



(12) PATENT

(19) NO

(11) 340680

(13) B1

NORGE

(51) Int Cl.
C07C 229/42 (2006.01)
C07C 229/60 (2006.01)
A61K 31/196 (2006.01)

Patentstyret

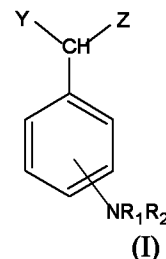
(21)	Søknadsnr	20080325	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2006.07.24 PCT/IE2006/00078
(22)	Inng.dag	2008.01.18	(85)	Videreføringsdag	2008.01.18
(24)	Løpedag	2006.07.24	(30)	Prioritet	2005.07.22, IT, RM05A000389
(41)	Alm.tilgj	2008.04.16			
(45)	Meddelt	2017.05.29			
(73)	Innehaver	Nogra Pharma Ltd, 33 Sir John Rogerson's Quay, IE-DUBLIN 2, Irland			
(72)	Oppfinner	Giancarlo Naccari, Via Bellinzona, 7, IT-20052 MONZA, Italia Sergio Baroni, Via Piazzolo, 3, IT-24030 VILLA D'ADDA, Italia			
(74)	Fullmektig	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge			

(54)	Benevnelse	Forbindelser og deres salter som er spesifikke overfor PPAR-reseptorer og EGF-reseptorer samt deres anvendelse innen medisin
(56)	Anførte publikasjoner	EP 0055689 A1 DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414322 retrieved from Xfire Database accession no. brn 3200601 & J CHEM SOC, 1935, page 104,111, DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414323 retrieved from Xfire Database accession no. brn 3242057 & CHEM BER, vol. 74, 1941, page 500,517, DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414324 retrieved from Xfire Database accession no. brn 3199917 & CHEM BER, vol. 46, 1913, page 288, DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414325 retrieved from Xfire Database accession no. brn 3199913 & CHEM BER, vol. 46, 1913, page 3978, DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414326 retrieved from Xfire Database accession no. brn 3296969 & CHEM NEWS J IND SCI, vol. 36, 1877, page 269, DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414327 retrieved from Xfire Database accession no. pcm 859019 & US 4 429 152 A (SCHERING AG [DE]) 31 January 1984 (1984-01-31) DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414328 retrieved from Xfire Database accession no. brn 3268495 & JUSTUS LIEBIGS ANN CHEM, vol. 436, 1924, page 60, DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414329 retrieved from Xfire Database accession no. brn 2208094 & J AM CHEM SOC, vol. 68, 1946, page 2335,2338, DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414330 retrieved from Xfire Database accession no. brn 2803076 & J ORG CHEM, vol. 14, 1949, page 1013,1018, ROUSSEAU ET AL.: "Intestinal antiinflammatory effect of 5-aminosalicylic acid is dependent on peroxisome proliferator-activated receptor-gamma" JEM, vol. 201, no. 8, 18 April 2005 (2005-04-18), pages 1205-1215 ALLGAYER H: "REVIEW ARTICLE: MECHANISMS OF ACTION OF MESALAZINE IN PREVENTING COLORECTAL CARCINOMA IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASE" ALIMENTARY PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS, BLACKWELL SCIENTIFIC PUBLICATIONS LTD., CAMBRIDGE, GB, vol. 18, no. SUPPL 2, 2003, pages 10-14
(57)	Sammendrag	

Foreliggende oppfinnelse angår forbindelser omfattende den generelle formel (I):
hvor:

R₁ og R₂, som kan være like eller forskjellige, er valgt fra gruppen omfattende -H eller en lineær eller forgrenet alkylgruppe som har fra 1 til 6 karbonatomer eller sammen danner en aromatisk eller alifatisk ring med 5 eller 6 atomer;

Y og Z, som kan være like eller forskjellige, er valgt fra gruppen omfattende -H, -OH, -COOH, -OR₃, -CH(OR₃)COOH, hvor R₃ er valgt fra H, fenyl, benzyl, -CF₃ eller -CF₂CF₃, vinyl, allyl og en lineær eller forgrenet alkylgruppe som har fra 1 til 6 karbonatomer.



(I)

FORBINDELSER OG DERES SALTER SOM ER SPESIFIKKE OVERFOR PPAR-RESEPTORER OG EGF-RESEPTORER SAMT DERES ANVENDELSE INNEN MEDISIN.

5 Oppfinnelsens område.

Foreliggende oppfinnelse angår forbindelser og deres salter som er spesifikke overfor PPAR-reseptorene og EGF-reseptorene, og anvendelse av dem innen medisin.

10 Oppfinnelsens formål.

Spesielt kan forbindelsene og deres salter ifølge foreliggende oppfinnelse, fordelaktig anvendes for forebygging og behandling av tumorer som uttrykker PPAR γ -reseptorene (peroksisom-proliferator-aktiverte reseptorer) og EGF-reseptorene (epidermale vekstfaktor-reseptorer), så som tumorer i spiserør, mage, bukspyttkjertel, kolon, prostata, bryst, livmoren og dens vedheng, nyrer og lunger. Videre kan forbindelsene og deres salter ifølge oppfinnelsen anvendes for behandling av kroniske inflammatoriske sykdommer, spesielt kroniske tarmsykdommer, så som Crohns sykdom og ulcerøs rektokolitt.

20 Bakgrunn for oppfinnelsen.

PPAR γ -reseptorene er kjernereseptorer (en gruppe med ca. 50 transkripsjonsfaktorer) som kontrollerer ekspresjonen av mange gener som er viktige for reguleringen av lipidmetabolisme, syntesen av insulin og prosessene med carcinogenese og inflammasjon (Bull AW, Arch Patol Lab Med 2003;127: 1121-1123) (Koeffler HP, Clin Cancer Res 2003; 9: 1-9) (Youssef J et al., J Biomed Biotec 2004; 3: 156-166).

Det finnes forskjellige naturlige og syntetiske agonister som binder seg til PPAR γ -reseptorene og endrer deres konformasjon, hvilket gir opphav til aktivering. Naturlige og syntetiske ligander er beskrevet i The Lancet 2002; 360:1410-1418.

Nyere studier har vist at behandling av tumorceller med ligander av PPAR γ -reseptorene fremkaller en reduksjon i cellulær proliferasjon, celledifferensiering og apoptose, hvilket indikerer en mulig anvendelse av slike forbindelser som midler

for å forhindre carcinogenese (Osawa E et al., Gastroenterology 2003; 124:361-367).

Andre undersøkelser har vist at ligander av PPAR γ -reseptorene (f.eks. troglitazon) har anti-inflammatoriske effekter og hemmer den mukosale inflammatoriske respons i dyremodeller av IBD (Tanaka T et al., Cancer Res 2001; 61: 2424-2428).

Videre er det helt nylig blitt publisert bevis for at den anti-inflammatoriske aktiviteten til 5-ASA, gullstandarden ved behandling av IBD, i tarmen, er avhengig av binding og påfølgende aktivering av PPAR γ -reseptorene (Rousseaux C et al., J Exp Med 2005; 201: 1205-1215).

Transmembran-reseptoren med tyrosin-kinase EGF-aktivitet uttrykkes i meget høy grad i aktivert form ved forskjellige typer av neoplasmer (Mendelsohn J, Endocr Relat Cancer 2001; 8: 3-9) (Harari PM, Endocr Relat Cancer 2004; 11: 689-708).

Overekspresjon av reseptoren er også relatert til den potensielle evne som carcinomatøse celler har til å metastasere. I forbindelse med dette er det blitt vist at EGF fremmer migreringen og invasiviteten til forskjellige celletyper forbundet med lesjoner, på nivået interaksjoner med den ekstracellulære matriks (Brunton et al., Oncogene 1997; 14: 283-293).

En rekke studier, gjort både på forsøksdyr og mennesker, har fastslått effektiviteten til hemmere av EGF-reseptoren når det gjelder å kontrollere proliferasjon og spredning av tumorer (Mendelsohn J, Endocr Relat Cancer 2001; 8: 3-9) (Harari PM, Endocr Relat Cancer 2004; 11: 689-708).

Det er ingen tvil om at de intracellulære signalene utløst ved aktivering av EGF-reseptoren letter veksten og overlevelsen til neoplastisk celler, noe som er medvirkende til utviklingen av patologien, og at slike signaler er essensielle når det gjelder å bestemme evnen som tumorceller har til spredning og kolonisering av organer som ligger langt unna (Mendelsohn J, Endocr Relat Cancer 2001; 8: 3-9) (Kari C et al., Cancer Res 2003; 63: 1-5).

Ut fra det foregående, og videre ved å bære i minne at kroniske inflammatoriske prosesser, ut fra et biologisk standpunkt, spiller en rolle ved carcinogenese, blir det klart at det er et reelt behov for nyskapende forskning på nye kjemiske enheter som, med sin komplementære virkning både på PPAR γ -

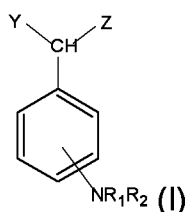
reseptorene og på EGF-reseptorene, er i stand til å utøve anti-inflammatorisk virkning og anti-tumorstyring, av den kjemo-preventive, anti-proliferative og anti-metastatiske type.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en ny klasse av forbindelser som er egnet for forebygging og behandling av kreft og kronisk inflammasjon, ved modulering av spesifikke reseptorer, så som PPAR γ -reseptorene og EGF-reseptorene.

Oppsummering av oppfinnelsen.

Foreliggende oppfinnelse angår nye og oppfinneriske medisinske og terapeutiske anvendelser av en serie av forbindelser i den forstand at ingen av disse forbindelser er kjent, og oppfinnelsen angår også disse forbindelser.

Foreliggende oppfinnelse angår forbindelser omfattende den generelle formel (I):

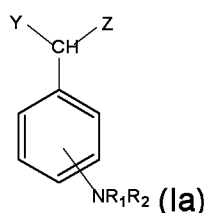


hvor:

R₁ og R₂, som kan være like eller forskjellige, er valgt fra gruppen omfattende -H eller en lineær eller forgrenet alkylgruppe som har fra 1 til 6 karbonatomer eller sammen danner en aromatisk eller alifatisk ring med 5 eller 6 atomer;

Y og Z, som kan være like eller forskjellige, er valgt fra gruppen omfattende -H, -OH, -COOH, -OR₃, -CH(OR₃)COOH, hvor R₃ er valgt fra H, fenyl, benzyl, -CF₃ eller -CF₂CF₃, vinyl, allyl og en lineær eller forgrenet alkylgruppe som har fra 1 til 6 karbonatomer.

Foreliggende oppfinnelse angår også en undergruppe forbindelser, med den generelle formel (Ia):



hvor:

R_1 og R_2 , som kan være like eller forskjellige, er valgt fra gruppen omfattende -H eller en lineær eller forgrenet alkylgruppe som har fra 1 til 6 karbonatomer

- 5 Y og Z, som kan være like eller forskjellige, er valgt fra gruppen omfattende -H, -OH, -COOH, -OR₃, -CH(OR₃)COOH, hvor R₃ er valgt fra -H og en lineær eller forgrenet alkylgruppe som har fra 1 til 6 karbonatomer.

- I noen utførelsesformer ifølge oppfinnelsen er Z og Y forskjellig. I noen utførelsesformer ifølge oppfinnelsen avsluttes minst én av Y eller Z med
10 -COOH. Derfor er Y eller Z (og i noen utførelsesformer minst én av Y eller Z, og i noen utførelsesformer bare én av Y eller Z), i noen utførelsesformer ifølge oppfinnelsen -COOH. I noen utførelsesformer ifølge oppfinnelsen er Y eller Z (og i noen utførelsesformer minst én av Y eller Z, og i noen utførelsesformer bare én av Y eller Z) -CH(OR₃)COOH.

- 15 Foreliggende oppfinnelse angår også forbindelser i henhold til både formel (I) og (Ia), bortsett fra der hvor Y og Z, som kan være like eller forskjellige, er valgt fra gruppen omfattende -H, -COOH, -OR₃, -CH(OR₃)COOH. Derfor kan Z eller Y, i noen utførelsesformer ifølge oppfinnelsen, ikke være -OH. I slike utførelsesformer ifølge oppfinnelsen er forbindelser 10 og 11 utelukket.

- 20 I noen utførelsesformer ifølge oppfinnelsen er gruppen NR₁R₂, når Y er -H og Z er -CH(OH)COOH, tilknyttet i 3'-stillingen. Således er forbindelse 21, i noen utførelsesformer ifølge oppfinnelsen, utelukket:

- I andre utførelsesformer ifølge oppfinnelsen er gruppen NR₁R₂, når Z er -OCH₃ og Y er -COOH, tilknyttet i 4'-stillingen. Således er forbindelse 22, i noen
25 utførelsesformer ifølge oppfinnelsen, utelukket.

I noen utførelsesformer ifølge oppfinnelsen er gruppen NR₁R₂, når Y er -H og Z er -CH(OCH₃)COOH, tilknyttet i 4'-stillingen. Således er forbindelse 35, i noen utførelsesformer ifølge oppfinnelsen, utelukket:

- Spesielt kan ovennevnte lineære eller forgrenede alkylgruppe som har fra 1
30 til 6 karbonatomer, velges fra -CH₃, -CH₂CH₃, -CH(CH₃)₂, -CH₂CH₂CH₃, -C_nH_{2n-1}.

Forbindelsene med formel (I) og (Ia) kan velges fra gruppen omfattende:

3-(3'-aminofenyl)2-hydroksypropansyre (forbindelse 20),

- 2-(4-aminofenyl)2-metoksyeddiksyre (forbindelse 23),
 2-(3-aminofenyl)2-etoksyeddiksyre (forbindelse 32),
 2-(4-aminofenyl)2-etoksyeddiksyre (forbindelse 33),
 3-(4'-aminofenyl)2-metoksypropionsyre (forbindelse 34),
 5 3-(4'-aminofenyl)2-etoksypropionsyre (forbindelse 39),
 3-(3'-aminofenyl)2-etoksypropionsyre (forbindelse 40).

Ovennevnte navn på forbindelsen kan også skrives med standard kjemisk nomenklatur som følger (idet denne nomenklaturen vil anvendes i hele teksten):

- (±)-2-hydroksy-3-(3'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 20),
 10 (±)-2-metoksy-2-(4'-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 23),
 (±)-2-etoksy-2-(3'-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 32),
 (±)-2-etoksy-2-(4'-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 33),
 (±)-2-metoksy-3-(4'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 34),
 (±)-2-etoksy-3-(4'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 39),
 15 (±)-2-etoksy-3-(3'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 40).

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan fordelaktig anvendes innen medisin. Derfor angår foreliggende oppfinnelse et farmasøytisk preparat omfattende én eller flere forbindelser som definert ovenfor som aktivt prinsipp, i kombinasjon med ett eller flere farmasøytisk akseptable tilsetningsmidler eller
 20 adjuvantia.

Foreliggende oppfinnelse angår videre anvendelse av forbindelsene som definert ovenfor, for fremstilling av et medisinsk produkt for forebygging og behandling av tumorer som uttrykker PPAR γ -reseptorene og EGF-reseptorene, så som for eksempel tumor i spiserør, mage, bukspyttkjertel, kolon, prostata, bryst,
 25 livmoren og dens vedheng ("appendages"), nyrene og lungene.

Oppfinnelsen angår videre anvendelse av forbindelsene ifølge oppfinnelsen for fremstilling av et medisinsk produkt for behandling av kroniske inflammatoriske sykdommer, så som for eksempel Crohns sykdom og ulcerøs rektokolitt.

Spesielt kan forbindelsene ifølge oppfinnelsen som kan anvendes for
 30 ovennevnte anvendelsesområder, bortsett fra dem allerede beskrevet, være som følger:

- (R,S)-2-hydroksy-2-(3-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 10),
 (R,S)-2-hydroksy-2-(4-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 11),

(R,S)-2-hydroksy-3-(4'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 21),

(R,S)-2-metoksy-3-(3'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 35),

(R,S)-2-metoksy-3-(3-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 34).

Ovennevnte navn på forbindelsen kan også skrives med standard kjemisk

5 nomenklatur som følger (idet denne nomenklaturen vil anvendes i hele teksten):

(±)-2-hydroksy-2-(3'-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 10),

(±)-2-hydroksy-2-(4'-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 11),

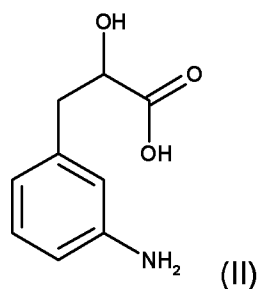
(±)-2-hydroksy-3-(4'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 21),

(±)-2-metoksy-3-(3'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 35),

10 (±)-2-metoksy-3-(4'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 34).

I henhold til én utførelsesform kan R_3 i forbindelsene med formel (I) være H,

i henhold til følgende formel (II):

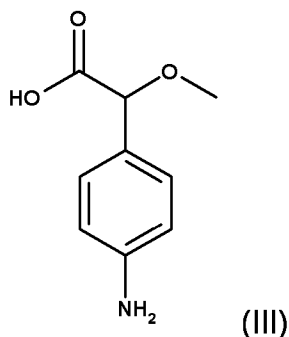


15

idet R_1 , R_2 , X og Y er definert ovenfor.

I henhold til en annen utførelsesform kan R_3 i forbindelsene med formel (I)

være $-CH_3$, i henhold til følgende formel (III):

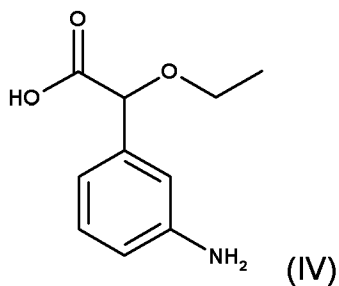


20

idet R_1 , R_2 , X og Y er definert ovenfor.

7

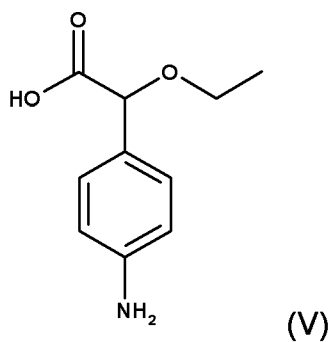
I henhold til en annen utførelsesform kan R_3 i forbindelsene med formel (I) være $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, i henhold til følgende formel (IV):



5

idet R_1 , R_2 , X og Y er definert ovenfor.

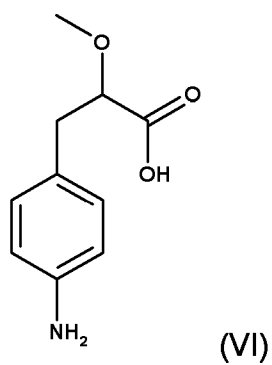
I henhold til en annen utførelsesform kan R_3 i forbindelsene med formel (I) være $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, i henhold til følgende formel (V):



10

idet R_1 , R_2 , X og Y er definert ovenfor.

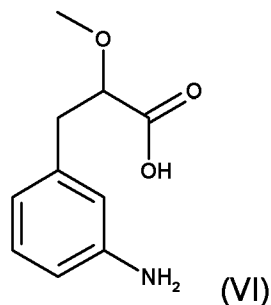
I henhold til en annen utførelsesform kan R_3 i forbindelsene med formel (I) være $-\text{CH}_3$, i henhold til følgende formel (VI):



15

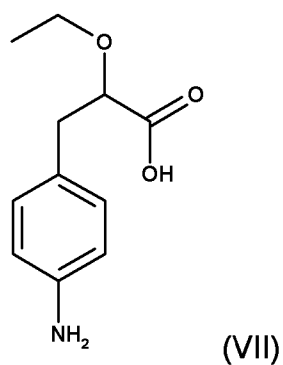
idet R_1 , R_2 , X og Y er definert ovenfor.

I henhold til en annen utførelsesform kan R_3 i forbindelsene med formel (I) være $-\text{CH}_3$, i henhold til følgende formel (VI):



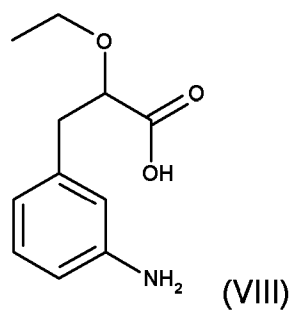
5 idet R_1 , R_2 , X og Y er definert ovenfor.

I henhold til en annen utførelsesform kan R_3 i forbindelsene med formel (I) være $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, i henhold til følgende formel (VII):



10 idet R_1 , R_2 , X og Y er definert ovenfor.

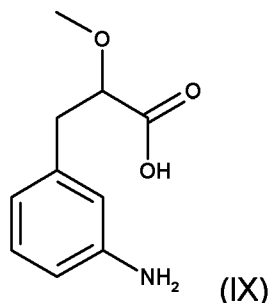
I henhold til en annen utførelsesform kan R_3 i forbindelsene med formel (I) være $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, i henhold til følgende formel (VIII):



15

idet R_1 , R_2 , X og Y er definert ovenfor.

I henhold til en annen utførelsesform kan R_3 i forbindelsene med formel (I) være $-CH_3$, i henhold til følgende formel (IX):



5

idet R_1 , R_2 , X og Y er definert ovenfor.

Fortrinnsvis kan forbindelsene med formel (I) velges fra gruppen omfattende:

- (±)-2-hydroksy-3-(3'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 20),
- 10 (±)-2-metoksy-2-(4'-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 23),
- (±)-2-etoksy-2-(3'-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 32),
- (±)-2-etoksy-2-(4'-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 33),
- (±)-2-metoksy-3-(4'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 34),
- (±)-2-etoksy-3-(4'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 39),
- 15 (±)-2-etoksy-3-(3'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 40).

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan fordelaktig anvendes innen medisin. Derfor angår foreliggende oppfinnelse et farmasøytisk preparat omfattende én eller flere forbindelser som definert ovenfor som aktivt prinsipp, i kombinasjon med ett eller flere farmasøytisk akseptable tilsetningsmidler eller

20 adjuvantia.

Foreliggende oppfinnelse angår videre anvendelse av forbindelsene som definert ovenfor, for fremstilling av et medisinsk produkt for forebygging og behandling av tumorer som uttrykker PPAR γ -reseptorene og EGF-reseptorene, så som for eksempel tumor i spiserør, mage, bukspyttkjertel, kolon, prostata, bryst,

25 livmoren og dens vedheng, nyrene og lungene.

Oppfinnelsen angår videre anvendelse av forbindelsene ifølge oppfinnelsen for fremstilling av et medisinsk produkt for behandling av kroniske inflammatoriske sykdommer, så som for eksempel Crohns sykdom og ulcerøs rektokolitt.

Foreliggende oppfinnelse angår også metoder for behandling av mennesker og/eller pattedyr (omfattende gnagere, gårdsdyr, kjæledyr, mus, rotter, hamstere, kaniner, hunder, katter, griser, sauer, kuer, hester).

Spesielt kan forbindelsene ifølge oppfinnelsen som kan anvendes for
5 ovennevnte anvendelsesområder, bortsett fra dem allerede beskrevet, være som følger:

- (±)-2-hydroksy-2-(3-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 10),
- (±)-2-hydroksy-2-(4-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 11),
- (±)-2-hydroksy-3-(4'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 21),
- 10 (±)-2-metoksy-3-(3'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 35),
- (±)-2-metoksy-3-(4'-aminofenyl)propionsyre. (forbindelse 34).

Anvendelsene av forbindelsene beskrevet er ikke begrenset til anvendelse av dem i den racemiske form. Foreliggende oppfinnelse omfatter anvendelse av hvilke som helst beskrevne forbindelser i enantiomerent rene R- eller S-former,
15 eller en hvilken som helst blanding hvor én enantiomer er i overskudd i forhold til den andre, i et hvilket som helst forhold.

Faktisk indikerer koblingsundersøkelser utført at S-enantiomeren er mer aktiv enn R-enantiomeren, selv om den rene R-enantiomeren viser aktivitet.

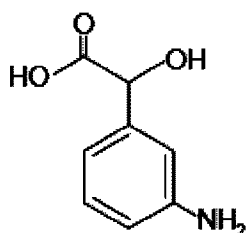
Molekylene ifølge foreliggende oppfinnelse ble utledet ved molekylært
20 modelleringsarbeid ved anvendelse av mesalazin som basis, og alle kjemisk mulige variasjoner ble evaluert for å oppnå det beste resultatet (affinitet og aktivisering av reseptoren) i datamaskin-koblingsforsøk. Følgelig antas det at forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse som viser en funksjon og/eller aktivitet som er sammenlignbar med den til mesalazin, gjør det gjennom lignende
25 biologiske baner. Det antas at karakteristika som ligner dem til mesalazin som er iboende i molekylene ifølge oppfinnelsen, gir molekylene en lignende aktivitet med hensyn til EGF-banen.

Eksemplene gitt her er nyttige modeller for anvendelse til å forutsi anvendelse av forbindelsene på de forskjellige medisinske områder allerede
30 beskrevet. Modellene gir derfor verdifulle og meningsfulle resultater, uansett hvilken virkningsmekanisme de har.

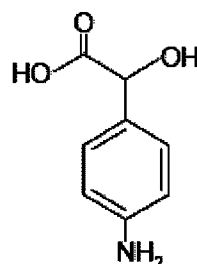
I tillegg til ovennevnte forbindelser, tilveiebringer foreliggende oppfinnelse anvendelse av følgende forbindelser:

2_10

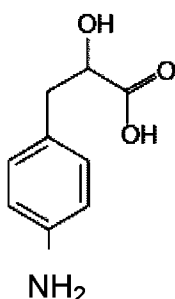
(R,S)-2-hydroksy-2-(3-aminofenyl)-
eddiksyre

**2_11**

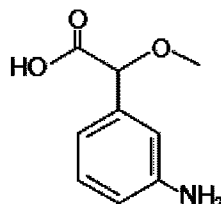
(R,S)-2-hydroksy-2-(4-aminofenyl)-
eddiksyre

**2_21**

(R,S)-2-hydroksy-3-(4'-amino-
fenyl)propionsyre

**2_22**

(R,S)-2-metoksy-2-(3-aminofenyl)-
eddiksyre



5

Foreliggende oppfinnelse vil nå bli beskrevet for det formål å illustrere, men uten å begrense den, i henhold til dens foretrukne utførelsesformer, med spesiell referanse til diagrammene på de ledsagende tegningene.

10 KORT BESKRIVELSE AV TEGNINGENE OG TABELLEN.

Tabell 1. Prosentandeler DLD-1-cellehemning med graderte doser (0,5-10 mM) av de spesifiserte forbindelser. Celler ble dyrket i nærvær eller fravær av forbindelsene, og cellevekst ble deretter bedømt ved hjelp av et kolorimetrisk (BrdU) forsøk etter 48 timers dyrkning.

15 Figur 1 viser strukturene til forbindelser 20, 23, 32, 33, 34, 35, 39 og 40.

Figur 2: PPAR γ -aktivitet ved behandling med forbindelser.

Figurer 3-4: Effekt av de spesifiserte substansene på proliferasjonen av humane kolonkarsinom-cellelinjer (dvs. HT29, HT115 og DLD1). Celler ble behandlet med økende konsentrasjoner av substanser (0,5-10 mM)) i 48 timer, og

20 proliferasjonen ble bestemt ved anvendelse av et kolorimetrisk forsøk for måling

av BrdU-innføring. Optisk densitet (OD) ble bestemt ved 450 nm ved anvendelse av en ELISA-leser. Data indikerer gjennomsnittet $\pm$ SD for 3 separate forsøk.

Figur 5: Kobling av (R)-forbindelse 34 til PPAP γ -reseptor (merking av aminosyrerester og hydrogenbinding er vist).

5 Figur 6: Kobling av (S)-forbindelse 34 til PPAP γ -reseptor (merking av aminosyrerester og hydrogenbinding er vist).

Figur 7: Kobling av (R)-forbindelse 35 til PPAP γ -reseptor (merking av aminosyrerester og hydrogenbinding er vist).

Figur 8: Kobling av (S)-forbindelse 35 til PPAP γ -reseptor (merking av
10 aminosyrerester og hydrogenbinding er vist).

Figur 9: Kobling av (R)-forbindelse 39 til PPAP γ -reseptor (merking av aminosyrerester og hydrogenbinding er vist).

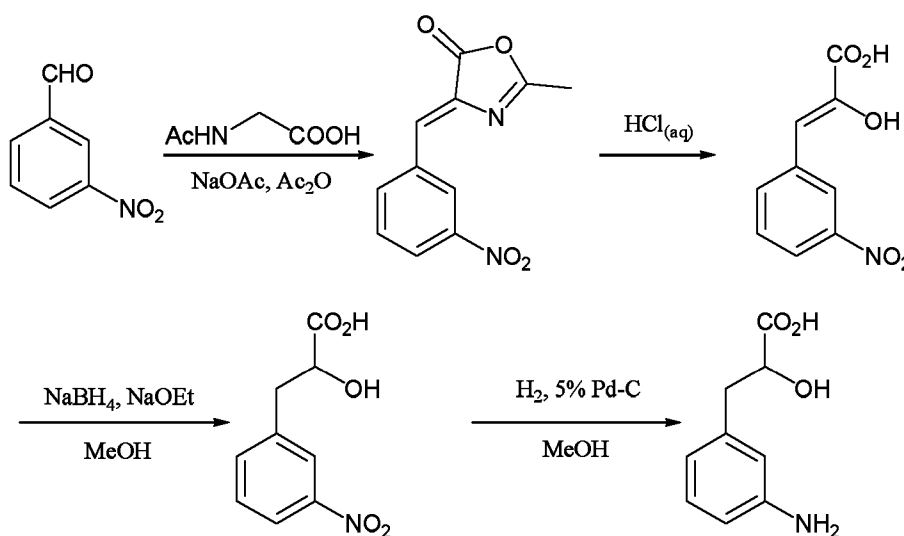
Figur 10: Kobling av (S)-forbindelse 39 til PPAP γ -reseptor (merking av aminosyrerester og hydrogenbinding er vist).

15 Figur 11: Kobling av mesalamin til PPAP γ -reseptor (merking av aminosyrerester og hydrogenbinding er vist).

Figur 12: Skjematisk syntese og påfølgende spaltning av forbindelse 39.

EKSEMPEL 1

20 Metode for fremstilling av ($\pm$)-2-hydroksy-3-(3'-aminofenyl)propansyre (forbindelse 20).



Trinn 1

3-nitrobenzaldehyd (45,3 g, 0,3 mol), N-acetylglycin (42,1 g, 0,36 mol) og natriumacetat (32 g, 0,39 mol) ble blandet med eddiksyreanhydrid (142 ml, 1,5 mol) og den resulterende blandingen oppvarmet med omrøring til 120°C i 6 timer, 5 hvilket gir en mørk løsning. Blandingene ble deretter avkjølt til romtemperatur natten over, hvilket resulterer i dannelsen av et utfelt, fast stoff.

Reaksjonsblandingen ble hellet i is-vann (130 g), og det resulterende suspenderte, faste stoffet ble oppsamlet ved filtrering. Det rå, faste produktet (72 g) ble vasket med aceton (80 ml), deretter omkrystallisert fra varm aceton (320 ml), hvilket gir et 10 krystallinsk, fast stoff som ble vasket med 50% vandig etanol, deretter tørket ved 40°C/40 mmHg, hvilket gir 2-metyl-4-(3-nitrobenzyliden)oksazol-5(4H)-on (49,0 g, 78%) som blekgule nåler.

$^1\text{H NMR}$ (δ , 250MHz, CDCl_3) = 2,47 (3H, s), 7,15 (1H, s), 7,63 (1H, dd, 8,2 & 7,6Hz), 8,27 (1H, d, 8,2Hz), 8,34 (1H, d, 7,6Hz), 9,02 (1H, s).

15

Trinn 2

2-metyl-4-(3-nitrobenzyliden)oksazol-5(4H)-on (52,0 g, 0,224 mol) ble blandet med 3M saltsyre (1,3 liter) og suspensjonen omrørt ved 100°C i 6 timer. Den resulterende suspensjonen ble omrørt ved romtemperatur natten over, og 20 deretter ble det suspenderte, faste stoffet oppsamlet ved filtrering, vasket med vann (2 x 40 ml), deretter tørket under vakuum, hvilket gir 2-hydroksy-3-(3-nitrofenyl)akrylsyre (29,3 g). De samlede filtratene og vaskevæskene ble ekstrahert med etylacetat (4 x 0,5 liter), og deretter ble de samlede organiske ekstrakter tørket over natriumsulfat og inndampet til tørrhet, hvilket gir en 25 ytterligere batch av 2-hydroksy-3-(3-nitrofenyl)akrylsyre (12,0 g). Det totale utbytte av 2-hydroksy-3-(3-nitrofenyl)akrylsyre ble 41,3 g (88%).

$^1\text{H NMR}$ (δ , 250MHz, $\text{DMSO}-d_6$) = 6,56 (1H, s), 7,64 (1H, t, 8Hz), 8,0-8,1 (2H, m), 8,78 (1H, s), 9,95 (1H, brs), 12,80 (1H, brs).

30

Trinn 3

Natriumetoksid (1,8 g, 26,4 mmol) ble porsjonsvis tilsatt ved 0°C til en omrørt løsning av 2-hydroksy-3-(3-nitrofenyl)akrylsyre (5,25 g, 25,0 mmol) i metanol (131 ml) for å danne en klar, blekgul løsning. Natrium-borhydrid (1 g, 26,4

mmol) ble deretter forsiktig tilsatt i to porsjoner og blandingen omrørt ved 5-10°C i 30 min. En liten mengde vann ble deretter tilsatt for å stanse reaksjonen og destruere eventuelt overskudd av NaBH₄. Metanolen ble fjernet under vakuum, hvilket gir et faststoff-residuum som ble knust med en 5:2-blanding av etylacetat og heptan (21 ml) og deretter ytterligere knust med 3% vandig metanol. Det resulterende, faste stoffet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum, hvilket gir 2-hydroksy-3-(3-nitrofenyl)propionsyre (3,0 g, 57%).

¹H NMR (δ, 250MHz, DMSO-d₆) = 2,97 (1H, dd, 14 & 8,2Hz), 3,15 (1H, dd, 14 & 4,2Hz), 4,23 (1H, dd, 8,2 & 4,2Hz), 7,58 (1H, t, 8Hz), 7,70 (1H, d, 8Hz), 8,0-8,15 (2H, m).

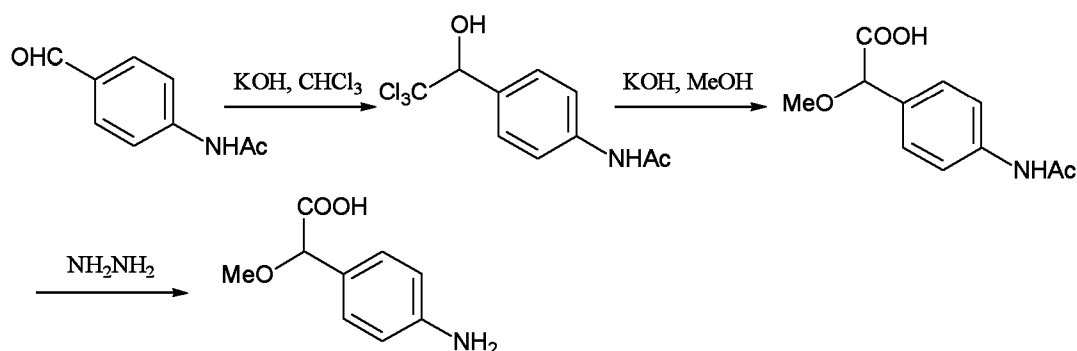
Trinn 4

En blanding av 2-hydroksy-3-(3-nitrofenyl)propionsyre (3,0 g, 14,2 mmol), metanol (129 ml) og 5% palladium-på-aktivert-trekull (600 mg, 2 mol%) ble hydrogenert ved 0,68 atm. (10 psi) H₂-atmosfære i 1 time. Blandingene ble deretter filtrert gjennom celitt, filterkaken vasket med metanol og filtratene inndampet ved 40°C under høyvakuum, hvilket gir produktet som et skumaktig, fast stoff. Dette ble oppløst i vann og løsningen frysetørket, hvilket gir (±)-2-hydroksy-3-(3'-aminofenyl)propansyre (2,6 g, 100%) som et hvitt, fast stoff.

¹H NMR (δ, 250MHz, DMSO-d₆) = 2,61 (1H, dd, 13,6 & 8,3Hz), 2,81 (1H, dd, 13,6 & 4,6Hz), 4,09 (1H, dd, 8,25 & 4,6Hz), 6,35-6,43 (2H, m), 6,45 (1H, d, 1H), 6,90 (1H, t, 7,6Hz).

EKSEMPEL 2

Metode for fremstilling av (±)-2-metoksy-2-(4'-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 23).



Trinn 1

En løsning av kaliumhydroksid (6,72 g, 0,12 mol) i metanol (25 ml) ble tilsatt til en avkjølt (-7°C) løsning av 4-acetamidobenzaldehyd (24,5 g, 0,15 mol) og kloroform (40,1 g, 0,33 mol) i DMF (100 ml) i en slik hastighet at temperaturen
5 holdes under -5°C. Blandingen fikk oppvarmes til 2°C over 5,5 time, og deretter ble den tilsatt til en blanding av 1M vandig HCl (200 ml) og toluen (200 ml) og omrørt natten over. Den resulterende 2-(4-acetamidofenyl)triklorkarbinol ble oppsamlet ved filtrering (29 g) og tørket med sug.

10 Trinn 2

Løsninger av 2-(4-acetamidofenyl)triklorkarbinol (14,0 g, 49,5 mmol) i metanol (330 ml) og kaliumhydroksid (13,8 g, 250 mmol) i metanol (150 ml) ble samlet og blandingen oppvarmet til 70-80°C i 3 timer. Etter avkjøling ble KCl-biproduktet fjernet ved filtrering, og deretter ga inndampning av filtratet under
15 vakuum 2-(4-acetamidofenyl)-2-metoksyeddiksyre (14 g) som et hvitt, fast stoff.

Trinn 3

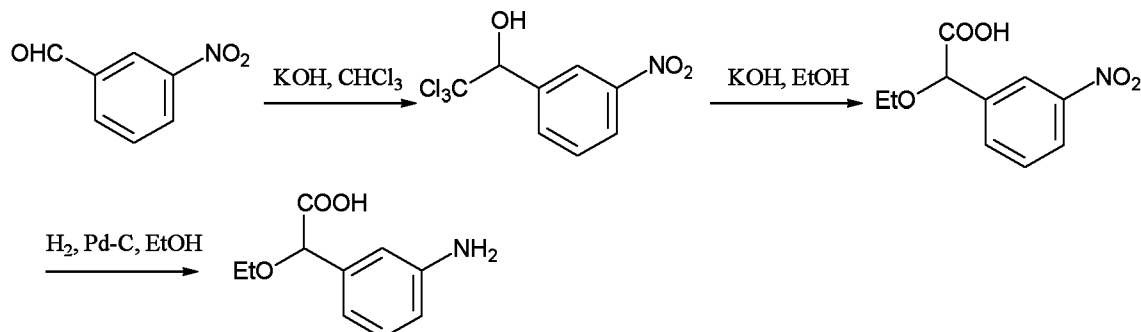
2-(4-acetamidofenyl)-2-metoksyeddiksyre (7,1 g, 31,8 mmol) ble oppvarmet med hydrazin-monohydrat (40 ml) i 16 timer, avkjølt og inndampet under vakuum.
20 Den resulterende gjenværende olje ble renset ved silikagel-kolonnekromatografi (elueringsmiddel 20-40% metanol i CH₂Cl₂), hvilket gir 2,6 g (45%) (±)-2-metoksy-2-(4'-aminofenyl)eddiksyre.

¹H NMR (δ, 250MHz, CD₃OD): 3,27 (3H, s), 4,43 (1H, s), 6,66 (2H, d, 8,5Hz), 7,18 (2H, d, 8,2Hz).

EKSEMPEL 3

Metode for fremstilling av (±)-2-etoksy- 2-(3'-aminofenyl)eddiksyre

(forbindelse 32).

5 Trinn 1

3-nitrobenzaldehyd (25 g, 165 mmol) og kloroform (30 ml, 375 mmol) ble oppløst i DMF (100 ml) og løsningen avkjølt til mellom -5 °C og -10 °C. En nylaget løsning av kaliumhydroksid (7,5 g, 134 mmol) i metanol (22,5 ml) ble langsomt tilsatt slik at den indre temperatur ble holdt på <-5 °C. Reaksjonsblandingen ble holdt på <-5°C i 2 timer, og deretter behandlet med en avkjølt blanding av vandig saltsyre (225 ml) i toluen (225 ml). Løsningen fikk langsomt oppvarmes til romtemperatur natten over i isbadet. Etter denne tid ble toluenlaget separert og det vandige laget videre ekstrahert med toluen. De samlede organiske lag ble vasket med vann (2 x 225 ml), 5% natriumbikarbonat-løsning (225 ml) og vann (225 ml). Løsningen ble tørket (MgSO₄), filtrert og inndampet under vakuum, hvilket gir 2-(3-nitrofenyl)triklorkarbinol som et oransje, fast stoff (42 g, 155 mmol, 94 %).

¹H NMR (δ, 250MHz, CDCl₃): 3,7 (br. s, 1H), 5,4 (s, 1H), 7,6 (t, 1H, 8,0Hz), 8,0 (d, 1H, 8,0Hz), 8,3 (d, 1H, 8,0Hz), 8,5 (s, 1H).

20

Trinn 2

2-(3-nitrofenyl)triklorkarbinol (20 g, 74 mmol) ble oppløst i absolutt etanol (74 ml), og en løsning av kaliumhydroksid (20,7 g, 369 mmol) i absolutt etanol (150 ml) ble langsomt tilsatt. Løsningen ble oppvarmet ved tilbakesløp i 4 timer, fikk avkjøles og ble deretter inndampet under vakuum. Residuet ble surgjort med fortynnet saltsyre og produktet ekstrahert i etylacetat (x 3). De samlede organiske

25

lag ble tørket (MgSO_4), filtrert og inndampet under vakuum, hvilket gir 2-etoksy-2-(3-nitrofenyl)eddiksyre som et brunt, fast stoff (6,4 g, 28,4 mmol, 38%).

^1H NMR (δ , 250MHz, CD_3OD): 1,0 (t, 3H, 7,0Hz), 3,6 (m, 1H), 3,7 (m, 1H), 5,1 (s, 1H), 7,7 (t, 1H, 7,8Hz), 7,9 (d, 1H, 7,8Hz), 8,3 (d, 1H, 7,8Hz), 8,4 (s, 1H).

5

Trinn 3

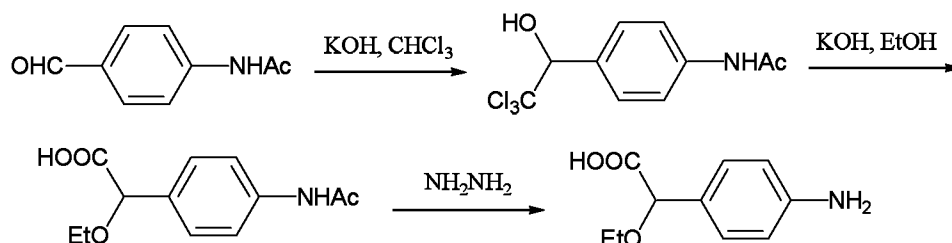
2-etoksy-2-(3-nitrofenyl)eddiksyre (6,4 g, 28,4 mmol) ble oppløst i absolutt etanol (500 ml), 5% palladium-på-karbon (våt) (1,5 g) tilsatt og blandingen hydrogenert ved 4,08 atm. (60 psi) natten over. Suspensjonen ble filtrert gjennom celitt og filtratet inndampet, hvilket gir ($\pm$)-2-etoksy-2-(3'-aminofenyl)eddiksyre (3,0 g, 15,3 mmol, 54%) som et brunt, fast stoff.

^1H NMR (δ , 250MHz, CD_3OD): 1,2 (t, 3 H, $J = 6,9$ Hz), 3,5 (m, 1 H), 3,6 (m, 1 H), 4,6 (s, 1 H), 6,7 (d, 1 H, $J = 7,6$ Hz), 6,9 (m, 2 H), 7,0 (t, 1 H, $J = 7,6$ Hz).

15

EKSEMPEL 4

Metode for fremstilling av ($\pm$)-2-etoksy-2-(4'-aminofenyl)eddiksyre (forbindelse 33).



20

Trinn 1

Se "forbindelse 23, trinn 1".

Trinn 2

Løsninger av 2-(4-acetamidofenyl)triklorkarbinol (14,0 g, 49,5 mmol) i etanol (400 ml) og kaliumhydroksid (13,8 g, 250 mmol) i etanol (150 ml) ble samlet og blandingen oppvarmet ved 70-80°C i 2,5 time. Blandingen ble avkjølt, filtrert for å fjerne KCl-biproduktet og inndampet under vakuum, hvilket gir 2-(4-acetamido-fenyl)-2-etoksyeddiksyre (14 g) som et gult, fast stoff.

25

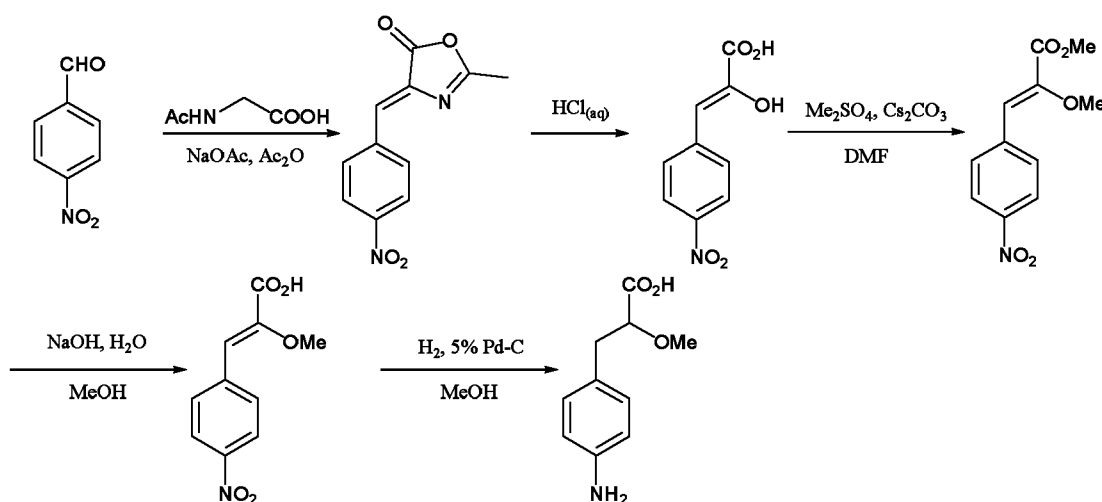
Trinn 3

2-(4-acetamidofenyl)-2-etoksyeddiksyre (7,54 g, 31,8 mmol) ble oppvarmet med hydrazin-monohydrat (40 ml) i 16 timer, blandingen avkjølt og deretter inndampet under vakuum. Den gjenværende olje ble deretter rensset ved silika-kolonnekromatografi (20-40% metanol i CH₂Cl₂ elueringsmiddel), hvilket gir (±)-2-etoksy-2-(4'-aminofenyl)eddiksyre (2,3 g, 37%) som et hvitt skum.

¹H NMR (δ, 250MHz, CD₃OD): 1,18 (3H, t, 7,0Hz), 4,42 (1H, qd, 7,3, 2,4Hz), 4,56 (2H, s), 5,50 (1H, qd, 7,0, 2,1Hz), 6,66 (2H, d, 8,7Hz), 7,20 (2H, d, 8,5Hz)

EKSEMPEL 5

Metode for fremstilling av (±)-2-metoksy-3-(4'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 34).

Trinn 1

4-nitrobenzaldehyd (53,7 g, 0,356 mol), N-acetylglycin (49,9 g, 0,427 mol) og natriumacetat (37,9 g, 0,463 mol) ble blandet med eddiksyreanhydrid (168 g, 1,78 mol) og den resulterende blandingen oppvarmet med omrøring til 120°C i 6 timer, hvilket gir en mørk suspensjon. Blandingens ble deretter avkjølt til romtemperatur natten over, hvilket resulterer i dannelsen av et utfelt, fast stoff. Reaksjonsblandingens ble hellet i is-vann (150 g) og det resulterende suspenderte, faste stoff oppsamlet ved filtrering. Det rå, faste produktet ble vasket med aceton (100 ml), deretter omkrystallisert fra varm aceton (650 ml), hvilket gir et krystallinsk, fast stoff som ble vasket med 50% vandig etanol, deretter tørket under

vakuum, hvilket gir 2-metyl-4-(4-nitrobenzyliden)oksazol-5(4H)-on (55,0 g, 66%) som blekgule nåler. Krystallisasjons-moderlutene og vaskevæskene ble samlet og inndampet, hvilket gir et faststoff-residuum som ble omkrystallisert fra aceton, hvilket gir en andre batch av 2-metyl-4-(4-nitrobenzyliden)oksazol-5(4H)-on (8 g, 10%). Det samlede utbytte av 2-metyl-4-(4-nitrobenzyliden)oksazol-5(4H)-on var 63 g (76%)

$^1\text{H NMR}$ (δ , 250MHz, CDCl_3) = 2,47 (3H, s), 7,14 (1H, s), 8,28 (4H, m).

Trinn 2

2-metyl-4-(4-nitrobenzyliden)oksazol-5(4H)-on (63,0 g, 0,272 mol) ble blandet med 3M saltsyre (1,2 liter) og suspensjonen omrørt ved 100°C i 6 timer. Den resulterende suspensjonen ble omrørt ved romtemperatur natten over, og deretter ble det suspenderte, faste stoffet oppsamlet ved filtrering, vasket med vann (2 x 50 ml), deretter tørket under vakuum, hvilket gir 2-hydroksy-3-(4-nitrofenyl)akrylsyre (46,6 g, 81%). De samlede filtrater og vaskevæsker ble ekstrahert med etylacetat (4 x 0,5 liter) og deretter ble de samlede organiske ekstrakter tørket over natriumsulfat og inndampet til tørrhet, hvilket gir en ytterligere batch av 2-hydroksy-3-(4-nitrofenyl)akrylsyre (0,8 g, 1%). Det totale utbytte av 2-hydroksy-3-(4-nitrofenyl) akrylsyre var 47,4 g (82%).

$^1\text{H NMR}$ (δ , 250MHz, $\text{DMSO}-d_6$) = 6,52 (1H, s), 8,01 (2H, d, 8,5Hz), 8,22 (2H, d, 8,5Hz).

Trinn 3

En blanding av 2-hydroksy-3-(4-nitrofenyl)akrylsyre (15 g, 71,7 mmol), cesiumkarbonat (56 g, 172,1 mmol) og dimetylsulfat (14,2 ml, 150,6 mmol) i DMF (270 ml) ble omrørt ved romtemperatur i 18 timer. Vann (220 ml) og etylacetat (150 ml) ble tilsatt og lagene separert. Det vandige laget ble videre ekstrahert med etylacetat (4 x 100 ml), og deretter ble de samlede organiske lag vasket med vann (6 x 100 ml), saltvann (2 x 120 ml) og inndampet til halvt volum. Heptan ble tilsatt (70 ml) og blandingen inndampet til 200 ml volum. Det resulterende utfelte, faste stoff ble oppsamlet ved filtrering, vasket med heptan (2 x 100 ml) og tørket med sug på filteret, hvilket gir metyl-2-metoksy-3-(4-nitrofenyl)akrylat som et gyldenbrunt, fast stoff (9,2 g, 54% utbytte) inneholdende spor av heptan.

^1H NMR (δ , 250MHz, DMSO- d_6): 3,82 (s, 3-H, OMe), 3,84 (s, 3-H, OMe), 7,02 (s, 1-H, CH=), 8,04 (d, 2-H, CH aromatisk), 8,26 (d, 2-H, CH aromatisk).

Trinn 4

5 Metyl-2-metoksy-3-(4-nitrofenyl)akrylat (7,8 g, 32,8 mmol) ble oppløst i IMS (156 ml). En løsning av NaOH (1,44 g, 36,1 mmol) i vann (78 ml) ble tilsatt og blandingen omrørt ved omgivelsestemperatur (18°C) i 18 timer.

Reaksjonsblandingen ble surgjort med 1M HCl (120 ml) og det resulterende utfelte, faste stoff oppsamlet ved filtrering, vasket med vann (2 x 100 ml) og delvis
10 tørket med sug på filteret i 30 minutter, fulgt av vakuum-ovnstørking ved 18°C i 18 timer. Således ble 2-metoksy-3-(4-nitrofenyl)akrylsyre oppnådd som et gyldenbrunt, fast stoff inneholdende noe krystallisasjonsvann (6,7 g, 91%).

^1H NMR (δ , 250MHz, DMSO- d_6): 3,83 (s, 3-H, OMe), 6,97 (s, 1-H, CH=), 8,02 (d, 2-H, CH aromatisk), 8,25 (d, 2-H, CH aromatisk).

15

Trinn 5

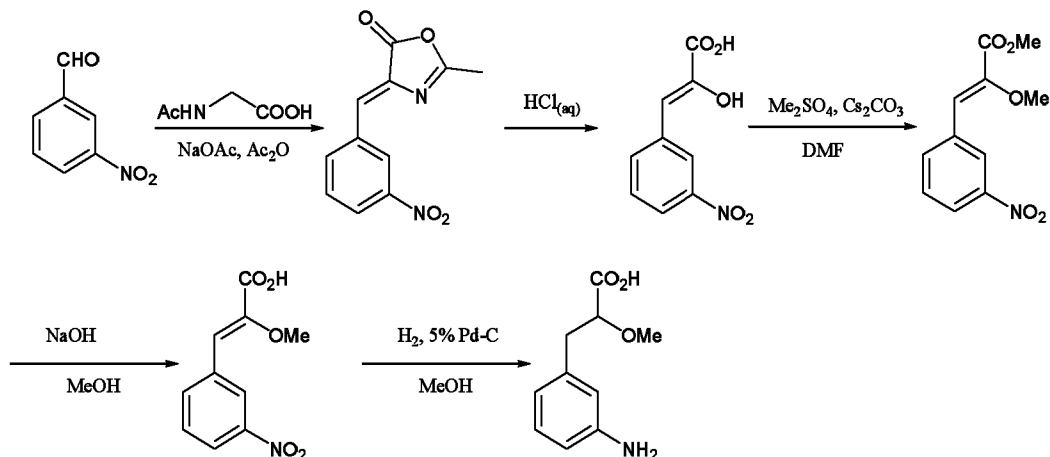
2-metoksy-3-(4-nitrofenyl)akrylsyre (6,7 g, 30 mmol) ble tatt opp i metanol (700 ml) og THF (300 ml), og 10% Pd-på-C (våt basis) (0,67 g) ble tilsatt.

Blandingen ble hydrogenert ved 3,06 atm. (45 psi) i 43 min., fulgt av gjentatte
20 etterfyllinger til 3,06-3,27 atm. (45-48 psi) hver time i 3 timer, og til slutt 3,27 atm. (48 psi) i 18 timer. Den resulterende suspensjonen ble filtrert gjennom GF/F-filterpapir og filterresiduet vasket med MeOH (200 ml). Filtratene ble inndampet til et gråhvitt, fast stoff. Det faste stoffet ble oppslemmet i IMS (75 ml) ved 20°C i 1,5 time, filtrert og vasket med IMS/heptan (1:2) (20 ml) og tørket på filteret i 1 time,
25 hvilket gir ($\pm$)-2-metoksy-3-(4'-aminofenyl)propionsyre som et gråhvitt, fast stoff (5,1 g, 88% utbytte) .

^1H NMR (δ , 250MHz, DMSO- d_6): 2,74 (m, 2-H), 3,23 (s, 3-H, CH₃), 3,80 (dd, 1-H, CH), 6,47 (d, 2-H, aromatisk), 6,87 (d, 2-H, aromatisk).

EKSEMPEL 6

Metode for fremstilling av ($\pm$)-2-metoksy-3-(3'-aminofenyl)propionsyre
(forbindelse 35).



5

Trinn 1 & 2

Som for forbindelse 20.

Trinn 3

- 10 Dimetylsulfat (13,23 g, 105 mmol) ble tilsatt til en omrørt blanding av 2-hydroksy-3-(3-nitrofenyl)akrylsyre (10,5 g, 50,0 mmol) og cesiumkarbonat (39,1 g, 120 mmol) i DMF (105 ml), hvilket gir en klar, blekgul blanding som ble omrørt ved romtemperatur natten over. Den resulterende mørkerøde suspensjonen ble inndampet under vakuum og residuet fordelt mellom vann (100 ml) og diklormetan
- 15 (150 ml). Det organiske laget ble separert, ytterligere vasket med vann (2 x 100 ml), tørket over natriumsulfat og filtrert gjennom silikagel. Den resulterende gule løsningen ble inndampet til tørrhet under vakuum, hvilket gir metyl-2-metoksy-3-(3-nitrofenyl)akrylat som et gult, fast stoff (8,1 g, 67%).

^1H NMR (δ , 250MHz, DMSO- d_6) = 3,81 (3H, s), 3,83 (3H, s), 7,08 (1H, s),
20 7,71 (1H, dd, 7,9 & 8,2Hz), 8,10-8,22 (2H, m), 8,66 (1H, s).

Trinn 4

- En løsning av kaliumhydroksid (2,0 g, 35,9 mol) i vann (25 ml) ble tilsatt til en omrørt løsning av metyl-2-metoksy-3-(3-nitrofenyl)akrylat (8,1 g, 34,2 mmol) i
- 25 metanol (150 ml), og den resulterende blandingen ble omrørt ved romtemperatur

natten over. En ytterligere mengde av KOH (0,5 g, 8,9 mmol) i vann (10 ml) ble tilsatt og blandingen oppvarmet til 80°C i 1 time. Metanolen ble deretter inndampet under vakuum og residuet fortynnet med vann (200 ml). Løsningen ble vasket med diklormetan (2 x 100 ml), filtrert gjennom et sjikt av celitt og deretter surgjort ved
5 tilsetning av 3M HCl til pH 3. Blandingen ble avkjølt i 18 timer, og deretter ble det utfelte faste stoffet oppsamlet ved filtrering, vasket med vann (3 x 30 ml) og tørket under vakuum ved 40°C, hvilket gir 2-metoksy-3-(3-nitrofenyl)akrylsyre som et gult, fast stoff (6,4 g, 84%).

^1H NMR (δ , 250MHz, DMSO- d_6) = 3,82 (3H, s), 7,02 (1H, s), 7,70 (1H, t,
10 7,93Hz), 8,10-8,22 (2H, m), 8,65 (1H, s).

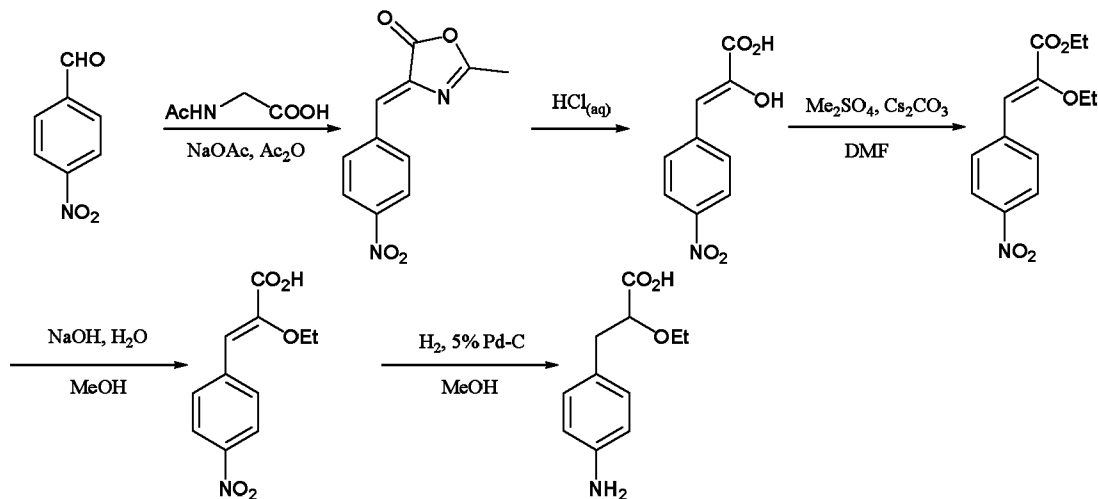
Trinn 5

En blanding av 2-metoksy-3-(3-nitrofenyl)akrylsyre (3,4 g, 15,25 mmol), metanol (340 ml) og 5% palladium-på-aktivert-trekull (1,36 g, 4 mol%) ble
15 hydrogenert ved 0,82-2,45 atm. (12-36 psi) H_2 -atmosfære i 1,5 time. Blandingene ble deretter filtrert gjennom celitt, filterkaken vasket med metanol og filtratene inndampet ved 40°C under vakuum, hvilket gir produktet som et skumaktig, fast stoff. Dette ble oppløst i vann (100 ml) og løsningen frysetørket, hvilket gir ($\pm$)-2-metoksy-3-(3'-aminofenyl)propionsyre (2,6 g, 100%) som et gråhvitt, fast stoff.

20 ^1H NMR (δ , 250MHz, DMSO- d_6) = 2,68 (1H, dd, 13,9 & 8Hz), 2,80 (1H, dd, 13,9 & 4,6Hz), 3,21 (3H, s), 3,84 (1H, dd, 8,25 & 4,6Hz), 6,36-6,44 (3H, m), 6,91 (1H, dd, 7,6Hz).

EKSEMPEL 7

Metode for fremstilling av ($\pm$)-2-etoksy 3-(4'-aminofenyl)propionsyre
(forbindelse 39). Enantiomer-spaltning (figur 12).



5

Trinn 1 & 2

Som for forbindelse 34, trinn 1 & 2.

Trinn 3

- 10 2-hydroksy-3-(4-nitrofenyl)akrylsyre (20 g, 95,6 mmol) ble suspendert i DMF (200 ml). Cs_2CO_3 (74,9 g, 229,9 mmol) og dietylsulfat (26,3 ml, 201 mmol) ble tilsatt og oppløsning ble observert. Etter omrøring i 18 timer ved 18°C ble vann (350 ml) og etylacetat (250 ml) tilsatt og lagene separert. Det vandige laget ble ytterligere ekstrahert med etylacetat (5 x 200 ml), og deretter ble de samlede
- 15 organiske lag vasket med vann (2 x 200 ml), saltvann (2 x 200 ml) og tørket over magnesiumsulfat. De organiske faser ble inndampet til tørrhet, hvilket gir etyl-2-etoksy-3-(4-nitrofenyl)akrylat som et oransje, fast stoff inneholdende 3,6 vekt % DMF (27,6 g våt, >100% utbytte).

- ^1H NMR (δ , 250MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 1,32 (t, 6-H, 2 x CH_2CH_3), 4,13 (q, 2-H, CH_2CH_3), 4,30 (q, 2-H, CH_2CH_3), 6,99 (s, 1-H, $\text{CH}=\text{CH}$), 8,06 (d, 2-H, CH aromatisk), 8,26 (d, 2-H, CH aromatisk).
- 20

Trinn 4

- Etyl-2-etoksy-3-(4-nitrofenyl)akrylat inneholdende 3,6vekt% DMF (26,07 g
- 25 korrigert, 98,3 mmol) ble oppløst i IMS (500 ml) og en løsning av NaOH (1,44 g,

36,1 mmol) i vann (260 ml) tilsatt. Den resulterende blandingen ble omrørt ved omgivelsestemperatur i 18 timer, deretter surgjort med 1M HCl (120 ml) og det resulterende faste stoffet oppsamlet ved filtrering, vasket med vann (2 x 100 ml) og tørket med sug på filteret i 30 min., fulgt av vakuum-ovnstørking ved 18°C i 18 timer. 2-etoksy-3-(4-nitrofenyl)akrylsyre ble således oppnådd som et oransje, fast stoff inneholdende krystallisasjonsvann (18,4 g, 79%).

^1H NMR (δ , 250MHz, DMSO- d_6): 1,31 (t, 3-H, Me), 4,11 (q, 2-H, CH_2), 6,98 (s, 1-H, $\text{CH}=\text{C}$), 8,05 (d, 2-H, CH aromatisk), 8,25 (d, 2-H, CH aromatisk).

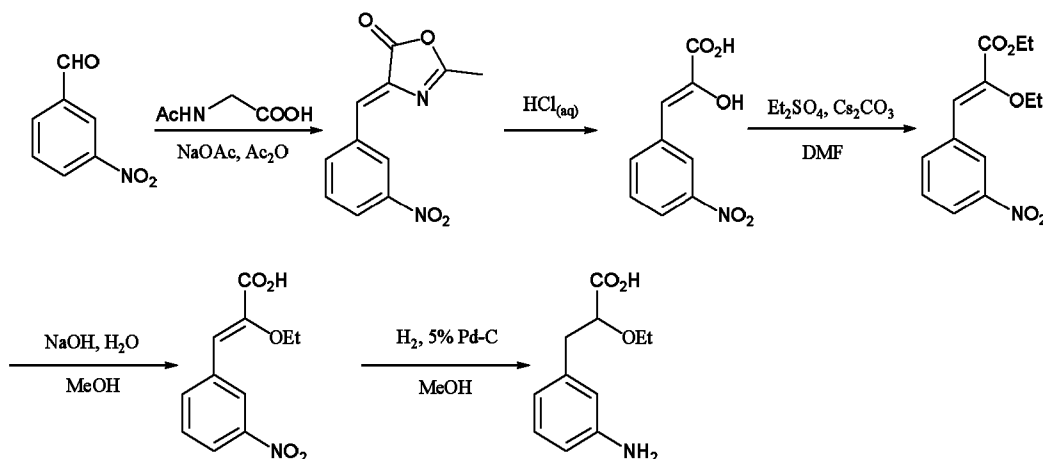
10 Trinn 5

2-etoksy-3-(4-nitrofenyl)akrylsyre (18,4 g våt, ca. 77,5 mmol) ble oppløst i MeOH (1,1 liter) og 10% Pd-på-C (våt basis) (1,84 g) ble tilsatt. Blandingene ble hydrogenert ved 0,82 atm. (12 psi) i 10 min., fulgt av gjentatt etterfylling til 1,36-1,91 atm. (20-28 psi) hver 10-20 min. i 5 timer, deretter 3,13 atm. (46 psi) i 18 timer. Blandingene ble filtrert gjennom GF/F-papir og residuet oppslemmet i IMS (100 ml), filtrert, vasket med heptan (100 ml) og tørket med sug på filteret. Således ble ($\pm$)-2-etoksy 3-(4'-aminofenyl)propionsyre oppnådd som et gråhvitt, fast stoff (11,2 g, 69%).

^1H NMR (δ , 250MHz, DMSO- d_6): 1,03 (t, 3-H, CH_3), 2,73 (m, 2-H,), 3,29 (m, 1H), 3,46 (m, 1H), 3,80 (dd, 1-H), 6,50 (d, 2-H), 6,87 (d, 2-H).

EKSEMPEL 8

Metode for fremstilling av ($\pm$)-2-etoksy-3-(3'-aminofenyl)propansyre (forbindelse 40).



Trinn 1 & 2Som for forbindelse 20, trinn 1 & 2.5 Trinn 3

Dietylsulfat (12 g, 78,2 mmol) ble tilsatt til en omrørt blanding av 2-hydroksy-3-(3-nitrofenyl)akrylsyre (6,1 g, 30,0 mmol) og cesiumkarbonat (29,3 g, 90 mmol) i DMF (61 ml), hvilket gir en klar, blekgul blanding som ble omrørt ved romtemperatur natten over. Den resulterende mørkerøde suspensjonen ble
 10 oppvarmet til 50°C i 4 timer, deretter inndampet under vakuum og residuet fordelt mellom vann (100 ml) og diklormetan (150 ml). Det organiske laget ble separert, videre vasket med vann (2 x 100 ml), tørket over natriumsulfat og filtrert gjennom en silikagel-pute. Den resulterende gule løsningen ble inndampet til tørrhet under vakuum, hvilket gir etyl-2-etoksy-3-(3-nitrofenyl)akrylat som et gult, fast stoff (5,6
 15 g, 72%).

Trinn 4

En løsning av kaliumhydroksid (1,3 g, 22,2 mol) i vann (20 ml) ble tilsatt til en omrørt løsning av etyl-2-etoksy-3-(3-nitrofenyl)akrylat (5,6 g, 21,1 mmol) i
 20 metanol (100 ml) og den resulterende blandingen oppvarmet til tilbakebøl natten over. Metanolen ble deretter inndampet under vakuum og residuet fortynnet med vann (150 ml). Løsningen ble vasket med diklormetan (2 x 80 ml), filtrert gjennom et sjikt av celitt og deretter surgjort ved tilsetning av 3M HCl til pH 3. Blandingen ble avkjølt i 18 timer, og deretter ble det utfelte faste stoffet oppsamlet ved
 25 filtrering, vasket med vann (3 x 30 ml) og tørket under vakuum ved 40°C. Det resulterende faste stoffet ble omkrystallisert fra etylacetat og heptan, hvilket gir 2-etoksy-3-(3-nitrofenyl)akrylsyre som et gult, fast stoff (3,06 g, 61%).

^1H NMR (δ , 250MHz, DMSO- d_6) = 1,34 (3H, t, 7Hz), 4,10 (2H, q, 7Hz), 7,04 (1H, s), 7,69 (1H, t, 7,93Hz), 8,07-8,22 (2H, m), 8,80 (1H, m), 13,25 (1H, brs).

30

Trinn 5

En blanding av 2-etoksy-3-(3-nitrofenyl)akrylsyre (3,06 g, 12,9 mmol), metanol (150 ml) og 5% palladium-på-aktivert-trekull (0,60 g, 2 mol%) ble

hydrogenert ved 0,82-2,04 atm. (12-30 psi) H₂-atmosfære i 2 timer. Blandingen ble deretter filtrert gjennom celitt, filterkaken vasket med metanol og filtratene inndampet ved 40°C under vakuum, hvilket gir produktet som et skumaktig, fast stoff. Dette ble oppløst i vann (100 ml) og løsningen frysetørket, hvilket gir (±)-2-
 5 etoksy-3-(3'-aminofenyl)propansyre (2,7 g, 100%) som et gråhvitt, fast stoff.

¹H NMR (δ, 250MHz, DMSO-d₆) = 1,07 (3H, t, 7Hz), 2,6-2,85 (2H, m), 3,20-3,38 (1H, m), 3,40-3,60 (1H, m), 3,92 (1H, dd, 5 & 7,7Hz), 6,3-6,45 (3H, m), 7,01 (1H, t, 7,6Hz).

10 EKSEMPEL 9

Molekylær modellering.

Molekylære modelleringsstudier ble utført ved anvendelse av SYBYL programvare, versjon 6.9.1 (Tripos Associates Inc, St Louis, MO) kjørt på Silicon Graphics-arbeidsstasjoner. En tre-dimensjonal modell av zwitterion-formen av 5-
 15 ASA ble bygget ut fra et standardfragment-bibliotek, og dens geometri ble deretter optimalisert ved anvendelse av Tripos-kraftfeltet ("force field") (3). Siden pK_a for forbindelsene fortsatt er ukjent, ble SPARC-online-kalkulatoren anvendt for å bestemme enhetene ("the species") som opptrer ved fysiologisk pH (7,4) (<http://ibmlc2.chem.uga.edu/sparc/indeks.cfm>). En tre-dimensjonal modell av
 20 ioniserte forbindelser ble bygget ut fra et standardfragment-bibliotek, og dens geometri ble deretter optimalisert ved anvendelse av Tripos-kraftfeltet (3), omfattende det elektrostatiske energitrinn ("term") beregnet ut fra Gasteiger og Hückel-elementærladninger. Powell-metoden, som er tilgjengelig i Maximin2-prosedyren, ble anvendt for energi-minimalisering inntil gradientverdien var mindre
 25 enn 0,001 kcal/mol.Å.

Strukturen til human PPAR_γ-ligand-bindingsdomenet ble oppnådd fra dets sammensatte røntgen-krystallstruktur med tesaglitazar (AZ 242), tilgjengelig i RCSB Protein Data Bank (1I7I) (4,5). Fleksibel kobling av forbindelsene til reseptorens aktive sete ble utført ved anvendelse av GOLD programvare (6). De
 30 mest stabile koblingsmodellene ble valgt i henhold til den høyest bedømte konformasjon forutsagt ved hjelp av GoldScore- (6) og X-Score-bedømningsfunksjonene (7). Kompleksene ble energi-minimalisert ved anvendelse av Powell-metoden, tilgjengelig i Maximin2-prosedyren, med Tripos-kraftfeltet og en

dielektrisitetskonstant på 4,0 inntil gradientverdien nådde 0,01 kcal/mol.Å. Herde ("Anneal")-funksjonen ble anvendt, og definerer rundt liganden en varm region (10 Å) og en interessant region (15Å).

5 RESULTATER

Den molekylære modelleringen av reseptorkoblings-studier forutsa at S-enantiomeren generelt er mer aktiv enn R-enantiomeren, selv om R-enantiomeren også viser aktivitet. Dette fenomenet med at én enantiomer er mer biologisk aktiv, er velkjent.

10 Som en konsekvens tilveiebringer foreliggende oppfinnelse en metode for å oppløse forbindelsene til enantiomerer. Spaltningsmetoden for forbindelse 32 er vist skjematisk på figur 11.

Uten å ønske å være bundet av teori, er det antatt at S-enantiomerene av forbindelsene vil gi høyere aktivitet. Resultatene av koblings-studiene er vist på 15 figurer 5-10.

EKSEMPEL 10

20

RESULTATER

Aktivering av PPAR γ resulterer i en kaskade av reaksjoner, hvilket fører til binding til spesifikke DNA-sekvenser elementer betegnet peroksisom-proliferator-responselementer (PPRE) (7-9).

25 Transkripsjonell PPAR γ -aktivitet ble undersøkt ved hjelp av transiente transfeksjoner av epitelceller med renilla-luciferase- og PPRE-plasmidene. For å bedømme om de nye molekylene har mer effektivitet enn 5-ASA med hensyn til stimulering av PPAR γ -aktivering, ble disse molekylene testet i en konsentrasjon på 1 mM. Effekten av de nye molekylene i en konsentrasjon på 1 mM ble 30 sammenlignet med 5-ASA og rosiglitazon anvendt som positive kontroller i en optimal konsentrasjon på henholdsvis 30 mM og 10⁻⁵ M. Celler ble stimulert med de forskjellige molekylene i 24 timer.

Analyse av PPAR γ -aktivitet i transfekterte HT-29-celler viste at de nye molekylerne 34, 39, 35 og 40 ved 1 mM økte rapportørgen-aktiviteten henholdsvis 4,8 $\pm$ 0,71; 2,73 $\pm$ 0,31; 2,64 $\pm$ 0,46; 3,4 $\pm$ 0,97 ganger, og oppviser derved en aktivitet lik, eller overlegen, den til 5-ASA ved 30 mM (2,8 $\pm$ 0,7) og rosiglitazon ved 10⁻⁵M (3,17 $\pm$ 0,29).

Figur 2 representerer alle resultatene oppnådd for hvert molekyl bedømt i 2 eller 3 forsøk utført in triplo. Reproduserbarheten for de forskjellige forsøkene er god, og lik data beskrevet i litteraturen.

Denne studien tillot oss å identifisere 4 nye molekyler som har 30 til 50 ganger mer effektivitet enn 5-ASA når det gjelder aktivering av PPAR γ .

EKSEMPEL 11

Kolonkreftcellevekst.

Følgende substanser (dvs. 20, 34, 35, 39 og 40) ble testet med hensyn til sin evne til å modulere kolonkreftcellevekst. For dette formål ble tre humane kolonkarsinom-cellelinjer (dvs. HT-29, HT-115 og DLD-1) anvendt. Disse celletypene ble valgt på basis av cyklooksigenase-2- (COX-2) ekspresjon. Faktisk uttrykker HT-115-celler en biologisk aktiv COX-2, HT-29-celler uttrykker en ikke-funksjonell COX-2-isoform, og DLD-1 er COX-2-manglende celler. Det er antatt at disse molekyler også er aktive overfor celler som ikke uttrykker COX-, og således kan molekylerne ifølge foreliggende oppfinnelse anvendes i celler som ikke uttrykker COX-2, for det formål å behandle tumorer, og andre anvendelser som her beskrevet.

HT-29- og DLD-1-celler ble dyrket i henholdsvis McCoy- og RPMI1640-medium, supplert med 10% føtalt bovint serum (FBS), 1% penicillin/streptomycin (P/S) og 50 mg/ml gentamycin. HT-115 ble dyrket i DMEM-medium supplert med 15% FBS og 1% P/S. Cellene ble holdt i en fuktet inkubator ved 37°C, i nærvær av 5% CO₂.

For cellevekstforsøk ble enkeltcelle-suspensjoner platet i en mengde av 2 x 10³ celler/brønn (4 x 10³ celler/brønn for HT115) i 96-brønners dyrkningsskåler i medium inneholdende 0,5% FBS, og fikk feste seg. De cellene som ikke hadde festet seg ble deretter fjernet, og friskt medium inneholdende 0,5% FBS ble tilsatt til hver brønn. Celler ble dyrket i nærvær eller fravær av de spesifiserte

substanser. Hver substans ble oppløst som en 25 mM stamløsning i dyrkningsmedium inneholdende 0,5% FBS, og pH i hver stamløsning ble justert til 7,4, hvis nødvendig, med NaOH. Substanser ble anvendt i en endelig konsentrasjon i området fra 0,5 til 10 mM.

- 5 Celleproliferasjon ble bestemt ved å måle innføring av 5-brom-2'-deoksyuridin (BrdU) i DNA ved anvendelse av et kommersielt tilgjengelig celleproliferasjonssett (Roche Diagnostics, Monza, Italia). BrdU ble tilsatt til cellekulturene i løpet av de siste 6 timene av inkuberingen, og nivået av BrdU-positive celler ble bedømt etter 48 timers dyrkning ved hjelp av enzym-bundet
- 10 immunosorbent-forsøk (ELISA). Optisk densitet (OD) ble bestemt ved 450 nm ved anvendelse av en ELISA-leser. Forsøk ble utført in triplo, og resultatene er angitt som gjennomsnitt $\pm$ standard avvik (SD).

RESULTATER

- 15 Forbindelsene var forskjellige med hensyn til sin evne til å hemme kolonkreftcellevekst. Resultatene er oppsummert i tabell 1, hvor prosentdelen hemning av vekst av DLD-1-celler ved hjelp av de spesifiserte forbindelsene er vist. Substans 20 viser en markert anti-proliferativ effekt på en dose-avhengig måte, i hver av de tre cellelinjene testet (figurer 3 & 4). Mer enn 90%
- 20 celleveksthemming ble sett når forbindelser ble anvendt i en endelig konsentrasjon på 10 mM. Evnen som forbindelse 20 har til signifikant å hemme cellevekst, ble sett når anvendt i en endelig konsentrasjon på 5 eller 10 mM.

Forbindelse 34 og 39 reduserte celleveksten lett når anvendt i høye doser (10 mM) (figur 4), men forskjellen mellom gruppene var ikke statistisk signifikant.

- 25 Likeledes ble det ikke sett noen hemning i cellevekst i kulturer tilsatt substansene 35 og 40 (se tabell 1).

KONKLUSJONER

- 30 Dette først settet av eksempler ifølge oppfinnelsen (eksempel 10) viser evnen som fire optimaliserte molekyler 34, 39, 35 og 40, i en konsentrasjon på 1mM, har til å øke PPAR γ -aktiviteten i transfekterte HT-29-celler, og viser en aktivitet som er lik, eller overlegen, den til 5-ASA ved 30 mM og rosiglitazon ved 10⁻⁵M.

Det andre sett av eksempler ifølge oppfinnelsen (eksempel 11) viser at forbindelsene påvirker hemningen av veksten av kolonkreftcellelinjene, HT-29, HT-115 og DLD1, i varierende grad. Forbindelsene var forskjellige med hensyn til sin evne til å hemme kolonkreftcellevekst. Substans 20 oppviser en markert anti-
 5 proliferativ effekt på cellelinjer testet.

Disse molekyler ifølge foreliggende oppfinnelse er også aktive overfor celler som ikke uttrykker COX-2, og således kan molekylerne ifølge foreliggende oppfinnelse anvendes i celler som ikke uttrykker COX-2, for det formål å behandle tumorer, og andre anvendelser som her beskrevet.

10

SAMLET KONKLUSJON.

De syntetiserte, høyest rangerte forbindelsene, indikert ut fra modelleringsstudier, viser alle en aktivitet lik/bedre enn den til mesalazin.

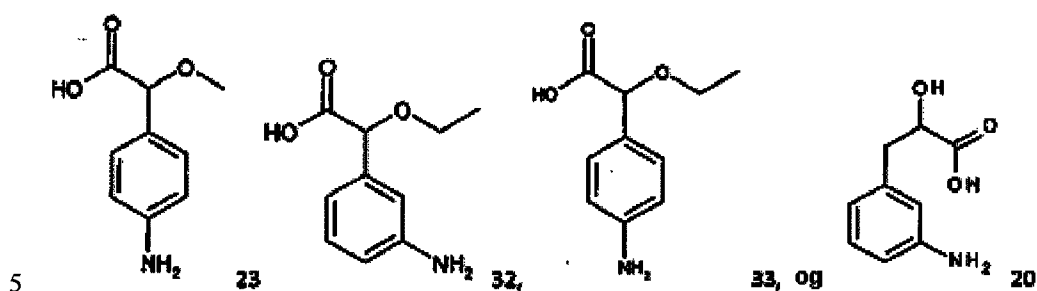
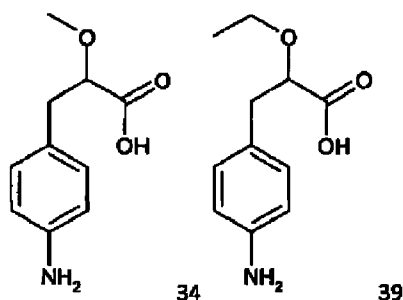
15 REFERANSER:

1. Dubuquoy, L., E.A. Jansson, S. Deeb, S. Rakotobe, M. Karoui, J.F. Colombel, J. Auwerx, S. Pettersson og P. Desreumaux. 2003. Impaired expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 124:1265-1276.
- 20 2. Rousseaux C, Lefebvre B, Dubuquoy L, Lefebvre P, Romano O, Auwerx J, Metzger D, Wahli W, Desvergne B, Naccari GC, Chavatte P, Farce A, Bulois P, Cortot A, Colombel JF, Desreumaux P. Intestinal anti-inflammatory effect of 5-amino salicylic acid is dependent on PPAR γ . *J Exp Med* 2005; 201: 1205-15.
- 25 3. Clark, M.C.R.D.I.V.O., N. 1989. Validation of the General Purpose Tripos 5.2 Field. *J. Comput Chem.* 10:982-1012.
4. Gampe, R.T., Jr., V.G. Montana, M.H. Lambert, A.B. Miller, R.K. Bledsoe, M.V. Milburn, S.A. Kliewer, T.M. Willson og H.E. Xu. 2000. Asymmetry in the PPAR γ /RXR α crystal structure reveals the molecular basis of
 30 heterodimerization among nuclear receptors. *Mol Cell* 5:545-555.
5. Jones, G., P. Willett, R.C. Glen, A.R. Leach og R. Taylor. 1997. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J Mol Biol* 267:727-748.

6. Wang, R., L. Lai og S. Wang. 2002. Further development and validation of empirical scoring functions for structure-based binding affinity prediction. *J Comput Aided Mol Des* 16:11-26.
7. Westin, S., R. Kurokawa, R.T. Nolte, G.B. Wisely, E.M. McInerney, D.W. Rose, M.V. Milburn, M.G. Rosenfeld og C.K. Glass. 1998. Interactions controlling the assembly of nuclear-receptor heterodimers and co-activators. *Nature* 395:199-202.
8. Mangelsdorf, D.J., C. Thummel, M. Beato, P. Herrlich, G. Schutz, K. Umesono, B. Blumberg, P. Kastner, M. Mark, P. Chambon, og et al. 1995. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell* 83:835-839.
9. Misra, P., E.D. Owuor, W. Li, S. Yu, C. Qi, K. Meyer, Y.J. Zhu, M.S. Rao, A.N. Kong og J.K. Reddy. 2002. Phosphorylation of transcriptional coactivator peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-binding protein (PBP). Stimulation of transcriptional regulation by mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem* 277:48745-48754. Epub 42002 Sep 48727.

Patentkrav

1. Forbindelse og salter derav, valgt fra gruppen bestående af:



2. Forbindelse ifølge krav 1 i enantiomert ren R eller S form.

10 3. Forbindelse valgt fra gruppen bestående af:

(±)-2-hydroksy-3-(3'-aminofenyl) propionsyre (forbindelse 20)

(±)-2-metoksy-2-(4'-aminofenyl) eddiksyre (forbindelse 23)

(±)-2-etoksy-2-(3'-aminofenyl) eddiksyre (forbindelse 32)

(±)-2-etoksy-2-(4'-aminofenyl) eddiksyre (forbindelse 33)

15 (±)-2-metoksy-3-(4'-aminofenyl) propionsyre (forbindelse 34)

(±)-2-etoksy-3-(4'-aminofenyl) propionsyre (forbindelse 39) og

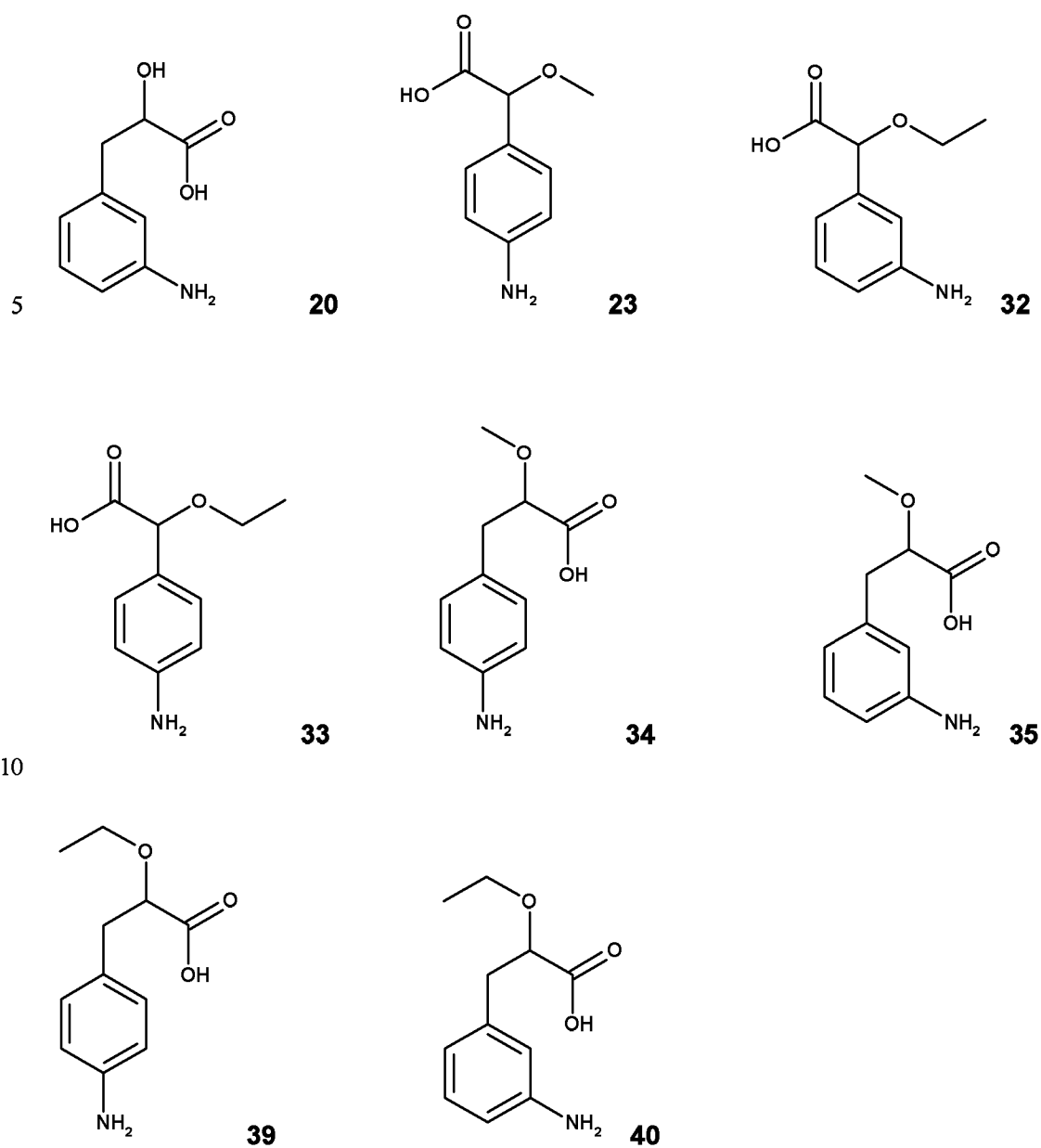
(±)-2-etoksy-3-(3'-aminofenyl) propionsyre (forbindelse 40) for anvendelse på det medisinske området.

4. Forbindelse 2-metoksy-3-(3'-aminofenyl)propionsyre eller ($\pm$)-2-hydroksy-3-(4'-aminofenyl)propionsyre (forbindelse 21) for anvendelse på det medisinske området.
- 5 5. Forbindelse for anvendelse ifølge krav 3 eller krav 4 hvor det medisinske området er behandling av en kronisk inflammatorisk sykdom eller en tumor som uttrykker PPAR og EGF.
6. Forbindelse for anvendelse ifølge krav 5 hvor tumorene er valgt fra gruppen
10 bestående av spiserør, mage, bukspyttkjertel, kolon, prostata, bryst, livmor og livmor vedheng, nyre og lungetumorer.
7. Forbindelse for anvendelse ifølge krav 6 hvor forbindelsen er ($\pm$)-2-metoksy-3-(4'-aminofenyl) propionsyre (forbindelse 34) eller ($\pm$)-2-etoksy-3-(4'-aminofenyl) propionsyre (forbindelse 39)
15
8. Forbindelse for anvendelse ifølge krav 5 hvor den kroniske inflammatoriske sykdommen er Crohns sykdom eller ulcerøs rektokolitt.
- 20 9. Forbindelse for anvendelse ifølge krav 8 hvor forbindelsen er ($\pm$)-2-metoksy-3-(4'-aminofenyl) propionsyre (forbindelse 34) ($\pm$)-2-etoksy-3-(4'-aminofenyl) propionsyre (forbindelse 39) eller ($\pm$)-2-etoksy-3-(3'-aminofenyl) propionsyre (forbindelse 40)
10. Forbindelse for anvendelse ifølge hvilket som helst av kravene 3 til 9 hvor
25 anvendelse av forbindelsen er i en blanding hvor én enantiomer er i overskudd sammenlignet med den andre, i hvilket som helst forhold.
11. Farmasøytisk preparat omfattende én eller flere forbindelser ifølge kravene 1 til 3 som aktivt prinsipp i kombinasjon med én eller flere farmasøytisk
30 akseptable tilsetningsmidler eller adjuvantia.

TABELL 1: % DLD-1-cellehemning ved hjelp av graderte doser (0,5-10 mM) av de spesifiserte forbindelser.

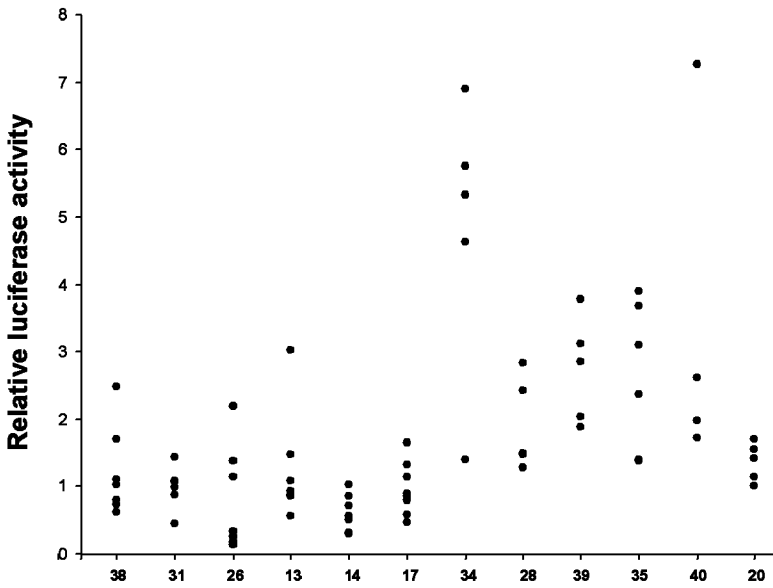
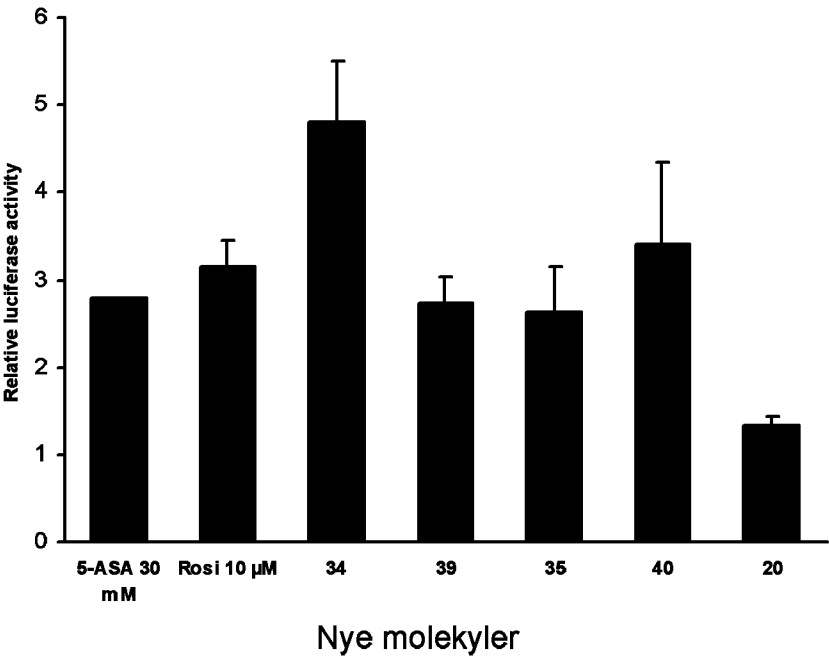
mM	% veksthemning				
	0,5	1	2,5	5	10
2-20	4,3	12,8	16,2	25,6	47
2-34	0	3,6	1,8	3,6	15,1
2-35	0	3,2	1,6	6,4	4,8
2-39	1,6	3,3	8,2	11,5	12,8
2-40	2	0	0	0	2,7

2/13

Figur 1: Strukturen til forbindelser 20, 23, 32, 33, 34, 35, 39, 40.

3/13

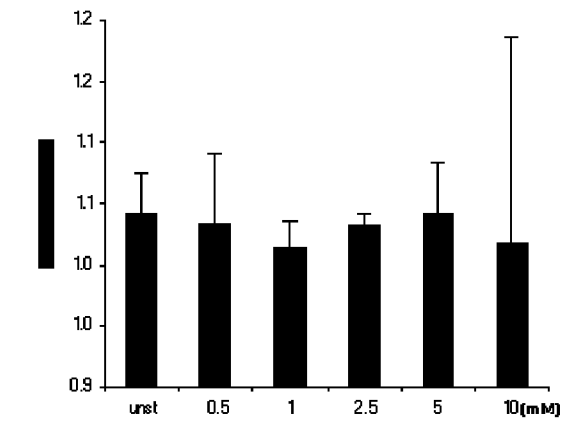
Figur 2: Analyse av PPAR γ -aktivitet.



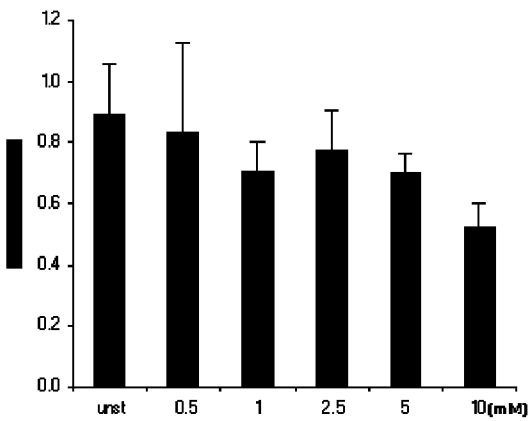
Figur 3: Proliferasjon av humane kolonkarsinom-cellelinjer HT29, HT115 og DLD1 etter behandling med 0,5-10 mM av ny forbindelse 20 i 48 timer.

Forbindelse 20

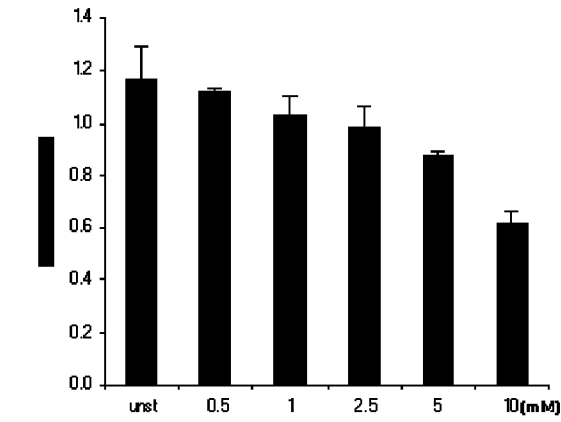
HT115



HT29

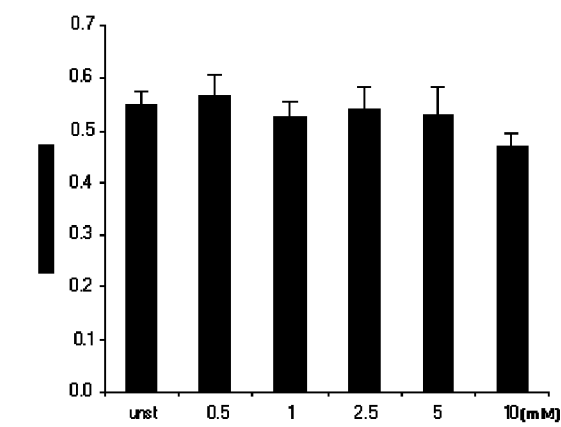


DLD1

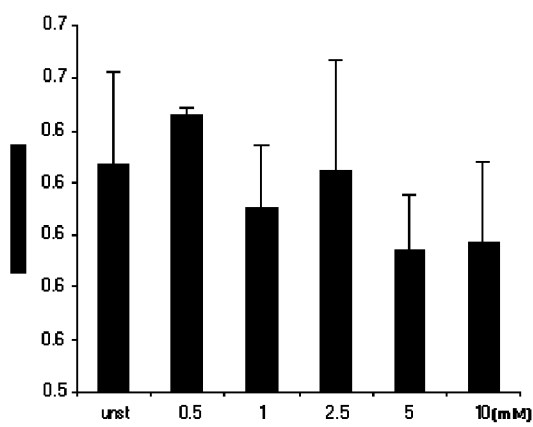


Figur 4: Proliferasjon av humane kolonkarsinom-cellelinjer HT29, HT115 og DLD1 etter behandling med 0,5-10 mM av nye forbindelser 34, 35, 39, 40 i 48 timer.

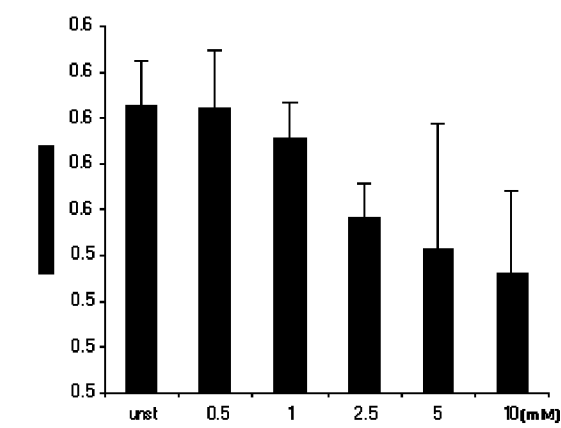
**34
DLD1**



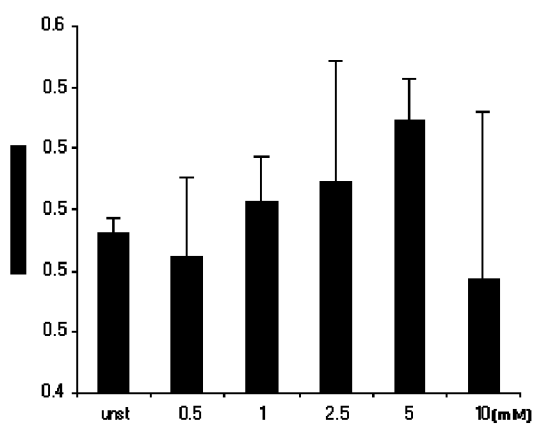
**35
DLD1**



**39
DLD1**

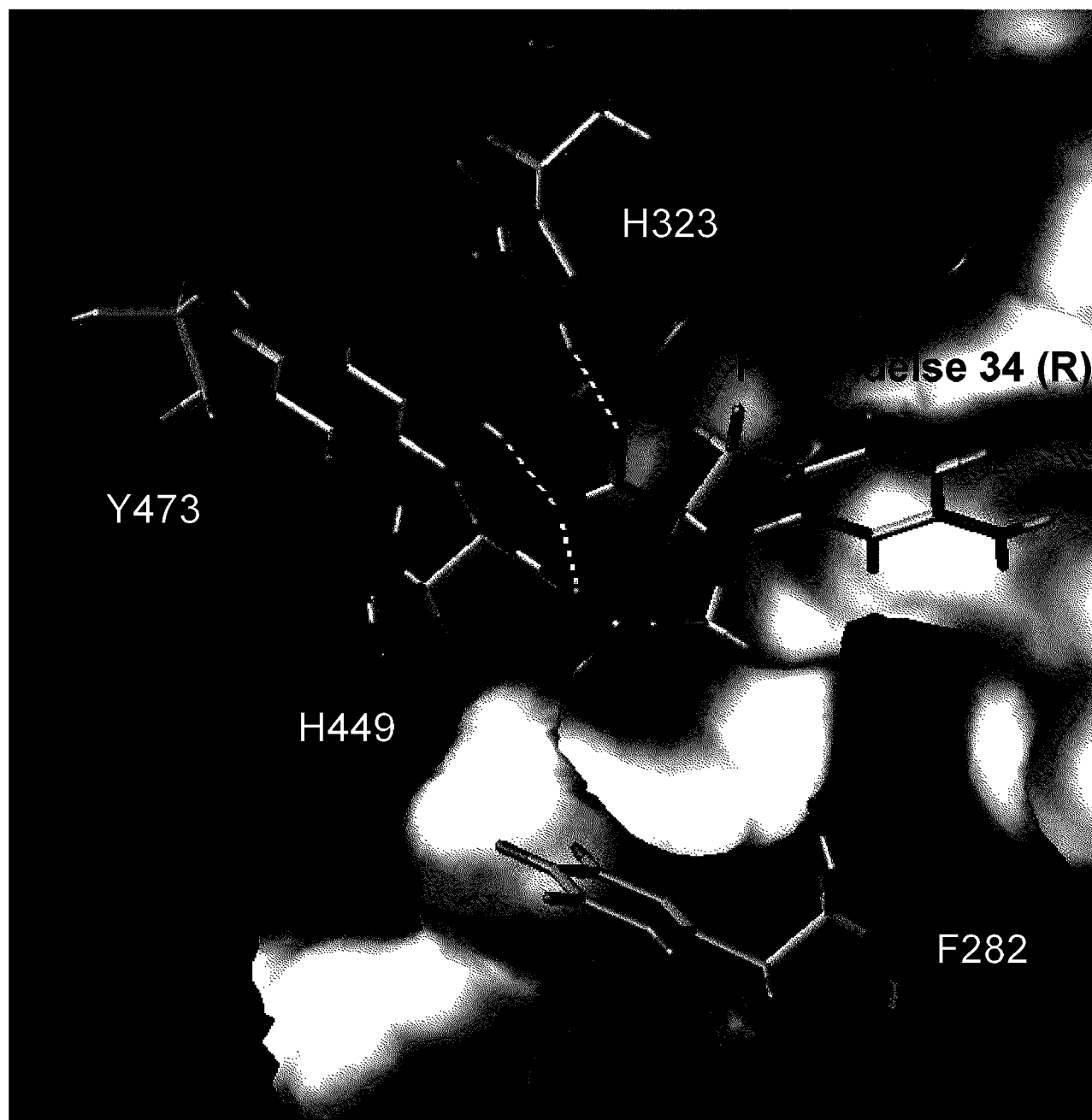


**40
DLD1**

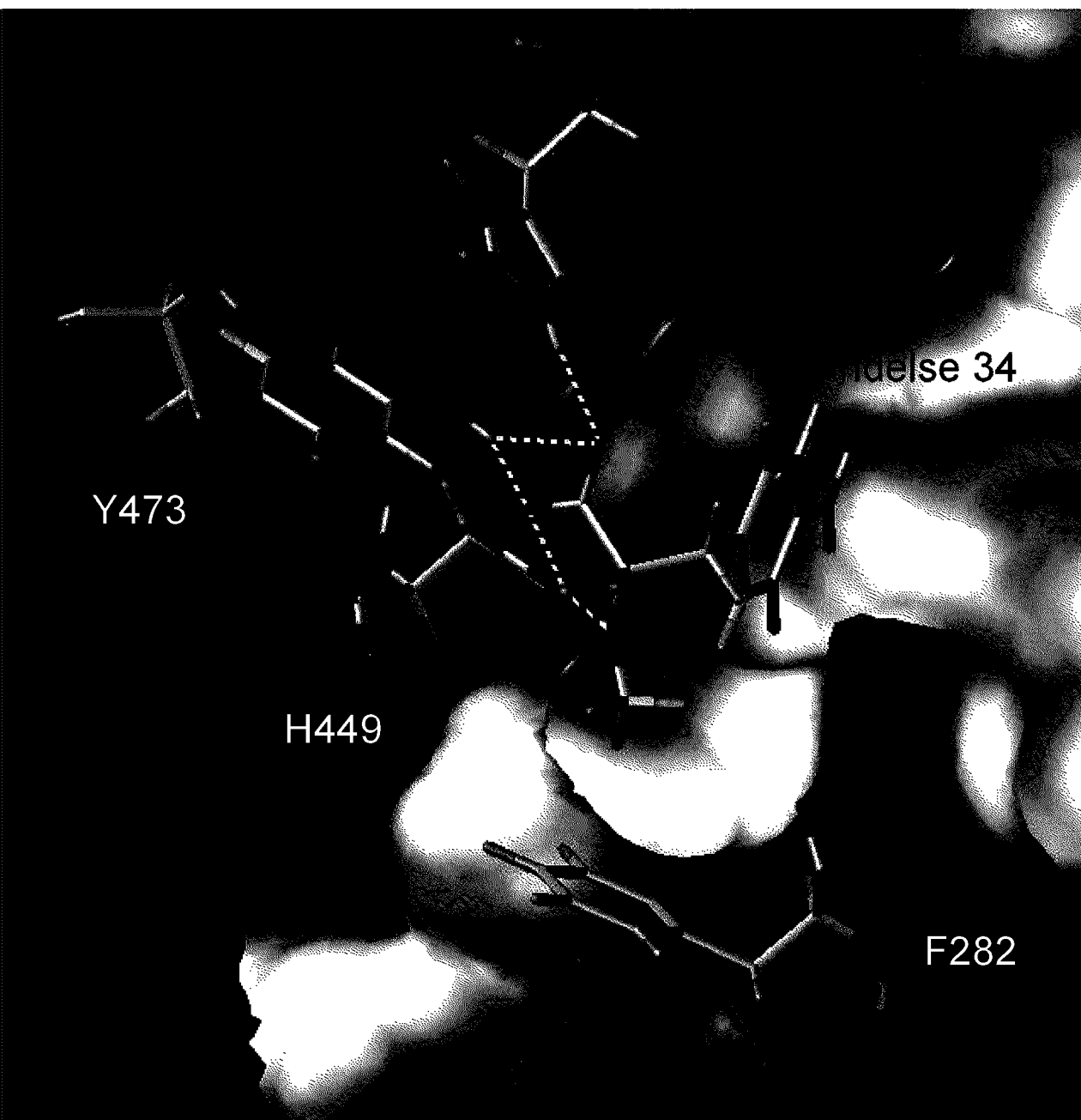


6/13

**Figur 5: Kobling av (R)-forbindelse 34 til PPAPy-reseptor
(merking av aminosyre-residuer og hydrogenbinding er vist).**

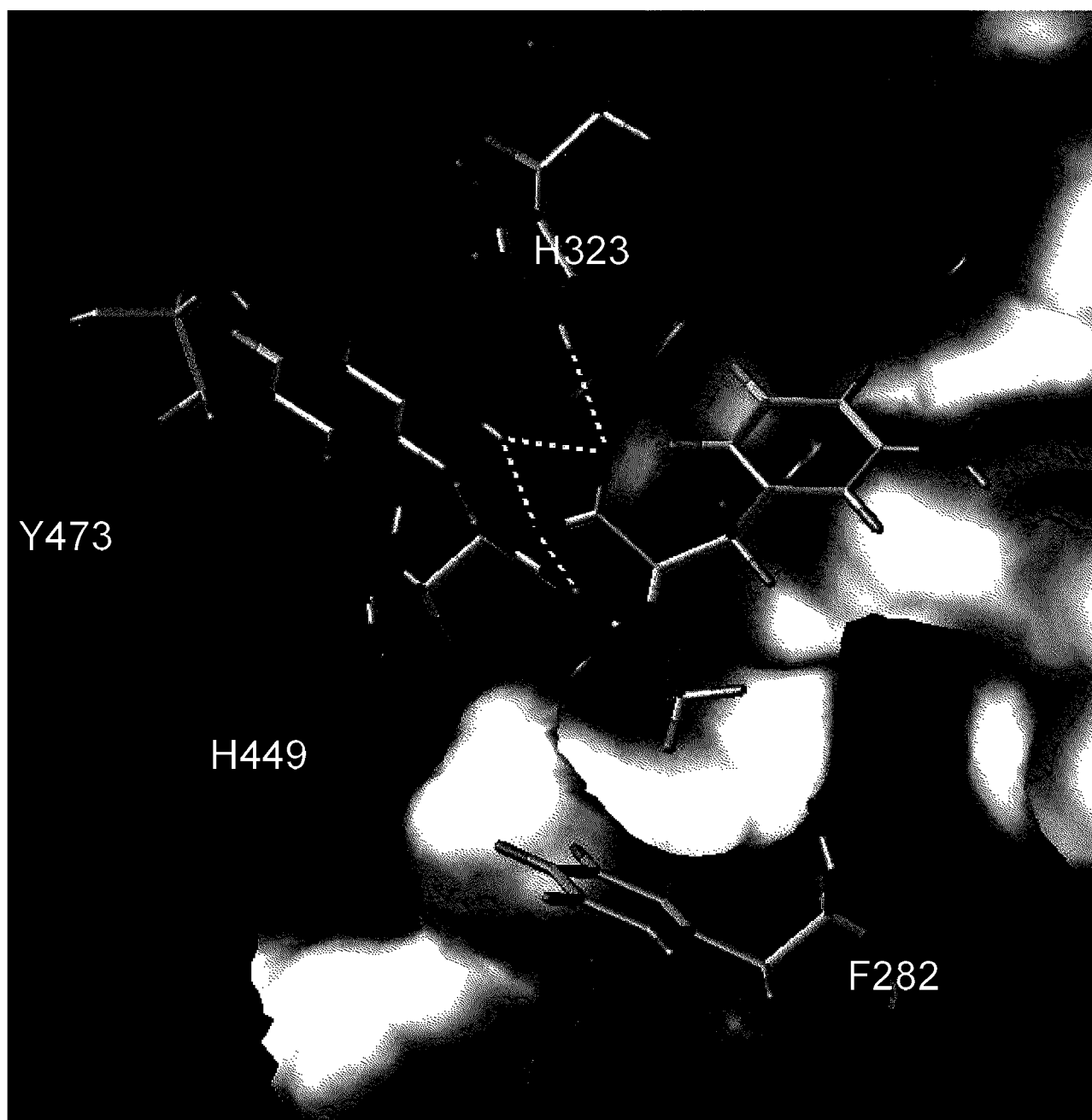


**Figur 6: Kobling av (S)-forbindelse 34 til PPAPy-reseptor
(merking av aminosyre-residuer og hydrogenbinding er vist).**



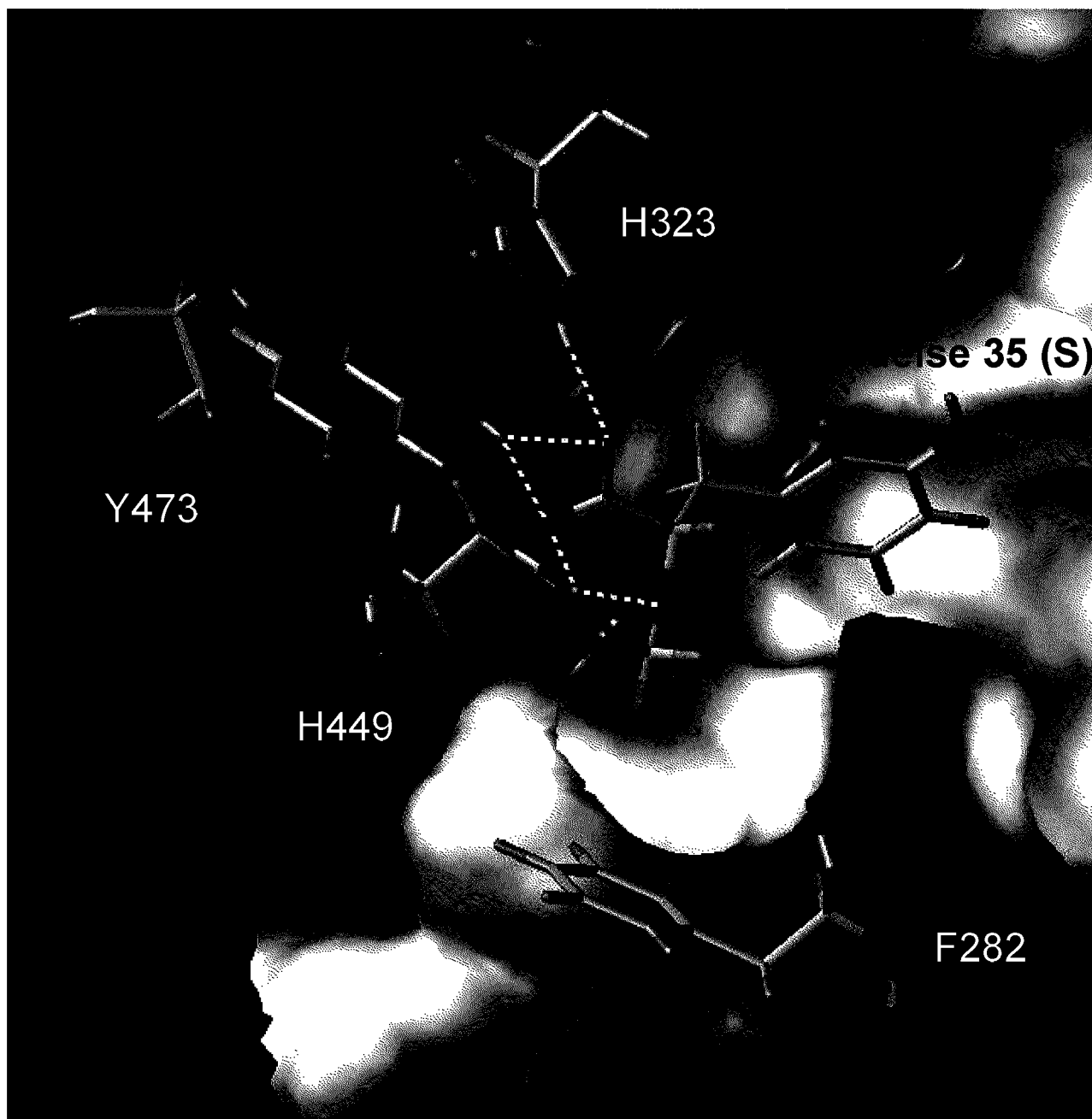
8/13

**Figur 7: Kobling av (R)-forbindelse 35 til PPAPy-reseptor
(merking av aminosyre-residuer og hydrogenbinding er vist).**



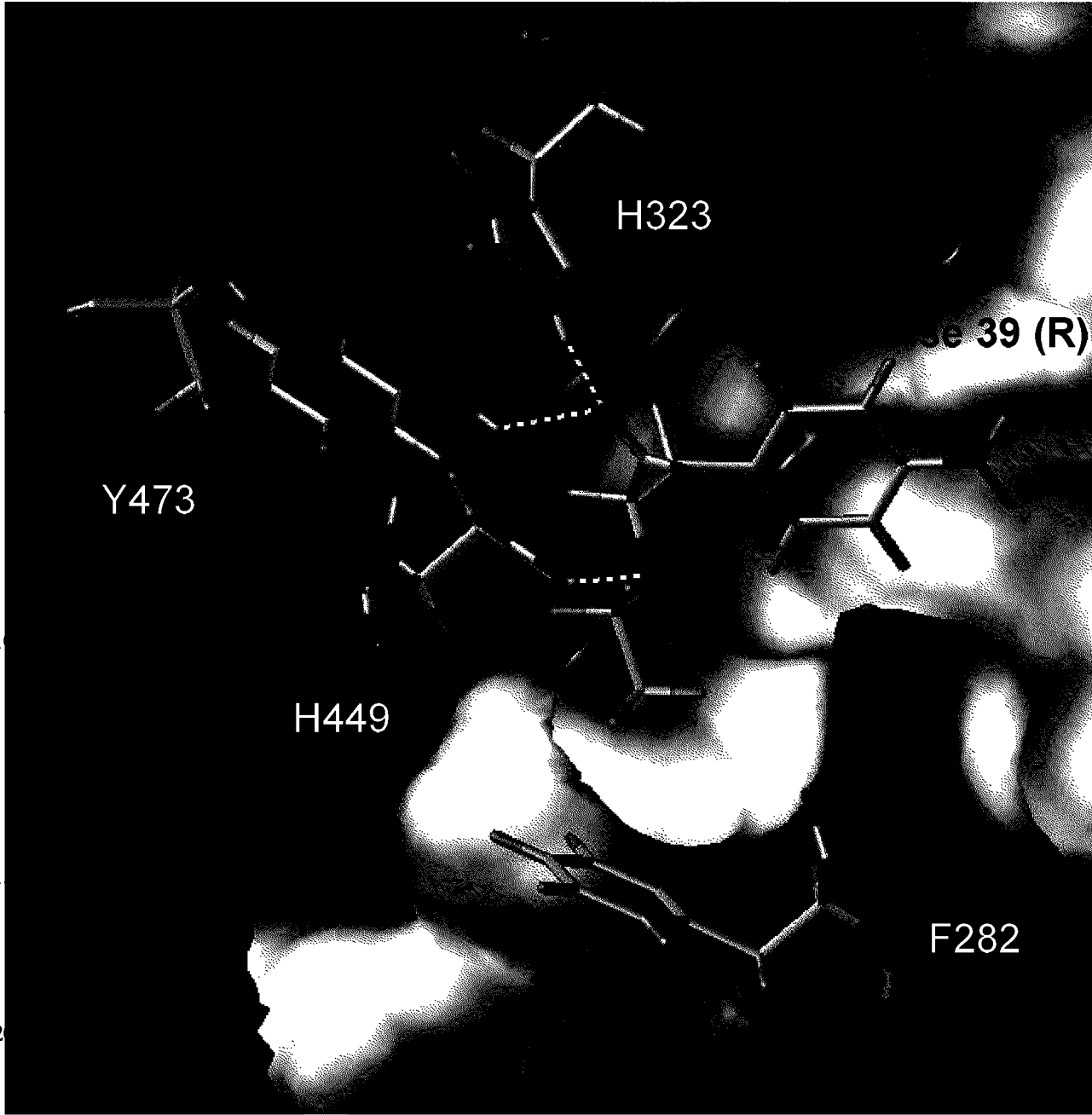
9/13

**Figur 8: Kobling av (S)-forbindelse 35 til PPAPy-reseptor
(merking av aminosyre-residuer og hydrogenbinding er vist).**



**Figur 9: Kobling av (R)-forbindelse 39 til PPAPy-reseptor
(merking av aminosyre-residuer og hydrogenbinding er vist).**

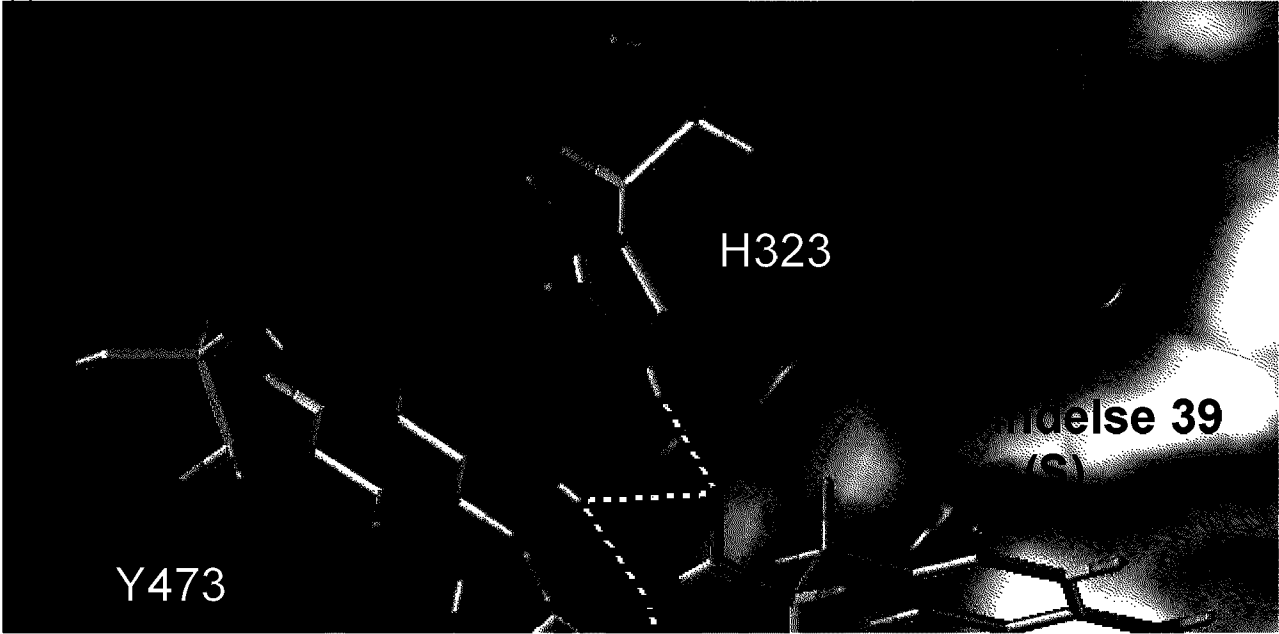
10/13



Figur 10:
Kobling av (S)-forbindelse 39 til PPAP γ -reseptor (merking av aminosyre-residuer og hydrogenbinding

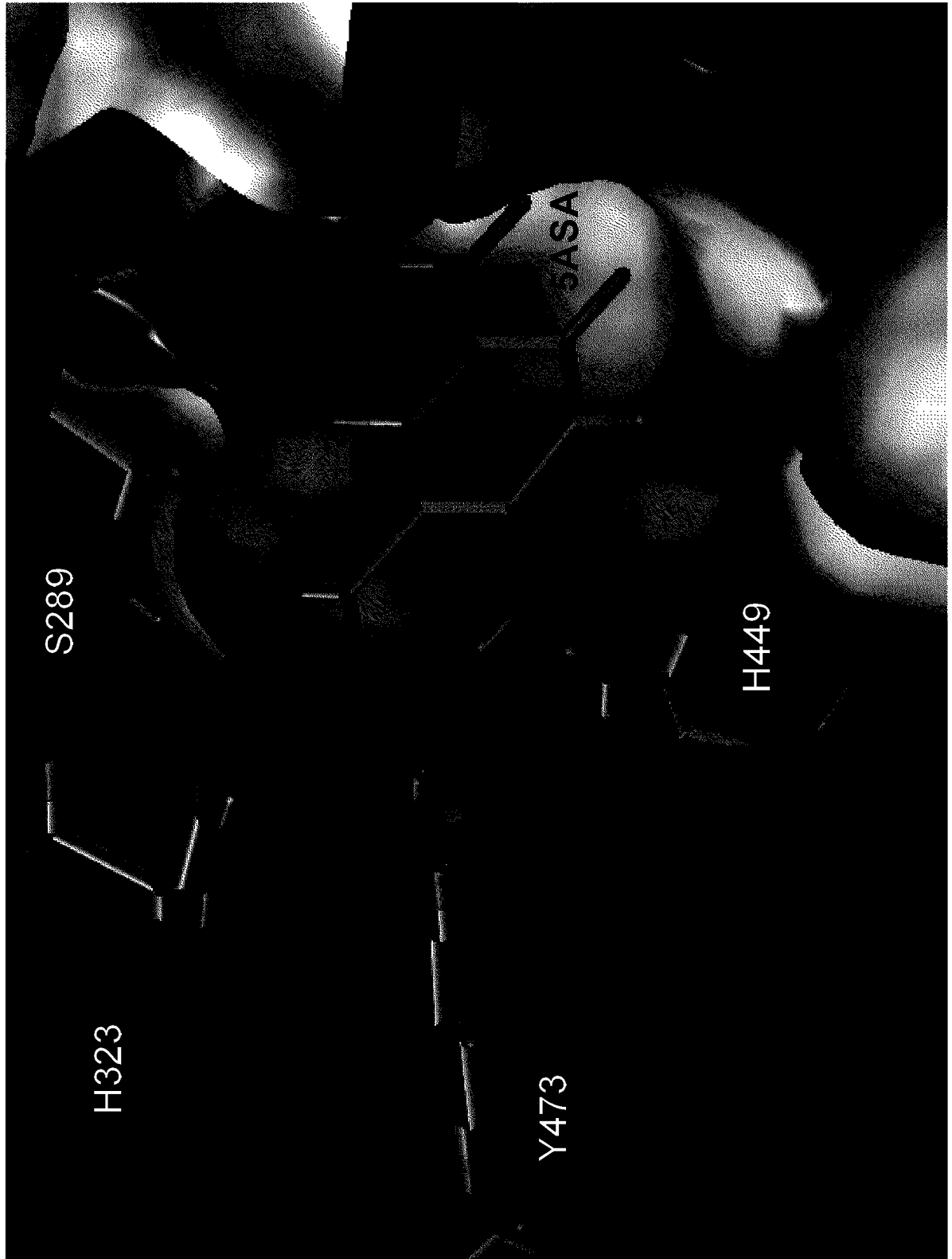
er vist).

25



12/13

**Figur 11: Kobling av 5-aminosalicylsyre (mesalamin) til PPAPy-reseptor
(merking av aminosyre-residuer er vist).**



13/13

Figur 12: Syntetisk og påfølgende enantiomert spaltningskema for forbindelse 32.