



(12) **PATENT**

(11) **342678**

(13) **B1**

NORGE

(19) NO

(51) Int Cl.

C07D 217/26 (2006.01)

C07D 417/12 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

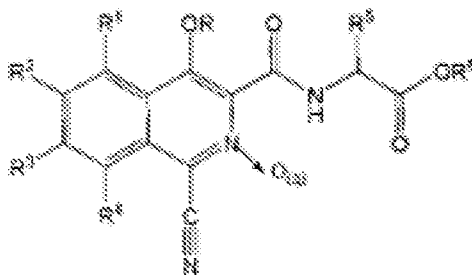
A61K 31/472 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20083658	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2007.01.26 PCT/US2007/061171
(22)	Inng.dag	2008.08.25	(85)	Videreføringsdag	2008.08.25
(24)	Løpedag	2007.01.26	(30)	Prioritet	2006.01.27, US, 60/762,780
(41)	Alm.tilgj	2008.10.27			
(45)	Meddelt	2018.06.25			
(73)	Innehaver	FibroGen Inc, 225 Gateway Boulevard, US-CA94080 SOUTH SAN FRANCISCO,, USA Wen-Bin Ho, 1148 South Springer Road, US-CA94024 LOS ALTOS, USA Eric D Turtle, 2703 Monserat Avenue, US-CA94002 BELMONT, USA Michael P Arend, 736 Bounty Drive, Apt. 3604, US-CA94404 FOSTER CITY, USA Lee A Flippin, 17659 Skyline Boulevard, US-CA94062 WOODSIDE, USA Min Wu, 1039 Yorktown Drive, US-CA94087 SUNNYVALE, USA Shaojiang Deng, 3133 Casa de Campo No. 305, US-CA94403 SAN MATEO, USA ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vik, 0125 OSLO, Norge			
(72)	Oppfinner				
(74)	Fullmektig				
(54)	Benevnelse	Cyanoisokinolinforbindelser, farmasøytisk sammensetning som inneholder slike og anvendelse derav			
(56)	Anførte publikasjoner	WO 2004108681 A			
(57)	Sammendrag				

Foreliggende oppfinnelse angår cyanoisokinolinforbindelser egnet for anvendelse ved behandling av hypoksiinduserbar faktormedierte og/eller erythropoietinassosierte tilstander.

Cyanoisokinolinforbindelsene ifølge oppfinnelsen har følgende struktur:



Foreliggende oppfinnelse angår forbindelser som er i stand til å redusere hypoksiinduserbar faktor (HIF) hydroksylaseenzymaktivitet, som derved øker stabiliteten og/eller aktiviteten til HIF. Særlig øker forbindelsene endogen erythropoetin, *ex vivo* og *in vivo*.

5

Hypoksiinduserbar faktor (HIF) er en grunnleggende heliks-loop-heliks (bHLH) PAS (Per/Arnt/Sim) transkripsjonsaktivator som medierer forandringer i genekspresjon som respons på forandringer i cellulær oksygenkonsentrasjon. HIF er en heterodimer som inneholder en oksygenregulert α -enhet (HIF α) og en konstitutivt uttrykt β -underenhet (HIF β) også kjent som arylhydrokarbonreseptor nukleær transporter (ARNT). I oksygenerte (normoksiske) celler blir HIF α -underenheter raskt brutt ned med en mekanisme som involverer allesteds nærværenhet av von Hippel-Lindau-tumorsuppressor (pVHL) E3-ligasekomplekser. Under hypoksiske betingelser blir HIF α ikke brutt ned og et aktivt HIF α/β -kompleks akkumulerer i kjernen og aktiverer ekspresjon av flere gener som inkluderer glykolytiske enzymer, glukosetransportere, erythropoietin (EPO) og vaskulær endotel vekstfaktor (VEGF). (Jiang, *et al.*, (1996) J. Biol. Chem., 271:17771-17778; Iliopoulos, *et al.*, (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93:10595-10599; Maxwell, *et al.*, (1999), Nature, 399:271-275; Sutter, *et al.*, (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97:4748-4753; Cockman, *et al.*, (2000) J. Biol. Chem., 275:25733-25741; og Tanimoto, *et al.*, (2000) EMBO. J. 19:4298-4309).

Nivåer av HIF α blir hevet i de fleste celler som respons på hypoksi og HIF α blir induert *in vivo* når dyr utsettes for anemi eller hypoksi. HIF α -nivåer heves i løpet av få timer etter utbrudd av hypoksi, og induserer et antall fordelaktige cellulære prosesser som inkluderer cytopbeskyttende effekter, økt erythropoesi og fysiologisk tilpasning til iskemi eller hypoksiske tilstander. Induksjon av HIF α er potensielt fordelaktig i tilstander slik som myokardisk akutt iskemi og tidlig infarkt, lungehypertensjon, inflammasjon og anemi.

HIF α -nivåer økes også av et antall faktorer som etterligner hypoksi, som inkluderer jernchelatorer slik som desferrioksamin (DFO) og divalente metallsalter slik som CoCl₂. I tillegg har forbindelser opprinnelig identifisert som inhibitorer av prokollagen prolylhydroksylaseenzymer blitt funnet å stabilisere HIF α . Eksempler på slike forbindelser kan for eksempel finnes i Majumaa *et al.* (1984) Eur J Biochem 138:239-245; Majumaa *et al.* (1985) Biochem J 229:127-133; Kivirikko og Myllyharju (1998) Matrix Biol 16:357-368; Bickel *et al.* (1998) Hepatology 28:404-411; Friedman *et al.*

35

(2000) Proc Natl Acad Sci USA 97:4736-4741; Franklin (1991) Biochem Soc Trans 19:812-815; og Franklin *et al.* (2001) Biochem J 353:333-338. I tillegg har forbindelser som stabiliserer HIF α blitt beskrevet i internasjonal publikasjonsnr. WO 03/049686, WO 02/074981, WO 03/080566, WO 2004/108681 og WO 2006/094292.

5

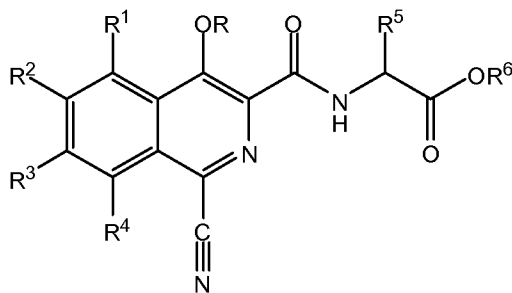
Det er behov for forbindelser som er effektive når det gjelder å hindre forstyrrelser assosiert med HIF, som inkluderer anemi, og vevsskade forårsaket av iskemi som forekommer for eksempel på grunn av aterosklerose, diabetes og lungesykdommer slik som lungeembolisme og lignende. Således er forbindelser som modulerer HIF, som kan anvendes for behandling og hindring av HIF-assosierte forstyrrelser som inkluderer tilstander som involverer anemi, iskemi og hypoksi, tilveiebrakt heri.

10

Foreliggende oppfinnelse angår nye forbindelser for å modulere hydroksylering av HIF α og/eller øke endogent erythropoietin (EPO). Særlig angår foreliggende oppfinnelse isokinolinforbindelser med en cyanogruppe i C-1-posisjonen, hvilke forbindelser øker produksjonen av endogent EPO (se for eksempel Tabell I).

15

I et aspekt tilveiebringer foreliggende oppfinnelse forbindelser med formel I:



20

I

hvor:

R er hydrogen;

25

R¹, R², R³ og R⁴ er uavhengig valgt fra gruppen som består av hydrogen, C₁₋₁₀ alkyl eventuelt substituert med aryl, og -OR⁷, hvori R⁷ er valgt fra gruppen som består av

C₆₋₁₂ aryl eventuelt substituert med halo eller C₁₋₁₀ alkoksy, og heteroaryl med fra 1 til 15 karbonatomer og 1 til 4 heteroatomer valgt fra gruppen som består av oksygen, nitrogen og svovel, substituert med C₁₋₁₀ alkyl eller C₁₋₁₀ dialkylamino; og

5 R⁵ og R⁶ er hydrogen;

eller et farmasøytisk akseptabelt salt, tautomer, stereoisomer eller solvat derav.

10 Oppfinnelsen tilveiebringer også farmasøytiske sammensetninger som innbefatter en eller flere forbindelser med formel I, og en farmasøytisk akseptabel eksipient. I noen utførelsesformer innbefatter sammensetningen ytterligere minst et ytterligere terapeutisk middel. I noen utførelsesformer er middelet valgt fra gruppen som består av vitamin B12, jernsulfat, folsyre og/eller erytropoietin eller et erytropoiesestimulerende protein (ESP).

15

Det beskrives også fremgangsmåter for inhibering av aktiviteten til minst et HIF-hydroksylaseenzym, hvor fremgangsmåten innbefatter å bringe i kontakt HIF-hydroksylaseenzymet og en inhiberende effektiv mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen. I en utførelsesform er HIF-hydroksylaseenzymet en
20 asparaginyldhydroksylase slik som Faktorinhiberende HIF (FIH). I en annen utførelsesform er HIF-hydroksylaseenzymet en prolyldhydroksylase som inkluderer, men er ikke begrenset til, en HIF-prolyldhydroksylase valgt fra gruppen som består av human EGLN1, EGLN2 eller EGLN3, eller et ortologt enzym fra en annen art.

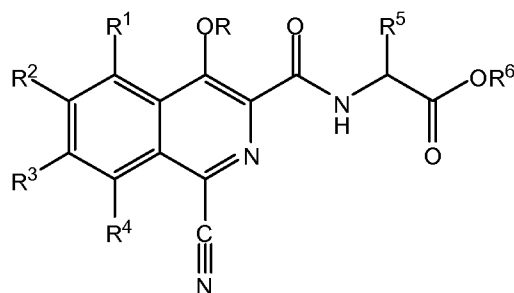
25 Det beskrives også fremgangsmåter for behandling, forbehandling eller forsinke utbruddet av en tilstand assosiert med eller mediert i det minste delvis av hypoksiinduserbar faktor (HIF), hvor fremgangsmåten innbefatter administrering til en pasient av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse med formel I, eller en farmasøytisk sammensetning fremstilt derfra. I en utførelsesform er tilstanden assosiert
30 med eller mediert av HIF vevsskadeassosiert med iskemi eller hypoksi. I et aspekt er iskemien en akutt iskemisk hendelse som inkluderer, men er ikke begrenset til, en akutt iskemisk hendelse valgt fra gruppen som består av myokardisk infarkt, lungeembolisme, intestinalt infarkt, iskemisk slag og renal iskemi-reperfusjonsskade. I et annet aspekt er iskemien en kronisk iskemisk hendelse som inkluderer, men er ikke
35 begrenset til, en kronisk, iskemisk hendelse valgt fra gruppen som består av hjertecirrhose, makulær degenerering, kronisk nyresvikt og kongestiv hjertesvikt.

Det beskrives også fremgangsmåter for behandling, forhåndsbehandling eller
forsinking av utbruddet av en tilstand assosiert med eller mediert, i det minste delvis
av, erythropoietin (EPO), hvor fremgangsmåten innbefatter administrering til en pasient
5 en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse med formel I, eller en farmasøytisk
sammensetning fremstilt derfra.

Det beskrives også fremgangsmåter for behandling, forbehandling eller forsinkning av
utbruddet av anemi, hvor fremgangsmåten innbefatter administrering til en pasient en
10 terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse med formel I, eller en farmasøytisk
sammensetning fremstilt derfra.

Før foreliggende sammensetninger og fremgangsmåter beskrives, er det å forstå at
oppfinnelsen ikke er begrenset til de bestemte metodologiene, protokollene, cellelinjene,
15 undersøkelsene og reagensene beskrevet, idet disse kan variere. Det er også å forstå at
terminologien anvendt heri er tiltenkt for å beskrive særlige utførelsesformer ifølge
oppfinnelsen, og er på ingen måte tiltenkt å begrense omfanget av oppfinnelsen slik den
er fremsatt i vedlagte krav.

20 Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer forbindelser representert ved formel I:



I

hvor:

25

R er hydrogen;

R¹, R², R³ og R⁴ er uavhengig valgt fra gruppen som består av hydrogen, C₁₋₁₀ alkyl
eventuelt substituert med aryl, og -OR⁷, hvori R⁷ er valgt fra gruppen som består av

C₆₋₁₂ aryl eventuelt substituert med halo eller C₁₋₁₀ alkoksy, og heteroaryl med fra 1 til 15 karbonatomer og 1 til 4 heteroatomer valgt fra gruppen som består av oksygen, nitrogen og svovel, substituert med C₁₋₁₀ alkyl eller C₁₋₁₀ dialkylamino; og

5 R⁵ og R⁶ er hydrogen;

eller et farmasøytisk akseptabelt salt, tautomer, stereoisomer eller solvat derav.

10 I noen utførelsesformer tilveiebringer oppfinnelsen forbindelser med formel I, hvori minst to av R¹, R², R³ og R⁴ er hydrogen.

I noen utførelsesformer er R¹, R², R³ og R⁴ valgt fra hydrogen, benzyl, fenoksy, 4-fluorfenoksy, 3-metoksyfenoksy, 2-metylbenzotiazol-6-yloksy og 2-dimetylaminobenzoosazol-5-yloksy. I særlige utførelsesformer er R¹, R², R³ og R⁴ 15 valgt fra hydrogen, fenoksy og 4-halofenoksy.

I noen utførelsesformer er R¹ og R² hydrogen. I andre utførelsesformer er R³ og R⁴ hydrogen. I andre utførelsesformer er R² og R³ hydrogen. I andre utførelsesformer er R¹ og R⁴ hydrogen. I andre utførelsesformer er R¹, R², R³ og R⁴ hydrogen.

20

I ytterligere andre utførelsesformer er R², R³ og R⁴ hydrogen. I særlige utførelsesformer hvori R², R³ og R⁴ er hydrogen, er R¹ fenyl, fenoksy eller 4-fluorfenoksy.

25 Forbindelsene ifølge oppfinnelsen inkluderer, men er ikke begrenset til, følgende forbindelser:

{[1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre,
 {[1-cyano-4-hydroksy-7-fenoksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre,
 {[1-cyano-7-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre,
 30 {[1-cyano-4-hydroksy-8-fenoksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre,
 [(1-cyano-4-hydroksy-6-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre,
 {[1-cyano-4-hydroksy-8-(3-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre,
 [(7-benzyl-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre,
 {[1-cyano-5-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre,
 35 {[1-cyano-4-hydroksy-6-(2-metylbenzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre, og

{[1-cyano-6-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre.

Det vil være selvsagt for fagmannen at mange av utførelsesformene beskrevet ovenfor
 5 ikke er innbyrdes eksklusive og kan kombineres for å gi ytterligere spesifikke
 utførelsesformer ifølge oppfinnelsen. Slike spesifikke utførelsesformer er spesifikt
 omfattet heri. Tilsvarende kan de uselvstendige kravene gjøres avhengige av et hvilket
 som helst foregående krav, forutsatt at utførelsesformene som er beskrevet ikke er
 gjensidig eksklusive.

10

Det er å forstå at slik det anvendes heri, og i de vedlagte kravene inkluderer
 enkeltformene "en", "ei" og "et" flertallsreferanser med mindre sammenhengen klart
 dikterer noe annet.

15 Med mindre annet er definert, har alle tekniske og vitenskapelige uttrykk anvendt heri
 samme betydninger som de som vanligvis forstås av fagmannen som oppfinnelsen
 tilhører. Selv om eventuelle fremgangsmåter og materialer tilsvarende ekvivalenter
 med de som er beskrevet heri kan anvendes ved utøvelse eller testing av foreliggende
 oppfinnelse, er de foretrukne fremgangsmåtene, innretningene og materialene som
 20 beskrevet. Alle publikasjoner sitert her er innbefattet heri med referanse i deres helhet
 for formålet å beskrive og fremlegge metodologiene, reagensene og verktøyene
 rapportert i publikasjonene som kan anvendes i forbindelse med oppfinnelsen.
 Ingenting heri er konstruert som en innrømmelse av at oppfinnelsen ikke er angitt for å
 antedere slik beskrivelse fra tidligere oppfinnelse.

25

Utførelse av oppfinnelsen vil anvende, med mindre annet er indikert, vanlige
 fremgangsmåter innen kjemi, biokjemi, molekylær biologi, cellebiologi, genetikk,
 immunologi og farmakologi, slik det er kjent for fagmannen. Slike teknikker er
 beskrevet fullt ut i litteraturen (se for eksempel Gennaro, A.R., red. (1990) Remington's
 30 Pharmaceutical Sciences, 18. utg., Mack Publishing Co.; Colowick, S. *et al.*, red.,
 Methods In Enzymology, Academic Press, Inc.; D.M. Weir, og C.C. Blackwell, red.
 (1986) Handbook of Experimental Immunology, Vol. I-IV (Blackwell Scientific
 Publications); Maniatis, T. *et al.*, red. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory
 Manual, 2. utgave, Vol. I-III, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, F. M. *et*
 35 *al.*, red. (1999) Short Protocols in Molecular Biology, 4. utgave, John Wiley & Sons;
 Ream *et al.*, red. (1998) Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory

Course, Academic Press; Newton & Graham, red., 1997 PCR (Introduction to Biotechniques Series), 2. utg. (Springer Verlag).

Begrepet “anemi”, slik det anvendes heri, refererer til en hvilken som helst abnormalitet i hemoglobin eller erytrocytter som fører til reduserte oksygennivåer i blodet. Anemi kan være assosiert med abnormal produksjon, prosessering eller oppførsel av erytrocytter og/eller hemoglobin. Begrepet anemi refererer til en hvilken som helst reduksjon i antallet røde blodceller og/eller nivået av hemoglobin i blod relativt til normale blodnivåer.

Anemi kan oppstå på grunn av tilstander slik som akutt eller kronisk nyresykdom, infeksjoner, inflammasjon, kreft, bestråling, toksiner, diabetes og kirurgi. Infeksjoner kan for eksempel være på grunn av virus, bakterie og/eller parasitter etc. Inflammasjon kan være på grunn av infeksjon eller autoimmune forstyrrelser, slik som reumatoid artritt etc. Anemi kan også være assosiert med blodtap på grunn av for eksempel mageulcer, tolvfingertarm ulcer, hemorrider, kreft i mage eller tykktarm, traume, skade, kirurgiske inngrep etc. Anemi er videre assosiert med strålebehandling, kjemoterapi og nyredialyse. Anemi er også assosiert med HIV-rammede pasienter som gjennomgår behandling med azidotymidin (zidovudin) eller andre reverse transkriptaseinhibitorer og kan utvikles hos kreftpasienter som gjennomgår kjemoterapi, for eksempel med sykliske cisplatin- eller ikke-cisplatininnholdende kjemoterapeutiske midler. Aplastisk anemi og myelodysplastiske syndromer er sykdommer assosiert med benmargssvikt som resulterer i redusert produksjon av erytrocytter. Videre kan anemi komme som resultat av defekt eller abnormal hemoglobin eller erytrocytter, slik som vevsforstyrrelser som inkluderer mikrocyttisk anemi, hypokromisk anemi, etc. Anemi kan komme som resultat fra forstyrrelser vedrørende jerntransport, prosessering og anvendelse, se for eksempel sideroblastisk anemi, etc.

Begrepene ”forstyrrelser”, ”sykdommer” og ”tilstander” anvendes inklusivt og refererer til en hvilken som helst tilstand som avviker fra det normale.

Begrepene ”anemiske tilstander” og ”anemiske forstyrrelser” refererer til en hvilken som helst tilstand, sykdom eller forstyrrelse assosiert med anemi. Slike forstyrrelser inkluderer, men er ikke begrenset til, de forstyrrelsene som er listet ovenfor. Anemiske forstyrrelser inkluderer ytterligere, men er ikke begrenset til, aplastisk anemi, autoimmun, hemolyttisk anemi, benmargs trnasplantasjon, Churg-Strauss-syndrom,

Diamond Blackfan anemi, Fanconis anemi, Felty-syndrom, transplantasjon versus
 vertssykdom, hematopoietisk stamcelletransplantasjon, hemolyttisk uremisk syndrom,
 meylodysplastisk syndrom, nokturnal paroksysmal hemoglobinuri, osteomyelofibrose,
 pancytopeni, ren rød celleaplasti, purpura Schoenlein-Henoch, sideroblastisk anemi,
 5 refraktær anemi med overskudd av støt, reumatoid artritt, Shwachman syndrom,
 sikelcelle sykdom, større thalassemi, mindre thalassemi, trombocytopeni purpura, etc.

Begrepet "erytropoietinassosierte tilstander" anvendes heri inklusivt og refererer til en
 hvilken som helst tilstand assosiert med under normal, abnormal eller ikke-passende
 10 modulering av erytropoietin. Erytropoietinassosierte tilstander inkluderer en hvilken
 som helst tilstand hvori en økning i EPO-nivå vil tilveiebringe terapeutisk fordel.
 Nivåer av erytropoietin-assosiert med slike tilstander kan bestemmes ved en hvilken som
 helst metode som er akseptert og anvendes av fagmannen. Erytropoietinassosierte
 tilstander inkluderer anemiske tilstander slik som de som er beskrevet ovenfor.

15 Erytropoietinassosierte tilstander inkluderer ytterligere neurologiske forstyrrelser
 og/eller skader, som inkluderer tilfeller av slag, traume, epilepsi, neurodegenerativ
 sykdom og lignende, hvori erytropoietin kan tilveiebringe en neurobeskyttende effekt.
 Neurodegenerative sykdommer tiltenkt ved foreliggende oppfinnelse inkluderer
 20 Alzheimers sykdom, Parkinsons sykdom, Huntingtons sykdom og lignende.

Begrepet "erytropoietin" refererer til en hvilken som helst rekombinant eller naturlig
 forekommende erytropoietin, eller ESP som for eksempel inkluderer human
 erytropoietin (GenBank aksesjonsnr. AAA52400; Lin *et al.* (1985) Proc Nat'l Acad. Sci
 25 USA 82:7580-7584), EPOETIN human rekombinant erytropoietin (Amgen, Inc.,
 Thousand Oaks CA), ARANESP human rekombinant erytropoietin (Amgen),
 PROCRIT human rekombinant erytropoietin (Ortho Biotech Products, L.P., Raritan
 NJ), glykosylert erytropoietin slik som de som er beskrevet i US patentnr. 6 930 086
 (som er innbefattet med referanse) etc.

30 Begrepet "HIF α " refererer til alfa-underenheten til hypoksiinduserbar faktorprotein.
 HIF α kan være et hvilket som helst humant eller annet pattedyrprotein, eller fragment
 derav, som inkluderer human HIF-1 α (Genbank aksesjonsnr. Q166654), HIF-2 α
 (Genbank aksesjonsnr. AAB41495) og HIF-3 α (Genbank aksesjonsnr. AAD 22668);
 35 murin HIF-1 α (Genbank aksesjonsnr. Q61221), HIF-2 α (Genbank aksesjonsnr.
 BAA20130 og AAB41496), og HIF-3 α (Genbank aksesjonsnr. AAC72734); rotte-HIF-

1 α (Genbank aksesjonsnr. CAA70701), HIF-2 α (Genbank aksesjonsnr. CAB96612), og HIF-3 α (Genbank aksesjonsnr. CAB96611); og bovine-HIF-1 α (Genbank aksesjonsnr. BAA78675). HIF α kan også være et hvilket som helst ikke-pattedyrprotein eller fragment derav, som inkluderer *Xenopus laevis* HIF-1 α (Genbank aksesjonsnr. CAB96628), *Drosophila melanogaster* HIF-1 α (Genbank aksesjonsnr. JC4851), og kylling-HIF-1 α (Genbank aksesjonsnr. BAA34234). HIF α -gensekvenser kan også oppnås ved rutinemessige kloneteknikker, for eksempel ved anvendelse av hele eller del av en HIF α -gensekvens beskrevet ovenfor som en probe for å utvinne og bestemme sekvensen til et HIF α -gen hos en annen art.

10

Et fragment av HIF α inkluderer et hvilket som helst fragment som bibeholder minst en funksjonell eller strukturell karakteristikk til HIF α . Fragmenter av HIF α inkluderer for eksempel regionene definert av human HIF-1 α fra aminosyrene 401 til 603 (Huang *et al.*, ovenfor), aminosyre 531 til 575 (Jiang *et al.* (1997), *J Biol. Chem.*, 272:19253-19260), aminosyre 556 til 575 (Tanimoto *et al.*, ovenfor), aminosyre 557-571 (Srinivas *et al.* (1999), *Biochem Biophys Res. Commun.*, 260:557-561), og aminosyre 556 til 575 (Ivan og Kaelin (2001), *Science*, 292:464-468). Videre inkluderer HIF α -fragmenter et hvilket som helst fragment som inneholder minst en forekomst av motivet LXXLAP. (Se Genbank aksesjonsnr. Q16665).

20

Begrepet "fragment" kan referere til en hvilken som helst del av en sekvens som bibeholder minst en strukturell eller funksjonell karakteristikk av proteinet. Fragmenter er av en hvilken som helst lengde, men er foretrukket ca. 5 til 100 aminosyrer i lengde, særlig ca. 15 til 50 aminosyrer i lengde, og mer særlig ca. 20 aminosyrer i lengde. Der "aminosyresekvens" anvendes for å referere til polypeptidsekvensen til et naturlig forekommende proteinmolekyl, er "aminosyresekvens" og lignende begreper ikke ment å begrense aminosyresekvensen til den fullstendige opprinnelige sekvensen assosiert med det angitte proteinmolekylet.

25

Begrepet "relaterte proteiner", slik det anvendes heri, refererer for eksempel til proteiner relatert til HIF α -prolylhydroksylase, omfatter andre 2-oksoglutaratdioksygenaseenzymer, særlig de familiemedlemmene som tilsvarende krever Fe²⁺, 2-oksoglutarat og oksygen, for å opprettholde hydroksylaseaktivitet. Slike enzymer inkluderer, men er ikke begrenset til, for eksempel prokollagen lysylhydroksylase, prokollagen propyl-4-hydroksylase og faktorinhiberende HIF (FIH), en asparaginyhydroksylase ansvarlig for regulering av transaktivering av HIF α .

30

35

(Genbank aksesjonsnr. AAL27308; Mahon *et al.* (2001), *Genes Dev*, 15:2675-2686; Lando *et al.* (2002), *Science*, 295:858-861; og Lando *et al.* (2002), *Genes Dev*, 16:1466-1471. Se også Elkins *et al.* (2002), *J Biol Chem*, C200644200, *etc.*).

- 5 Begrepet "HIF-hydroksylase" refererer til et hvilket som helst enzym som modifiserer α -underenheten til HIF ved hydroksylering av et eller flere aminosyreresiduer. HIF-hydroksylaser inkluderer faktorinhiberende HIF (FIH) (Genbank aksesjonsnr. AAL27308; Mahon *et al.* (2001), *Genes Dev*, 15:2675-2686; Lando *et al.* (2002), *Science*, 295:858-861; og Lando *et al.* (2002), *Genes Dev*, 16:1466-1471, som
- 10 modifiserer minst et asparaginresidu funnet i HIF α . (Se også Elkins *et al.* (2002), *J Biol Chem*, C200644200). HIF-hydroksylaser inkluderer også HIF-prolylhydroksylaser (HIF PHer) som modifiserer prolinresiduer funnet i HIF α .

- Begrepe "HIF-prolylhydroksylase" og "HIF PH" refererer til et hvilket som helst
- 15 enzym i stand til å hydroksylere et prolinresidu i HIF-proteinet. Foretrukket inkluderer prolinresiduet hydroksylert med HIF PH, prolinet funnet i motivet LXXLAP. HIV PH inkluderer medlemmer av Egl-Nine (EGLN) genfamilien beskrevet av Taylor (2001, *Gene*, 275:125-132), og karakterisert av Aravind og Koonin (2001, *Genome Biol*, 2: RESEARCH 0007), Epstein *et al.* (2001, *Cell*, 107:43-54), og Bruick og McKnight
- 20 (2001, *Science*, 294:1337-1340). Eksempler på HIF PH-enzymmer inkluderer human SM-20 (EGLN1) (Genbank aksesjonsnr. AAG33965; Dupuy *et al.* (2000), *Genomics*, 69:348-54), EGLN2 isoform 1 (Genbank aksesjonsnr. CAC42510; Taylor, ovenfor), EGLN2 isoform 2 (Genbank aksesjonsnr. NP_060025), og EGLN3 (Genbank aksesjonsnr. CAC42511; Taylor, ovenfor); muse-EGLN1 (Genbank aksesjonsnr.
- 25 CAC42515), EGLN2 (Genbank aksesjonsnr. CAC42511), og EGLN3 (SM-20) (Genbank aksesjonsnr. CAC42517); og rotte-SM-20 (Genbank aksesjonsnr. AAA19321). I tillegg kan HIF PH inkludere *Caenorhabditis elegans* EGL-9 (Genbank aksesjonsnr. AAD56365) og *Drosophila melanogaster* CG1114 genprodukt (Genbank aksesjonsnr. AAF52050). HIF PH inkluderer også en hvilken som helst del av de
- 30 foregående fullengde proteinene som bibeholder minst en strukturell eller funksjonell karakteristikk.

- Begrepet "eksipient", slik det anvendes heri, betyr en inert eller inaktiv substans anvendt ved produksjon av farmasøytiske produkter eller andre tabletter, som
- 35 inkluderer, uten begrensning, en hvilken som helst substans anvendt som et bindemiddel, desintegreringsmiddel, belegningsmiddel, sammenpresning/innkapslings

hjelpe­middel, krem eller lotion, smøremiddel, parenteralt middel, søtningsstoff eller smaksstoff, suspenderings/geleringsmiddel eller våtgranuleringsmiddel. Bindemidler inkluderer for eksempel karbopol, povidon, xantan gummi, etc.; belegningsmidler inkluderer for eksempel celluloseacetatftalat, etylcellulose, gellan gummi, maltodekstrin, etc.; kompresjon/innkapslingshjelpe­midler inkluderer for eksempel kalsiumkarbonat, dekstrose, fruktose dc, honning dc, laktose (anhydrat eller monohydrat; eventuelt i kombinasjon med aspartam, cellulose eller mikrokrySTALLinsk cellulose), stivelse dc, sukkrose etc.; desintegreringsmidler inkluderer for eksempel kroskarmellosenatrium, gellan gummi, natriumstivelsesglykolat etc.; kremer og lotioner inkluderer for eksempel maltodekstrin, carrageenaner etc.; smøremidler inkluderer for eksempel magnesiumstearat, stearinsyre, natriumstearyl­fumarat etc.; materialer for tyggbare tabletter inkluderer for eksempel dekstrose, fruktose dc, laktose, monohydrat, eventuelt i kombinasjon med aspartam eller cellulose), etc.; parenterale midler inkluderer for eksempel mannitol, povidon, etc.; mykgjørere inkluderer for eksempel dibutylsebakat, polyvinylacetatftalat, etc., suspenderingsmidler/geleringsmidler inkluderer for eksempel carrageenan, natriumstivelsesglykolat, xantangummi etc.; søtningsstoffer inkluderer for eksempel aspartam, dekstrose, fruktose dc, sorbitol, sukkrose dc, etc.; og våtgranuleringsmidler inkluderer for eksempel kalsiumkarbonat, maltodekstrin, mikrokrySTALLinsk cellulose etc.

Begrepet ”subjekt” anvendes heri i den bredeste betydningen. Subjekter kan inkludere isolerte celler, enten prokaryote eller eukaryote, eller vev dyrket i kultur. I visse utførelsesformer er et subjekt et dyr, særlig et dyr valgt fra en pattedyrart som inkluderer rotter, kanin, kveg, sauedyr, svinedyr, hundedyr, kattedyr, musedyr, hestedyr og primat, særlig menneske.

Begrepet ”alkyl” refererer til monovalente hydrokarbylgrupper som har fra 1 til 10 karbonatomer, mer særlig fra 1 til 5 karbonatomer, og enda mer særlig 1 til 3 karbonatomer. Begrepet er eksemplifisert ved grupper slik som metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, t-butyl, n-pentyl og lignende.

Begrepet ”substituert alkyl” refererer til en hvilken som helst gruppe med fra 1 til 10 karbonatomer, særlig 1 til 5 karbonatomer, som har fra 1 til 5 substituent, mer særlig 1 til 3 substituent, hvor hver er uavhengig valgt fra gruppen som består av alkyl, alkoksy, substituert alkoksy, acyl, acylamino, acyloksy, amino, substitutert amino,

aminoacyl, aminokarbonylamino, aminotiokarbonylamino, aminokarbonyloksy, aryl, substitutert aryl, aryloksy, substitutert aryloksy, cyano (-CN), halogen, hydroksyl (-OH), nitro (-NO₂), okso (=O), tiokso (=S), karboksyl, karboksylestere, sykloalkyl, substitutert sykloalkyl, tiol, alkyltio, substitutert alkyltio, aryltio, substituert aryltio, 5 sykloalkyltio, substituert sykloalkyltio, heteroaryltio, substituert heteroaryltio, heterosyklisk tio, substituert heterosyklisk tio, heteroaryl, substituert heteroaryl, heterosyklisk, substituert heterosyklisk, sykloalkoksy, substituert sykloalkoksy, heteroaryloksy, substituert heteroaryloksy, heterosyklyloksy, substituert heterosyklyloksy, oksykarbonylamino, oksytiokarbonylamino, -OS(O)₂-alkyl, -OS(O)₂-substituert alkyl, -OS(O)₂-aryl, -OS(O)₂-substituert aryl, OS(O)₂-heteroaryl, -OS(O)₂-substituert heteroaryl, -OS(O)₂-heterosyklisk, -OS(O)₂-substituert heterosyklisk, -NR⁴⁰S(O)₂-alkyl, -NR⁴⁰S(O)₂-substituert alkyl, -NR⁴⁰S(O)₂-aryl, -NR⁴⁰S(O)₂-substituert aryl, -NR⁴⁰S(O)₂-heteroaryl, -NR⁴⁰S(O)₂-substituert heteroaryl, -NR⁴⁰S(O)₂-heterosyklisk, -NR⁴⁰S(O)₂-substituert heterosyklisk, -OSO₂-NR⁴⁰R⁴⁰, 10 -NR⁴⁰S(O)₂-NR⁴⁰-alkyl, -NR⁴⁰S(O)₂-NR⁴⁰-substituert alkyl, -NR⁴⁰S(O)₂-NR⁴⁰-aryl, -NR⁴⁰S(O)₂-NR⁴⁰-substituert aryl, -NR⁴⁰S(O)₂-NR⁴⁰-heteroaryl, -NR⁴⁰S(O)₂-NR⁴⁰-substituert heteroaryl, -NR⁴⁰S(O)₂-NR⁴⁰-heterosyklisk og -NR⁴⁰S(O)₂-NR⁴⁰-substituert heterosyklisk hvor hver R⁴⁰ er uavhengig valgt fra hydrogen eller alkyl.

20 Begrepet "haloalkyl" referer til en alkylgruppe substituert med fra 1 til 5, og særlig 1 til 3 halogenatomer. Foretrukket er halogenatomet fluor eller klor. Egnede haloalkylbestanddeler inkluderer, men er ikke begrenset til, CF₃, -CH₂CF₃.

Begrepet "alkoksy" refererer til gruppen "alkyl-O-" som for eksempel inkluderer 25 metoksy, etoksy, n-propoksy, iso-propoksy, n-butoksy, t-butoksy, sec-butoksy, n-pentoksy og lignende.

Begrepet "substituert alkoksy" refererer til gruppen "substituert alkyl-O".

30 Begrepet "acyl" refererer til gruppene H-C(O)-, alkyl-C(O)-, substituert alkyl-C(O)-, alkenyl-C(O)-, substituert alkenyl-C(O)-, alkynyl-C(O)-, substituert alkynyl-C(O)-, sykloalkyl-C(O)-, substituert sykloalkyl-C(O)-, aryl-C(O)-, substituert aryl-C(O)-, heteroaryl-C(O)-, substituert heteroaryl-C(O), heterosyklisk-C(O)- og substituert heterosyklisk-C(O)-, forutsatt at nitrogenatomet til den heterosykliske forbindelsen eller 35 substituerte heterosykliske forbindelsen ikke er bundet til -C(O)-gruppen, hvori alkyl, substituert alkyl, alkenyl, substituert alkenyl, alkynyl, substituert alkynyl, sykloalkyl,

substituert sykloalkyl, aryl, substituert aryl, heteroaryl, substituert heteroaryl, heterosyklisk og substituert heterosyklisk er som definert heri.

Begrepet "aminoacyl" og prefikset "karbamoyl" eller "karboksamid" eller "substituert karbamoyl" eller "substituert karboksamid" refererer til gruppen $-C(O)NR^{42}R^{42}$ hvor hver R^{42} er uavhengig valgt fra gruppen som består av hydrogen, alkyl, substituert alkyl, alkenyl, substituert alkenyl, alkynyl, substituert alkynyl, aryl, substituert aryl, sykloalkyl, substituert sykloalkyl, heteroaryl, substituert heteroaryl, heterosyklisk og substituert heterosyklisk; og hvori hver R^{42} er bundet for å danne sammen med nitrogenatomet, en heterosyklisk eller substituert heterosyklisk forbindelse hvori alkyl, substituert alkyl, alkenyl, substituert alkenyl, alkynyl, substituert alkynyl, sykloalkyl, substituert sykloalkyl, aryl, substituert aryl, heteroaryl, substituert heteroaryl, heterosyklisk og substituert heterosyklisk er som definert heri.

Begrepet "acyloksy" refererer til bestanddelen $-O$ -acyl, hvori oksygenatomet er bundet til karbonylet ($-C(O)$) til acylbestanddelen.

Begrepet "alkenyl" refererer til en vinylumettet monovalent hydrokarbylgruppe som har fra 2 til 6 karbonatomer, og foretrukket 2 til 4 karbonatomer, og som har minst 1, foretrukket fra 1 til 2 vinyl ($>C=C<$) umettethets seter. Slike grupper er eksemplifisert ved vinyl (eten-1-yl), allyl, but-3-enyl og lignende.

Begrepet "substituert alkenyl" refererer til alkenylgrupper som har fra 1 til 3 substituent, og foretrukket 1 til 2 substituent, valgt fra gruppen som består av alkoksy, substituert alkoksy, acyl, acylamino, acyloksy, amino, substituert amino, aminoacyl, aryl, substituert aryl, aryloksy, substituert aryloksy, cyano, halogen, hydroksyl, nitro, karboksyl, karboksylestere, sykloalkyl, substituert sykloalkyl, heteroaryl, substituert heteroaryl, heterosyklisk og substituert heterosyklisk. Dette begrepet inkluderer både E (cis) og Z (trans)-isomerer, slik det er hensiktsmessig. Det inkluderer også blandinger av både E- og Z-komponenter.

Begrepet "alkynyl" refererer til en acetylinisk umettet, monovalent hydrokarbylgruppe som har fra 2 til 6 karbonatomer, og foretrukket 2 til 3 karbonatomer, og som har minst 1, og foretrukket fra 1 til 2 acetyleniske ($-C\equiv C-$) umettethets seter. Denne gruppen er eksemplifisert ved etyn-1-yl, propyn-1-yl, propyn-2-yl og lignende.

Begrepet "substituert alkynyl" refererer til alkynylgrupper som har fra 1 til 3 substituent, foretrukket 1 til 2 substituent, valgt fra de som er listet for substituert alkenyl.

5 Begrepet "amino" refererer til gruppen --NH_2 .

Begrepet "substituert amino" refererer til gruppen $\text{--NR}^{41}\text{R}^{41}$, hvor hver R^{41} er uavhengig valgt fra gruppen som består av hydrogen, alkyl, substituert alkyl, alkenyl, substituert alkenyl, alkynyl, substituert alkynyl, sykloalkyl, substituert sykloalkyl, aryl, substituert aryl, heteroaryl, substituert heteroaryl, heterosyklisk, substituert heterosyklisk, --SO_2 -alkyl, --SO_2 -substituert alkyl, --SO_2 -alkenyl, --SO_2 -substituert alkenyl, --SO_2 -sykloalkyl, --SO_2 -substituert sykloalkyl, --SO_2 -aryl, --SO_2 -substituert aryl, --SO_2 -heteroaryl, --SO_2 -substituert heteroaryl, --SO_2 -heterosyklisk, --SO_2 -substituert heterosyklisk, forutsatt at begge R^{41} -gruppene ikke er hydrogen; eller R^{41} -gruppen kan
15 være bundet sammen med nitrogenatomet for å danne en heterosyklisk eller substituert heterosyklisk ring.

Begrepet "acylamino" referer til gruppen $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ alkyl, $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ substituert alkyl, $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ sykloalkyl, $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ substituert sykloalkyl, $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ alkenyl, $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ substituert alkenyl, $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ alkynyl, $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ substituert alkynyl, $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ aryl, $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ substituert aryl, $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ heteroaryl, $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ substituert heteroaryl, $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ heterosyklisk og $\text{--NR}^{45}\text{C}(\text{O})$ substituert heterosyklisk, hvor R^{45} er hydrogen eller alkyl og hvori alkyl, substituert alkyl, alkenyl, substituert alkenyl, alkynyl, substituert alkynyl, sykloalkyl, substituert sykloalkyl, aryl, substituert aryl, heteroaryl, substituert heteroaryl, heterosyklisk og substituert heterosyklisk er som
25 definert heri.

Begrepet "karbonyloksyamino" refererer til gruppen $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -alkyl, $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -substituert alkyl, $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -alkenyl, $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -substituert alkenyl, $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -alkynyl, $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -substituert alkynyl, $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -sykloalkyl, $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -substituert sykloalkyl, $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -aryl, $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -substituert aryl, $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -heteroaryl, $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -substituert heteroaryl, $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -heterosyklisk og $\text{--NR}^{46}\text{C}(\text{O})\text{O}$ -substituert heterosyklisk, hvori R^{46} er hydrogen eller alkyl og hvori alkyl, substituert alkyl, alkenyl, substituert alkenyl, alkynyl, substituert alkynyl, sykloalkyl, substituert sykloalkyl, aryl, substituert aryl, heteroaryl, substituert heteroaryl, heterosyklisk og substituert heterosyklisk er som definert heri. Det er å forstå at
35

gruppen ”oksykarbonylamino” refererer til grupper tilsvarende de som akkurat er beskrevet, unntatt at bindingen til oksygen og karbonyl ($-C(=O)-$)-gruppen er byttet om. I tillegg er begrepet ”oksytiokarbonylamino” tilsvarende de som akkurat er beskrevet; imidlertid blir en tiokarbonyl ($-C(=S)-$) anvendt i stedet for et karbonyl.

5

Begrepet ”aminokarbonyloksy” som et prefiks ”karbamoyloksy” eller ”substituert karbamoyloksy” refererer til gruppen $-OC(O)NR^{47}R^{47}$ hvor hver R^{47} er uavhengig valgt fra gruppen som består av hydrogen, alkyl, substituert alkyl, alkenyl, substituert alkenyl, alkynyl, substituert alkynyl, sykloalkyl, substituert sykloalkyl, aryl, substituert aryl, heteroaryl, substituert heteroaryl, heterosyklisk og substituert heterosyklisk; eller hvor
 10 hver R^{47} er bundet for å danne, sammen med nitrogenatomet, en heterosyklisk eller substituert heterosyklisk forbindelse og hvori alkyl, substituert alkyl, alkenyl, substituert alkenyl, alkynyl, substituert alkynyl, sykloalkyl, substituert sykloalkyl, aryl, substituert aryl, heteroaryl, substituert heteroaryl, heterosyklisk og substituert heterosyklisk er som
 15 definert heri.

Begrepet ”aminokarbonylamino” refererer til gruppen $-NR^{49}C(O)NR^{49}$ hvor hver R^{49} er uavhengig valgt fra gruppen som består av hydrogen og alkyl. Begrepet
 ”aminotiokarbonylamino” referer til bestanddelen $-NR^{49}C(S)R^{49}-$, hvori R^{49} er som
 20 definert ovenfor.

Begrepet ”aryl” eller ”Ar” refererer til en monovalent, aromatisk, karbosyklisk gruppe med fra 6 til 14 karboantomer som har en enkel ring (for eksempel fenyl) eller multiple kondenserte ringer (for eksempel naftyl eller antryl), hvilke kondenserte ringer kan eller
 25 kan ikke være aromatiske (for eksempel 2-benzoksazolinon, 2H-1,4-benzokaszin-3(4H)-on-7-yl og lignende), forutsatt at bindingspunktet er arylgruppen. Foretrukne aryler inkluderer fenyl og naftyl.

Begrepet ”substituert aryl” refererer til arylgrupper, som definert heri, som er substituert med fra 1 til 4, foretrukket 1 til 3, substituenten valgt fra de som er listet for substituert
 30 alkyl med unntak av at slik substitusjon ikke inkluderer okso eller tiokso.

Begrepet ”aryloksy” refererer til gruppen aryl-O- som inkluderer f.eks. fenoksy, naftoksy og lignende.

35

Begrepet ”substituert aryloksy” refererer til substituerte aryl-O-grupper.

Begrepet "aryloksyaryl" refererer til gruppen –aryl-O-aryl.

Begrepet "substituert aryloksyaryl" refererer til aryloksyarylgrupper substituert med fra
 5 1 til 3 substituenten på en eller begge arylringene, slik det er definert ovenfor, for
 substituert aryl.

Begrepet "karboksyl" refererer til –COOH eller salter derav.

Begrepet "karboksylestere" eller "alkoksykarbonyl" refererer til gruppene –C(O)O-
 10 alkyl, -C(O)O-substituert alkyl, -C(O)O-aryl og –C(O)O-substituert aryl hvori alkyl,
 substituert alkyl, aryl og substituert aryl er som definert heri.

Begrepet "sykloalkyl" refererer til sykliske alkylgrupper med fra 3 til 10 karbonatomer
 som har enkle eller multiple sykliske ringer som for eksempel inkluderer adamantyl,
 15 syklopropyl, syklobutyl, syklopentyl, syklooktyl og lignende.

Begrepet "substituert sykloalkyl" refererer til en sykloalkylgruppe som har fra 1 til 5
 substituenten valgt fra de som er listet for substituert alkyl.

20 Begrepet "sykloalkoksy" refererer til -O-sykloalkylgrupper.

Begrepet "substituert sykloalkoksy" refererer til –O-substituerte sykloalkylgrupper.

Begrepet "halo" eller "halogen" refererer til fluor, klor, brom og jod, og er foretrukket
 25 fluor eller klor.

Begrepet "heteroaryl" refererer til en aromatisk gruppe med fra 1 til 15 karbonatomer,
 foretrukket fra 1 til 10 karbonatomer, og 1 til 4 heteroatomer valgt fra gruppen som
 består av oksygen, nitrogen og svovel i ringen. Slike heteroarylgrupper kan ha en
 30 enkelt ring (for eksempel pyridinyl eller furyl) eller multiple kondenserte ringer (for
 eksempel indoliziny, benzotienyl, 2-benzoksazolinon, 2H-1,4-benzoksazin-3(4H)-on-7-
 yl, benzofuran, 2,3-dihydrobenzofuran, benzotiazol, benzooksazol, benzo[1,3]dioksolyl,
 og lignende). Foretrukne heteroaryler inkluderer pyridinyl, pyrrolyl, indolyl, tiofenyl
 og furyl.

35

Begrepet "substituert heteroaryl" refererer til heteroarylgrupper som er substituert med fra 1 til 3 substituenten valgt fra samme gruppe substituenten definert for substituert aryl.

Begrepet "heteroarylloksy" refererer til gruppen -O-heteroaryl og "substituert heteroarylloksy" referer til gruppen -O-substituert heteroaryl.

Begrepet "heterosykel" eller "heterosyklisk" eller "heterosyklyl" refererer til en mettet eller umettet gruppe som har en enkelt ring eller multiple kondenserte ringer, med fra 1 til 10 karbonatomer og fra 1 til 4 heteroatomer valgt fra gruppen som består av nitrogen, svovel eller oksygen i ringen hvori, i sammensmeltede ringsystemer, en eller flere av ringene kan være aryl eller heteroaryl, forutsatt at bindingspunktet er heterosyklyl.

Begrepet "substituert heterosyklisk" eller "substituert heterosyklyl" refererer til heterosyklylgrupper som er substituert med fra 1 til 3 av de samme substituentene som definert for substituert sykloalkyl.

Eksempler på heterosykler og heteroaryler inkluderer, men er ikke begrenset til, acetidin, pyrrol, imidazol, pyrazol, pyridin, pyrazin, pyrimidin, pyridazin, indolizin, isoindol, indol, dihydroindol, indazol, purin, kinolizin, isokinolin, kinolin, ftalazin, naphtylpyridin, kinoksalin, kinazolin, cinnolin, pteridin, karbazol, karbolin, fenantridin, akridin, fenantrolin, isotiazol, fenazin, isoksazol, fenoksazin, fenotiazin, imidazolidin, imidazolin, piperidin, piperazin, indolin, ftalimid, 1,2,3,4-tetrahydroisokinoline, 4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]tiofen, tiazol, tiazolidin, tiofen, benzo[b]tiofen, morfolinyl, tiomorfolinyl (også referert til som tiamorfolinyl), piperidinyl, pyrrolidin, tetrahydrofuranyl og lignende.

Begrepet "heterosyklyloksy" refererer til gruppen -O-heterosyklisk og "substituert heterosyklyloksy" referer til gruppen -O-substituert heterosyklisk.

Begrepet "tiol" refererer til gruppen -SH.

Begrepet "alkyltio" refererer til gruppene -S-alkyl hvor alkyl er som definert ovenfor.

Begrepet "substituert alkyltio" og "substituert alkylsulfonil" refererer til gruppen -S-substituert alkyl, hvor substituert alkyl er som definert ovenfor.

Begrepet "sykloalkyltio" eller "sykloalkylsulfonyl" refererer til gruppene –S-sykloalkyl, hvor sykloalkyl er som definert ovenfor.

5 Begrepet "substituert sykloalkyltio" refererer til gruppen –S-substituert sykloalkyl hvor substituert sykloalkyl er som definert ovenfor.

Begrepet "aryltio" eller "arylsulfanyl" refererer til gruppen –S-aryl og "substituert aryltio" refererer til gruppen –S-substituert aryl, hvor aryl og substituert aryl er som definert ovenfor.

10

Begrepet "heteroaryltio" refererer til gruppen –S-heteroaryl og "substituert heteroaryltio" refererer til gruppen –S-substituert heteroaryl hvor heteroaryl og substituert heteroaryl er som definert ovenfor.

15 Begrepet "heterosyklisk tio" refererer til gruppen –S-heterosyklisk og "substituert heterosyklisk tio" refererer til gruppen –S-substituert heterosyklisk hvor heterosyklisk og substituert heterosyklisk er som definert ovenfor.

20 Begrepet "farmasøytisk akseptabelt salt" refererer til farmasøytisk akseptable salter av en forbindelse, hvilke salter av avledet fra et antall organiske og uorganiske stoffer godt kjent i litteraturen og inkluderer kun som eksempel, natrium, kalium, kalsium, magnesium, ammonium, tetraalkylammonium og lignende; og når molekylet inneholder en basisk funksjonalitet, salter av organiske og uorganiske syrer, slik som hydroklorid, hydrobromid, tartrat, mesylat, acetat, maleat, oksalat og lignende.

25

Begrepet "solvater" refererer til et kompleks dannet ved kombinasjon av løsemiddelmolekyler med molekyler eller ioner i løsningen. Løsemiddelet kan være en organisk forbindelse, en uorganisk forbindelse eller en blanding av begge. Noen eksempler på løsemidler inkluderer, men er ikke begrenset til, metanol, N,N-dimetylformamid, tetrahydrofuran, dimetylsulfoksid og vann.

30

Begrepet "tautomer" refererer til alternative former av et molekyl som er forskjellig i posisjonen av et proton, slik som enol-ketol og imin-enamin tautomerer, eller tautomeriske former i heteroarylgrupper som inneholder et ringatom bundet til både en ring-NH-bestanddel og en ring=N-bestanddel slik som pyrazoler, imidazoler, benzimidazol, triazoler og tetrazoler.

35

Det er å forstå at i alle substituerte grupper definert ovenfor, er olymerer som oppnås ved å definere substituenten med ytterligere substituent i tillegg til dem selv (for eksempel substituert aryl som har en substituert arylgruppe som en substituent som i seg selv er substituert med en substituert arylgruppe, etc.) ikke tiltenkt for inklusjon heri. I slike tilfeller er det maksimale antallet substituenten tre. Det vil si at hver av de ovenfor nevnte definisjonene er begrenset ved begrensningen om at for eksempel substituerte arylgrupper er begrenset til -substituert aryl (substituert aryl)-substituert aryl.

Tilsvarende er det forstått at de ovenfor angitte definisjonene ikke er begrenset til å inkludere ikke-tillatte substitusjonsmønstre (for eksempel metyl substituert med 5 fluorgrupper eller en hydroksylgruppe alfa til etylenisk eller acetylenisk umettethet). Slike ikke-tillatte substitusjonsmønstre er godt kjente for fagmannen.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer anvendelse av en forbindelse med formel I for fremstilling av et medikament for anvendelse ved behandling av forskjellige tilstander eller forstyrrelser slik de er beskrevet heri. I en utførelsesform er en farmasøytisk sammensetning tilveiebrakt som innbefatter en farmasøytisk akseptabel eksipient eller bærer og en terapeutisk effektiv mengde av minst en forbindelse med formel I.

Medikamentet eller sammensetningen kan ytterligere innbefatte minst et ytterligere terapeutisk middel valgt fra gruppen som inkluderer, men er ikke begrenset til, vitamin B₁₂, jernsulfat, folsyre og/eller rekombinant erythropoietin eller et erythropoiesestimulerende protein (ESP).

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen eller medikamenter eller sammensetninger som innbefatter forbindelsene kan anvendes for å modulere stabiliteten og/eller aktiviteten til HIF, og dermed aktivere HIF-regulert genekspressjon. Forbindelsen eller sammensetningen eller medikamentet derav kan anvendes i fremgangsmåter for å behandle, forhåndsbehandle eller forsinke progresjon eller utbrudd av tilstander assosiert med HIF som inkluderer, men er ikke begrenset til, anemiske, iskemiske og hypoksiske tilstander. I forskjellige utførelsesformer blir forbindelsen administrert umiddelbart etterfølgende en tilstand som gir akutt iskemi, for eksempel myokardisk infarkt, lungeembolisme, intestinalt infarkt, iskemisk slag og renal iskemisk-reperfusjonsskade. I en annen utførelsesform blir forbindelsen, eller sammensetning eller medikament derav, administrert til en pasient diagnostisert med en tilstand

assosiert med utvikling av kronisk iskemi, for eksempel hjertecirrhose, makulær degenerering, lungeembolisme, akutt respiratorisk svikt, neonatal respiratorisk stressyndrom og kongestiv hjertesvikt. I en ytterligere annen utførelsesform blir forbindelsen, eller sammensetningen eller medikament derav administrert umiddelbart
5 etter et traume eller skade. I andre utførelsesformer kan forbindelsen, eller sammensetning eller medikament derav, administreres til et subjekt basert på forhåndsdisponerende tilstander, for eksempel hypertensjon, diabetes, okklusiv arterial sykdom, kronisk venøs utilstrekkelighet, Raynauds sykdom, kronisk hudulcer, cirrhose, kongestiv hjertesvikt og systemisk sklerose. I ytterligere andre utførelsesformer kan
10 forbindelsen administreres for å forhåndsbehandle et subjekt for å redusere eller hindre utvikling av vevsskade assosiert med iskemi eller hypoksi.

Forbindelsen ifølge oppfinnelsen, eller sammensetninger eller medikamenter derav, kan også anvendes for å øke endogent erythropoietin (EPO). Forbindelsene eller
15 sammensetning eller medikament derav, kan administreres for å hindre, forhåndsbehandle eller behandle EPO-assosierte tilstander, som for eksempel inkluderer tilstander assosiert med anemi og neurologiske forstyrrelser. Tilstander assosiert med anemi inkluderer forstyrrelser slike som akutt eller kronisk nyresykdom, diabetes, kreft, ulcere, infeksjon med virus, for eksempel HIV, bakterie eller parasitter; inflammasjon
20 etc. Anemi tilstander kan ytterligere inkludere de som er assosiert med inngrep eller behandlinger som for eksempel inkluderer strålebehandling, kjemoterapi, dialyse og kirurgi. Forstyrrelser assosiert med anemi inkluderer i tillegg abnormalt hemoglobin og/eller erytrocytter, slik som finnes i forstyrrelser slik som mikrocytisk anemi, hypokromisk anemi, aplastisk anemi etc.

25 Forbindelsene kan anvendes for å øke endogen EPO hos et subjekt som gjennomgår en spesifikk behandling eller inngrep, profylaktisk eller samtidig, for eksempel en HIV-rammet anemisk pasient som behandles med azidotymidin (zidovudin) eller andre reverse transkriptaseinhibitorer, en anemisk kreftpasient som mottar syklisk cisplatin og
30 ikke-cisplatininnholdende kjemoterapetuiske midler, eller en anemisk eller ikke-anemisk pasient som skal gjennomgå kirurgi. I tillegg kan forbindelsene anvendes for å øke endogene EPO-nivåer hos en anemisk eller ikke-anemisk pasient som skal gjennomgå kirurgi for å redusere behovet for allogene blodtransfusjoner eller for å lette baking av blod før kirurgi.

35

Oppfinnelsen angår også anvendelse av en forbindelse, eller sammensetning eller medikament derav, for behandling, forhåndsbehandling eller forsinkning av utbrudd av en tilstand assosiert med en forstyrrelse valgt fra gruppen som består av anemiske forstyrrelser, neurologiske forstyrrelser og/eller skader som inkluderer tilfeller av slag, traume, epilepsi og neurodegenerativ sykdom; hjerteiskemi som inkluderer, men er ikke begrenset til, myokardisk infarkt og kongestiv hjertesvikt, leveriskemi som inkluderer, men ikke er begrenset til, hjertecirrhose, renal iskemi som inkluderer, men er ikke begrenset til, akutt nyresvikt og kronisk nyresvikt; perifere, vaskulære forstyrrelser, ulcere, brannskader og kroniske sår; lungeembolisme og iskemisk-reperfusjonsskade.

Det beskrives også en fremgangsmåte for inhibering av aktiviteten til minst et hydroksylaseenzym som modifiserer alfa-underenheten til hypoksiinduserbar faktor. HIF-hydroksylaseenzymet kan være en asparaginyldhydroksylase slik som faktorinhiberende HIF (FIH); og/eller en prolyldhydroksylase som inkluderer, men er ikke begrenset til, gruppen som består av EGLN1, EGLN2 og EGLN3. Fremgangsmåten innbefatter å bringe enzymet i kontakt med en inhiberende effektiv mengde av en eller flere forbindelser valgt fra gruppen som består av forbindelser med formel I.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan fremstilles fra lett tilgjengelige utgangsmaterialer ved anvendelse av følgende generelle metoder og fremgangsmåter. Det vil være å forstå at der typiske eller foretrukne prosessbetingelser (for eksempel reaksjonstemperaturer, tider, mol-forhold mellom reaktanter, løsemidler, trykk etc.) er gitt, kan andre prosessbetingelser også anvendes med mindre annet er angitt. Optimale reaksjonsbetingelser kan variere med de bestemte reaktantene eller løsemidlene som anvendes, men slike betingelser kan bestemmes av fagmannen ved rutineoptimaliseringsprosedyrer.

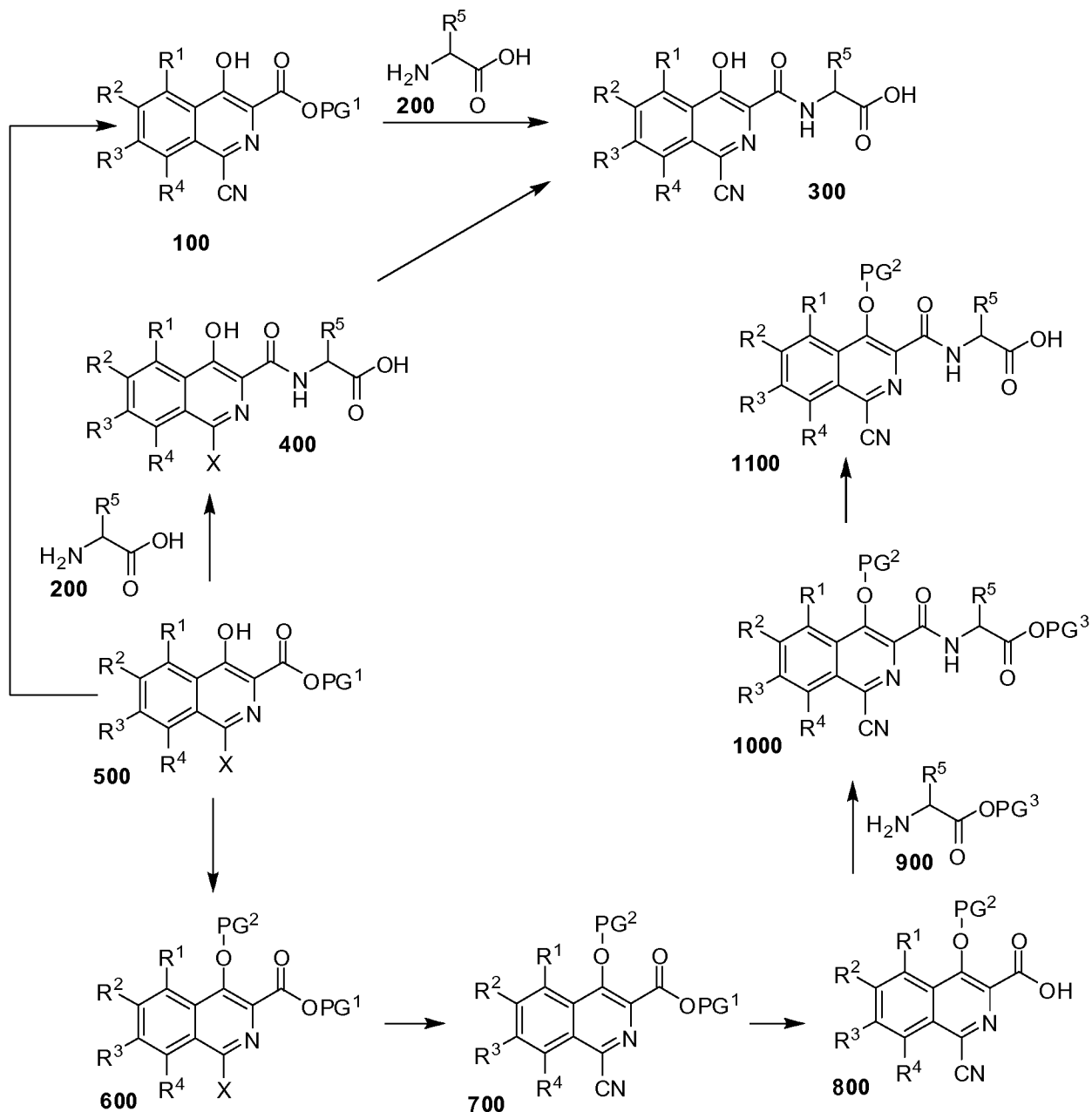
I tillegg, slik det vil være nærliggende for fagmannen, kan vanlige beskyttende grupper være nødvendige for å hindre at visse funksjonelle grupper gjennomgår uønskede reaksjoner. Egnede beskyttende grupper for forskjellige funksjonelle grupper, så vel som egnede betingelser for beskyttelse og avbeskyttelse av spesielle funksjonelle grupper er godt kjent i litteraturen. For eksempel er et antall beskyttende grupper beskrevet i T.W. Greene og G.M. Wuts, "Protecting Groups in Organic Synthesis", tredje utgave, Wiley, New York, 1999 og referanser sitert deri.

Videre kan forbindelsene ifølge oppfinnelsen inneholde et eller flere kirale sentere. Følgelig, hvis ønskelig, kan slike forbindelser fremstilles eller isoleres som rene stereoisomerer, dvs. som individuelle enantiomerer eller diastereomerer, eller som stereoisomer-anrikede blandinger. Alle slike stereoisomerer (og anrikede blandinger) er
5 inkludert innenfor omfanget av oppfinnelsen, med mindre annet er indikert. Rene stereoisomerer (eller anrikede blandinger) kan for eksempel fremstilles ved anvendelse av optisk aktive utgangsmaterialer eller stereoselektive reagenser godt kjente i litteraturen. Alternativt kan racemiske blandinger av slike forbindelser separeres for eksempel ved anvendelse av kiral kolonnekromatografi, kiralt oppløsende midler og
10 lignende.

Utgangsmaterialene for de følgende reaksjonene er generelt kjente forbindelser eller kan fremstilles ved kjente fremgangsmåter eller nærliggende modifikasjoner derav. For eksempel er mange av utgangsmaterialene tilgjengelige fra kommersielle leverandører
15 slik som Aldrich Chemical Co., (Milwaukee, Wisconsin, USA), Bachem (Torrance, California, USA), Emka-Chemce eller Sigma (St. Louis, Missouri, USA). Andre kan fremstilles ved fremgangsmåter, eller nærliggende modifikasjoner derav, beskrevet i standard referansetekster slik som Fieser og Fieser's "Reagents for Organic Synthesis", Volum 1-15 (John Wiley, and Sons, 1991), Rodd's "Chemistry of Carbon Compounds",
20 Volum 1-5 og supplementer (Elsevier Science Publishers, 1989), "Organic Reactions", Volum 1-40 (John Wiley, and Sons, 1991), March's "Advanced Organic Chemistry", (John Wiley, and Sons, 5, utgave, 2001) og Larock's "Comprehensive Organic Transformations" (VCH Publishers Inc., 1989).

25 Isokinolinene 300, 1000 og 1100 ifølge oppfinnelsen kan fremstilles ved synteseprotokollene illustrert i Skjema 1.

Skjema 1



- 5 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 og R^5 er som definert heri. Forbindelse 100 (hvor PG^1 refererer til en passende beskyttende gruppe slik som metyl, etyl, butyl etc.) omsettes med minst en støkiometrisk mengde og foretrukket et overskudd av en passende α -aminosyre, forbindelse 200 (særlig, men ikke begrenset til, glysin). Reaksjonen utføres under vanlige koblingsbetingelser kjente i litteraturen. I en utførelsesform blir reaksjonen
- 10 utført under nærvær av natriummetoksid eller en annen passende base i metanol eller annet egnet løsemiddel under hevede reaksjonstemperaturer, og særlig ved reflux.

Reaksjonen fortsetter til den i det vesentlige er fullstendig, som typisk skjer i løpet av 1-72 timer. Alternativt kan reaksjonen utføres ved hevede temperaturer i en mikrobølgeovn. Etter fullstendig reaksjon kan forbindelsen 300 utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og
5 lignende.

Alternativt kan kobling av forbindelse 100 (typisk som den korresponderende frie syren) med forbindelse 200 (typisk som esterderivater) skje via vanlig peptidkoblingsfremgangsmåter kjente i litteraturen. Denne koblingsreaksjonen blir
10 typisk utført ved anvendelse av godt kjente koblingsreagenser slik som karbodiimider, BOP-reagens (benzotriazol-1-yloksy-tris(dimetylamino)-fosfoniumheksafluorfosfonat) og lignende. Egnede karbodiimider inkluderer for eksempel disykloheksylkarbodiimid (DCC), 1-(3-dimetylamino)propyl-3-etylkarbodiimid (DECI) og lignende. Hvis ønskelig kan polymerstøttede former av karbodiimidkoblingsreagenser også anvendes
15 som for eksempel inkluderer de som er beskrevet i Tetrahedron Letters, 34(48), 7685 (1993). I tillegg kan godt kjente koblingspromotere, slik som N-hydroksysuksinimid, 1-hydroksybenzotriazol og lignende anvendes for å lette koblingsreaksjonen. Denne koblingsreaksjonen blir typisk utført ved å bringe de korresponderende frie syrene til forbindelsen 100 i kontakt med ca. 1 til ca. 2 ekvivalenter av koblingsreagentet, og
20 minst en ekvivalent, foretrukket ca. 1 til 1,2 ekvivalenter, av en ester av forbindelse 200, i et inert fortynningsmiddel slik som diklormetan, kloroform, acetonitril, tetrahydrofuran, N,N-dimetylformamid og lignende. Generelt blir denne reaksjonen utført ved en temperatur varierende fra ca. 0°C til ca. 37°C i ca. 12 til ca. 24 timer. Etter fullstendig reaksjon blir den korresponderende esteren til forbindelse 300 utvunnet ved
25 vanlige fremgangsmåter som inkluderer nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende, og blir deretter omdannet til forbindelse 300 ved hydrolyse.

Alternativt kan forbindelse 100 (typisk som den korresponderende frie syre) bli
30 omdannet til et syrehalid og syrehalidet koblet med esteren til forbindelse 200 for å gi estrene til forbindelse 300. Syrehalidet i forbindelse 100 kan fremstilles ved å bringe forbindelse 100 (typisk som den korresponderende frie syren) i kontakt med et uorganisk syrehalid slik som tionylklorid, fosfortriklorid, fosfortribromid eller fosforpentaklorid eller, særlig, med oksalyklorid under vanlige betingelser. Generelt
35 blir denne reaksjonen utført ved anvendelse av ca. 1 til 5 molare ekvivalenter av det uorganiske syrehalidet eller oksalykloridet, enten rent eller i et inert løsemiddel slik

som diklormetan eller karbontetraklorid, ved en temperatur i området fra ca. 0°C til ca. 80°C i ca. 1 til ca. 48 timer. En katalysator, slik som DMF, kan også anvendes i denne reaksjonen.

- 5 Syrehalidet (ikke vist) blir deretter brakt i kontakt med minst en ekvivalent, foretrukket ca. 1,1 til ca. 1,5 ekvivalenter, av en ester av forbindelse 200, i et inert fortynningsmiddel slik som diklormetan, ved en temperatur varierende fra ca. -70°C til ca. 40°C i ca. 1 til ca. 24 timer. Foretrukket blir denne reaksjonen utført under nærvær av en passende base for å fange opp syren som genereres i løpet av reaksjonen. Egnede
10 baser inkluderer for eksempel tertinære aminer slik som trietylamin, diisopropyletylamin, N-metylmorfolin og lignende. Alternativt kan reaksjonen utføres ved anvendelse av Schotten-Baumann-type betingelser ved anvendelse av vandig alkali slik som natriumhydroksid og lignende. Etter fullstendig reaksjon blir esteren til forbindelse 300 utvunnet ved vanlige fremgangsmåter som inkluderer nøytralisering,
15 ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende, og blir deretter omdannet til forbindelse 300 ved hydrolyse.

- Forbindelse 100 kan oppnås ved cyanering av forbindelse 500 (hvori X er Cl, Br eller I; og PG¹ refererer til en passende beskyttende gruppe slik som metyl, etyl, butyl etc.) med
20 en passende cyanidkilde slik som for eksempel Cu⁺CN, Zn(CN)₂ etc. Cyaneringen kan skje under nærvær av en passende katalysator slik som for eksempel palladiumkatalysator slik som tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0) (se for eksempel Sundermeier et al., (2003), Eur. J. Inorg. Chem., 2003(19):3513-3526) og/eller additiver ved anvendelse av et passende løsemiddel slik som for eksempel DMF eller N,N-
25 dimetylacetamid. Etter fullstendig reaksjon kan forbindelse 100 utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt bli anvendt i neste trinn uten rensing og/eller isolering. Forbindelse 100 oppnådd i denne fremgangsmåten, kan ytterligere forandres ved å modifisere dens R¹, R², R³ og/eller R⁴-bestanddeler, for eksempel hvis R³ er OCH₂PH, kan R³-bestanddelen omdannes til OH ved anvendelse av vanlige reduksjonsteknikker
30 (særlig ved hydrogenering katalysert med palladium på karbon etc.).

- Alternativt kan forbindelse 400 (hvori X er valgt fra Cl, Br eller I) omsettes med en passende cyanidkilde slik som for eksempel CuCN, Zn(CN)₂, etc. for å gi forbindelse
35 300. Cyaneringen kan utføres slik det er beskrevet ovenfor. Etter fullstendig reaksjon kan forbindelse 300 utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon,

presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering. Forbindelse 400 kan oppnås ved reaksjon mellom forbindelse 500 (hvor X er valgt fra Cl, Br eller I; og PG¹ refererer til en passende beskyttende gruppe slik som metyl, etyl, butyl etc.) og forbindelse 200 analogt med de
5 korresponderende reaksjoner mellom forbindelse 100 og forbindelse 200 (Skjema 1; se også US patentnr. 6 093 730 og US patentpublikasjon nr. 2006/217416, som er innbefattet heri ved referanse).

Alternativt kan 4-hydroksygruppen til forbindelse 500 alkyleres med passende
10 reagenser slik som for eksempel alkylhalider, alkylsulfater, benzylhalider, diazoforbindelser etc. Alkyleringen kan også finne sted under nærvær av passende baser slik som Cs₂CO₃ og/eller additiver ved anvendelse av et passende løsemiddel slik som for eksempel DMF for å gi forbindelse 600 (hvor PG² er foretrukket men ikke begrenset til, metyl). Etter fullstendig reaksjon kan forbindelse 600 omdannes ved
15 vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering.

Forbindelse 600 (hvor X er valgt fra Cl, Br eller I) kan omsettes med en passende
20 cyanidkilde slik som for eksempel CuCN, Zn(CN)₂ etc., for å gi forbindelse 700. Cyaneringen kan utføres slik det er beskrevet ovenfor. Hydrolyse av forbindelse 700 ved anvendelse av vanlige standardbetingelser i forbindelse 800. Etter fullstendig reaksjon kan forbindelse 800 utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt
25 anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering.

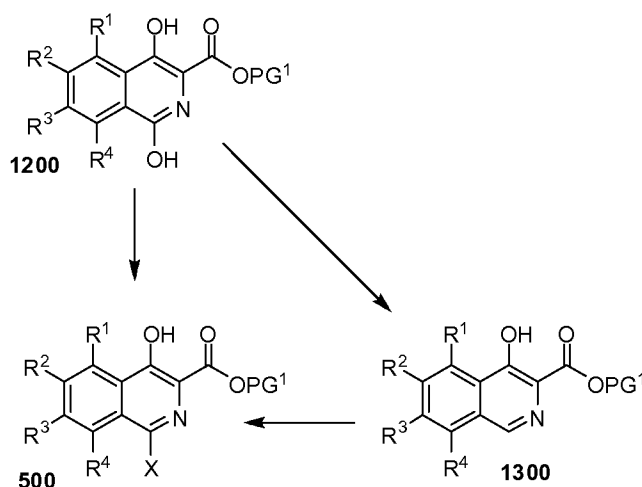
Kobling av forbindelse 800 med forbindelse 900 (hvor PG³ refererer til en passende beskyttende gruppe slik som metyl, etyl, butyl, etc.; utført eller generert *in situ* fra dens salter ved tilsetning av en passende base) kan skje via vanlige
30 peptidkoblingsfremgangsmåter godt kjente i litteraturen og slik det er beskrevet ovenfor. Koblingsreaksjonen blir typisk utført ved å bringe forbindelse 800 i kontakt med ca. 1 til ca. 2 ekvivalenter av koblingsreagenset og minst en ekvivalent, foretrukket ca. 1 til ca. 1,2 ekvivalenter, av forbindelse 900, i et inert fortynningsmiddel slik som diklormetan, kloroform, acetonitril, tetrahydrofuran, N,N-dimetylformamid og lignende,
35 og hvis ønskelig, under nærvær av en passende base. Generelt blir denne reaksjonen utført ved en temperatur varierende fra ca. 0°C til ca. 37°C i ca. 12 til ca. 24 timer. Etter

fullstendig reaksjon blir forbindelse 1000 utvunnet ved vanlige fremgangsmåter som inkluderer nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende, og kan deretter omdannes til forbindelse 1100 ved hydrolyse.

Alternativt kan forbindelse 800 omdannes til et syrehalid, og syrehalidet kobles med forbindelse 900 for å gi forbindelse 1000. Syrehalidet til forbindelse 800 kan fremstilles ved å bringe forbindelse 800 i kontakt med et uorganisk syrehalid eller med oksalyklorid under vanlige betingelser, for eksempel slik det er beskrevet ovenfor. Syrehalidet (ikke vist) blir deretter brakt i kontakt med minst en ekvivalent, foretrukket ca. 1,1 til ca. 1,5 ekvivalenter av forbindelse 900 i et inert fortynningsmiddel slik som diklormetan, ved en temperatur varierende fra ca. -70°C til ca. 40°C i ca. 1 til ca. 24 timer. Foretrukket blir denne reaksjonen utført under nærvær av en passende base for å fange opp syren generert i løpet av reaksjonen. Egnede baser inkluderer tertiæraminer slik som trietylamin, diisopropyletylamin, N-metylmorfolin og lignende. Alternativt kan reaksjonen utføres under Schotten-Baumann-type betingelser ved anvendelse av vandig alkali slik som natriumhydroksid og lignende. Etter fullstendig reaksjon blir forbindelse 1000 utvunnet ved vanlige fremgangsmåter som inkluderer nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende og kan deretter omdannes til forbindelse 1100 ved hydrolyse (Skjema 1).

Forbindelse 500, for anvendelse i reaksjonene ovenfor, kan fremstilles i henhold til synteseruten angitt i Skjema 2.

Skjema 2

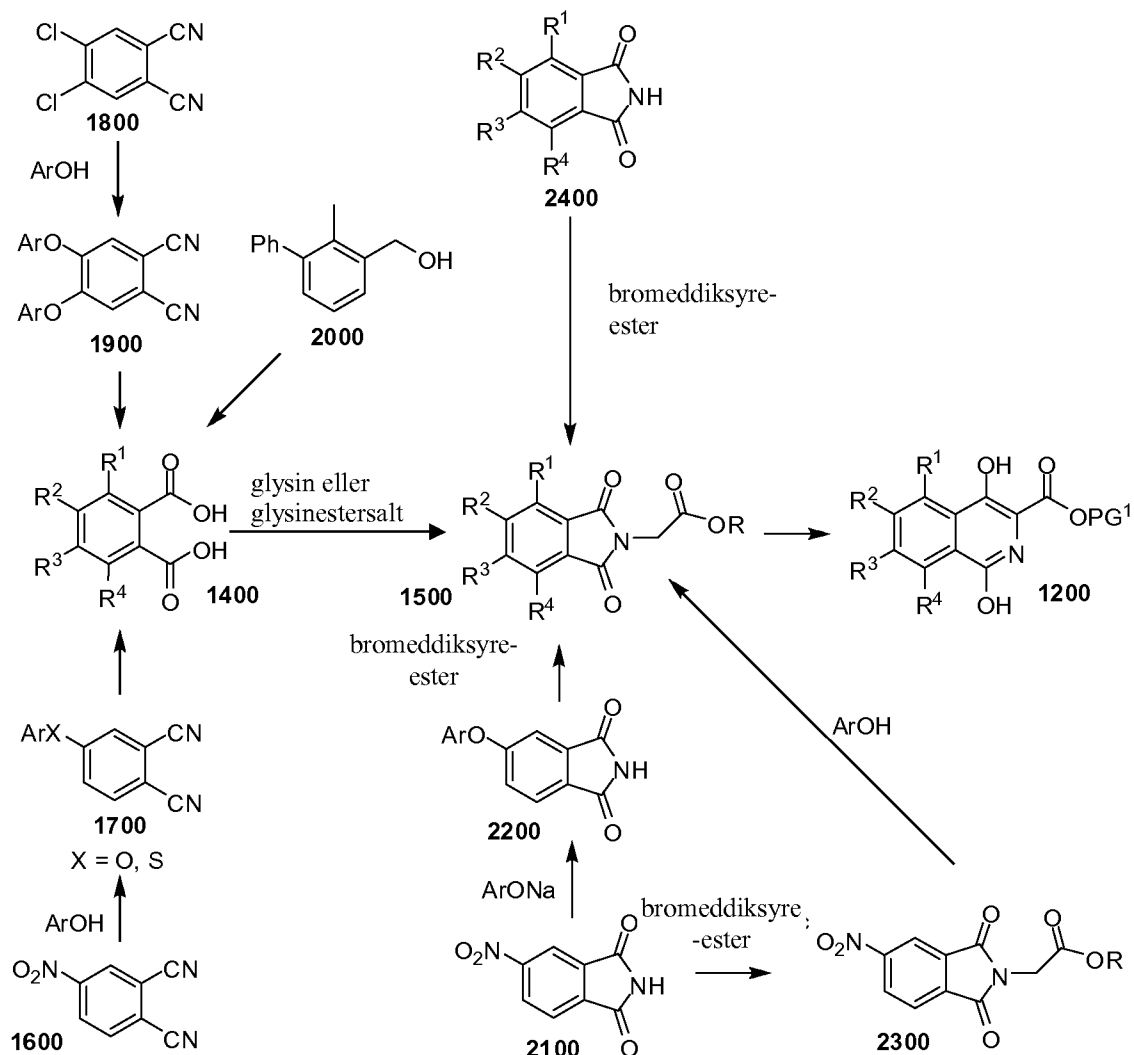


R^1 , R^2 , R^3 og R^4 er som definert heri. Behandling av forbindelse 1200 med fosforoksyklorid eller fosforoksybromid ved anvendelse av et passende løsemiddel slik som acetonitril eller toluen, særlig ved reflukstemperatr i forbindelse 500 hvori X er Cl eller Br, respektivt. Reaksjonen skjer typisk i løpet av ca. 1 til 72 timer. Alternativt kan
5 reaksjonen utføres ved hevede temperaturer i en mikrobølgeovn. Etter fullstendig reaksjon kan forbindelse 500 utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller, alternativt, anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering.

10 Alternativt kan forbindelse 1300 halogeneres ved anvendelse av vanlige fremgangsmåter for å gi forbindelse 500 hvori X er Cl, Br eller I. Halogeneringen av forbindelse 1300 kan utføres med en støkiometrisk mengde eller svakt overskudd av for eksempel N-bromsuksinimid under nærvær av en katalytisk mengde benzoylperoksid, azobisisobutyronitril eller en annen egnet fri radikalinitiator, i CCl_4 , benzen eller et
15 annet egnet løsemiddel kjent for fagmannen typisk ved reflukstemperatur eller høyere temperaturer ved anvendelse av en mikrobølgeovn. Etter fullstendig reaksjon kan forbindelsene 500 utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering. Alternativt kan forbindelse 1300 oppnås ved å
20 halogenere forbindelse 1200 slik det er beskrevet ovenfor, fulgt av reduksjon ved anvendelse av vanlige fremgangsmåter slik som hydrogenering katalysert med palladium på karbon, etc.

Syntesen av substituerte isokinolinkarboksylsyrer er generelt kjente i litteraturen og for
25 eksempel beskrevet av Weidmann et al., US patentnr. 6 093 730, som er innbefattet heri med referanse i sin helhet. Forbindelse 1200, for anvendelse i reaksjonene ovenfor, kan oppnås ved anvendelse av fremgangsmåtene angitt i Skjema 3 (se US 2006/217416, som er innbefattet heri med referanse).

Skjema 3



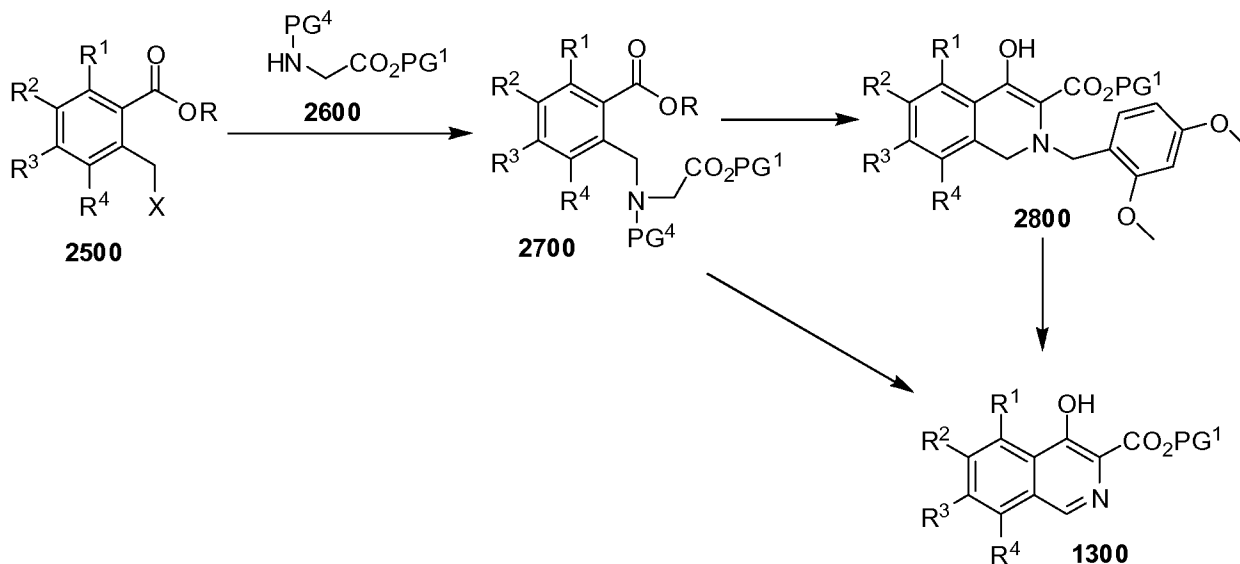
- 5 R¹, R², R³ og R⁴ er som definert heri. Forbindelse 1200 kan oppnås fra forbindelse 1500 (særlig hvori R er metyl, etyl eller butyl) ved Gabriel-Colman omleiring med en løsning av 2 ekvivalenter natrium i en passende alkohol slik som n-butanol ved en hevet temperatur på ca. 95-100°C i ca. 1-4 timer. Forbindelse 1500 er enten kommersielt tilgjengelig eller blir enkelt oppnådd ved omsetting av ftalsyren, forbindelse 1400 eller
- 10 dens derivater (særlig de korresponderende syreanhydridene) med en ekvimolar mengde av glysin eller salter av glysinestere (særlig hydrokloridsalter av glysinmetyl, etyl eller butylester) rent typisk ved 150 til 250°C i 15 til 90 minutter til ikke lenger vann frigis. Hvis glysin anvendes, blir produktet (R = H) forestret ved anvendelse av vanlige fremgangsmåter, for eksempel ved refluksring i en passende alkohol slik som metanol eller etanol under nærvær av en konsentrert svovelsyre, etc. Forbindelse 1400 og dens
- 15

derivater, for eksempel de korresponderende syreanhydridene, er enten kommersielt tilgjengelige eller kan lett oppnås ved omsetting av forbindelse 1600 med et overskudd av fenol ArOH i et passende løsemiddel slik som for eksempel DMF, under nærvær av en base slik som for eksempel et overskudd av kaliumkarbonat. Den resulterende
5 forbindelse 1700 blir lett hydrolysert ved refluksring i en løsning av KOH i vann/metnaol (typisk 1 til 3 dager) for å gi forbindelsen 1400.

Alternativt kan forbindelse 1400 oppnås ved analoge fremgangsmåter fra forbindelse 1800. Reaksjon mellom forbindelse 1800 og fenol ArOH gir forbindelse 1900, som lett
10 kan hydrolyseres til den korresponderende ftalsyren, forbindelse 1400. Bifenyl-2,3-dikarboksytsyre kan oppnås ved oksidasjon av forbindelse 2000 med kaliumpermanganat under nærvær av en faseoverføringskatalysator. Alternativt kan forbindelse 1500 oppnås ved omsetting av forbindelse 2100 med et overskudd av et fenolat slik som for eksempel natriumfenolater ArONa, typisk ved oppvarming i DMF.
15 Det resulterende ftalimidet, forbindelse 2200, kan omdannes til forbindelse 1500 ved N-alkylering med et overskudd av en haloeddiksyreester slik som for eksempel metyl- eller etylestere av bromeddiksyre, ved anvendelse av vanlige fremgangsmåter slik som refluksring i et passende løsemiddel slik som aceton under nærvær av en passende base slik som kaliumkarbonat. Forbindelse 1500 kan oppnås analogt med N-alkylering av
20 kommersielt tilgjengelig ftalimider, forbindelse 2400. Alternativt kan forbindelse 1500 oppnås ved N-alkylering av forbindelse 2100 ved anvendelse av fremgangsmåter beskrevet ovenfor. Den resulterende forbindelsen 2300 kan omdannes til forbindelse 1500 ved reaksjon med fenoler ArOH i et passende løsemiddel, slik som dimetylacetamid ved 105°C, under nærvær av en passende base slik som
25 kaliumkarbonat. Alternativt kan forbindelse 1500 med en fenolisk OH-gruppe omdannes til de korresponderende fenoletrene ved O-alkylering ved anvendelse av vanlige fremgangsmåter slik som for eksempel refluksring med elektrofiler slik som metyljodid (MeI), isopropyljodid (iPrI), butyljodid (BuI), etc., under nærvær av en base eller ved alkylering av den fenoliske OH-gruppen med en alkohol slik som
30 sykloheksanol ved anvendelse av en variant av Mitsunobu-reaksjonen.

Forbindelse 1300, for anvendelse i reaksjonene ovenfor, kan oppnås ved anvendelse av fremgangsmåtene angitt i Skjema 4 (se også US 2006/217416).

Skjema 4



- 5 R^1, R^2, R^3 og R^4 er som definert heri. Forbindelse 2500 (særlig hvori R er metyl eller etyl og X er Cl, Br eller I; forhåndsdannet eller generert *in situ* ved anionebytting ved anvendelse av natriumjodid) omsettes med en beskyttet glysinester, forbindelse 2600 (særlig hvori PG^1 er metyl eller etyl og PG^4 er toluen-4-sulfonyl eller 2,4-dimetoksybenzyl), under nærvær av en passende base slik som kaliumkarbonat,
- 10 eventuelt under nærvær av natriumjodid, i et passende løsemiddel slik som DMF ved for eksempel romtemperatur i ca. 2 til 24 timer. Etter fullstendig reaksjon kan den resulterende forbindelsen 2700 utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, interaksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering. Alternativt kan forbindelse 2700 med en
- 15 fenolisk OH-gruppe omdannes til de korresponderende fenoletrene ved O-alkylering ved anvendelse av vanlige fremgangsmåter slik som for eksempel refluksering med elektrofiler slik som benzylbromid, etc., under nærvær av en base.

Forbindelse 2700, hvori PG^4 for eksempel er 2,4-dimetoksybenzyl, kan sykliseres til

20 forbindelse 2800 ved behandling med en passende base slik som for eksempel 2 ekvivalenter av kalium-tert-butoksid, i THF ved 100°C i ca. 1 time, og deretter ved romtemperatur i ca. 3 timer. Etter fullstendig reaksjon kan den resulterende forbindelsen 2800 omdannes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt anvendes i neste trinn

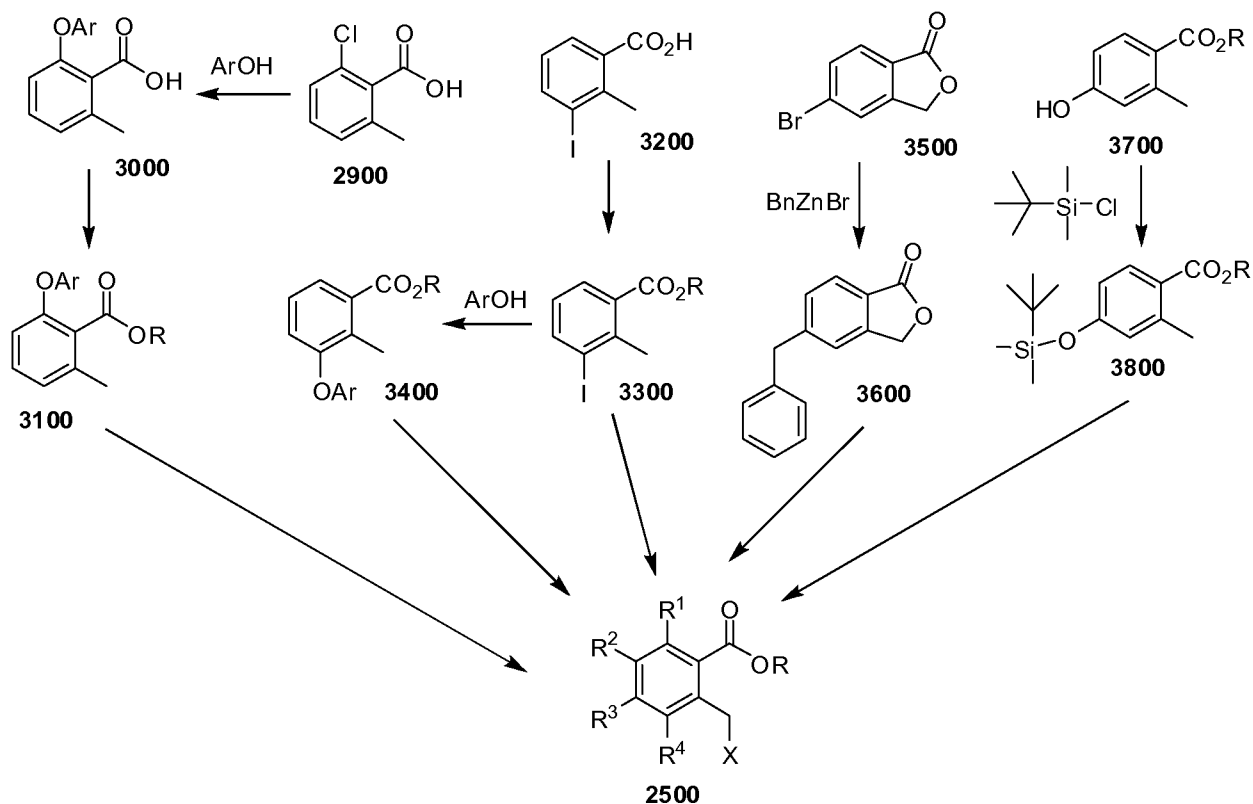
25 uten rensing og/eller isolering. Forbindelse 2800 blir deretter behandlet med

tionylklorid, for eksempel ca. 1,5 ekvivalenter, i et passende løsemiddel slik som diklormetan ved 0°C i ca. 1 time, og deretter ved romtemperatur i ca. 3 timer. Etter fullstendig reaksjon kan den resulterende forbindelsen 1300 utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering. Alternativt kan forbindelse 2700, hvori PG⁴ er for eksempel toluen-4-sulfonyl, sykliseres ved behandling med en passende base slik som for eksempel 3-4 ekvivalenter natriummetoksid i metanol ved romtemperatur i 3 timer til 3 dager. Etter fullstendig reaksjon kan den resulterende forbindelsen 1300 utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering.

Forbindelse 1300 kan ytterligere forandres ved å modifisere dens R¹, R², R³ og/eller R⁴ bestanddeler. For eksempel er R² SPh, da kan R²-bestanddelen omdannes til SO₂Ph ved anvendelse av vanlige oksidasjonsteknikker slik som for eksempel behandling med m-klorperoksybenzoylsyre i metylenklorid ved romtemperatur. Alternativt, hvis R⁴ for eksempel er jod, kan jodatomet substitueres med fenoler ArOH slik som for eksempel orto-, meta- og para-metoksyfenol, for å gi de korresponderende 8-aryloksyisokinolinene ved omsetting av jod-isokinolinet med ArOH, for eksempel 5 ekvivalenter i et passende løsemiddel slik som DMF ved reflukstemperatur under nærvær av en passende base, slik som 5 ekvivalenter cesiumkarbonat og en passende katalysator, slik som 1 ekvivalent CuCl og 0,4 ekvivalenter 2,2,6,6-tetrametylheptan-3,5-dion, i ca. 15 min. Etter fullstendig reaksjon kan den resulterende forbindelsen 1300 utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering.

Forbindelse 2500, for anvendelse i reaksjonene beskrevet ovenfor, kan oppnås ved anvendelse av fremgangsmåten angitt i Skjema 5 (se også US 2006/217416).

Skjema 5



- 5 R¹, R², R³ og R⁴ er som definert heri. Forbindelse 2500, særlig orto-toluenstyreestere slik som 3100, 3300, 3400 eller 3800, hvori R for eksempel er metyl eller etyl, kan halogeneres for eksempel ved tilsetning av en støkiometrisk mengde eller et svakt overskudd av N-bromsuksinimid under nærvær av en katalytisk mengde benzoylperoksid, azobisisobutyronitril, eller en annen egnet fri radikalinitiator i CCl₄, benzen eller et annet passende løsemiddel ved for eksempel refluksstemperatur. Etter fullstendig reaksjon kan forbindelse 2500 utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering.
- 10
- 15 Forbindelse 3100 kan oppnås typisk ved omsetting av en blanding av natriumsaltet av forbindelse 2900, et svakt overskudd av et natriumfenolat ArONa, en katalytisk mengde kobberbronse og 1,2-diklorgbenzen ved for eksempel refluksstemperatur i cva. 2 timer. Etter fullstendig reaksjon kan forbindelse 3000 utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller
- 20 alternativt anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering. Forbindelser 3000 og

3200 kan lett omdannes til de korresponderende estrene, forbindelsene 3100 og 3300, respektivt, ved anvendelse av vanlige fremgangsmåter slik som refluksering i en passende alkohol slik som metanol eller etanol under nærvær av konsentrert svovelsyre; eller refluksering sammen med et alkyleringsreagens slik som dimetylsulfat under
5 nærvær av en base slik som kaliumkarbonat i et passende løsemiddel slik som dietylketon. Forbindelse 3400 kan oppnås ved tilsetning av forbindelse 3300, et overskudd fenol, et overskudd cesiumkarbonat og et overskudd 1-naftalensyre, molekylsikter, en katalytisk mengde etylacetat og et passende løsemiddel slik som vannfri toluen til en katalytisk mengde kobber(I)trifluormetansulfonatbenzenkompleks
10 ved romtemperatur. Blandingen reflukseres under nitrogen i ca. 2 dager før den avkjøles til romtemperatur og filtreres. Forbindelse 3400 kan utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering. Alternativt kan en blanding av forbindelse 3300, et overskudd av en passende
15 substituert fenol, et overskudd av cesiumkarbonat, et overskudd av 2,2,6,6-tetrametylheptan-3,5-dion og kobber(I)klorid i N-metyl-2-pyrrolidon varmes opp til 100 til 150°C i 1-5 dager, avkjøles til romtemperatur og reaksjonen stoppes med vann. Forbindelse 3400 kan deretter utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt
20 anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering. Forbindelse 3800 kan enkelt oppnås ved behandling av 3700 med tert-butyl-dimetylsilylchlorid.

Alternativt blir forbindelse 2500 oppnådd ved omsetting av passende substituerte ftalider slik som forbindelse 3600 med egnede halogeneringsreagenser slik som for
25 eksempel 1,3 ekvivalenter av tionylklorid under nærvær av passende katalysatorer slik som borsyre og trifenyfosfinoksid ved 130 til 140°C i ca. 18 timer fulgt av behandling med en passende alkohol slik som metanol. Forbindelse 2500 kan utvinnes ved vanlige teknikker slik som nøytralisering, ekstraksjon, presipitasjon, kromatografi, filtrering og lignende; eller alternativt anvendes i neste trinn uten rensing og/eller isolering.
30 Forbindelse 3600 blir enkelt oppnådd ved omsetting av 3500 med benzylsinkbromid ved anvendelse av en variant av Negishi-koblingen.

Den biologiske aktiviteten til forbindelsen ifølge oppfinnelsen kan bestemmes ved anvendelse av hvilke som helst vanlige kjente fremgangsmåter. Egnede
35 undersøkelsesfremgangsmåter er godt kjente i litteraturen. De følgende undersøkelsene

er presentert kun som eksempler og er ikke tiltenkt som noen begrensning.
Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er aktive i minst en av følgende undersøkelser.

Det er tiltenkt at på grunn av cyanosubstitusjonen i C-1-posisjonen til
5 isokinolinforbindelsene, viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen overraskende og
uventet forbedret effektivitet i forhold til de sammenlignbare forbindelser som ikke
fremviser cyano i C-1-posisjonen. For eksempel er forbindelser som har en cyano i C-
1-posisjonen til isokinolinringen, sammenlignet med de korresponderende forbindelsene
som for eksempel har hydrogen, metyl eller halogen i C-1-posisjonen, mer enn 2
10 ganger, mer foretrukket mer enn 4 ganger, og enda mer foretrukket mer enn 10 ganger
eller 50 ganger mer potente når det gjelder å øke sirkulerende erythropoietinnivåer.
Eksempler på dette er mer fullt ut beskrevet i Eksempel 54.

a. Cellebasert HIF α -stabiliseringsundersøkelse

15 Humane celler avledet fra forskjellige vev ble separat sådd i 35 mm dyrkningsskåler og
dyrket ved 37°C, 20% O₂, 5% CO₂ i standard dyrkningsmedium, for eksempel DMEM,
10% FBS. Når cellelagene når konfluens blir mediet erstattet med OPTI-MEM-mediet
(Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) og cellelagene innkuberes i ca. 24 timer i
20% O₂, 5% CO₂ ved 37°C. Forbindelse eller 0,013% DMSO blir deretter tilsatt til det
20 eksisterende mediet og innkubering fortsetter over natten.

Etterfølgende innkubering blir mediet fjernet, sentrifugert og lagret for analyse (se
VEGF og EPO-undersøkelsene nedenfor). Cellene vaskes to ganger i kald fosfatbufret
saltvann (PBS) og lyseres deretter i 1 ml 10 mM Tris 8Ph 7,4), 1 mM EDTA, 150 mM
25 NaCl, 0,5% IGEPAL (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) og en proteaseinhibitorblanding
(Roche Molecular Biochemicals) i 15 minutter på is. Cellelysaten sentrifugeres ved
3 000 x g i 5 minutter ved 4°C og de cytosoliske fraksjonene (supernatant) samles opp.
Kjernene (pellets) resuspenderes og lyseres i 100 μ l 20 mM HEPES (pH 7,2), 400 mM
NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM ditiotreitol og en proteaseblanding (Roche Molecular
30 Biochemicals), sentrifugeres ved 13 000 x g i 5 minutter ved 4°C og nukleær
proteinfraksjoner (supernatant) samles opp.

Nukleærfraksjonene analyseres for HIF-1 α ved anvendelse av en QUANTIKINE-
immunundersøkelse (R & D Systems, Inc., Minneapolis, MN) i henhold til
35 produsentens instruksjoner.

b. Cellebaserte VEGF og EPO ELISA-undersøkelser

Kondisjonert media samlet opp fra cellekulturene slik det er beskrevet ovenfor analyseres for vaskulær, endotel vekstfaktor (VEGF) og/eller erythropoietin (EPO)-ekspresjon ved anvendelse av en passende QUANTIKINE-immunoundersøkelse (R&D Systems) i henhold til produsentens instruksjoner.

c. HIF-PH-undersøkelse

Ketogluarsyre- α -[^{14}C]-natriumsalt, ketoglutarsyre-[^{14}C]-natriumsalt, α -ketoglutarsyrenatriumsalt og HPLC-renset peptid kan oppnås fra kommersielle kilder, for eksempel Perkin-Elmer (Wellesley MA), Sigma-Aldrich og SynPrep Corp. (Dublin CA), respektivt. Peptider for anvendelse i undersøkelsen kan være fragmenter av HIF α , slik det er beskrevet ovenfor, eller slik det er beskrevet i internasjonal publisering WO 2005/118836, innbefattet med referanse heri. HIF-PH, for eksempel HIF-PH2 (EGLN1) kan uttrykkes for eksempel i insekt Hi5-celler og delvis renses, for eksempel gjennom en SP-ionebytter kromatografikolonne. Enzymaktivitet bestemmes ved oppfangning av $^{14}\text{CO}_2$ ved anvendelse av en undersøkelse beskrevet av Kivirikko og Myllyla (1982, Methods Enzymol, 82:245-304). Undersøkelses reaksjonsblandinger inneholder 50 mM HEPES (pH 7,4), 100 μM α -ketoglutarsyrenatriumsalt, 0,30 $\mu\text{Ci/ml}$ ketoglutarsyre α -[^{14}C]-natriumsalt; 40 μM FeSO_4 , 1 mM askorbat, 1541,8 enheter/ml katalase, med eller uten 50 μM peptidsubstrat og forskjellige konsentrasjoner av forbindelsen ifølge oppfinnelsen. Reaksjoner blir initiert ved tilsetning av HIF-PH-enzym.

Den peptidavhengige prosentvise turnoveren beregnes ved å subtrahere prosent turnover under fravær av peptid fra prosent turnover under nærvær av substratpeptid. Prosent inhibering og IC_{50} beregnes ved anvendelse av peptidavhengig prosent turnover ved gitte inhibitor konsentrasjoner. Beregninger av IC_{50} -verdier for hver inhibitor utføres, for eksempel ved anvendelse av GraFit software (Erithacus Software Ltd., Surrey UK).

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen, når de testes i undersøkelser, viser forbedret aktivitet sammenlignet med ikke-cyano forbindelser, slik det er vist i Tabell 1 nedenfor. Tabell 1 kan finnes i eksempel 54.

Forbindelsen ifølge oppfinnelsen kan leveres direkte eller i farmasøytiske sammensetninger sammen med egnede bærere eller eksipienter, slik det er kjent i litteraturen. Forskjellige behandlinger omfattet heri kan innbefatte administrasjon av en

effektiv mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen til et subjekt som trenger det, for eksempel et subjekt som har risiko for anemi på grunn av for eksempel kronisk nyresvikt, diabetes, kreft, AIDS, bestrålingsbehandling, kjemoterapi, nyredialyse eller kirurgi. I en foretrukket utførelsesform er subjektet et pattedyrssubjekt, og i en mest
5 foretrukket utførelsesform er subjektet et menneske.

En effektiv mengde av en forbindelse kan lett bestemmes ved rutineeksperimentering, i tillegg til den mest effektive og hensiktsmessige administrasjonsruten og den mest passende formuleringen. Forskjellige formuleringer og legemiddelleveringssystemer er
10 tilgjengelige i litteraturen. Se for eksempel Gennaro, A.R., red. (1995) "Remington's Pharmaceutical Sciences", ovenfor.

Egnede administrasjonsruter kan for eksempel inkludere oral, rektal, transmukosal, nasal eller intestinal administrasjon og parenteral levering, som inkluderer
15 intramuskulær, subkutan, intramedullære injeksjoner, så vel som intratekal, direkte intraventrikulær, intravenøs, interperitoneal, intranasal eller intraokulære injeksjoner. Forbindelsen eller sammensetningen derav kan administreres på en lokal, snarere enn en systemisk måte. For eksempel kan en forbindelse eller sammensetning derav leveres ved injeksjon eller i et målrettet legemiddelleveringssystem, slik som et depot eller
20 vedvarende frigivelsesformulering.

De farmasøytiske sammensetningene ifølge oppfinnelsen kan fremstilles ved en hvilken som helst av fremgangsmåtene godt kjente i litteraturen, slik som vanlig sammenblanding, oppløsning, granulering, dragefremstilling, finpulverisering,
25 emulgering, innkapsling, innfangning eller lyofiliseringsprosesser. Slik det er angitt ovenfor, kan sammensetningene ifølge oppfinnelsen inkludere en eller flere fysiologisk akseptable bærere slik som eksipienter og hjelpeforbindelser som letter prosessering av aktive molekyler til preparater for farmasøytisk anvendelse.

30 Passende formulering er avhengig av den valgte administrasjonsruten. For injeksjon kan for eksempel sammensetningene formuleres i vandige løsninger, foretrukket i fysiologisk kompatible buffere slik som Hanks løsning, Ringers løsning eller fysiologisk saltvannsbuffer. For transmukosal eller nasal administrasjon, blir penetranter passende for barrieren som skal trenges gjennom anvendt i formuleringen.
35 Slike penetranter er generelt kjente i litteraturen. I en foretrukket utførelsesform ifølge oppfinnelsen blir de foreliggende forbindelsene fremstilt i en formulering tiltenkt for

oral administrasjon. For oral administrasjon kan forbindelsene formuleres lett ved å kombinere de aktive forbindelsene med farmasøytisk akseptable bærere godt kjente i litteraturen. Slike bærere muliggjør at forbindelsen ifølge oppfinnelsen blir formulert som tabletter, piller, drageer, kapsler, væsker, geler, siruper, slurrier, suspensjoner og
 5 lignende, for oralt inntak av et subjekt. Forbindelsene kan også formuleres i rektale sammensetninger slik som stikkpiller eller retensjonsklyster, som for eksempel inneholder vanlige stikkpillebaser slik som kakaosmør eller andre glyserider.

Farmasøytiske preparater for oral anvendelse kan oppnås som faste eksipienter,
 10 eventuelt oppmaling av en resulterende blanding og prosessere blandingen av granuler, etter tilsetning av passende hjelpeforbindelser, hvis ønskelig, for å oppnå tabletter eller drageekjerner. Egnede eksipienter er særlig fyllstoffer slike som sukker, som inkluderer laktose, sukkrose, mannitol eller sorbitol; cellulosepreparater slik som for eksempel maisstivelse, hvetestivelse, risstivelse, potetstivelse, gelatin, gummi tragakant,
 15 metylcellulose, hydroksypropylmetylcellulose, natriumkarboksymetylcellulose og/eller polyvinylpyrrolidon (PVP). Hvis ønskelig kan disintegreringsmidler tilsettes, slik som tverrbundet polyvinylpyrrolidon, agar eller algininsyre, eller et salt derav, slik som natriumalginat. I tillegg kan fuktemidler slik som natriumdodecylsulfat inkluderes.

20 Drageekjerner blir tilveiebrakt med passende belegg. For dette formålet kan konsentrerte sukkerløsninger anvendes, som eventuelt kan inneholde gummi arabikum, talkum, polyvinylpyrrolidon, karbopolgel, polyetylglykol og/eller titandioksid, lakkløsninger og passende organiske løsemidler eller løsemiddelblandinger. Fargestoffer eller pigmenter kan tilsettes til tablettene eller drageebeleggene for
 25 identifikasjon eller for å karakterisere forskjellige kombinasjoner av aktive forbindelsesdoser.

Farmasøytiske preparater for oral administrasjon inkluderer "push-fit"-kapsler fremstilt av gelatin, så vel som myke, forseglede kapsler fremstilt av gelatin og en mykgjører,
 30 slik som glyserol eller sorbitol. "Push-fit"-kapslene kan inneholde de aktive ingrediensene blandet med fyllstoff slik som laktose, bindemidler slik som stivelser og/eller smøremidler slik som talkum eller magnesiumstearat og eventuelt stabilisatorer. I myke kapsler kan de aktive forbindelsene løses opp eller suspenderes i passende væsker slik som fettoljer, flytende parafin eller flytende polyetylglykoler. I tillegg
 35 kan stabilisatorer tilsettes. Alle formuleringer for oral administrasjon bør være i doseringer egnet for slik administrasjon.

I en utførelsesform kan forbindelsene ifølge oppfinnelsen administreres transdermalt, slik som gjennom et hudplaster, eller topisk. I et aspekt kan de transdermale eller topiske formuleringene ifølge oppfinnelsen i tillegg innbefatte en eller flere

5 penetreringsforsterkere eller andre hjelpesubstanser, som inkluderer midler for å øke migrering av den leverte forbindelsen. Transdermal eller topisk administrasjon kan for eksempel være foretrukket i situasjoner hvori lokal spesifikk levering er ønskelig.

For administrasjon ved inhalasjon blir forbindelsene for anvendelse ifølge oppfinnelsen

10 hensiktsmessig levert i form av en aerosolspraypresentasjon fra trykksatte beholdere eller en forstøver, ved anvendelse av et passende drivemiddel, for eksempel diklordifluormetan, triklorfluormetan, diklortetrafluoretan, karbondioksid eller en hvilken som helst annen passende gass. I tilfellet en trykksatt aerosol kan den passende doseringsenheten bestemmes ved å tilveiebringe en ventil for levering av en oppmålt

15 mengde. Kapsler og beholdere av for eksempel gelatin, for anvendelse i en inhalerer eller insufflator kan formuleres. Disse inneholder typisk en pulverblanding av forbindelsen og en passende pulverbase slik som laktose eller stivelse.

Sammensetningene formulert for parenteral administrasjon ved injeksjon, for eksempel

20 ved bolusinjeksjon eller kontinuerlig infusjon kan presenteres i enhets doseringsform, for eksempel i ampuller eller i multidose beholdere, med et tilsatt konserveringsmiddel. Sammensetningene kan ha slike former som suspensjoner, løsninger eller emulsjoner i olje eller vandige vehikler og kan inneholde formuleringsmidler slik som suspenderings-, stabiliserings- og/eller dispergeringsmidler. Formuleringer for

25 parenteral administrasjon inkluderer vandige løsninger eller andre sammensetninger i vannløselig form.

Suspensjoner av de aktive forbindelsene kan også fremstilles som passende oljeinjeksjonssuspensjoner. Egnede lipofile løsemidler eller vehikler inkluderer fettoljer

30 slik som sesamolje og syntetiske fettsyreester, slik som etyloleat eller triglyserider eller liposomer. Vandige injeksjonssuspensjoner kan inneholde substanser som øker viskositeten til suspensjonen, slik som natriumkarboksymetylcellulose, sorbitol eller dekstran. Eventuelt kan suspensjonen også inneholde egnede stabilisatorer eller midler som øker løseligheten av forbindelsene for å muliggjøre fremstilling av svært

35 konsentrerte løsninger. Alternativt kan den aktive ingrediensen være i pulverform for

konstitusjon med en passende vehikkel, for eksempel sterilt, pyrogenfritt vann, før anvendelse.

Slik det er nevnt ovenfor kan sammensetningene ifølge oppfinnelsen også formuleres
5 som et depotpreparat. Slike langtidsvirkende formuleringer kan administreres ved
implantasjon (for eksempel subkutant eller intramuskulært) eller ved intramuskulær
injeksjon. Således kan for eksempel foreliggende forbindelser formuleres med passende
polymere eller hydrofobe materialer (for eksempel som en emulsjon i en akseptabel
olje) eller ionebytterharpikser, eller som dårlig løselige derivater, for eksempel som et
10 dårlig løselig salt.

Egnede bærere for de hydrofobe molekylerne ifølge oppfinnelsen er godt kjente i
litteraturen og inkluderer ko-løsemiddelsystemer som for eksempel innbefatter
benzylalkohol, en ikke-polar surfaktant, en vannblandbar organisk polymer og en
15 vannfase. Ko-løsemiddelsystemet kan være VPD ko-løsemiddelsystemet. VPD er en
løsning av 3% vekt/volum benzylalkohol, 8% vekt/volum av den ikke-polare
surfaktanten polysorbat 80 og 65% vekt/volum polyetylenglykol 300, opp til volumet i
absolutt etanol. VPD ko-løsemiddelsystemet (VPD:5W) består av VPD-fortynnet 1:1
med en 5% dekstrose i vannløsning. Dette ko-løsemiddelsystemet er effektivt for
20 oppløsning av hydrofobe forbindelser og gir lav toksisitet etter systemisk
administrasjon. Naturlig kan proporsjonene av et ko-løsemiddelsystem varieres
betydelig uten å ødelegge dets løselighet og toksiske karakteristikk. Videre kan
identiteten til ko-løsemiddelkomponentene variere. For eksempel kan andre lav-
toksisitets ikke-polare surfaktanter anvendes i stedet for polysorbat 80, hvor
25 fraksjonsstørrelsen av polyetylenglykol kan varieres, andre biokompatible polymerer
kan erstatte polyetylenglykol, for eksempel polyvinylpyrrolidon, og andre sukker- eller
polysakkarider kan anvendes i stedet for dekstrose.

Alternativt kan andre leveringssystemer for hydrofobe molekyler anvendes. Liposomer
30 og emulsjoner er godt kjente eksempler på leveringsvehikler eller bærere for hydrofobe
legemidler. Liposomale leveringssystemer er diskutert ovenfor i sammenheng med
genleveringssystemer. Visse organiske løsemidler, slik som dimetylsulfoksid kan også
anvendes, selv om dette vanligvis skjer med større toksisitet som kostnad. I tillegg kan
forbindelsene leveres ved anvendelse av vedvarende frigivelsessystemer, slik som
35 semipermeable matrikser av faste hydrofobe polymerer som inneholder den effektive
mengden av sammensetningen som skal administreres. Forskjellige vedvarende

frigivelsesmaterialer er etablert og tilgjengelige for fagmannen. Vedvarende frigivelseskapsler kan, avhengig av deres kjemiske natur, frigi forbindelsene i noen uker opp til over 100 dager. Avhengig av den kjemiske naturen og den biologiske stabiliteten til det terapeutiske reagenset, kan ytterligere strategier for

5 proteinstabilisering anvendes.

For en hvilken som helst sammensetning anvendt i de forskjellige behandlingene omfattet heri, kan en terapeutisk effektiv dose estimeres initielt ved anvendelse av et antall teknikker kjent i litteraturen. For eksempel, i en celledyrkningsundersøkelse, kan

10 en dose formuleres i dyremodeller for å oppnå et sirkulerende konsentrasjonsområde som inkluderer IC_{50} slik det bestemmes i cellekultur. Doseringsområdene passende for humane subjekter kan for eksempel bestemmes ved anvendelse av data oppnådd fra celledyrkningsundersøkelser og andre dyrestudier.

15 En terapeutisk effektiv dose av en forbindelse refererer til den mengden av forbindelsen som resulterer i lindring av symptomer eller en forlengelse av overlevelse hos et subjekt. Toksisitet og terapeutisk effektivitet av slike molekyler kan bestemmes ved standard farmasøytiske prosedyrer i cellekulturer eller eksperimentelle dyr, for eksempel ved å bestemme LD_{50} (dosen dødelig for 50% av populasjonen) og ED_{50}

20 (dosen terapeutisk effektiv for 50% av populasjonen). Doseringsforholdet mellom toksiske og terapeutiske effekter er den terapeutiske indeksen, som kan uttrykkes som forholdet LD_{50}/ED_{50} . Forbindelser som fremviser høy terapeutisk indeks er foretrukket.

Doseringer faller foretrukket innenfor området med sirkulerende konsentrasjoner som

25 inkluderer ED_{50} med liten eller ingen toksisitet. Doseringer kan variere innenfor dette området avhengig av doseringsformen som anvendes og administrasjonsruten som anvendes. Den eksakte formuleringen, administrasjonsruten og doseringen bør velges i henhold til fremgangsmåter kjente i litteraturen, i lys av detaljer som gjelder subjektets tilstand.

30 Doseringsmengde og intervall kan justeres individuelt for å tilveiebringe plasmanivåer av den aktive bestanddelen som er tilstrekkelig til å modulere en ønsket parameter, for eksempel endogene erythropoietinplasmanivåer, dvs. minimal effektiv konsentrasjon (MEC). MEC vil variere for hver forbindelse som kan for eksempel estimeres fra in

35 vitro-data. Doseringer nødvendige for å oppnå MEC vil avhenge av individuelle karakteristikk og administrasjonsrute. Forbindelser eller sammensetninger derav bør

administreres ved anvendelse av et regime som opprettholder plasmanivåer over MEC i ca. 10-90% av behandlingsvarigheten, foretrukket ca. 30-90% av behandlingsvarigheten, og mest foretrukket mellom 50-90%. I tilfeller med lokal administrasjon eller selektivt opptak, trenger den effektive lokale konsentrasjonen av legemiddelet ikke å være relatert til plasmakonsentrasjon. Alternativt kan modulering av en ønsket parameter, for eksempel stimulering av endogent erythropoietin oppnås ved

- 1) administrering av en tilsetningsdose fulgt av en opprettholdende dose,
- 10 2) administrering av en induksjonsdose for raskt å oppnå den ønskede parameteren, for eksempel erythropoietinnivåer, innenfor et målområde, fulgt av en lavere opprettholdende dose for å opprettholde, for eksempel hematokritt, innenfor et ønsket målområde, eller
- 15 3) gjentatt periodevis dosering.

Mengden av forbindelse eller sammensetning som administreres vil selvfølgelig avhenge av et antall faktorer som inkluderer kjønn, alder og vekt til subjektet som behandles, hvor alvorlig subjektet er berørt, administrasjonsmåte og vurdering av ansvarlig lege.

De foreliggende sammensetningene kan hvis ønskelig presenteres i en pakke eller dispenserinnretning som inneholder en eller flere enhetsdoseringsformer som inneholder den aktive ingrediensen. Slik pakke eller innretning kan for eksempel innbefatte metall eller plastfolie, slik som en blemmepakke. Pakken eller dispenserinnretningen kan ledsages av instruksjoner for administrasjon. Sammensetningene som innbefatter en forbindelse ifølge oppfinnelsen formulert i en kompatibel farmasøytisk bærer kan også fremstilles, plasseres i en passende beholder og merkes for behandling av en indiker tilstand. Egnede tilstander indikert på merket kan inkludere behandling av tilstander, forstyrrelser eller sykdommer hvori anemi er en hovedindikasjon.

Disse og andre utførelsesformer ifølge oppfinnelsen vil være nærliggende for fagmannen i lys av beskrivelsen heri, og er særlig tiltenkt.

EKSEMPLER

Oppfinnelsen vil ytterligere forstås med referanse til følgende eksempler, som er tiltenkt kun som eksempel på oppfinnelsen. Foreliggende oppfinnelse er ikke begrenset i omfang av de eksemplifiserte utførelsesformene, som kun er tiltenkt som illustrasjoner
 5 av enkeltaspekter av oppfinnelsen. Hvilke som helst fremgangsmåter som er funksjonelt ekvivalente er innenfor omfanget av oppfinnelsen. Forskjellige modifikasjoner av oppfinnelsen i tillegg til de som er beskrevet heri, vil være nærliggende for fagmannen fra foregående beskrivelse og ledsagende figurer. Slike modifikasjoner faller innenfor omfanget av vedlagte krav.

10

Med mindre annet er angitt, er alle temperaturer i grader celsius. I tillegg, i disse eksemplene og ellers, har forkortelser følgende betydninger:

bs	=	bred singlett
DMSO	=	dimetylsulfoksid
d	=	dublett
dd	=	dublett av dubletter
dppf		1,1'-bis(difenylfosfino)ferroceno
DMF	=	dimetylformamid
DMEM	=	Dulbecco's modifiserte Eagle medium
EtOAc	=	etylacetat
EDTA	=	etylendiaminetetraeddiksyre
FBS	=	foster bovineserum
g	=	gram
h	=	timer
HPLC	=	Høytytelses væskeskromatografi
Hz	=	hertz
MS	=	Massespektroskopi
MeONa	=	natriummetoksid
MeOH	=	metanol

MHz	=	megaHertz
μ M	=	mikromolar
μ L	=	mikroliter
mg	=	milligram
mL	=	milliliter
mM	=	millimolar
mm	=	millimeter
mmol	=	millimolar
min	=	minutt
M	=	molar
mol	=	mol
m	=	multipllett
N	=	normal
NMR	=	Kjernemagnetisk resonans
Pd/C	=	palladium over karbon
Pd ₂ (dba) ₃	=	tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0)
q	=	kvartett
s	=	singlett
Ts	=	toluen-4-sulfonyl
t	=	triplett

Eksempel 1

[(1-Cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

5 a. 1-Cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En blanding av 1-brom-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (1,621 g, 5 mmol; fremstilt som vist i Skjema 2, i henhold til US 2004/0254215 A1; ¹H NMR (200 MHz, CD₃OD) δ 11,89 (s, 1H), 8,41 (m, 1H), 8,25 (m, 1H), 7,84 (m, 2H), 4,49 (t, J=7,0 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,47 (m, 2H), 1,00 (t, J=7,2 Hz, 3H)), CuCN (905 mg, 10 mmol) og dimetylformamid (20 ml) ble refluksert med røring under nitrogen i 5 minutter. Etter

avkjøling til omgivelsestemperatur ble blandingen fortynnet med vann (200 ml).

Deretter ble etylacetat (150 ml) tilsatt og blandingen ble ristet kraftig i 5 minutter før den ble filtrert gjennom en celitepute. Den organiske fasen av filtratet ble separert og tørket over MgSO_4 før silikagel ble tilsatt. Blandingen ble konsentrert i vakuum.

- 5 Residuet ble tilsatt på toppen av en kort kolonne fylt med silikagel. Eluering med diklormetan ga tittelforbindelsen som et gulaktig faststoff (627 mg); MS-(-)-ion: M-a = 269,2.

b. [(1-Cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

- 10 En blanding av 1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (89 mg, 0,33 mmol), glysin (375 mg, 5 mmol) og en 0,5 N løsning av MeONa i MeOH (8 ml, 4 mmol) ble refluxert med røring i 48 timer før konsentrering i vakuum. Residuet ble løst i vann (20 ml). Løsningen ble vasket med dietyleter før dens pH ble justert til 2 til 3 ved tilsetning av vandig 6N HCl. Den resulterende suspensjonen ble ekstrahert med
- 15 etylacetat (1 x 30 ml). Den organiske fasen ble tørket over MgSO_4 og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som et gulaktig faststoff (72 mg); MS-(-)-ion: M-a = 270,2.

Eksempel 2 (referanseeksempel)

- 20 **2-(S)-[(1-Cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-propionsyre**

- En blanding av 1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (135 mg, 0,5 mmol, se Eksempel 1(a)), (S)-alanin (225 mg, 2,5 mmol) og en 0,5 N løsning av MeONa i metanol (5 ml, 2,5 mmol) ble varmet opp i en mikrobølgeovn med røring i 40 minutter ved 120°C før blandingen ble konsentrert i vakuum. Til residuet ble det tilsatt
- 25 vann (10 ml) og blandingen ble vasket med dietyleter (4 x 40 ml). pH til den rensede løsningen ble justert til ca. 2 ved tilsetning av vandig 6N HCl. Den resulterende suspensjonen ble ekstrahert med etylacetat (1 x 40 ml). Den organiske fasen ble tørket over MgSO_4 og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som et gulaktig faststoff (101 mg); MS-(-)-ion: M-1 = 284,1.

30

Eksempel 3

[(1-Cyano-4-hydroksy-7-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

a. 1-Cyano-4-hydroksy-7-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

- 35 En blanding av 1-brom-4-hydroksy-7-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (624 mg, 1,5 mmol; fremstilt som vist i Skjema 2, og i henhold til US 2004/0254215 A1, ^1H

NMR (CDCl₃): δ = 11,89 (s, 1 H), 8,35 (d, 1 H), 7,63 (d, 1 H), 7,08 til 7,52 (m, 6 H), 4,47 (t, 2 H), 1,84 (m, 2 H), 1,48 (m, 2 H), 0,99 (t, 3 H)), CuCN (271 mg, 3 mmol) og dimetylformamid (6 ml) ble refluksert med røring under nitrogen i 15 minutter. Etter avkjøling til omgivelsestemperatur ble blandingen fortynnet med etylacetat (100 ml).

5 Den resulterende suspensjonen ble filtrert gjennom en celitepute. Filtratet ble vasket med vann (2 x 250 ml) og tørket over MgSO₄ f r silikagel ble tilsatt. Deretter ble blandingen konsentrert i vakuum. Residuet ble tilsatt til toppen av en kort kolonne fylt med silikagel. Eluering med diklormetan ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (313 mg); MS(-)-ions: M-a = 361,2.

10

b. [(1-Cyano-4-hydroksy-7-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre
Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 1-cyano-4-hydroksy-7-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analog med Eksempel 1(b)); MS(-)-ion: M-a = 362,0.

15

Eksempel 4 (referanseeksempel)

2-(S)-[(1-Cyano-4-hydroksy-7-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-propionsyre

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 1-cyano-4-hydroksy-7-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (se Eksempel 3a) og (S)-alanin analogt med Eksempel 2; MS(-)-ion: M-1 = 376,0.

20

Eksempel 5 (referanseeksempel)

2-(R)-[(1-Cyano-4-hydroksy-7-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-propionsyre

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 1-cyano-4-hydroksy-7-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (se Eksempel 3a) og (R)-alanin analogt med Eksempel 2; MS(-)-ion: M-1 = 376,1.

25

Eksempel 6

{[1-Cyano-7-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

30

a. 1-Cyano-7-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Denne forbindelsen ble syntetisert fra 1-brom-7-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (fremstilt som vist i Skjema 2, i henhold til US 2004/0254215

35

A1, ¹H NMR (CDCl₃) δ = 11,89 (s, 1 H), 8,36 (d, 1 H), 7,57 (d, 1 H), 7,44 til 7,50 (m, 1

H), 7,08 to 7,16 (m, 4 H), 4,47 (t, 2 H), 1,78 to 1,93 (m, 2 H), 1,38 to 1,58 (m, 2 H), 0,99 (t, 3 H)) og CuCN analogt til Eksempel 3(a)); MS-(-)-ion: M-1 = 379,2.

**b. {[1-Cyano-7-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-
eddiksyre**

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 1-cyano-7-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analogt med Eksempel 1b); MS-(-)-ion: M-1 = 380,0.

Eksempel 7 (referanseeksempel)

[(1-Cyano-4-hydroksy-7-trifluormetylisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

a. 1-Cyano-4-hydroksy-7-trifluormetylisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Denne forbindelsen ble syntetisert fra 1-brom-4-hydroksy-7-trifluormetylisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (fremstilt som vist i Skjema 2, i henhold til US 2004/0254215

A1, ¹H NMR (CDCl₃): δ = 11,96 (s, 1 H), 8,52 til 8,56 (m, 2 H), 7,99 (dd, 1 H), 4,51 (t, 2 H), 1,86 (m, 2 H), 1,48 (m, 2 H), 1,00 (t, 3 H)) og CuCN analogt med Eksempel 1(a)); MS-(-)-ion: M-1 = 337,1.

**b. [(1-Cyano-4-hydroksy-7-trifluormetylisokinolin-3-karbonyl)-amino]-
eddiksyre**

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 1-cyano-4-hydroksy-7-trifluormetylisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analogt med Eksempel 1(b)); MS-(-)-ion: M-1 = 338,0.

Eksempel 8 (referanseeksempel)

[(7-Klor-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

a. 7-Klor-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Denne forbindelsen ble syntetisert fra 1-brom-7-klor-4-hydroksyisokinolin-3-

karboksylysyrebutylester (fremstilt som vist i Skjema 2, i henhold til US 2004/0254215

A1, ¹H NMR (CDCl₃): δ = 11,92 (s, 1 H), 8,34 (d, 1 H), 8,25 (d, 1 H), 7,75 (dd, 1 H), 4,49 (t, 2 H), 1,86 (m, 2 H), 1,48 (m, 2 H), 1,00 (t, 3 H)) og CuCN analogt med Eksempel 1(a)); MS-(-)-ion: M-1 = 303,2.

b) [(7-Klor-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre
tittelforbindelsen ble oppnådd fra 7-klor-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analog med Eksempel 1(b)); MS-(-)-ion: M-1 = 303,9.

5

Eksempel 9

[(1-Cyano-4-hydroksy-8-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

a. 3-Jod-2-metylbenzosyreetyler

- 10 Til en rørt løsning av 3-jod-2-metylbenzosyre (30 g, 0,11 mol) i etanol (425 ml) ble det tilsatt tionylklorid (42 ml, 0,57 mol) ved 0°C. Blandingen ble refluxert i 4,5 timer før den ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert i vakuum. Residuet ble fordelt mellom etyleter og mettet natriumbikarbonat løsning. Det organiske sjiktet ble vasket med saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum som ga
- 15 tittelforbindelsen som en gul olje (32,28 g): ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 7,94 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,70 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 6,90 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 4,35 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 2,65 (s, 3H), 1,38 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

b. 2-Metyl-3-fenoksybenzosyreetyler

- 20 Til en blanding av 3-jod-2-metylbenzosyreetyler (30,04 g, 0,10 mol), fenol (14,62 g, 0,16 mol), cesiumkarbonat (50,6 g, 0,16 mol), 1-naftalensyre (26,7 g, 0,16 mol), molekylsikt (25,6 g, 4 ångstrøm, 4-8 mesh), etylacetat (505 µl, 5 mmol) og vannfri toluen (108 ml) ble det tilsatt et kobber(I)trifluormetansulfonat-benzenkompleks (5,21 g, 0,01 mol) ved romtemperatur. Blandingen ble refluxert under nitrogen i 43 timer før
- 25 den ble avkjølt til romtemperatur og filtrert. Filterkaken ble suspendert i etylacetat (250 ml) og slurrien ble rørt i 0,5 timer. De faste komponentene ble deretter separert ved filtrering og tatt ut. Filtratene ble kombinert, vasket med vann, vandig 0,5 N natriumhydroksidløsning (2x) og saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Residuet ble rensert med flashkolonnekromatografi på silikagel
- 30 med en gradient av etylacetat og heksan. Fraksjoner som inneholder både tittelforbindelsen og utgangsmaterialet 3-jod-2-metylbenzosyreetyler ble samlet opp og konsentrert i vakuum som ga en gul olje (15,9 g); fraksjoner som kun inneholder tittelforbindelsen ble samlet opp og konsentrert i vakuum som ga en gul olje (5,25 g): ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 7,63 (m, 1H), 7,24 (m, 3H), 7,05 (m, 2H), 6,87 (m, 2H), 4,37 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 2,45 (s, 3H), 1,40 (t, J = 7,0 Hz, 3H).
- 35

c. 2-Brommetyl-3-fenoksybenzosyreetyler

En blanding av 2-metyl-3-fenoksybenzosyreetyler (5,23 g, 0,02 mol), N-bromsuksinimid (3,82 g, 0,02 mol) og benzoylperoksid (247,5 mg, 1,1 mmol) i
 5 karbontetraklorid (80 ml) ble refluksert i 4 timer før den ble avkjølt til romtemperatur
 og filtrert. Filtratet ble vasket med vann, mettet vandig natriumbikarbonatløsning og
 saltvann før den ble tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum som ga
 tittelforbindelsen som en gul olje (7,08 g): ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ = 7,66 (m,
 1H), 7,24 (m, 3H), 7,03 (m, 1H), 6,98 (m, 3H), 5,09 (s, 3H), 4,42 (q, J = 7,2 Hz, 2H),
 10 1,44 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

d. 2-[[Metoksykarbonylmetyl-(toluen-4-sulfonyl)-amino]-metyl]-3-fenoksybenzosyreetyler

En blanding av 2-brommetyl-3-fenoksybenzosyreetyler (6,83 g, 0,02 mol), (toluen-4-sulfonylamino)-eddiksyremetyler (4,97 g, 0,02 mol), natriumjodid (4,59 g, 0,03 mol),
 15 kaliumkarbonat (4,24 g, 0,03 mol) og vannfri dimetylformamid (50 ml) ble rørt ved
 romtemperatur i 4 timer før blandingen ble fortynnet med vann og ekstrahert med
 etylacetat. Det organiske sjiktet ble separert og vasket med vann og saltvann. Deretter
 ble det tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Residuet ble rensert
 20 med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og heksan som
 ga tittelforbindelsen som en gul olje (5,10 g): MS: (+) m/z 497,8 ($M+1$).

e. 4-Hydroksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylyremetyler

Til en rørt løsning av 2-[[metoksykarbonylmetyl-(toluen-4-sulfonyl)-amino]-metyl]-3-fenoksybenzosyreetyler (5,07 g, 0,01 mol) i vannfri metanol (22 ml) ble det dråpevis
 25 tilsatt en blanding av natriummetoksid løsning (30 vekt-%, 5,6 ml) og vannfri metanol
 (4 ml) ved 0°C. Blandingens ble rørt ved 0°C i 10 minutter og deretter ved
 romtemperatur i ytterligere 3 timer før den ble konsentrert i vakuum. Vann ble tilsatt og
 pH til slurrien ble justert med vandig 1N HCl i pH = 10. Det dannede presipitatet ble
 30 separert ved filtrering, vasket med vann, mettet natriumbikarbonatløsning og vann før
 det ble tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (2,21 g): ^1H
 NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ = 11,73 (s, 1H), 9,21 (s, 1H), 8,06 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,61
 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,40(m, 2H), 7,13 (m, 4H), 4,10 (s, 3H).

f. 1-Brom-4-hydroksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester

En blandig av 4-hydroksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester (103 mg, 0,35 mmol), N-bromsuksinimid (65 mg, 0,37 mmol), benzoylperoksid (4,2 mg, 0,02 mmol) og karbontetraklorid (2,5 ml) ble refluxert i 4 timer før den ble avkjølt til romtemperatur og filtrert. Filtratet ble vasket med vann, mettet vandig natriumbikarbonatløsning og saltvann før den ble tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (128 mg): MS: (+) m/z 374,0, 376,0 (M+1, $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$), MS: (-) m/z 372,1, 374,1 (M-1, $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$).

g. 1-Cyano-4-hydroksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester

En blanding av 1-brom-4-hydroksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester (1,22 g, 3,3 mmol), kobber(I)cyanid (585 mg, 6,6 mmol) og vannfri dimetylformamid (16 ml) ble refluxert i 10 minutter før den ble avkjølt til romtemperatur og fortynnet med vann. Til den resulterende slurrien ble det tilsatt en kloroform/isopropanolblanding (3:1, 150 ml). Etter røring i 10 minutter ble de faste komponentene separert ved filtrering og tatt ut. Det organiske sjiktet av filtratet ble vasket med vann og saltvann før det ble tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Residuet ble rensert med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av metanol og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (574 mg): ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ = 12,26 (s, 1H), 8,15 (m, 1H), 7,71 (t, J = 8,2 Hz, 1H), 7,38 (m, 2H), 7,17 (m, 4H), 4,12 (s, 3H).

h. [(1-Cyano-4-hydroksy-8-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

En blanding av 1-cyano-4-hydroksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester (322 mg, 1,0 mmol), glysin (1,51 g, 20,1 mmol) og en 0,5 M natriummetoksidløsning i metanol (38,2 ml) ble refluxert i 31 timer før den ble avkjølt til romtemperautr og konsentrert i vakuum. Vann (75 ml) ble tilsatt og pH til den gule suspensjonen ble justert til 10 med vandig 1N HCl. En klar gul løsning ble oppnådd etter 5 minutter med lydbehandling. Løsningen ble vasket med diklormetan (2 x 50 ml). Det gjenværende vannsjiktet ble surgjort til pH = 3 med vandig 1N HCl. Det hvite presipitatet som ble dannet ble separert ved filtrering, vasket med vann og tørket med vakuum som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (354 mg): ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 200 MHz): δ = 12,86 (bs, 1H), 9,56 (t, 1H), 8,09 (m, 1H), 7,88 (t, J = 8,2 Hz, 1H), 7,47 (m, 2H), 7,21 (m, 4H), 4,05 (d, J = 5,8 Hz, 2H).

Eksempel 10**{[1-Cyano-8-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre****a. 3-(4-Fluorfenoksy)-2-metylbenzosyreetyler**

5 En blanding av 3-jod-2-metylbenzosyreetyler (6,29 g, 0,02 mol), para-fluorfenol (4,86 g, 0,04 mol), cesiumkarbonat (14,14 g, 0,04 mol), 2,2,6,6-tetrametylheptan-3,5-dion (447 µl, 2 mmol) og kobber(I)klorid (1,07 g, 0,01 mol) i vannfri N-metyl-2-pyrrolidon (38 ml) ble varmet opp til 130°C i 3 dager før blandingen ble avkjølt til romtemperatur og reaksjonen stoppet med vann og blandingen filtrert. Filtratet ble
 10 ekstrahert med etylacetat. Det organiske sjiktet ble vasket to ganger med 0,5 N natriumhydroksid, saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Residuet ble renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og heksan som ga tittelforbindelsen som en matt, grønn olje (2,99 g): ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 7,63 (m, 1H), 7,18 (m, 2H), 6,98 (m, 2H), 6,85 (m, 2H),
 15 4,37 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 2,45 (s, 3H), 1,40 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

b. 2-Brommetyl-3-(4-fluorfenoksy)-benzosyremetyler

En blanding av 3-(4-fluorfenoksy)-2-metylbenzosyreetyler (2,63 g, 9,60 mmol), N-bromsuksinimid (1,79 g, 10,08 mmol) og benzoylperoksid (116 mg, 0,48 mmol) i
 20 karbontetraklorid (35 ml) ble refluksert i 4 timer før avkjøling til romtemperatur og fordeling mellom diklormetan og vann. Det organiske sjiktet ble vasket med mettet, vandig natriumbikarbonatløsning, saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som en gul olje (3,44 g): ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 7,67 (m, 1H), 7,27 (m, 2H), 7,01 (m, 4H), 5,09 (s, 3H), 4,42 (q,
 25 J = 7,2 Hz, 2H), 1,44 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

c. 3-(4-Fluorfenoksy)-2-{[metoksykarbonylmetyl-(toluen-4-sulfonyl)-amino]-metyl}-benzosyreetyler

En blanding av 2-brommetyl-3-(4-fluorfenoksy)-benzosyreetyler (3,37 g, 9,57
 30 mmol), (toluen-4-sulfonylamino)-eddiksyremetyler (2,33 g, 9,57 mmol), natriumjodid (2,15 g, 14,36 mmol) og kaliumkarbonat (1,98 g, 14,36 mmol) i vannfri dimetylformamid (22 ml) ble rørt ved romtemperatur i 24 timer før reaksjonen ble stoppet med vann og blandingen ekstrahert med etylacetat. Det organiske sjiktet ble vasket med vann, saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum.
 35 Residuet ble renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av

etylacetat og heksan som ga tittelforbindelsen som en gul olje (2,67 g): MS: (+) m/z 538,13 (M+Na¹).

d. 8-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester

5 Til en rørt løsning av 3-(4-fluorfenoksy)-2-{[metoksykarbonylmetyl-(toluen-4-sulfonyl)-amino]-metyl}-benzosyreetyler (2,66 g, 5,17 mmol) i vannfri metanol (8 ml) ble det dråpevis tilsatt en løsning av natriummetoksid (30 vekt-%, 2,8 ml) og metanol (2 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt ved 0°C i 10 minutter og deretter i 3 timer ved romtemperatur før den ble konsentrert i vakuum. Vann ble tilsatt og pH til slurrien
10 ble justert med 1N HCl til pH = 10. Det resulterende presipitatet ble samlet opp ved filtrering, vasket med vann, mettet natriumbikarbonat og vann, og ble tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (1,51 g): MS: (+) m/z 314,07 (M+1).

e. 1-Brom-8-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester

15 En blanding av 8-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester (1,21 g, 3,87 mmol), N-bromsuksinimid (723 mg, 4,06 mmol) og benzoylperoksid (47 mg, 0,19 mmol) i karbontetraklorid (20 ml) ble refluxert i 4 timer før blandingen ble avkjølt til romtemperatur og fordelt mellom diklormetan og vann. Det organiske sjiktet ble vasket med mettet, vandig natriumbikarbonat, saltvann og ble tørket over vannfri
20 natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Residuet ble rensset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av diklormetan og heksan som ga tittelforbindelsen som et matt, gult faststoff (843 mg): MS: (+) m/z 392,00, 393,93 (M+1, ⁷⁹Br/⁸¹Br).

f. 1-cyano-8-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester

25 En blanding av 1-brom-8-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester (400 mg, 1,02 mmol) og kobber(I)cyanid (183 mg, 2,04 mmol) i vannfri dimetylformamid (4 ml) ble refluxert i 10 minutter før blandingen ble avkjølt til romtemperatur og reaksjonen stoppet med vann. Slurrien ble rørt med
30 kloroform/isopropanol (3:1, 70 ml) og vann i 10 minutter og filtrert. Det organiske sjiktet ble vasket med vann, saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og rensset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av metanol og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (158 mg): MS: (+) m/z 339,07 (M+1).

**g. {[1-Cyano-8-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-
eddiksyre**

En blanding av 1-cyano-8-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester (112 mg, 0,33 mmol), glysin (496 mg, 6,6 mmol) og en 0,5 M
 5 løsnings av natriummetoksid i metanol (12,5 ml, 6,25 mmol) ble refluksert i 39 timer før den ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert i vakuum. Vann (75 ml) ble tilsatt og pH til den gule suspensjonen ble justert til pH = 10 med 1N HCl. Suspensjonen ble vasket med metylenklorid (2 x 50 ml). Det gjenværende vannsjiktet ble surgjort til pH = 3 med 1N HCl. Det resulterende, hvite presipitatet ble samlet opp ved filtrering,
 10 vasket med vann og tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (109 mg): ¹H NMR (DMSO-d₆, 200 MHz): δ = 12,85 (bs, 1H), 9,57 (br s, 1H), 8,09 (d, 1H), 7,83 (t, 1H), 7,27 (m, 5H), 4,05 (d, J = 5,8 Hz, 2H); MS: (+) m/z 382,00 (M+1).

Eksempel 11 (referanseeksempel)

15 [(1-Cyano-4-hydroksy-6-metoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

a. 1-Brom-4-hydroksy-6-metoksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En blanding av 1,4-dihydroksy-6-metoksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (1,53 g, 5,26 mmol, fremstilt i henhold til US 2004/0254215 A1 eller skjema 2),
 20 fosforoksybromid (6,04 g, 21,05 mmol) og acetonitril (40 ml) ble refluksert i 16 timer før den ble avkjølt til romtemperatur og eluert mellom diklormetan og vandig, mettet bikarbonatløsning i 20 minutter. Blandingen ble deretter filtrert. Det organiske sjiktet til filtratet ble separert, vasket med vann og saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og ble konsentrert i vakuum. Residuet ble renset med flashkolonnekromatografi på
 25 silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (290 mg): ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 11,84 (s, 1H), 8,14(d, J = 9,4 Hz, 1H), 7,62 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 7,83 (dd, J = 8,0 Hz, 2,7 Hz, 1H), 4,48 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 1,86 (m, 1H), 1,55 (m, 1H), 0,99 (t, J = 7,4 Hz).

30 b. 1-Cyano-4-hydroksy-6-metoksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En blanding av 1-brom-4-hydroksy-6-metoksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester (290 mg, 0,82 mmol) og kobber(I)cyanid (147 mg, 1,64 mmol) i vannfri dimetylformamid (4 ml) ble refluksert i 10 minutter før den ble avkjølt til romtemperatur og reaksjonen stoppet med vann. Den resulterende slurrien ble rørt med
 35 kloroform/isopropanol (3:1, 40 ml) og vann i 10 minutter og ble deretter filtrert. Det organiske sjiktet av filtratet ble separert, vasket med vann og saltvann, før det ble tørket

over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Residuet ble renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av metanol og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (120 mg): MS: (+) m/z 301,01 (M+1).

5 **c. [(1-Cyano-4-hydroksy-6-metoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre**

En blanding av 1-cyano-4-hydroksy-6-metoksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (104 mg, 0,35 mmol), glysin (523 mg, 6,97 mmol) og en 0,5 M løsning av natriummetoksid i metanol (13,2 ml, 6,6 mmol) ble refluksert i 3 dager før den ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert i vakuum. Residuet ble løst i vann (30 ml) og
10 løsningen ble ekstrahert med metyl-tert-butyleter (2 x 25 ml). Det gjenværende vannsjiktet ble surgjort til pH = 3 med 1N HCl (10 ml). Det resulterende hvite presipitatet ble samlet opp ved filtrering, vasket med vann og tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (82 mg): ¹H NMR (DMSO-d₆, 200 MHz): δ = 9,53 (t, 1H), 8,10 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,57 (m, 2H), 4,02 (d, J = 6,2 Hz, 2H), 3,98 (s,
15 3H); MS: (+) m/z 302,00 (M+1).

Eksempel 12

[(1-Cyano-4-hydroksy-6-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

20 **a. 1-Cyano-4-hydroksy-6-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester**

Syntetisert fra 1-brom-4-hydroksy-6-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester (fremstilt i henhold til US 2004/0254215 A1 eller skjema 2, ¹H NMR (CDCl₃): δ = 11,76 (s, 1 H), 8,22 (d, 1 H), 7,68 (d, 1 H), 7,10 til 7,55 (m, 6 H), 4,46 (t, 2 H), 1,85 (m, 2 H), 1,48 (m, 2 H), 0,99 (t, 3 H)) og CuCN analogt med Eksempel 3a,; MS(-)-ion: M-1 = 361,3.
25

b. [(1-Cyano-4-hydroksy-6-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 1-cyano-4-hydroksy-6-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analogt med Eksempel 1b; MS(-)-ion: M-1 = 362,1.
30

Eksempel 13

{[1-Cyano-6-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

a. 1-Brom-6-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

35 En blanding av 6-(4-fluorfenoksy)-1,4-dihydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (7,43 g, 20 mmol, fremstilt i henhold til US 2004/0254215 A1 eller skjema), POBr₃

(17,38 g, 60 mmol) og vannfri acetonitril (140 ml) ble refluksert med røring i 60 minutter før den ble konsentrert i vakuum. Til residuet ble det tilsatt etylacetat (400 ml), NaHCO₃ (60 g) og deretter vann i små porsjoner (400 ml) med røring. Etter røring i 30 minutter ved romtemperatur ble blandingen filtrert gjennom en celitepute. Den
 5 organiske fasen til filtratet ble separert og tørket over MgSO₄. Deretter ble silikagel tilsatt og blandingen ble konsentrert i vakuum. Residuet ble tilsatt til toppen av en kort kolonne fylt med silikagel. Eluering ved anvendelse av CH₂Cl₂ som løsemiddelet, ga tittelforbindelsen som et off-white faststoff (930 mg); ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 11,76 (s, 1 H), 8,22 (d, J = 9,4 Hz, 1 H), 7,61 (d, J = 2,3 Hz, 1 H), 7,50 (dd, J = 9,0, 2,3
 10 Hz, 1 H), 7,10 to 7,13 (m, 4 H), 4,46 (t, J = 7,0 Hz, 2 H), 1,85 (m, 2 H), 1,45 (m, 2 H), 0,99 (t, J = 7,4 Hz, 3 H).

b. 1-Cyano-6-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

15 Syntetisert fra 1-brom-6-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og CuCN analogt med Eksempel 3a; MS(-)-ion: M-1 = 379,2.

c. {[1-Cyano-6-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

20 Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 1-cyano-6-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analogt med Eksempel 1b; MS(-)-ion: M-1 = 380,0.

Eksempel 14

{[1-Cyano-4-hydroksy-6-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

25

a. 1-Brom-4-hydroksy-6-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Til en blanding av 4-hydroksy-6-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester (1,837 g, 5 mmol; f r fremstilling se eksempel 28b) og N-bromsuksinimid (1,079 g, 6 mmol) ble det tilsatt vannfri MeCN med røring. Etter ca. 10 minutter ble en ytterligere porsjon MeCN (3 ml) tilsatt og røring fortsatte i 20 minutter. Blanding ble deretter fordelt mellom vann (100 ml) og CCl₄ (100 ml). Den organiske fasen ble separert, tørket over MgSO₄ og konsentrert i vakuum. Residuet ble
 35 rekrySTALLISERT fra EtOAc som g ttelforbindelsen som hvite n ler (1,345 g); MS(+)-ion: M+1, ⁷⁹Br/⁸¹Br = 445,8 og 447,8.

b. 1-Cyano-4-hydroksy-6-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-brom-4-hydroksy-6-(4-metoksyfenoksy)-
 5 isokinolin-3-karboksylysyrebutylester og CuCN analogt med eksempel 3a; MS-(+)-ion:
 M+1 = 392,9.

c. {[1-Cyano-4-hydroksy-6-(4-metoksyfenoksy)-isokinoling-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

10 Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-cyano-4-hydroksy-6-(4-metoksyfenoksy)-
 isokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analogt med eksempel 1b; MS-(-)-ion:
 M-1 = 391,9.

Eksemepl 15 (referanseeksempel)

15 **[(1-Cyano-4-hydroksy-6-fenylsulfanylisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre**

a. 1-Cyano-4-hydroksy-6-fenylsulfanylisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-brom-4-hydroksy-6-fenylsulfanylisokinolin-3-
 karboksylysyrebutylester (fremstilt som vist i Skjema 2, i henhold til US 2004/0254215
 20 A1) og CuCN analogt med eksempel 3a; MS-(+)-ion: M+1 = 378,9.

b. [(1-Cyano-4-hydroksy-6-fenylsulfanylisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-cyano-4-hydroksy-6-fenylsulfanylisokinolin-3-
 25 karboksylysyrebutylester og glysin analogt med eksempel 1b; MS-(-)-ion: M-1 = 377,9.

Eksempel 16 (referanseeksempel)

[(1-Cyano-4-hydroksy-7-fenylsulfanylisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

30 **a. 1-Cyano-4-hydroksy-7-fenylsulfanylisokinolin-3-karboksylysyrebutylester**

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-brom-4-hydroksy-7-fenylsulfanylisokinolin-3-
 karboksylysyrebutylester (fremstilt som vist i Skjema 2, i henhold til US 2004/0254215
 A1) og CuCN analogt med eksempel 3a; MS-(+)-ion: M+1 = 378,9.

**b. [(1-Cyano-4-hydroksy-7-fenylsulfanylisokinolin-3-karbonyl)-amino]-
eddiksyre**

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-cyano-4-hydroksy-7-fenylsulfanylisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analogt med eksempel 1b; MS-(-)-ion: M-1 = 378,0.

5

Eksempel 17 (referanseeksempel)

**{[1-Cyano-6-(2,6-dimetylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-
eddiksyre**

10 **a. 4-(2,6-Dimetylphenoksy)-ftalonitril**

En blanding av 4-nitroftalonitril (1 ekv.), 2,6-dimetylphenol (1,2 ekv.), K₂CO₃ (2 ekv.) og DMF (1 ml/mmol 4-nitroftalonitril) ble varmet opp under nitrogen til 60°C i 3 timer med røring. Etter avkjøling til omgivelsestemperatur ble blandingen helt over i vann (6 ml/ml DMF) med røring. Blandingen ble ekstrahert to ganger med EtOAc. De
15 kombinerte organiske fasene ble tørket over MgSO₄ og konsentrert i vakuum. Residuet ble rekrySTALLISERT fra EtOH som ga tittelforbindelsen som et gyllenbrunt faststoff (utbytte: 87%); ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 7,70 (d, 1 H), 7,05 to 7,16 (m, 5 H), 2,08 (s, 6 H).

20 **b. 4-(2,6-Dimetylphenoksy)-ftalsyre**

En blanding av 4-(2,6-dimetylphenoksy)-ftalonitril, vandig KOH (45 vekt-% KOH; 0,5 ml/mmol) og MeOH (0,5 ml/mmol) ble refluksert i 4 dager med røring før den ble fortynnet med vann (5 ml/mmol) og surgjort ved tilsetning av konsentrert saltsyre. Den resulterende blandingen ble ekstrahert med EtOAc. Den organiske fasen ble tørket over
25 MgSO₄ og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som et gyllenbrunt faststoff (utbytte: 99%); MS-(-)-ion: M-1 = 285,5.

c. [5-(2,6-Dimetylphenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyre

4-(2,6-Dimetylphenoksy)-ftalsyre og en ekvimolar mengde glysin ble malt opp godt
30 sammen i en morter. Blandingen ble deretter varmet opp til 220 til 240°C i et oljebad i vakuum til dannelsen av vann stoppet opp (ca. 30 min) som ga tittelforbindelsen som et mørkt glass (utbytte: 99%); MS-(-)-ion: M-1 = 324,5.

**d. [5-(2,6-Dimetylphenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-
eddiksyremetylester**

Til en løsning av [5-(2,6-dimetylphenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-
eddiksyre i MeOH (1 ml/mmol) ble det tilsatt konsentrert svovelsyre (35 μ l/mmol) og
5 blandingen ble refluxert med røring i 16 timer f r den ble fortynnet med vann (6,5
ml/mmol) og ekstrahert to ganger med EtOAc. De kombinerte, organiske fasene ble
vasket med mettet NaHCO₃-løsning, tørket over MgSO₄ og konsentrert i vakuum som
ga tittelforbindelsen som et gyllenbrunt faststoff (utbytte: 96%); MS-(+)-ion: M+1 =
340,5.

10

e. 6-(2,6-Dimetylphenoksy)-1,4-dihydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Natrium (1 ekv.) ble løst i n-butanol (1,6 ml/mmol) med røring ved 70 C. Deretter ble
temperaturen hevet til 95 C f r en løsning av [5-(2,6-dimetylphenoksy)-1,3-diokso-1,3-
dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyremetylester (0,5 ekv.) i varm n-butanol (2,3 ml/mmol)
15 ble tilsatt i en porsjon med røring. Røring fortsatte ved 95 C i 3 timer før blandingen
ble konsentrert i vakuum. Til residuet ble det tilsatt 2N saltsyre (1,3 ekv.) og EtOAc
(ca. 4-ganger volum) og blandingen ble rørt kraftig i 45 minutter. Deretter ble den faste
komponenten behandlet med sug, vasket med vann og tørket i vakuum f r den ble
suspendert i EtOAc (ca. 20 ml/g) og blandingen ble refluxert med røring i 2 timer.
20 Etter avkjøling til omgivelsestemperatur ble den faste komponenten behandlet med sug,
vasket med EtOAc og tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et off-white
faststoff (utbytte: 43%); MS-(+)-ion: M+1 = 382,5.

20

**f. 1-Brom-6-(2,6-dimetylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-
karboksylysyrebutylester**

25

En blanding av 6-(2,6-dimetylphenoksy)-1,4-dihydroksyisokinolin-3-
karboksylysyrebutylester (4 mmol, 1,53 g), POBr₃ (16 mmol, 4,63 g), MeCN (30 ml) ble
refluxert forsiktig med røring f r den ble konsentrert i vakuum. Residuet ble løst i
CH₂Cl₂ (100 ml). Til løsningen ble det tilsatt NaHCO₃ (20 g) og deretter vann (100 ml)
30 i små porsjoner med røring. Blandingen ble rørt i 1 time ved omgivelsestemperatur f r
den organiske fasen ble separert og tørket over MgSO₄. Konsentrering og rensing av
residuet med flashkolonnekromatografi på silikagel ved anvendelse av CH₂Cl₂ som
eluenten ga tittelforbindelsen som en gulaktig olje (640 mg); MS-(+)-ion: M+1,
79Br/81Br = 443,9 og 445,0.

35

g. 1-Cyano-6-(2,6-dimetylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-brom-6-(2,6-dimetylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og CuCN analogt med eksempel 3a; MS-
5 (+)-ion: $M+1 = 390,9$.

h. {[1-Cyano-6-(2,6-dimetylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-⁻amino}-eddiksyre

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-cyano-6-(2,6-dimetylphenoksy)-4-
10 hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analogt med eksempel 1b; MS-
(-)-ion: $M-1 = 390,0$.

Eksempel 18

[(1-Cyano-4-hydroksy-5-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

15

a. 2-Metyl-6-fenoksybenzosyre

2-Klor-6-metylbenzosyre (30 mmol, 5,22 g) og fenol (40 mmol, 3,8 g) ble løst i en
løsning av NaOMe (30 vekt-%) i MeOH (ca. 66 mmol, 12 ml). Til løsningen ble det
tilsatt kobberbronse (3 mmol, 193 mg) før blandingen ble konsentrert i vakuum.
20 Deretter ble 1,2-diklorbenzen (24 ml) tilsatt og blandingen ble refluksert under nitrogen
i 2 timer med røring. Etter avkjøling til omgivelsestemperatur ble vann (200 ml) og
Et₂O (150 ml) tilsatt, og blandingen ble rørt kraftig i 30 minutter før den organiske
fasen ble separert og tatt ut. Vannfasen ble vasket med Et₂O (150 ml) før den ble
surgjort ved tilsetning av 5N saltsyre. Den resulterende blandingen ble ekstrahert med
25 etylacetat (1 x 100 ml). Den organiske fasen ble tørket over MgSO₄ og konsentrert i
vakuum. Residuet ble rekrystallisert fra heksan/toluen som ga tittelforbindelsen som et
gyllenbrunt faststoff (4,55 g); MS-(-)-ion: $M-1 = 226,8$.

b. 2-Metyl-6-fenoksybenzosyremetylester

30 En blanding av 2-metyl-6-fenoksybenzosyre (19,9 mmol, 4,54 g), metanol (20 ml) og
konsentrert svovelsyre (1,5 ml) ble refluksert med røring i 18 timer før den ble
konsentrert i vakuum. Til residuet ble det tilsatt vann (50 ml) og blandingen ble
nøytralisert ved tilsetning av små porsjoner NaHCO₃ med røring. Deretter ble
blandingene ekstrahert med etylacetat (1 x 50 ml). Den organiske fasen ble tørket over
35 MgSO₄ og konsentrert i vakuum. Rensing av residuet med flashkolonnekromatografi

på silikagel ved anvendelse av heksan:etylacetat = 7:3 som eluent ga tittelforbindelsensom en gulaktig olje (2,16 g); MS-(+)-ion: $M+1 = 242,8$.

c. 2{[Metoksykarbonylmetyl-(toluen-4-sulfonyl)-amino]-metyl-6-fenoksybenzocyremetylester

En blanding av 2-metyl-6-fenoksybenzocyremetylester (8,9 mmol, 2,15 g), N-bromsuksinimid (9,1 mmol, 1,64 g), benzoylperoksid (0,44 mmol, 110 mg) og CCl_4 (35 ml) ble refluxert med røring i 6 timer. Etter avkjøling til omgivelsestemperatur ble blandingen filtrert og filtratet konsentrert i vakuum som ga en gulaktig olje (3,01 g). Oljen (3,00 g) ble løst i tørr DMF (8 ml). NaI (2,42 g), K_2CO_3 (2,21 g) og (toluen-4-sulfonylamino)-eddiksyremetylester (2,04 g) ble tilsatt og blandingen ble rørt ved omgivelsestemperatur i 18 timer f r vann ble tilsatt med røring. Vannfasen ble deretter dekantert fra det oljeaktige presipitatet som ble dannet. Oljen ble løst i etylacetat (70 ml) og løsningen ble vakset med konsentrert, vandig NaHCO_3 -løsning f r den ble tørket over MgSO_4 og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som en mørk olje (3,87 g). Det urene produktet ble anvendt i neste trinn uten ytterligere rensing; MS-(+)-ion: $M+23 = 506,0$.

d. 4-Hydroksy-5-fenoksyisokinolin-3-karboksylyremetylester

Til en løsning av uren 2-{[metoksykarbonylmetyl-(toluen-4-sulfonyl)-amino]-metyl}-6-fenoksybenzocyremetylester (3,87 g) i metanol (24 ml) ble det tilsatt en løsning av NaOMe (30 vekt-%) i metanol (4 ml) med røring. Etter røring i 3 dager ved omgivelsestemperatur ble blandingen konsentrert i vakuum. Til residuet ble det tilsatt 1N saltsyre (20 ml) og blandingen ble ekstrahert med etylacetat (1 x 100 ml). Den organiske fasen ble deretter vasket med konsentrert, vandig NaHCO_3 -løsning (3 x 100 ml), tørket over MgSO_4 og konsentrert i vakuum. Residuet ble rekrystallisert fra etylacetat som ga tittelforbindelsen som et gulaktig faststoff (630 mg); MS-(+)-ion: $M+1 = 295,8$.

e. 1-Brom-4-hydroksy-5-fenoksyisokinolin-3-karboksylyremetylester

En blanding av 4-hydroksy-5-fenoksyisokinolin-3-karboksylyremetylester (1,55 mmol, 458 mg), N-bromsuksinimid (1,7 mmol, 306 mg), benzoylperoksid (0,08 mmol, 19 mg) og CCl_4 (10 ml) ble refluxert med røring i 2 timer. Etter avkjøling til omgivelsestemperatur ble blandingen filtrert og filtratet konsentrert i vakuum. Residuet ble rensert med flashkolonnekromatografi på silikagel ved anvendelse av

heksan:etylacetat = 9:1 som eluent som ga tittelforbindelsen som et off-white faststoff (225 mg); MS-(+)-ion: $M+1$, $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br} = 373,9$ og $375,8$.

f. 1-Cyano-4-hydroksy-5-fenoksyisokinolin-3-karboksylyremetyler

5 Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-brom-4-hydroksy-5-fenoksyisokinolin-3-karboksylyremetyler og CuCN analogt med eksempel 3a; MS-(+)-ion: $M+1 = 320,8$.

g. [(1-Cyano-4-hydroksy-5-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

10 Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-cyano-4-hydroksy-5-fenoksyisokinolin-3-karboksylyremetyler og glysin analogt med eksempel 1b; MS-(+)-ion: $M+1 = 363,9$.

Eksempel 19

{[1-Cyano-4-hydroksy-8-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

15

a. 3-Jod-2-metylbenzosyremetyler

En blanding av 3-jod-2-metylbenzosyre (90 mmol, 23,6 g), metanol (250 ml) og konsentrert svovelsyre (13 ml) ble refluxert med røring i 40 timer før blandingen ble konsentrert i vakuum. Residuet ble løst i etylacetat og blandingen ble nøytralisert ved
20 tilsetning av små p rsjoner av en mettet vandig NaHCO_3 -løsning med røring. Den organiske fasen ble tørket over MgSO_4 og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som en gulaktig olje (24,3 g); ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): $\delta = 7,96$ (d, 1 H), 7,71 (d, 1 H), 6,91 (t, 1 H), 3,89 (s, 3 H), 2,66 (s, 3 H).

25 **b. 3-Jod-2-{[metoksykarbonylmetyl-(toluen-4-sulfonyl)-amino]-metyl}-benzosyremetyler**

En blanding av 3-jod-2-metylbenzosyremetyler (75 mmol, 20,7 g), N-bromsuksinimid (76,6 mmol, 13,8 g), benzoylperoksid (890 mg) og CCl_4 (300 ml) ble refluxert med røring i 15 timer. Etter avkjøling til omgivelsestemperatur ble
30 blandingen filtrert og filtratet konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som en gyllenbrun olje. Oljen (26,3 g) ble løst i tørr DMF (75 ml). NaI (22,4 g), K_2CO_3 (20,5 g) og (toluen-4-sulfonylamino)-eddiksyremetyler (19 g) ble tilsatt og blandingen ble rørt ved omgivelsestemperatur i 24 timer f r den ble helt over i vann (900 ml). Blandingene ble ekstrahert med etylacetat (2 x 250 ml). De kombinerte, organiske
35 fasene ble vasket med en løsning av natrium-metabisulfat (20 g) i vann (300 ml) og vann (2 x 300 ml) f r de ble tørket over MgSO_4 og konsentrert i vakuum som ga

tittelforbindelsen som en mørk gummi (38,1 g). Det urene produktet ble anvendt i neste trinn uten ytterligere rensing; MS-(+)-ion: $M+23 = 539,9$.

c. 4-Hydroksy-8-jodisokinolin-3-karboksylysyremetylester

- 5 Til en løsning av uren 3-jod-2-[[metoksykarbonylmetyl-(toluen-4-sulfonyl)-amino]-metyl]-benzosyremetylester (37,8 g) i metanol (220 ml) ble det tilsatt en løsning av NaOMe (30 vekt-%) i metanol (40 ml) med røring. Etter røring i 18 timer ved omgivelsestemperatur ble blandingen konsentrert i vakuum. Til residuet ble det tilsatt 1 N saltsyre (200 ml) og blandingen ble ekstrahert med van metylacetat (1 x 300 ml).
- 10 Den organiske fasen ble deretter vasket med konentrert, vandig NaHCO_3 -løsning (3 x 200 ml), tørket over MgSO_4 og konsentrert i vakuum. Residuet ble rekrySTALLISERT fra etylacetat som ga tittelforbindelsen som et gyllenbrunt faststoff (10,1 g); MS-(+)-ion: $M+1 = 329,8$.

d. 4-Hydroksy-8-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetylester

- 15 En blanding av 4-hydroksy-8-jodisokinolin-3-karboksylysyremetylester (7 mmol, 2,3 g), 4-metoksyfenol (35 mmol, 4,39 g), Cs_2CO_3 (35 mmol, 11,42 g), 2,2,6,6-tetrametylheptan-3,5-dion (2,8 mmol, 0,59 ml), CuCl (7 mmol, 0,70 g) og vannfri DMF (42 ml) ble refluksert under nitrogen med røring i 15 minutter, før blandingen ble helt
- 20 over i etylacetat (700 ml). Vann (700 ml) og 5N saltsyre (5 ml) ble tilsatt og blandingen ble rørt i 15 minutter. Den organiske fasen ble separert og vasket med vann (2 x 700 ml) før den ble tørket over MgSO_4 og konsentrert i vakuum. Rensing av residuet med flashkolonnekromatografi på silikagel ved anvendelse av heksan:EtOAc = 75:25 som eluent ga tittelforbindelsen som et gyllenbrunt faststoff (234 mg); MS-(+)-ion: $M+1 =$
- 25 326,4.

e. 1-Brom-4-hydroksy-8-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetylester

- En blanding av 4-hydroksy-8-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetylester
- 30 (1,17 mmol, 381 mg), N-bromsuksinimid (1,3 mmol, 234 mg), benzoylperoksid (0,06 mmol, 15 mg) og CCl_4 (8 ml) ble refluksert med røring i 2,5 timer. Etter avkjøling til omgivelsestemperatur ble silikagel tilsatt og blandingen ble konsentrert i vakuum. Residuet ble tilsatt til toppen av en kromatografikolonne fylt med silikagel. Eluering med CH_2Cl_2 ga tittelforbindelsen som et gyllenbrunt faststoff (403 mg); MS-(+)-ion: $M+1,$
- 35 $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br} = 404,3$ og 406,3.

f. 1-Cyano-4-hydroksy-8-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetyler

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-brom-4-hydroksy-8-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetyler og CuCN analogt med eksempel 3a; MS(+)-ion:

5 M+1 = 351,4.

g. {[1-Cyano-4-hydroksy-8-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-cyano-4-hydroksy-8-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetyler og glysin analogt med eksempel 1b; MS(-)-ion:

10 M-1 = 392,4.

Eksempel 20

{[1-Cyano-4-hydroksy-8-(3-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

15

a. 4-Hydroksy-8-(3-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetyler

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 4-hydroksy-8-jodisokinolin-3-karboksylysyremetyler og 3-metoksyfenol analogt med eksempel 19d; MS(+)-ion:

20 M+1 = 326,4.

b. 1-Brom-4-hydroksy-8-(3-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetyler

En blanding av 4-hydroksy-8-(3-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetyler (1,75 mmol, 569 mg), N-bromsuksinimid (2 mmol, 360 mg), benzoylperoksid (0,09 mmol, 22 mg) og CCl₄ (12 ml) ble refluksert med røring i 4 timer. Etter avkjøling til omgivelsestemperatur ble blandingen filtrert, silikagel ble tilsatt til filtratet og blandingen ble konsentrert i vakuum. Residuet ble tilsatt til toppen av en kromatografikolonne fylt med silikagel. Eluering med CH₂Cl₂ ga et gulaktig faststoff (435 mg). En blanding av dette faste stoffet (283 mg), CuCN (127 mg) og vannfri DMF (2,8 ml) ble refluksert med røring under nitrogen i 15 minutter. Etter avkjøling til omgivelsestemperatur ble blandingen fortynnet med etylacetat (200 ml). Den resulterende blandingen ble rørt i 15 minutter og deretter filtrert gjennom en celitepute. Filtratet ble vasket med 0,1 N saltsyre (1 x 300 ml) og vann (2 x 300 ml) og tørket over MgSO₄. Deretter ble blandingen konsentrert i vakuum som ga et gyllenbrunt faststoff (178 mg). En blanding av dette faste stoffet (175 mg), natriumacetat (49 mg), Pd/C (10

25

30

35

vekt-% Pd, 50 vekt-% vann, 100 mg), metanol (10 ml) og etylacetat (20 ml) ble rørt under en hydrogenatmosfære (omgivelsestrykk) i 18 timer før den ble filtrert gjennom en celitepute. Filtratet ble konsentrert i vakuum. Til residuet ble det tilsatt mettet, vandig NaHCO₃-løsning (20 ml) og blandingen ble ekstrahert med etylacetat (1 x 40 ml). Den organiske fasen ble tørket over MgSO₄ og konsentrert i vakuum. Rensing av residuet med flashkolonnekromatografi på silikagel ved anvendelse av CH₂Cl₂: etylacetat = 98:2 som eluent, ga tittelforbindelsen som et off-white faststoff (101 mg); MS-(-)-ion: M-1 = 349,4.

c. {[1-Cyano-4-hydroksy-8-(3-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-cyano-4-hydroksy-8-(3-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetyler og glysin analogt med eksempel 1b; MS-(-)-ion: M-1 = 392,4.

15

Eksempel 21

{[1-Cyano-4-hydroksy-8-(2-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

a. 1-Brom-4-hydroksy-8-(2-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetyler

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 4-hydroksy-8-jodisokinolin-3-karboksylysyremetyler og 2-metoksyfenol analogt med eksempel 19d; MS-(+)-ion: M+1 = 326,4.

25

b. 1-Brom-4-hydroksy-8-(2-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetyler

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 4-hydroksy-8-(2-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetyler og N-bromsuksinimid analogt med eksempel 19e; MS-(+)-ion, ⁷⁹Br/⁸¹Br = 404,3 og 406,3.

30

c. 1-Cyano-4-hydroksy-8-(2-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetyler

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-brom-4-hydroksy-8-(2-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyremetyler og CuCN analogt med eksempel 3a; MS-(+)-ion: M+1) 351,4.

35

d. {[1-Cyano-4-hydroksy-8-(2-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-cyano-4-hydroksy-8-(2-metoksyfenoksy)-
 5 isokinolin-3-karboksylysyremetylester og glysin analogt med eksempel 1b; MS(-)-ion:
 M-1 = 392,5.

Eksempel 22

[(7-Benzyl-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

10

a. 5-Benzyl-3H-isobenzofuran-1-on

En blanding av 5-brom-3H-isobenzofuran-1-on (14 mmol, 30,4 g),
 benzylsinkbromidløsning (0,5 M i THF, 28 mmol, 56 ml), [1,1'-bis(difenylfosfino)-
 ferrocen]diklorpalladium(II) 1:1-kompleks med CH₂Cl₂ (0,07 mmol, 57 mg) og
 15 vannfri 1,4-dioksan (70 ml) ble refluxert med røring under nitrogen i 40 timer. Etter
 avkjøling til omgivelsestemperatur ble silikagel tilsatt og blandingen ble konsentrert i
 vakuum. Residuet ble tilsatt til toppen av en kromatografikolonne fylt med silikagel.
 Eluering med heksan:etylacetat = 9:1 ga et gult faststoff. Ytterligere rensing med
 rekrySTALLISERING fra etylacetat/heksan ga tittelforbindelsen (1,37 g) som hvite nåler; ¹H
 20 NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 7,83 (d, 1 H), 7,16 to 7,39 (m, 7 H), 5,26 (s, 2 H), 4,11 (s,
 2 H).

b. 4-Benzyl-2-[[metoksykarbonylmetyl-(toluen-4-sulfonyl)-amino]-metyl]-benzosyremetylester

25 En blanding av 5-benzyl-3H-isobenzofuran-1-on (6 mmol, 1,35 g), borsyre (0,18 mmol,
 11 mg), trifenylfosfinoksid (0,18 mmol, 61 mg) og tionylklorid (7,8 mmol, 0,59 ml) ble
 refluxert i et oljebad (badetemperatur 130 til 140°C) i 18 timer med røring. Deretter
 ble metanol (6 ml) tilsatt og blandingen ble rørt i 15 minutter før den ble konsentrert i
 vakuum. Residuet ble løst i etylacetat (40 ml). Løsningen ble vasket med mettet,
 30 vandig NaHCO₃-løsning (2 x 20 ml), tørket over MgSO₄ og konsentrert i vakuum som
 ga en gulaktig olje (1,51 g). Oljen (906 mg) ble løst i vannfri DMF (5 ml). NaI (1,0 g),
 K₂CO₃ (912 mg) og (toluen-4-sulfonylamino)-eddiksyremetylester (803 mg) ble tilsatt
 og blandingen ble rørt ved omgivelsestemperatur i 15 timer før den ble helt over i vann
 (50 ml). Spor av jod ble fjernet ved tilsetning av en liten mengde natrium-metabisulfitt
 35 for ekstrahering av blandingen med etylacetat (1 x 50 ml). Den organiske fasen ble
 deretter vasket med vann (1 x 50 ml), tørket over MgSO₄ og konsentrert i vakuum som

ga den urene tittelforbindelsen som en mørk gummi (1,58 g) som ble anvendt i neste trinn uten ytterligere rensing; MS-(+)-ion: $M+1 = 481,1$.

c. 7-Benzyl-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester

5 Til en løsning av uren 4-benzyl-2- $\{[metoksykarbonylmetyl-(toluen-4-sulfonyl)-amino]-metyl\}$ -benzosyremetylester (1,54 g) i metanol (1,75 ml) ble det tilsatt en løsning av NaOMe (30 vekt-%) i metanol (1,75 ml) med røring. Etter røring i 5 timer ved omgivelsestemperatur ble blandingen konsentrert i vakuum og vann (20 ml) ble tilsatt. pH til blandingen ble justert til 7 til 8 ved tilsetting av 6n saltsyre før blandingen ble
10 ekstrahert med etylacetat (2 x 25 ml). De kombinerte, organiske fasene ble deretter tørket over $MgSO_4$ og konsentrert i vakuum. Residuet ble renset med flashkolonnekromatografi på silikagel ved anvendelse av heksan:etylacetat = 7:3 som eluenten som ga tittelforbindelsen som et off-white faststoff (451 mg); MS-(+)-ion: $M+1 = 294,0$.

15

d. 7-Benzyl-1-brom-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester

En blanding av 7-benzyl-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester (1 mmol, 293 mg), N-bromsuksisimid (1,2 mmol, 214 mg) og vannfri MeCN (10 ml) ble rørt ved omgivelsestemperatur i 4 dager før silikagel ble tilsatt og blandingen ble konsentrert i
20 vakuum. Residuet ble tilsatt til toppen av en kromatografikolonne fylt med silikagel. Eluering med heksan:etylacetat = 75:25 ga tittelforbindelsen som et off-white faststoff (48 mg); MS-(+)-ion: $M+1$, $^{79}Br/^{81}Br = 372,4$ og $374,4$.

e. 7-Benzyl-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester

25 Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 7-benzyl-1-brom-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester og CuCN analogt med eksempel 3a; MS-(-)-ion: $M-1 = 317,4$.

f. [(7-Benzyl-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 7-benzyl-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-
30 karboksylysyremetylester og glysin analogt med eksempel 1b; MS-(-)-ion: $M-1 = 360,5$.

Eksempel 23

{[1-Cyano-5-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddisyre

a. 2-(4-Fluorfenoksy)-6-metylbenzosyre

5 Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 2-klor-6-metylbenzosyre og 4-fluorfenol analogt med eksempel 18a; MS(-)-ion: $M-1 = 245,5$.

b. 2-(4-Fluorfenoksy)-6-metylbenzosyremetylester

En blanding av 2-(4-fluorfenoksy)-6-metylbenzosyre (21,6 mmol, 5,32 g), dimetylsulfat
 10 (43,2 mmol, 4,2 ml), K_2CO_3 (43,2 mmol, 6 g) og dietylketon (80 ml) ble refluxert med
 røring i 18 timer før konsentrering i vakuum. Til residuet ble det tilsatt vann (50 ml) og
 blandingen ble ekstrahert med etylacetat (1 x 100 ml). Den organiske fasen ble tørket
 over $MgSO_4$ og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som en gyllenbrun olje
 (5,5 g); 1H NMR ($CDCl_3$, 200 MHz): $\delta = 7,20$ (t, 1 H), 6,92 to 7,04 (m, 5 H), 6,66 (d, 1
 15 H), 3,84 (s, 3 H), 2,35 (s, 3 H).

c. 2-(4-Fluorfenoksy)-6-{[metoksykarbonylmetyl-(toluen-4-sulfonyl)-amino]-metyl}-benzosyremetylester

Den urene tittelforbindelsen ble syntetisert fra 2-(4-fluorfenoksy)-6-
 20 metylbenzosyremetylester, N-bromsuksinimid og (toluen-4-sulfonylamino)-
 eddisyremetylester analogt med eksempel 18c og ble anvendt i etterfølgende trinn uten
 ytterligere rensing; MS(+)-ion: $M+23 = 524,4$.

d. 5-(4-Fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylyremetylester

25 Tittelforbindelsen ble syntetisert fra uren 2-(4-fluorfenoksy)-6-
 {[metoksykarbonylmetyl-(toluen-4-sulfonyl)-amino]-metyl}-benzosyremetylester
 analogt med eksempel 18d; MS(+)-ion: $M+1 = 314,4$.

e. 1-Brom-5-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylyremetylester

30 Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 5-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-
 karboksylyremetylester og N-bromsuksinimid analogt med eksempel 18c; MS(+)-ion:
 $M+1$, $^{79}Br/^{81}Br = 392,4$ og $394,3$.

f. 1-Cyano-5-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-brom-5-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester og CuCN analogt med eksempelet 3a; MS(-)-ion: M-1 = 337,4.

5

g. {[1-cyano-5-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-cyano-5-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester og glysin, analogt med eksempel 1b; MS(-)-ion: M-1 = 380,4.

10

Eksempel 24 (referanseeksempel)

{[1-Cyano-7-(2,6-dimetylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

15

a. 1-Cyano-7-(2,6-dimetylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Syntetisert fra 1-brom-7-(2,6-dimetylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (for syntese se US 2004/0254215 A1) og CuCN analogt med eksempel 3a; MS(-)-ion: M-1 = 389,5.

20

b. {[1-Cyano-7-(2,6-dimetylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 1-cyano-7-(2,6-dimetylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analogt med eksempel 1b; MS(-)-ion: M-1 = 390,5.

25

Eksempel 25 (referanseeksempel)

{[1-Cyano-6-(2-etyl-6-metylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

30

a. 4-(2-Etyl-6-metylphenoksy)-ftalonitril

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 4-nitroftalonitril og 2-etyl-6-metylphenol analogt med eksempel 17a; MS(+)-ion: M+1 = 263,5.

35

b. 4-(2-Etyl-6-metylfenoksy)-ftalsyre

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 4-(2-etyl-6-metylfenoksy)-ftalnonitril analogt med eksempel 17b; MS(-)-ion: $M-1 = 299,4$.

5 **c. [5-(2-Etyl-6-metylfenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-
eddiksyremetylester**

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 4-(2-etyl-6-metylfenoksy)-ftalsyre og glysin analogt med eksempel 17c; MS(-)-ion: $M-1 = 338,4$.

10 **d. [5-(2-Etyl-6-metylfenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-
eddiksyremetylester**

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra [5-(2-etyl-6-metylfenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyre og metanol analogt med eksempel 17d; MS(+)-ion: $M+1 = 354,4$.

15

**e. 6-(2-Etyl-6-metylfenoksy)-1,4-dihydroksyisokinolin-3-
karboksylsyrebutylester**

Til en løsning av [5-(2-etyl-6-metylfenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyremetylester (22 mmol, 7,77 g) i vannfri n-butanol (150 ml) ble det tilsatt en 1N
20 løsning av natrium i n-butanol (45 mmol, 45 ml) ved 95°C i en porsjon med røring. Røring fortsatte ved 95°C i 3 timer før blandingen ble konsentrert i vakuum. Til residuet ble det tilsatt 2N saltsyre (60 mmol, 30 ml) og EtOAc (150 ml) og blandingen ble rørt kraftig i 45 minutter. Deretter ble den faste komponenten behandlet med sug, vasket med vann og tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et gyllenbrunt
25 faststoff (623 mg); MS(+)-ion: $M+1 = 396,5$.

**f. 1-Brom-6-(2-etyl-6-metylfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-
karboksylsyrebutylester**

En blanding av 6-(2-etyl-6-metylfenoksy)-1,4-dihydroksyisokinolin-3-
30 karboksylsyrebutylester (2,83 mmol, 1,12 g), POBr₃ (11 mmol, 3,19 g), MeCN (20 ml) ble refluxert forsiktig med røring i 1 time før den ble konsentrert i vakuum. Residuet ble løst i CHCl₃ (50 ml). Vann (10 ml) og deretter små porsjoner med NaHCO₃ (6 g) ble tilsatt med røring. Blanding ble rørt i 30 minutter ved omgivelsestemperatur før den ble filtrert gjennom en celitepute. Filtratet ble tørket over MgSO₄. Konsentrering
35 og rensing av residuet med flashkolonnekromatografi på silikagel ved anvendelse av

CH₂Cl₂ som eluenten ga tittelforbindelsen som en gyllenbrun olje (450 mg); MS-(+)-ion: M+1, ⁷⁹Br/⁸¹Br = 458,4 og 460,6.

g. 1-Cyano-6-(2-etyl-6-metylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-brom-6-(2-etyl-6-metylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og CuCN analogt med eksempel 3a; MS-(-)-ion: M-1 = 403,5.

h. {[1-Cyano-6-(2-etyl-6-metylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-cyano-6-(2-etyl-6-metylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analogt med eksempel 1b; MS-(-)-ion: M-1 = 404,4.

Eksempel 26 (referanseeksempel)

{[1-Cyano-4-hydroksy-6-(2,4,6-trimetylphenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

a. 4-(2,4,6-Trimetylphenoksy)-ftalnonitril

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 4-nitroftalonnitril og 2,4,6-trimetylphenol analogt med eksempel 17a; MS-(-)-ion: M-1 = 261,5.

b. 4-(2,4,6-Trimetylphenoksy)-ftalsyre

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 4-(2,4,6-trimetylphenoksy)-ftalonnitril analogt med eksempel 17b; MS-(-)-ion: M-1 = 299,4.

c. [1,3-Diokso-5-(2,4,6-trimetylphenoksy)-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyre

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 4-(2,4,6-trimetylphenoksy)-ftalsyre og glysin analogt med eksempel 17c; MS-(-)-ion: M-1 = 338,4.

d. [1,3-Diokso-5-(2,4,6-trimetylphenoksy)-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyremetyylester

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra [1,3-diokso-5-(2,4,6-trimetylphenoksy)-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyre og metanol analogt med eksempel 17d; MS-(+)-ion: M+1 = 354,4.

e. 1,4-Dihydroksy-6-(2,4,6-trimetylphenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra [1,3-diokso-5-(2,4,6-trimetylphenoksy)-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyremetylester analogt med eksempel 25e; MS-(+)-ion: $M+1 = 396,4$.

f. 1-Brom-4-hydroksy-6-(2,4,6-trimetylphenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 1,4-dihydroksy-6-(2,4,6-trimetylphenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester og POBr_3 analogt med eksempel 25f; MS-(+)-ion: $M+1$, $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br} = 458,4$ og $460,4$.

g. 1-Cyano-4-hydroksy-6-(2,4,6-trimetylphenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 1-brom-4-hydroksy-6-(2,4,6-trimetylphenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester og CuCN analogt med eksempel 3a; MS-(-)-ion: $M-1 = 403,4$.

h. {[1-Cyano-4-hydroksy-6-(2,4,6-trimetylphenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-cyano-4-hydroksy-6-(2,4,6-trimetylphenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analogt med eksempel 1b; MS-(-)-ion: $M-1 = 404,4$.

25

Eksempel 27 (referanseeksempel)

{[6-4-Klor-2,6-dimetylphenoksy)-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

a. 4-(4-Klor-2,6-dimetylphenoksy)-ftalonitril

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 4-nitroftalonitril og 4-klor-2,6-dimetylphenol analogt med eksempel 17a; MS-(+)-ion: $M+1 = 283,4$.

b. 4-(4-Klor-2,6-dimetylphenoksy)-ftalsyre

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 4-(4-klor-2,6-dimetylphenoksy)-ftalonitril analogt med eksempel 17b; MS-(-)-ion: $M-1 = 319,4$.

35

**c. [5-(4-Klor-2,6-dimetylphenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-
eddiksyre**

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 4-(4-klor-2,6-dimetylphenoksy)-ftalsyre og glysin
5 analogt med eksempel 17b; MS(-)-ion: M-1 = 319,4.

**d. [5-(4-Klor-2,6-dimetylphenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-
eddiksyremetyler**

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra [5-(4-klor-2,6-dimetylphenoksy)-1,3-diokso-1,3-
10 dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyre og metanol analogt med eksempel 17d; MS(-)-ion: M-
1 = 372,4.

**e. 6-(4-Klor-2,6-dimetylphenoksy)-1,4-dihydroksyisokinolin-3-
karboksylsyrebutylester**

15 Tittelforbindelsen ble oppnådd fra [5-(4-klor-2,6-dimetylphenoksy)-1,3-diokso-1,3-
dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyremetyler analogt med eksempel 25e; MS(+)-ion:
M+1 = 416,4.

**f. 1-Brom-6-(4-klor-2,6-dimetylphenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-
20 karboksylsyrebutylester**

Tittelforbindelsen ble oppnådd fra 6-(4-klor-2,6-dimetylphenoksy)-1,4-
dihydroksyisokinolin-3-karboksylsyrebutylester og POBr₃ analogt med eksempel 25f;
MS(+)-ion: M+1, ⁷⁹Br/⁸¹Br ? 478,3 og 480,3.

**g. 6-(4-Klor-2,6-dimetylphenoksy)-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-
25 karboksylsyrebutylester**

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 1-brom-6-(4-klor-2,6-dimetylphenoksy)-4-
hydroksyisokinolin-3-karboksylsyrebutylester og CuCN analogt med eksempel 3a; MS-
(-)-ion: M-1 = 423,4.

**h. {[6-(4-Klor-2,6-dimetylphenoksy)-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-
amino}-eddiksyre**

Tittelforbindelsen ble syntetisert fra 6-(4-klor-2,6-dimetylphenoksy)-1-cyano-4-
hydroksyisokinolin-3-karboksylsyrebutylester og glysin analogt med eksempel 1b; MS-
35 (-)-ion: M-1 = 424,3.

Eksempel 28

**{[1-Cyano-4-hydroksy-7-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-
eddisyre**

5 **a) 6- og 7-(4-Metoksyfenoksy)-1-klor-4-hydroksyisokinolin-3-
 karboksylsyrebutylester**

POCl₃ (1,2 g, 7,8 mmol) ble tilsatt til en blanding av 6- og 7-(4-metoksyfenoksy)-1,4-dihydroksyisokinolin-3-karboksylsyrebutylester (se US patentsøknad publikasjon nr. 2004/0254215) (3,0 g, 7,8 mmol) i vannfri toluen (40 ml). Den resulterende blandingen
10 ble mikrobølgebehandlet ved 130°C i 15 minutter (trinntid 20 minutter).
Reaksjonsblandingen ble konsentrert og reaksjonen forsiktig stoppet med mettet NaHCO₃-løsning (150 ml). Etter røring ved romtemperatur i 10 minutter ble blandingen ekstrahert med EtOAc (2 x 200 ml). De kombinerte, organiske sjiktene ble vasket med vann og saltvann, tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert som ga en
15 blanding av titelforbindelsene (2,4 g). MS-(+)-ion: M+1 = 402,25.

b) 7-(4-Metoksyfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylsyrebutylester

Til en løsning av en 6- og 7-(4-metoksyfenoksy)-1-klor-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylsyrebutylesterblanding (10 g, 24,9 mmol) i EtOAc (160 ml) ble det tilsatt 10%
20 Pd/C (50% våt) (3,7 g) og deretter ammoniumformat (15,7 g, 249 mmol). Den resulterende blandingen ble refluxert i 4 timer. Etter avkjøling ble blandingen fortynnet med EtOAc (100 ml) og deretter filtrert. Filtratet ble konsentrert og residuet renses med silikagel kromatografi (eluering med 20%-80% etylacetat i heksan) som ga tittelforbindelsen (3,2 g); MS-(+)-ion: M+1 = 368,16. I tillegg ble 6-(4-
25 metoksyfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylsyrebutylester også isolert (5,04 g). MS-(+)-ion: M+1 = 368,17.

**c) 1-Brom-4-hydroksy-7-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-
 karboksylsyrebutylester**

30 Til en fast blanding av 7-(4-metoksyfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylsyrebutylester (305 mg, 0,83 mmol) og N-bromsuksinimid (162 mg, 0,91 mmol) avkjølt med isbad ble det tilsatt acetonitril (6 ml). Den resulterende blandingen ble rørt ved 0°C i 1,5 timer og ble konsentrert. Residuet ble renses med silikagel kromatografi (eluering med 10%-40% etylacetat i heksan) som ga tittelforbindelsen
35 (217 mg). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 11,88 (s, 1 H), 8,32 (d, J = 9,0 Hz, 1 H), 7,54 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 7,46 (dd, J = 9,0, 2,4 Hz, 1 H), 7,08 (d, J = 9,4 Hz, 2 H), 6,95 (d, J

= 9,8 Hz, 2 H), 4,46 (t, J = 7,0 Hz, 2 H), 3,85 (s, 3 H), 1,85 (m, 2 H), 1,47 (m, 2 H), 0,98 (t, J = 7,4 Hz, 3 H).

d) 1-Cyano-4-hydroksy-7-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En blanding av 1-brom-4-hydroksy-7-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester (190 mg, 0,43 mmol), kobber(I)cyanid (76,3 g, 0,85 mmol) og N-metylpyrrolidin (3 ml) ble varmet opp til 130°C i 1 time. Etter avkjøling ble reaksjonsblandingen fordelt mellom etylacetat og vann. Det organiske sjiktet ble vasket med saltvann, tørket over magnesiumsulfat, filtrert og konsentrert. Det urene produktet ble rensset med silikagel kromatografi (eluering med 2% - 25% etylacetat i metylenklorid) som ga tittelforbindelsen (129 mg). MS-(+)-ion: M+1 = 392,80.

e) {[1-Cyano-4-hydroksy-7-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

En blanding av 1-cyano-4-hydroksy-7-(4-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester (110 mg, 0,28 mmol) og glysin (275 mg, 2,82 mmol) i en løsning av natriummetoksid (0,5 M i metanol, 5,7 ml) ble refluxert over natten. Reaksjonsblandingen ble konsentrert og løst opp i vann (50 ml). Den ble vasket med etylacetat (10 ml). Det vandige sjiktet ble surgjort med 1N HCl til pH = 3-4 og ekstrahert med etylacetat. Det organiske sjiktet ble vasket med saltvann, tørket over magnesiumsulfat, filtrert og konsentrert. Det urene produktet ble trituret med metanol (3 ml) og faststoff ble samlet opp og tørket som ga tittelforbindelsen (72 mg). MS-(+)-ion: M+1 = 394,32.

Eksempel 29 (referanseeksempel)

[(1-Cyano-6-sykloheksyloksy-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

a) 1-Cyano-6-sykloheksyloksy-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En blanding av 1-brom-6-sykloheksyloksy-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (se US patentsøknad publikasjon nr. 2004/0254215; 350 mg, 0,83 mmol), CuCN (149 mg, 1,66 mmol) og N-metylpyrrolidin (2,5 ml) ble varmet opp til 130°C i 2 timer. Etter avkjøling ble reaksjonsblandingen helt over i vann (50 ml) med røring. Presipitatet ble samlet opp og rensset med vann. Det resulterende faste stoffet ble fordelt mellom etylacetat og 10% vandig NH₄OH (50 ml) og rørt kraftig i 15

minutter. Blandingen ble surgjort med vandig konsentrert HCl og deretter 1N HCl-løsning til pH = 4. Den organiske fasen ble separert og vannfasen ekstrahert med etylacetat. De kombinerte, organiske sjiktene ble vasket med saltvann, tørket over magnesiumsulfat, filtrert og konsentrert som ga tittelproduktet (234 mg). MS-(+)-ion:

5 M+1 = 369,43.

b) [(1-Cyano-6-sykloheksyloksy-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddisyre

Fremstilt fra 1-cyano-6-sykloheksyloksy-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analogt med eksempel 28c (94% utbytte). MS-(+)-ion: M+1 = 370,32.

Eksempel 30 (referanseeksempel)

[(6-Benzensulfonyl-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddisyre

15

a) 6-Benzensulfonyl-1-brom-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Til en blanding av 6-benzensulfonyl-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (100 mg, 0,26 mmol; se US patentsøknad publikasjon nr. 2004/0254215) og benzen (4,5 ml) ble det tilsatt benzoylperoksid (6,3 mg, 0,026 mmol). Den resulterende blandingen ble refluxert i 15 minutter før tilsetning av N-bromsuksinimid (51 mg, 0,29 mmol). Reaksjonsblandingen ble refluxert over natten. Den ble konsentrert og det urene produktet renset med silikagel kromatografi (eluert med 20% - 80%) etylacetat/heksan som ga tittelforbindelsen (91 mg). MS-(+)-ion: M+1 = 466,18, 464,14.

20

b) 6-Benzensulfonyl-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester
Fremstilt fra 6-benzensulfonyl-1-brom-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og CuCN analogt med eksempel 29a. Urent produkt ble renset med silikagel kromatografi (2% - 20% etylacetat i metylenklorid) som ga tittelforbindelsen (49% utbytte). MS-(+)-ion: M+1 = 411,30.

30

c) [(6-Benzensulfonyl-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddisyre

Fremstilt fra 6-benzensulfonyl-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin analogt med eksempel 28e (56% utbytte). MS-(+)-ion: M+1 = 412,26.

35

Eksempel 31**{[1-Cyano-4-hydroksy-6-(4-propoksyfenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-
eddiksyre****5 a) 4-(4-Benzyloksiyfenoksy)-ftalonitril**

En blanding av 4-benzyloksiyfenol (14,53 g, 72,6 mmol), 4-nitroftalonitril (10,47 g, 60,5 mmol), kaliumkarbonat (16,69 g, 120,9 mmol) og aceton (170 ml) ble refluksert over natten; reaksjonsblandingen ble avkjølt og de faste stoffene ble filtrert fra og rensset med EtOAc. Alle væskene ble kombinert og konsentrert i vakuum. Det resulterende
 10 residuet ble fordelt mellom EtOAc og 2M NaOH-løsning i en 500 ml skilletrakt. Den organiske fasen ble deretter vasket med 1M HCl, mettet NaCl-løsning, tørket over natriumsulfat og konsentrert i vakuum som ga den urene tittelforbindelsen (22,1 g) som ble anvendt i neste trinn uten ytterligere rensing. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7,7-6,6 (m, 12 H), 5,08 (s, 2 H).

15

b) 4-(4-Benzyloksiyfenoksy)-ftalsyre

En blanding av 4-(4-benzyloksiyfenoksy)-ftalonitril (22,1 g), KOH (50 ml, 45 vekt-% i vann) og MeOH (50 ml) ble refluksert i 3 dager. Deretter ble vann tilsatt og den resulterende løsningen ble surgjort til pH 3-4 med 6M HCl. Det dannede presipitatet
 20 ble samlet opp ved filtrering, vasket med vann og deretter tørket i vakuum som ga den urene tittelforbindelsen som et faststoff (23,5 g) som ble anvendt i neste trinn uten ytterligere rensing. ¹H NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 7,7-6,6 (m, 12 H), 5,10 (s, 2 H).

**25 c) [5-(4-Benzyloksiyfenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-
eddiksyreetyleter og
[5-(4-Hydroksyfenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-
eddiksyreetyleter**

En blanding av 4-(4-benzyloksiyfenoksy)-ftalsyre (23,5 g, 60,47 mmol) og etylglysin-
 30 HCl-salt (8,44 g, 60,47 mmol) ble smeltet med en varmemantel og rørt i 30 minutter. Mens blandingen var varm, ble deretter diklormetan tilsatt som ga en løsning. Etter avkjøling ble løsningen passert gjennom en silikagel plugg. Eluering fortsatte med en blanding av EtOAc og diklormetan (1:1, v/v). De kombinerte fraksjonene ble konsentrert i vakuum som ga en brun olje som ble rensset med kolonnekromatografi som
 35 ga to tittelforbindelser: [5-(4-benzyloksiyfenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyleter (9,41 g) og [5-(4-benzyloksiyfenoksy)-1,3-diokso-1,3-

dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler (8,6 g). [5-(4-Benzylloksyfenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler: ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7,9-7,2 (m, 12 H), 5,07 (s, 2 H), 4,38 (s, 2 H), 4,21 (q, 2 H, $J = 7,2$ Hz), 1,27 (t, 3 H, $J = 7,2$ Hz); [5-(4-hydroksyfenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-
 5 eddiksyreetyler: ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7,9-7,2 (m, 12 H), 4,40 (s, 2 H), 4,21 (q, 2 H, $J = 7,2$ Hz), 1,28 (t, 3 H, $J = 7,2$ Hz).

d) [1,3-diokso-5-(4-propoksyfenoksy)-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler

10 En blanding av [5-(4-hydroksyfenoksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler (2,479 g, 7,26 mmol), 1-brompropan (1,32 ml, 14,32 mmol), kaliumkarbonat (2,01 g, 14,52 mmol) og aceton (25 ml) ble refluxert over natten. Etter avkjøling til omgivelsestemperatur ble blandingen konsentrert i vakuum og residuet fordelt mellom EtOAc og vann. Den organiske fasen ble vasket med mettet NaCl,
 15 tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen (2,485 g). ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7,77 (q, 1 H, $J = 8,1$ Hz), 7,3-6,8 (m, 6 H), 4,38 (s, 2 H), 4,20 (q, 2 H, $J = 7,0$ Hz), 3,93 (t, 2 H, $J = 6,4$ Hz), 1,82 (q, 2 H, 6,6 Hz), 1,28 (t, 3 H, $J = 7,0$ Hz), 1,06 (t, 3 H, $J = 7,5$ Hz).

20 **e) 4-Hydroksy-1-okso-6-(4-propoksyfenoksy)-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyrebutylester**

En blanding av [1,3-diokso-5-(4-propoksyfenoksy)-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler (2,485 g, 6,48 mmol), natriumbutoksid og butanol (14,3 mmol, 27 ml butanol) ble varmet opp til 90°C til 100°C i 2 timer. Deretter ble reaksjonsblanding
 25 avkjølt til omgivelsestemperatur, surgjort med 2M HCl til pH 3-4 og ekstrahert med EtOAc. Den organiske fasen ble deretter vasket med vann og mettet NaCl-løsning, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Residuet ble rensert med kolonnekromatografi som ga tittelforbindelsen (722 mg). ESI MS (m/z) : 412 ($M+H$)¹.

30 **f) 1-Brom-4-hydroksy-6-(4-propoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester**

En blanding av 4-hydroksy-1-okso-6-(4-propoksyfenoksy)-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (495 mg, 1,20 mmol), POBr_3 (379 mg, 1,32 mmol) og toluen ble mikrobølgebehandlet ved 110°C i 25 minutter. Deretter ble blandingen fortynnet
 35 med EtOAc, vasket med vandig NaHCO_3 og mettet NaCl-løsning før den ble tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum som ga det urene tittelproduktet

(509 mg) som ble anvendt i neste trinn uten ytterligere rensing. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 11,74 (s, 1 H), 8,19 (d, 1 H, $J = 9,2$ Hz), 7,60-7,46 (m, 2 H), 7,07-6,92 (m, 4 H), 4,46 (t, 2 H, $J = 7,1$ Hz), 3,94 (t, 2 H, $J = 6,6$ Hz), 1,83 (m, 4 H), 1,45 (m, 2 H), 1,10-0,94 (m, 6 H).

5

g) 1-Cyano-4-hydroksy-6-(4-propoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En blanding av 1-brom-4-hydroksy-6-(4-propoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester (315 mg, 0,664 mmol), CuCN (66 mg, 0,730 mmol) og N-metylpyrrolidinon (2 ml) ble rørt ved 120°C i 4 timer. Etter avkjøling til romtemperatur ble blandingen helt over i EtOAc (20 ml) og mettet ammoniumhydroksidløsning (~1 ml) ble tilsatt. Blandingen ble raskt rørt i 2 minutter. Deretter ble den surgjort med konsentrert HCl , vasket med vann og mettet NaCl -løsning før den ble tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Residuet ble renset med

kolonnekromatografi som ga tittelforbindelsen (206 mg). ESI MS (m/z): 421 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

15

h) {[1-Cyano-4-hydroksy-6-(4-propoksyfenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

En blanding av 1-cyano-4-hydroksy-6-(4-propoksyfenoksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester (200 mg, 0,422 mmol), glysin (633 mg, 8,43 mmol) og NaOMe/MeOH -løsning (12,7 ml, 6,33 mmol) ble refluxert over natten. Deretter ble blandingen konsentrert i vakuum og residuet løst i vann. Løsningen ble surgjort med 2M HCl til $\text{pH} = 3\sim 4$. Det resulterende presipitatet ble samlet opp ved filtrering, vasket med vann og frysetørket som ga tittelforbindelsen som et pulver (209 mg); ESI MS

(m/z): 422 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

25

Eksempel 32

{[7-(Benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

30

a) 4-(Benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-ftalonitril

Fremstilt analog med eksempel 31a fra benzo[1,3]dioksol-5-ol. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7,8-6,5 (m, 8 H).

35

b) 4-(Benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-ftalsyre

Fremstilt analogt med eksempel 31b fra 4-(benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-ftalonitril. ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 7,95 (d, 1 H, 8,7 Hz), 7,3-6,5 (m, 7 Hz).

5 **c) [5-(Benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler**

Fremstilt analogt med eksempel 31c fra 4-(benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-ftalsyre. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7,78 (d, 1 H, J = 7,4 Hz), 7,29-7,21 (m, 2 H), 6,81 (d, 1 H, J = 6,4 Hz), 6,60-6,52 (m, 2 H), 4,39 (s, 2 H), 4,21 (q, 2 H, J = 6,8 Hz), 1,28 (t, 3 H, J = 6,8 Hz).

d) 7-(Benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-4-hydroksy-1-okso-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og

15 **6-(Benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-4-hydroksy-1-okso-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyrebutylester**

Fremstilt analog med eksempel 31e fra [5-(benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler. 7-(Benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-4-hydroksy-1-okso-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyrebutylester: ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 10,56 (br, s, 1 H), 8,30 (br, s, 1 H), 8,2-6,5 (m, 6 H), 6,01 (s, 2 H), 4,39 (t, 2 H), 1,78 (m, 2 H), 1,50 (m, 2 H), 0,99 (t, 3 H, J = 7,3 Hz); 6-(benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-4-hydroksy-1-okso-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyrebutylester: ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 10,4 (br, s, 1 H), 8,4-6,5 (m, 7 H), 6,02 (s, 2 H), 4,40 (t, 2 H, J = 6,6 Hz), 1,85-1,40 (m, 4 H), 0,99 (t, 3 H, J = 7,3 Hz).

25 **e) 7-(Benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-1-klor-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester**

Fremstilt analogt med eksempel 31f fra 7-(benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-4-hydroksy-1-okso-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og POCl_3 . ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 11,89 (s, 1 H), 8,35 (d, 1 H, J = 9,2 Hz), 7,57 (d, 1 H, J = 1,9 Hz), 7,50 (m, 1 H), 6,83 (d, 1 H, J = 7,8 Hz), 6,65-6,56 (m, 2 H), 6,03 (s, 2 H), 4,47 (t, 2 H, J = 7,1 Hz), 1,9-1,4 (m, 4 H), 0,99 (t, 3 H, J = 7,3 Hz).

f) 7-(Benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

35 En blanding av 7-(benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-1-klor-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (118 mg, 0,284 mmol), sinkcyanid (20 mg, 0,17 mmol), sink

(2,2 mg), Pd₂(dba)₃ (13 mg, 0,0142 mmol), dppf (15,7 mg, 0,0284 mmol) og dimetylacetamid (1 ml) ble rørt ved 120°C i 90 minutter. Etter avkjøling til omgivelsestemperatur ble reaksjonsblandingen fortynnet med EtOAc, vasket med vann og mettet NaCl-løsning før den ble tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i
 5 vakuum. Residuet ble renset med kolonnekromatografi som ga tittelforbindelsen (50 mg). ESI MS (m/z): 407 (M+H)⁺.

g) {[7-(Benzo[1,3]diokso-5-yloksy)-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddisyre

10 Fremstilt analogt med eksempel 31h fra 7-(benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin. ESI MS (m/z): 406 (M-H)⁻.

Eksempel 33

{[6-(Benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddisyre

15

a) 6-(Benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-1-brom-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Fremstilt analogt med eksempel 31f fra 6-(benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-4-hydroksy-1-okso-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og POBr₃. ESI MS (m/z): 460
 20 (M+H)⁺.

b) 6-(Benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

25 Fremstilt analogt med eksempel 31g fra 6-(benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-1-brom-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og CuCN. ESI MS (m/z): 407 (M+H)⁺.

c) {[6-(Benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddisyre

30 Fremstilt analogt med eksempel 31h fra 6-(benzo[1,3]dioksol-5-yloksy)-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin. ESI MS (m/z): 408 (M+H)⁺.

Eksempel 34

{[1-Cyano-6-(2,3-dihydrobenzofuran-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

5 **a) 4-(2,3-Dihydrobenzofuran-5-yloksy)-ftalonitril**

Fremstilt analogt med eksempel 31a fra 2,3-dihydrobenzofuran-5-ol. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7,7-6,7 (m, 6 H), 4,65 (t, 2 H, $J = 7,8$ Hz), 3,25 (t, 2 H, $J = 7,8$ Hz).

10 **b) 4-(2,3-Dihydrobenzofuran-5-yloksy)-ftalsyre**

Fremstilt analogt med eksempel 31b fra 4-(2,3-dihydrobenzofuran-5-yloksy)-ftalonitril. ^1H NMR (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 14-13 (br, 2 H), 7,78-6,77 (m, 6 H), 4,55 (m, 2 H), 3,19 (m, 2 H).

15 **c) [5-(2,3-Dihydrobenzofuran-5-yloksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler**

Fremstilt analogt med eksempel 31c fra 4-(2,3-dihydrobenzofuran-5-yloksy)-ftalsyre. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7,8-6,8 (m, 6 H), 4,63 (m, 2 H), 4,38 (s, 2 H), 4,20 (m, 2 H), 3,24 (t, 2 H, $J = 4,4$ Hz), 1,28 (t, 3 H, $J = 7,1$ Hz).

20

**d) 7-(2,3-Dihydrobenzofuran-5-yloksy)-4-hydroksy-1-okso-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og
6-(2,3-Dihydrobenzofuran-5-yloksy)-4-hydroksy-1-okso-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyrebutylester**

25 Fremstilt analogt med eksempel 31e fra [5-(2,3-dihydrobenzofuran-5-yloksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler. 7-(2,3-Dihydrobenzofuran-5-yloksy)-4-hydroksy-1-okso-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyrebutylester: ESI MS (m/z) 396 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 6-(2,3-dihydrobenzofuran-5-yloksy)-4-hydroksy-1-okso-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyrebutylester: ESI MS (m/z): 396 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

30

e) 1-Brom-6-(2,3-dihydrobenzofuran-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

35 Fremstilt analogt med eksempel 31f fra 6-(2,3-dihydrobenzofuran-5-yloksy)-4-hydroksy-1-okso-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og POBr_3 . ESI MS (m/z): 458 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

f) 1-Cyano-6-(2,3-dihydrobenzofuran-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Fremstilt analogt med eksempel 31g fra 1-brom-6-(2,3-dihydrobenzofuran-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og CuCN. ESI MS (m/z): 405 (M+H)⁺.

5

g) {[1-Cyano-6-(2,3-dihydrobenzofuran-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

Fremstilt analogt med eksempel 31h fra 1-cyano-6-(2,3-dihydrobenzofuran-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og glysin. ESI MS (m/z): 404 (M-H)⁻.

10

Eksempel 35 (referanseeksempel)

[(1-Cyano-4-metoksy-8-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyremetyler

a) 1-Brom-4-metoksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyremetyler

15 En blanding av 1-brom-4-hydroksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyremetyler (1,89 g, 5,07 mmol), jodmetan (632 µl, 10,13 mmol), cesiumkarbonat (3,3 g, 10,13 mmol) og dimetylformamid (15 ml) ble rørt ved 45°C i 16 timer før reaksjonen ble stoppet med vann og blandingen ble ekstrahert med etylacetat. Det organiske sjiktet ble vasket med vann, saltvann, tørket over natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet
20 ble rensset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og heksan som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (1,03 g): MS: (+) m/z 387,64, 389,75 (M+1, ⁷⁹Br/⁸¹Br).

b) 1-Cyano-4-metoksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyremetyler

25 En blanding av 1-brom-4-metoksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyremetyler (1,02 g, 2,63 mmol), kobber(I)cyanid (470 mg, 5,25 mmol) og vannfri dimetylformamid (8,8 ml) ble refluxert i 10 minutter før avkjøling til romtemperatur og reaksjonen ble stoppet med vann og etylacetat. Slurrien ble filtrert. Det organiske sjiktet ble vasket med vann, saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet rensset ved
30 flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og heksan som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (727 mg): MS: (+) m/z 334,83 (M+1).

c) 1-Cyano-4-metoksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyre

Til en blanding av 1-cyano-4-metoksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyremetyler
35 (727 mg, 2,18 mmol) og metanol/tetrahydrofuran (12,5 ml, 1:1,5) ble det tilsatt 2N natriumhydroksid (5,4 ml, 10,89 mmol) ved romtemperatur. Den gule løsningen ble

rørt ved den temperaturen i 70 minutter før blandingen ble konsentrert. Vann (20 ml) ble tilsatt og blandingen ble justert til pH = 2 med 1N HCl (13 ml). Blandingen ble deretter ekstrahert med diklormetan og etylacetat. De kombinerte, organiske sjiktene ble vasket med saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (647 mg): MS: (+) m/z 320,80 (M+1).

d) [(1-Cyano-4-metoksy-8-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyremetyler

Til en blanding av 1-cyano-4-metoksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylsyre (483 mg, 1,51 mmol), trietylamin (466 µl, 3,32 mmol) og diklormetan (12 ml) ble det tilsatt isobutylklorformat (211 µl, 1,62 mmol) ved 0°C. Blandingen ble rørt ved 0°C i 25 minutter før glysinmetylerhydroklorid (208 mg, 1,66 mmol) ble tilsatt. Blandingen ble rørt ved 0°C i 25 minutter og ved romtemperatur i 5,5 timer før den ble konsentrert. Residuet ble fordelt mellom etylacetat og 1N HCl. Det organiske sjiktet ble vasket med mettet natriumbikarbonat, saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet ble renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og heksan som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (343 mg): MS: (+) m/z 391,95 (M+1).

Eksempel 36 (referanseeksempel)

[(1-Cyano-4-metoksy-8-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

Til en blanding av [(1-cyano-4-metoksy-8-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyremetyler (21 mg, 0,05 mmol) og metanol/tetrahydrofuran (0,9 ml, 1:3,5) ble det tilsatt 2N natriumhydroksid (29,2 µl, 0,06 mmol) ved romtemperatur. Den gule løsningen ble rørt ved denne temperaturen i 55 minutter før den ble surgjort med 1N HCl (69,1 µl) til pH = 3 og konsentrert i vakuum. Residuet ble fordelt mellom etylacetat og vann. Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av metanol, diklormetan og eddiksyre (0,1%) som ga tittelforbindelsen som et matt, brunt faststoff (15 mg): MS: (+) m/z 378,00 (M+1).

Eksempel 37 (referanseeksempel)

(S)-2-[(1-Cyano-4-hydroksey-8-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-propansyre

En blanding av 1-cyano-4-hydroksey-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylsyremetyler (101 mg, 0,31 mmol) og L-alanin (561 mg, 6,29 mmol) i 0,5 M natriummetoksid/metanol (12 ml) ble refluxert i 4 dager før den ble avkjølt til

romtemperatur og konsentrert i vakuum. Residuet ble løst i vann (20 ml) og ekstrahert med metyl-t-butylester (2 x 30 ml). Det gjenværende vannsjiktet ble surgjort til pH = 3 med 1N HCl (8 ml). Den resulterende hvite suspensjonen ble ekstrahert med etylacetat (30 ml), tørket og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (117 mg): ¹H NMR (DMSO-d₆, 200 MHz): δ = 13,52 (bs, 1H), 10,11 (br s, 1H), 8,30 (d, 1H), 8,07 (m, 1H), 7,67 (t, J = 8 Hz, 1H), 7,42 (m, 2H), 7,17 (m, 3H), 4,83 (q, 1H), 1,68 (d, J = 7,4 Hz); MS: (+) m/z 378,29 (M+1).

Eksempel 38 (referanseeksempel)

(R)-2-[(1-Cyano-4-hydroksy-8-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-propionsyre
En blanding av 1-cyano-4-hydroksy-8-fenoksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester (95 mg, 0,30 mmol), D-alanin (529 mg, 5,94 mmol) og 0,5 M natriummetoksid/metanol (11,3 ml) ble refluksert i 3 dager før den ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert i vakuum. Residuet ble løst i vann (25 ml) og ekstrahert med diklormetan (3 x 30 ml). Det gjenværende vannsjiktet ble surgjort til pH = 3 med 1N HCl (8 ml). Den hvite suspensjonen ble ekstrahert med etylacetat (30 ml) og diklormetan (30 ml). De kombinerte, organiske sjiktene ble vasket med saltvann, tørket over MgSO₄ og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (90 mg): ¹H NMR (DMSO-d₆, 200 MHz): δ = 13,52 (bs, 1H), 9,15 (br s, 1H), 8,30 (d, 1H), 8,10 (m, 1H), 7,67 (t, J = 8 Hz, 1H), 7,42 (m, 2H), 7,17 (m, 3H), 4,83 (q, 1H), 1,68 (d, J = 7,0 Hz, 3H); MS: (+) m/z 378,29 (M+1).

Eksempel 39

{[1-Cyano-4-hydroksy-6-(2-metylbenzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

a) 2-Metylbenzotiazol-6-ol

En blanding av 6-metoksy-2-metylbenzotiazol (19,71 g, 0,11 mol), tetrabutylfosfoniumbromid (3,73 g, 0,01 mol) og 48% HBr (120 ml) ble rørt ved 105°C i 28 timer før avkjøling til romtemperatur, nøytralisering med 10N NaOH (90 ml) og 1N NaOH (45 ml) til pH = 4. Det resulterende presipitatet ble filtrert, vasket med vann (3 x 100 ml), tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et matt, brunt faststoff (14,81 g): ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 7,77 (m, 1H), 7,24 (m, 1H), 6,94 (m, 1H), 5,28 (s, 1H), 2,79 (s, 3H).

b) 5-Nitro-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl)-eddiksyreetyler

En blanding av 4-nitroftalimid (82,54 g, 0,43 mol), etylbromacetat (78,92 g, 0,47 mol) og kaliumkarbonat (130,6 g, 0,94 mol) og aceton (1,5 l) ble refluxert i 18 timer før avkjøling til romtemperatur, filtrering og konsentrering i vakuum. Residuet ble fordelt
 5 mellom diklormetan og vann. Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (107,39 g): MS: (+) m/z 279,25 (M+1).

c) [5-(2-Metylbenzotiazol-6-yloksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler

En blanding av 2-metylbenzotiazol-6-ol (2,30 g, 13,92 mmol), 5-nitro-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl)-eddiksyreetyler (4,26 g, 15,31 mmol), kaliumkarbonat (2,3 g, 16,64 mmol) og dimetylacetamid (30 ml) ble rørt ved 105°C i 20 timer før den ble avkjølt til romtemperatur og fordelt mellom etylacetat og vann. Det organiske sjiktet
 15 ble tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet ble renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (2,35 g): MS: (+) m/z 307,19 (M+1).

d) 1,4-Dihydroksy-6-(2-metylbenzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester og 1,4-Dihydroksy-7-(2-metylbenzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

Natrium (1,56 g, 0,07 mol) ble løst i vannfri 1-butanol (70 ml) og rørt ved 80°C i 1 time. Den resulterende løsningen ble tilsatt til en løsning av [5-(2-metylbenzotiazol-6-yloksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler (12,79 g, 0,03 mol) i
 25 vannfri 1-butanol (90 ml). Blandingen ble rørt ved 105°C i 2 timer før den ble avkjølt til romtemperatur, surgjort med 5N HCl (13,5 ml) til pH = 5. Presipitatet ble filtrert, vasket med vann, tørket i vakuum som ga den 6,7-isomere blandingen av tittelforbindelsen som et gult faststoff (9,9 g): MS. (+) m/z 425,33 (M+1).

e) 1-Klor-4-hydroksy-6-(2-metylbenzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En løsning av den regioisomere blandingen av 1,4-dihydroksy-6-(2-metylbenzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester/1,4-dihydroksy-7-(2-metylbenzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester oppnådd ovenfor (3 g, 7,08 mmol) og
 35 fosforoksyklorid (791 µl, 8,49 mmol) i dikloretan (35 ml) ble rørt ved 120°C i en CEM-

mikrobølgeapparat i 30 minutter. Fremgangsmåten ble gjentatt tre ganger. De kombinerte reaksjonsblandningene ble filtrert, mettet natriumbikarbonatløsning ble tilsatt og blandingen ble rørt i 1 time. Det organiske sjiktet ble vasket med saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet ble renset med
 5 flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga et gult faststoff (7,05 g). Det ble krystallisert fra etylacetat (230 ml) som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (3,42 g): MS: (+) m/z 443,24 (M+1).

f) 1-Cyano-4-hydroksy-6-(2-metylbenzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En blanding av 1-klor-4-hydroksy-6-(2-metylbenzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester (369 mg, 0,84 mmol), tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0) (38 mg, 0,04 mmol), 1,1'-bis(difenylfosfin)ferrocen (46 mg, 0,08 mmol), sinkcyanid (59 mg, 0,50 mmol), sink (6 mg, 0,10 mmol) og dimetylacetamid (2 ml) ble rørt ved
 15 120°C i 2 timer og 20 minutter før avkjøling til romtemperatur, fordeling mellom etylacetat og vann og filtrering. Filtratet ble vasket med vann og saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Residuet ble renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (245 mg): MS: (+) m/z 434,30 (M+1).

g) {[1-Cyano-4-hydroksy-6-(2-metylbenzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

En blanding av 1-cyano-4-hydroksy-6-(2-metylbenzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester (113 mg, 0,26 mmol) og glysin (390 mg, 5,20 mmol) i 0,5 M
 25 natriummetoksid/metanol (9,9 ml) ble refluxert i 45 timer før avkjøling til romtemperatur og konsentrering i vakuum. Residuet ble løst i vann (35 ml) og ekstrahert med metyl-tert-butyleter (2 x 25 ml). Det gjenværende vannsjiktet ble surgjort til pH = 3 med 1N HCl (7,4 ml). Det hvite presipitatet ble filtrert, vasket med vann og tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (92 mg): MS:
 30 (+) m/z 434,93 (M+1), (-) m/z 432,87 (M-1).

Eksempel 40

{[1-Cyano-6-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yløksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddisyre

5 **a) 2-Amino-4-metoksyfenol**

En blanding av 4-metoksy-2-nitrofenol (30,2 g, 0,18 mol), 10% Pd/C, etanol (200 ml) og etylacetat (200 ml) ble hydrogenert ved omgivelsestrykk og temperatur i 3 dager før filtrering og konsentrering i vakuum som ga tittelforbindelsen som et mørkt brunt faststoff (20,78 g): ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ = 6,64 (m, 1H), 6,32 (m, 1H), 6,21 (m, 1H), 3,71 (s, 3H).

10 **b) 5-Metoksybenzooksazol-2-tiol**

En blanding av 2-amino-4-metoksyfenol (20,7 g, 0,15 mol), kalium-O-etylksantat (26,2 g, 0,16 mol) og vannfri pyridin ble refluxert i 2 timer før den ble avkjølt til romtemperatur og iskald 1N HCl (600 ml) ble tilsatt. Presipitatet ble filtrert, vasket med vann og tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et matt, rødt faststoff (22,36 g): ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ = 7,20 (m, 1H), 6,78 (m, 2H), 3,82 (s, 3H).

15 **c) 2-Klor-5-metoksybenzooksazol**

Til en blanding av 5-metoksybenzooksazol-2-tiol (12,14 g, 0,07 mol) og tionylklorid ble det tilsatt 2 dråper DMF. Blandingen ble rørt ved 68°C i 40 minutter og dannelsen av gass hadde stoppet opp. Blandingen ble fortynnet med diklormetan, konsentrert og tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et grønt faststoff (14,31 g): ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ = 7,36 (m, 1H), 7,13 (m, 1H), 6,92 (m, 1H), 3,84 (s, 3H).

20 **d) (5-Metoksybenzooksazol-2-yl)-dimetylamin**

En blanding av 2-klor-5-metoksybenzooksazol (1,52 g, 8,31 mmol) og en 40% løsning av dimetylamin i vann (15 ml) ble refluxert i to timer før den ble avkjølt til romtemperatur og fordelt mellom etylacetat og vann. Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som en svart olje (1,14 g): MS: (-) m/z 397,19 (M+1).

25 **e) 2-Dimetylaminobenzooksazol-5-ol**

En blanding av (5-metoksybenzooksazol-2-yl)-dimetylamin (6,41 g, 0,03 mol), tetrabutylfosfoniumbromid (1,13 g, 3,34 mmol) og 48% HBr (40 ml) ble rørt ved 105°C i 25 timer før avkjøling til romtemperatur, nøytralisering med 10N NaOH (30 ml) til pH

= 8. Det resulterende presipitatet ble filtrert, vasket med vann og tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et matt, brunt faststoff (4,94 g): ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ = 7,05 (m, 1H), 6,86 (m, 1H), 6,48 (m, 1H), 3,19 (s, 6H).

5 **f) [5-(2-Dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler**

En blanding av 2-dimetylaminobenzooksazol-5-ol (4,82 g, 0,03 mmol), 5-nitro-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl)-eddiksyreetyler (8,66 g, 0,03 mmol), kaliumkarbonat (4,49 g, 0,03 mmol) og dimetylacetamid (30 ml) ble rørt ved 105°C i 22 timer før avkjøling til romtemperatur og fordeling mellom kloroform og vann. Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et oransje faststoff (4,24 g): MS: (+) m/z 410,2 (M+1).

15

g) 6-(2-Dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-1,4-dihydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og 7-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-1,4-dihydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

20 Natrium (475 mg, 20,65 mmol) ble løst i vannfri 1-butanol (24 ml) ved 85°C. Den resulterende nylige fremstilte løsningen ble tilsatt til en løsning av [5-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler (4,23 g, 0,01 mol) i vannfri 1-butanol (30 ml). Blandingen ble rørt ved 105°C i 1 time og 45 minutter før den ble avkjølt til romtemperatur, surgjort med 25 2N HCl (10 ml) til pH = 5. Presipitatet ble filtrert, vasket med vann, tørket i vakuum som ga en regioisomer blanding av tittelforbindelsen som et gult faststoff (1,2 g): MS: (+) m/z 438,2 (M+1). Filtratet ble ekstrahert med etylacetat. Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet ble renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan.

30 Fraksjoner som korresponderer til ren 7-regioisomer ble samlet opp og konsentrert som ga et gult faststoff (452 mg): MS: (+) m/z 438,2 (M+1).

h) 1-Klor-6-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

35 En løsning av den regioisomere blandingen av 6-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-1,4-dihydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester og 7-(2-

dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-1,4-dihydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester oppnådd slik det er beskrevet ovenfor (1,05 g, 2,41 mmol) og fosforoksyklorid (286 µl, 3,13 mmol) i diklormetan (18 ml) ble rørt ved 120°C i en CEM-mikrobølgeapparat i 30 minutter. Blandingen ble rørt med mettet
 5 natriumbikarbonatløsning i 20 minutter. Det organiske sjiktet ble vasket med saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Rensing med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan ga et faststoff (463 mg). RekrySTALLISERING fra etylacetat (190 ml) ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (219 mg): MS: (+) m/z 456,31 (M+1).

10

i) 1-Cyano-6-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En blanding av 1-klor-6-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (115 mg, 0,25 mmol),
 15 tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0) (12 mg, 0,01 mmol), 1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen (14 mg, 0,02 mmol), sinkcyanid (18 mg, 0,15 mmol), sink (2 mg, 0,03 mmol) og dimetylacetamid (0,6 ml) ble rørt ved 120°C i 2 timer før den ble avkjølt til romtemperatur, fordelt mellom etylacetat og vann og filtrert. Filtratet ble vasket med vann og saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum.
 20 Residuet ble renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (53 mg): MS: (+) m/z 447,00 (M+1); (-) m/z 445,20 (M-1).

j) {[1-Cyano-6-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

25

En blanding av 1-cyano-6-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (55 mg, 0,12 mmol), glysin (186 mg, 2,47 mmol) og 0,5 M natriummetoksid/metanol (4,7 ml) ble refluksert i 25 timer før avkjøling til romtemperatur og konsentrering i vakuum. Residuet ble løst i vann (35 ml)
 30 og vasket med diklormetan (2 x 25 ml). Det gjenværende vannsjiktet ble surgjort til pH = 3 med 1N HCl (3,5 ml). Det hvite presipitatet ble filtrert, vasket med vann og tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (44 mg): MS: (+) m/z 448,27 (M+1).

35

Eksempel 41

{[1-Cyano-7-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddisyre

5 **a) 1-Klor-7-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester**

En blanding av 7-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-1,4-dihydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (364 mg, 0,83 mmol), fosforoksyklorid (92 µl, 1,00 mmol) og dikloretan (4,5 ml) ble rørt ved 120°C i en CEM-mikrobølgeapparat i 30 minutter.

10 Blandingen ble deretter rørt med mettet natriumbikarbonat i 15 minutter ved omgivelsestemperatur. Det organiske sjiktet ble vasket med saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet ble rensset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (220 mg): MS: (+) m/z 456,32 (M+1).

15

b) 1-Cyano-7-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En blanding av 1-klor-7-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyremetylester (92 mg, 0,20 mmol),

20 tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0) (9 mg, 0,01 mmol), 1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen (11 mg, 0,02 mmol), sinkcyanid (14 mg, 0,12 mmol), sink (2 mg, 0,02 mmol) og dimetylacetamid (0,5 ml) ble rørt ved 120°C i 2 timer før blandingen ble avkjølt til romtemperatur, fordelt mellom etylacetat og vann og filtrert. Filtratet ble vasket med vann og saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og
25 konsentrert i vakuum. Residuet ble rensset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (32 mg): MS: (+) m/z 447,0 (M+1); (-) m/z 445,20 (M-1).

30 **c) {[1-Cyano-7-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddisyre**

En blanding av 1-cyano-7-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-4-

hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (37 mg, 0,08 mmol), glysin (126 mg, 1,68 mmol) og 0,5 M natriummetoksid/metanol (3,2 ml) ble refluksert i 25 timer før avkjøling til romtemperatur og konsentrering i vakuum. Residuet ble løst i vann (20 ml)
35 og ekstrahert med diklormetan (2 x 25 ml). Det gjenværende vannsjiktet ble surgjort til pH = 3 med 1N HCl (2,4 ml). Det hvite presipitatet ble filtrert, vasket med vann og

tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (24 mg): MS: (+) m/z 448,27 (M+1).

Eksempel 42 (referanseeksempel)

5 **{[1-Cyano-4-hydroksy-6-(2-morfolin-4-yl-benzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre**

a) **2-Klor-6-metoksybenzotiazol**

Til en blanding av isoamylnitritt (17,55 g, 0,15 mol), kobber(II)klorid (16,1 g, 0,12 mol) 10 og vannfri acetonitril (400 ml) ble det tilsatt 2-amino-6-metoksybenzotiazol (18 g, 0,10 mol) i løpet av en periode på 40 minutter ved romtemperatur. Blandingen ble rørt ved 65°C i 3 timer, reaksjonen stoppet med 4N HCl (400 ml) og blandingen ekstrahert med dietyleter (2 x 300 ml). Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet renses med flashkolonnekromatografi på silikagel med 15 en gradient av etylacetat og heksan som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (9,97 g): ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 7,80 (m, 1H), 7,19 (m, 1H), 7,06 (m, 1H), 3,86 (s, 3H).

b) **6-Metoksy-2-morfolin-4-yl-benzotiazol**

20 En blanding av 2-klor-6-metoksybenzotiazol (9,96 g, 0,5 mol), morfolin (10,86 ml, 0,12 mol) og trietylamin (13,9 ml, 0,10 mol) i etanol (75 ml) ble refluxert i 21 timer før avkjøling til romtemperatur og konsentrering i vakuum. Residuet ble fordelt mellom diklormetan og vann. Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som et lys gult faststoff (12,23 g): MS: 25 (+) m/z 251 (M+1).

c) **2-Morfolin-4-yl-benzotiazol-6-ol**

En blanding av 6-metoksy-2-morfolin-4-yl-benzotiazol (12,20 g, 48,7 mmol), tetrabutylfosfoniumbromid (1,65 g, 4,87 mmol) og 48% HBr (80 ml) ble rørt ved 100°C 30 i 20 timer før avkjøling til romtemperatur, nøytralisering med 10 N NaOH (60 ml) til pH = 5-6. Blandingen ble ekstrahert med diklormetan. Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (10,69 g): ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 7,28 (m, 1H), 7,15 (m, 1H), 6,75 (m, 1H), 3,70 (m, 4H), 3,43 (m, 4H).

d) [5-(2-Morfolin-4-yl-benzotiazol-6-yloksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler

En blanding av 2-morfolin-4-yl-benzotiazol-6-ol (238 mg, 1,01 mmol), 5-nitro-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl)-eddiksyreetyler (294 mg, 1,06 mmol),
 5 kaliumkarbonat (167 mg, 1,21 mmol) og dimetylacetamid (6 ml) ble rørt ved 105°C i 22 timer før avkjøling til romtemperatur og fordeling mellom kloroform og vann. Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet renses med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (259 mg): MS: (+) m/z
 10 468,21 (M+1).

**e) 1,4-Dihydroksy-6-(2-morfolin-4-yl-benzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester og
 1,4-Dihydroksy-7-(2-morfolin-4-yl-benzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester**

15 Natrium (703 mg, 30,6 mmol) ble løst i vannfri 1-butanol (35 ml) ved 85°C. Den resulterende nylig fremstilte løsningen ble tilsatt til en løsning av [5-(3-morfolin-4-yl-benzotiazol-6-yloksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler (7,14 g, 15,3 mmol) i vannfri 1-butanol (55 ml). Blandingen ble rørt ved 110°C i 90 minutter før
 20 avkjøling til romtemperatur og surgjøring med 4N HCl (8 ml) til pH = 5. Det resulterende presipitatet ble filtrert, vasket med vann og tørket i vakuum som ga den regioisomere blandingen av tittelforbindelsen som et gult faststoff (6,13 g): MS: (+) m/z 496,10 (M+1).

f) 1-Klor-4-hydroksy-6-(2-morfolin-4-yl-benzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En løsning av den regioisomere blandingen av 1,4-dihydroksy-6-(2-morfolin-4-yl-benzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester og 1,4-dihydroksy-7-(2-morfolin-4-yl-benzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester syntetisert
 30 slik det er beskrevet ovenfor (1,51 g, 3,04 mmol) og fosforoksyklorid (417 µl, 4,56 mmol) i dikloretan (23 ml) ble rørt ved 120°C i en CEM-mikrobølgeapparat i 30 minutter. Blandingen ble deretter rørt ved omgivelsestemperatur med mettet natriumbikarbonatløsning i 1 time. Det organiske sjiktet ble vasket med saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet renses med
 35 flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som

ga et faststoff (1,05 g). Dette ble rekrystallisert fra etylacetat som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (484 mg): MS. (+) m/z 514,17 (M+1).

g) 1-Cyano-4-hydroksy-6-(2-morfolin-4-yl-benzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En blanding av 1-klor-4-hydroksy-6-(2-morfolin-4-yl-benzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester (200 mg, 0,39 mmol), tris(dibenzylidenacetone)-dipalladium(0) (18 mg, 0,02 mmol), 1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen (22 mg, 0,04 mmol), sinkcyanid (27 mg, 0,23 mmol), sink (3 mg, 0,05 mmol) og dimetylacetamid (0,93 ml) ble rørt ved 120°C i 2 timer før avkjøling til romtemperatur, fordeling mellom etylacetat og vann og filtrering. Filtratet ble vasket med vann og saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Residuet ble rensert med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (137 mg): MS: (+) m/z 505,31 (M+1); (-) m/z 503,31 (M-1).

h) {[1-Cyano-4-hydroksy-6-(2-morfolin-4-yl-benzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

En blanding av 1-cyano-4-hydroksy-6-(2-morfolin-4-yl-benzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester (137 mg, 0,27 mmol), glysin (408 mg, 5,43 mmol) og 0,5 M natriummetoksid/metanol (10,3 ml) ble refluksert i 26 timer før avkjøling til romtemperatur og konsentrering i vakuum. Residuet ble løst i vann (40 ml) og ekstrahert med diklormetan (2 x 35 ml). Det gjenværende vannsjiktet ble surgjort til pH = 3 med 1N HCl (7,5 ml). Det hvite presipitatet ble filtrert, vasket med vann og tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (119 mg): MS: (+) m/z 506,26 (M+1); (-) m/z 504,24 (M-1).

Eksempel 43

{[1-Cyano-4-hydroksy-6-(2-metylbenzooksazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

a) 1-(2,4-Dihydroksyfenyl)-etanonoksim

En blanding av 2,4-dihydroksyacetofenon (25 g, 0,16 mol), hydroksylaminhydroklorid (14,8 g, 0,21 mol), natriumacetat (20 g, 0,24 mol) og vann/dioksan (300 ml, 1:1) ble rørt ved romtemperatur i 3 dager før blandingen ble fordelt mellom kloroform og vann. Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet

renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (11,67 g): ^1H NMR (CD_3OD , 200 MHz): δ = 7,26 (m, 1H), 6,28 (m, 2H), 4,88 (s, 2H), 3,29 (m, 1H), 2,24 (s, 3H).

5

b) 2-Metylbenzooksazol-6-ol

Til enblanding av 1-(2,4-dihydroksyfenyl)-etanonoksim (4,2 g, 25 mmol) og acetonitril/dimetylacetamid (20 ml, 3:1) avkjølt med et vannbad (20-25°C) ble det tilsatt dråpevis fosforklorid (2,4 ml, 26,2 mmol) i løpet av en periode på 15 minutter.

10 Blandingen ble rørt i ytterligere 30 minutter før den ble helt over i isvann som inneholder natriumacetat (6 g). Blandingen ble rørt i 10 minutter, filtrert og filterkaken vasket med vann og tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (3,15 g): ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ = 7,45 (m, 1H), 6,96 (m, 1H), 6,80 (m, 1H), 2,60 (s, 3H).

15

c) [5-(2-metylbenzooksazol-6-yl)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler

En blanding av 2-metylbenzooksazol-6-ol (8,41 g, 56 mmol), 5-nitro-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl)-eddiksyreetyler (17,23 g, 62 mmol), kaliumkarbonat (9,36 g, 67,7 mmol) og dimetylacetamid (120 ml) ble rørt ved 105°C i 20 timer før den ble avkjølt til romtemperatur og fordelt mellom kloroform og vann. Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet ble renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (9,18 g): MS: (+) m/z 381,27 (M+1).

25

d) 1,4-dihydroksy-6-(2-metylbenzooksazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester og 1,4-Dihydroksy-7-(2-metylbenzooksazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

30 Natrium (1,11 g, 48,2 mmol) ble løst i vannfri 1-butanol (60 ml) ved 90°C. Den resulterende nylig fremstilte løsningen ble tilsatt til en løsning av [5-(2-metylbenzooksazol-6-yloksy)-1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yl]-eddiksyreetyler (9,16 g, 24,1 mmol) i vannfri 1-butanol (70 ml). Blandingen ble rørt ved 110°C i 2 timer før den ble avkjølt til romtemperatur og surgjort med 2N HCl (24 ml) til pH = 4.

35 Presipitatet ble filtrert, vasket med vann og tørket i vakuum som ga den 6,7-isomere

blandingen av tittelforbindelsen som et gult faststoff (6,63 g): MS: (+) m/z 409,34 (M+1).

e) 1-Klor-4-hydroksy-6-(2-metylbenzooksazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En løsning av den regioisomere blandingen av 1,4-dihydroksy-6-(2-metylbenzooksazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylesteren og 1,4-dihydroksy-7-(2-metylbenzooksazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylesteren syntetisert som beskrevet ovenfor (2,5 g, 6,12 mmol) og fosforoksyklorid (685 µl, 7,35 mmol) i diklormetan (30 ml) ble rørt ved 120°C i en CEM-mikrobølgeapparat i 30 minutter. Blandingen ble rørt ved omgivelsestemperatur med en mettet natriumbikarbonatløsning i 30 minutter. Det organiske sjiktet ble vasket med saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga et faststoff (1,72 g). Det ble rekrystallisert fra etylacetat (130 ml) som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (844 mg): MS: (+) m/z 427,16 (M+1).

f) 1-Cyano-4-hydroksy-6-(2-metylbenzooksazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En blanding av 1-klor-4-hydroksy-6-(2-metylbenzooksazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester (199 mg, 0,47 mmol), tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0) (21 mg, 0,02 mmol), 1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen (26 mg, 0,04 mmol), sinkcyanid (33 mg, 0,29 mmol), sink (4 mg, 0,06 mmol) og dimetylacetamid (1,1 ml) ble rørt ved 120°C i 2 timer før avkjøling til romtemperatur, fordeling mellom etylacetat og vann, og filtrering. Filtratet ble vasket med vann og saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Residuet ble renset med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (80 mg): MS: (+) m/z 418,38 (M+1).

g) {[1-Cyano-4-hydroksy-6-(2-metylbenzooksazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre

En blanding av 1-cyano-4-hydroksy-6-(2-metylbenzooksazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karboksylysyrebutylester (81 mg, 0,19 mmol), glysin (292 mg, 3,89 mmol) og 0,5 M natriummetoksid/metanol (7,4 ml) ble refluksert i 26 timer før avkjøling til romtemperatur og konsentrering i vakuum. Residuet ble løst i vann (25 ml) og ekstrahert med diklormetan (2 x 35 ml). Det gjenværende, vandige sjiktet ble surgjort

til pH = 3 med 1N HCl (5,5 ml). Presipitatet ble filtrert, vasket med vann og tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen som et brunt faststoff (72 mg): MS: (+) m/z 419,30 (M+1); (-) m/z 417,28 (M-1).

5 **Eksempel 44 (referanseeksempel)**

[(6-Klor-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

a) 6-Klor-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester

En blanding av 1-brom-6-klor-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (509 mg, 1,43 mmol; fremstilt i henhold til US 2004/0254215 A1), kobber(I)cyanid (255 mg, 2,85 mmol) og vannfri dimetylformamid (6 ml) ble refluxert i 25 minutter før blandingen ble avkjølt til romtemperatur og reaksjonen stoppet med vann. Kloroform/2-propanol (75 ml, 3:1) ble tilsatt og blandingen ble rørt i 10 minutter før filtrering. Det organiske sjiktet ble vasket med vann, saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat, konsentrert i vakuum og residuet renses med flashkolonnekromatografi på silikagel med en gradient av etylacetat og diklormetan som ga tittelforbindelsen som et gult faststoff (280 mg): MS: (-) m/z 303,20 (M-1).

b) [(6-Klor-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

En blanding av 6-klor-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyrebutylester (99 mg, 0,33 mmol) og glysin (1,84 g, 24,49 mmol) i 0,5 M natriummetoksid/metanol (32,6 ml) ble refluxert i 21 timer før avkjøling til romtemperatur og konsentrering i vakuum. Residuet ble løst i vann (40 ml) og løsningen vasket med diklormetan (3 x 50 ml). Det gjenværende vandige sjiktet ble surgjort til pH = 3 med 1N HCl. Suspensjonen ble ekstrahert med etylacetat (50 ml). Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i vakuum som ga tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (84 mg): MS: (+) m/z 306,27 (M+1); (-) m/z 304,26 (M-1).

Eksempel 45 (referanseeksempel)

30 **[(7-Butoksy-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre**
 [(7-Butoksy-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre ble fremstilt ved tilsetning av 135 mg (0,383 mmol) [(7-butoksy-1-klor-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre (fremstilt i henhold til US 6093730), 18 mg (0,02 mmol) tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0), 22,2 mg (0,04 mmol) 1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen, 3 mg (0,04 mmol) sinkstøv og 27 mg (0,23 mmol) sinkcyanid til 0,80 ml N,N-dimetylacetamid. Den resulterende blandingen ble varmet

opp til 115°C i 3 timer under nitrogenatmosfære, og deretter avkjølt til romtemperatur. Blandingen ble fortynnet med etylacetat og ekstrahert tre ganger med vandig natriumbikarbonatløsning. De vandige ekstraktene ble surgjort med konsentrert HCl, og det resulterende hvite presipitatet ble samlet opp: 28 mg av tittelforbindelsen; MS (ESI-): m/z 342,0 (M-1).

Eksempel 46

[(1-Cyano-4-hydroksy-6,7-difenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre
 [(1-Cyano-4-hydroksy-6,7-difenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre ble fremstilt ved tilsetning av 76 mg (0,164 mmol) [(1-klor-4-hydroksy-6,7-difenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre (fremstilt i henhold til US 2006/0217416), 7,3 mg (0,008 mmol) tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0), 9,0 mg (0,016 mmol) 1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen, 1,3 mg (0,20 mmol) sinkstøv og 12 mg (0,10 mmol) sinkcyanid til 0,35 ml N,N-dimetylacetamid. Den resulterende blandingen ble varmet opp til 115°C i 3 timer under en nitrogenatmosfære og ble deretter avkjølt til romtemperatur. Blandingen ble fortynnet med etylacetat og ekstrahert tre ganger med vandig natriumbikarbonat og to ganger med 1N NaOH-løsninger. De basiske, vandige ekstraktene ble sugjort med konsentrert HCl og ekstrahert tre ganger med etylacetat. De organiske ekstraktene ble tørket over natriumsulfat og konsentrert som ga 29 mg av tittelforbindelsen som et hvitt faststoff; MS (ESI-): m/z 454,0 (M-1).

Eksempel 47 (referanseeksempel)

[(1-Cyano-4-hydroksy-7-metoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre
 [(1-Cyano-4-hydroksy-7-metoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre ble fremstilt ved å tilsette 158 mg (0,511 mmol) [(1-klor-4-hydroksy-7-metoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre (fremstilt i henholdt il US 6093730), 24 mg (0,025 mmol) tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0), 28 mg (0,051 mmol) 1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen, 4 mg (0,06 mmol) sinkstøv og 36 mg (0,306 mmol) sinkcyanid til 1,0 ml N,N-dimetylacetamid. Den resulterende blandingen ble varmet opp til 115°C i 3 timer under en nitrogenatmosfære og ble deretter avkjølt til romtemperatur. Blandingen ble fortynnet med etylacetat og halvmettet vandig natriumbikarbonatløsning og filtrert gjennom en celitepute. Tofaseblandingen ble separert og det basiske, vandige ekstraktet ble surgjort med konsentrert HCl og ekstrahert tre ganger med etylacetat. De organiske ekstraktene ble tørket over natriumsulfat og konsentrert som ga 107 mg av tittelforbindelsen som et hvitt faststoff; MS (ESI+): m/z 302,3 (M+1).

Eksempel 48 (referanseeksempel)**[(1-Cyano-4-hydroksy-7-isopropoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre**

[(1-Cyano-4-hydroksy-7-isopropoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre ble
 5 fremstilt fra [(1-klor-4-hydroksy-7-isopropoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-
 eddiksyre (fremstilt i henhold til US 6093730) under betingelser analoge med eksempel
 47a; MS (ESI+): m/z 330,3 (M+1).

Eksempel 49 (referanseeksempel)**[(1-Cyano-4-hydroksy-6-isopropoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre**

10 [(1-Cyano-4-hydroksy-6-isopropoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre ble
 fremstilt fra [(1-klor-4-hydroksy-6-isopropoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-
 eddiksyre (fremstilt i henhold til US 2006/217416) under betingelser analoge med
 eksempel 47a; MS (ESI+): m/z 330,3 (M+1).

15

Eksempel 50 (referanseeksempel)**[(1-Cyano-4-hydroksy-5-fenylisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre**

[(1-Cyano-4-hydroksy-5-fenylisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre ble fremstilt fra
 [(1-klor-4-hydroksy-5-fenylisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre (fremstilt i
 20 henhold til US 2006/217416) under betingelser analoge med eksempel 47a; MS (ESI⁺):
 m/z 348,3 (M+1).

Eksempel 51 (referanseeksempel)**[(1-Cyano-4-hydroksy-8-fenylisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre**

25 [(1-Cyano-4-hydroksy-8-fenylisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre ble fremstilt fra
 [(1-klor-4-hydroksy-8-fenylisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre (fremstilt i
 henhold til US 2006/217416) under betingelser analoge med eksempel 47a; MS (ESI⁺):
 m/z 348,3 (M+1).

Eksempel 52 (referanseeksempel)**[(7-Benzylloksy-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre****a) (2,4-Dimetoksybenzylamino)-eddiksyreetyler**

En blanding av 2,4-dimetoksybenzaldehyd (50 g, 0,30 mol), glysinetylerhydroklorid
 35 (44 g, 0,32 mol) og trietylamin (43,9 ml, 0,32 mol) i diklorethan ble rørt i 1 time før
 natriumtriacetoksyborhydrid (100 g, 0,47 mol) ble tilsatt i fire porsjoner. Blandingen

ble rørt i 3 dager før reaksjonen ble stoppet med mettet natriumbikarbonat. Det organiske sjiktet ble ekstrahert med 3N HCl (2 x 400 ml, 2,4 mol). De vandige sjiktene ble kombinert, justert med fast natriumhydroksid (97,68 g, 2,4 mol) til pH = 8 og ekstrahert med etylacetat (500 ml). Etylacetatekstraktet ble vasket med saltvann, tørket over natriumsulfat og konsentrert. Residuet ble renset med flashkolonnekromatografi med en gradient av metanol og diklormetan på silikagel (120 g) som ga tittelforbindelsen som en gul olje (42,77 g). ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 7,11 (m, 1H), 6,41 (m, 2H), 4,15 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,80 (s, 3H), 3,74 (s, 2H), 3,37 (s, 2H), 1,27 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

10

b) 4-(tert-Butyldimetylsilanyloksy)-2-metylbenzosyreetyler

En blandig av 18 g (100 mmol) 4-hydroksy-2-metylbenzosyreetyler (fremstilt i henhold til Sen, et al. (1987), Indian J. Chem Sec B, 26:679-682), 10,2 g (150 mmol) imidazol og 17,2 g (115 mmol) tert-butyldimetylsilylchlorid i 110 ml vannfri DMF ble rørt i 24 timer ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med vann og ekstrahert med etylacetat. Den organiske fraksjonen ble vasket med vann, 0,1 N HCl og saltvann, og deretter tørket over vannfri magnesiumsulfat og konsentrert til 28,8 g av tittelforbindelsen; MS (ESI⁺): m/z 295,5 (M+1).

15

c) N-(2,4-dimetoksybenzyl)-N-(2-etoksykarbonyl-5-hydroksybenzyl)glysinetyler

En blanding av 20 g (68 mmol) 4-(tert-butyldimetylsilanyloksy)-2-metylbenzosyreetyler (12,1 g (68 mmol) N-bromsuksinimid, 1,5 g (6,8 mmol) benzoylperoksid i 230 ml karbontetraklorid ble varmet opp til reflux i 5 timer. Den resulterende blandingen ble avkjølt, filtrert gjennom en silikagel plugg og konsentrert under redusert trykk. Til residuet (12,2 g) ble det tilsatt 8,0 g (28,7 mmol) N-(2,4-dimetoksybenzyl)glysinetyler, 3,96 g (28,7 mmol) kaliumkarbonat og 65 ml vannfri DMF, og blandingen ble rørt i 6,5 timer. Blandingene ble deretter fordelt i en tofase vann-etylacetatblanding og det isolerte, organiske sjiktet ble vasket med saltvann, tørket over vannfri magnesiumsulfat og konsentrert. Residuet ble renset med flashkromatografi: eluering av det ønskede produktet fra silikagel med en gradient på 10-90% etylacetat i heksan. 5,33 g av tittelforbindelsen (gul olje) ble isolert; MS (ESI⁺): 432,2 (M+1).

20

35

d) N-(2,4-dimetoksybenzyl)-N-(5-benzyloksi-2-etoksykarbonylbenzyl)glysinetylever

En løsning av 5,3 g (12,3 mmol) N-(2,4-dimetoksybenzyl)-N-(2-etoksykarbonyl-5-hydroksybenzyl)glysinetylever, 1,8 ml (15,4 mmol) benzylbromid og 4,4 g (13,5 mmol) cesiumkarbonat i 35 ml vannfri DMF ble rørt i 18 timer. Reaksjonsblandingen ble fordelt mellom dietylever og vann og den organiske fraksjonen ble vasket med mettet, vandig natriumbikarbonat, saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat, filtrert gjennom en silikagelpute og konsentrert under redusert trykk til 6,4 g av tittelforbindelsen. MS (ESI+) 522,5 e/z (M+1).

e) 7-Benzyloksi-2-(2,4-dimetoksybenzyl)-4-hydroksy-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyreetylever

En løsning av 6,4 g (12,3 mmol) N-(2,4-dimetoksybenzyl)-N-(5-benzyloksi-2-etoksykarbonylbenzyl)glysinetylever i 140 ml vannfri THF ble avkjølt på et isbad. 24,6 ml 1N kalium-tert-butoksid i THF ble sakte tilsatt til den rørte, kalde løsningen. Reaksjonsblandingen ble rørt ved 0°C i 1 time og ble deretter varmet opp til romtemperatur og rørt i 4 timer. Blandingen ble helt over i en tofase blanding av etylacetat og mettet, vandig ammoniumklorid. Den organiske fraksjonen ble vasket to ganger med saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert under redusert trykk som ga 5,7 g av tittelforbindelsen; MS (ESI+): 476,3 e/z (M+1).

f) 7-Benzyloksi-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyreetylever

Diklormetan (100 ml) ble avkjølt til 0°C og 5,7 g (12 mmol) 7-benzyloksi-2-(2,4-dimetoksybenzyl)-4-hydroksy-1,2-dihydroisokinolin-3-karboksylysyreetylever og 1,31 ml (18 mmol) tionylklorid ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble rørt i 1 time og ble deretter varmet opp til romtemperatur og rørt i ytterligere 3 timer. 60 ml heksan ble tilsatt til den resulterende slurrien og det hvite, faste stoffet ble samlet opp ved filtrering gjennom et middels glassfilter med slipp. Det faste stoffet ble fordelt mellom etylacetat og mettet natriumbikarbonatløsning og den organiske fasen ble vasket med saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert som ga tittelforbindelsen (2,7 g, hvitt faststoff); MS (ESI+): 324,3 e/z (M+1).

g) 7-Benzyloksi-1-brom-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyreetylever

En suspensjon av 2,48 g (7,67 mmol) 7-benzyloksi-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyreetylever og 1,43 g (8,0 mmol) N-bromsuksinimid i 25 ml acetonitril ble varmet opp til 70°C i 10 minutter. Reaksjonsblandingen ble avkjølt og et hvitt faststoff

presipiterte ut av løsningen. Det faste stoffet ble samlet opp ved filtrering gjennom et middels glassfilter med slipp, og vasket med kald acetonitril som ga 2,3 g av tittelforbindelsen; MS (ESI+): 402,2, 404,2 e/z (M+1, $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$).

5 **h) 7-Benzyloksi-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyreetyler**

7-Benzyloksi-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyreetyler ble fremstilt ved å varme opp en blanding av 1,76 g (4,4 mmol) 7-benzyloksi-1-brom-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyreetyler, 201 mg (0,20 mmol) tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0), 243 mg (0,44 mmol) 1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen, 34 mg (0,53 mmol) sinkstøv, 309 mg (2,64 mmol) sinkcyanid og 9,0 ml N,N-dimetylacetamid til 115°C i 3 timer. Den resulterende blandingen ble fortynnet med etylacetat og mettet, vandig ammoniumklorid og filtrert gjennom en celitepute. Den organiske fraksjonen ble vasket med mettet ammoniumklorid, vann, saltvann, tørket over vannfri natriumsulfat og konsentrert i 15 vakuum. Residuet ble rensert med flashkromatografi eluert med silikagel med en 10 til 90% gradient av etylacetat i heksan som ga 1,18 g av tittelforbindelsen; MS (ESI+): 349,3 e/z (M+1).

20 **i) [(7-Benzyloksi-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre**

[(7-Benzyloksi-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre ble fremstilt ved oppvarming av en løsning av 110 mg (0,316 mmol) 7-benzyloksi-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyreetyler og 210 mg (2,8 mmol) glysin i 5 ml 0,5 N NaOMe i metanol til refluksstemperatur i 28 timer. Reaksjonsblanding ble 25 avkjølt og surgjort med 3 ml 1N HCl. Et hvitt faststoff ble samlet opp på et middels glassfilter med slipp som ga 115 mg av tittelforbindelsen; MS (ESI+): 378,2 e/z (M+1).

Eksempel 53 (referanseeksempel)

[(1-Cyano-4,7-dihydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre

30

a) 1-Cyano-4,7-dihydroksyisokinolin-3-karboksylysyreetyler

1-Cyano-4,7-dihydroksyisokinolin-3-karboksylysyreetyler ble fremstilt ved oppvarming av en blanding av 175 mg (0,50 mmol) 7-benzyloksi-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karboksylysyreetyler (eksempel 52h), 630 mg (10 mmol) ammoniumformat og 40 mg 10% Pd/C i 3 ml 1:1 EtOAc og EtOH ved 35 refluksstemperatur i 40 minutter. Den resulterende blandingen ble avkjølt, filtrert

gjennom en celitepute for å fjerne faste stoffer og konsentrert til et urent faststoff. Det faste stoffet ble tritureert med varm etanol som ga 56 mg av et off-white faststoff etter tørking; MS (ESI⁺): 259,3 c/z (M+1).

- 5 **b) [(1-Cyano-4,7-dihydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre**
 [(1-Cyano-4,7-dihydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre ble fremstilt ved oppvarming av en blanding av 42 mg (0,162 mmol) 1-cyano-4,7-dihydroksyisokinolin-3-karboksylysyreetyler og 97 mg (1,29 mmol) glysin i 2,25 ml 0,5 N NaOMe i metanol ved refluksstemperatur i 24 timer. Reaksjonsblandingen ble avkjølt og surgjort
 10 med 3 ml 1N HCl og vann. Et hvitt faststoff ble samlet opp på et middels glassfilter med slipp som ga 40 mg av tittelforbindelsen; MS (ESI⁺): 288,2 e/z (M+1).

Eksempel 54

Sammenligningsundersøkelse av forbindelser med klor, brom, hydrogen eller metyl i stedet for cyano i C-1-posisjon

- 15 Forbindelser ble testet for aktivitet ved anvendelse av følgende undersøkelse. Forbindelser ble løst i vandig løsning som inneholder dobbelt så mye natriumhydroksid, mol-for-mol, som forbindelsen og dekstrose som et tonisitsjusterende middel. Hannkjønn sveitsiske Webster-mus ble dosert ved haleveneninjeksjon med
 20 forbindelsen, og blodprøver ble samlet opp i EDTA og herapin 4 timer etter IV-dosering. Prøvene ble analysert ved anvendelse av et muse-erythropoietin QUANTIKINE ELISA-kit (R&D Systems Inc., Minneapolis MN) i henhold til produsentens instruksjoner. Forbindelser ifølge oppfinnelsen viste målbar økning i plasma erythropoietinnivåer. Videre ga forbindelser som inneholder cyanosubstitusjon
 25 ved C-1, slik tilfellet er med foreliggende oppfinnelse, overraskende høyere, for eksempel minst to ganger høyere, plasma-erythropoietinnivåer enn en sammenlignbar forbindelse som inneholder et hydrogen, klor, brom eller metyl i C-1-posisjonen ved en gitt dose. Tabell 1 nedenfor illustrerer ganger forskjell (dvs. forbedringsgrad) mellom erythropoietinnivåer oppnådd med forbindelsen ifølge oppfinnelsen sammenlignet med
 30 erythropoietinnivåer oppnådd med forbindelser som har den samme strukturen, unntatt at cyanogruppen i C-1-posisjonen er erstattet slik det er vist nedenfor, testet under samme betingelser og ved samme konsentrasjon.

Tabell 1

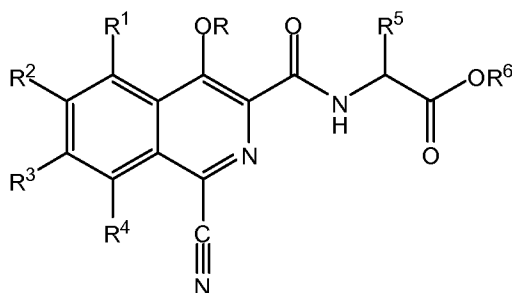
Eksempel	Sammenlignende substituent	Ganger forskjell
1	-Cl	4,7x
3	-CH ₃	2,5x
6	-Cl	31x
9	-CH ₃	2,4x
12	-Cl	449x
12	-Br	362x
39	-CH ₃	178x
40	-H	81x
20	-H	23x
22	-H	26x
23	-H	277x

P a t e n t k r a v

1.

Forbindelse, k a r a k t e r i s e r t v e d formel I:

5



I

hvor:

10 R er hydrogen;

R¹, R², R³ og R⁴ er uafhængig valgt fra gruppen som består af hydrogen, C₁₋₁₀ alkyl eventuelt substitueret med aryl, og -OR⁷, hvori R⁷ er valgt fra gruppen som består af C₆₋₁₂ aryl eventuelt substitueret med halo eller C₁₋₁₀ alkoksy, og heteroaryl med fra 1 til 15 karbonatomer og 1 til 4 heteroatomer valgt fra gruppen som består af oxygen, nitrogen og svovel, substitueret med C₁₋₁₀ alkyl eller C₁₋₁₀ dialkylamino; og

R⁵ og R⁶ er hydrogen;

20 eller et farmasøytisk akseptabelt salt, tautomer, stereoisomer eller solvat derav.

2.

Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at mindst to af R¹, R², R³ og R⁴ er hydrogen.

25

3.

Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^1 , R^2 , R^3 og R^4 er uavhengig valgt fra gruppen som består av hydrogen, benzyl, fenoksy, 4-fluorfenoksy, 3-metoksyfenoksy, 2-metylbenzotiazol-6-yloksy og

5 2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy.

4.

Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^1 , R^2 , R^3 og R^4 er valgt fra gruppen som består av hydrogen, fenoksy og 4-halofenoksy.

10

5.

Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^1 og R^4 er hydrogen.

15 6.

Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^1 , R^3 og R^4 er hydrogen.

7.

20 Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^1 , R^2 og R^3 er hydrogen.

8.

25 Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^1 , R^2 og R^4 er hydrogen.

9.

30 Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^2 , R^3 og R^4 er hydrogen.

10.

Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^1 , R^2 , R^3 og R^4 er hydrogen.

35

11.

Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^1 er $-OR^7$, hvori R^7 er C_{6-12} aryl substituert med halo.

5 12.

Forbindelse ifølge krav 11, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^1 er 4-fluorfenoksy.

13.

10 Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^2 er $-OR^7$, hvori R^7 er valgt fra gruppen som består av C_{6-12} aryl og heteroaryl med fra 1 til 15 karbonatomer og 1 til 4 heteroatomer valgt fra gruppen som består av oksygen, nitrogen og svovel, substituert med C_{1-10} alkyl eller C_{1-10} dialkylamino.

15 14.

Forbindelse ifølge krav 13, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^2 er valgt fra gruppen som består av fenoksy, 2-metylbenzotiazol-6-yloksy og 2-dimetylamino benzooksazol-5-yloksy.

20 15.

Forbindelse ifølge krav 14, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^2 er fenoksy.

16.

25 Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^3 er valgt fra gruppen som består av C_{1-10} alkyl substituert med C_{6-12} aryl, og $-OR^7$, hvori R^7 er C_{6-12} aryl eventuelt substituert med halo.

17.

30 Forbindelse ifølge krav 16, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^3 er valgt fra gruppen som består av benzyl, fenoksy og 4-fluorfenoksy.

18.

35 Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^4 er $-OR^7$, hvori R^7 er C_{6-12} aryl eventuelt substituert med C_{1-10} alkoksy.

19.

Forbindelse ifølge krav 18, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^4 er valgt fra gruppen som består av fenoksy og 3-metoksyfenoksy.

5 20.

Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at den er valgt fra gruppen som består av:

{[1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre,
 10 {[1-cyano-4-hydroksy-7-fenoksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre,
 {[1-cyano-7-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre,
 {[1-cyano-4-hydroksy-8-fenoksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre,
 [(1-cyano-4-hydroksy-6-fenoksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre,
 {[1-cyano-4-hydroksy-8-(3-metoksyfenoksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre,
 15 [(7-benzyl-1-cyano-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl)-amino]-eddiksyre,
 {[1-cyano-5-(4-fluorfenoksy)-4-hydroksyisokinolin-3-karbonyl]-amino}-eddiksyre,
 {[1-cyano-4-hydroksy-6-(2-metylbenzotiazol-6-yloksy)-isokinolin-3-karbonyl]-amino}-
 eddiksyre, og
 {[1-cyano-6-(2-dimetylaminobenzooksazol-5-yloksy)-4-hydroksyisokinolin-3-
 20 karbonyl]-amino}-eddiksyre,

eller et farmasøytisk akseptabelt salt, tautomer, stereoisomer eller solvat derav.

21.

25 Farmasøytisk sammensetning, k a r a k t e r i s e r t v e d at den innbefatter en eller flere forbindelser ifølge krav 1, og en farmasøytisk akseptabel eksipient.

22.

30 Sammensetning ifølge krav 21, k a r a k t e r i s e r t v e d at den ytterligere innbefatter minst et ytterligere terapeutisk middel.

23.

Sammensetning ifølge krav 22, k a r a k t e r i s e r t v e d at
 35 middelet er valgt fra gruppen som består av vitamin B12, folsyre, jernsulfat, human erythropoetin og et erythropoiesestimulerende protein (ESP).

24.

Sammensetning ifølge krav 21 for behandling, forhåndsbehandling eller forsinking av
utbrudd av en tilstand assosiert med hypoksiinduserbar faktor (HIF), der tilstanden
5 assosiert med HIF er en vevsskade assosiert med iskemi eller hypoksi.

25.

Sammensetning ifølge krav 24, der iskemien er en akutt, iskemisk hendelse valgt fra
gruppen som består av myokardisk infarkt, lungeembolisme, intestinalt infarkt,
10 iskemisk slag og renal iskemisk-reperfusjonsskade.

26.

Sammensetning ifølge krav 24, der iskemien er en kronisk iskemisk hendelse valgt fra
gruppen som består av hjertecirrhose, makulær degenerering, kronisk nyresvikt og
15 kongestiv hjertesvikt.

27.

Sammensetning ifølge krav 21 for behandling, forhåndsbehandling eller forsikning av
utbrudd av anemi.