er H; eller R^4 og R^5 danner en dobbelt binding og R^6 er H;

eller R^4 er H og R^5 og R^6 danner en dobbelt binding;

R^7 , R^8 , R^9 , R^{13} - R^{19} er H;

R^{10} og R^{11} danner sammen en dobbeltbinding; eller R^{10} og R^{11} tatt sammen danner en gruppe representert ved 1b;



5 hvor Z er CH_2 ;

R^{12} er H, OH eller alkyl eventuelt substituert med minst en gruppe valgt fra halogen, hydroksyl, dialkylamino, og aryl eventuelt substituert med aryloksy; eller R^{12} er $-\text{[W-NH-C(O)-]}_q\text{R}^{21}$, $-\text{[W-NH-SO}_2\text{-]}_q\text{R}^{21}$, eller $-\text{[(W)-O]}_q\text{R}^{21}$, hvor W er alkylen, q er et helt tall fra 1-6, og R^{21} er H, alkyl eller aralkyl.

10 Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 1, hvor R^1 er hydroksyl; eller R^1 og R^2 tatt sammen, sammen med karbonatomet hvortil de er bundet danner $-\text{C(O)-}$.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 1, hvor R^4 og R^5 danner en dobbeltbinding.

15 Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 3, hvor R^1 og R^2 tatt sammen, sammen med karbonatomet hvortil de er bundet, danner $-\text{C(O)-}$.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 1, hvor R^1 er hydroksyl og R^2 er H.

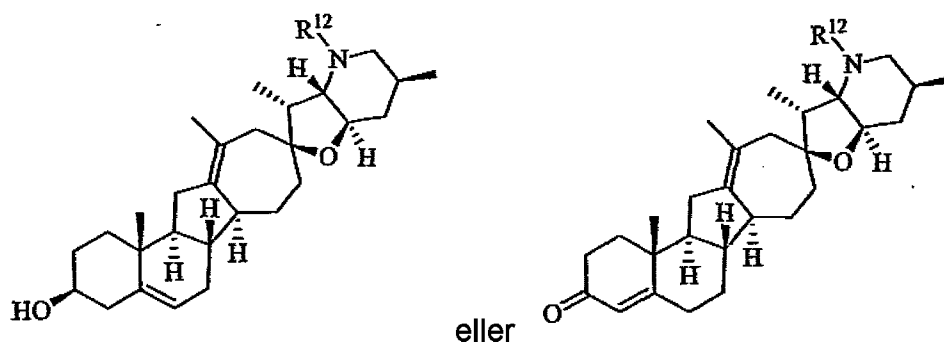
20 Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 1, hvor R^5 og R^6 tatt sammen danner en dobbeltbinding og R^{10} og R^{11} tatt sammen danner en dobbeltbinding.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1-6,

25 hvor R^{12} er H, alkyl eventuelt substituert med halogen eller aryl, hydroksyl, $\text{[(W)-NH-C(O)-]}_q\text{R}^{21}$, $\text{[(W)-NH-SO}_2\text{-]}_q\text{R}^{21}$ eller $\text{[(W)-O]}_q\text{R}^{21}$ hvor W, q og R^{21} er som definert i krav 1.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 1, som har

formlene:

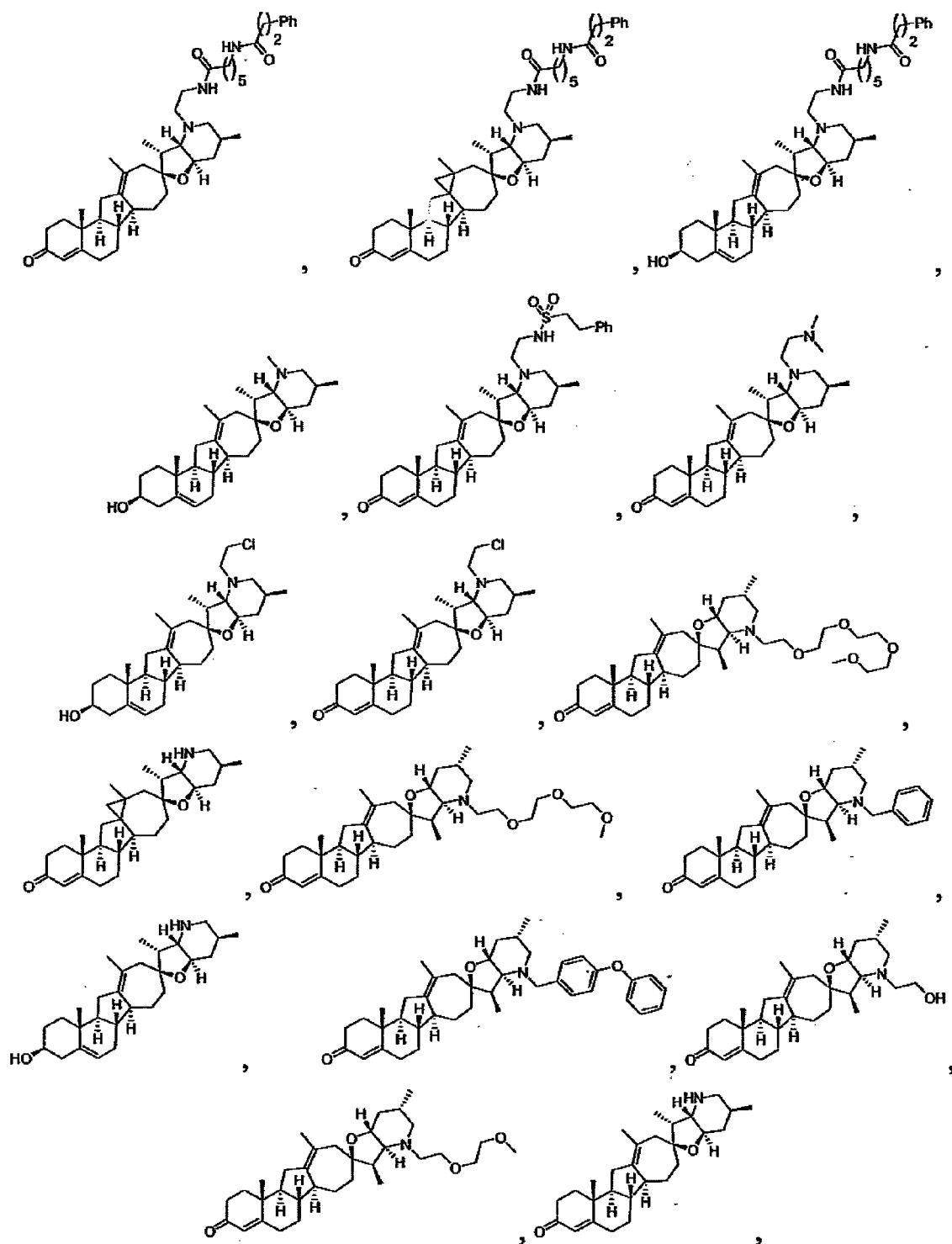


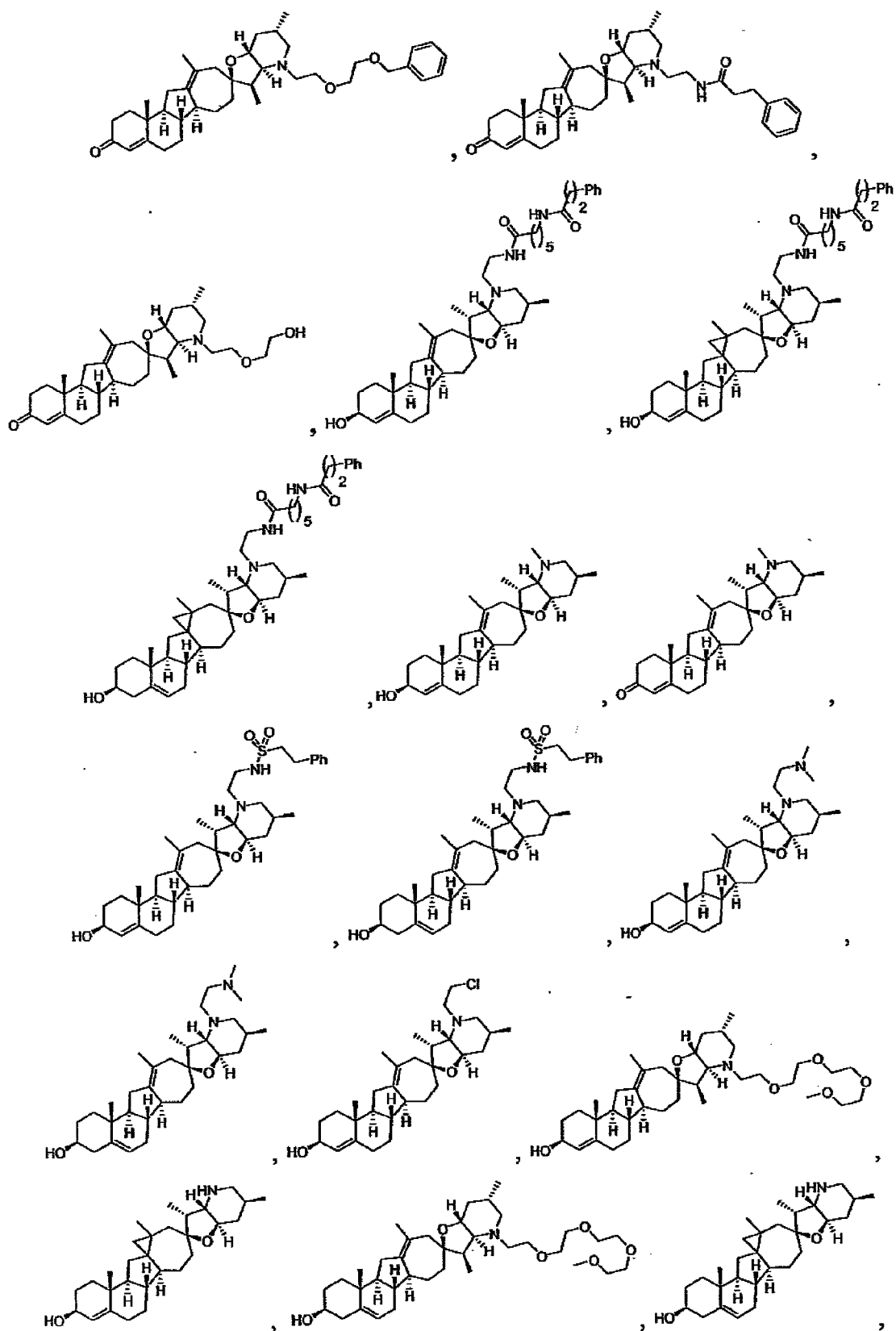
eller farmasøytisk akseptable salt derav;

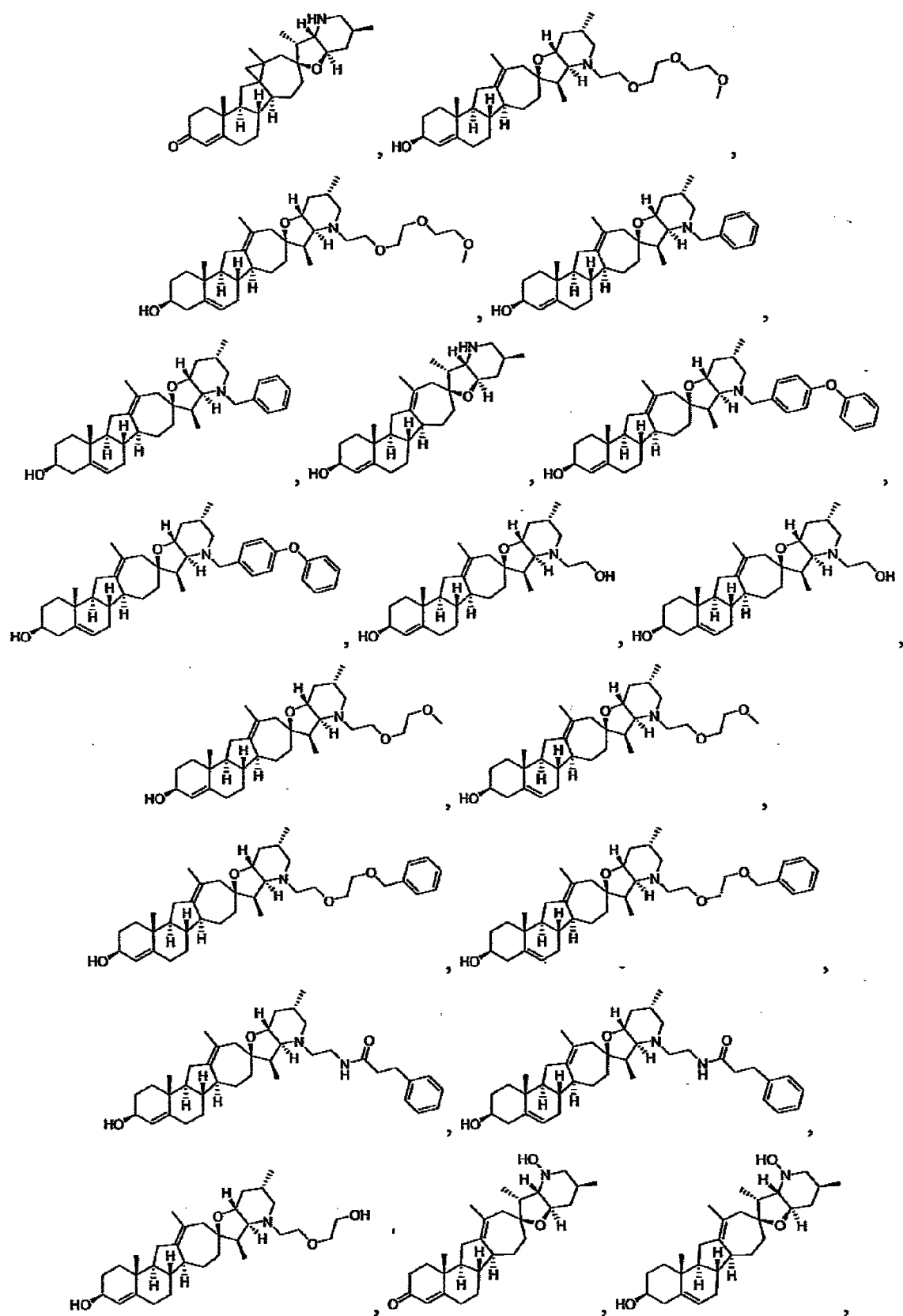
hvor

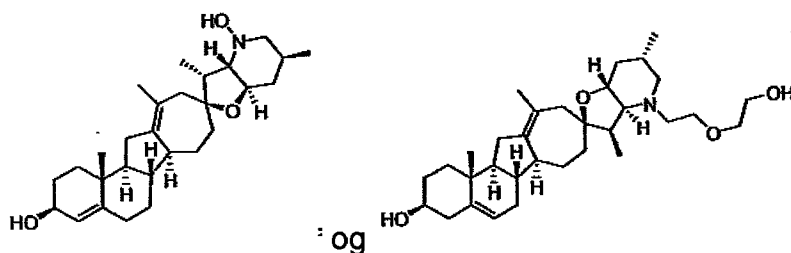
- 5 R^{12} er H, OH eller alkyl, eventuelt substituert med minst en gruppe valgt fra halogen, hydroksyl, dialkylamino, og aryl eventuelt substituert med aryloksy, eller R^{12} er , $[(W)-NH-C(O)-]_q R^{21}$, $[(W)-NH-SO_2-]_q R^{21}$ eller $[(W)-O]_q R^{21}$ hvor W, q og R^{21} er som definert i krav 1.

- 10 Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 1, hvor den er valgt fra gruppen bestående av:



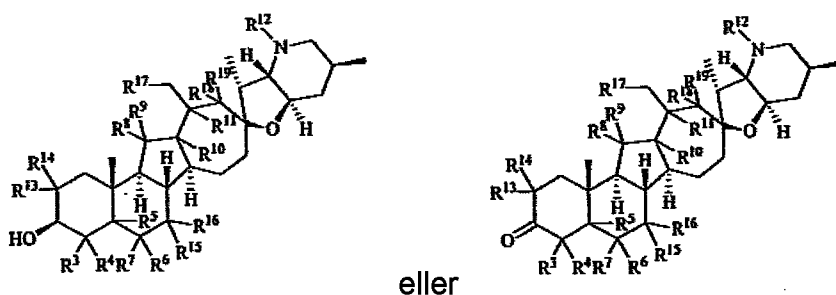






og farmasøytisk akseptable salter deriv.

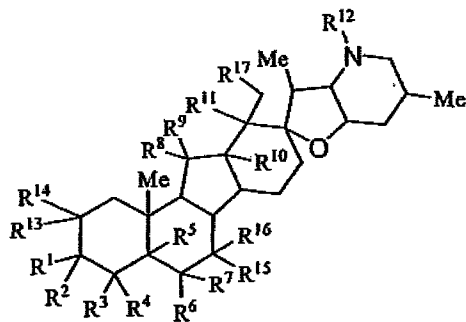
Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 1,
5 som har formelen:



eller et farmasøytisk akseptable salt deriv, hvor R³-R¹⁹ er som definert i krav 1.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 10,
idet R¹² er H.

10 Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse med formel 2:



eller et farmasøytisk akseptabelt salt deriv;

hvor R¹ og R² er henholdsvis H og OH, eller tatt sammen danner =O;

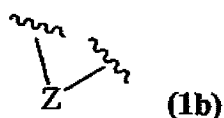
R³ er H; R⁴-R⁶ er H; eller R⁴ og R⁵ danner en dobbeltbinding og R⁶ er H;

15 eller R⁴ er H og R⁵ og R⁶ danner en dobbeltbinding;

R⁷, R⁸, R⁹, R¹³-R¹⁷ er H;

R¹⁰ og R¹¹ tatt sammen danner en gruppe med formel (1b)

27



der Z er CH₂;

R¹² H, OH, eller alkyl eventuelt substituert med minst en gruppe valgt fra halogen, hydroksyl, dialkylamino, og aryl eventuelt substituert med aryloksy; eller
 5 R¹² er [(W)-NH-C(O)-]_qR²¹, -[(W)-NH-SO₂-]_qR²¹ eller -[(W)-O]_qR²¹ hvor W er alkylen, q er et helt tall fra 1-6 og R²¹ er H, alkyl eller aralkyl.

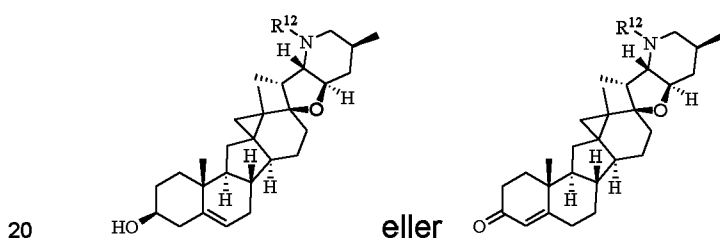
Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 12, hvor R¹ er hydroksyl; eller R¹ og R² tatt sammen, sammen med karbonatomet hvortil de er bundet, danner -C(O)-.

10 Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 12, hvor R⁴ og R⁵ tatt sammen danner en dobbeltbinding.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 14, hvor R¹ og R² tatt sammen, sammen med karbonatomet hvortil de er bundet, danner -C(O)-.

15 Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 15, hvor R¹ er hydroksyl og R² er H.

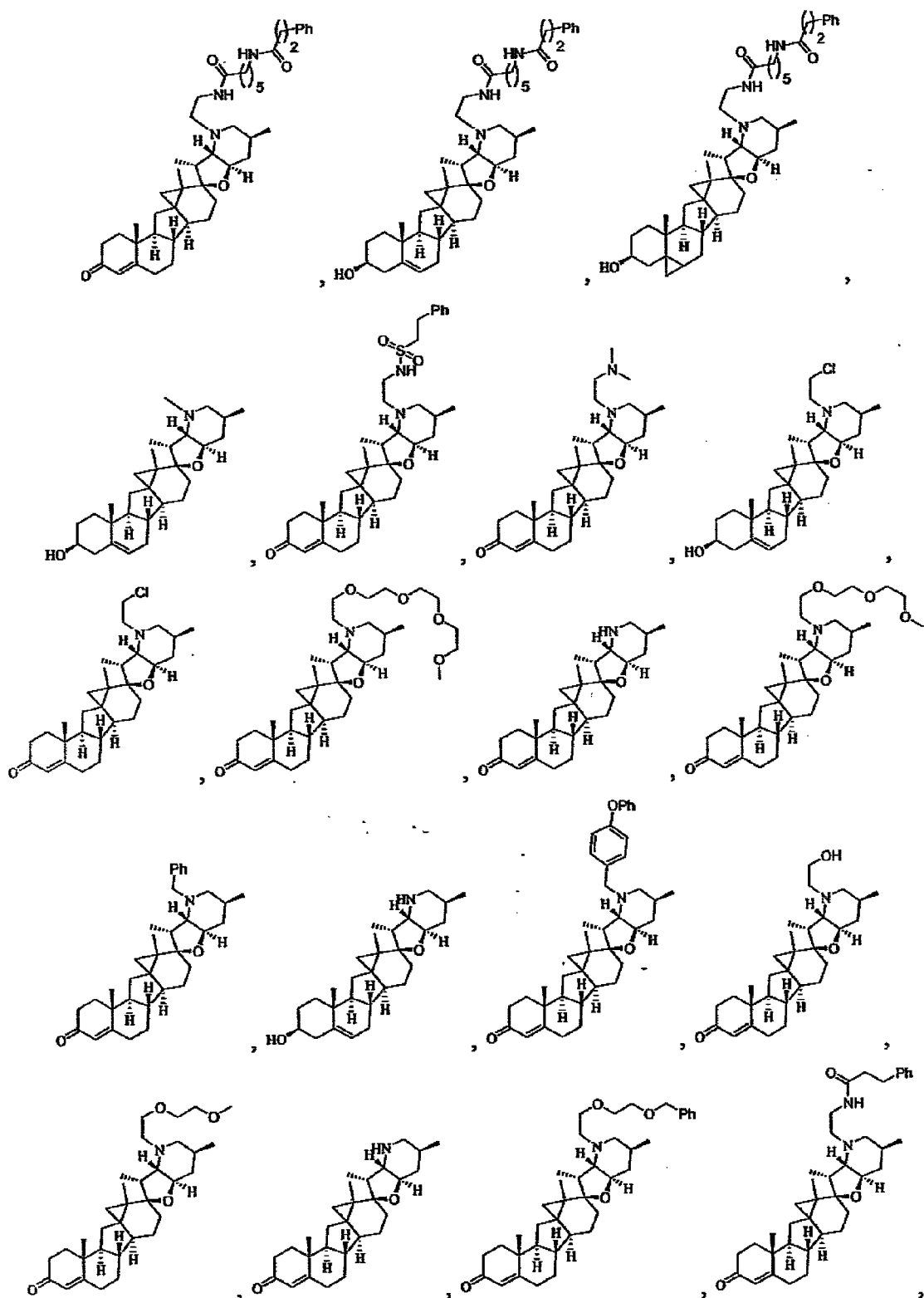
Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 12, med formelen

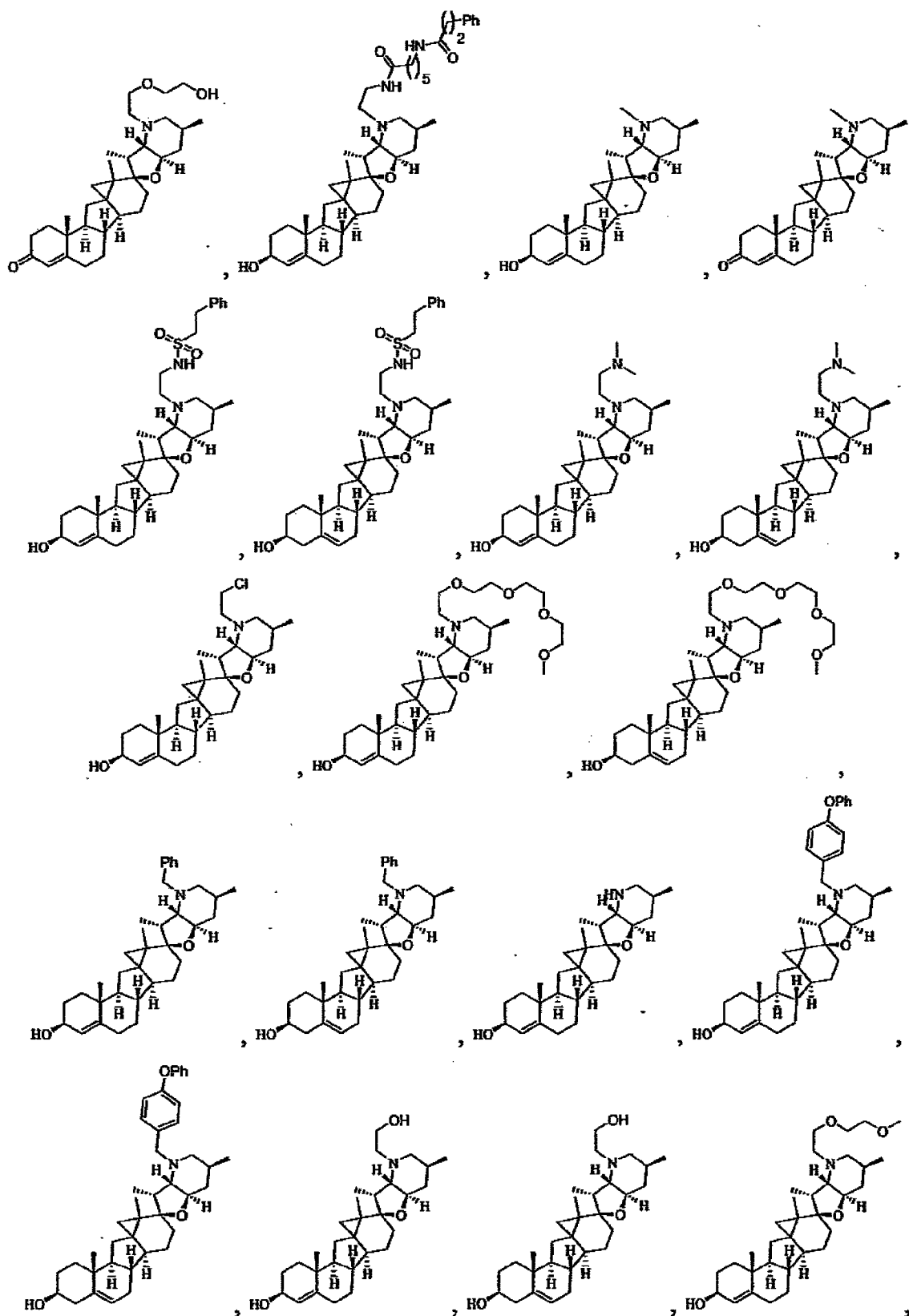


hvor:

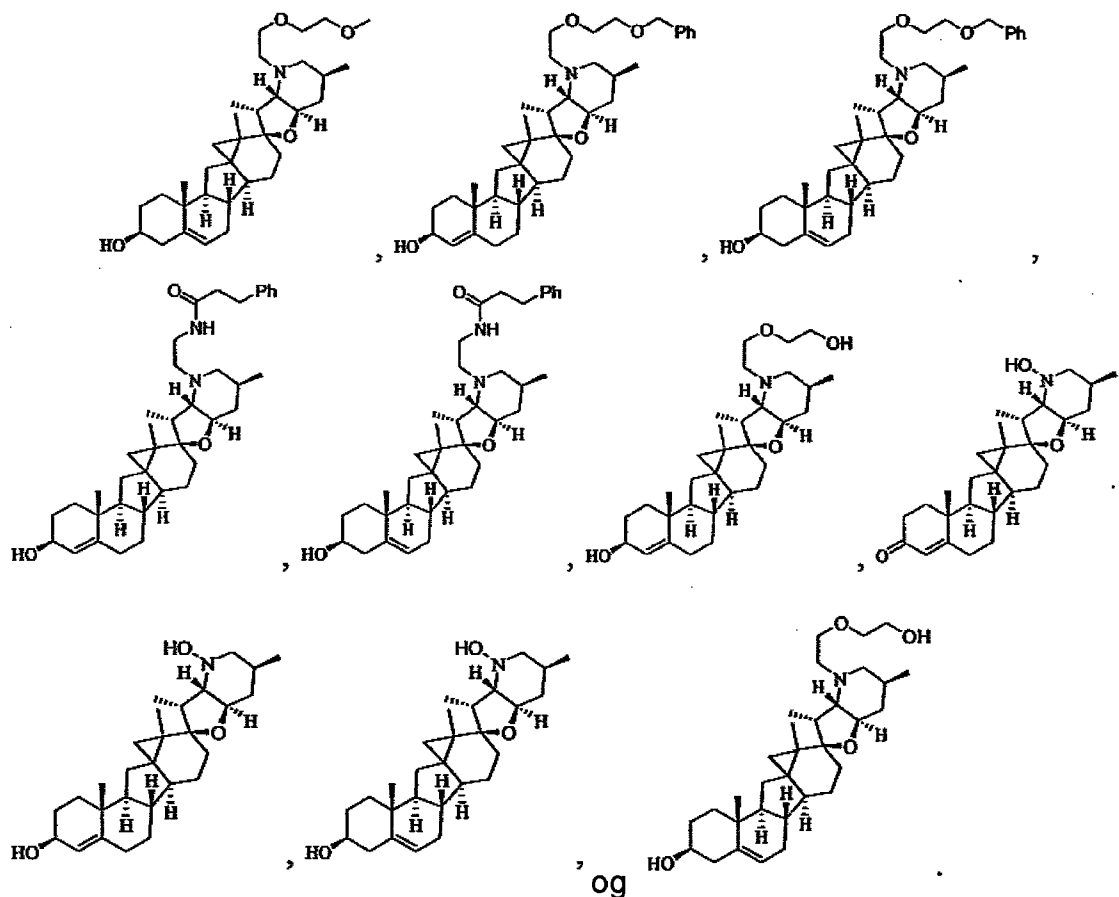
25 R¹² er H, OH, eller alkyl eventuelt substituert med minst en gruppe valgt fra halogen, hydroksyl, dialkylamino og aryl eventuelt substituert med aryloksy; eller R¹² er [(W)-NH-C(O)-]_qR²¹, -[(W)-NH-SO₂-]_qR²¹ eller -[(W)-O]_qR²¹ hvor W er alkylen, q er et helt tall fra 1-6, og R²¹ er H, alkyl eller aralkyl.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 12, som er valgt fra gruppen bestående av:



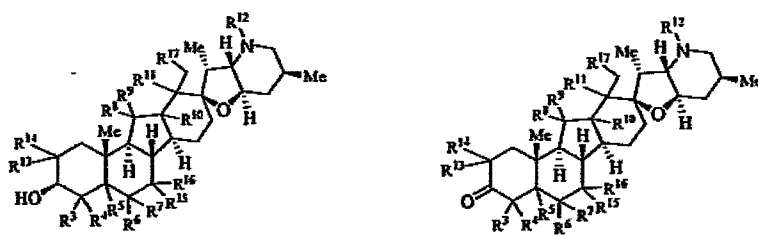


30



og farmasøytisk akseptable salter derav.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre forbindelse ifølge krav 12,
5 som har formelen



eller

og farmasøytisk akseptable salter derav.

Syntese av steroid alkaloidforbindelser

10 Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan bli fremstilt direkte fra et steroid alkaloid isolert som et naturlig produkt (eller syntetisert) eller N-beskyttede former av disse forbindelsene. Egnede nitrogenbeskyttelsesgrupper inkluderer, men er ikke begrenset til Fmoc, Alloc, Boc, Troc, trifluoracetat, Tosyl, Cbz, etylcyanid og Bn.

Forskjellige syklopropaneringsmidler kan bli anvendt for å syklopropanere steroidalkaloidet. 1,1-halogenalkylmetallkomplekser, inkludert reaktive former referert til som karbenoider, blir vanligvis anvendt for å syklopropanere olefiner. Disse reagensene blir typisk dannet ved anvendelse av et diiodalkan eller

5 diazoalkan og et metall eller en organometallisk forbindelse så som Et_2Zn , $i\text{Bu}_3\text{Al}$, samarium, kobber, rodium eller palladium. I visse utførelsesformer blir Et_2Zn og diiodmetan anvendt for å utføre syklopropaneringen. Andre kjente syklopropaneringsmetoder så som de som anvender svovelylider for å reagere med et olefin konjugert til et karbonyl for å tilsette en CH_2 eller CH -alkyl eller CH -

10 arylgruppe, og metallkatalysert dekomponering av diazoalkyl og α -diazokarbonylforbindelser, så som diazometan og etyldiazoacetat, kan også bli anvendt: disse metodene danner lett syklopropaner med alkyl, aryl, alkoksykarbonyl ($-\text{COOR}$) eller acylsubstituenter. F.eks. resulterer tilsetning av etyldiazopropionat ($\text{EtO}_2\text{C}-\text{C}(\text{N}_2)-\text{Me}$) til en olefinforbindelse i et organisk

15 løsningsmiddel inneholdende en metallkatalysator så som kobber eller palladium i dannelsen av et syklopropan inneholdende grupper representert ved formel **1b** hvor Z representerer $\text{C}(\text{R}^{23})_2$, hvor én R^{23} er Me og den andre R^{23} er COOEt .

Ved forsiktig valg av syklopropaneringsmiddel kan seteselektivitet bli oppnådd i syklopropanering av steroidale alkaloider med mer enn én olefin. Hvis

20 f.eks. diiodmetan og Et_2Zn blir anvendt for å syklopropanere jervin under visse betingelser vil kun det mer elektronrike olefinet reagere.

Diastereoselektiviteten til syklopropaneringen kan bli kontrollert på mange forskjellige måter. F.eks. kan redusering av temperaturen til syklopropaneringsreaksjonen føre til høyere diastereoselektiviteter. Alternativt kan

25 et chiralt syklopropaneringsmiddel bli anvendt som kan skjelne mellom hver diastereo-side av steroidalkaloidet. Sideselektivitet ved syklopropanering kan også bli oppnådd ved anvendelse av substratrettede reaksjoner (dvs. syklopropanering av allylalkoholer ved anvendelse av $\text{Et}_2\text{Zn}/\text{CH}_2\text{I}_2$ -reagenser).

Syklopropaneringsreaksjoner kan bli utført i et aprotisk løsningsmiddel, fortrinnsvis ett hvor reaksjonsingrediensene er vesentlig oppløselige. Egnede løsningsmidler inkluderer etere, så som dietyleter, 1,2-dimetoksyetan, diglym, t-butylmetyleter, tetrahydrofuran og lignende; halogenerte løsningsmidler, så som kloroform, diklormetan, dikloretan og lignende; alifatiske eller aromatiske

30

hydrokarbonløsningsmidler, så som benzen, xylene, toluen, heksan, pentan og lignende; estere og ketoner, så som etylacetat, aceton og 2-butanon; polare aprotiske løsningsmidler så som acetonitril, dimetylsulfoksid, dimetylformamid og lignende; eller kombinasjoner av to eller flere løsningsmidler. I en foretrukket utførelsesform er diklormetan løsningsmidlet anvendt for syklopropanering når et dialkylsink eller diiodmetan blir anvendt.

Etter syntese av syklopropanert steroidalkaloidkjerne kan forbindelsen bli derivatisert ved anvendelse av forskjellige funksjonaliseringsreaksjoner kjent innenfor fagområdet. Representative eksempler inkluderer palladiumkoblingsreaksjoner til alkynylhalider eller arylhalider, oksidasjoner, reduksjoner, reaksjoner med nukleofiler, reaksjoner med elektrofiler, perisykliske reaksjoner, installasjon av beskyttelsesgrupper, fjerning av beskyttelsesgrupper og lignende.

I nærvær av Lewis- eller Bronstedsyrer gjennomgår syklopropylsyklopaminanaloger ifølge foreliggende oppfinnelse gjennomgår et hittil uobservert rearrangement og ringutvidelse for å tilveiebringe nye syklopaminanaloger hvor D-ringene er blitt utvidet med ett karbonatom. Syklopropylringen kan bli substituert eller usubstituert. I tilfeller hvor syklopropylringen er substituert vil gruppene koble til metylen av syklopropan bli installert på D-ringene etter rearrangement og ringekspansjon. Egnede syrer inkluderer, men er ikke begrenset til ZnI_2 , BF_3 , metansulfonsyre, diaryloksyfosforsyrer og HCl . Det er foretrukket å anvende Lewis-syre BF_3 . Disse homologerte analogene kan bli ytterligere funksjonalisert ved anvendelse av forskjellige funksjonaliseringsreaksjoner kjent innenfor fagområdet. Representative eksempler inkluderer palladiumkoblingsreaksjoner til alkenylhalider eller arylhalider, oksidasjoner, reduksjoner, reaksjoner med nukleofiler, reaksjoner med elektrofiler, perisykliske reaksjoner, installasjon av beskyttelsesgrupper, fjerning av beskyttelsesgrupper og lignende.

Foreliggende forbindelser ifølge oppfinnelse kan anvendes for behandling, lindring av ett eller flere symptomer på og redusering av alvorlighetsgraden ved hyperproliferative forstyrrelser, dvs. cancer, samt andre hedgehog-reaksjonsveimedierte forstyrrelser eller tilstander.

Hedgehog-reaksjonsveiantagonister blir for tiden undersøkt i et stort antall kliniske tilstander hvor en terapeutisk effekt kan bli oppnådd for en tilstand eller forstyrrelse ved inhibering av ett eller flere aspekter av aktiviteten til hedgehog-reaksjonsveien. Til tross for at det primære fokuset har vært på cancer har

5 forskere funnet at småmolekylinhibisjon av hedgehog-reaksjonsveien lindrer symptomene på psoriasis (Tas et al., 2004 *Dermatology* 209: 126-131, publisert US patentsøknad 20040072913). Psoriasis er en meget vanlig kronisk hudsykdom som typisk er karakterisert ved hudlesjoner vanligvis inneholdende erytematøse papler og plakk med sølvaktige skjell, til tross for at det kan være variasjoner både

10 på hud og på andre deler av kroppen. Psoriasis blir for tiden antatt å være en autoimmun sykdom, men dets etiologi er fortsatt dårlig kjent. I én studie førte topisk applikasjon av syklopropamin til psoriasislesjoner til fullstendig eller delvis regresjon av lesjonen ved reduksjon i inflammatoriske celler (Tas et al., supra).

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan bli anvendt for å

15 behandle eller forebygge psoriasis når administrert som et enkelt middel eller når administrert i kombinasjon med én eller flere andre anti-psoriasismidler inkludert, men ikke begrenset til, kortikosteroider, tar, kalsipotrien, tazaroten, kalsineurininhibitorer, ultrafiolett stråling, metotreksat, retinoider, syklosporin, immunomodulatoriske medikamenter, etanercept, alefacept, efalizumab og

20 infliksimab.

Mange tumorer og proliferative tilstander er blitt vist å avhenge av hedgehog-reaksjonsveiene. Vekst av slike celler og overlevelse kan bli oppnådd ved behandling med forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse. F.eks. har småmolekylinhibisjon av hedgehogs-reaksjonsveien blitt vist å hemme veksten av

25 basalcellekarsinom (Williams et al., 2003 *PNAS* 100:4616-21), medulloblastom (Berman et al., 2002 *Science* 297: 1559-61), pankreascancer (Berman et al., 2003, *Nature* 425: 846-51), gastrointestinalcancerformer (Berman et al., 2003 *Nature* 425: 846-51, publisert PCT søknad WO 05/013800), spiserørscancer (Berman et al., 2003 *Nature* 425: 846-51), luncancer (Watkins et al., 2003, *Nature* 422: 313-7), og prostatacancer (Karhadkar et al., 2004. *Nature* 431: 707-12).

30

I tillegg har det vært vist at mange cancertyper har ukontrollert aktivering av hedgehog-reaksjonsveien, f.eks. brystcancer (Kubo et al., 2004. *Cancer Research*

64: 6071-4), heptacellulær cancer (Patil et al., 2005. 96th Annual AACR conference, abstract # 2942 Sicklick et al., 2005. ASCO annual meeting, abstract # 9610), hematologiske maligne tilstander (Watkins og Matsui, upubliserte resultater), basalcarsinom (Bale & Yu, 2001. Human Molec. Genet. 10:757-762 Xie et al., 1998 Nature 391: 90-92), medullablastom (Pietsch et al., 1997. Cancer Res. 57: 2085-88), og magecancer (Ma et al., 2005 Carcinogenesis 19. mai 2005 (Epub)).

Cancerformer eller neoplastiske sykdommer og beslektede forstyrrelser kan bli behandlet ved administrering av forbindelsene og sammensetningene ifølge foreliggende oppfinnelse, inkludert, men ikke begrenset til adrenal kortikal cancer, analcancer, aplastisk anemi, gallakanalcancer, blærecancer, bencancer, hjerne/CNS-tumorer, brystcancer, servikal cancer, ikke-Hodgkins lymfom, tarmcancer, rektumcancer, endometrial cancer, esofaguscancer, Ewings Family of Tumor, øyecancer, galleblærecancer, gastrointestinal carsinoid tumorer, gastrointestinal stromatumorer, gestasjonell trofoblastisk sykdom, Hodgkins sykdom, Kaposis sarkom nyrecancer, laryngeal og hypofaryngeal cancer, akutt lymfocytisk leukemi, akutt myeloid leukemi, leukemi hos barn, kronisk lymfocytisk leukemi, kronisk myeloid leukemi, levercancer, lungecancer, lungekarsinoid tumor, ikke-Hodgkins type lymfom, brystcancer hos hannkjønn, malignt mesoteliom, multippe myelom, myelodyplastisk syndrom, nasalhulrom og paranasal cancer, nasofaryngealcancer, neuroblastom, oral hulromcancer, orofaryngeal cancer, osteosarkom, ovariecancer, pankreaskancer, penilcancer, tituitær tumor, prostatacancer, retinoblastom, rbdomyosarkom, spyttkjertelcancer, sarkom, melanomhudcancer, ikke-melanomhudcancer, magecancer, testikkelcancer, tymuscancer, tyroidcancer, uterin sarkom, vaginal cancer, vulvarcancer, Waldenstroms makroglobukinemi og Wilms tumor.

Sammensetningene ifølge foreliggende oppfinnelse kan bli anvendt for behandling av humane cancerformer, f.eks. basal cellekarsinomer og andre tumorer i epitelvev så som huden. I tillegg kan forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse bli anvendt som del av behandling av basalcellekarsinom, pankreascancer, prostatacancer, sarkom, lymfom, leukemi, gastrointestinalcancer, multippe myelom, småcellelungecancer, gliom, brystcancer, hepatocellulær eller medulloblastom ved administrering av en terapeutisk effektiv mengde av minst én

av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse som et enkelt middel eller i kombinasjon med et annet anti-cancermiddel.

Sammensetninger ifølge foreliggende oppfinnelse kan bli anvendt for behandling av neoplastiske eller hyperplastiske transformasjoner så som kan oppstå i sentralnervesystemet. Blant annet kan forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse bli anvendt for å forårsake at slike transformerte celler blir enten post-mitotiske eller apoptotiske. Foreliggende fremgangsmåte kan derfor bli anvendt som del av en behandling for f.eks. malign gliom, meningiom, medulloblastom, nevroektodermale tumorer og ependymomer.

I én utførelsesform kan forbindelsene bli anvendt som del av et behandlingsregime for malign medulloblastom og andre primære CNS-maligne nevroektodermale tumorer.

Det er mulig å behandle cancer, omfattende administrering til et individ som trenger det en terapeutisk effektiv mengde av én eller flere av hvilke som helst av overnevnte forbindelser.

Det er mulig å behandle cancer, omfattende administrering til et individ som trenger det en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse av hvilke som helst én eller flere av overnevnte forbindelser, hvori canceren er beliggende i individets hode, nakke, nasalhulrom, paranasalsinuser, nasofarynks, oral hulrom, orofarynks, larynks, hypofarynks, spyttkjertler, paragangliomer, pankreas, mage, hud, spiserør, lever og galletrø, ben, tarm, tynntarm, rektum, ovarier, prostata, lunge, bryst, lymfatisk system, blod, benmargsentralnervesystem eller hjernen.

Det er mulig å behandle cancer, omfattende en administrering til et individ som trenger det en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse ifølge én eller flere av hvilke som helst av overnevnte forbindelser, hvori canceren er basal cellekarsinom, bukspyttkjertelcancer, prostatacancer, sarkom, lymfom, leukemi, magecancer, spiserørscancer, biliær cancer, tarmcancer, multippel myelom, småcellelungcancer, gliom, brystcancer, hepatocellulær eller medulloblastom.

Forbindelsene kan bli anvendt i kombinasjon med bestrålingsterapi eller et annet anti-cancerkemoterapeutisk middel.

Forbindelsene kan bli administrert lokalt til en tumor eller systemisk til en pasient.

Administreringsmåten av nevnte forbindelse kan være inhalering, oral, intravenøs, sublingual, okkulær, transdermal, rektal, vaginal, topisk, intramuskulær, intra-arteriell, intratekal, subkutan, bukal eller nasal.

Administreringsmåten kan videre være oral, intravenøs eller topisk.

5 Det er mulig å antagonisere en hedgehog-reaksjonsvei i en celle, omfattende kontakting av en celle som uttrykker smoothened med en effektiv mengde av hvilke som helst én eller flere av overnevnte forbindelser.

Foreliggende oppfinnelse vedrører videre anvendelse av en eller flere av
10 forbindelsene ifølge et hvilket som helst av kravene 1-19 for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning for behandling av cancer.

Foreliggende oppfinnelse vedrører videre anvendelse ifølge krav 21, idet
canceren er beliggende i hode, nakke, nasalhulrommet, paranasal sinus,
nasofarynks, oralhulrom, orofarynks, larynks, hypofarynks, spyttkjertler,
15 paragangliomer, pankreas, mage, hud, spiserør, lever og galletrø, ben, tarm,
tykktarm, rektum, ovarier, prostata, lunge, bryst, lymfesystem, blod, benmarg,
sentralnervesystem eller hjerne.

Foreliggende oppfinnelse vedrører videre anvendelse ifølge krav 21, idet
canceren er basalcellekarsinom, pankreatisk cancer, sarkom, lymfom, leukemi,
20 akutt lymfocytisk leukemi, kronisk lymfocytisk leukemi, kronisk myeloid leukemi,
gastrointestinal stromatumor, gastrisk cancer, esofagial cancer, biliærcancer,
tarmcancer, multippel myelom, nyrecancer, lungecancer, melanom,
neuroektodermale tumorer, non-Hodkin's type lymfom, osteosarkom,
ovariecancer, testikkelcancer, småcelle lungecancer, gliom, brystcancer,
25 hepatocellulær cancer eller meduloblastom.

Foreliggende oppfinnelse vedrører videre anvendelse ifølge krav 21, idet
forbindelsen blir anvendt i kombinasjon med bestrålingsterapi eller annen anti-
cancer kjemoterapeutisk middel.

Foreliggende oppfinnelse vedrører videre anvendelse ifølge krav 21, idet
30 forbindelsen administreres lokalt til en tumor eller systemisk.

Foreliggende oppfinnelse vedrører videre anvendelse ifølge krav 21, idet
administreringsmåten til nevnte forbindelse er inhalering, oral, intravenøs,

sublingual, okkulær, transdermal, rektal, vaginal, topisk, intramuskulær, intraarteriell, intratekal, subkutan, bukkal eller nasal.

Foreliggende oppfinnelse vedrører videre anvendelse ifølge krav 21, idet administreringsmåten er oral, intravenøs eller topisk.

5 Foreliggende oppfinnelse vedrører videre anvendelse av en hvilken som helst av nevnte forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1-19 for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning for behandling av psoriasis i et individ.

10 Foreliggende oppfinnelse vedrører videre anvendelse ifølge krav 28, idet administreringsmåten til nevnte forbindelse er topisk.

Behandling av cancer i kombinasjon med kjemoterapi eller radioterapi

I visse utførelsesformer blir én eller flere forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse anvendt for å behandle eller forebygge cancer eller neoplastisk sykdom i kombinasjon med én eller flere anti-cancer, kjemoterapeutiske midler inkludert, men ikke begrenset til, gemcitabin, metotreksat, taksol, merkaptopurin, tioguanin, hydroksyurea, cytarabin, syklofosfamid, ifosfamid, nitrosoureaer, cisplatin, karboplatin, mitomycin, dakarbazin, prokarbizin, etoposider, prednisolon, deksametason, cytarabin, kampateciner, bleomycin, doksorubicin, idarubicin, daunorubicin, daktinomycin, plikamycin, mitoksantron, asparaginase, vinblastin, vinkristin, vinorelbin, paklitaksel og docetaksel. I en foretrukket utførelsesform blir én eller flere av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse anvendt for å behandle eller forebygge cancer eller neoplastisk sykdom i kombinasjon med én eller flere kjemoterapeutiske eller andre anti-cancermidler inkludert, men ikke begrenset til bestråling (f.eks. γ -bestråling), nitrogensenneper (f.eks. syklofosfamid, ifosfamid, trofosfamid, klorambucil, estramustin og mefalan), nitrosoureaer (f.eks. karmustin (BCNU) og lomustin (CCNU)), alkylsulfonater (f.eks. busulfan og treosulfan), triazener (f.eks. dakarbazin og temozolomid), platina inneholdende forbindelser (f.eks. cisplatin, karboplatin og oksaliplatin), vinkaalkaloider (f.eks. vinkristin, vinblastin, vindesin og vinorelbin), taksoider (f.eks. paklitaksel og docetaksol), epipodofylliner (f.eks. etoposid, teniposid, toptekan, 9-aminokamptotecin, kamptoirinotekan, krisnatol, mytomycin C, og

mytomycin C), anti-metabolitter, DHFR-inhibitorer (f.eks. metotreksat og trimetreksat), IMP dehydrogenaseinhibitorer (f.eks. mykofenolsyre, tiazofurin, ribavirin og EICAR), ribonukleotidreduktaseinhibitorer (f.eks. hydroksyurea og deferoksamin), uracilanaloger (f.eks. fluoruracil, floksuridin, doksifluridin, ratitreksed og kapecitabin), cytosinanaloger (f.eks. cytarabin (ara C), cytosinarabnosid og fludarabin), purinanaloger (f.eks. merkaptopurin og tioguanin), anti-østrogener (f.eks. tamoksifen, raloksifen og megestrol), LHRH-agonister (f.eks. goskrklin og leuprolidacetat), anti-androgener (f.eks. flutamid og bicalutamid), vitamin D3-analoger (f.eks. EB 1089, CB 1093 og KH 1060), fotodynamiske terapier (f.eks. vertoporfirin (BPD-MA), ftalocyanin, fotosensitizer Pc4 og demetoksyhypokrellin A (2BA-2-DMHA)), cytokiner (f.eks. interferon α , interferon γ og tumornekrosefaktor), isoprenylasjonsinhibitorer (f.eks. lovastatin), dopaminerge nevrotoxiske (f.eks. 1-metyl-4-fenylpyridiniumion), cellesyklusinhibitorer (f.eks. staurosporin), aktinomykiner (f.eks. aktinomycin D og daktinomycin), bleomyciner (f.eks. bleomycin A2, bleomycin B2 og peplomycin), antrasykliner (f.eks. daunorubicin, doksorubicin (adriamucin), idarubicin, epirubicin, pirarubicin, zorubicin, og mitoksantron), MDR-inhibitorer (f.eks. verapamil), Ca^{2+} ATPase-inhibitorer (f.eks. taspigargin, antistoffer (f.eks. avastatin, erbituks, rituksan og bexxar), kortikosteroider (f.eks. prednison, predison, etc.), imatinib, talidomid, lenalidomid, bortezomib, gemcitabin, erlotinib, gefitinib, sorafenib og sunitinib.

Det kjemoterapeutiske midlet og/eller bestrålingsterapien kan bli administrert ifølge terapeutiske protokoller som er velkjente innenfor fagområdet. Det vil være innlysende for fagfolk innenfor dette området at administrering av det kjemoterapeutiske midlet og/eller bestrålingsterapi kan bli variert avhengig av sykdommen som blir behandlet og de kjente effektene til det kjemoterapeutiske midlet og/eller bestrålingsterapien på sykdommen. Også, i henhold til det som er kjent for fagfolk innenfor dette området kan de terapeutiske protokollene (f.eks. doseringsmengder og administreringstider) bli variert i lys av de observerte effektene av de administrerte terapeutiske midlene (dvs. antineoplastisk middel eller bestråling) på pasienten, og i lys av de observerte responsene av sykdommen med de administrerte terapeutiske midlene, og observerte negative effekter.

Generelt behøver ikke forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse og det kjemoterapeutiske midlet å bli administrert i samme farmasøytiske sammensetning og kan, på grunn av forskjellige fysiske og kjemiske karaktertrekk, bli administrert ved hjelp av forskjellige veier. F.eks. kan forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse bli administrert intravenøst for å danne og opprettholde gode blodnivåer, mens det kjemoterapeutiske midlet kan bli administrert oralt. Bestemmelse av administreringsmåte og råd for administrering, hvor mulig, i samme farmasøytiske sammensetning, er velkjent for medisiner innenfor dette området. Den innledende administreringen kan bli utført ifølge etablerte protokoller kjent innenfor fagområdet og deretter, basert på de observerte effektene kan dosering, administreringsmåte og administreringstider blir modifisert av medisineren innenfor dette fagområdet.

Det bestemte valget av kjemoterapeutisk middel og bestråling vil avhenge av diagnosen som legene bestemmer og deres vurdering av tilstanden til pasienten og hensiktsmessig behandlingsprotokoll.

En forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse, og kjemoterapeutisk middel og/eller bestråling kan bli administrert samtidig (f.eks. simultant, vesentlig samtidig eller innenfor samme behandlingsprotokoll) eller sekvensielt, avhengig av naturen til den proliferative sykdommen, tilstanden til pasienten og valg av det kjemoterapeutiske middel og/eller bestrålingen som skal bli administrert i sammenheng (dvs. innenfor en enkelt behandlingsprotokoll) med en forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse.

Dersom en forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse og det kjemoterapeutiske midlet og/eller reaksjonen ikke blir administrert samtidig eller vesentlig samtidig, da kan den optimale administreringsrekkefølgen av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse og det kjemoterapeutiske midlet og/eller bestrålingen, være forskjellig for forskjellige tumorer. I visse situasjoner kan derfor forbindelsen ifølge foreliggende oppfinnelse bli administrert først etterfulgt av administrering av det kjemoterapeutiske midlet og/eller bestråling; og i andre situasjoner kan det kjemoterapeutiske midlet og/eller bestrålingen bli administrert først etterfulgt av administrering av en forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse. Denne alternerende administreringen kan bli gjentatt i løpet av en enkelt behandlingsprotokoll. Bestemmelse av administreringsrekkefølge og antall

repetisjoner av administreringen av hvert terapeutisk middel i løpet av én behandlingskontroll hører inn under det som er kjent for den lærde legen etter vurdering av sykdommen som blir behandlet og tilstanden til pasienten. F.eks. kan det kjemoterapeutiske midlet og/eller bestrålingen bli administrert først, spesielt

5 hvis det er et cytotoxisk middel, og deretter kan behandlingen fortsette med administrering av en forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse etterfulgt, hvor dette blir bestemt fordelaktig, av administrering av det kjemoterapeutiske midlet og/eller bestråling osv., helt til behandlingsprotokollen er fullført.

Følgelig, i henhold til erfaring og kunnskap kan praktiserende lege

10 modifisere hver protokoll for administrering av en komponent (terapeutisk middel, dvs. forbindelsen ifølge foreliggende oppfinnelse, kjemoterapeutisk middel eller bestråling) av behandlingen ifølge behovet til den individuelle pasienten når behandlingen forløper.

15 **Farmasøytiske sammensetninger**

I en annen utførelsesform tilveiebringer foreliggende oppfinnelse farmasøytisk sammensetning, idet den omfatter en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1-19, og en farmasøytisk akseptabel eksipient.

Farmasøytiske sammensetninger ifølge foreliggende oppfinnelse kan bli

20 spesielt formulert for administrering i fast eller flytende form, inkludert de tilpasset for følgende: (1) oral administrering, f.eks., dreneringer (vandige eller ikke-vandige løsninger eller suspensjoner), tabletter, f.eks. de målsøkt for bukkal, sublingual og systemisk absorpsjon, boluser, pulvere, granuler og pastaer for applikasjon på tungen; (2) parenteral administrering, f.eks., ved subkutan, intramuskulær,

25 intravenøs eller epidural injeksjon som f.eks. en steril løsning eller suspensjon, eller formulering med vedvarende frigjøring; (3) topisk applikasjon, f.eks., som en krem, salve eller et plaster med kontrollert frigjøring og spray påført på huden; (4) intravaginalt eller intrarektalt, f.eks., som en pessar, en krem eller et skum; (5) sublingualt; (6) okkulært; (7) transdermalt; (8) via lungen eller (9) nasalt. Som

30 angitt ovenfor kan visse utførelsesformer ifølge foreliggende forbindelser inneholde en basisk funksjonell gruppe, så som amino eller alkylamino, og som derfor har evne til å danne farmasøytisk akseptable salter med farmasøytisk akseptable syrer. Betegnelsen "farmasøytisk akseptable salter" refererer i dette

henseendet til relativt ikke-toksiske, uorganiske og organiske syreaddisjonssalter av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse. Disse saltene kan bli dannet in situ i administreringsbæreren eller passering for fremstillingsprosessen, eller ved separat omsetning av en rensset forbindelse ifølge oppfinnelsen i dets frie

5 baseform med en egnet organisk eller uorganisk syre, og isolering av saltet som dermed blir dannet i løpet av påfølgende rensing. Representative salter inkluderer hydrobromid, hydroklorid, sulfat, bisulfat, fosfat, nitrat, acetat, valerat, oleat, palmitat, stearat, laurat, benzoat, laktat, fosfat, tosylat, sitrat, maleat, fumarat, suksinat, tartrat, naftylat, mesylat, glukohexonat, laktobionat og

10 laurylsulfonatsalter og lignende. (Se f.eks. Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", *J. Pharm. Sci.* 66:1-19).

De farmasøytisk akseptable saltene av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse inkluderer de konvensjonelle ikke-toksiske saltene eller kvaternære ammoniumsaltene av forbindelsene, f.eks., som er ikke-toksiske organiske eller

15 uorganiske syrer. F.eks. kan slike konvensjonelle ikke-toksiske salter inkludere de som er avledet fra uorganiske syrer så som saltsyre, hydrobromsyre, svovelsyre, sulfaminsyre, fosforsyre, salpetersyre og lignende; og salter preparert fra organiske syrer så som eddiksyre, propionsyre, ravsyre, glykolsyre, stearinsyre, melkesyre, malinsyre, vinsyre, sitronsyre, askorbinsyre, palmitinsyre, maleinsyre,

20 hydroksymalinsyre, fenyleddiksyre, glutaminsyre, benzosyre, salisylsyre, sulfanilinsyre, 2-acetoksybenzosyre, fumarsyre, toluensulfonsyre, metansulfonsyre, etandisulfonsyre, oksalsyre, isotionsyre og lignende.

Forbindelsene kan inneholde én eller flere sure funksjonelle grupper og som dermed har evne til å danne farmasøytisk akseptable salter med farmasøytisk

25 akseptable baser. Betegnelsen "farmasøytisk akseptable salter" refererer i disse tilfellene til relativt ikke-toksiske, uorganiske og organiske baseaddisjonssalter av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse. Disse saltene kan likeledes bli fremstilt in situ i administreringsbæreren eller doseringsform

fremstillingsprosessen, eller ved separat omsetning av den rensede forbindelsen i

30 dets frie syreform med en egnet base, så som hydroksid, karbonat eller bikarbonat av et farmasøytisk akseptabelt metallkation, med ammoniakk, eller med et farmasøytisk akseptabelt organisk primært, sekundært eller tertiært amin. Representative alkali- eller jordalkaliske salter inkluderer litium, natrium, kalium,

kalsium, magnesium og aluminiumsalter og lignende. Representative organiske aminer nyttig for dannelsen av baseaddisjonssalter inkluderer etylamin, dietylamin, etylendiamin, etanolamin, dietanolamin, piperazin og lignende. (Se f.eks. Berge et al., supra).

5 Fuktemidler, emulgeringsmidler og smøremidler, så som natriumlaurylsulfat og magnesiumstearat, samt fargemidler, frigjøringsmidler, beleggsmidler, søtningsmidler, smaksmidler og parfymeringsmidler, konserveringsmidler og antioksidanter kan også være tilstede i sammensetningene.

Eksempler på farmasøytisk akseptable antioksidanter inkluderer: (1)
10 vannoppløselige antioksidanter, så som askorbinsyre, cysteinhydroklorid, natriumbisulfat, natriummetabisulfitt, natriumsulfitt og lignende; (2) oljeoppløselige antioksidanter, så som askorbylpalmitat, butylert hydroksyanisol (BHA), butylert hydroksytoluen (BHT), lecitin, propylgallat, alfa-tokoferol, og lignende; og (3)
15 metallgeleringsmidler, så som sitronsyre, etylendiamintetraeddiksyre (EDTA), sorbitol, vinsyre, fosforsyre og lignende.

Metoder for fremstilling for disse formuleringene eller sammensetningene inkluderer trinnet av å bringe i assosiasjon en forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse med en bærer og, eventuelt, én eller flere hjelpeingredienser. Generelt blir formuleringene fremstilt ved jevn og intim assosiasjon av en forbindelse ifølge
20 foreliggende oppfinnelse med flytende bærere, eller finfordelte faste bærere, eller begge, og deretter, om nødvendig, forming av produktet.

De farmasøytiske sammensetningene ifølge foreliggende oppfinnelse egnede for parenteral administrering omfatter én eller flere forbindelser ifølge oppfinnelsen i kombinasjon med én eller flere farmasøytiske akseptable sterile
25 isotone vandige eller ikke-vandige løsninger, dispersjoner, suspensjoner eller emulsjoner, eller sterile pulvere som kan bli gjenopprettet i sterile injiserbare løsninger eller dispersjoner like før bruk, som kan inneholde sukre, alkoholer, antioksidanter, buffere, bakteriostater, løste stoffer som gjør formuleringen isotonisk med blodet til antatt mottaker eller suspenderingsmidler eller
30 fortykningsmidler.

Eksempler på egnede vandige og ikke-vandige bærere som kan bli anvendt i de farmasøytiske sammensetningene ifølge oppfinnelsen inkluderer vann, etanol, polyoler (så som glyserol, propylenglykol, polyetylenglykol og lignende), og

egnede blandinger derav, vegetabiliske oljer, så som olivenolje og injiserbare organiske estere, så som metyloleat. Riktig fluidisitet kan bli opprettholdt, f.eks., ved anvendelse av beleggsmidler, så som lecitin, ved opprettholdelse av nødvendig partikkelstørrelse når det gjelder dispersjoner og ved anvendelse av overflateaktive midler.

Disse sammensetningene kan også inneholde adjuvans så som preserveringsmidler, fuktmidler, emulgeringsmidler og dispergeringsmidler. Forebygging av virkningen av mikroorganismer på forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan bli forsikret ved innlemming av forskjellige antibakterielle og anti-soppmidler, f.eks., paraben, klorbutanol, fenolsorbinsyre og lignende. Det kan også være ønskelig å inkludere isotoniske midler, så som sukre, natriumklorid og lignende i sammensetningene. I tillegg kan forlenget absorpsjon av injiserbar farmasøytisk form blir oppnådd ved innlemming av midler som forsinker absorpsjonen så som aluminiummonostearat og gelatin.

I noen tilfeller, for å forlenge effekten av et medikament, er det ønskelig å redusere absorpsjonen av medikamentet fra subkutan eller intramuskulær injeksjon. Dette kan bli oppnådd ved anvendelse av en flytende suspensjon av krystallinsk eller amorft materiale som har dårlig oppløselighet i vann. Absorpsjonsraten til medikamentet avhenger da av dets oppløsningsrate som igjen kan avhenge av krystalliseringsstørrelse og krystallinsk form. Alternativt blir forsinket absorpsjon av en delvis administrert medikamentform oppnådd ved oppløsning eller suspendering av medikamentet i en oljebærer.

Injiserbare depotformer blir dannet ved å danne mikroinnkapslingsmatriser av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse i biodegraderbare polymerer så som polylaktidpolyglykolid. Avhengig av forholdet mellom medikamentet og polymeren, og naturen av den bestemte polymeren som blir anvendt kan rate av medikamentfrigjøring bli kontrollert. Eksempler på andre biodegraderbare polymerer inkluderer polyortoestere og polyanhydrider. Depotinjiserbare formuleringer blir også dannet ved inneslutning av medikamentet i liposomer eller mikroemulsjoner som er compatible med kroppsvevet.

De farmasøytiske sammensetningene ifølge oppfinnelsen egnede for oral administrering kan være i form av kapsler, pastiller, tabletter, sugetabletter (ved anvendelse av et svakstilsatt grunnlag, uvanlig sukrose og akasi eller tragakant),

pulver, granuler eller som en løsning eller en suspensjon i et vandig eller ikke-vandig liquid, eller som en olje-i-vann eller vann-i-olje flytende emulsjon, eller som en eliksir eller sirup, eller som pastiller (ved anvendelse av en inert base, så som gelatin og glyserin, eller sukrose og akasi) og/eller som munnvask og lignende, hver inneholdende en forutbestemt mengde av en forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse som et aktivt ingrediens. En forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse kan også bli administrert som en bolus, smakstilsatt blanding eller pasta.

Når forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse blir administrert som farmasøytiske preparater, til mennesker og dyr, kan de bli gitt per se eller som en farmasøytisk sammensetning inneholdende f.eks. 0,1-99 % (mer foretrukket, 10-30 %) av det aktive ingredienset i kombinasjon med en farmasøytisk akseptabel bærer.

Disse forbindelsene kan bli administrert til mennesker og andre dyr for terapi ved en hvilken som helst administreringsvei, inkludert oralt, nasalt eller ved f.eks. en spray rektalt, intravaginalt, parenteralt, intersistenalt og topisk, som i pulvere, salver eller drops, inkludert bukkalt og sublingualt.

Uansett administreringsvei som blir valgt blir forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse, som kan bli anvendt i en egnet hydrert form, og/eller farmasøytiske sammensetninger ifølge foreliggende oppfinnelse, formulert i farmasøytisk akseptable doseringsformer ved konvensjonelle metoder kjent for fagfolk innenfor dette området.

Aktuelle doseringsnivåer av det aktive ingredienset i de farmasøytiske sammensetningene ifølge foreliggende oppfinnelse kan bli variert for å oppnå en mengde av det aktive ingredienset som er effektivt for å oppnå den ønskede terapeutiske responsen for en bestemt pasient, sammensetning og administreringsmåte, uten å være toksisk for pasienten.

Det valgte doseringsnivå vil avhenge av forskjellige faktorer som inkluderer aktiviteten til den bestemte forbindelsen ifølge foreliggende oppfinnelse som blir anvendt, eller esteren, saltet eller amidet derav, administreringsvei, administreringstid, utskillelsesrate eller metabolisme av den bestemte forbindelsen som blir anvendt, rate og grad av absorpsjon, varighet av behandlingen, andre medikamenter, forbindelser og/eller materialer anvendt i kombinasjon med den

spesielt anvendte forbindelsen, alder, kjønn, vekt, tilstand, generell helse og tidligere medisinske bakgrunn til pasienten som blir behandlet, og lignende faktorer som er velkjente innenfor det medisinske området.

5 En lege eller veterinær som er en fagmann på området kan lett bestemme og foreskrive den effektive mengden av den farmasøytiske sammensetningen som er nødvendig. F.eks. kan legen eller veterinæren begynne med doseforbindelsene ifølge oppfinnelsen anvendt i den farmasøytiske sammensetning i nivåer som er lavere enn det som er nødvendig for å oppnå den ønskede terapeutiske effekten og gradvis øke doseringen helt til den ønskede effekten blir oppnådd.

10 Generelt vil en egnet daglig dose av en forbindelse ifølge oppfinnelsen være den mengden av forbindelsen som er den laveste dosen effektiv for å produsere en terapeutisk effekt. En slik effektiv dose vil generelt avhenge av faktorene beskrevet ovenfor. Generelt vil oral, intravenøs, intraserebroventrikulær og subkutan dose av forbindelsen ifølge foreliggende oppfinnelse for en pasient, 15 når anvendt for indikerte smertestillende effekt, variere fra omtrent 0,0001 til omtrent 10 mg/kg kroppsvekt pr. dag.

Om ønskelig kan den effektive daglige dosen av den aktive forbindelsen bli administrert som 2, 3, 4, 5, 6 eller flere subdoser administrert separat ved hensiktsmessige intervaller i løpet av dagen, eventuelt, i enhetsdoseringsformer. 20 Foretrukket dosering er én administrering pr. dag.

Idet det er mulig for en forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse å bli administrert alene så er det foretrukket å administrere forbindelsen som en farmasøytisk formulering (sammensetning).

Individet som mottar denne behandlingen er et hvilket som helst dyr som 25 trenger det, inkludert primater, spesielt mennesker, og andre pattedyr så som hester, kveg, svin og sau; og middels og husdyr generelt.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan bli administrert som de er eller blandet sammen med farmasøytisk akseptable bærere og kan også bli administrert sammen med antimikrobielle midler så som penicilliner, 30 cefalosporiner, aminoglykosider og glykopeptider. Samordnet terapi inkluderer følgelig sekvensiell, simultan og separat administrering av den aktive forbindelsen på en måte slik at de terapeutiske effektene av den først administrerte ikke er fullstendig borte når den andre blir administrert.

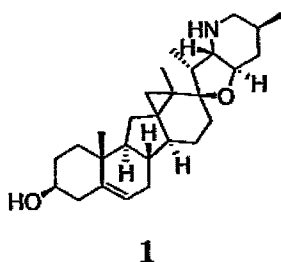
Eksempelifikasjon

Oppfinnelsen som nå blir generelt beskrevet vil bli lettere forstått med referanse til følgende eksempler og utførelsesformer beskrevet heri.

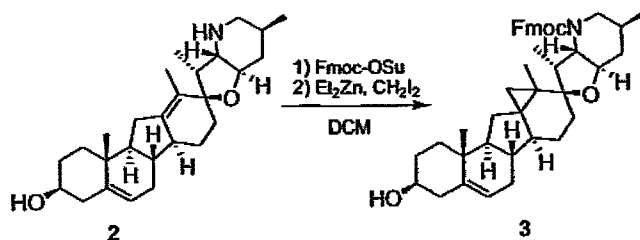
5

Eksempel 1

Fremstilling av et derivat av syklopamin



Del A



10

Til en løsning av syklopamin **2** (250 mg, 0,6 mmol, 1 ekv.) i DCM (10 ml) ved rt ble det tilsatt Fmoc-OSu (205 mg, 0,6 mmol, 1 ekv.) og den resulterende blandingen ble omrørt ved rt over natt. Den resulterende løsningen av rå Fmoc-syklopamin ble deretter avkjølt til 0°C og ble behandlet med 15 % dietylsink i toluen (0,5 ml, 0,6 mmol, 1 ekv.) og omrørt i 30 min. (flaske A).

15

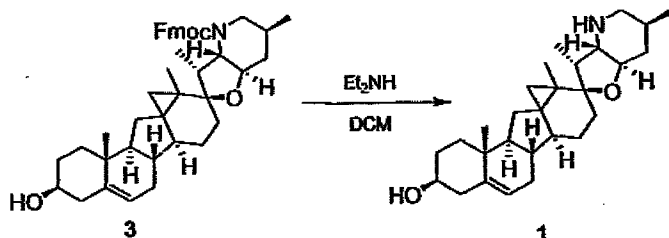
Dijodmetan (0,4 ml, 6 mmol, 10 ekv.) i DCM (20 ml) ved 0°C ble behandlet med 15 % dietylsink i toluen (3 ml, 3 mmol, 5 ekv.) og resulterende løsning ble omrørt i 5 min. (flaske B).

20

Innholdet av flaske B ble overført til flaske A via kanyle og den resulterende suspensjonen ble omrørt i 5 t ved rt. Reaksjonen ble quenched med HCl (1 M), omrørt i 10 min. (inntil alt det hvite faste stoffet på ny var oppløst) og ekstrahert med DCM (5x). De organiske ekstraktene ble deretter tørket (MgSO₄), filtrert over celitt og konsentrert i vakuum. Resten ble rensert ved flashkromatografi (1:1 Hex/AcOEt). Mål 11,12-monosyklopropan ble oppnådd som en 9:1 blanding av

diastereomerer, sammen med 20 % diastereomere bis-sykloproponerte produkter (80 % total gjenvinning). Denne blandingen ble separert ved anvendelse av preparativ SFC-kromatografi.

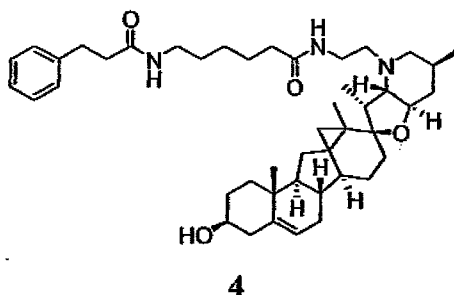
5 Del B



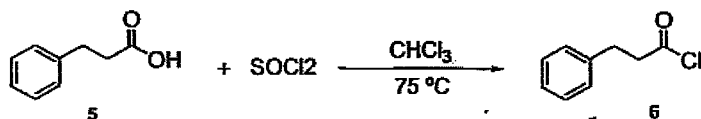
Fmoc-monosyklopropylsyklopamin **3** (100 mg, 0,15 mmol, 1 ekv.) i DCM (2 ml) ved rt ble behandlet med dietylamin (0,5 ml, 4,8 mmol, 32 ekv.) over natt, den resulterende løsningen ble konsentrert i vakuum og resten absorbert på silikagel og renset ved flashkromatografi (2:1 → 1:1 Hex/AcOEt, og deretter 95:5 → 90:10 → 20:80 DCM/MeOH). Det ønskede produktet ble oppnådd som et hvitt faststoff (95 % utbytte). MS (ESI(+)) m/e 426,31 (M+H)⁺.

Eksempel 2

15 Fremstilling av et derivat av syklopamin:



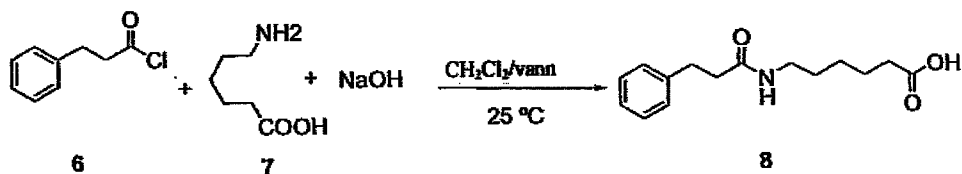
Del A



Til en løsning av hydrokaneltsyre **5** (3,01 g, 20 mmol, 1 ekv.) i vannfri kloroform (30 ml) ved 75°C ble det tilsatt dråpevis tionylklorid (1,75 ml, 24,1 mmol, 1,2 ekv.) over en periode på 3 min. Blandingen ble tilbakestrømmet i 3,5 t.

Oppløsningsmidlet ble destillert ut for å gi rå syreklorid som et lysegult viskøst liquid. Det rå ble anvendt uten ytterligere rensing.

Del B

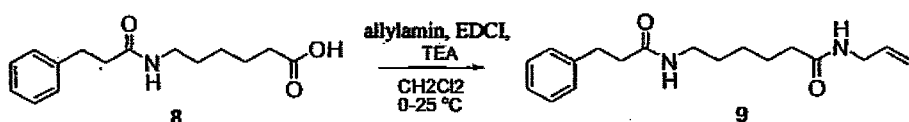


5

Til en bifasisk blanding av **7** (3,16 g, 24,1 mmol, 1,2 ekv.) i DCM (30 ml) og en vandig løsning av NaOH (2,0 M, 30 ml, 3 ekv.) ved 25°C ble det tilsatt en løsning av syreklorid **6** (3,38 g, 20 mmol, 1 ekv.) i DCM (10 ml) og den resulterende blandingen ble omrørt ved 25°C i 3 t. Blandingen ble deretter nøytralisert med vandig HCl (2 M, 30 ml). Det organiske laget ble deretter separert og det vandige laget ble ekstrahert med DCM (3 x 50 ml). De kombinerte organiske lagene ble vasket med HCl (2,0 M, 25 ml), vann (3 x 50 ml), mettet saltvann (50 ml), tørket over magnesiumsulfat og løsningsmidlet ble avdampet under redusert trykk. Det rå ble kromatografert på silikagel ved anvendelse av 5 % MeOH:DCM som elueringsmiddel og kolonnen ble deretter eluert med 10 % MeOH:DCM for å gi 1,141 g av forbindelse **8**.

15

Del C

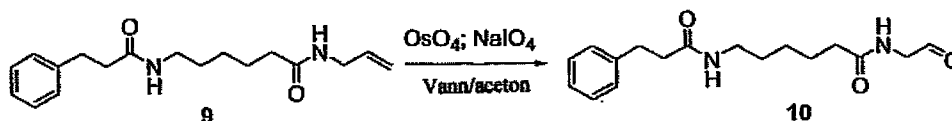


20

Til en blanding av syren **8** (264 mg, 1 mmol, 1 ekv.), EDCI (231 mg, 1,2 mmol, 1,2 ekv.) og trietylamin (168 μl , 1,2 mmol, 1,2 ekv.) i DCM (2 ml) ved 0°C ble det tilsatt allylamin (90,3 μl , 1,2 mmol, 1,2 ekv.), og den resulterende blandingen ble omrørt ved 0°C i 1 t og latt bli oppvarmet til 25°C over en periode på 2 t. Reaksjonsblandingene ble deretter tilsatt til vann (50 ml, ekstrahert med DCM (4 x 25 ml), de kombinerte organiske lagene ble vasket med 1 M HCl (2 x 25 ml), vann (3 x 25 ml), mettet saltvann (25 ml), tørket over magnesiumsulfat og løsningsmidlet ble avdampet under redusert trykk for å gi 287,5 mg av ønsket produkt. Dette materialet ble anvendt uten ytterligere rensing.

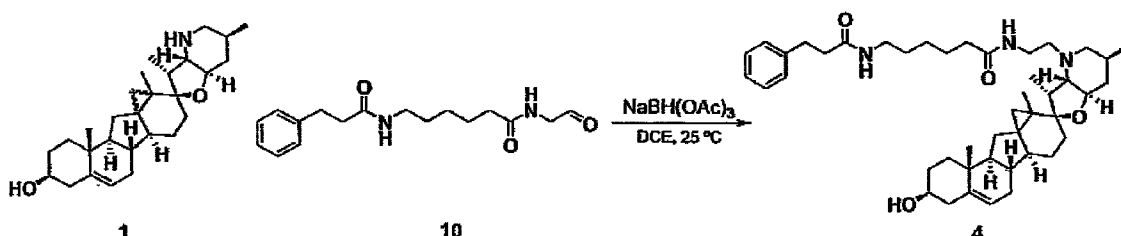
25

Del D



Til en løsning av allylamid **9** (70 mg, 0,23 mmol, 1 ekv.) i aceton (1 ml) og vann (0,3 ml) ble det tilsatt en løsning av osmiumtetroksid (0,35 ml, 0,035 mmol, 0,15 ekv., 2,5 vekt/vekt i *t*-butanol). Reaksjonsblandingen ble øyeblikkelig avkjølt på is rett etter tilsetning av OsO₄-løsningen og den resulterende mørkebrune løsningen ble omrørt ved 0°C i 15 min. Natriumperiodat (110 mg, 0,51 mmol, 2,2 ekv.) ble tilsatt i 5 porsjoner til ovennevnte blanding og omrøringen ble fortsatt i 1 t ved 0°C og latt bli varmet til 25°C over en periode på 2 t. Reaksjonsblandingen ble deretter fortynnet med DCM (3 ml), filtrert gjennom en kort plugg av magnesiumsulfat og filterkaken ble vasket med DCM (4 x 3 ml). Filterkaken ble konsentrert og resten (67,9 mg) ble filtrert gjennom en kort plugg RP silikagel ved anvendelse av 5 % MeOH:DCM for å gi 38,9 mg av ønsket produkt.

Del E

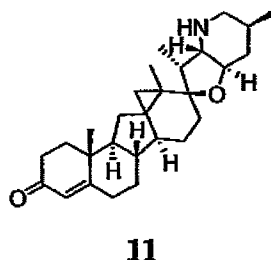


Til en suspensjon av **1** (10 mg, 0,023 mmol, 1 ekv.) i acetonitril (2 ml) ble det tilsatt en løsning av aldehyd **10** (17 mg, 0,056 mmol, 2,4 ekv.) i acetonitril (0,3 ml) etterfulgt av natriumtriacetoksyborhydrid (6,5 mg, 0,031 mmol, 1,3 ekv.) og reaksjonsblandingen ble omrørt ved 25°C i 16 t. Løsningsmidlet ble deretter avdampet under redusert trykk og resten ble kromatografert på silikagel (7 cm x 10 mm) ved anvendelse av 3 % metanol: DCM for å gi 24,6 mg av råmaterialet. Dette materialet ble på ny utsatt for kolonnekromatografi på silikagel ved anvendelse av 2 % MeOH: DCM og isolert 18,2 mg av et urent produkt som ble ytterligere rensert ved preparerings TLC ved anvendelse av 3 % MeOH: DCM som utviklende

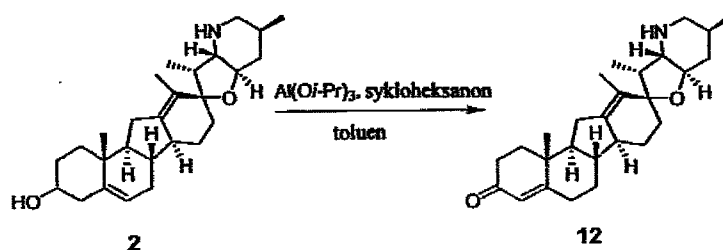
løsningsmiddel (2 kjøringer) for å gi 6,3 mg av ønsket produkt. MS (ESI(+)) m/e 714,4 (M+H)⁺.

Eksempel 3

5 Fremstilling av et derivat av syklopamin:

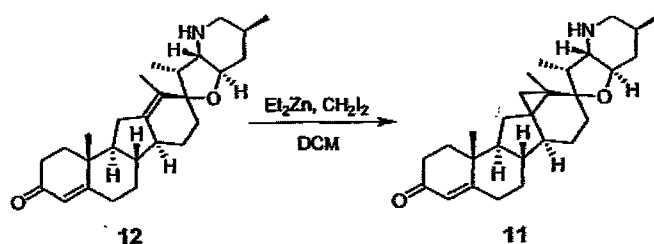


Del A



Syklopamin **2** (20 mg, 0,049 mmol, 1 ekv.) ble suspendert i tørr toluen (0,6 ml) og sykloheksanon (150 μ l, 1,47 mmol, 30 ekv.) fulgt av aluminiumisopropoksid (79 mg, 0,392 mmol, 8 ekv.) ble tilsatt. Den resulterende blandingen ble deretter oppvarmet til tilbakeløp i 2 t, avkjølt til rt, fortynnet med AcOEt og quenched med Rochelles saltløsning. Den bifasiske blandingen ble omrørt over natt, lagene ble separert, det vandige ekstrahert med AcOEt og de kombinerte organiske ekstraktene ble tørket (MgSO₄), filtrert og konsentrert i vakuum. Resten ble deretter rensed ved flashkromatografi (DCM, DCM/MeOH 98:2 og 95:5). Målet ble oppnådd som et hvitt krystallinsk faststoff (70 % utbytte).

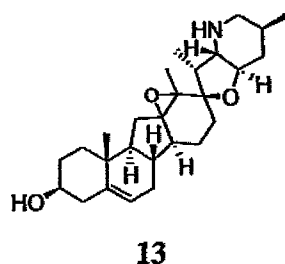
Del B



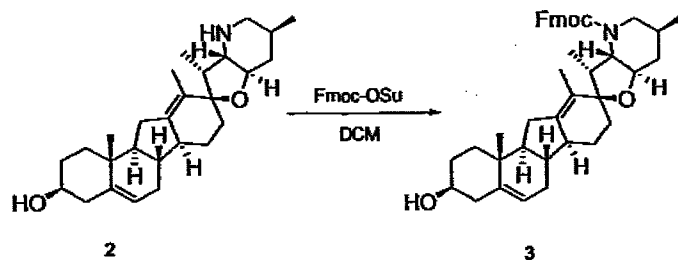
Dijodmetan (40 μ l, 0,5 mmol, 25 ekv.) i DCM (0,52 ml) ved 0°C ble behandlet med 15 % dietylsink i toluen (0,2 ml, 0,2 mmol, 10 ekv.) og den resulterende løsningen ble omrørt i 5 min. Forbindelsen **12** (10 mg, 0,02 mmol, 1 ekv.) i DCM (0,35 ml) ble tilsatt og den resulterende blandingen ble omrørt ved rt (isbad fjernet) i 3 t, quenched med 2 N NaOH og omrørt i 10 min., lagene ble separert og det vandige laget ekstrahert med DCM (2x). De organiske ekstraktene ble tørket (MgSO₄), filtrert og konsentrert i vakuum. Resten ble renset ved flashkromatografi (DCM/MeOH 92:8). Det syklopropanerte materialet ble oppnådd som et hvitt faststoff. MS (ESI(+)) m/e 424,5 (M+H)⁺.

Eksempel 4

Fremstilling av et derivat av syklopamin

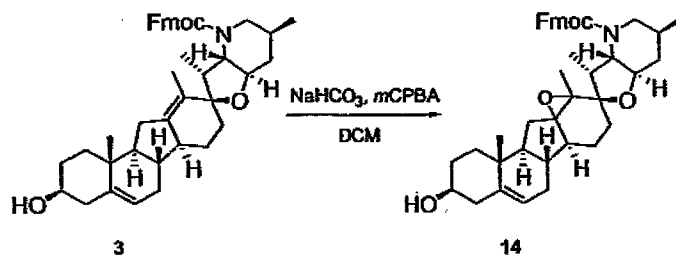


Del A



Til en løsning av syklopamin **2** (250 mg, 0,6 mmol, 2 ekv.) i DCM (10 ml) ved rt ble det tilsatt Fmoc-OSu (205 mg, 0,6 mmol, 1 ekv.), og den resulterende blandingen ble omrørt ved rt over natt og konsentrert i vakuum. Det rå Fmoc-syklopaminet ble oppnådd som et off-white skum.

Del B

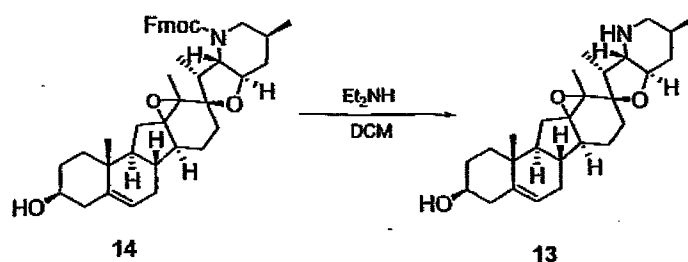


En løsning av rå Fmoc-syklopamin **3** (15 mg, 0,024 mmol, 1 ekv.) i DCM (0,5 ml) ble avkjølt til -78°C og behandlet med natriumhydrogenkarbonat (4 mg, 0,047 mmol, 1,96 ekv.) etterfulgt av *m*CPBA (4 mg, 0,024 mmol, 1 ekv.).

- Reaksjonsblandingen ble deretter omrørt ved -78°C i 1 t, fortynnet med H_2O og ekstrahert med DCM (3 x). De organiske ekstraktene ble vasket med 10 % NaHCO_3 og saltvann, tørket (MgSO_4), filtrert og konsentrert i vakuum. Råmaterialet ble deretter renset ved preparativ TLC (Hex/AcOEt: 1:2) for å gi epoksidet som et hvitt skum (70 % utbytte).

10

Del C

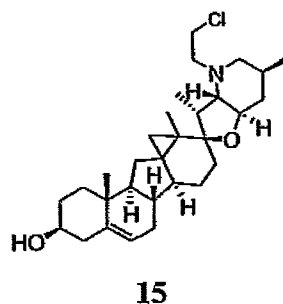


- En løsning av forbindelse **14** (11 mg, 0,017 mmol, 1 ekv.) i DCM (0,5 ml) ble behandlet ved rt med Et_2NH (0,5 ml, 4,8 mmol, 282 ekv.), og den resulterende løsningen ble omrørt ved rt over natt og konsentrert i vakuum. Resten ble renset ved prep TLC (DCM/MeOH 9:1). Forbindelse **13** ble oppnådd som et hvitt faststoff (90 % utbytte). MS (ESI(+)) m/e 428,5 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

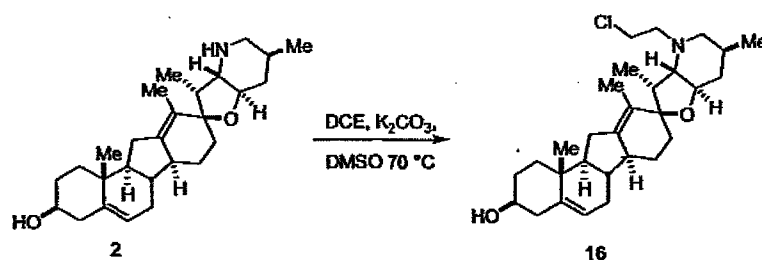
Eksempel 5

20 Fremstilling av et derivat av syklopamin:

53

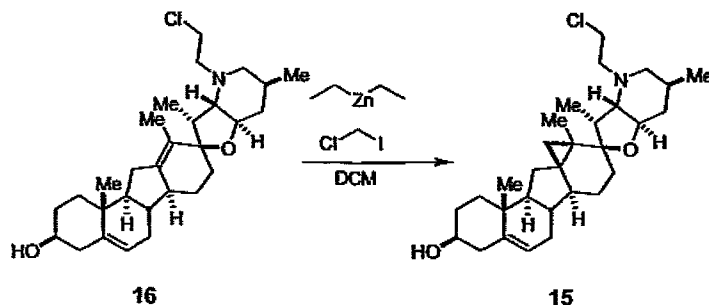


Del A



Forbindelse **2** (1,30 g, 3,2 mmol, 1 ekv.) ble spredt og tilført i
 5 reaksjonsbeholderen. Kaliumkarbonat (0,91 g, 6,6 mmol, 2,1 ekv.) ble spredt ut og
 tilført til reaksjonsbeholderen etterfulgt av dikloretan (6,0 ml, 76 mmol, 23,8 ekv.)
 og vannfri DMSO (5 ml). Reaksjonen ble deretter oppvarmet til 70°C i 36 t under
 en nitrogenatmosfære. Reaksjonen ble avkjølt til rt, fortynnet med DCM (15 ml) og
 vasket to ganger med vann (2 x 15 ml). Det organiske laget ble deretter tørket
 10 over natriumsulfat, filtrert (DCM-skylling etter behov), og konsentrert til tørrhet for å
 gi et svakt gult faststoff. Flashkromatografi (DCM/EtOAc) gir målmaterialet som et
 hvitt krystallinsk faststoff.

Del B



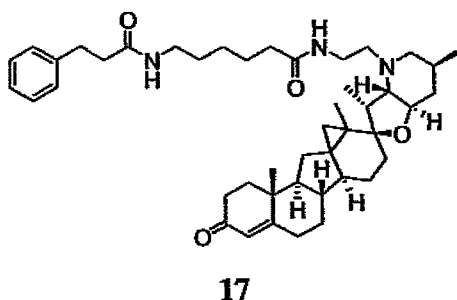
15

Forbindelse **16** (0,111 g, 0,233 mmol, 1 ekv.) ble overført til en
 reaksjonsflaske, plassert under en nitrogenatmosfære og oppløst i vannfri DCM (2
 ml). Klorjodmetan ble tilsatt (0,238 ml, 3,27 mmol, 14 ekv.). Løsningen ble avkjølt

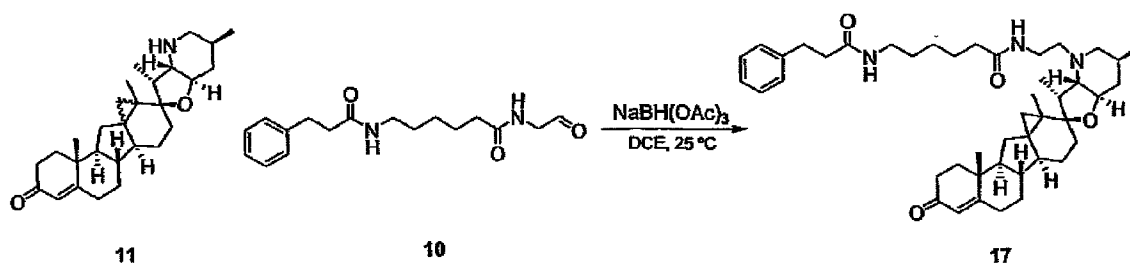
til -15°C. Dietylzink (1M i heptan, 1,63 ml, 1,63 mmol, 6,5 ekvivalenter) ble
 dråpevis tilsatt over 30 min. ved forsiktig å kontrollere eksotermen. Reksjonen ble
 holdt mellom -10°C og -14°C i flere timer, helt til TLC indikerte at
 utgangsmaterialet var blitt konsumert. Reaksjonen ble deretter quenched ved
 5 forsiktig tilsetning av THF (6 ml) og deretter vandig sitratbuffer (pH 4,5, 10 ml).
 Lagene ble latt bli oppvarmet til rt. Mettet natriumsulfat (10 ml). Lagene ble grundig
 blandet, overført til en skylletrakt med overskudd DCM og det organiske laget ble
 samlet. Det organiske laget ble deretter vasket med vandig natriumhydroksid (1N,
 10 ml) og mettet natriumsulfat (10 ml), tørket over natriumsulfat før konsentrering
 10 til tørrhet. Råmaterialet ble renset ved flashkromatografi for å gi det ønskede
 produktet i 55 % utbytte.

Eksempel 6

Fremstilling av et derivat av syklopamin:



15

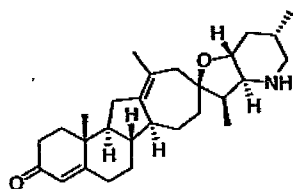


Til en løsning av forbindelse **11** (5 mg, 0,01 mmol, 1 ekv.) og forbindelse **10**
 (10 mg, 0,04 mmol, 3 ekv.) i vannfri DCM (5 ml) ble det tilsatt fast
 20 natriumtriacetoksyborhydrid (8 mg, 0,04 mmol, 3 ekv.) og den resulterende
 suspensjonen ble omrørt ved 25°C i 2 t. Reaksjonsblandingen ble deretter
 quenched med natriumbikarbonat, ekstrahert med DCM (4 x 10 ml), det organiske
 laget ble samlet og vasket med mettet saltvann (1 x 20 ml), tørket over

magnesiumsulfat og konsentrert under redusert trykk. Råmaterialet ble renset ved PTLC (DCM/MeOH 95:5) for å gi 8 mg av ønsket produkt.

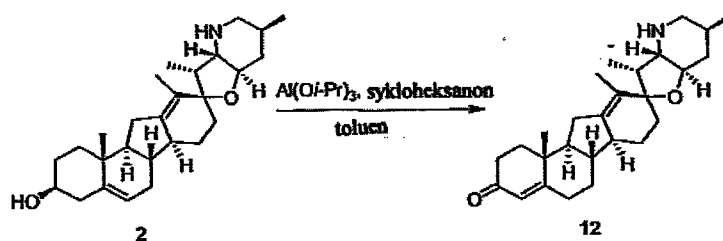
Eksempel 7

5 Fremstilling av et derivat av syklopamin:



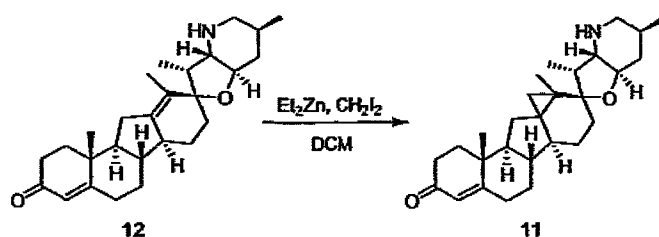
18

Del A



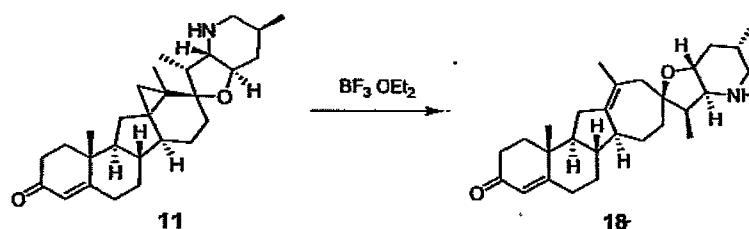
Syklopamin **2** (20 mg, 0,049 mmol) ble suspendert i tørr toluen (0,6 ml) og sykloheksanon (150 μ l, 1,47 mmol, 30 ekv.), etterfulgt av aluminiumisopropoksid (79 mg, 0,392 mmol, 8 ekv.) ble tilsatt. Den resulterende blandingen ble deretter oppvarmet til tilbakeløp i 2 t, avkjølt til rt, fortynnet med etylacetat og quenchet med Rochelles saltløsning. Den bifasiske blandingen ble omrørt over natt, lagene ble separert, det vandige ekstrahert med etylacetat og de kombinerte organiske ekstraktene tørket (over MgSO_4), filtrert og konsentrert i vakuum. Resten ble renset ved flashkromatografi (DCM, DCM/metanol 98:2 og 95:5). Målet **12** ble oppnådd som et hvitt krystallinsk faststoff (70 % utbytte).

Del B



Dijodmetan (40 μ l, 0,5 mmol, 2,5 ekv.) i DCM (0,42 ml) ved 0°C ble behandlet med 15 % dietylsink i toluen (0,2 ml, 0,2 mmol, 1 ekv.) og den resulterende løsningen ble omrørt i 5 min. (hvori et hvitt presipitat ble observert). Enon **12** (10 mg, 0,02 mmol, 1 ekv.) i DCM (0,35 ml) ble tilsatt og den resulterende blandingen omrørt ved rt (isbad fjernet) i 3 t, quenched med NaOH (2 N) og omrørt i 10 min., lagene ble separert og det vandige ekstrahert med DCM (to ganger). De organiske ekstraktene ble tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert i vakuum. Resten ble renset ved flashkromatografi (DCM/metanol 92:8). Syklopropanert materiale **11** ble oppnådd som et hvitt faststoff.

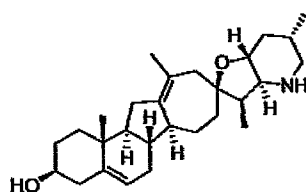
Del C



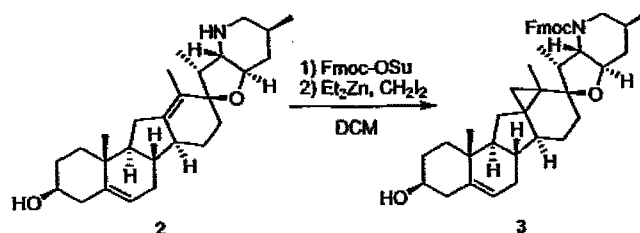
Til en løsning av syklopropylenon **11** (10 mg, 24 μ mol, 1 ekv.) i DCM (0,5 ml) ved 0°C under argon ble det tilsatt B₃.Et₂O (30 μ l, 0,24 mmol, 10 ekv.) og den resulterende løsningen omrørt ved 0°C i 1,5 t, fortynnet med DCM og quenched med mettet natriumbikarbonat. Den organiske fasen ble vasket med mettet natriumbikarbonat og de vandige lagene som ble kombinert ble ekstrahert med DCM. De kombinerte organiske lagene ble vasket med saltvann, tørkte over MgSO₄, filtrert og konsentrert i vakuum. Resten ble renset ved preparativ TLC (DCM/metanol 9:1). Målet **18** ble oppnådd som et hvitt faststoff (90 % utbytte). MS (ESI(+)) m/e 424,62 (M+H)⁺.

Eksempel 8

Fremstilling av et derivat av syklopamin:



Del A

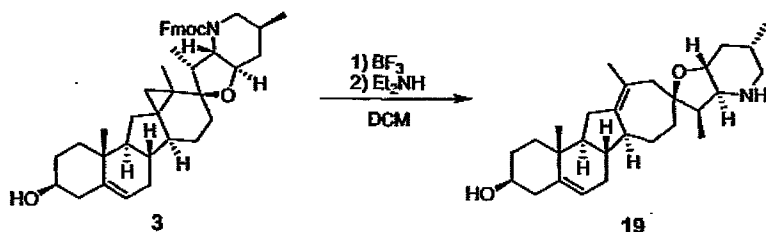


Til en løsning av syklopamin **2** (250 mg, 0,6 mmol, 1 ekv.) i DCM (10 ml) ved rt ble det tilsatt Fmoc-OSu (205 mg, 0,6 mmol, 1 ekv.) og den resulterende blandingen ble omrørt ved rt over natt. Den resulterende løsningen av rp Fmoc-syklopamin ble deretter avkjølt til 0°C og ble behandlet med 15 % dietylsink i toluen (0,5 ml, 0,6 mmol, 1 ekv.) og omrørt i 30 min. (flaske A, gulaktig løsning).

Dijodmetan (0,4 ml, 6 mmol, 10 ekv.) i DCM (20 ml) ved 0°C ble behandlet med 15 % dietylsink i toluen (3 ml, 3 mmol, 5 ekv.) og den resulterende løsningen ble omrørt i 5 min. (flaske B, hvitt presipitat).

Innholdet av flaske B ble overført til flaske A via en kanyle og den resulterende suspensjonen ble omrørt i 5 t ved rt. Reaksjonen ble quenched med 1 N saltsyre, omrørt i 10 min. (inntil alt det hvite faststoffet igjen var oppløst) og ekstrahert med DCM (5x). De organiske ekstraktene ble tørket over MgSO₄, filtrert over celitt og konsentrert i vakuum. Resten ble renset ved flashkromatografi (heksaner/etylacetat 1:1). Målet 11,12-monosyklopropan **5** ble oppnådd som en 9:1 blanding av diastereoisomerer, sammen med 20 % diastereomere bis-syklopropanerte produkter (80 % totalt utbytte). Blandingen ble separert ved anvendelse av preparativ SFC-kromatografi.

Del B



Fmoc-syklopropylsyklopamin **3** (14 mg, 22 μmol, 1 ekv.) ble løst opp i DCM (0,5 ml), avkjølt til 0°C og behandlet med BF₃·Et₂O (27 μl, 0,22 mmol, 10 ekv.) i 1 t, quenched med mettet natriumbikarbonat, lagene separert og det vandige

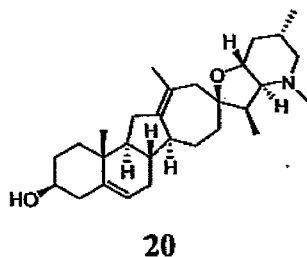
ekstrahert med DCM. Kombinerte organiske ekstrakter ble tørket over MgSO_4 , filtrert og konsentrert i vakuum. Resten ble renset ved preparativ tynnsjiktskromatografi (heksan/etylacetat 2:1). Målet, Fmoc-ekspandert syklopamin, ble oppnådd som en klar olje.

5 En løsning av rå Fmoc-ekspandert syklopamin (20 mg, 31 μmol , 1 ekv.) i DCM (0,5 ml) ble behandlet med Et_2NH (0,5 ml, 4,8 mmol, 154 ekv.) over natt, konsentrert i vakuum og resten renset ved flashkromatografi (DCM, DCM/metanol 98:2 og 95:5). Den ønskede forbindelsen ble oppnådd som en olje som krystalliserte ved henstand. MS (ESI(+)) m/e 426,29 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

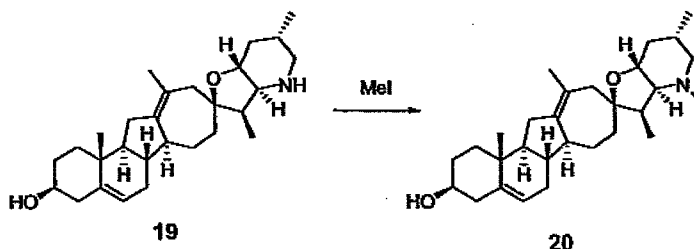
10

Eksempel 9

Fremstilling av et derivat av syklopamin:



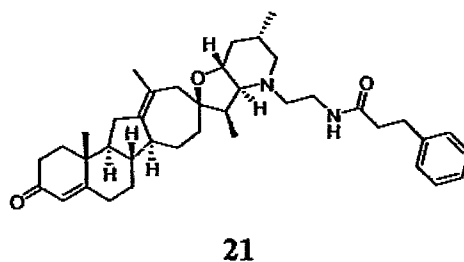
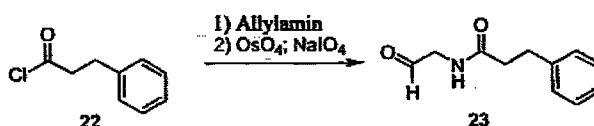
Del A



15

Forbindelse 6 (23 mg, 54 μmol , 1 ekv.) ble løst opp i DCM (1 ml) og metyljodid (0,17 ml, 0,54 mmol, 10 ekv.) ble tilsatt. Reaksjonen ble latt bli omrørt ved rt under en nitrogenatmosfære over natt. Neste morgen indikerte TLC/LC-MS at det var fortsatt noe SM igjen. En spatel av Na_2CO_3 ble tilsatt og blandingen ble omrørt i en ytterligere t. Råmaterialet ble applisert på Biotage 25 Si+M og eluert med DCM/EtOAc/MeOH (82,5/10/7,5). Det oppnådde amorfe materialet: 16 mg. MS (ESI(+)) m/e 440,32 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

20

Eksempel 10**Fremstilling av et derivat av syklopamin:****Trinn A**

5

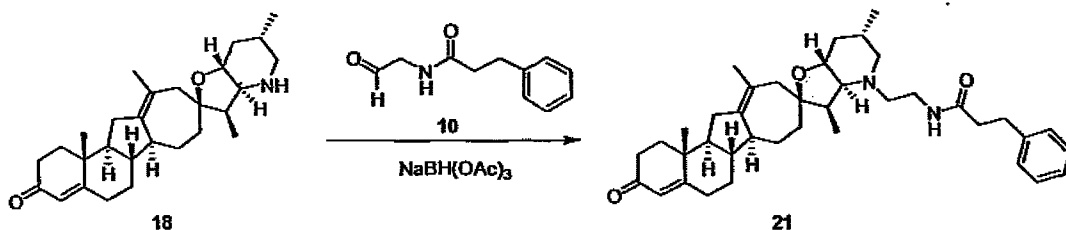
Hydrocinnamoylchlorid **22** (1,13 g, 6,7 mmol, 1 ekv.) og allylamin (0,77 ml, 10 mmol, 1,5 ekv.) ble solubilisert i THF (20 ml) og reaksjonen ble omrørt ved rt i 24 t. Et hvitt presipitat ble dannet. Reaksjonsblandingen ble filtrert. Filtratet ble tørket over MgSO_4 , filtrert og konsentrert under vakuum. Den fargeløse oljen ble omdannet til et voksaktig faststoff (1,1 g) og ble isolert.

Til en løsning av allylamid (0,81 mg, 0,27 mmol, 1 ekv.) i en blanding av aceton:vann (9 ml, 3:1) ved 0°C ble det tilsatt en løsning av OsO_4 (0,55 ml, 2,5 vekt/vekt i *t*-BuOH) og den resulterende brunaktige blandingen ble omrørt i 10 min. Fast natriumperiodat (0,13 g, 0,59 mmol, 2,2 ekv.) ble tilsatt i tre porsjoner og blandingen ble omrørt ved 0°C og latt bli oppvarmet over 25°C over en periode på 2 t. Den lyse off-white kremaktige blandingen ble fortynnet med DCM (25 ml), tørket med magnesiumsulfat, faststoffene ble filtrert ut gjennom et stykke celitt, filtratet ble konsentrert under redusert trykk. Det rå utviklet sakte en gulsvarf farge. Råmaterialet ble applisert på Biotage 25+S og rensset ved eluering med heksan/EtOAc (1:1 til 1:2) for å oppnå en fargeløs olje, som stivnet når den var tørr (250 mg).

20

Del B

60



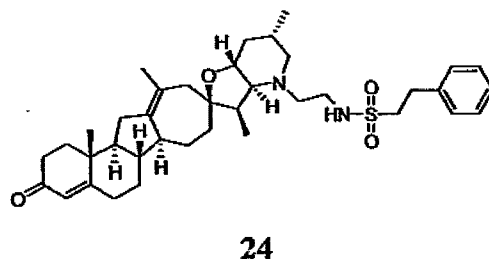
Til en løsning av **18** (108 mg, 0,25 mmol, 1 ekv.) og aldehyd **21** (100 mg, 0,52 mmol, 2,1 ekv.) i DCM (5 ml) ble det tilsatt natriumtriacetoksyborhydrid (100 mg, 0,47 mmol, 1,9 ekv.) i én porsjon og oppslemmingen ble omrørt ved rt i 7 t.

Reaksjonen ble quenched ved tilsetning av MeOH og filtrering gjennom celitt.

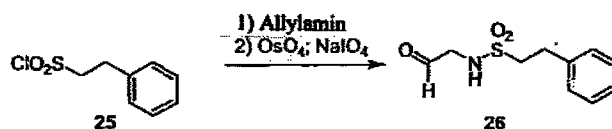
Avdampning til tørrhet ga 230 mg olje. materialet ble deretter rensed ved kromatografi (SiO₂, kolonne 3 cm x 4 cm) eluerende med heksan/EtOAc (4:6 til 2:8) for å gi 38 mg av ønsket produkt. MS (ESI(+)) m/e 599,74 (M+H)⁺.

Eksempel 11

Fremstilling av et derivat av syklopamin:



Del A

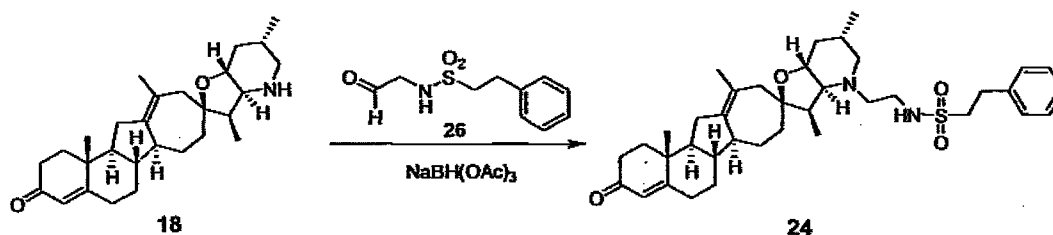


2-fenyletansulfonylchlorid **25** (1,13 g, 5,5 mmol, 1 ekv.) og allylamin (0,56 ml, 7,3 mmol, 1,3 ekv.) ble oppløst i THF (20 ml) og latt bli omsatt over natt ved rt i 24 t. Et hvitt presipitat ble dannet. Reaksjonsblandingen ble filtrert. Filtratet ble tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert under vakuum. En noe gulfarget olje (1,1 g) ble isolert. Råmaterialet ble anvendt direkte i neste trinn.

Til en løsning av allylsulfonamid (0,15 g, 0,66 mmol, 1 ekv.) i aceton:vann (4 ml, 3:1) ved 0°C ble det tilsatt en løsning av OsO₄ (0,13 ml, 2,5 vekt/vekt i *t*-BuOH) og den resulterende brunaktige blandingen ble omrørt i 10 min. Fast natriumperodat (0,31 g, 1,46 mmol, 2,2 ekv.) ble tilsatt i tre porsjoner og

blandingen ble omrørt ved 0°C og latt bli varmet til 25°C over en periode på 2 t. Den lyse off-white kremaktige blandingen ble fortynnet med DCM (25 ml), tørket med magnesiumsulfat, faststoffene ble filtrert ut gjennom et stykke celitt, filtratet ble deretter konsentrert under redusert trykk. Råmaterialet ble rensset på SiO₂ (kolonne 2 cm x 12 cm) eluerende med heksaner/EtOAc (7:3) for å gi det ønskede materialet (16 mg).

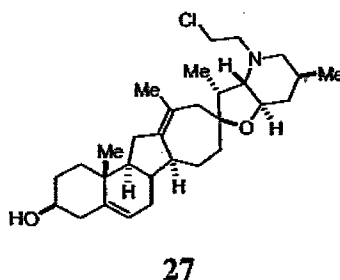
Del B



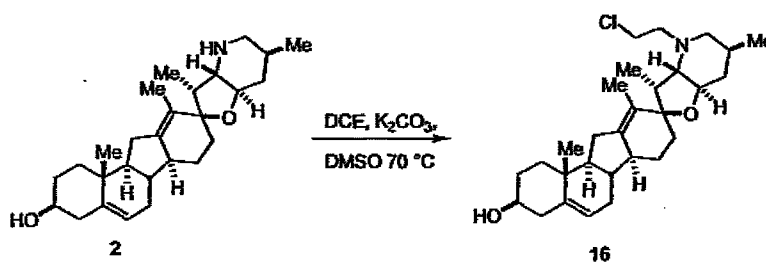
Til en løsning av **18** (15 mg, 35,4 µmol, 1 ekv.) og aldehyd **26** (16 mg, 70 µmol, 2 ekv.) i DCM (3 ml) ble det tilsatt natriumtriacetoksyborhydrid (20 mg, 94 µmol, 2,6 ekv.) i én porsjon ved rt. Etter 24 t ble reaksjonen quenched ved tilsetning av noen få dråper MeOH og filtrert på celitt. Det rå ble rensset ved prep TLC 1 mm (første eluering: toluen/aceton (9:1), andre eluering: toluen/aceton (4:1)) for å gi 4 mg av en fargeløs olje. MS (ESI(+)) m/e 635,43 (M+H)⁺.

Eksempel 12

Fremstilling av et derivat av syklopamin:

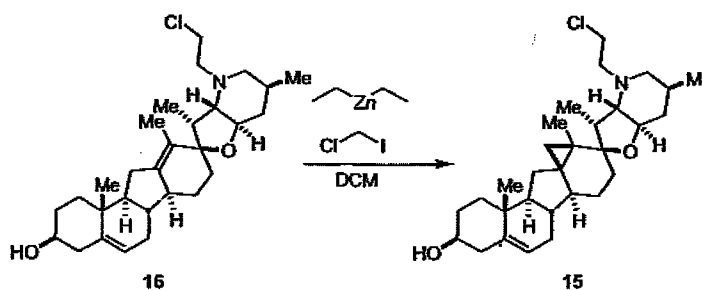


Del A



Forbindelse **2** (1,30 g, 3,2 mmol, 1 ekv.) ble spredd ut og applisert i reaksjonsbeholderen. Kaliumkarbonat (0,91 g, 6,6 mmol, 2,1 ekv.) ble spredd ut og applisert på reaksjonsbeholderen etterfulgt av dikloretan (6,0 ml, 76 mmol, 23,8 ekv.) og vannfri DMSO (5 ml). Reaksjonen ble oppvarmet til 70°C i 36 timer under en nitrogenatmosfære. Reaksjonen ble deretter avkjølt til rt, fortynnet med DCM (15 ml) og vasket to ganger med vann (2 x 15 ml). Det organiske laget ble deretter tørket over natriumsulfat, filtrert (DCM-skylling etter behov) og konsentrert til tørrhet for å gi et svakt gult faststoff. Flashkromatografi (DCM/EtOAc) gir målmaterialet som et hvitt krystallinsk faststoff.

Del B



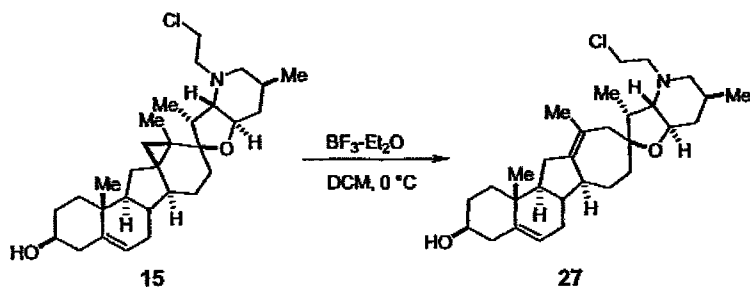
Forbindelse **16** (0,111 g, 0,233 mmol, 1 ekv.) ble overført til en reaksjonsflaske, plassert under en nitrogenatmosfære og oppløst i vannfri DCM (2 ml). Klorjodmetan ble tilsatt (0,238 ml, 3,27 mmol, 14 ekv.). Løsningen ble avkjølt til -15°C. Dietylsink (1M i heptan, 1,63 ml, 1,63 mmol, 6,5 ekvivalenter) ble forsiktig dråpevis tilsatt over 30 min. ved å kontrollere eksotermen. Reaksjonen ble holdt mellom -10°C og -14°C i flere timer helt til TLC indikerte at utgangsmaterialet var blitt konsumert. Reaksjonen ble deretter quenched ved forsiktig tilsetning av THF (6 ml) og deretter vandig sitratbuffer (pH 4,5, 10 ml). Lagene ble latt bli varmet til romtemperatur, mettet natriumsulfat (10 ml). Lagene ble grundig blandet, overført til en skilletrakt med overskudd DCM og det organiske laget ble samlet. Det

organiske laget ble vasket med vandig natriumhydroksid (1M, 10 ml) og mettet natriumsulfat (10 ml), tørket over natriumsulfat før konsentrering til tørrhet.

Råmaterialet ble renset ved flashkromatografi for å gi det ønskede produkt i 55 % utbytte.

5

Del C

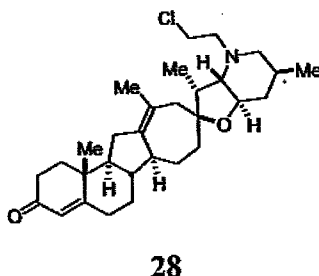


Forbindelse **15** (1,25 g, 2,56 mmol, 1 ekv.) ble løst opp i DCM (22 ml) under en nitrogenatmosfære og løsningen ble avkjølt til $0,9^\circ\text{C}$ indre temperatur. $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (1,6 ml, 12,8 mmol, 5 ekv.) alene ble tilsatt i porsjoner over flere timer mens reaksjonen ble registrert ved LCMS. Reaksjonen ble latt sakte bli oppvarmet til 10°C helt til den var fullført. Reaksjonen ble deretter quenched med MeOH (5 ml) ved 0°C , fortrinnsvis med KOH (2 M, 30 ml) og omrørt ved rt i 2 timer. Lagene ble deretter separert og det organiske laget ble vasket med vann, tørket over Na_2SO_4 , filtrert og konsentrert til tørrhet. Kromatografi med DCM/EtOAc ga det ønskede produktet.

15

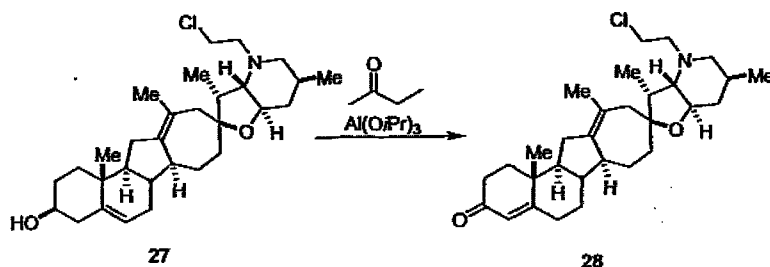
Eksempel 13

Fremstilling av et derivat av syklopamin



20

Del A

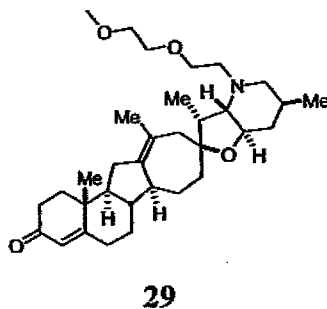


Forbindelse **27** (29 mg, 60 μ mol, 1 ekv.) ble plassert i en 5 ml rundbunnet flaske. Butanon (2 ml) og $\text{Al}(\text{O}i\text{Pr})_3$ (12,3 mg, 60 μ mol, 1 ekv.) ble tilsatt. Innholdet av den rundbunnede flaske ble oppvarmet ved tilbakeløp under argon i 7 t.

Reaksjonsblandingen ble deretter omrørt ved rt i 10 t. Reaksjonsblandingen ble deretter quenched med en løsning (2 ml) dannet ved blanding av sitronsyre (500 g), NaOH (15,7 g) og vann (500 ml). Den resulterende blandingen ble hurtig omrørt helt til emulsjonen dissiperte. Blandingen ble deretter ekstrahert med EtOAc (3 x 10 ml). De organiske lagene ble samlet, tørket over Na₂SO₄ og konsentrert. Råmaterialet ble rensert ved kolonnekromatografi. MS(ESI(+)) m/e 486,26 (M+H)⁺.

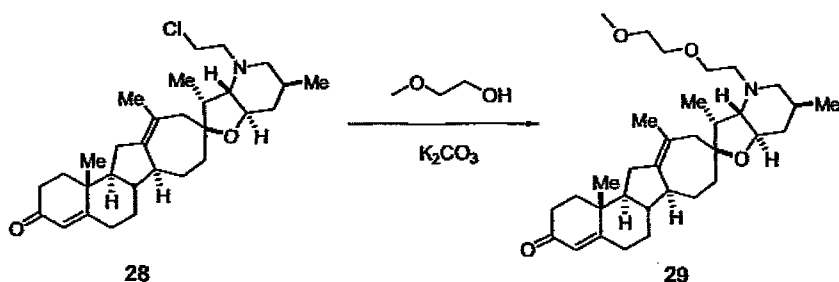
Eksempel 14

Fremstilling av et derivat av syklopamin:



15

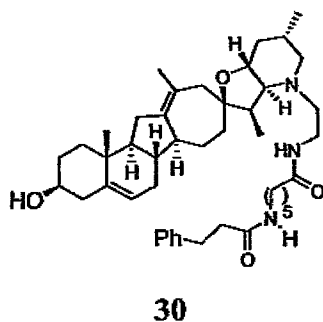
Del A



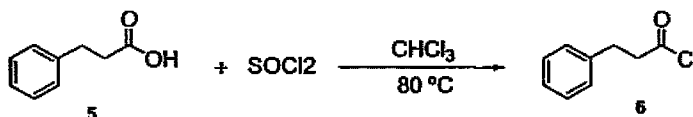
Forbindelse **28** (25 mg, 0,051 mmol, 1 ekv.) ble løst opp i vannfri 2-metoksyetanol (1 ml, 12,7 mmol, 234 ekv.). Kaliumkarbonat (7,1 mg, 0,051 mmol, 1 ekv.) ble tilsatt og reaksjonen ble oppvarmet til 120°C. Reaksjonen ble deretter registrert ved TLC. Når TLC indikerte at reaksjonen hadde stoppet ble reaksjonen avkjølt til rt. Reaksjonen ble deretter fortynnet med etylacetat og vasket med vann. Det organiske laget ble tørket over natriumsulfat og konsentrert til tørrhet. Kromatografi med DCM/EtOAc ga ønsket produkt. MS (ESI(+)) m/e 526,66 (M+H)⁺.

Eksempel 15

Fremstilling av et derivat av syklopamin:

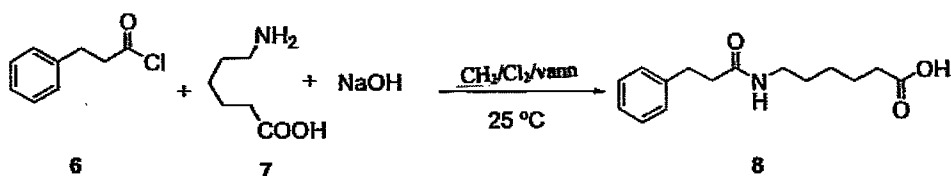


Del A



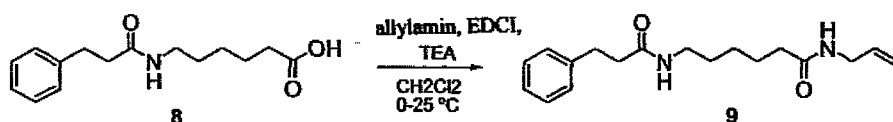
Til en løsning av hydrokanselsyre **5** (3,01 g, 20 mmol, 1 ekv.) i 30 ml vannfri kloroform ved 75°C ble det tilsatt dråpevis tionylklorid (1,75 ml, 24,1 mmol, 1,2 ekv.) over en periode på 3 min. Blandingen ble deretter tilbakestrømmet i 3,5 t. Løsningsmidlet ble destillert ut for å gi det rå syrekloridet som et lysegult viskøst liquid. Det rå materialet ble anvendt uten ytterligere rensing.

Del B



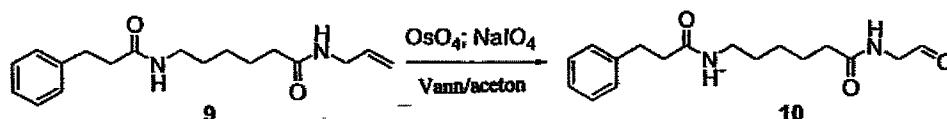
Til en bifasisk blanding av **7** (3,16 g, 24,1 mmol, 1,2 ekv.) i DCM (30 ml) og en vandig løsning av NaOH (2,0 M, 30 ml, 3 ekv.) ved 25°C ble det tilsatt en løsning av syrekloridet **6** (3,38 g, 20 mmol, 1 ekv.) i DCM (10 ml) og den resulterende blandingen ble omrørt ved 25°C i 3 t. Blandingene ble deretter
 5 nøytralisert med vandig HCl (2 M, 30 ml). Det organiske laget ble deretter separert og det vandige laget ekstrahert med HCl (2,0 M, 25 ml), vann (3 x 50 ml). De kombinerte organiske lagene ble vasket med HCl (2,0 M, 25 ml), vann (3 x 50 ml), mettet saltvann (50 ml), tørket over magnesiumsulfat og løsningsmidlet ble avdampet under redusert trykk. Det rå ble kromatografert på silikagel ved
 10 anvendelse av 5 % MeOH:DCM som elueringsmiddel og kolonnen ble deretter eluert med 10 % MeOH:DCM for å gi 1,141 g av forbindelse **8**.

Del C



Til en blanding av syren **8** (264 mg, 1 mmol, 1 ekv.), EDCI (231 mg, 1,2 mmol, 1,2 ekv.) og trietylamin (168 µl, 1,2 mmol, 1,2 ekv.) i DCM (2 ml) ved 0°C ble tilsatt allylamin (90,3 µl, 1,2 mmol, 1,2 ekv.) og den resulterende blandingen ble omrørt ved 0°C i 1 t og latt bli oppvarmet til 25°C over en periode på 2 t. Reaksjonsblandingene ble tilsatt til vann (50 ml), ekstrahert med DCM (4 x 25 ml),
 20 det kombinerte organiske laget ble vasket med 1 M HCl (2 x 25 ml), vann (3 x 25 ml), mettet saltvann (25 ml), tørket over magnesiumsulfat og løsningsmidlet ble avdampet under redusert trykk for å gi 287,5 mg av ønsket produkt. Dette materialet ble anvendt uten ytterligere rensing.

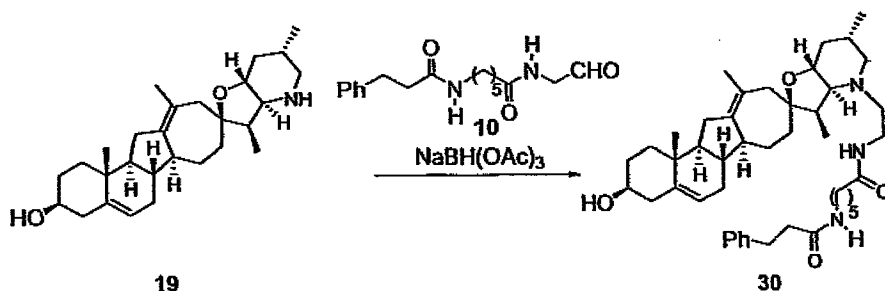
Del D



Til en løsning av allylamidet **9** (70 mg, 0,23 mmol, 1 ekv.) i aceton (1 ml) og vann (0,3 ml) ble det tilsatt en løsning av osmiumtetroksid (0,35 ml, 0,035 mmol, 2,5 vekt/vekt i *t*-butanol) og reaksjonsblandingene ble øyeblikkelig avkjølt i et isbad

etter at OsO₄-løsningen var blitt tilsatt. Den resulterende mørkebrune løsningen ble omrørt ved 0°C i 15 min. Natriumperodat (110 mg, 0,51 mmol, 2,2 ekv.) ble deretter tilsatt i 5 porsjoner til ovennevnte blanding og blandingen fortsatte i 1 t ved 0°C og latt bli oppvarmet til 25°C over en periode på 2 t. Reaksjonsblandingen ble deretter fortynnet med DCM (3 ml), filtrert gjennom en kort plugg av magnesiumsulfat og filterkaken ble vasket med DCM (flere ganger). Filtratet ble deretter konsentrert og resten (67,9 mg) ble filtrert gjennom en kort plugg av RP silikagel ved anvendelse av 5 % MeOH:DCM som elueringsmiddel for å gi 38,9 mg av ønsket produkt.

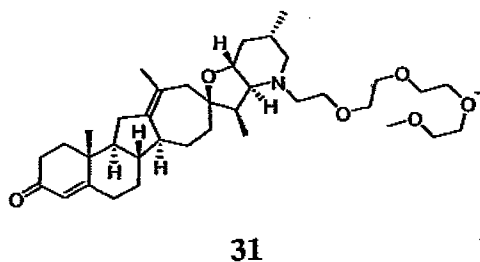
Del E



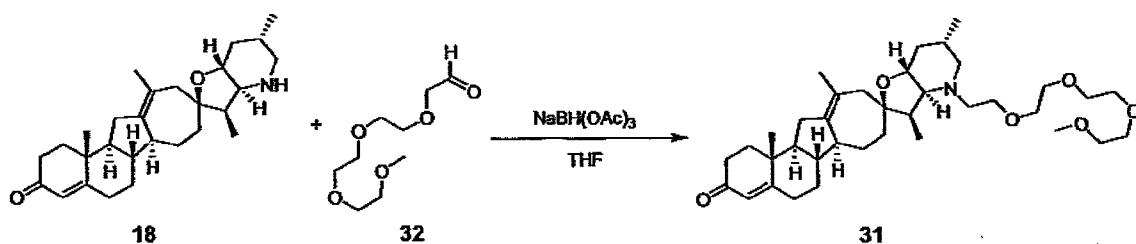
Til en løsning av **19** (0,0242 g, 0,0569 mmol, 1 ekv.) og aldehyd **10** (0,0346 g, 0,114 mmol) i 3,0 ml DCM ved 23°C ble det tilsatt natriumtriacetoksyborhydrid (24,1 mg, 0,114 mmol, 2 ekv.) i én porsjon og den resulterende blandingen ble omrørt i 16 t. Etter fullstendig omdanning av utgangsmaterialet til det ønskede produktet som vist fra LCMS og TLC, ble blandingen tatt opp i 2,5 ml metanol og renset ved revers fasepreparativ HPLC (acetonitril-20 mM ammoniumkarbonatbuffer, grunnleggende metode). Fraksjoner ble konsentrert og ble tatt opp i et minimalt volum av acetonitril, og løsningen ble frosset og lyofilisert for å gi 0,007 g (0,0098 mmol, 17 %) som et hvitt faststoff. MS (ESI(+)) m/e 714,6 (M+H)⁺.

Eksempel 16

Fremstilling av derivatet av syklopamin:



Del A



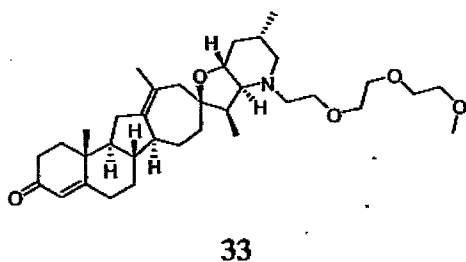
5 Til en løsning av **18** (35 mg, 0,08 mmol, 1 ekv.) og aldehyd **32** (34 mg, 0,17 mmol, 2,0 ekv.) i THF (2,0 ml) ble det tilsatt natriumtriacetoksyborhydrid (35 mg, 0,17 mmol, 2,0 ekv.) i én porsjon. Løsningen ble latt bli omrørt ved 23°C i 12 t. Blandingen ble deretter konsentrert og renset ved silikagelkromatografi ved anvendelse av en gradient av 1:1 heksaner;etylacetat etterfulgt av 1:2, 1:4 og

10 lineær etylacetat. Noe materiale var fortsatt eluerende slik at kolonnen ble deretter spylt med 9:1 etylacetat:metanol. Ønsket produkt koeluerte med noe aldehyd slik at materialet deretter ble renset ved preparativ HPLC. (Basic method 50_100). De ønskede fraksjonene ble deretter frosset ned og lyofilisert for å gi oljeholdig rest (12 mg, 0,02 mmol, 24 % utbytte). MS (ESI(+)) m/e 614,44 (M+H)⁺.

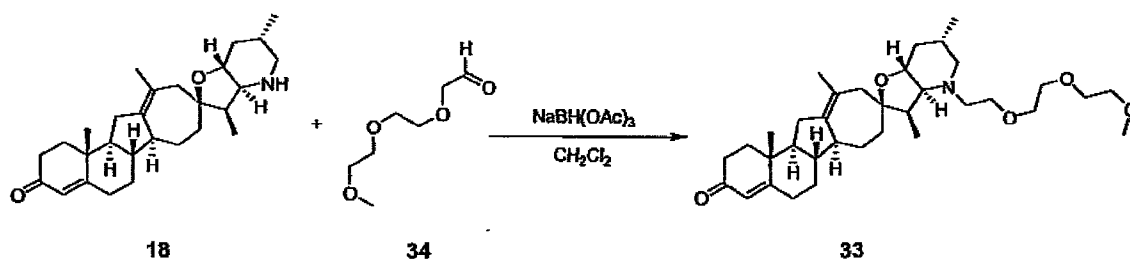
15

Eksempel 17

Fremstilling av et derivat av syklopamin:



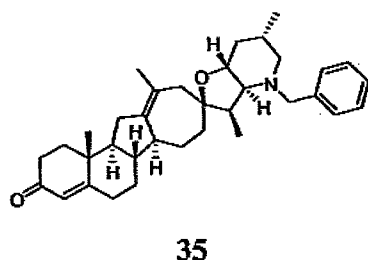
Del A



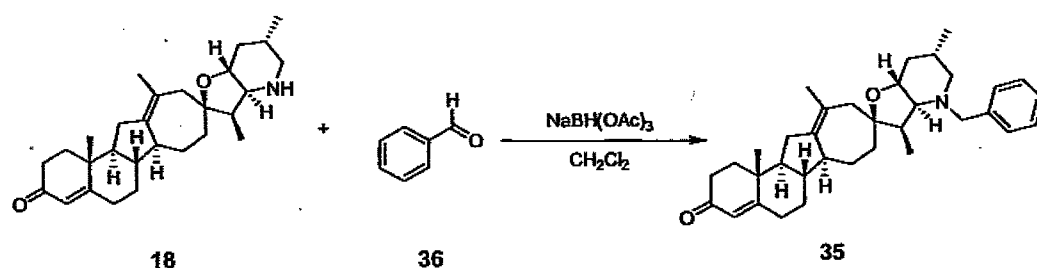
Til en løsning av **18** (8,0 mg, 0,02 mmol, 1 ekv.) og aldehyd **34** (6,0 mg,
 0,04 mmol, 2,0 ekv.) i CH_2Cl_2 (1,0 ml) ble det tilsatt natriumtriacetoksyborhydrid
 (8,0 mg, 0,17 mmol, 2,0 ekv.) i én porsjon. Løsningen ble latt bli omrørt ved 23°C i
 12 t. Blandingen ble deretter konsentrert og renset ved silikagelkromatografi ved
 anvendelse av en gradient bestående av 1:1 heksaner:etylacetat etterfulgt av 1:2,
 og 1:4 for å isolere ønsket produkt koeluerende med noe aldehyd. Materialet ble
 deretter renset ved preparativ HPLC. De ønskede fraksjonene ble deretter frosset
 ned og lyofilisert for å gi hvitt pulver (4,9 mg, 0,009 mmol, 46 % utbytte). MS
 (ESI(+)) m/e 570,41 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Eksempel 18

15 **Fremstilling av et derivat av syklopamin:**



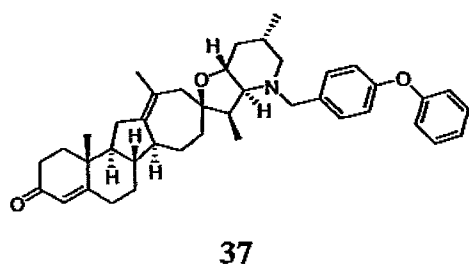
Del A



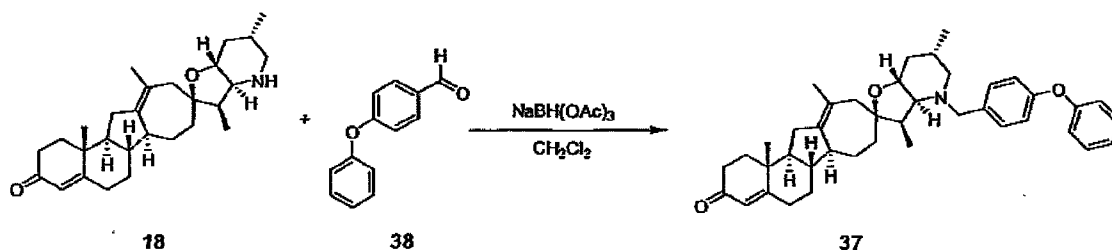
Til en løsning av **18** (6,0 mg, 0,01 mmol, 1 ekv.) og benzaldehyd **36** (3,0 mg, 0,02 mmol, 2,0 ekv.) i CH₂Cl₂ (0,5 ml) ble det tilsatt natriumtriacetoksyborhydrid (6,0 mg, 0,02 mmol, 2,0 ekv.) i én porsjon. Løsningen ble latt bli omrørt ved 23°C i 12 t. Blandingen ble deretter konsentrert og renset ved silikagelkromatografi ved anvendelse av en gradient bestående av 4:1 heksan:etylacetat etterfulgt av 1:1 for å isolere det ønskede produktet som koeluerer med noe aldehyd. Materialet ble deretter renset ved preparativ HPLC. De ønskede fraksjonene ble frosset ned og lyofilisert for å gi hvitt pulver (0,6 mg, 0,001 mmol, 8 % utbytte).

Eksempel 19

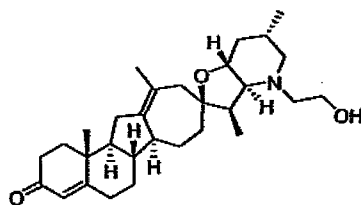
Fremstilling av et derivat av syklopamin:



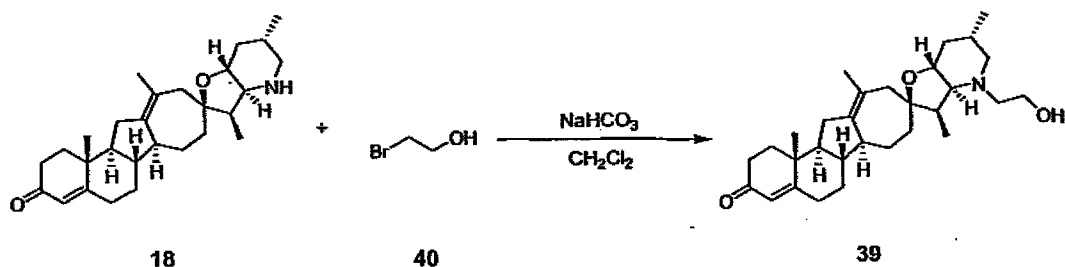
Del A



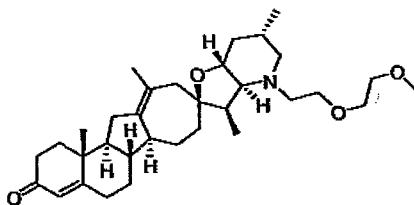
Til en løsning av **18** (6,0 mg, 0,01 mmol, 1 ekv.) og 4-fenoksybenzaldehyd **38** (6,0 mg, 0,02 mmol, 2,0 ekv.) i CH₂Cl₂ (0,5 ml) ble det tilsatt natriumtriacetoksyborhydrid (6,0 mg, 0,02 mmol, 2,0 ekv.) i én porsjon. Løsningen ble latt bli omrørt ved 23°C i 12 t. Blandingen ble deretter konsentrert og renset ved silikagelkromatografi ved anvendelse av en gradient av 4:1 heksan:etylacetat etterfulgt av 1:1 for å isolere det ønskede produkt som koeluerer med noe aldehyd. Materialet ble deretter renset ved preparativ HPLC. De ønskede fraksjonene ble frosset ned og lyofilisert for å gi hvitt pulver (1,8 mg, 0,003 mmol, 21 % utbytte). MS (ESI(+)) m/e 606,4 (M+H)⁺.

Eksempel 20**Fremstilling av et derivat av syklopamin:****39**

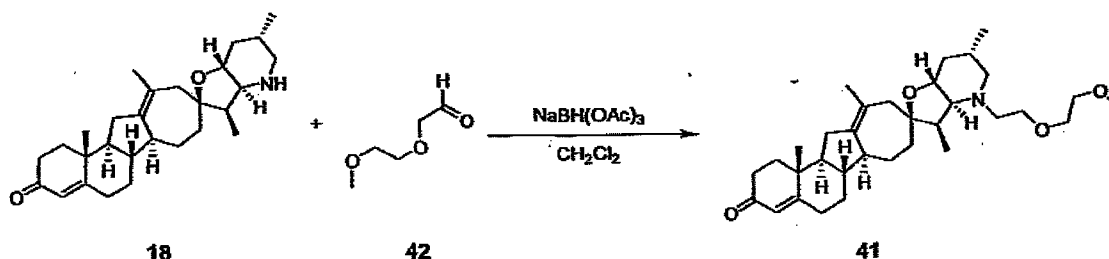
5 Del A



10 Til en blanding av **18** (40 mg, 0,09 mmol, 1 ekv.) og natriumbikarbonat (15 mg, 0,18 mmol, 2,0 ekv.) i CH₂Cl₂ (0,5 ml) ble det tilsatt brometanol **40** (33 µl, 0,47 mmol, 5,0 ekv.). Løsningen ble deretter oppvarmet til tilbakeløp i 4 t. Blandingen ble deretter konsentrert og rensed ved silikagelkromatografi ved anvendelse av en gradient av DCM etterfulgt av 38:1:1 diklormetan:etylacetat:metanol, deretter 36:3:1, deretter 17:2:1 for å isolere det ønskede produktet som en olje (12 mg, 0,026 mmol, 27 % utbytte). MS (ESI(+)) m/e 468,24 (M+H)⁺.

15 **Eksempel 21****Fremstilling av et derivat av syklopamin****41**

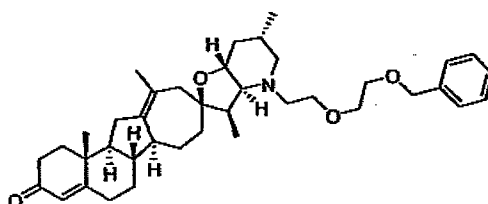
Del A



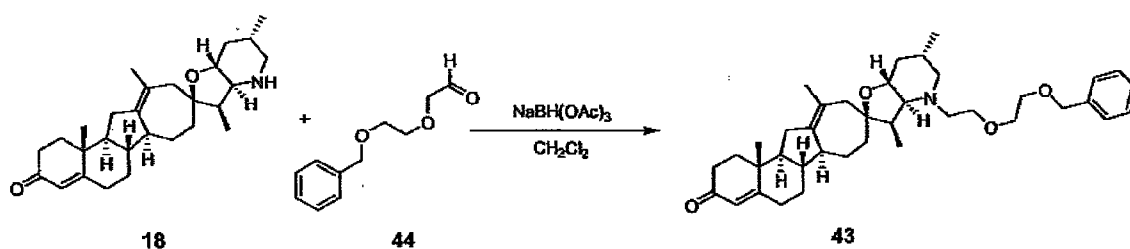
Til en løsning av **18** (100 mg, 0,24 mmol, 1 ekv.) og aldehyd **42** (42 mg, 0,35 mmol, 1,5 ekv.) i CH_2Cl_2 (2,5 ml) ble det tilsatt natriumtriacetoksyborhydrid (100 mg, 0,47 mmol, 2,0 ekv.) i én porsjon. Løsningen ble deretter latt bli omrørt ved 23°C i 12 t og viser kun 50 % omdanning av LCMS. Til blandingen ble det tilsatt en ytterligere ekvivalent av aldehyd **36** (26 mg, 0,24 mmol, 1,0 ekv.) og natriumtriacetoksyborhydrid (48 mg, 0,24 mmol, 1,0 ekv.) og ble latt bli omrørt i 2 t. Blandingen ble deretter konsentrert og renset med silikagelkromatografi ved anvendelse av en gradient bestående av 1:1 heksaner:etylacetat etterfulgt av 1:2 og 1:4 for å isolere ønsket produkt som koeluerer med noe aldehyd. Materialet ble deretter renset ved preparativ HPLC. De ønskede fraksjonene ble frosset og lyofilisert for å gi hvitt pulver (53 mg, 0,10 mmol, 43 % utbytte). MS (ESI(+)) m/e 526,66 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Eksempel 22

Fremstilling av et derivat av syklopamin:



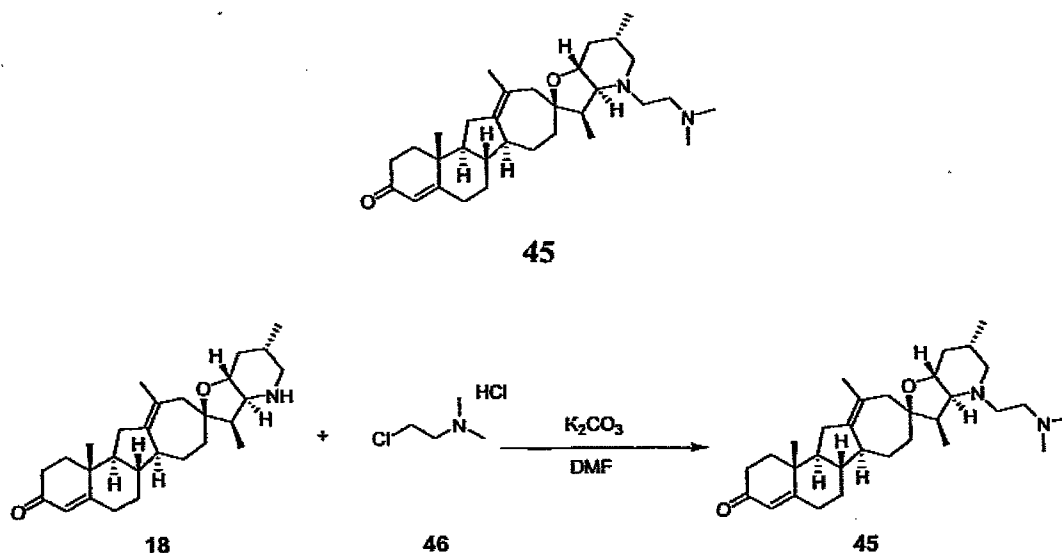
43



Til en løsning av **18** (15 mg, 0,04 mmol, 1 ekv.) og aldehyd **44** (6,9 mg, 0,04 mmol, 1,0 ekv.) i CH_2Cl_2 (0,6 ml) ble det tilsatt natriumtriacetoksyborhydrid (15 mg, 0,07 mmol, 2,0 ekv.) i én porsjon. Løsningen ble latt bli omrørt ved 23°C i 12 t og viser kun 50 % omdanning ved LCMS. Til blandingen ble det tilsatt en ytterligere ekvivalent av aldehyd **44** (6,9 mg, 0,04 mmol, 1,0 ekv.) og natriumtriacetoksyborhydrid (7,5 mg, 0,04 mmol, 1,0 ekv.) og ble latt bli omrørt i 12 t. Blandingen ble deretter konsentrert og renset ved silikagelkromatografi ved anvendelse av en gradient bestående av 1:1 heksaner:etylacetat etterfulgt av 1:2 og 1:4 for å isolere det ønskede produktet som en olje (12 mg, 0,19 mmol, 54 % utbytte). MS (ESI(+)) m/e 635,43 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Eksempel 23

15 Fremstilling av et derivat av syklopamin



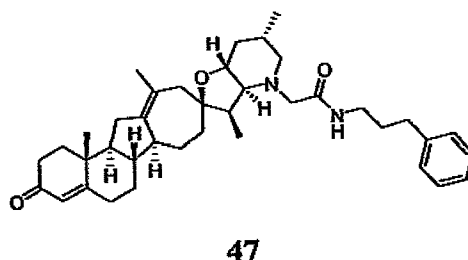
Del A

Til en blanding av **18** (12 mg, 0,03 mmol, 1 ekv.) og kaliumkarbonat (40 mg, 0,28 mmol, 10 ekv.) i DMF (0,5 ml) ble det tilsatt 2-

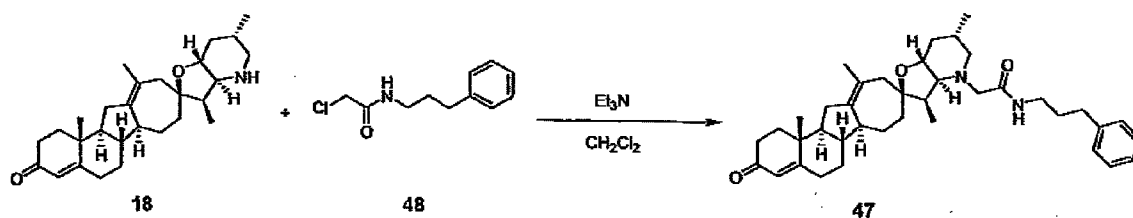
(dimetylamino)etylkloridhydroklorid **46** (20 mg, 0,14 mmol, 5,0 ekv.). Løsningen ble omrørt i 2 t ved 23°C og ingen reaksjon foregikk. Løsningen ble deretter oppvarmet ved 65°C i 12 t, quenched med vann (2 ml) og deretter ekstrahert med dietyler (2 x 10 ml). De kombinerte organiske løsningene ble vasket med saltvann og tørket med MgSO₄. Blandingen ble deretter konsentrert og renset ved preparativ HPLC. De ønskede fraksjonene ble frosset ned og lyofilisert for å gi hvitt pulver (17, 1,8 mg, 0,004 mmol, 13 % utbytte). MS (ESI(+)) m/e 495,71 (M+H)⁺.

Eksempel 24

Fremstilling av et derivat av syklopamin:



Del A

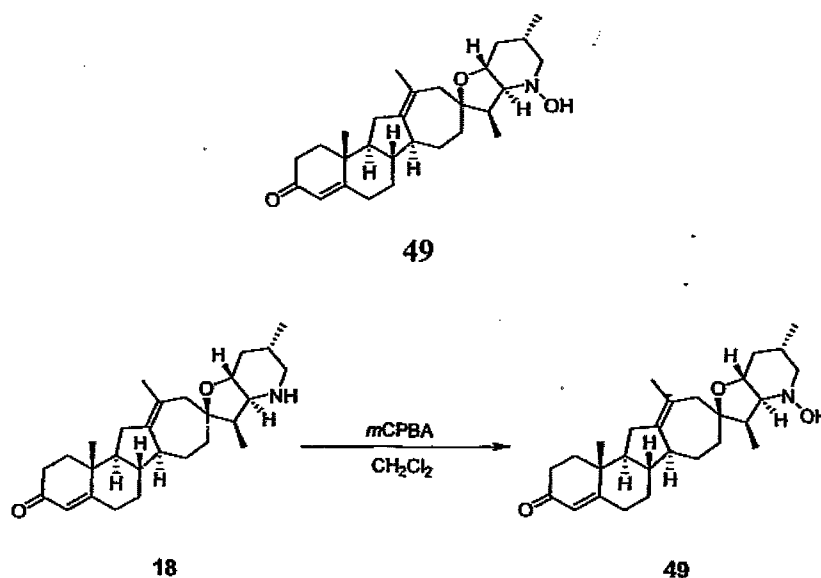


Til en løsning av **18** (100 mg, 0,24 mmol, 1 ekv.) og kloracetamid **48** (250 mg, 1,2 mmol, 5,0 ekv.) i CH₂Cl₂ (1,0 ml) ble det tilsatt trietylamin (160 µl, 1,2 mmol, 5,0 ekv.). Løsningen ble oppvarmet til tilbakesløp og omrørt i 72 t. Blandingen ble deretter konsentrert og renset ved silikagelkromatografi ved anvendelse av en gradient bestående av 4:1 heksaner:etylacetat etterfulgt av 2:1, 1:1 og 1:2 for å isolere det ønskede produkt som en blanding av to flekker. De samme kolonnebetingelsene ble gjentatt og det ønskede produktet ble isolert som en olje (17 mg, 0,14 mmol, 12 % utbytte).

Eksempel 25

Fremstilling av et derivat av syklopamin:

75



Forbindelse **18** (103 mg, 0,24 mmol, 1 ekv.) ble løst opp i DCM (3,0 ml) og avkjølt til -78°C . Til denne løsningen ble det tilsatt *m*CPBA (77 vekt%, 54 mg, 0,24 mmol, 1,0 ekv.) og deretter ble løsningen latt bli varmet til 22°C over 12 t.

Reaksjonen gikk til 50 % omdanning (LCMS). Løsningen ble quenched med natriumbikarbonat og ekstrahert med DCM. De kombinerte organiske stoffene ble tørket med magnesiumsulfat, filtrert og konsentrert. Materialet ble deretter renset ved silikagelkromatografi ved anvendelse av en gradient av DCM:EtOAc:MeOH av 95:2,5:2,5 deretter 92,5:5,0:2,5 deretter 85:10:5 for å isolere ønsket produkt som koeluerer med en liten mengde av noe annet. De kombinerte fraksjonene ble konsentrert og renset ved prep HPLC for å gi 3,4 mg av ønsket produkt. MS (ESI(+)) m/e 440,63 ($M+H$)⁺.

Eksempel 26

Inhibisjon av hedgehog-reaksjonsveien i cellekultur ved anvendelse av analoger av syklopamin

Hedgehog-reaksjonsvei spesifikk cancercelledrepende effekter kan bli bestemt ved anvendelse av følgende analyse. C3H10T1/2-celler differensierer i osteoblaster når kontaktet med sonisk hedgehog-peptid (Shh-N). Ved differensiering produserer disse osteoblastene høye nivåer av alkalisk fosfatase (AP) som kan bli målt i en enzymatisk analyse (Nakamura et al., 1997 *BBRC* 237: 465). Forbindelser som blokkerer differensieringen av C3H10T1/2 i osteoblaster (en Shh-avhengig hendelse) kan derfor bli identifisert ved en reduksjon i AP-

produksjonen (van der Horst et al., 2003 *Bone* 33: 899). Analysedetaljer er beskrevet nedenfor. Resultatene (EC₅₀ for inhibisjon) av differensieringsanalysen er vist nedenfor i tabell 1.

5 Analyseprotokoll

Cellekultur

Museembryoniske mesodermfibroblaster C3H10T1/2-celler (opnådd fra ATCC) ble dyrket i Basal MEM Media (Gibco/Invitrogen) supplementert med 10 % varmeinaktivert FBS (Hyclone), 50 enheter/ml penicillin og 50 µg/ml streptomycin
10 (Gibco/Invitrogen) ved 37°C med 5 % CO₂ i luftatmosfære.

Alkalisk fosfataseanalyse

C3H10T1/2-celler ble platet ut i 96 brønner med en tetthet på 8x10³ celler/brønn. Cellene ble dyrket til konfluens (72 timer). Etter sonisk hedgehog
15 (250 ng/ml), (R&D Systems) og/eller forbindelsesbehandling ble cellene lysert i 110 µl lyseringsbuffer (50 mM Tris pH 7,4, 0,1 % Triton X100), og platene ble sonikert og lysater bundet gjennom 0,2 µm PVDF-plater (Corning). 40 µl av lysatene ble analysert for AP-aktivitet i alkalisk bufferløsning (Sigma) inneholdende 1 mg/ml p-nitrofenylfosfat. Etter inkubering i 30 min. ved 37°C ble
20 platene avlest på en Envision plateleser ved 405 nm. Totalt protein ble kvantifisert med et BCA-proteinanalysesett fra Pierce ifølge forhandlerens instruksjoner. AP-aktivitet ble normalisert mot totalt protein. Merk at "A" indikerer at IC₅₀ er mindre enn 200 nM, "B" indikerer at IC₅₀ er 200-500 nM, "C" indikerer at IC₅₀ er > 500 nM.

25 Tabell 1 - Beregnet EC₅₀ for inhibisjon

Forbindelse	Differensieringsanalyse
1	C
4	A
11	C
17	A
18	A
19	B

20	C
21	A
24	B
27	C
28	C
29	A
30	A
31	A
33	A
35	A
37	C
39	C
41	A
43	B
45	B
47	B

Eksempel 27

Preparativ superkritisk fluidkromatografisk (SFC) rensingsmetode

Det er beskrevet en preparativ superkritisk fluid kromatografimetode for
 5 rensing av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse.

Apparatur anvendt:

SFC: Berger PrepSFC System

Ultrafiolett Detektor: Knauer Modell K-2501

10 Kolonne: Berger 5 mikron silika, 20 mm 250 mm

SFC-betingelser:

Mobile faser: CO₂-95 %; metanol - 5 %

Strømningsrate: 50,00 ml/min.

15 Kolonnetemperatur: 35°C

Isokratisk for 40 min. ved 5 % metanol i superkritisk CO₂

Injeksjonsvolum: 1000 µl

Prøvekonsentrasjoner blir normalt kjørt ved 5,0 mg/ml

Prøvepreparering: Prøver blir løst opp i 20 % DCM/80 % metanol

Produkter eluerer mellom 25 og 40 min.

5 Ultrafiolett detektorparametere

Bølgelengde = 210 nm; og oppløsning = 1,0 nm

Eksempel 28

Liquid kromatografi massespektrometri (LCMS) metode

10 Beskrevet er en liquid kromatografi massespektrometrimetode for forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse.

[A] Innløpsmetoderapport

Waters Alliance 2795 LC Mobile Phase

15

Løsningsmidler

A%	0,0	
B%	10,0	Acetonitril
C%	90,0	Vann 20 mM NH ₄ HCO ₃
D%	0,0	Vann 0,1A

Strømnings "Ramp"	1,00
Strømning (ml/min.)	1,500
Stopp tid (min.)	4,00
Min. trykk (bar)	0
Maks. trykk (bar)	300
Avgasser	På
"Stroke" volum	100,0 µl

Waters Alliance 2795 LC-kolonne

Kolonneposisjon	Kolonne 3
Ekvilibreringsstid (min.)	0,00
Kolonnetemperatur (°C)	35
Kolonnetemperaturgrense (°C)	5

Waters Alliance 2795 LC Rapid Equilibration

System "path"	Av
Systemstrømning (ml/min.)	0,00
Systemtid (min.)	0,00
Re-ekvilibreringsstid (min.)	0,00
Pre-kolonnevolum (µl)	0,00

Waters Alliance 2795 I/O

Svitsj 1	Ingen endring
Svitsj 2	Ingen endring
Svitsj 3	Ingen endring
Svitsj 4	Ingen endring
Analog output setting	Strømningsrate

Waters Alliance 2795 LC Gradient Timetable

Gradienttidstabellen inneholder 5 innførsler som er:

Tid	A%	B%	C%	D%	Strømning	Kurve
0,00	0,0	10,0	90,0	0,0	1,500	1
3,00	0,0	85,0	15,0	0,0	1,500	6
3,10	0,0	100,0	0,0	0,0	1,500	6
3,50	0,0	100,0	0,0	0,0	1,500	6
3,60	0,0	10,0	90,0	0,0	1,500	6

Waters Alliance 2795 LC External Event Timetable

Ingen innførsler i Pump External Event Timetable.

5 Waters Alliance 2795 Injection Parameters

Injeksjonstype	Sekvensiell
Fyllmodus	Delloop
Pre-prøveluftgrense (µl)	4,0
Post-prøveluftgrense (µl)	4,0
Pre-belastningstid (min.)	0,00

Waters Alliance 2795 Autosampler Parameters

Prøvetemperatur (°C)	20
Prøvetemperaturgrense (°C)	20
Dragdybde (mm)	0
Draghastighet	Normal
"Seek Well Bottom"	Falsk
Sjekk platehøyde	Falsk

10 Waters Alliance 2795 Wash Parameters

Vaskefrekvens	Injiser
Flushtid (s)	3
Vasketid (s)	10
Vaskesykluser	2
Sekundært vaskevolum (µl)	600,0
Vaskesekvens	

Waters 996 PDA

Startbølgelengde (nm)	220,00
Sluttbølgelengde (nm)	400,00
Resolusjon (nm)	1,2

80

Samplingrate (spektra/s)	1,000
Filterrespons	1
Eksponeringstid (ms)	Automatisk
Interpolate 656	Ja
Akvisisjonsstoptid (min.)	4,00
Save to disk:	Ja

Waters 996 PDA Analog Channel 1

Output modus	Av
--------------	----

Waters 996 PDA Analog Channel 2

Output modus	Av
--------------	----

Slutt på rapport

[B] Eksperimentrapport

Navn	Default eksperiment
Tid for utførelse	Fre 4. juni 2004 10:25:33
Instrumentidentifiser	
Versjonsnummer	1,0
Varighet (min.)	4,0
Kalibreringsfilnavn	C:\MassLynx\Infinity_2002.PRO/ ACQUB\NAICS_040408.cal
Solvent Delay Divert Valve Enabled	0
Antall funksjoner	1

Funksjon 1: MS Scan, tid 0,00 til 3,50, Mass 200,00 til 1000,00 ES+

Type	MS Scan
Ionemodus	ES+
Dataformat	Centroid
Parameterfil	C:\MassLynx\Infinity_2002.PRO/ ACQUB\default.ipr
Startmasse	200,0
Sluttmasse	1000,0
Scantid (sek.)	1,0

81

InterScantid (sek.)	0,2
Starttid (min.)	0,0
Sluttid (min.)	3,5

[C] ZQ Tune parametere

Kilde (ES+)	Settlinger	Readbacks
Kapillær (kV)	3,20	3,27
Cone (V)	35,00	37,24
Ekstraktor (V)	3,00	2,81
RF Lens (V)	0,0	0,0
Kildetemperatur (°C)	130	129
Desolvasjonstemperatur (°C)	350	350
Cone gasstrøm (L/Hr)	20	33
Desolvasjonsgasstrøm (L/Hr)	450	466

Analysator	Rettings	Readbacks
LM 1 resolusjon	15,0	
HM1 resolusjon	15,0	
Ioneenergi 1	0,5	
Multiplier (V)	550	-547

Trykk Gauges

Pirani trykk (mbar)	< 1e-4 mbars
---------------------	--------------

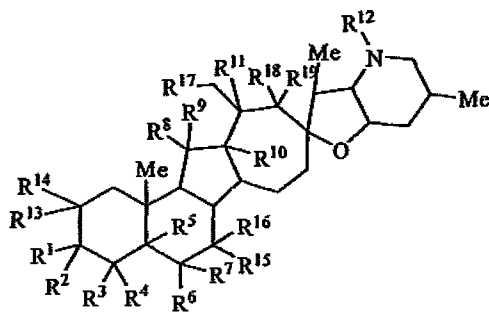
MUX-konfigurasjon

Probe	Standard
-------	----------

P A T E N T K R A V

1. Forbindelse,

karakteriseret ved at den har formel 1:



(1)

eller farmasøytisk akseptabelt salt derav;

hvor R^1 og R^2 er henholdsvis H og OH, eller tatt sammen danner =O;

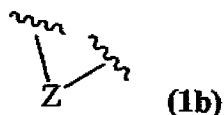
R^3 er H; R^4 - R^6 er H; eller R^4 og R^5 danner en dobbelt binding og R^6 er H;

eller R^4 er H og R^5 og R^6 danner en dobbelt binding;

R^7 , R^8 , R^9 , R^{13} - R^{19} er H;

R^{10} og R^{11} danner sammen en dobbeltbinding; eller R^{10} og R^{11} tatt sammen

danner en gruppe representert ved 1b;



(1b)

hvor Z er CH_2 ;

R^{12} er H, OH eller alkyl eventuelt substituert med minst en gruppe valgt fra halogen, hydroksyl, dialkylamino, og aryl eventuelt substituert med aryloksy; eller R^{12} er $-[W-NH-C(O)-]_q R^{21}$, $-[W-NH-SO_2-]_q R^{21}$, eller $-(W-O)_q R^{21}$, hvor W er alkylen, q er et helt tall fra 1-6, og R^{21} er H, alkyl eller aralkyl.

2. Forbindelse ifølge krav 1,

karakteriseret ved at R^1 er hydroksyl; eller R^1 og R^2 tatt sammen, sammen med karbonatomet hvortil de er bundet danner $-C(O)-$.

3. Forbindelse ifølge krav 1,

karakteriseret ved at R^4 og R^5 danner en dobbeltbinding.

4. Forbindelse ifølge krav 3,

karakterisert ved at R^1 og R^2 tatt sammen, sammen med karbonatomet hvortil de er bundet, danner $-C(O)-$.

5

5. Forbindelse ifølge krav 1,

karakterisert ved at R^1 er hydroksyl og R^2 er H.

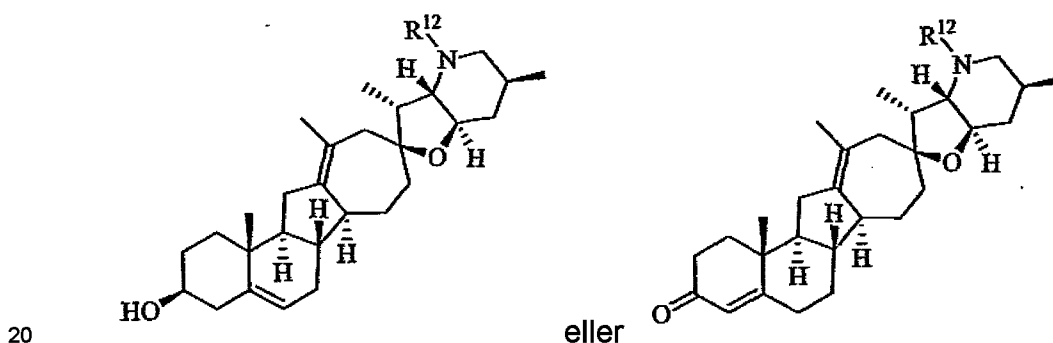
6. Forbindelse ifølge krav 1,

10 karakterisert ved at R^5 og R^6 tatt sammen danner en dobbeltbinding og R^{10} og R^{11} tatt sammen danner en dobbeltbinding.

7. Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1-6,

15 karakterisert ved at R^{12} er H, alkyl eventuelt substituert med halogen eller aryl, hydroksyl, $[(W)-NH-C(O)-]_q R^{21}$, $[(W)-NH-SO_2-]_q R^{21}$ eller $[(W)-O]_q R^{21}$ hvor W, q og R^{21} er som definert i krav 1.

8. Forbindelse ifølge krav 1, karakterisert ved at den har formlene:



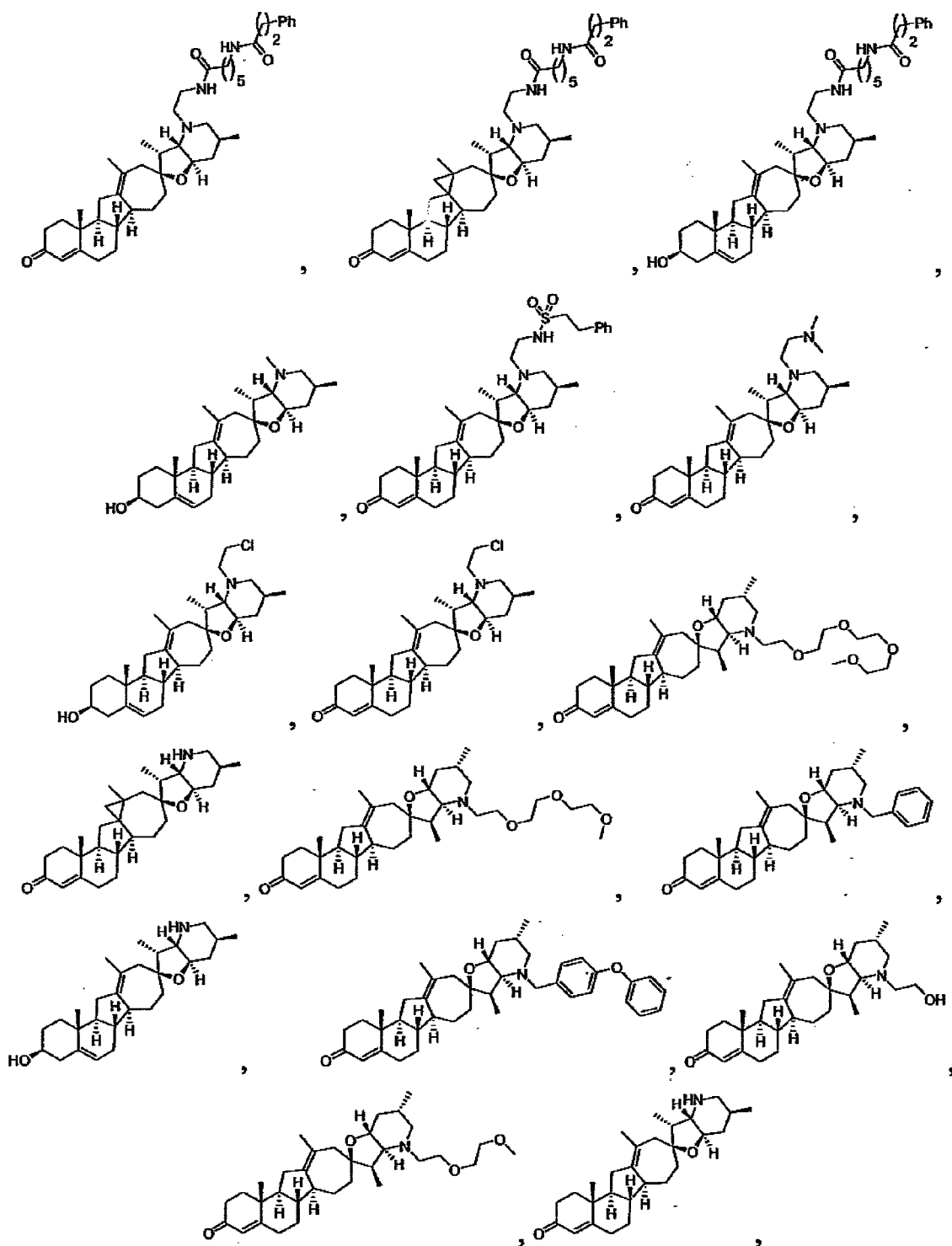
eller farmasøytisk akseptable salt derav;

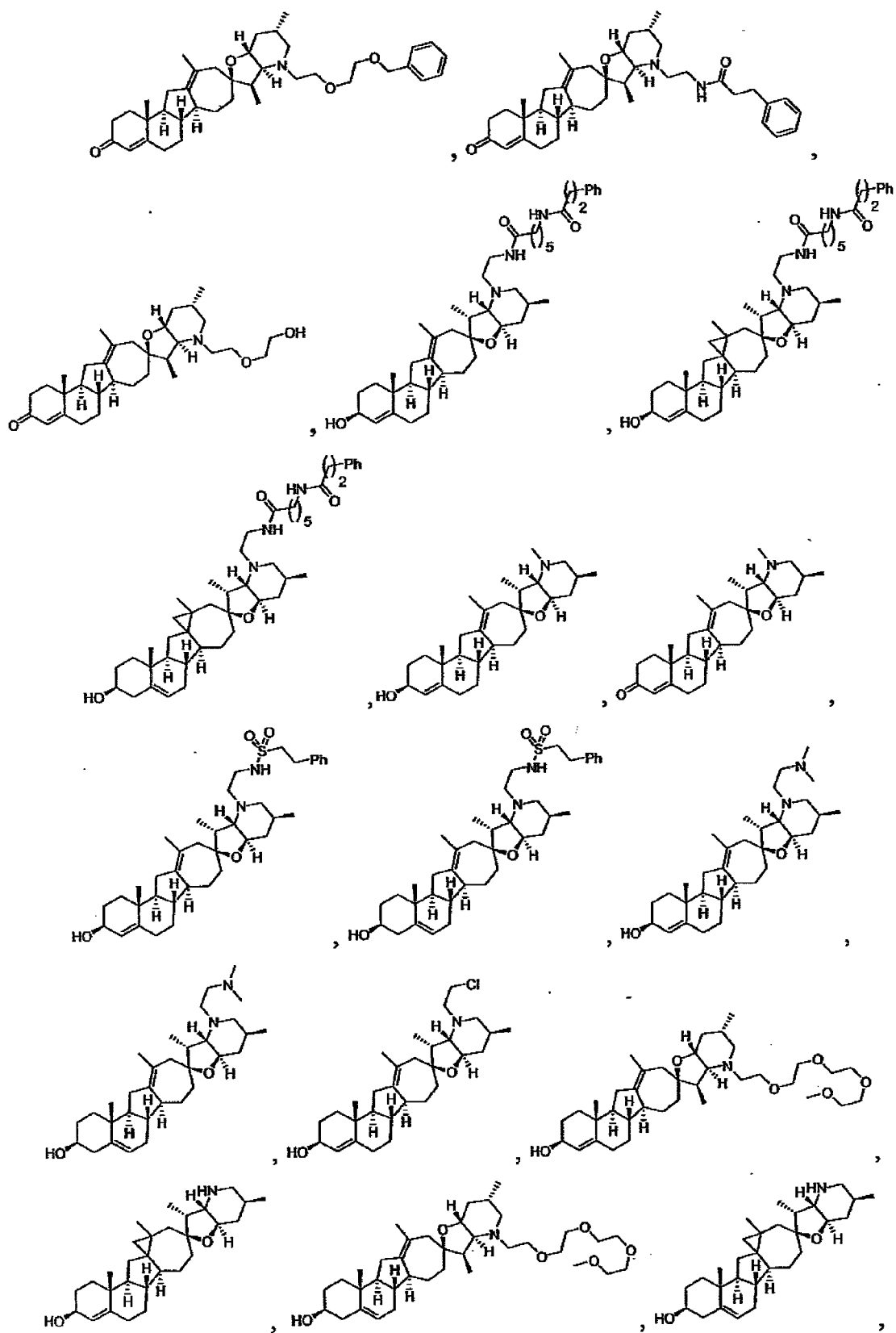
hvor

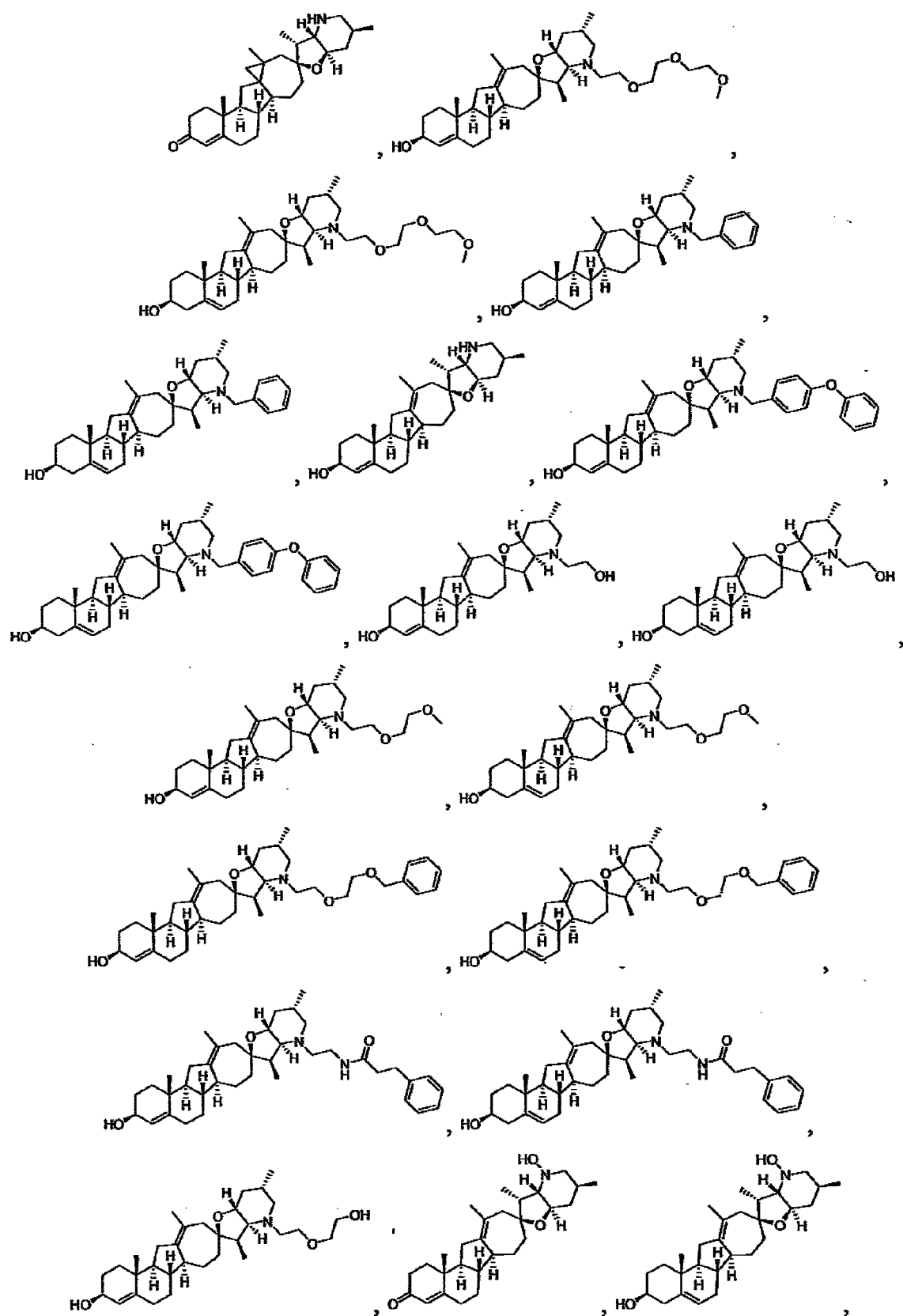
R^{12} er H, OH eller alkyl, eventuelt substituert med minst en gruppe valgt fra halogen, hydroksyl, dialkylamino, og aryl eventuelt substituert med aryloksy, eller

25 R^{12} er , $[(W)-NH-C(O)-]_q R^{21}$, $[(W)-NH-SO_2-]_q R^{21}$ eller $[(W)-O]_q R^{21}$ hvor W, q og R^{21} er som definert i krav 1.

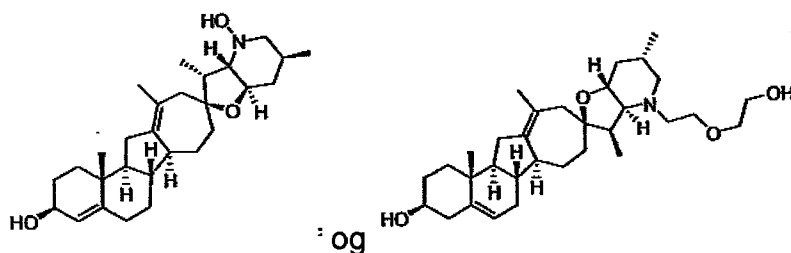
9. Forbindelse ifølge krav 1,
karakteriseret ved at den er valgt fra gruppen bestående af:





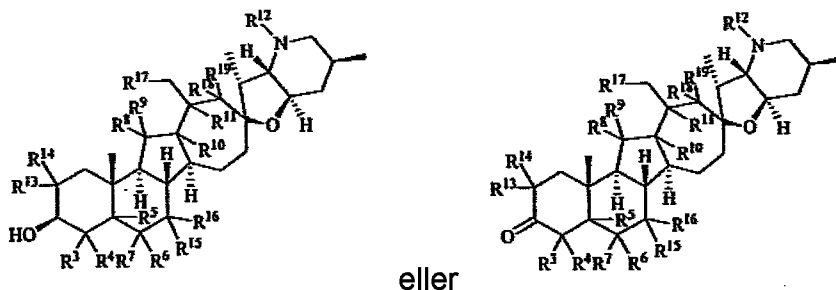


87



og farmasøytisk akseptable salter derav.

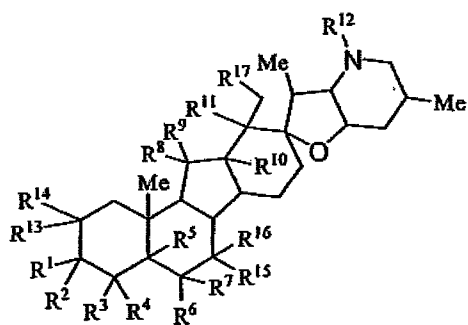
- 5 10. Forbindelse ifølge krav 1,
karakterisert ved at den har formelen:



eller et farmasøytisk akseptable salt derav, hvor R³-R¹⁹ er som definert i krav 1.

- 10 11. Forbindelse ifølge krav 10, karakterisert ved at R¹² er H.

12. Forbindelse med formel 2:

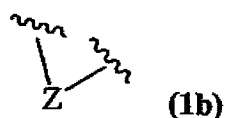


(2)

eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav;

- 15 hvor R¹ og R² er henholdsvis H og OH, eller tatt sammen danner =O;
R³ er H; R⁴-R⁶ er H; eller R⁴ og R⁵ danner en dobbeltbinding og R⁶ er H;
eller R⁴ er H og R⁵ og R⁶ danner en dobbeltbinding;
R⁷, R⁸, R⁹, R¹³-R¹⁷ er H;
R¹⁰ og R¹¹ tatt sammen danner en gruppe med formel (1b)

88



der Z er CH₂;

R¹² H, OH, eller alkyl eventuelt substituert med minst en gruppe valgt fra halogen, hydroksyl, dialkylamino, og aryl eventuelt substituert med aryloksy; eller
 5 R¹² er [(W)-NH-C(O)-]_qR²¹, -[(W)-NH-SO₂-]_qR²¹ eller -[(W)-O]_qR²¹ hvor W er alkylen, q er et helt tall fra 1-6 og R²¹ er H, alkyl eller aralkyl.

13. Forbindelse ifølge krav 12,

10 k a r a k t e r i s e r t v e d a t R¹ er hydroksyl; eller R¹ og R² tatt sammen, sammen med karbonatomet hvortil de er bundet, danner -C(O)-.

14. Forbindelse ifølge krav 12,

k a r a k t e r i s e r t v e d a t R⁴ og R⁵ tatt sammen danner en dobbeltbinding.

15. Forbindelse ifølge krav 14,

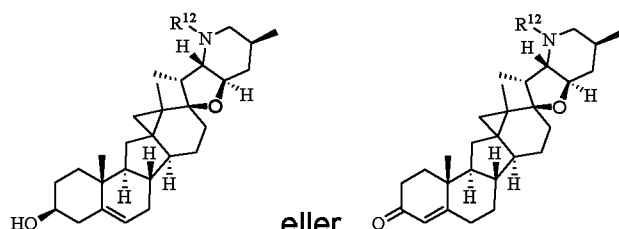
15 k a r a k t e r i s e r t v e d a t R¹ og R² tatt sammen, sammen med karbonatomet hvortil de er bundet, danner -C(O)-.

16. Forbindelse ifølge krav 15,

20 k a r a k t e r i s e r t v e d a t R¹ er hydroksyl og R² er H.

17. Forbindelse ifølge krav 12,

k a r a k t e r i s e r t v e d a t den har formelen



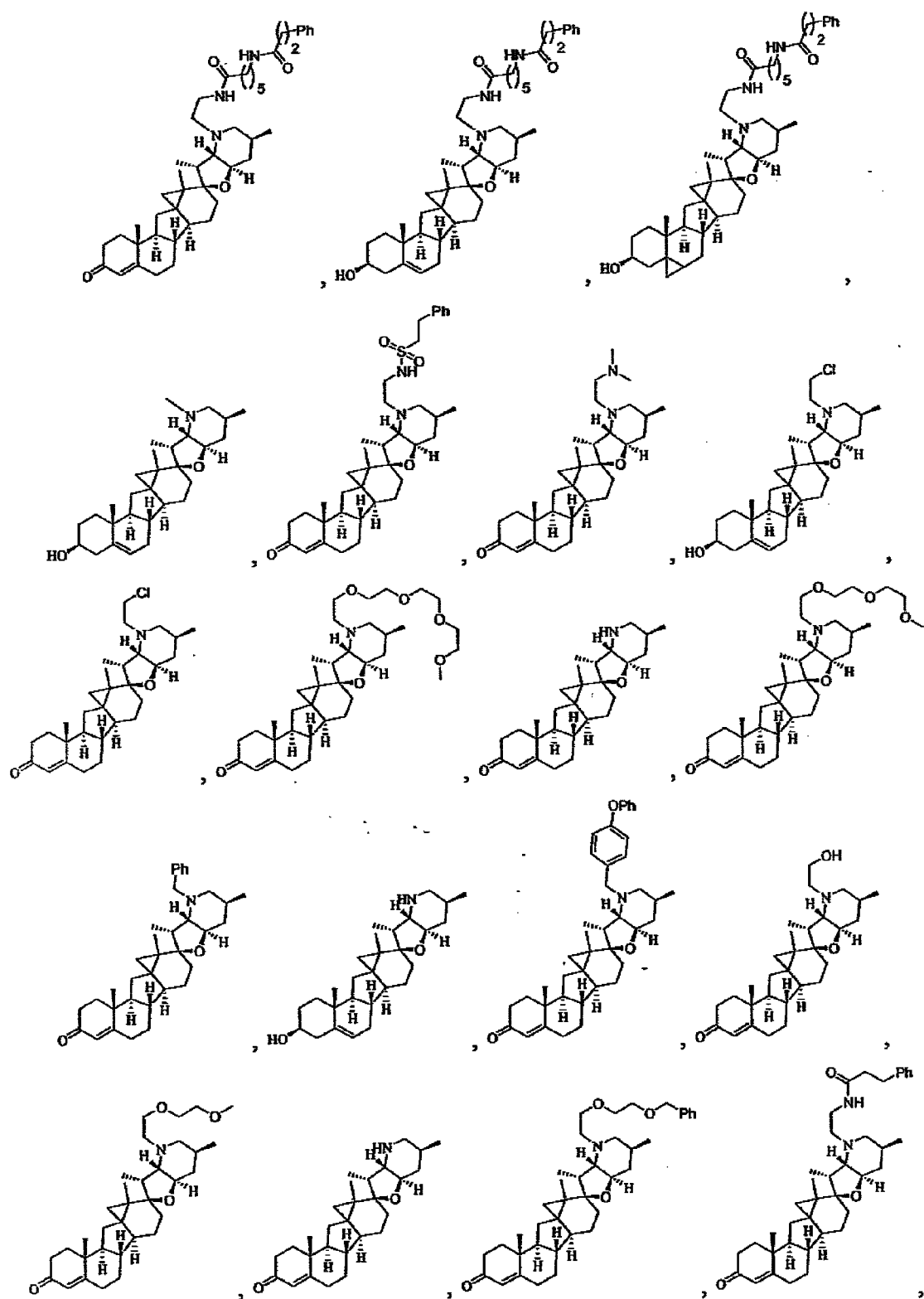
hvor:

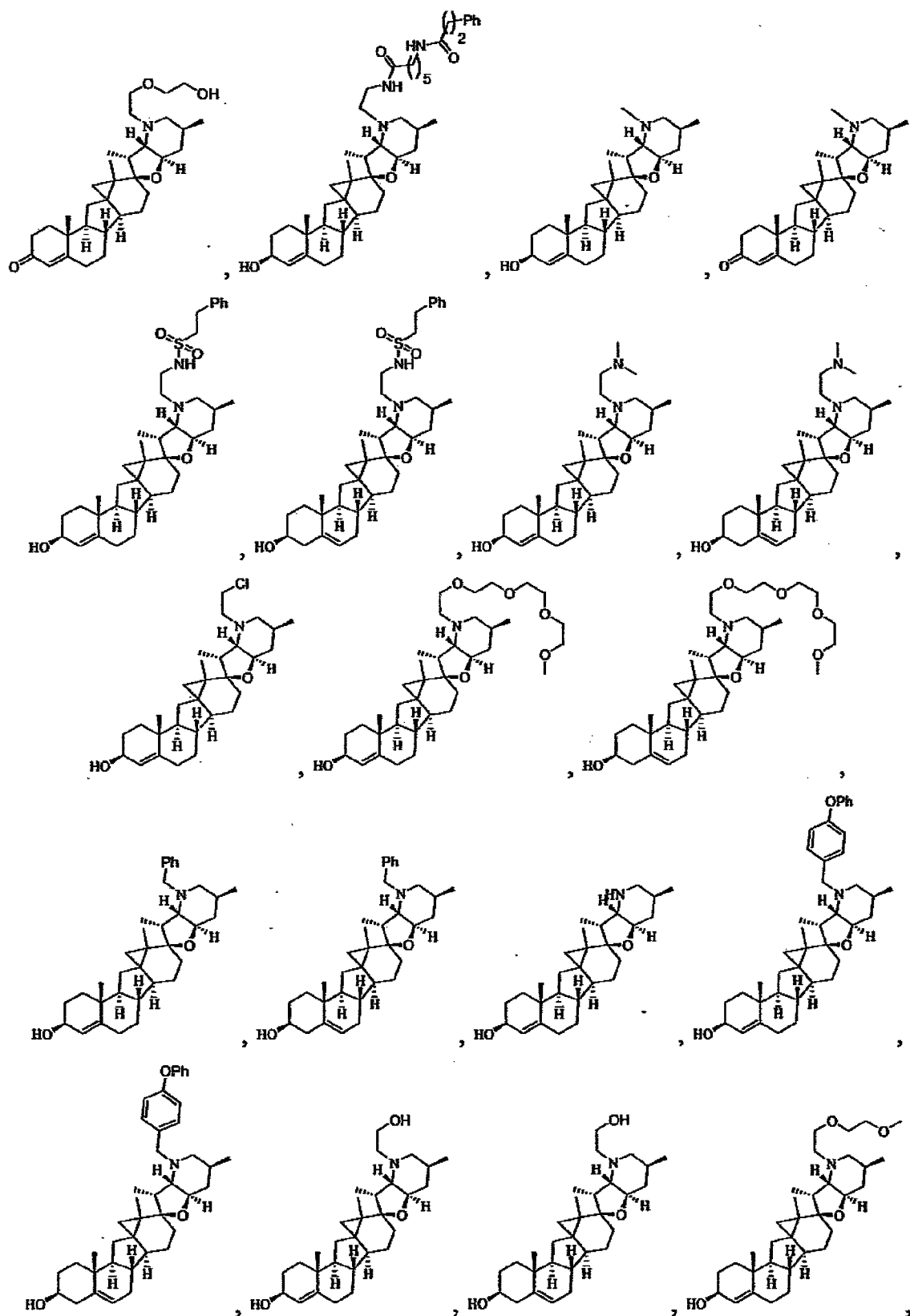
R^{12} er H, OH, eller alkyl eventuelt substitueret med minst en gruppe valgt fra halogen, hydroksyl, dialkylamino og aryl eventuelt substitueret med aryloksy; eller

5 R^{12} er $[(W)-NH-C(O)-]_q R^{21}$, $[(W)-NH-SO_2-]_q R^{21}$ eller $[(W)-O]_q R^{21}$ hvor W er alkyl, q er et helt tal fra 1-6, og R^{21} er H, alkyl eller aralkyl.

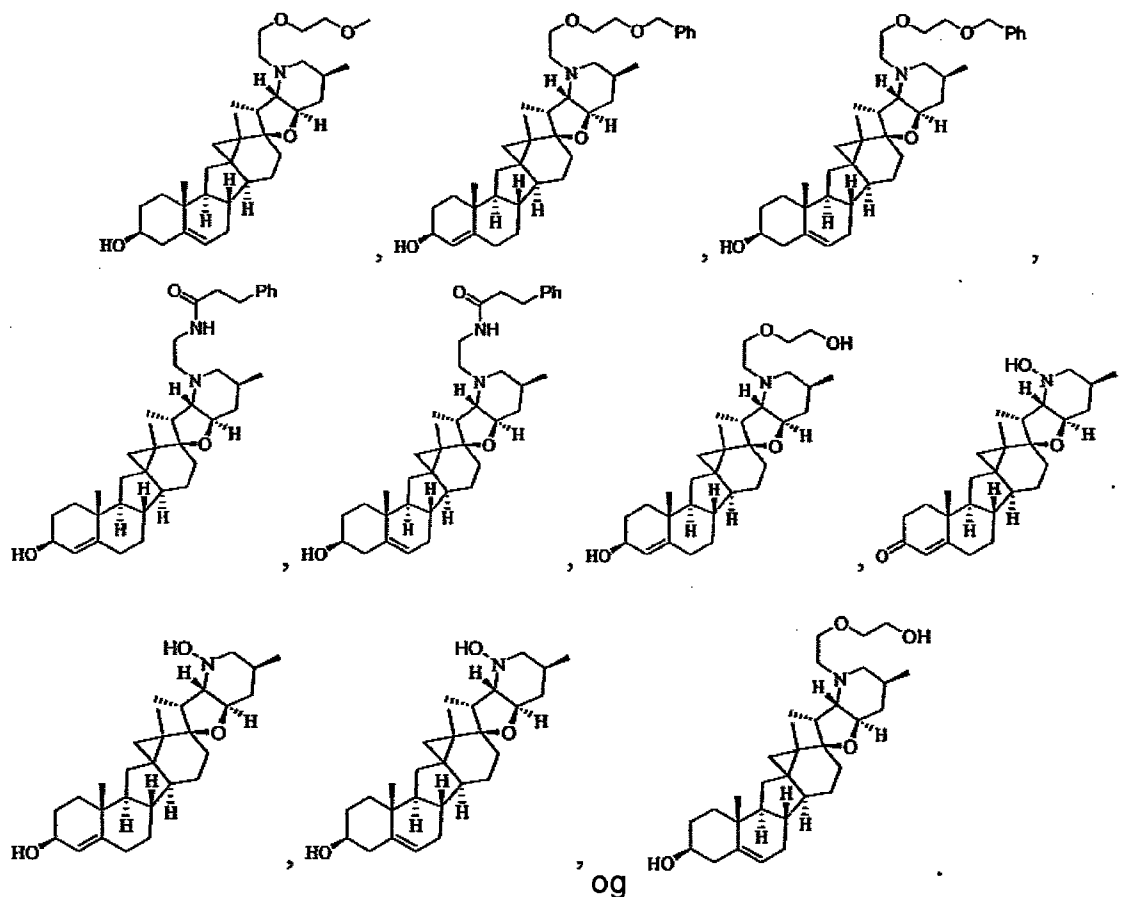
18. Forbindelse ifølge krav 12,

karakteriseret ved at den er valgt fra gruppen bestående af:



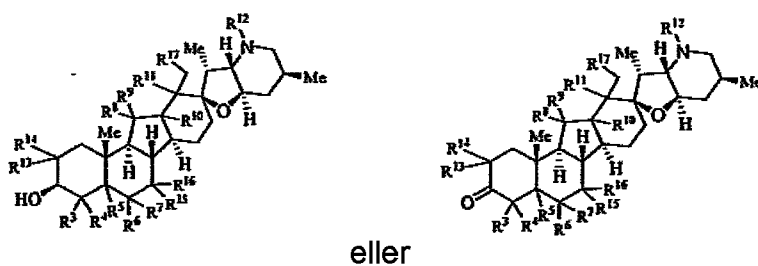


92



og farmasøytisk akseptable salter derav.

- 5 19. Forbindelse ifølge krav 12,
karakterisert ved at den har formelen



og farmasøytisk akseptable salter derav.

- 10 20. Farmasøytisk sammensetning,
karakterisert ved at den omfatter en forbindelse ifølge et hvilket som
helst av kravene 1-19, og en farmasøytisk akseptabel eksipient.

21. Anvendelse av en eller flere av forbindelsene ifølge et hvilket som helst av kravene 1-19 for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning for behandling av cancer.
- 5 22. Anvendelse ifølge krav 21, idet canceren er beliggende i hode, nakke, nasalhulrommet, paranasal sinus, nasofarynks, oralhulrom, orofarynks, larynks, hypofarynks, spyttkjertler, paragangliomer, pankreas, mage, hud, spiserør, lever og galletr, ben, tarm, tykktarm, rektum, ovarier, prostata, lunge, bryst, lymfesystem, blod, benmarg, sentralnervesystem eller hjerne.
- 10 23. Anvendelse ifølge krav 21, idet canceren er basalcellekarsinom, pankreatisk cancer, sarkom, lymfom, leukemi, akutt lymfocytisk leukemi, kronisk lymfocytisk leukemi, kronisk myeloid leukemi, gastrointestinal stromatumor, gastrisk cancer, esofagial cancer, biliærcancer, tarmcancer, multippel myelom, 15 nyrecancer, lungecancer, melanom, neuroektodermale tumorer, non-Hodkin's type lymfom, osteosarkom, ovariecancer, testikkelcancer, småcelle lungecancer, gliom, brystcancer, hepatocellulær cancer eller meduloblastom.
- 20 24. Anvendelse ifølge krav 21, idet forbindelsen blir anvendt i kombinasjon med bestrålingsterapi eller annen anti-cancer kjemoterapeutisk middel.
- 25 25. Anvendelse ifølge krav 21, idet forbindelsen administreres lokalt til en tumor eller systemisk.
26. Anvendelse ifølge krav 21, idet administreringsmåten til nevnte forbindelse er inhalering, oral, intravenøs, sublingual, okkulær, transdermal, rektal, vaginal, topisk, intramuskulær, intraarteriell, intratekal, subkutan, bukkal eller nasal.
- 30 27. Anvendelse ifølge krav 21, idet administreringsmåten er oral, intravenøs eller topisk.

28. Anvendelse av en hvilken som helst av nevnte forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1-19 for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning for behandling av psoriasis i et individ.

- 5 29. Anvendelse ifølge krav 28, idet administreringsmåten til nevnte forbindelse er topisk.