



(12) **PATENT**

(11) **342242**

(13) **B1**

NORGE

(19) NO

(51) Int Cl.

C07D 209/44 (2006.01)

C07C 65/05 (2006.01)

C07C 69/02 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01)

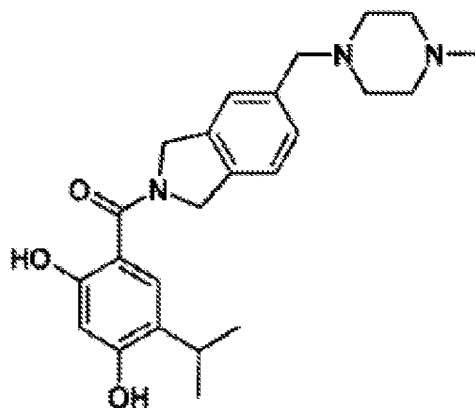
A61P 35/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20091858	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2007.10.12 PCT/GB2007/003871
(22)	Inng.dag	2009.05.12	(85)	Videreføringsdag	2009.05.12
(24)	Løpedag	2007.10.12	(30)	Prioritet	2006.10.12, GB, 0620259.2 2006.10.12, US, 60/829,243
(41)	Alm.tilgj	2009.07.08			
(45)	Meddelt	2018.04.30			
(73)	Innehaver	Astex Therapeutics Ltd, 436 Cambridge Science Park, Milton Road, GB-CB40QA CAMBRIDGE, Storbritannia			
(72)	Oppfinner	Andrew James Woodhead, c/o Astex Therapeutics Ltd, 436 Cambridge Science Park, Milton Road, GB-CB40QA CAMBRIDGE, Storbritannia Alison Jo-Anne Woolford, c/o Astex Therapeutics Ltd, 436 Cambridge Science Park, Milton Road, GB-CB40QA CAMBRIDGE, Storbritannia Mladen Vinkovic, c/o Astex Therapeutics Ltd, 436 Cambridge Science Park, Milton Road, GB-CB40QA CAMBRIDGE, Storbritannia Martyn Frederickson, c/o Astex Therapeutics Ltd, 436 Cambridge Science Park, Milton Road, GB-CB40QA CAMBRIDGE, Storbritannia John Francis Lyons, c/o Astex Therapeutics Ltd, 436 Cambridge Science Park, Milton Road, GB-CB40QA CAMBRIDGE, Storbritannia Neil Thomas Thompson, c/o Astex Therapeutics Ltd, 436 Cambridge Science Park, Milton Road, GB-CB40QA CAMBRIDGE, Storbritannia Brian John Williams, c/o Astex Therapeutics Ltd, 436 Cambridge Science Park, Milton Road, GB-CB40QA CAMBRIDGE, Storbritannia			
(74)	Fullmektig	ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge			

(54)	Benevnelse	Hydrobenzamid derivater som inhibitorer av HSP90, fremgangsmåter for fremstilling, farmasøytiske sammensetninger, kombinasjoner og anvendelser.
(56)	Anførte publikasjoner	WO 2006051808 A, WO 2006055760 A, WO 2006109085 A
(57)	Sammendrag	

Oppfinnelsen tilveiebringer et syreaddisjonssalt av en forbindelse med formel (1) Også tilveiebrakt i følge oppfinnelsen er fremgangsmåter for fremstilling av forbindelsen med formel (1) og alkyl analoger derav, nye intermediater for anvendelse i prosessen og fremgangsmåtene for fremstilling av intermediatene. Oppfinnelsen tilveiebringer også nye medisinske anvendelser av forbindelser med formel (1) og dens etyl analog.



Foreliggende oppfinnelse angår nye krystallinske og melkesyre saltformer av forbindelser som inhiberer eller modulerer aktiviteten til varmesjokk proteinet Hsp90 og anvendelsen av forbindelsene ved behandling eller profylakse av sykdommer eller tilstander mediert av Hsp90. Også tilveiebrakt er kombinasjonsterapi omfattende salter av oppfinnelsen, nye fremgangsmåter for fremstilling av forbindelsene og nye kjemiske intermediater.

Som respons på cellulært stress som inkluderer varme, toksiner, bestråling, infeksjon, inflammasjon og oksidanter produserer alle celler et felles sett av varmesjokk proteiner (Hsper) (Macario & de Macario 2000). De fleste varmesjokk proteiner virker som molekulære chaperoner. Chaperoner binder og stabiliserer proteiner ved intermediat trinnene til folding og muliggjør at proteinene foldes til deres funksjonelle stadier. Hsp90 er den mest forekomne cytosoliske Hsp under normale betingelser. Det er to humane isoformer av Hsp90, en hoved induserbar form Hsp90 α og en mindre konstitutivt uttrykt form Hsp90 β og to andre nært relaterte chaperoner som er begrenset i deres intracellulære lokalisering (Endoplasmisk reticulum GP96/GRP94; mitokondrisk TRAP1). Begrepet HSP90 slik det anvendes her inkluderer alle disse analogene med mindre annet er angitt. Hsp90 binder proteiner ved et sent stadie i folding og skilles fra andre Hsper ved at det meste av dets protein substrater er involvert i signal transduksjon. Hsp90 har et bestemt ATP bindingssete, som inkluderer en Bergerat folding karakteristisk for bakteriell gyrase, topoisomeraser og histidin kinaser. Det har blitt vist at ATP bundet ved den N-terminale lommen til Hsp90 blir hydrolysert. Denne ATPase aktiviteten resulterer i en konformasjonsmessig forandring i Hsp90 som kreves for å muliggjøre konformasjonsmessige forandringer i klient proteinet.

Et dimeriseringsdomene og et andre ATP bindingssete, som kan regulere ATPase aktivitet, er funnet nær c-terminusen til Hsp90. Dimerisering av Hsp90 synes kritisk for ATP hydrolyse. Aktivisering av Hsp90 blir videre regulert gjennom interaksjoner med et antall andre chaperon proteiner og kan isoleres i kompleks med andre chaperoner som inkluderer Hsp70, Hip, Hop, p23 og p50cdc37. Det har også blitt demonstrert at mange andre ko-chaperon proteiner har blitt bundet til Hsp90. En enkel modell har fremkommet hvori ATP binding til den amino terminale lommen forandrer Hsp90 konformasjon for å muliggjøre assosiasjon med et multichaperon kompleks. Først blir klient proteinet bundet til et Hsp70/Hsp40 kompleks. Dette komplekset assosierer deretter med Hsp90 via Hop. Deretter blir ADP erstattet med ATP, konformasjonen av Hsp90 blir forandret, Hop og Hsp70 frigis og et forskjellig sett av ko-chaperoner rekrutteres som inkluderer p50cdc37 og p23. ATP hydrolyse resulterer i frigivelse av

disse ko-chaperonene og klient proteinet fra det modne komplekset. Ansamycin antibiotiske midler herbimycin, geldanamycin (GA) og 17-allylamino-17-desmetoksygeldanamycin (17-AAG) er ATP bindingssete inhibitorer som blokkerer bindingen av ATP og hindrer omdanning til det modne komplekset (Grenert *et. al.*, 1997. J Biol Chem., 272:23834-23850).

Til tross for at Hsp90 er allestedsværende uttrykt har GA en høyere bindingsaffinitet for Hsp90 avledet fra tumour vs. normale cellerlinjer (Kamal *et. al.*, Nature 2003; 425: 407-410). GA viser også mer potent cytotoksisk aktivitet i tumorceller og blir sekvestert ved høyere konsentrasjoner inne i tumorer i xenograft muse modeller (Brazidec *J. Med. Chem.* 2004, 47, 3865-3873). Videre er ATP-ase aktiviteten til Hsp90 hevet i kreftceller og er en indikasjon på det økte nivået av stress i disse cellene. Hsp90 gen amplifisering har også blitt rapportert å forekomme ved sene stadier av kreft (Jolly og Morimoto JNCI vol. 92, nr. 19, 1564-1572, 2000).

Økt genetisk instabilitet assosiert med kreft fenotypen fører til en økning i produksjon av ikke-naturlige eller mutante proteiner. Ubiquitin reaksjonsveien tjener også til å beskytte cellen fra ikke-naturlige eller misfoldede proteiner, ved å målrette disse proteinene for proteasomal nedbrytning. Mutante proteiner er av deres natur ikke naturlige og har derfor potensiale til å vise strukturell instabilitet og et økende belastning for chaperon systemet. (Giannini *et al.*, Mol Cell Biol. 2004; 24(13):5667-76).

Det er noe bevis for at Hsp90 først og fremst blir funnet i “aktiverte” multichaperon komplekser i tumorcellene i motsetning til “latente” komplekser i normale celler. En komponent i multichaperon komplekset er cdc37 ko-chaperonet. Cdc37 binder Hsp90 ved grunntilstanden til ATP bindingssetet og kan påvirke avinnstillingene til inhibitorene bundet til Hsp90 i den “aktiverte” tilstanden (Roe *et. al.*, Cell 116, (2004), s. 87–98). Klient protein bundet til Hsp90-Hsp70 formen av chaperon komplekset antas å være mer mottakelig for ubiquitiner og målretting til proteasomet for nedbrytning. E3 ubiquitin ligaser har blitt identifisert med chaperon innbyrdes reagerende motiver og en av disse (CHIP) ble vist å fremme ubiquitiner og nedbrytning av Hsp90 klient proteiner (Connell *et al.*, 2001. Xu *et al.*, 2002).

Antall rapporterte Hsp90 klient proteiner overskrider nå 100. Siden mange av dets klient proteiner er involvert i celle signalisering, proliferasjon og overlevelse har Hsp90 fått mye interesse som et onkologi mål. To grupper av klient proteiner, celle signalisering

protein kinaser og transkripsjonsfaktorer, viser særlig at Hsp90 regulering kan ha potensiell fordel som en antikreft behandling.

Hsp90 protein kinase klient proteiner implisert i celle proliferasjon og overlevelse
5 inkluderer følgende:

c-Src

Cellulær Src (c-Src) er en reseptor tyrosin kinase, påkrevet for mitogenese initiert av
10 multippel vekstfaktor reseptorer, som inkluderer reseptorene for epidermal vekstfaktor reseptor (EGFR), blodplate-avledet vekstfaktor reseptor (PDGFR), koloni stimulerende faktor-1 (CSF-1R) og den basiske fibroblast vekstfaktoren (bFGFR). C-Src er også overuttrykt og aktivert i mange av de samme humane karsinomene som overuttrykker EGFR og ErbB2. Src er også påkrevet for opprettholdelse av normal ben homeostase
15 gjennom dens regulering av osteoklast funksjon.

p185erbB2

ErbB2 (Her2/neu) er en reseptor tyrosin kinase overuttrykt i et antall malignanser som
20 inkluderer bryst, eggstokk, prostata og magekreft. ErbB2 ble opprinnelig identifisert som et onkogen og inhibering av Hsp90 resulterer i polyubiquitinasjon og nedbrytning av erbB2.

Polo mitotisk kinase

25 Polo-lignende kinaser (Plker) er viktige regulatorer av celle cykel progresjon i løpet av M-fase. Plker er involvert i etablering av den mitotiske spindel apparaturen og i aktiveringen av CDK/cyklin komplekser. Plk1 regulerer tyrosin defosforylering av CDKer gjennom fosforylering og aktivering av Cdc25C. CDK1 aktivering fører i sin tur
30 til spindel dannelse og inngang inne i M fase.

Akt (PKB)

Akt er involvert i reaksjonsveier som regulerer cellevekst ved stimulering av celle
35 proliferasjon og undertrykkende apoptose. Hsp90 inhibering av ansamyciner resulterer i en reduksjon i Akt halveringstiden gjennom ubiquitinasjon og proteasomal nedbrytning. Binding av cdc37 til Hsp90 er også påkrevet for nedregulering av Akt. Etterfølgende

ansamycin behandling arresterer kreftceller i G2/M fasen til celle cyklen 24 timer etter behandling og går videre til apoptose 24-48 timer senere. Normale celler arresterer også 24 timer etter ansamycin behandling, men går ikke videre til apoptose.

5 c-Raf, B-RAF, Mek

RAS–RAF–MEK–ERK–MAP kinase reaksjonsveien medierer cellulære responser på vekstsignaler. RAS muteres til en onkogen form i cirka 15% av humane kreftformer. De tre RAF genene er serin/treonin kinaser som reguleres av bindende RAS.

10

EGFR

Epidermal vekstfaktor reseptoren (EGFR) er implisert i cellevekst, differensiering, proliferasjon, overlevelse, apoptose og migrering. Overekspresjon av EGFR har blitt
15 funnet i mange forskjellige kreftformer og aktiverende mutasjoner av dette kinase domenet synes å være patogent i et undersett av adenokarsinomer i lungen.

Flt3

20 FMS-lignende tyrosin kinase 3 (FLT3) er en reseptor tyrosin kinase involvert i celle proliferasjon, differensiering og apoptose. Flt3 aktivering fører også til aktiveringen av fosfatidylinositol 3-kinase (PI3K) og RAS signal-transduksjon kaskader.

c-Met

25

c-met er en reseptor tyrosin kinase som binder hepatocyt vekstfaktor (HGF) og regulerer både celle motilitet og cellevekst. c-met er overuttrykt i tumorer, som inkluderer tyroid, mage, bukspyttkjertel og kolon kreft. HGF blir også detektert rundt
tumorene, som inkluderer lever metastaser. Dette viser at c-met og HGF spiller en viktig
30 rolle i invasjon og metastase.

Cdk1, Cdk2, Cdk4, Cdk6

Cdk1, Cdk2, Cdk4 og Cdk6 driver celle cyklen. Aktiviteten til CDKer blir regulert av
35 deres binding til spesifikke underenheter slike som cykliner, inhiberings og oppstillingsfaktorer. Substrat spesifisiteten og timingen til CDK aktiviteter blir diktert av deres interaksjon med spesifikke cykliner. Cdk4/cyklin D og Cdk6/cyklin D er aktive

i G1 fasen, Cdk2/cyklin E og Cdk2/cyklin A i S fasen og Cdc2/cyklin A og Cdc2/cyklin B i G2/M fasen.

Cyklin-avhengig kinase type 4 (CDK4) spiller en nøkkelrolle ved å muliggjøre for celler og traversere G1 til S-fase overgang i celle cyklen og blir konstitutivt aktivert i mange humane kreftformer. CDK4 aktivatoren, cyklin D1, er overuttrykt og en CDK4 inhibitor, p16, er deletert i et antall humane tumorer.

Cdk1/Cdk2 inhibitorer har blitt utviklet som reversibelt blokkerer normale celler i enten G1/S-fasen eller ved G2/M grensen. G2/M arrestering er generelt mindre tolerert av cellene og som en konsekvens gjennomgår de apoptotisk celledød. Siden Hsp90 også er kjent for å påvirke celle overlevelse reaksjonsveier kan denne effekten ytterligere amplifiseres med en Hsp90 inhibitor.

Wee-1

Wee-1 protein kinasen utfører inhiberingsfosforyleringen av CDC2 på tyrosin 15 (Tyr15). Dette er påkrevet for aktivering av G2-fase sjekkpunktet som respons på DNA skade.

Hsp90 transkripsjonsfaktorer implisert i celle proliferasjon og overlevelse inkluderer følgende:

Mutant p53

P53 er et tumor suppressor protein som forårsaker celle cykel arrest og induserer apoptose. P53 er mutert i tilnærmet halvparten av alle kreftformer. Mutant p53 assosierer med Hsp90 og blir nedregulert i kreftlinjer behandlet med Hsp90 inhibitorer, mens villtype p53 nivåer er uberørt.

Progesteron reseptor/østrogen reseptor/androgen reseptor

Cirka 70% av post-menopausale kvinner som utvikler brystkreft har tumorer som uttrykker østrogen reseptoren. Førstelinje behandlingen av disse pasientene er rettet mot hindring av signalisering gjennom denne reaksjonsveien og således inhibering av tumorvekst. Dette kan gjøres ved eggstokk ablasjon, behandling med gonadotrofin frigivende hormon agonister, aromatase inhibering eller behandling med spesifikke

agonister som binder til østrogen reseptoren, men som hindrer ytterligere signalisering. Til slutt utvikler pasienter resistent ovenfor disse intervensjonene ofte som en konsekvens av kryss-kontakt mellom østrogen reseptoren og vekstfaktor reseptoren lokalisert på celle membranen. I den ikke-ligand dannede tilstanden er østrogen

5 reseptorer kompleksert med Hsp90 som letter hormon binding. Etterfølgende binding til det modne reseptor Hsp90 komplekset kan den ligand dannede reseptoren binde til hormon respons elementer (HREer) inne i reguleringsregionene til målrettede gener involvert i opprettholdelse av celle proliferasjon. Inhibering av Hsp90 initierer proteosomal nedbryting av østrogen reseptoren som således hindrer ytterligere vekst

10 signalisering via denne reaksjonsveien. Prostatakraft er hormon-avhengige malignanser som responderer på terapeutiske intervensjoner som reduserer sirkulerende nivåer av testosteron eller hindrer testosteron binding til androgen reseptoren. Selv om pasienter initielt responderer på disse behandlingene utvikler de fleste etterfølgende resistens via gjenoppretting av signalisering via den androgene reseptoren. Før ligand binding

15 eksisterer androgen reseptoren i et kompleks med Hsp90 og andre ko-chaperoner som inkluderer p23 og immunofiliner. Denne interaksjonen opprettholder androgen reseptoren i en høy-affinitet ligand binding konformasjon. Inhibering av Hsp90 fører til proteosomal nedbryting av den androgene reseptoren og andre ko-chaperoner som kan sensitisere tumoren for ytterligere hormonelle behandlinger.

20

Muterte steroid hormon reseptorer som har fremkommet for eksempel i løpet av anti-hormon behandling og som kan være resistente ovenfor slike behandlinger har trolig en større avhengighet av HSP90 for deres stabilitet og hormon binding funksjon.

25 Hif-1a

Hypoksi induserbar faktor-1a (HIF-1a) er en transkripsjonsfaktor som kontrollerer ekspresjonen av gener som spiller en rolle ved angiogenese. HIF-1a uttrykkes i hoveddelen av metastaser og er kjent for å assosiere med Hsp90. Ansamycin behandling

30 av renal karsinom cellerlinjer fører til ubiquitinasjon og proteasomal nedbryting av HIF-1a.

Hsp90 inhibitorer er i stand til å påvirke et stort antall mål signifikante for signal transduksjon i tumor celle proliferasjon. Signal transduksjonsinhibitorer som regulerer

35 aktiviteten til et enkelt mål trenger ikke å være så effektive på grunn av signaliseringsreaksjons overflødighet og den raske utviklingen av resistens.

Ved å regulere multiple mål involvert i celle signalisering og celle proliferasjon kan HSP90 inhibitorer vise seg fordelaktige ved behandling av et bredt spekter av proliferative forstyrrelser.

5 ZAP70

- ZAP-70, en medlemm av Syk–ZAP-70 protein tyrosin kinase familien, blir normalt uttrykt i T celler og naturlige avlivingsceller og har en kritisk rolle i initieringen av T-celle signalisering. Imidlertid er den også uttrykt aberrant i cirka 50% av tilfellene av CLL, vanligvis i de tilfellene med ikke-muterte B-celle reseptor gener.
- Mutasjonsstatusene til immunoglobulin tungkjede variabel region (*IgV_H*) genene i leukemi celler til kronisk lymfocytisk leukemi (CLL) er en viktig prognostisk faktor. Ekspresjonen av ZAP-70 i CLL celler korrelerer med *IgV_H* mutasjonsstatus, sykdomsprogresjon og overlevelse. ZAP-70 positiv CLL er mer aggressiv enn ZAP-70 negativ CLL som indikerer at ZAP-70 kan være en nøkkeldriver for malignans i denne sykdommen. ZAP-70 er fysisk assosiert med HSP90 i B-CLL lymfoblaster, og således kan inhiberingen av Hsp90 sensitisere disse cellene til eksisterende kjemoterapi eller monoklonal antistoff behandling.
- Det har lenge vært kjent at den naturlige tertiære konformasjonen til et hvilket som helst gitt polypeptid er bestemt av dens primære (aminosyre) sekvens. Imidlertid, slik det er forklart ovenfor, er det nå klart at den passende foldingen av mange proteiner *in vivo* krever assistanse av varmesjokk proteiner (Hsper) som virker som molekylære chaperoner. Mens chaperon funksjonen er viktig for normal cellulær funksjon under alle betingelser, blir den kritisk i celler som er stresset (for eksempel med varme, hypoksi eller acidose).
- Slike tilstander får typisk overhånd i tumor celler, som eksisterer i et fiendtlig vertsmiljø. Oppreguleringen av Hsper ofte observert i slike celler representerer derfor trolig en mekanisme hvorved malignante celler opprettholder integriteten til deres proteomer under betingelser som innbefatter protein folding. Således representerer modulatorer eller inhibitorer av stress proteiner generelt (og Hsp90 spesielt) en klasse kjemoterapeutiske midler med den unike egenskapen til å inhibere multiple aberrant signaliserende reaksjonsveier simultant. De kan derfor fremvise antitumor effekter mens de eliminerer (eller reduserer forekomst av) resistens relativ til andre behandlingsparadigmer.

Videre øker nødvendigvis terapeutiske antikreft intervensjoner av alle typer stress anbrakt på mål tumor cellene. Ved mitigering av de skadelige effektene av slikt stress er Hsper direkte implisert i å motstå effektene av kreft legemidler og behandlingsregimer. Således representerer modulatorer eller inhibitorer av stress protein funksjon generelt
5 (og Hsp90 spesielt) en klasse av kjemoterapeutiske midler med potensiale for: (i) sensitisere malignante celler ovenfor antikreft legemidler og/eller behandlinger; (ii) lindre eller redusere forekomst av resistens ovenfor antikreft legemidler og/eller behandlinger; (iii) reversere resistens ovenfor antikreft legemidler og/eller behandlinger; (iv) potensiere aktiviteten til antikreft legemidler og/eller behandlinger; (v) forsinke
10 eller hindre utbruddet av resistent ovenfor antikreft legemidler og/eller behandlinger.

Fungale infeksjoner har blitt en hovedårsak til bekymring i de senere år på grunn av det begrensede antallet antifungale midler tilgjengelige og den økende forekomsten av arter som er resistente ovenfor etablerte antifungale midler slike som azoler. I tillegg har den
15 økende populasjonen av immunokompromitterte pasienter (for eksempel pasienter slike som organ transplantat pasienter, kreft pasienter som gjennomgår kjemoterapi, brannskadde pasienter, AIDS pasienter eller pasienter med diabetisk ketoacidose) gitt opphav til en økning i tilfelle av opportunistiske fungale infeksjoner med fungale midler slike som Candida, Cryptococcus og Aspergillus arter og til tider Fusarium,
20 Trichosporon og Dreschlera arter.

Som en konsekvens er det et behov for nye antifungale midler som kan anvendes for behandling av det økende antallet pasienter med fungale infeksjoner og særlig infeksjoner på grunn av sopp som har blitt resistent ovenfor antifungale legemidler.

25 HSP90 blir konserverert gjennom utviklingen som finnes hos bakterier (for eksempel HTPG i E.coli) og gjær (for eksempel HSC82 og HSP82). Selv om klienter ikke formelt har blitt identifisert for E.coli formen har i gjær og alle høyere organismer av HSP90 familien vist seg å fungere som en chaperon for mange essensielle proteiner slik det er
30 beskrevet ovenfor.

Infeksjon ved et antall patogener er assosiert med en antistoff respons ovenfor HSP90. For eksempel er ved Candida albicans infiserte pasienter det 47kDa C-terminale fragmentet til HSP90 en immunodominant epitop. Videre er denne antistoff responsen
35 assosiert med god prognose som viser en beskyttende effekt ovenfor infeksjon. Rekombinante antistoffer ovenfor en epitop i dette polypeptidet er også beskyttende ovenfor infeksjon i musemodeller med invasive kandidater. (Se Mathews *et al*

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2003 vol 47, 2208 - 2216 og referanser deri). På samme måte tjener overflate uttrykt HSP90 som et antigen i Chagas' sykdom, ascariase, leishmaniase, toksoplamosse og infeksjon på grunn av *Schistosoma mansoni* og det har blitt postulert at antistoffer ovenfor HSP90 gir beskyttelse mot *Plasmodium* infeksjon og Malaria.

Mycograb (NeuTec Pharma/Novartis) er et humant rekombinant monoklonalt antistoff ovenfor varmesjokk protein 90 som utvikles som en behandling for candida og har vist signifikante responser i tidlige forsøk. Videre ble naturprodukt HSP90 inhibitorene Geldanamycin, Herbimycin og Radicicol opprinnelig identifisert ved deres antifungale aktivitet. Nøkkelessensielle proteiner har blitt identifisert som HSP90 klienter i flere humane patogener (se Cowen og Lindquist, *Science*. 30. sept. 2005;309(5744):2175-6). Således kan HSP90 spille en viktig rolle ved vekst av patogener slik som *Candida* arter, og HSP90 inhibitorer kan være anvendelige som behandlinger for et bredt spekter av infektiose sykdommer som inkluderer candidiasi.

Det har også blitt funnet at Hsp90 øker kapasiteten til sopp for utvikling av antifungal legemiddel resistens (se Cowen LE, Lindquist S. "Hsp90 potentiates the rapid evolution of new traits: drug resistance in diverse fungi". *Science*. 30. sept. 2005;309(5744):2185-9). Derfor kan ko-administrasjon av en Hsp90 inhibitor med et antifungalt legemiddel øke effektiviteten til det antifungale legemiddelet og redusere resistens ved å hindre fremkomst av resistente fenotyper.

Cdk5 er et medlem av Cdk familien av serin/treonin kinaser, hvor de fleste av disse er nøkkel regulatorer av celle cyklen. Cdk5 aktivitet reguleres gjennom assosiasjon med dens neuron-spesifikke aktivatorer, p35 og p39. Nylige bevis viser at CDK5 kan fosforylere tau protein og et antall andre neuronale proteiner slik som NUDE-1, synapsin1, DARPP32 og Munc18/Syntaxin1A komplekset. Bevis foreslår også at aberrant Cdk5 aktivitet induisert ved omdanning av p35 til p25 spiller en rolle ved patogenesen til neurodegenerative sykdommer slik som Alzheimer's sykdom (AD), amyotrofisk lateral sklerose (ALS) og Niemann's Pick type-C sykdom (NPD). Abnormal hyperfosforylering av tau etter $A\beta_{1-42}$ behandling destabiliserer mikrotubuler, som bidrar til neuritt degenerering og dannelsen av parede helikale filamenter (PHFer) som inneholder neurofibrillære sammenfiltringer (NFTer), en av hovedlesjonene ved AD. Det har videre blitt funnet at cdk5 er nødvendig for korrekt neuronal utvikling.

p35 proteinet som virker som en regulator av CDK5 aktivitet har nylig blitt identifisert som et klient protein for HSP90 og derfor kan aktiviteten til CDK5 reguleres ved forandringer i nivået og aktiviteten av HSP90. Således kan inhibering av HSP90 føre til tap av p35, en inhibering av CDK5, en reduksjon av fosforylert tau protein hos berørte individer og vil gi fordel for de som lider av Alzheimers sykdom.

I tillegg har inhibering av HSP90 ved anvendelse av kjente midler vist seg å redusere akkumuleringen av tau protein aggregater i cellulære systemer in vitro. (Dickey et al Curr Alzheimer Res., april 2005;2(2):231-8).

10

Cdk5 har også vist seg å ha en rolle i mediering av smerte signalisering. Både Cdk5 og p35 har vist seg å være uttrykt i nociceptive neuroner. Hos p35 knockout mus, som viser vesentlig redusert Cdk5 aktivitet, blir responsen på smertefull termisk stimulering forsinket (Pareek, T.K., et al., "Proceedings of the National Academy of Sciences.", 103:791-796 (2006). I tillegg har administrasjon av den cyklin-avhengige kinase 5 (Cdk5) inhibitoren roscovitin vist seg å attenuere formalin-induserte nociceptive responser hos rotter (Wang, Cheng-haung, et al., Acta Pharmacologica Sinica., 26:46-50 (2005)). Aktivisering av calpain er kalsium avhengig og er kjent for å bli påvirket ved aktivisering av NMDA reseptor kalsium kanalen (Amadoro, G; "Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America", 103, 2892-2897 (2006)). NMDA reseptor antagonist er kjent for å være klinisk effektive mot neuropatiske smertetilstander (Christoph, T; et al., Neuropharmacology, 51,12-17 (2006)). Denne effektiviteten kan knyttes til effekten av NMDA reseptor relatert kalsium influks på calpain aktivitet og dens etterfølgende effekt på aktiviteten til Cdk5. Som sådan vil forbindelser som modulerer Cdk5 aktivitet være anvendelige for behandling eller hindring av smerte og således modulering av CDK5 regulatoren p35 med HSP90 inhibering som kan føre til inhibering av CDK5.

Det er ønskelig å ha et middel for den lindrende behandlingen av smerte, det vil si direkte lindring av smerte i tillegg til lindring av smerte som resultat av forbedring av den underliggende sykdommen eller medisinske tils Nagkagawa tanden, som forårsaker smerten.

Forskjellige Cdker (særlig Cdker 4, 5 & 6) har vist seg å være involvert med eller mediere neuronal død etterfølgende hypoksisk eller iskemisk hendelse (Rashidan, J.; et al.; "Proceedings of the National Academy of Sciences.", 102:14080-14085 (2005)). Videre har Cdk inhibitoren flavopiridol vist seg signifikant å redusere neuronal død i en

rotte modell med fokal cerebral iskemi (Osuga, H.; et al.; "Proceedings of the National Academy of Sciences.", 97:10254-10259 (2000)). Cdk5 inhibitorer har vist seg å ha beskyttende effekter i både nekrotiske og apoptotiske paradigmer for neuronal celledød (Weishaupt, J.; et al.; "Molecular and Cellular Neuroscience.", 24:489-502 (2003)).

5

Slag er en cerebrovaskulær hendelse, som forekommer når den normale blodstrømmen til hjernen blir forringet og hjernen mottar for mye eller for lite blod. Slag er en av de viktigste årsakene til død verden over og er også en av de vanligste årsakene til neurologisk uforhet.

10

Iskemisk slag, som er den vanligste typen slag, kommer som resultat av utilstrekkelig cerebral sirkulasjon av blod forårsaket av obstruksjon av innstrøm av arterielt blod. Normalt blir adekvat cerebral blodtilførsel forsikret av et system av arterier inne i hjernen. Imidlertid kan forskjellige forstyrrelser, som inkluderer inflammasjon og
 15 aterosklerose, forårsake en trombus, det vil si en blodpropp som dannes i et blodkar. Trombusen kan avbryte arteriell blodstrøm, som forårsaker hjerne iskemi og som en konsekvens neurologiske symptomer. Iskemisk slag kan også være forårsaket av anbringelse av en embolus (en luftboble) fra hjertet i et intrakranielt kar, som forårsaker reduser perfusjonstrykk eller økt blod viskositet med ikke-adekvat cerebral blodstrøm.
 20 En embolus kan forårsakes av forskjellige forstyrrelser, som inkluderer atrial fibrillering og aterosklerose.

25

En andre type slag, blødning slag, involverer en blødning eller ruptur på en arterie som fører til hjernen. Blødning slag resulterer i blødning inn i hjernevev, som inkluderer
 25 epidural, subdural eller subaraknoid mellomrommet i hjernen. Et blødning slag kommer typisk som resultat av rupturen av et aterosklerotisk kar som har blitt eksponert for arterial hypertensjon eller trombose.

30

En mulighet for intervensjon ved slag er hindring eller redusering av risiko for slag hos
 30 pasienter med risiko for slag. Det er mange kjente risikofaktorer for slag, som inkluderer vaskulær inflammasjon, aterosklerose, arterial hypertensjon, diabetes, hyperlipidemi og atrial fibrillering. Risikopasienter har blitt behandlet med midler for å kontrollere blodtrykk eller håndtering av blod lipid nivå, og har blitt behandlet med anti blodplate midler (slike som clopidogrel) og antikoagulanter. En andre mulighet er
 35 behandlingen av akutt slag. Imidlertid er verserende farmakologiske behandlinger for behandling av akutt slag begrenset til å gjenopprette blodstrømmen innenfor et smalt terapeutisk tidsvindu på mindre enn tre timer etter slag. Det er et behov for midler som

er effektivt innenfor et lengre terapeutisk tidsvindu. En annen mulighet er friskgjøring eller gjenoppretting etter akutt slag perioden, det vil si reduksjon eller hindring av sekundær celledskade i penumbra. Det er et behov for midler som er effektive når det gjelder å redusere eller hindre sekundær celledskade etter slag.

5

Det vil være ønskelig å oppnå et enkelt farmasøytisk middel som kan anvendes i mer enn en av de ovenfor nevnte mulighetene for behandling av slag. Et slikt middel kan administreres til pasienter med risiko for slag og kan også administreres til pasienter som lider av akutt slag, eller pasienter som gjennomgår behandling for friskgjøring eller gjenoppretting etter akutt slag perioden. Et slikt middel kan også målrettes mot en eller flere bestemte mekanismer i den biokjemiske slag kaskaden.

10

Infeksjon av en vertscelle med viral RNA/DNA resulterer i en vesentlig ny forandring av cellulær protein syntese mot nøkkel virale proteiner kodet av den virale nukleinsyren.

15

Den økte protein syntese belastningen plasserer et stress på cellen som konsekvens av økt behov for energi og syntese forløpere. Oppregulering av varmesjokk proteiner er ofte en konsekvens av viral infeksjon i det minste på grunn av dette stresset. En funksjon ved HSP induksjon kan være å assistere i stabiliseringen og foldingen av de høye nivåene av "fremmed" protein generert som forberedelse på virus replikasjon.

20

Særlig har nylig arbeid foreslått at HSP90 er påkrevet for stabil produksjon av funksjonell NS2/3 protease i Hepatitt C (HCV) replikon infiserte celler. HSP90 inhibitorer har også demonstrert å blokkere viral replikasjon i in vitro systemer. (Nagakagawa, S, Umehara T, Matsuda C, et al Biochem. Biophys. Res Commun. 353 (2007) 882-888; Waxman L, Witney, M et al PNAS 98 (2001) 13931 – 13935).

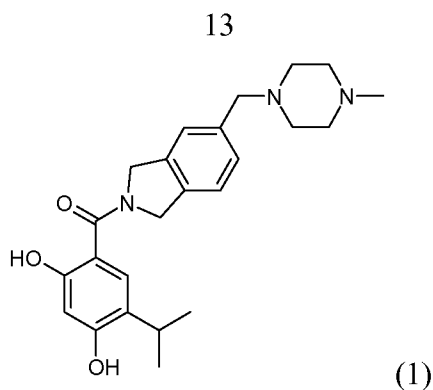
25

Hydroksybenzamiderivater (WO 2006/109085), benzosyrederivater (WO 2006/051808) og triazolforbindelser (WO 2006/055760) er tidligere blitt beskrevet som HSP90-inhibitorer.

30

Vår tidligere søknad PCT/GB2006/001382, hvor hele innholdet av denne er innbefattet heri med referanse, beskriver isoindolin amider av 2,4-dihydroksybenzosyrer som Hsp90 inhibitorer. En av forbindelsene spesifikt beskrevet og eksemplifisert i PCT/GB2006/001382, er forbindelsen (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon som har strukturen vist nedenfor. Denne forbindelsen kan av hensiktsmessige grunner refereres til i denne søknaden som Forbindelse 1 eller forbindelsen med formel (1).

35



Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer melkesyresalter (særlig L-laktat saltet), krystallinske former og en ny analog av forbindelsen med formel (1) og kombinasjoner
 5 derav, som har Hsp90 inhiberende eller modulerende aktivitet og som vil være anvendelig ved hindring eller behandling av sykdommer eller tilstander mediert av Hsp90. Oppfinnelsen tilveiebringer også nye fremgangsmåter for fremstilling av forbindelsen med formel (1) og dens syreaddisjonssalter (særlig L-laktat saltet) og analoger derav, og nye kjemiske intermediater. Også inkludert innenfor omfanget av
 10 oppfinnelsen er de terapeutiske anvendelsene av forbindelsene.

I foreliggende beskrivelse refererer begrepene ”forbindelser i følge oppfinnelsen” eller ”forbindelse i følge oppfinnelsen”, med mindre sammenhengen indikerer noe annet, til
 (a) syreaddisjonssalter av forbindelse (1) (særlig L-laktat saltet), og (b) de krystallinske
 15 formene av syreaddisjonssalt av forbindelsen med formel (1)(særlig L-laktatet).

Slik det anvendes heri refererer begrepet ”behandling” og de relaterte begrepene ”behandle” og ”å behandle” til både profylaktisk og hindrende behandling såvel som kurativ eller lindrende behandling av smerte. Således omfatter begrepet situasjoner hvor
 20 smerte allerede oppleves av et subjekt eller pasient, så vel som situasjoner hvor smerte ikke oppleves, men forventes å oppstå. Begrepet ”behandling”, ”behandle”, ”å behandle” og relaterte begreper dekker også både fullstendig og delvis smerte reduksjon eller hindring. Således kan for eksempel forbindelsene i følge oppfinnelsen hindre eksisterende smerte fra å bli verre, eller de kan redusere eller til og med eliminere
 25 smerte. Når de anvendes i profylaktisk sammenheng kan forbindelsene hindre en hvilken som helst smerte fra å bli utviklet eller de kan redusere omfanget av smerte som kan utvikles.

Slik det anvendes heri er begrepet ”modulering”, slik det anvendes for aktiviteten til
 30 varmesjokk proteinet Hsp90, tiltenkt å definere en forandring i grad av biologisk aktivitet til varmesjokk proteinet. Således omfatter modulering fysiologiske

forandringer som gir en økning eller reduksjon i den relevante varmesjokk protein aktiviteten. I sistnevnte tilfelle kan moduleringen beskrives som ”inhibering”.

Moduleringen kan skje direkte eller indirekte, og kan medieres av en hvilken som helst mekanisme og ved et hvilket som helst fysiologisk nivå, som inkluderer for eksempel ved nivået for gen ekspresjon (som inkluderer for eksempel transkripsjon, translasjon og/eller post-translasjon modifikasjon), ved nivået for ekspresjon av gener som koder reguleringslementer som virker direkte eller indirekte på nivåene til varmesjokk protein aktiviteten. Således kan modulering implisere hevet/undertrykt ekspresjon eller over- eller under-ekspresjon av varmesjokk proteinet, som inkluderer gen amplifisering (det vil si multiple gen kopier) og/eller økt eller redusert ekspresjon av en transkripsjonseffekt, så vel som hyper- (eller hypo-)aktivitet og (de)aktivering av varmesjokk proteinet (som inkluderer (de)aktivering) ved mutasjon(er). Begrepene “modulert”, “å modulere” og “modulere” skal tolkes i henhold til dette.

Slik det anvendes heri blir begrepet ”mediert” slik det for eksempel anvendes i forbindelse med varmesjokk protein som beskrevet heri (og anvendt for eksempel ved forskjellige fysiologiske prosesser, sykdommer, stadier, tilstander, terapier, behandlinger eller intervensjoner) tiltenkt å operere begrensende slik at de forskjellige prosessene, sykdommene, stadiene, tilstandene, behandlingene og intervensjonene til hvilke begrepet gjelder er de hvori varmesjokk protein Hsp90 spiller en biologisk rolle. I tilfeller der begrepet anvendes for en sykdom, stadiet eller tilstand, kan den biologiske rollen som spilles av varmesjokk proteinet Hsp90 være direkte eller indirekte og kan være nødvendig og/eller tilstrekkelig for manifestasjonen av symptomene på sykdommen, stadiet eller tilstanden (eller deres etiologi eller progresjon). Således trenger varmesjokk protein Hsp90 aktivitet (og særlig aberrante nivåer av varmesjokk protein Hsp90 aktivitet, for eksempel Hsp90 over-ekspresjon) ikke nødvendigvis å være den proksimale årsaken til sykdommen, stadiet eller tilstanden: snarere er det tiltenkt at varmesjokk protein Hsp90 medierte sykdommer, stadier eller tilstander inkluderer de som har multifaktorielle etiologier og komplekse progresjoner hvori Hsp90 kun er delvis involvert. I tilfeller hvor begrepet gjelder for behandling, profylakse eller intervensjon (for eksempel i ”Hsp90-medierte behandlinger” og “Hsp90-mediert profylakse” i følge oppfinnelsen) kan rollen spilt av Hsp90 være direkte eller indirekte og kan være nødvendig og/eller tilstrekkelig for utføring av behandling, profylakse eller utkommet av intervensjonen. Således inkluderer et sykdomsstadie eller tilstand mediert av Hsp90 utvikling av resistens ovenfor et hvilket som helst kreft legemiddel eller behandling (som inkluderer særlig resistens ovenfor en eller flere signaliseringsinhibitorene beskrevet heri).

Slik det anvendes heri er begrepet ”modulering”, slik det anvendes for aktiviteten til cyklin avhengig kinase 5 (CDK5), tiltenkt å definere en forandring i nivå av biologisk aktivitet til kinasen(e). Således omfatter modulering fysiologiske forandringer som berører en økning eller reduksjon i den relevante kinase aktiviteten. I sistnevnte tilfelle kan moduleringen beskrives som ”inhibering”. Moduleringen kan skje direkte eller indirekte, og kan medieres ved en hvilken som helst mekanisme og ved et hvilket som helst fysiologisk nivå, som inkluderer for eksempel ved gen ekspresjonsnivået (som inkluderer for eksempel transkripsjon, translasjon og/eller post-translasjon modifikasjon), ved ekspresjonsnivået til genene som koder reguleringsselementer som virker direkte eller indirekte på nivået til den cyklin avhengige kinase 5 (CDK5), eller ved nivået til enzym (for eksempel cyklin avhengig kinase 5 (CDK5) aktiviteten (for eksempel ved allosteriske mekanismer, konkurrerende inhibering, aktiv-sete inaktivering, perturbasjon til feedback inhiberingsreaksjonsveier etc.). Således kan modulering i hevet/undertrykt ekspresjon eller over- eller under-ekspresjon av den cyklin avhengige kinase 5 (CDK5) som inkluderer gen amplifisering (det vil si multiple gen kopier) og/eller økt eller redusert ekspresjon av en transkripsjonseffekt, så vel som hyper- (eller hypo-)aktivitet og (de)aktivering av den cyklin avhengige kinase 5 (CDK5) som inkluderer (de)aktivering) ved mutasjon(er). Begrepene ”modulert”, ”å modulere” og ”modulere” skal tolkes i henhold til dette.

Slik det anvendes heri er begrepet ”mediert”, slik det for eksempel anvendes i forbindelse med den cyklin avhengige kinase 5 (CDK5) slik det er beskrevet heri (og gjelder for eksempel for forskjellige fysiologiske prosesser, sykdommer, stadier, tilstander, terapier, behandlinger eller intervensjoner) tiltenkt å operere begrensede slik at de forskjellige prosessene, sykdommene, stadiene, tilstandene, behandlingene og intervensjonene til hvilke begrepet gjelder er de hvori cyklin avhengig kinase 5 (CDK5) spiller en biologisk rolle. I tilfeller hvor begrepet gjelder for en sykdom, stadiet eller tilstand, kan den biologiske rollen spilt av den cyklin avhengige kinase 5 (CDK5) være direkte eller indirekte og kan være nødvendig og/eller tilstrekkelig for manifestasjonen av symptomene på sykdommen, stadiet eller tilstanden (eller dens etiologi eller progresjon). Således trenger cyklin avhengig kinase 5 (CDK5) aktivitet (og særlig aberrante nivåer av cyklin avhengig kinase 5 (CDK5) aktivitet, for eksempel cyklin avhengig kinase 5 (CDK5) over-ekspresjon) ikke nødvendigvis å være hovedårsaken til sykdommen, stadiet eller tilstanden: snarere er det tiltenkt at de CDK5-medierte sykdommene, stadiene eller tilstandene inkluderer de som har flerfaktorielle etiologier og komplekse progresjoner omfattende CDK5. I tilfeller hvor begrepet anvendes for

behandling, profylakse eller intervensjon (for eksempel ved “CDK5-medierte behandlinger” i følge oppfinnelsen) kan rollen spilt av CDK5 være direkte eller indirekte og kan være nødvendig og/eller tilstrekkelig for utføring av behandling, profylakse eller utkom av intervensjonen.

5

Begrepet “intervensjon” er et begrep i litteraturen anvendt heri for å definere et hvilket som helst middel som gir en fysiologisk forandring ved et hvilket som helst nivå.

Således kan intervensjonen innbefatte induksjonen eller represjonen av en hvilken som helst fysiologisk prosess, hendelse, biologisk reaksjonsvei eller cellulær/biokjemisk
10 hendelse. Intervensjonene i følge oppfinnelsen påvirker typisk (eller bidrar til) terapien, behandlingen eller profylaksen av en sykdom eller tilstand.

Slik det anvendes heri er begrepet “kombinasjon”, slik det gjelder for to eller flere forbindelser og/eller midler (også referert til heri som *komponenter*), tiltenkt å definere
15 materiale hvori to eller flere forbindelser/midler er assosiert. Begrepene ”kombinert” og ”å kombinere” i denne sammenhengen skal forstås i henhold til dette.

Assosiasjonen av de to eller flere forbindelsene/midlene i en kombinasjon kan være fysiske eller ikke-fysiske. Eksempler på fysisk assosierte kombinerte
20 forbindelser/midler inkluderer:

- sammensetninger (for eksempel enhetsformuleringer) som innbefatter de to eller flere forbindelsene/midlene blandet sammen (for eksempel i samme enhetsdose);
- sammensetninger som innbefatter materialene hvori de to eller flere forbindelsene/midlene er kjemisk/fysiokjemisk bundet (for eksempel ved
25 tverrbinding, molekylær agglomerering eller binding til en felles vehikkel bestanddel);
- sammensetninger som innbefatter materialet hvori de to eller flere forbindelsene/midlene er kjemisk/fysiokjemisk sammenpakket (for eksempel anbrakt på eller i lipid vesikler, partikler (for eksempel mikro- eller
30 nanopartikler) eller emulsjonsdråper);
- farmasøytiske kitt, farmasøytiske pakker eller pasient pakker hvori de to eller flere forbindelsene/midlene er pakket sammen eller presentert sammen (for eksempel som del av en oppstilling av enhetsdoser).

35 Eksempler på ikke-fysiske assosierte kombinerte forbindelser/midler inkluderer:

- materiale (for eksempel en ikke-enhetsformulering) som innbefatter minst en av de to eller flere forbindelsene/midlene sammen med instruksjoner for den

ekstemporære assosiasjonen av den minst ene forbindelsen for å danne en fysisk assosiasjon av de to eller flere forbindelsene/midlene;

- materiale (for eksempel en ikke-enhetsformulering) som innbefatter minst en av de to eller flere forbindelsene/midlene sammen med instruksjoner for kombinasjonsbehandling med de to eller flere forbindelsene/midlene;
- materiale som innbefatter minst en av de to eller flere forbindelsene/midlene sammen med instruksjoner for administrasjon til en pasient populasjon hvori de andre av de to eller flere forbindelsene/midlene har blitt (eller blir) administrert;
- materiale som innbefatter minst en av de to eller flere forbindelsene/midlene i en mengde eller i en form som er spesifikt tilpasset for anvendelse i kombinasjon med de andre av de to eller flere forbindelsene/midlene.

Slik det anvendes heri kan begrepet “i kombinasjon” referere til forbindelser/midler som administreres som del av det samme totale behandlingsregimet. Som sådan kan posologien til hver av de to eller flere forbindelsene/midlene være forskjellige: hvert kan administreres samtidig eller på forskjellige tidspunkter. Det vil derfor være å forstå at forbindelsene/midlene i kombinasjonen kan administreres sekvensielt (for eksempel før eller etter) eller simultant, enten i samme farmasøytiske formulering (det vil si sammen) eller i forskjellige farmasøytiske formuleringer (det vil si separat). Simultant i samme formulering er en enhetsformulering mens simultant i forskjellige farmasøytiske formuleringer er ikke-enhetsformuleringer. Posologien til hver av de to eller flere forbindelsene/midlene i en kombinasjonsbehandling kan også være forskjellig med hensyn til administrasjonsrute.

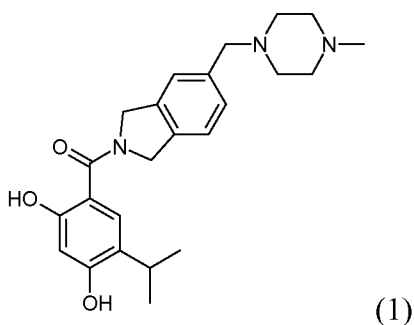
Slik det anvendes heri definerer begrepet “farmasøytisk kitt” en oppstilling av en eller flere enhetsdoser av en farmasøytisk sammensetning sammen med doseringsmidler (for eksempel oppmålingsinnretning) og/eller leveringsmidler (for eksempel inhalerer eller sprøyte), eventuelt alt innbefattet i felle ytre pakning. I farmasøytiske kitt som innbefatter en kombinasjon av to eller flere forbindelser/midler kan de individuelle forbindelsene/midlene være enhets eller ikke-enhetsformuleringer. Enhetsdosene kan være innbefattet i en blemmepakke. Det farmasøytiske kittet kan eventuelt ytterligere innbefatte instruksjoner for bruk.

Slik det anvendes heri definerer begrepet “farmasøytisk pakke” en oppstilling av en eller flere enhetsdoser av en farmasøytisk sammensetning, eventuelt innbefattet i en felles ytre pakning. I farmasøytiske pakker som innbefatter en kombinasjon av to eller flere forbindelser/midler kan de individuelle forbindelsene/midlene være enhets eller

ikke-enhetsformuleringer. Enhetsdosene kan være innbefattet i en blemmepakke. Den farmasøytiske pakken kan eventuelt ytterligere innbefatte instruksjoner for bruk.

Slik det anvendes heri definerer begrepet ”pasient pakke” en pakning, foreskrevet til en pasient, som inneholder farmasøytiske sammensetninger for hele behandlingsforløpet. Pasient pakker inneholder vanligvis en eller flere blemmepakker. Pasient pakker har en fordel i forhold til tradisjonelle foreskrivninger, hvor en farmasøyt deler opp en pasients levering av et farmasøytisk middel fra en bulk levering, ved at pasienten alltid har adgang til pakningsinnlegget innbefattet i pasient pakken, som normalt mangler i pasient foreskrivninger. Inklusjonen av et pakningsinnlegg har vist seg å forbedre pasient føyelighet ved legens instruksjoner.

I et første aspekt tilveiebringer oppfinnelsen et syreaddisjonssalt av en forbindelse med formel (1)



som har det kjemiske navnet (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon, hvori syreaddisjonssalt er salt dannet med melkesyre.

Begrepene “salt” og “syreaddisjonssalt” kan anvendes innbyrdes utbyttbart i denne søknaden på samme måte som begrepene “salter” og “syreaddisjonssalter”. Begrepene “salt” og “salter” slik det anvendes heri refererer til syreaddisjonssaltene med mindre sammenhengen indikerer noe annet.

Referanser til forbindelsen (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon og dens syreaddisjonssalter inkluderer innenfor deres omfang alle solvater, tautomerer og isotoper derav og, der sammenhengen tillater det, N-oksider og andre ione former.

Saltet er saltet dannet med melkesyre, det vil si laktat saltet og særlig L-laktat saltet.

5

I fast tilstand kan saltene i følge oppfinnelsen være krystallinske eller amorfe eller en blanding derav.

I en utførelsesform er saltene amorfe.

10

I et amorft fast stoff eksisterer ikke den tredimensjonale strukturen som normalt eksisterer i en krystallinsk form og posisjonene til molekylerne relativt til hverandre i den amorft formen er essensielt randomisert, se for eksempel Hancock et al. J. Pharm. Sci. (1997), 86, 1.

15

I en annen utførelsesform er saltene i det vesentlige krystallinske.

Saltene i følge oppfinnelsen kan syntetiseres fra mor forbindelsen ved vanlige kjemiske fremgangsmåter slik som fremgangsmåter beskrevet i "Pharmaceutical Salts:

20

Properties, Selection, and Use", P. Heinrich Stahl (redaktør), Camille G. Wermuth (redaktør), ISBN: 3-90639-026-8, innbundet, 388 sider, august 2002. Generelt kan slike salter fremstilles ved omsetning av den frie baseformen av forbindelsen med formel (1) med den passende syren i vann eller i et organisk løsemiddel, eller i en blanding av de to.

25

I et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av et syreaddisjonssalt av (2,4-dihydrokso-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon, hvilken fremgangsmåte innbefatter danning av en løsning av (2,4-dihydrokso-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon fri base i et løsemiddel (typisk et organisk løsemiddel) eller blanding av løsemidler, og behandle løsningen med en syre for å danne et presipitat av syreaddisjonssaltet.

35

Syren kan tilsettes som en løsning i et løsemiddel som er blandbart med løsemiddelet hvori den frie basen løses opp. Løsemiddelet hvori den frie basen initielt løses opp kan være et hvori syreaddisjonssaltet derav er uløselig. Alternativt kan løsemiddelet hvori den frie basen initielt løses opp være et hvori syreaddisjonssaltet er minst delvis løselig,

et forskjellig løsemiddel hvori syreaddisjonssaltet er mindre løselig etterfølgende tilsetning slik at saltet presipiterer ut av løsning.

I en alternativ fremgangsmåte for å danne syreaddisjonssaltet blir (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon
 5 løst i et løsemiddel som innbefatter en flyktig syre og eventuelt et ko-løsemiddel, for derved å danne en løsning av syreaddisjonssaltet med den flyktige syren, og den resulterende løsningen blir deretter konsentrert eller fordampet for å isolere saltet. Som referanse, et eksempel på et syreaddisjonssalt som kan fremstilles på denne måten er
 10 acetat saltet.

Saltet blir typisk presipitert fra det organiske løsemiddelet i det det dannes og kan således isoleres ved separasjon av det faste stoffet fra løsningen, for eksempel ved filtrering.

15 En salt form i følge oppfinnelsen kan omdannes til den frie basen og eventuelt til en annen salt form ved fremgangsmåter godt kjente for fagmannen. For eksempel kan den frie basen dannes ved å passere salt løsningen gjennom en kolonne som inneholder en amin stasjonær fase (for eksempel en Strata-NH₂ kolonne). Alternativt kan en løsning
 20 av saltet i vann behandles med natrium bikarbonat for å nedbryte saltet og presipitere ut den frie basen. Den frie basen kan deretter kombineres med en annen syre ved en av fremgangsmåtene beskrevet ovenfor eller ellers heri.

Salter slike som syreaddisjonssalter har et antall fordeler i forhold til den
 25 korresponderende frie basen. For eksempel vil saltene ha en eller flere av følgende fordeler i forhold til den frie basen ved at de:

- vil være mer løselige og vil således være bedre for i.v. administrasjon (for eksempel ved infusjon)
- vil ha bedre stabilitet (for eksempel forbedret lagringstid);
- 30 • vil ha bedre termisk stabilitet;
- vil være mindre basiske og derved bedre for i.v. administrasjon;
- vil ha fordeler ved produksjon;
- vil ha forbedret løselighet i vandig løsning;
- vil ha bedre fysiokjemiske egenskaper;
- 35 • kan ha forbedret anti-kreft aktivitet; og
- kan ha en forbedret terapeutisk indeks.

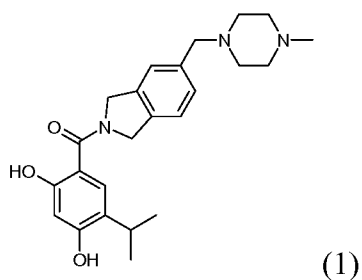
Særlige fordeler ved L-laktat saltet av forbindelsen med formel (1) er at det:

- blir ikke hydratisert og er derfor enklere å formulere;
- har færre polymorfe former enn den frie basen og andre testede former (det vil si saltene dannet med saltsyre og svovelsyre);
- 5 • er ikke-hygroskopiske; og
- har en bedre solubilisierungsgrad enn den frie basen og andre salter testet.

Begrepet “stabil” eller “stabilitet” slik det anvendes heri inkluderer kjemisk stabilitet og fast tilstand (fysisk) stabilitet. Begrepet “kjemisk stabilitet” betyr at forbindelsen kan
 10 lagres i et isolert rom eller i form av en formulering hvori den er tilveiebrakt i blanding for eksempel med farmasøytisk akseptable bærere, fortynningsmidler eller adjuvanter slik det er beskrevet heri, under normale lagringsbetingelser, med liten eller ingen kjemisk nedbryting eller dekomponering, for eksempel i en periode på seks måneder eller mer, mer vanlig tolv måneder eller mer, for eksempel atten måneder eller mer.
 15 ”Fast-tilstand stabilitet” betyr forbindelsen kan lagres i en isolert fast form, eller danner en fast formulering hvori den er tilveiebrakt i blanding for eksempel med farmasøytisk akseptable bærere, fortynningsmidler eller adjuvanter slik det er beskrevet heri, under normale lagringsbetingelser, med liten eller ingen fast tilstand omdanning (for eksempel hydratisering, dehydratisering, solvatisering, desolvatisering, krystallisering,
 20 rekrystallisering eller fast-fase overgang).

Begrepene “ikke-hygroskopisk” og “ikke-hygroskopisitet” og relaterte begreper slik det anvendes heri refererer til substanser som absorberer mindre enn 5 vekt% (relativ til deres egen vekt) av vann når de eksponeres for betingelser med høy relativ fuktighet,
 25 for eksempel 90% relativ fuktighet, og/eller gjennomgår ikke forandringer i krystall form under betingelser med høy fuktighet og/eller absorberer ikke vann inn i krystall emnet (internt vann) under betingelser med høy relativ fuktighet.

I et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen et fyreaddisjonssalt av en forbindelse med
 30 formel (1)



som er at salt dannet med melkesyre hvor den krystallinske formen er selektert fra formen:

FL1: karakterisert ved et XRPD mønster med en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) peak ved

5 16.81 og

FL2: karakterisert ved et XRPD mønster med en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) peak at 22.34.

Med “i det vesentlige krystallinsk” er det ment at melkesyresalter av en forbindelse med formel (1) eller dens syreaddisjonssalt er fra 50% til 100% krystallinsk, og mer
10 foretrukket kan forbindelsen med formel (1) eller dens salt være minst 50% krystallinsk, eller minst 60% krystallinsk, eller minst 70% krystallinsk, eller minst 80% krystallinsk, eller minst 90% krystallinsk, eller minst 95% krystallinsk, eller minst 98% krystallinsk, eller minst 99% krystallinsk, eller minst 99.5% krystallinsk, eller minst 99.9% krystallinsk, for eksempel 100% krystallinsk.

15

Mer foretrukket melkesyresalter av forbindelsen med formel (1) som er 95% til 100% krystallinske, for eksempel minst 98% krystallinsk, eller minst 99% krystallinsk, eller minst 99.5% krystallinsk, eller minst 99.6% krystallinsk eller minst 99.7% krystallinsk eller minst 99.8% krystallinsk eller minst 99.9% krystallinsk, for eksempel 100%

20 krystallinsk.

De krystallinske formene i følge oppfinnelsen, i fast tilstand, kan være solvatisert (for eksempel hydratisert) eller ikke-solvatisert (for eksempel vannfri).

25 I en utførelsesform er de krystallinske formene ikke-solvatiserte (for eksempel vannfri).

Begrepet “vannfri” slik det anvendes heri ekskluderer ikke muligheten for tilstedeværelsen av noe vann på eller i saltet (for eksempel en krystall av saltet). For
30 eksempel kan det være noe vann tilstede på overflaten av saltet (for eksempel saltkrystall) eller mindre mengder inne i saltet (for eksempel krystall). Typisk inneholder en vannfri form færre enn 0.4 molekyler vann per molekyl forbindelse og mer foretrukket inneholder den færre enn 0.1 molekyler vann per molekyl forbindelse, for eksempel 0 molekyler vann.

35

I en annen utførelsesform er de krystallinske formene solvatisert. Der de krystallinske formene er hydratisert kan de inneholde for eksempel opptil molekyler

krystalliseringsvann, mer vanlig opp til to molekyler vann, for eksempel et molekyll vann eller to molekyler vann. Ikke-støkkiometriske hydrater kan også dannes hvori antallet molekyler vann tilstede er mindre enn et eller er ellers et ikke-heltall. For eksempel, der mindre enn et molekyll vann er tilstede, kan det for eksempel 0.4 eller 0.5, eller 0.6, eller 0.7, eller 0.8, eller 0.9 molekyler vann tilstede per molekyll av forbindelse.

Andre solvater inkluderer alkoholater slike som etanolater og isopropanolater.

- 10 De krystallinske formene beskrevet heri, individuelle krystaller derav og deres krystall strukturer danner ytterligere aspekter av foreliggende oppfinnelse.

De krystallinske formene og deres krystall strukturer kan karakteriseres ved anvendelse av et antall teknikker som inkluderer enkel krystall røntgen krystallografi, røntgen pulver diffraksjon (XRPD), differensiell scanning kalorimetri (DSC) og infrarød spektroskopi, for eksempel Fourier Transform infra-rød spektroskopi (FTIR). Oppførselen til krystallene under betingelser med variabel fuktighet kan analyseres ved gravimetrisk damporspsjon studier og også med XRPD.

- 20 Bestemmelse av krystall strukturen til en forbindelse kan utføres med røntgen krystallografi som kan utføres i henhold til vanlige fremgangsmåter, slik som de som er beskrevet heri og i "Fundamentals of Crystallography", C. Giacovazzo, H. L. Monaco, D. Viterbo, F. Scordari, G. Gilli, G. Zanotti og M. Catti, ("International Union of Crystallography/Oxford University Press", 1992 ISBN 0-19-855578-4 (p/b), 0-19-85579-2 (h/b)). Denne teknikken involverer analyse og tolkning av røntgen diffraksjon av enkelt krystall.

Alternativt kan krystall strukturen til en forbindelse analyseres med fastfase teknikk med røntgen pulver diffraksjon (XRPD). XRPD kan utføres i henhold til vanlige fremgangsmåter slik som de som er beskrevet heri og i "Introduction to X-ray Powder Diffraction", Ron Jenkins og Robert L. Snyder (John Wiley & Sons, New York, 1996). Tilstedeværelsen av definerte topper (i motsetning til randomisert bakgrunnsstøy) i et XRPD diffraktogram indikerer at forbindelsen har en grad av krystallinitet.

- 35 En forbindelses røntgen pulver mønster er kjennetegnet ved diffraksjonsvinkelen (2θ) og mellomplan mellomrom (d) parametere til et røntgen diffraksjonsspektrum. Disse er relatert ved hjelp av Bragg's ligning, $n\lambda = 2d \sin \theta$, (hvor $n=1$; λ =bølgelengde til katoden

anvendt; d =mellomplan mellomrom; og θ =diffraksjonsvinkel). Heri er mellomplan mellomrom, diffraksjonsvinkel og totalt mønster viktig for identifisering av krystall i røntgen pulver diffraksjonen, på grunn av data karakteristikene. Den relative intensiteten bør ikke tolkes strengt siden den kan variere avhengig av retningen på krystallvekst, partikkelstørrelser og målbetingelser. I tillegg betyr diffraksjonsvinklene vanligvis de som ligger innenfor området $2\theta \pm 0.2^\circ$. Toppene betyr hovedtopper og inkluderer topper som ikke er større enn middels ved diffraksjonsvinkler forskjellige fra de som er angitt ovenfor.

- 10 Forbindelsen med formel (1) og dens syreaddisjonssalter eksisterer i et antall forskjellige krystallinske former og disse er beskrevet mer i detalj nedenfor og er karakterisert i eksemplene.

15 Krystallinske former av den frie basen av (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon.

Den frie basen av forbindelsen med formel (1) har blitt funnet å eksistere i minst seks forskjellige krystallinske former hvor tre (formene angitt heri som FB1, FB2 og FB5) er ustabile i luft, og tre (formene betegnet heri som FB3, FB4 og FB6) er stabile i luft.

- 20 Karakteristikkene til de krystallinske formene av den frie basen er beskrevet i Eksempel 6A nedenfor.

Form FB1

- 25 I et sammenligningseksempel, er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon i en krystallinsk form kjennetegnet ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel topp ($2\theta/^\circ$) ved 5.52.

- 30 Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også topper ved diffraksjonsvinkler ($2\theta/^\circ$) på 15.21, 16.11, 16.72, 18.21 og 20.29.

Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret også topper ved diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) på 9.44, 11.05, 11.99, 17.09, 19.23, 19.73, 21.09 og 26.72.

- 35 Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 1 heri.

I et annet aspekt tilveiebringer sammenligningseksempellet en fremgangsmåte for fremstilling av krystallinsk form FB1, hvilken fremgangsmåte innbefatter oppløsning av (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon i n-butanol for å danne en mettet løsning og deretter tilsette di(isopropyl) eter for å presipitere den krystallinske formen FB1.

Krystall form FB1 er ustabil i luft og omdanner til form FB3 (se nedenfor) ved henstand.

Følgelig tilveiebringer sammenligningseksempellet også en fremgangsmåte for fremstilling av krystallinsk form FB3 som definert heri, hvilken fremgangsmåte innbefatter eksponering av form FB1 for luft i en tidsperiode tilstrekkelig til å muliggjøre omdanning til FB3 å finne sted.

Form FB2

I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon i en krystallinsk form kjennetegnet ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel topp ($2\theta^\circ$) ved 5.35.

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 14.68, 17.00, 18.61, 19.86 og 20.15.

Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 6.73, 10.40, 10.67, 18.26, 18.87, 19.24, 21.13, 21.44 og 26.86.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 2 heri.

I et annet aspekt tilveiebringer sammenligningseksempellet en fremgangsmåte for fremstilling av krystallinsk form FB2, hvilken fremgangsmåte innbefatter oppløsning av (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon i THF for å danne en mettet løsning og deretter tilsette isopropyl acetat for å presipitere den krystallinske formen FB2.

Krystall form FB2 er også ustabil i luft og omdanner til form FB3 (se nedenfor) ved henstand.

Følgelig tilveiebringer foreliggende oppfinnelsen også en fremgangsmåte for fremstilling av krystallinsk form FB3 som defined heri, hvilken fremgangsmåte innbefatter eksponering av form FB2 for luft i en tidsperiode tilstrekkelig til å muliggjøre omdanning til FB3 å finne sted.

5

Form FB3

I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon i en krystallinsk form
10 kjennetegnet ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) topp ved 6.05.

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) topper ved 12.15, 13.60, 15.77, 17.82, 18.89, 19.64, 20.20 og 20.93.

15 Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) topper ved 7.87, 9.15, 10.22, 16.62, 17.16, 22.19, 23.33 og 24.53.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 3 heri.

20 Form FB3 er stabil i luft ved 40°C og i 75% relativ fuktighet i minst en måned og er derfor egnet for anvendelse i faste farmasøytiske sammensetninger. Følgelig, i et annet aspekt, tilveiebringer sammenligningseksempelen fast farmasøytisk sammensetning som innbefatter 2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon fri base i krystallinsk form FB3 som definert heri.

25

Form FB4

I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon i en krystallinsk form
30 kjennetegnet ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) topp ved 6.29.

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) topper ved 8.91, 9.96, 14.11, 16.11, 17.11, 18.48, 19.91, 21.57, 22.46, 23.59 og 24.88.

35 Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) topper ved 12.62, 17.40, 17.88, 19.33, 20.35 og 27.25.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 4 heri.

Fra røntgen krystallografi studier har det blitt funnet at form FB4 har en krystall struktur som tilhører den tetragonale mellomrom gruppe $P4_2/n$ og har krystallinske gitter
 5 parametere ved 293 K $a=b=28.2$, $c=6.0$ Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$. Krystall pakke diagrammet er vist i Figur 5.

Følgelig, i en annen utførelsesform, tilveiebringer sammenligningseksempelet (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-
 10 2-yl]-metanon fri base som er krystallinsk og:

- (a) har en krystall struktur slik det er fremsatt i Figur 5; og/eller
- (b) har en krystall struktur som definert ved koordinatene i Tabell 5 heri; og/eller
- (c) har krystall gitter parametere ved 293 K $a=b=28.2$, $c=6.0$ Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$; og/eller
- 15 (d) har en krystall struktur som tilhører en tetragonal mellomrom gruppe slik som $P4_2/n$.

Krystallinsk form FB4 er et stabilt dihydrat og kan anvendes for fremstilling av faste farmasøytiske sammensetninger. Følgelig, i et annet aspekt, tilveiebringer
 20 sammenligningseksempelet en fast farmasøytisk sammensetning som innbefatter 2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon fri base i krystallinsk form FB4 som definert heri.

I et annet aspekt tilveiebringer sammenligningseksempelet en fremgangsmåte for
 25 fremstilling av krystallinsk form FB4, hvilken fremgangsmåte innbefatter oppløsning av (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon i etanol for å danne en mettet løsning og deretter tilsette di(isopropyl) eter for å presipitere den krystallinske formen FB4.

30 Form FB5

I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon i en krystallinsk form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) topp ved 7.12.

35 Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) topper ved 9.71, 10.14, 13.73, 16.58, 18.71, 19.46, 20.15 og 22.35.

Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 11.50, 14.60, 15.34, 16.94, 21.97, 23.43 og 26.36.

- 5 Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 6 heri.

I et annet aspekt tilveiebringer sammenligningseksemplet en fremgangsmåte for fremstilling av krystallinsk form FB5, hvilken fremgangsmåte innbefatter oppløsning av (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon i isopropanol for å danne en mettet løsning og deretter tilsette
10 isopropyl acetat for å presipitere den krystallinske formen FB5.

Form FB6

- 15 I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon i en krystallinsk form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topp ved 18.66.

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 9.09,
20 9.68, 16.08, 16.46, 16.94, 18.13, 20.05 og 22.48.

Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 4.60 og 26.53.

- 25 Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 7 heri.

Krystallinske former av saltene dannet mellom (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon og saltsyre (sammenligningseksempel).

30

Saltsyre saltene av forbindelsen med formel (1) har blitt funnet å eksistere i minst fem forskjellige krystallinske former av hvilke en (formen betegnet heri som FH3) er stabil i luft, og fire (formene betegnet heri som FH1, FH2, FH4 og FH5) er ustabile i luft.

35

Form FH1

I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon hydroklorid salt i en
5 krystallinsk form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topp ved 7.34.

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 5.59, 7.99, 10.33, 14.32, 15.29, 18.59 og 25.32.

10 Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 11.70, 13.95, 14.72, 16.37, 16.82, 19.99, 20.40, 20.82, 21.26, 22.57, 23.01, 24.60, 25.82, 27.10, 28.27 og 28.78.

15 Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 8 heri.

I et annet aspekt tilveiebringer sammenligningseksempelen en fremgangsmåte for fremstilling av krystallinsk form FH1, hvilken fremgangsmåte innbefatter tilsetning av etyl acetat/HCl og metanol til den frie basen av 2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-
20 (4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon for å gi en løsning og deretter fjerne løsemidlene for å gi di-hydroklorid saltet.

Form FH2

25 I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon hydroklorid salt i en krystallinsk form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topp ved 3.40.

30 Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 6.81, 9.03, 11.84, 15.70, 16.10, 18.13, 20.84, 23.19, 23.94, 24.78 og 25.65.

Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 6.04, 13.01, 13.69, 16.59, 17.17, 21.39, 21.87, 24.78, 25.97, 26.94, 27.59, 28.06 og
35 29.53.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 9 heri.

Form FH2 kan fremstilles ved presipitasjon fra en mettet DMF løsning form FH1 ved anvendelse av aceton som anti-løsemiddelet. Følgelig, i et annet aspekt, tilveiebringer sammenligningseksempeleten fremgangsmåte for fremstilling av krystallinsk form FH2, 5 hvilken fremgangsmåte innbefatter danning av mettet løsning av form FH1 i DMF og deretter tilsette aceton for å presipitere form FH2.

Form FH3

- 10 I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon hydroklorid salt i en krystallinsk form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topp ved 9.35.
- 15 Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 10.40, 10.78, 12.51, 14.78, 18.74, 19.09, 21.68, 22.32, 23.07, 24.86, 25.14 og 29.02.

Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 5.83, 10.78, 11.35, 11.71, 13.35, 13.81, 14.10, 17.18, 17.65, 19.46, 20.11, 21.18, 20 23.71, 26.49, 27.03, 28.09, 28.70 og 29.52.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 10 heri.

- Form FH3 kan fremstilles ved tilsetning av HCl i dioksan til en etanol løsning av (2,4- 25 dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon fri base. Følgelig, i et annet aspekt, tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av hydroklorid salt formen FH3, hvilken fremgangsmåte innbefatter (i) løse opp 2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon fri base i etanol, (ii) tilsette dertil en 30 løsning av hydrogenklorid i dioksan; (iii) fordampe den resulterende blandingen til tørrhet; (iv) løse opp residuet i varm etanol:vann (9:1; 5 mL); (v) så løsningen og røre løsningen i en periode på minst to timer (for eksempel minst 4 eller 6 eller 8 eller 10 eller 12 eller 14 timer), og fjerne den presipiterte formen FH3.

Form FH4

I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-
piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon hydroklorid salt i en
5 krystallinsk form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel
($2\theta^\circ$) topp ved 11.62.

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 7.04,
11.62, 15.54, 16.68, 18.54, 20.73, 22.26, 22.94, 23.77 og 25.07.

10 Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper
ved 9.89, 12.30, 13.27, 14.14, 16.06, 17.99, 19.24, 23.36, 24.63, 25.72, 26.91 og 27.63.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 11 heri.

15 Form FH4 kan fremstilles ved presipitasjon fra DMF løsning ved anvendelse av 1,4-
dioksan som anti-løsemiddelet. Følgelig, i et annet aspekt, tilveiebringer
sammenligningseksempelen en fremgangsmåte for fremstilling av krystallinsk form
FH4, hvilken fremgangsmåte innbefatter dannelsen av mettet løsning av form FH1 i
20 DMF og deretter tilsette 1,4-dioksan for å presipitere form FH4.

Form FH5

I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-
25 piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon hydroklorid salt i en
krystallinsk form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel
($2\theta^\circ$) topp ved 2.32.

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 6.15,
30 11.79, 15.79, 20.81, 22.76 og 23.76.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 12 heri.

Form FH5 kan fremstilles ved presipitasjon fra en mettet metanol løsning ved
35 anvendelse av aceton som anti-løsemiddelet.

Krystallinske former av saltet dannet mellom (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon og L-melkesyre

Melkesyre saltene av forbindelsen med formel (1) kan eksistere i en ustabil form (FL3)
5 og to stabile former (FL1 og FL2).

Form FL1

10

I en annen utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon L-laktat salt i en krystallinsk form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topp ved 16.81.

15

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 6.53, 13.10, 14.13, 14.40, 17.22, 18.65, 19.52, 19.82, 22.33, 22.84 og 23.09.

20

Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 6.18, 8.39, 11.08, 15.21, 16.21, 20.49, 20.76, 21.13, 22.02, 23.94, 25.19, 26.41, 26.95 og 27.81.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 13 heri.

25

Form FL1 kan fremstilles ved å suspendere (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon fri base i en blanding av etanol og EtOAc (for eksempel i et volum forhold på 3:5); tilsette L-melkesyre til blandingen (for eksempel hvori L-melkesyren er i form av en løsning i etanol); klargjøre blandingen (for eksempel ved oppvarming til klar løsning og/eller filtrere fra eventuelt
30 gjenværende fast stoff); røre den klargjorte blandingen med såing og fjerne krystallisert form FL1, for eksempel ved filtrering.

Form FL2

35

I en annen utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon L-laktat

salt i en krystallinsk form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topp ved 22.34.

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 8.03,
 10.71, 11.98, 13.13, 15.39, 16.09, 16.61, 17.26, 18.17, 18.82, 20.40, 21.01, 21.53,
 22.34, 22.56, 23.71 og 27.70.

Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 24.30, 24.65, 26.56 og 28.29.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 14 heri.

Fra røntgen krystallografi studier har det blitt funnet at form FL2 har en krystall struktur som tilhører den monokliniske mellomrom gruppe $P2_1$ og har krystall gitter parametere ved 293 K $a=5.8$ $b=16.6$, $c=14.9$ Å, $\beta = 98^\circ$ $\alpha = \gamma = 90^\circ$. Krystall pakke diagrammet for FL2 er vist i Figur 15 heri.

Følgelig, i en annen utførelsesform, tilveiebringer oppfinnelsen (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon L-laktat som er krystallinsk og:

- (a) har en krystall struktur slik det er fremsatt i Figur 15; og/eller
- (b) har en krystall struktur som definert ved koordinatene i Tabell 16 heri; og/eller
- (c) har krystall gitter parametere ved 293 K $a=5.8$ $b=16.6$, $c=14.9$ Å, $\beta = 98^\circ$ $\alpha = \gamma = 90^\circ$; og/eller
- (d) har en krystall struktur som tilhører en monoklinisk mellomrom gruppe slik som $P2_1$.

Krystallinsk form FL2 er et stabilt hydrat som er nominelt et trihydrat siden det er tre krystallvann posisjoner i den asymmetriske enheten, men de er ikke 100% okkupert ved romtemperatur og fuktighet. Form FL2 kan anvendes for fremstillingen av faste farmasøytiske sammensetninger. Følgelig, i et annet aspekt, tilveiebringer oppfinnelsen en fast farmasøytisk sammensetning som innbefatter 2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon L-laktat i krystallinsk form FL2 slik det er definert heri.

Form FL2 kan fremstilles ved presipitasjon fra en mettet vandig metanol løsning ved anvendelse av aceton som anti-løsemiddelet. Følgelig, i et annet aspekt, tilveiebringer

oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av krystallinsk form FL2, hvilken fremgangsmåte innbefatter danning av mettet løsning av form FL1 i metanol:vann (foretrukket i et 9:1 forhold) og deretter tilsette aceton for å presipitere form FL2.

5 Form FL3

I en annen utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon L-laktat salt i en krystallinsk form karakterisert ved et XRPD mønster som har en
10 diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topp ved 5.53.

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 11.07, 13.16, 16.69, 17.17, 18.00, 18.49, 19.28, 21.05, 22.47 og 22.84.

15 Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 8.36, 13.85, 19.79, 20.34, 21.47, 21.93, 24.56, 26.28, 27.06, 27.47 og 29.11.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 16 heri.

20 Form FL3 er en ustabil form som kan fremstilles ved presipitasjon fra en mettet THF løsning ved anvendelse av heptan som anti-løsemiddelet. Følgelig, i et annet aspekt, tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av krystallinsk form FL3, hvilken fremgangsmåte innbefatter dannelse av en mettet løsning av form FL1 i THF og deretter tilsette heptan for å presipitere form FL3.

25

Krystallinske former av saltene dannet mellom (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon og svovelsyre (sammenligningseksempel)

30 Svovelsyre saltene eksisterer i to ustabile former (FS1 og FS2) og fire stabile former (FS3, FS4, FS5 og FS6).

Et 1:1 salt kan fremstilles ved å løse opp (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon fri base i svovelsyre og
35 deretter fordampe til tørrhet.

Form FS1

I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-
piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon sulfat salt i en krystallinsk
5 form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) topp ved
4.79.

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) topper ved 10.02,
11.28, 14.38, 15.27, 16.91, 18.29, 20.12, 21.76 og 22.32.

10 Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) topper
ved 10.68, 12.89, 17.64, 18.86, 19.28, 20.82, 21.21, 22.89, 23.83, 24.22, 24.42, 25.13
og 29.04.

15 Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 17 heri.

Form FS1 kan fremstilles ved fremstilling av en mettet løsning av 1:1 saltet (se ovenfor)
i vann ved romtemperatur og deretter sakte tilsette acetonitril for å presipitere formen
FS1.

20 Følgelig, i et annet aspekt, tilveiebringer sammenligningseksempelen en fremgangsmåte
for fremstilling av krystallinsk form FS1, hvilken fremgangsmåte innbefatter dannelsen
av en mettet løsning av form 1:1 saltet i vann og deretter tilsette acetonitril for å
presipitere form FS1.

Form FS2

I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-
piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon sulfat salt i en krystallinsk
30 form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) topp ved
7.43.

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta/^\circ$) topper ved 7.03,
8.67, 11.76, 13.84, 17.50 og 23.20.

Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 4.17, 8.09, 9.27, 9.65, 10.41, 10.98, 12.53, 14.55, 15.39, 16.24, 16.89, 18.05, 18.93, 19.47, 24.21, 25.21, 25.75, 26.62 og 27.67.

- 5 Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 18 heri.

I et annet aspekt tilveiebringer sammenligningseksempelet en fremgangsmåte for fremstilling av Form FS2, hvilken fremgangsmåte innbefatter oppløsning av Forbindelse (1) i konsentrert H_2SO_4 og tilsette acetonitril (for eksempel 4 volum relativ
10 til H_2SO_4) for å presipitere form FS2.

Form FS3

- 15 I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon sulfat salt i en krystallinsk form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topp ved 5.43.

- 20 Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 10.30, 11.24, 14.26, 14.91, 16.41, 17.53, 18.38, 18.61, 19.01, 19.92, 21.77, 22.67, 24.23 og 25.36.

- Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper
25 ved 4.81, 12.94, 13.98, 15.62, 19.38, 20.27, 20.71, 21.19, 23.79, 27.38 og 28.82.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 19 heri.

Form FS3 kan fremstilles ved å la form FS1 tørke i 2 dager i luft.

30

Form FS4

- I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon sulfat salt i en krystallinsk
35 form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topp ved 7.48.

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 7.16, 7.97, 8.82, 9.09, 9.37, 10.45, 11.77, 14.36, 16.21, 16.99, 17.28, 17.59, 18.90, 23.13, 23.68 og 23.96.

- 5 Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 4.64, 8.42, 13.25, 13.54, 15.03, 17.96, 19.43, 19.83, 21.36, 24.77, 25.64, 26.19, 26.73, 27.20, 27.76 og 28.64.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 20 heri.

10

Form FS4 kan fremstilles ved å inkubere form FS2 i flere uker ved 40°C og 75% RH.

Form FS5

- 15 I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon sulfat salt i en krystallinsk form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topp ved 7.99.

- 20 Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 7.11, 9.33, 9.57, 10.45, 11.64, 13.27, 14.28, 15.60, 16.98, 17.65, 18.01, 18.80, 23.21, 23.51, 23.92, 25.06 og 26.24.

- Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper
25 ved 4.70, 14.65, 15.12, 19.32, 19.83, 21.08, 24.30, 27.28 og 28.67.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 21 heri.

Form FS5 kan fremstilles ved fremstilling ved å la form FS2 tørke i luft.

30

Form FS6

- I et annet sammenligningseksempel er (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon sulfat salt i en krystallinsk
35 form karakterisert ved et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topp ved 4.82.

Foretrukket fremviser XRPD mønsteret også diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper ved 9.98, 14.45, 15.38, 16.97, 18.18, 20.23, 20.93 og 22.29.

Mer foretrukket fremviser XRPD mønsteret ytterligere diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$) topper
 5 ved 11.35, 12.92, 17.52, 19.42, 21.31, 21.66, 21.89, 22.84, 23.04, 23.94, 24.51, 25.26 og 29.18.

Mest foretrukket er XRPD mønsteret i det vesentlige slik det er vist i Figur 22 heri.

10 Form FS6 kan fremstilles ved fremstilling av en mettet løsning av 1:1 saltet (se ovenfor) i DMF og deretter tilsette toluen for å presipitere formen FS6.

Farmaøytisk anvendelse av syreaddisjonsalter og krystallinske former av forbindelse
 (1)

15

I et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen melkesyresalter (f.eks. L-laktat salt) eller kombinasjoner omfattende salt til bruk:

- i medisin
- som en inhibitor av Hsp90; eller
- 20 • i behandling av en sykdom eller tilstand som innbefatter eller som et resultat av unormal cellevekst hos et pattedyr; eller
- i en fremgangsmåte for inhibering av Hsp90, hvor fremgangsmåten innebefatter å bringe Hsp90 i kontakt med en Hsp-90 inhiberende forbindelse, krystallinsk form eller syreaddisjonsalt; eller
- 25 • ved behandling av en proliferativ sykdom valgt fra karsinom i blære, bryst, kolon, nyre, epidermis, lever, lunge, spiserør, galleblære, eggstokk, bukspyttkjertel, mage, cervix, tyroid, prostata, gastrointestinal system, eller hud, en hematopoietisk tumor av lymfoid type, en hematopoietisk tumor av myeloid type, tyroid follikulær kreft; en tumor av mesenchymal opprinnelse, en tumor i
- 30 det sentrale eller perifere nervesystemet, teratokarsinom, melanom, seminom, osteosarkom, xeroderma pigmentosum, keratoacanthom, tyroid follikulær kreft eller Kaposi's sarkom; eller
- ved fremstilling av et medikament for profylakse eller behandling av en fungal, protozoal eller parasitt sykdom eller tilstand, forskjellig fra en sykdom eller
- 35 tilstand på grunn av Plasmodium falciparum; eller
- ved fremstilling av et medikament for koadministrasjon med et anti-fungalt middel, anti-protozoalt middel eller anti-parasitt middel fortrinnsvis et anti-

fungalt middel for å hindre, redusere eller reversere utviklingen av resistens ovenfor det antifungale middelet, anti-protozoale middelet eller anti-parasitt middelet;

- 5 • i en fremgangsmåte for å hindre eller redusere utvikling av resistens ovenfor et antifungalt middel hos en pasient , hvor fremgangsmåten innbefatter administrering til pasienten en kombinasjon av et anti-fungalt middel, anti-protozoalt middel eller anti-parasitt middel og forbindelsen, krystallinsk form eller syreaddisjonssalt; eller
- 10 • ved fremstilling av et medikament for anvendelse ved reduksjon eller eliminering av smerte hos en pasient som lider av smerte;
- 15 • ved fremstilling av et medikament for behandling av en hvilken som helst av nocicepsjon, somatisk smerte, visceral smerte, akutt smerte, kronisk smerte, hyperalgesi, allodyni, postoperativ smerte, smerte på grunn av hypersensitivitet, hodepine, inflammatorisk smerte, neurologisk smerte, muskelskjelett smerte, kreft relatert smerte eller vaskulær smerte; eller
- 20 • i en fremgangsmåte for hindring eller redusering av neuronal skade hos en pasient som lider av slag, hvor fremgangsmåten innbefatter administrering til pasienten en effektiv neurobeskyttende mengde av forbindelsen, krystallinsk form eller syreaddisjonssalt; eller
- 25 • ved fremstilling av et medikament for hindring eller redusering av risiko for slag hos pasienter med risiko for slag; eller
- ved profylakse eller behandling av en viral infeksjon eller viral sykdom; eller
- ved anvendelse ved blokkering eller inhibering av viral replikasjon hos en vertsorganisme; eller
- 30 • i en fremgangsmåte for å blokkere eller inhibere viral replikasjon hos en vertsorganisme, hvor fremgangsmåten innbefatter administrering av forbindelsen, krystallinsk form eller syreaddisjonssalt til vertsorganismen; eller
- i en fremgangsmåte for (i) sensitisere malignante celler ovenfor et antikreft legemiddel; (ii) lindre eller redusere tilfelle av resistens ovenfor et antikreft legemiddel; (iii) reversere resistens ovenfor et antikreft legemiddel; (iv) potensierte aktiviteten til et antikreft legemiddel; (v) forsinke eller hindre utbrudd av resistens ovenfor et antikreft legemiddel, hvor fremgangsmåten innbefatter administrering til et individ som trenger forbindelsen, den krystallinske formen eller syreaddisjonssaltet; eller
- 35 • i en fremgangsmåte for å behandle en kreft, hvor fremgangsmåten innbefatter administrering av forbindelsen, den krystallinske formen eller

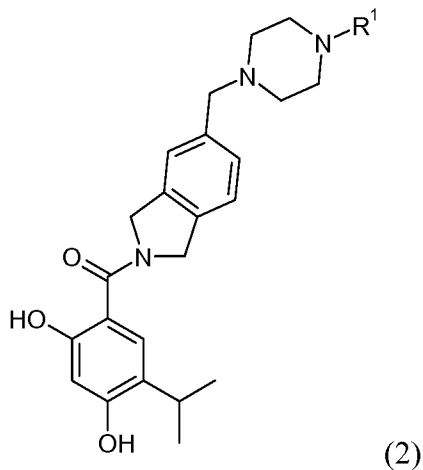
syreaddisjonssaltet til et individ som trenger det, der metoden er kjennetegnet ved fravær av medikament resistens; eller

- i en fremgangsmåte for profylakse eller behandling eller lindring eller reduksjon av tilfelle av en sykdom eller tilstand mediert av Hsp90 hos et individ som gjennomgår behandling med et terapeutisk middel hvor fremgangsmåten innbefatter administrering av forbindelsen, den krystallinske formen eller syreaddisjonssaltet til individet, hvori sykdommen eller tilstanden mediert av Hsp90 er utvikling av resistens ovenfor nevnte terapeutiske middel; eller
- i en fremgangsmåte for: (i) sensitisere maligne celler ovenfor et antikreft middel; (ii) lindre eller redusere tilfelle av resistens ovenfor et antikreft middel; (iii) reversere resistens ovenfor et antikreft middel; (iv) potensierte aktiviteten til et antikreft middel; (v) forsinke eller hindre utbruddet av resistens ovenfor et antikreft middel, hvor fremgangsmåten innbefatter administrering av forbindelsen, den krystallinske formen eller syreaddisjonssaltet til et individ som gjennomgår behandling med nevnte antikreft middel av forbindelsen, den krystallinske formen eller syreaddisjonssaltet; eller
- i en fremgangsmåte for behandling av kreft hos et individ som gjennomgår behandling med et antikreft middel, hvilken fremgangsmåte innbefatter administrering av forbindelsen, krystallinsk form eller syreaddisjonssalt til et individ som trenger det av forbindelsen, den krystallinske formen eller syreaddisjonssaltet, hvor fremgangsmåten er kjennetegnet ved fravær av legemiddel resistens ovenfor antikreft middelet.

Oppfinnelsen tilveiebringer også nye fremgangsmåter for fremstilling av en forbindelse med formel (1), analoger derav og deres syreaddisjonssalter (for eksempel et L-laktat salt) og også nye fremgangsmåter for fremstilling av nøkkel intermediater ved syntesen av forbindelsen med formel (1).

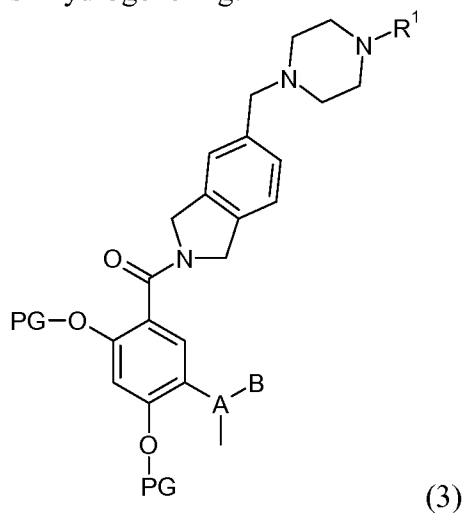
41

Følgelig, i et annet aspekt, tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (2):



5

hvor R^1 er C_{1-4} alkyl; hvilken fremgangsmåte innbefatter å underkaste en forbindelse med formel (3) for katalytisk hydrogenering:



10 hvor PG er en beskyttende gruppe som kan fjernes under hydrogeneringsbetingelser og A-B er $CH-CH_3$ eller $C=CH_2$ og, når produktet i fremgangsmåten er en fri base, deretter eventuelt omdanne forbindelsen med formel (2) til et syreaddisjonssalt (for eksempel et L-laktat salt).

15 Den beskyttende gruppen PG er foretrukket en benzyl gruppe.

Bestanddelen A-B kan enten være $CH-CH_3$ eller $C=CH_2$.

I en utførelsesform er bestanddelen A-B $C=CH_2$.

I en annen utførelsesform er bestanddelen A-B CH-CH₃.

Den katalytiske hydrogeneringen blir typisk utført ved anvendelse av en palladium
5 katalysator, for eksempel palladium på karbon (palladium på trekull).

Fremgangsmåten ovenfor kan anvendes for fremstilling av en forbindelse med formel (1) eller dens etyl, propyl og butyl homologer. Foretrukket blir fremgangsmåten anvendt for fremstilling av forbindelser hvori R¹ er metyl eller etyl.

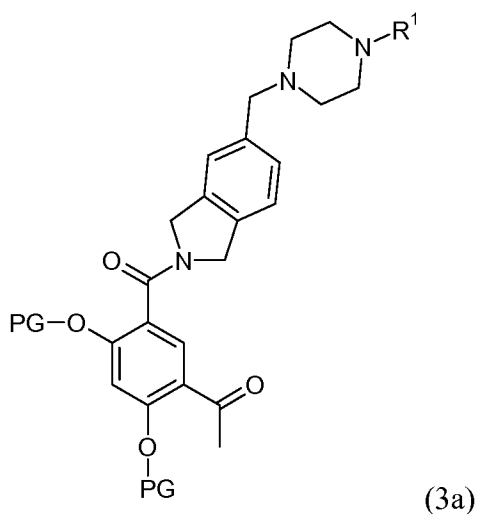
10

I en utførelsesform er R¹ metyl, det vil si fremgangsmåten anvendes for fremstilling av forbindelsen med formel (1).

I en annen utførelsesform er R¹ etyl.

15

Forbindelser med formel (3) kan fremstilles ved reaksjon mellom en forbindelse med formel (3a):



20 og et Wittig reagens eller et annet reagens egent for omdanning av gruppen -C(=O)-CH₃ til en gruppe -C(=CH₂)-CH₃. For eksempel kan acetofenon forbindelsen (3a) omsettes med Wittig reagentset MePPh₃Br under nærvær av en base slik som butyl litium eller kalium tert-butoksid i THF som gir en forbindelse med formel (3) hvori A-B er C=CH₂.

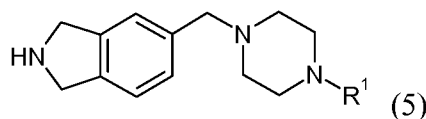
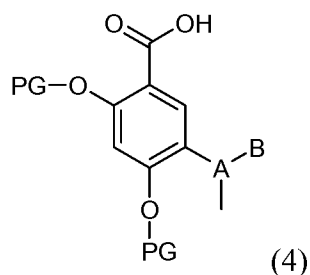
25 Således, i et annet aspekt, tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (3) som definert heri, hvilken fremgangsmåte innbefatter reaksjon mellom en forbindelse med formel (3a) som definert tidligere og et Wittig

reagens eller annet reagens egnet for omdanning av gruppen $-C(=O)-CH_3$ til en gruppe $-C(=CH_2)-CH_3$.

Alternativt, og mer foretrukket, kan forbindelser med formel (3) fremstilles ved reaksjon mellom en substituert benzosyre med formel (4) nedenfor, eller en aktivert form eller derivat derav, og et isoindolin med formel (5) nedenfor.

Følgelig, i et annet aspekt, tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (3) som definert heri, hvilken fremgangsmåte innbefatter:

(a-i) reaksjonen mellom en forbindelse med formel (4), eller en aktivert form eller derivat derav og en forbindelse med formel (5):



under amid dannelses betingelser.

Oppfinnelsen tilveiebringer ytterligere en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (2) som definert heri, hvilken fremgangsmåte innbefatter:

(a-i) reaksjonen mellom en forbindelse med formel (4) som definert heri, eller en aktivert form eller derivat derav og en forbindelse med formel (5) som definert heri, under amid dannelses betingelser for å gi en forbindelse med formel (3); og

(b) underkaste forbindelsen med formel (3) for katalytisk hydrogenering for å fjerne de beskyttende gruppene PG og, når A-B er $C=CH_2$, redusere gruppen A-B til en isopropyl gruppe og, når produktet i fremgangsmåten er en fri base, deretter eventuelt omdanne forbindelsen med formel (2) til et syreaddisjonssalt (for eksempel et L-laktat salt).

Før omsetning av benzosyren (4) med isoindolinet (5) kan benzosyren først omdannes til et syreklorid ved behandling med tionyl klorid, eller ved reaksjon med oksalyl klorid

under nærvær av en katalytisk mengde dimetyl formamid, eller ved reaksjon mellom et kalium salt av syren og oksalyl klorid. Syrekloridet kan deretter omsettes med isoindolinet (5) under nærvær av en ikke-interfererende base slik som trietylamin. Reaksjonen kan utføres rundt romtemperatur i et polart løsemiddel slik som dioksan.

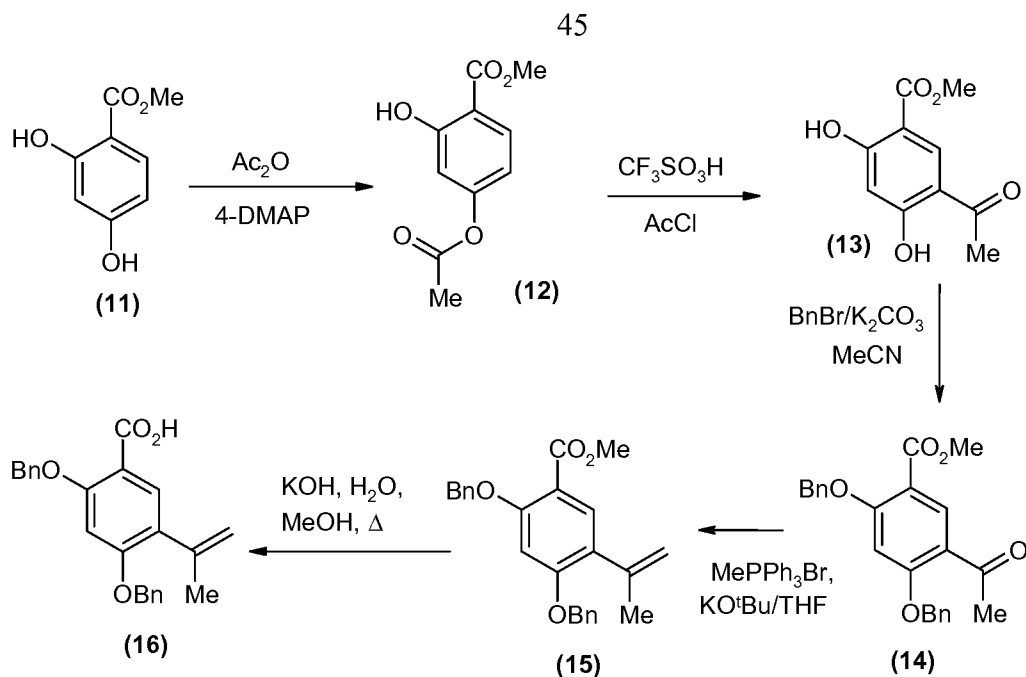
- 5 Som et alternativ til anvendelse av syreklorid fremgangsmåten beskrevet ovenfor kan benzosyren (4) omsettes med isoindolinet (5) under nærvær av amid koblingsreagenser av typen vanligvis anvendt ved dannelsen av amid eller peptid bindinger. Eksempler på slike reagenser inkluderer 1,1'-karbonyldiimidazol (CDI), 1,3-dicykloheksylkarbodiimid (DCC) (Sheehan *et al*, *J. Amer. Chem Soc.* 1955, 77, 1067), 1-etyl-3-(3'-dimetylaminopropyl)-karbodiimid (referert til heri enten som EDC eller EDAC, men også kjent i litteraturen som EDCI og WSCDI) (Sheehan *et al*, *J. Org. Chem.*, 1961, 26, 2525), uronium-baserte koblingsmidler slik som *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluronium heksafluorfosfat (HATU) og 15 fosfonium-baserte koblingsmidler slik som 1-benzo-triazolyloksytris-(pyrrolidino)fosfonium heksafluorfosfat (PyBOP) (Castro *et al*, *Tetrahedron Letters*, 1990, 31, 205). Karbodiimid-baserte koblingsmidler blir fordelaktig anvendt i kombinasjon med 1-hydroksy-7-azabenzotriazol (HOAt) (L. A. Carpino, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1993, 115, 4397) eller 1-hydroksybenzotriazol (HOBt) (Konig *et al*, *Chem. Ber.*, 103, 708, 2024-2034). Foretrukne koblingsreagenser inkluderer EDC (EDAC) og DCC i kombinasjon med HOAt eller HOBt.

Et særlig koblingsreagens innbefatter EDC i kombinasjon med HOBt.

- 25 Et foretrukket koblingsmiddel er 1,1'-karbonyldiimidazol (CDI).

- Koblingsreaksjonen blir typisk utført i et ikke-vandig, ikke-protisk løsemiddel slik som acetonitril, dioksan, dimetylsulfoksid, diklormetan, dimetylformamid eller *N*-metylpyrrolidin, eller i et vandig løsemiddel eventuelt sammen med et eller flere 30 blandbare ko-løsemidler. Reaksjonen kan utføres ved romtemperatur. Reaksjonen kan utføres under nærvær av en ikke-interfererende base, for eksempel et tertiært amin slik som trietylamin eller *N,N*-diisopropyletylamin.

- Forbindelsene med formel (4) hvori A-B er C=CH₂ kan fremstilles ved sekvensen i 35 reaksjonene vist i Skjema 1.



- Utgangsmaterialet for Skjema 1 er 2,4-dihydroksybenzosyre metyl ester (11) som blir
- 5 monoacetyleret ved reaksjon med eddiksyre anhydrid under nærvær av N,N-dimetyl-4-aminopyridin for å gi di-esteren (12). Omdanning av di-esteren (12) til det substituerte acetofenonet (13) oppnås ved omsetning av forbindelse (12) med trifluormetansulfonsyre og eventuelt acetyl klorid for å gi acetofenonet (13).
- Acetofenonet (13) behandles med benzyl bromid under nærvær av en base slik som
- 10 kalium karbonat for å gi dibenzyl forbindelsen (14) som deretter omsettes med Wittig reagens MePPh_3Br under nærvær av en base slik som butyl litium eller kalium tert-butoksid i THF for å gi isopropenyl forbindelsen (15). Ester hydrolysen til karboksylsyren (16) blir typisk utført ved behandling med et vandig alkalimetall hydroksid slik som kalium natrium hydroksid. Hydrolysereaksjonen kan utføres ved
- 15 anvendelse av et organisk ko-løsemiddel slik som en alkohol (for eksempel metanol) og reaksjonsblandingen blir typisk varmet opp til en ikke-ekstrem temperatur, for eksempel opptil cirka 50-90°C.

- Forbindelser med formel (4) hvori A-B er $\text{CH}-\text{CH}_3$ kan fremstilles slik det er beskrevet i
- 20 Skjema 1 unntatt at isopropenyl forbindelsen (15) reduseres til den korresponderende isopropyl forbindelsen ved katalytisk hydrogenering og den resulterende dihydroksyforbindelsen blir deretter re-benzylert ved reaksjon med benzyl bromid under nærvær av en base som beskrevet ovenfor.

Reaksjonssekvensen illustrert i Skjema 1 ovenfor gir utbytter som er signifikant bedre enn utbyttene i de korresponderende trinnene i Skjema 4 i PCT/GB2006/001382 og gjør anvendelse av reagenser og betingelser som er bedre egnet for utføring av skalert syntese. Videre, og svært viktig ut fra hensynet til stor skala syntese, trenger

5 reaksjonssekvensen vist i Skjema 1 ikke kromatografisk rensing.

Følgelig tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte ("Intermediat fremgangsmåte A") for fremstilling av en forbindelse med formel (13):



hvilken fremgangsmåte innbefatter:

(i) reaksjonen mellom en forbindelse med formel (11):



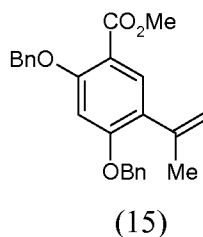
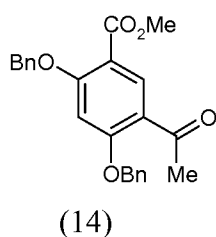
og (a) eddiksyre anhydrid under nærvær av 4-dimetylamino pyridin (typisk med oppvarming, for eksempel til en temperatur på opptil cirka 60°C), fulgt av (b) trifluormetansulfonsyre og eventuelt acetyl klorid (typisk ved romtemperatur); eller

20 (ii) reaksjon mellom en forbindelse med formel (11) og acetyl klorid under nærvær av en kationisk ione-bytter harpiks slik som AmberlystTM 15 harpiks.

Intermediat fremgangsmåte A gir utbytter av forbindelse (13) som er bedre enn utbyttene beskrevet for den korresponderende fremgangsmåten i PCT/GB2006/001382.

25 Oppfinnelsen tilveiebringer også en fremgangsmåte ("Intermediat fremgangsmåte B") for fremstilling av en forbindelse med formel (15):

47

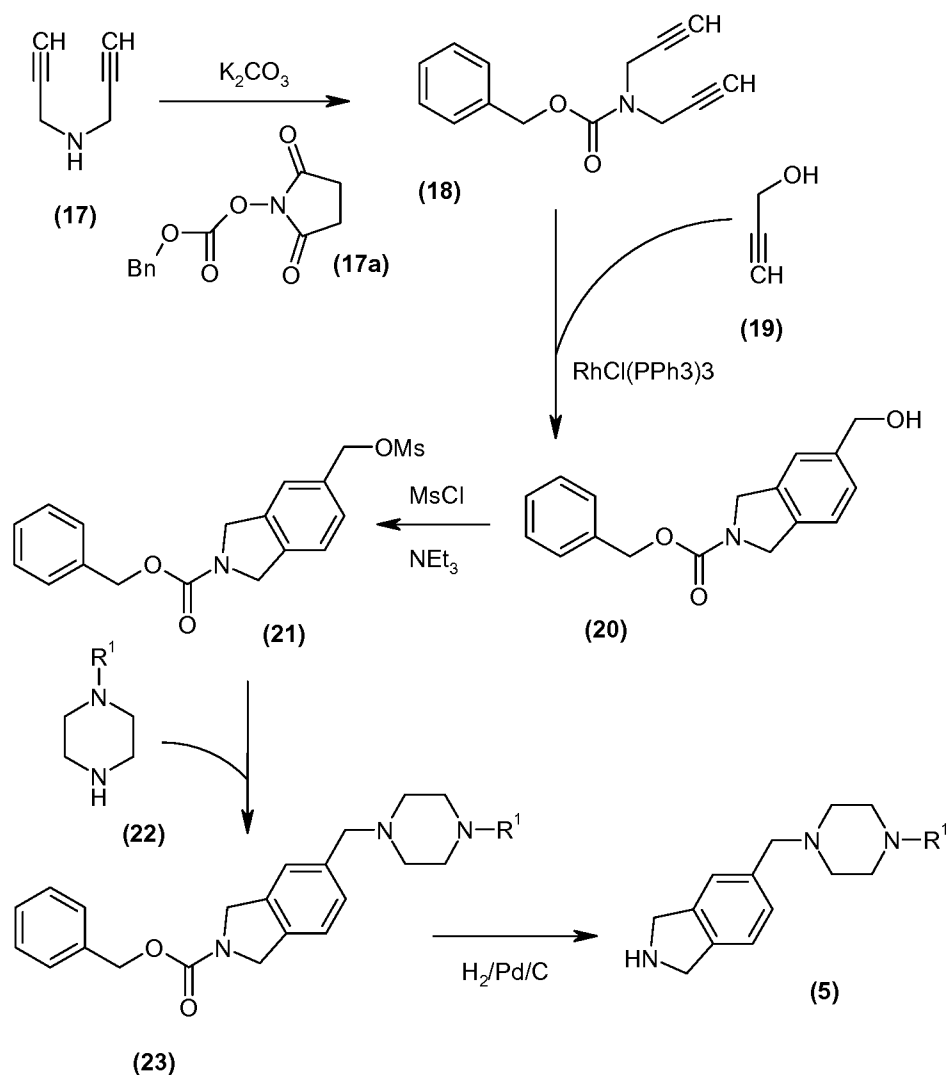


- ved omsetning av en forbindelse med formel (14) med et Wittig reagens MePPh_3Br
 5 under nærvær av kalium tert-butoksid i THF.

Intermediat fremgangsmåte B gir et signifikant bedre utbytte av produkt enn utbytte beskrevet for det korresponderende fremgangsmåte trinnet i PCT/GB2006/001382 hvor n-butyl litium anvendes som basen i Wittig reaksjonen. I tillegg er kalium tert-butoksid
 10 basen bedre egnet for en stor skala prosess enn n-butyl litium og reaksjonen kan utføres ved romtemperatur eller med kun moderat kjøling mens anvendelse av n-butyl litium typisk krever at reaksjonsblandingen blir avkjølt til temperaturer på 0°C eller lavere. Kromatografisk rensing er ikke påkrevet.

- 15 I et ytterligere aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (16) som definert heri, hvilken fremgangsmåte innbefatter Intermediat fremgangsmåte B fulgt av hydrolyse av metyl ester gruppen i forbindelse (15) ved anvendelse av et alkalimetall hydroksid slik som kalium hydroksid for å gi forbindelsen med formel (16).

Isoindolin forbindelsene (5) kan fremstilles ved synteseruten illustrert i Skjema 2.



Skjema 2

5

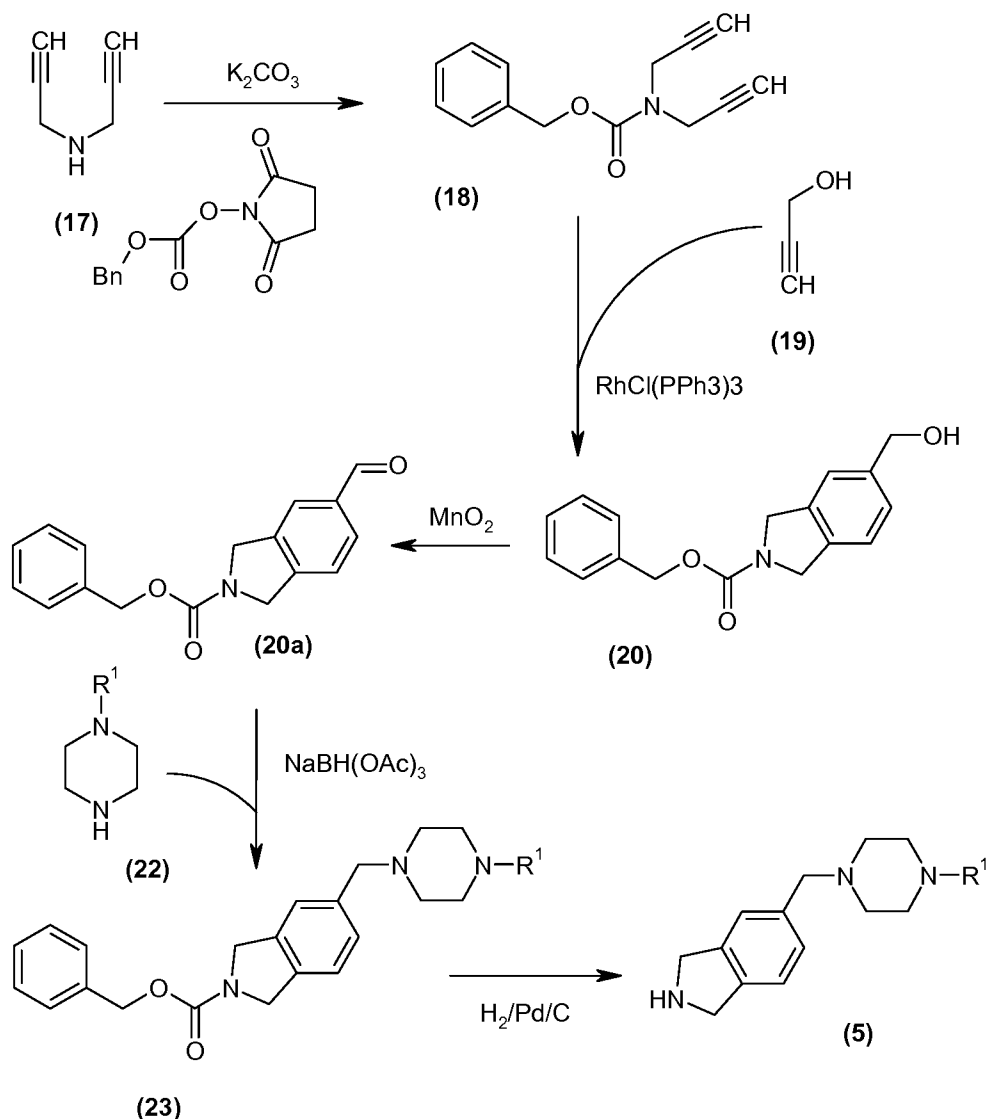
I Skjema 2 blir dipropargylaminet (17) omsatt med N-(benzyloksykarbonyloksy)suksinimid (17a) i etyl acetat under nærvær av kalium karbonat for å gi det Z-beskyttede dipropargylaminet (18) (uttrykket “Z” refererer til en benzyloksykarbonyl gruppe). Som et alternativ til N-(benzyloksykarbonyloksy)suksinimid kan benzyl

10 klorformat anvendes for å introdusere den benzyloksykarbonyl beskyttende gruppen. Forbindelse (18) blir deretter omsatt med propargyl alkoholen (19) under nærvær av Wilkinson's katalysator i en 2+2+2 cykloaddisjonsreaksjon for å gi det Z-beskyttede isoindolinet (20). Hydroksymetyl gruppen på isoindolinet (20) blir deretter omdannet til en mesyloksy gruppe ved reaksjon med metansulfonyl klorid i et polart løsemiddel slik

15 som THF under nærvær av en ikke-interfererende base slik som trietylamin for å gi mesyl forbindelsen (21). Mesyl forbindelsen (21) omsettes med alkylpiperazin (22) i

aceton løsning for å gi det Z-beskyttede isoindolinet (23). Fjerning av benzyloksykarbonyl gruppen for å gi den ubeskyttede isoindolin forbindelsen (5) blir deretter utført ved hydrogenering over en palladium på trekull katalysator.

- 5 En variasjon av reaksjonssekvensen vist i Skjema 2 er illustrert i Skjema 2a.



Skjema 2a

- 10 I Skjema 2a, i stedet for å bli omdannet til mesylatet (21) blir hydroksymetylindolinet (20) oksidert til det korresponderende aldehydet (21a) ved anvendelse av mangan dioksid i diklormetan, og aldehydet blir deretter omdannet til en forbindelse med formel (23) ved reaksjon med en forbindelse med formel (22) under reductive amineringsbetingelser, for eksempel under nærvær av natrium triacetoksyborhydrid. Z-

gruppen blir deretter fjernet ved hydrogenering som beskrevet ovenfor med hensyn til Skjema 2 for å gi intermedietet (5).

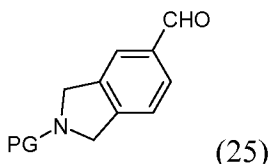
Følgelig, i et annet aspekt, tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (5) som definert heri, hvilken fremgangsmåte innbefatter:

(i) reaksjonen mellom en forbindelse med formel (24):



hvor PG er en beskyttende gruppe (slik som benzyloksykarbonyl) og LG¹ er en utgående gruppe (slik som mesyloksy), og en forbindelse med formel (22) som definert heri; eller

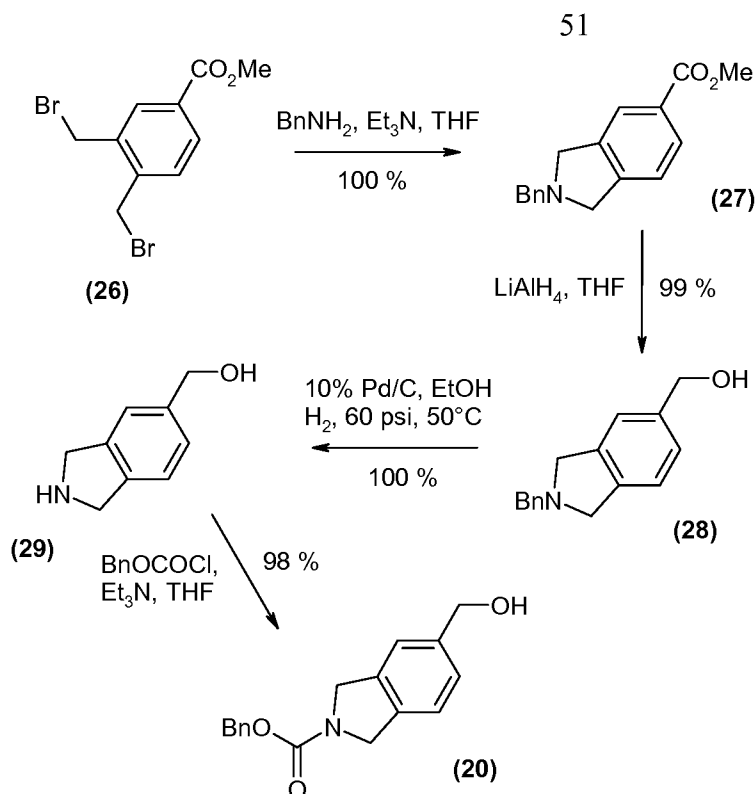
15 (ii) reaksjonen mellom en forbindelse med formel (25):



20 hvor PG er en beskyttende gruppe (slik som benzyloksykarbonyl), og en forbindelse med formel (22) som definert heri under reduktive amineringsbetingelser (for eksempel under nærvær av natrium triacetoksyborhydrid;

og deretter fjerne den beskyttende gruppen PG, for eksempel ved hydrogenering når PG er en benzyloksykarbonyl gruppe.

25 I Skjemaene 2 og 2a, blir intermedietet (20) fremstilt ved hjelp av en 2+2+2 cykloaddisjonsreaksjon under nærvær av en overgangsmetall katalysator. Som et alternativ til 2+2+2 cykloaddisjonsreaksjonen kan intermedietet (20) fremstilles ved reaksjonssekvensene vist i Skjema 3.



Skjema 3

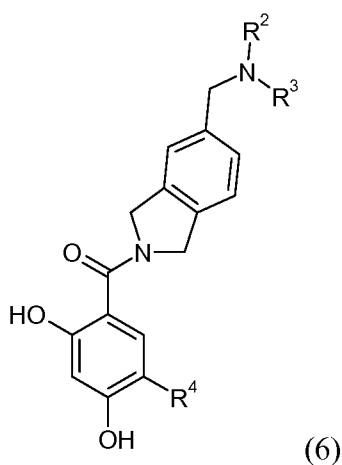
I Skjema 3 blir bis-brommetyl benzosyre esteren (26) omsatt med benzylamin i et polart
 5 aprotisk løsemiddel slik som tetrahydrofuran (THF) under nærvær av en ikke-
 interfererende base slik som trietylamin for å gi N-benzyl dihydroisoindol intermediet
 (27). Ester gruppen i intermediet (27) blir deretter redusert til den korresponderende
 alkoholen ved anvendelse av litium aluminium hydrid i THF for å gi
 hydroksymetyldihydroisoindol intermediet (28). Debenzylering av
 10 hydroksymetyldihydroisoindol intermediet (28) blir deretter utført ved hydrogenering
 over palladium på trekull katalysator i et alkohol (for eksempel etanol) løsemiddel ved
 en mildt hevet temperatur (for eksempel opptil cirka 50°C) for å gi intermediet (29).
 Intermediat (29) blir deretter omdannet til intermediat (20) ved reaksjon med et reagens
 egnet for å introdusere en benzyloksykarbonyl ("Z") gruppe på nitrogenatomet til
 15 dihydroisoindol ringen. For eksempel kan intermediet (29) omsettes med benzyl
 klorformat i et polart ikke-protisk løsemiddel slik som THF under nærvær av en ikke-
 interfererende base slik som trietylamin for å gi intermediat (20).

En vesentlig fordel ved synteserutene vist i Skjema 2, 2a og 3 er at de forskjellige
 20 intermediat produktene som dannes langs ruten har svært godt fysiokjemiske
 egenskaper som er svært fordelaktige ved stor skala syntese. Således, kombinert med
 sekvensen av trinn i Skjema 1, er resultatet en synteserute som har signifikante fordeler

i forhold til de korresponderende synteserutene i vår tidligere søknad PCT/GB2006/001382. Særlig inkluderer hovedfordelene:

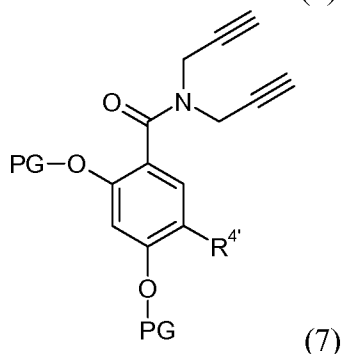
- høyere utbytter
- enklere rensing (kromatografisk rensing ikke påkrevet)
- 5 • forbedrede fysiokjemiske egenskaper til intermediater som fører til enklere håndtering
- enklere å skalere opp fremstillingsfremgangsmåten.

I et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av en
10 forbindelse med formel (6):



hvor R^2 og R^3 er like eller forskjellige og hver er C_{1-4} alkyl eller NR^2R^3 danner en 4 til
7 leddet mettet heterocyklisk ring som eventuelt inneholder et ytterligere heteroatom
15 valgt fra O, N og S og eventuelt substituert med en eller to C_{1-4} alkyl grupper; og R^4 er
valgt fra hydrogen, halogen, C_{1-5} alkyl og C_{3-4} cykloalkyl grupper;
hvilken fremgangsmåte innbefatter:

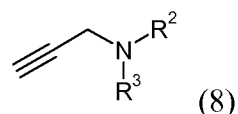
(a-ii) reaksjonen mellom en forbindelse med formel (7):



20 hvor PG er en beskyttende gruppe som kan fjernes under hydrogeneringsbetingelser og
 $R^{4'}$ er valgt fra hydrogen, halogen, C_{1-5} alkyl, C_{2-5} alkenyl og C_{3-4} cykloalkyl grupper;

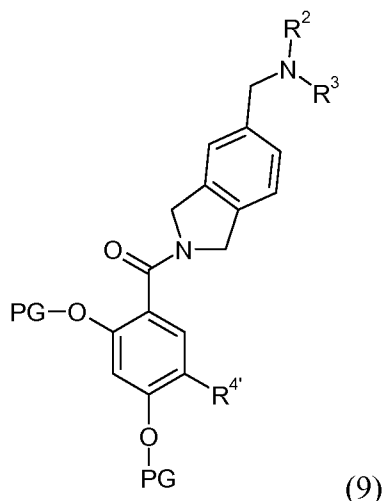
53

og en forbindelse med formel (8):



under nærvær av en overgangsmetall katalysator for å gi en forbindelse med formel (9);

5



og

(b) underkaste forbindelsen med formel (9) for katalytisk hydrogenering for å fjerne de beskyttende gruppene PG og, når R^{4'} er C₂₋₅ alkenyl, redusere gruppen R^{4'} til C₂₋₅ alkyl;

og deretter, hvor forbindelsen med formel (6) fremstilles i form av en fri base, eventuelt omdanne den frie basen til et syreaddisjonssalt.

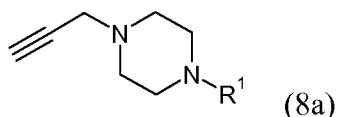
Oppfinnelsen tilveiebringer videre en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (9) som definert heri, hvilken fremgangsmåte innbefatter:

(a-ii) reaksjon mellom en forbindelse med formel (7) som definert heri, og en forbindelse med formel (8) som definert heri, under nærvær av en overgangsmetall katalysator.

Reaksjonen mellom forbindelsen med formel (7) og forbindelsen med formel (8) er for eksempel en 2+2+2 cykloaddisjon (se gjennomgangen til C. P. Dell, J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 1998, 3873-3905 og referansene deri). Reaksjonen blir typisk i et inert løsemiddel slik som toluen, med oppvarming (for eksempel til en temperatur i området fra romtemperatur til 100°C) under nærvær av en overgangsmetall katalysator. En

foretrukket katalysator er Wilkinson's katalysator - klortris(trifenylfosfin)rodium ($\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3$).

I en særlig utførelsesform er forbindelsen med formel (8) en forbindelse med formel
5 (8a):



hvor R^1 er som definert heri, og foretrukket er den metyl eller etyl.

10 Forbindelsen med formel (8a) kan fremstilles ved omsetning av propargyl bromid med en forbindelse med formel (22) (se Skjema 2) i et polart løsemiddel slik som aceton under nærvær av en base slik som kalium karbonat.

I en utførelsesform er R^1 metyl, det vil si fremgangsmåten anvendes for fremstilling av
15 forbindelsen med formel (1).

I en annen utførelsesform er R^1 etyl.

I formlene (7) og (9) er $\text{R}^{4'}$ valgt fra hydrogen, halogen, C_{1-5} alkyl, C_{2-5} alkenyl og C_{3-4}
20 sykloalkyl grupper. I en foretrukket utførelsesform er $\text{R}^{4'}$ isopropyl eller isopropenyl, og mer særlig isopropenyl.

Kjemiske intermediater med formelen (3), (7), (9), ovenfor antas å være nye og som
sådan danner hvert et ytterligere aspekt i følge oppfinnelsen.

25

Melkesyresalter av forbindelse med formlene (1) og (særlig L-laktatet) og krystallinske
30 former derav er inhibitorer av Hsp90 og vil som en konsekvens være fordelaktige ved behandling av et bredt spekter av proliferative forstyrrelser. Eksempler på slike proliferative forstyrrelser er ikke begrenset, men kan velges fra en karsinom, for eksempel en karsinom i blære, bryst, kolon (for eksempel kolorektale karsinomer slik som kolon adenokarsinom og kolon adenom), nyre, epidermis, lever, lunge, for
35 eksempel adenokarsinom, småcelle lungekreft og ikke-småcelle lungekreft, spiserør,

galleblære, eggstokk, bukspyttkjertel, for eksempel eksokrin bukspyttkjertel karsinom, mage, cervix, tyroid, prostata, gastrointestinal system, for eksempel gastrointestinal stromal tumorer eller hud, for eksempel skjellelt celle karsinom; en hematopoietisk tumor av lymfoid type, for eksempel leukemi, akutt lymfocytisk leukemi, kronisk

5 lymfocytisk leukemi, B-celle lymfom (slik som diffus stor B celle lymfom), T-celle lymfom, Hodgkin's lymfom, ikke-Hodgkin's lymfom, hår celle lymfom eller Burkett's lymfom; en hematopoietisk tumor av myeloid type, for eksempel akutte kroniske myelogene leukemier, Imatinib sensitive og refraktære kroniske myelogene leukemier, myelodysplastisk syndrom, Bortezomib sensitiv og refraktær multipel myelom,

10 myeloproliferativ sykdom eller promyelocytisk leukemi; tyroid follikulær kreft; en tumor av mesenchymal opprinnelse, for eksempel fibrosarkom eller rabdomyosarkom; en tumor i det sentrale eller perifere nervesystemet, for eksempel astrocytom, neuroblastom, gliom eller schwannom; melanom; seminom; teratokarsinom; osteosarkom; xeroderma pigmentosum; keratoacanthom; tyroid follikulær kreft; eller

15 Kaposi's sarkom. Et ytterligere eksempel på en tumor av mesenchymal opprinnelse er Ewing's sarkom.

Kreftformene kan være kreftformer som er sensitive på Hsp90 inhibering, og slike kreftformer kan bestemmes ved en fremgangsmåte slik det er fremsatt i delen som

20 omhandler "Fremgangsmåter for diagnose".

En gruppe av kreftformer inkluderer humane brystkreft former (for eksempel primære bryst tumorer, node-negativ brystkreft, invasiv kanal adenokarsinomer i brystet, ikke-endometrioid brystkreft); og mantle celle lymfomer. I tillegg er andre kreftformer

25 kolorektal og endometrial kreft.

Et annet undersett av kreftformer inkluderer hematopoietiske tumorer av lymfoid type, for eksempel leukemi, kronisk lymfocytisk leukemi, mantle celle lymfom og B-celle lymfom (slik som diffus stor B celle lymfom) og inkluderer eventuelt ytterligere kronisk

30 myelogen leukemi og multipel myelom.

Et foretrukket undersett av kreftformer består av ErbB2-positiv bryst, prostata, lunge og magekreft; kronisk myeloid leukemi; androgen reseptor avhengig prostata kreft; Flt3-avhengig akutt myeloid leukemi; melanom assosiert med Braf mutasjon; multipel

35 myelom; velcade refraktær multipel myelom; og gastrointestinal stromal tumorer (GIST).

Av disse er særlig foretrukne kreftformer multiple myelomer og velcade refraktære tumor typer som definert heri.

Et annet foretrukket undersett av kreftformer består av hormon refraktær prostata kreft, metastatisk melanom, HER2 positiv brystkreft, mutant EGFR positiv ikke-småcelle lunge karsinom og Gleevec resistente gastrointestinale stromal tumorer.

Hsp90 inhibitor forbindelse med formel (1) og saltene (særlig L-laktatet) og krystall formene derav kan også anvendes for behandling av andre tilstander slike som virale infeksjoner, parasitt sykdom, autoimmune sykdommer (for eksempel multippel sklerose og lupus erytematose), neuro-degenerative forstyrrelser (for eksempel Alzheimer's sykdom), inflammasjon, Type I og II diabetes, aterosklerose og hjertesykdom.

Hsp90 inhibitor forbindelse med formel (1) og saltene (særlig L-laktatet) og krystallinske formene derav kan også ha klinisk fordel ved transplantasjon og immunosuppresjon.

Hsp90 inhibitor forbindelse med formel (1) og saltene (særlig L-laktatet) og krystall formene derav kan også ha klinisk fordel i de tidligere beskrevne sykdommene når de anvendes i kombinasjon med eksisterende eller nye terapeutiske midler.

Basert på aktiviteten til Hsp90 klient proteiner og eksperimentelle bevis kan følgende forstyrrelser være særlig sensitive ovenfor behandling med Hsp90 inhibitor forbindelse med formel (1) og saltene (særlig L-laktatet) og krystall formene derav.

25

ErbB2-positiv bryst, prostata, lunge og magekreft

Overekspresjon av ErbB2 (HER-2) forekommer hos cirka 30% av brystkreft tilfeller og ErbB2 reseptor nedregulering av herceptin sensitiserer celler ovenfor Taxol. ErbB2 overekspresjon er knyttet til dårlig prognose og legemiddel resistens (Tsugawa et. al., 1993. Oncology 1993; 50: 418).

30

Mutant EGFR ved lungekreft

Somatiske mutasjoner i kinase domenet til epidermal vekstfaktor reseptoren (EGFR), som inkluderer L858R og exon 19 delesjoner, ligger under responsen ovenfor gefitinib og erlotinib ved ikke-småcelle lungekreft (NSCLC). Oppnådd resistens ovenfor disse

35

tyrosin kinase inhibitorene blir i noen tilfeller mediert av en andre mutasjon, T790M. Ansamycin antibiotiske midler, slike som geldanamycin, inhiberer potensielt varmesjokk protein 90 (Hsp90), som fremmer ubiquitin-mediert nedbryting av onkogene kinaser som krever chaperon for tilfredsstillende konformasjonsfolding.

- 5 Eksponering av EGFR-mutante cellelinjer for geldanamycin induserer markert deplesjon av fosfo-Akt og cyklin D1 så vel som apoptose. Disse dataene viser at mutasjonsaktivering av EGFR er assosiert med avhengighet av Hsp90 for stabilisering og at Hsp90 inhibering kan representere en ny strategi for behandling av EGFR-mutant NSCLC.

10

Kronisk myeloid leukemi

- Det aberrante BCR-Abl proteinet dannes gjennom en kromosomal translokasjon og resulterer i et konstitutivt aktivt Abl kinase domene. Denne translokasjonshendelsen har
- 15 vist seg å være en årsak til CML. P210BcrAbl er et kjent klient protein for Hsp90. Behandling av BCR-Abl cellelinjen K562 med en hsp90 inhibitor induserer apoptose. Bcr-Abl inhibitoren Gleevec[®] induserer også apoptose i K562 celler; imidlertid bibeholder Gleevec[®] resistente K562 celler fremdeles sensitivitet ovenfor Hsp90 inhibitorer (Gorre et. al. 2002, Blood 100: 3041-3044).

20

Androgen reseptor avhengig prostatakreft

- Androgen reseptor kinasen er et Hsp90 klient protein. Hormon erstatningsbehandling blir vanligvis anvendt der kirurgi ikke er noen løsning. Kreftformen kan bli refraktær
- 25 ovenfor hormon manipulering gjennom reseptor mutasjon. Hsp90 regulering av reseptoren vil fremdeles være en levedyktig post-mutasjon.

Det samme vil gjelde for østrogen-avhengig brystkreft.

30 Flt3-avhengig akutt myeloid leukemi

- Intern duplisering av tyrosin kinase reseptoren Flt3 fører til dens konstitutive aktivering og onkogenese. Disse interne dupliseringene blir observert hos 20% av alle rapporterte tilfeller av AML og er en indikasjon på dårlig prognose. I stor grad på samme måte som
- 35 aktiveringen av ABL kinasen i CML representerer dette et annet eksempel på en enkel genetisk lesjon som gir opphav til en malignans. Hsp90 inhibitorer predikeres å ha

klinisk fordel for disse pasientene i det Flt3 er et Hsp90 klient protein (Bali et. al., 2004 Cancer Res. 64(10):3645-52).

Melanom assosiert med Braf mutasjon

5

Braf koder for en serin/treonin kinase som er mutert i 70% av alle melanomer. 80% av disse representerer et enkelt V599E mutasjonspunkt som gir hevet kinase aktivitet ovenfor BRAF. Denne mutasjonen omdanner også i NIH3T3 celler (Bignell et. al., 2002 Nature. 417(6892):949-54).

10

Multipel myelom

Hsp90 inhibitoren 17-AAG inhiberer potensielt proliferasjon av Bortezomib refraktære multipel myelom celler. Celler overflate nivåer av IGF-1R og IL-6R ble også
 15 redusert i 17-aag behandlede MM-1 celler (Mitsiades et. al., Blood 107:1092-1100, 2006). Autokrin stimulering av multipel myelom celler, så vel som paracrin stimulering av benmarg stromal celler med IL-6 ble også redusert gjennom nedregulering av Hsp90 klient IKK.

Velcade refraktær multipel myelom

Hsp90 inhibitor forbindelse med formel (1) og saltene (særlig L-laktatet) og krystall
 formene derav kan anvendes ved behandling av velcade refraktær tumor typer som
 inkluderer behandling av pasienter med andre linje mantle celle lymfom, indolent ikke-
 25 Hodgkin's lymfom, stadie IIIB og IV bronkioloalveolær karsinom, fremskredet ikke-småcelle lungekreft, bryst, prostata og eggstokk kreft og ikke-Hodgkin's lymfom.

Gastrointestinale stromale tumorer (GIST)

30 GIST sykdom særlig sykdom avhengig av vekstfaktor aktivering eller overekspressjon (for eksempel c-kit)

Andre tilstander eller forstyrrelser for hvilke en Hsp90 inhibitor kan ha klinisk fordel inkluderer, men er ikke begrenset til:

35

Neurodegenerative forstyrrelser

Huntington's sykdom (HD) er en progressiv neurodegenerativ forstyrrelse med ingen effektiv behandling. GA inhibering av Hsp90 og den resulterende oppreguleringen av Hsper er effektiv for hindring av huntington protein aggregering i neuronale celler. (Sittler *et. al.*, 2001, Human Molecular Genetics, vol. 10, nr. 12 1307-1315).

- 5 Oppregulering av HSP kan også ha klinisk fordel ved andre sykdommer som gjelder protein misfolding, for eksempel CJD og Alzheimer's.

Inflammatorisk sykdom, som inkluderer reumatoid artritt, astma, kronisk obstruktiv lungesykdom og inflammatorisk tarmsykdom

10

- GA har vist seg å dissosiere HSF-1 fra Hsp90 som fører til aktivering og den nukleære translokasjonen av HSF-1. HSF-1 virker deretter som en transkripsjonsfaktor og induserer HSP90 og Hsp70. Induksjonen av Hsp70 har blitt implisert i oppløsning av inflammasjon i en indusert musemodell for ødem (Ianaro *et al.*, 2004 Human Molecular
- 15 Genetics, 2001, vol. 10, nr. 12 1307-1315). I tillegg inhiberte GA behandling IkappaB kinase (IKK) aktivering med TNF-a eller PMA. IkBa er en regulator av Nf-kB og Ap-1 (Broemer *et. al.* 2004). Ap-1 og Nf-kB er en viktig transkripsjonsfaktor som fører til produksjon av pro-inflammatoriske cytokiner (Yeo *et. al.*, 2004 Biochem Biophys Res Commun. 30; 320(3):816-24). Stabiliteten til pro-inflammatoriske cytokin transkripter
- 20 blir også regulert gjennom aktivering av p38 MapK (Wax *et. al.*, 2003. Rheumatism vol. 48, nr. 2, s. 541–550).

Aterosklerose

- 25 Det er kjent at inflammatoriske og immun celler spiller en sentral rolle ved initieringen og progresjonen av human aterosklerose (Riganò *et al.*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2007, 1107:1-10) og det har blitt foreslått at Hsp90 virker som et autoantigen ved karotid aterosklerose. Riganò *et al.* fant spesifikke antistoffer og celler mot Hsp90 i sera til 60% av pasienter testet som led av karotid aterosklerotisk plakk, men ingen spesifikke
- 30 antistoffer og T celler mot Hsp90 i sera til friske pasienter. Derfor bør Hsp90 inhibitor forbindelse med forml (1) og saltene (særlig L-laktatet) og krystall formene derav være anvendelige ved behandling eller hindring av aterosklerose.

Angiogenese relatert sykdom, som inkluderer, men er ikke begrenset til: tumor

- 35 angiogenese, psoriasis, reumatoid artritt og diabetisk retinopati

Induksjon av angiogenese reguleres av Hsp90 klient proteiner eNOS og Akt i endotel celler (Sun og Liao, 2004 Arterioscler Thromb Vasc Biol. 24(12):2238-44).

Undertrykning av hypoksi-induserbar faktor (HIF)-1a kan også svekke vekst, angiogenese og kar modning av gastriske tumorer i en musemodell (Stoeltzing et. al.,
5 2004 J Natl Cancer Inst; 96:946-956).

Type I og type II diabetes

- 10 Hsp90 inhibering har en uttalt effekt på Akt signalisering så vel som e-nos. Disse er to nøkkel regulatorer ved høy glukose induisert endotel celle apoptose i type I diabetes (Lin et. al., 2005 J Cell Biochem. 1; 94(1):194-201) og utviklingen av hypertensjon ved type II diabetes (Kobayashi et. al., 2004 Hypertension. 44(6):956-62).

15 Immunosuppresjon og transplantasjon

Hsp90 inhibering har blitt vist å nedregulere Lck, en T-celle spesifikk tyrosin kinase som kreves for T-celle aktivering (Yorgin et. al., 2000 J Immunol. 15; 164(6):2915-23).

20 Hjertesykdom

- Hjerte iskemi er den mest vanlige årsaken til død i den vestlige verden. Hsper, og særlig Hsp70 (indusert av radicicol behandling) har demonstrert hjerte-beskyttende aktivitet i rotte kardiomyocytter (Griffin et. al., 2004). Inhibering av Hsp90 resulterer i frigivelse
25 av HSF-1 fra chaperon komplekset og dets etterfølgende aktivering av Hsp gener. Inhibering av Hsp90 fører også til nedreguleringen av HIF-1, som har blitt implisert i patogenesen til iskemisk hjertesykdom og slag.

Infeksjonssykdom

30

Hepatitt C viral NS2/3 protease er et Hsp90 klient protein og Hsp90 aktivitet er påkrevet for viral prosessering og replikasjon (Whitney et. al., 2001. Proc Natl Acad Sci U S A. 20;98(24):13931-5).

35

Parasittisk sykdom

GA har rapportert antimalarial aktivitet ovenfor en Hsp90 ortolog av Plasmodium falciparum. Plasmodium vekst ble inhibert med GA ved en IC₅₀ tilsvarende den som ble
 5 observert med klorokin. GA var også effektiv ovenfor klorokin resistente stammer av Plasmodium falciparum (Kamar et. al., 2003. Malar J.15; 2(1):30).

Slik det er diskutert ovenfor representerer modulatorer eller inhibitorer av stress protein funksjon generelt (og Hsp90 spesielt) en klasse av kjemoterapeutiske midler med
 10 potensiale for: (i) sensitisering av malignante celler ovenfor antikreft legemidler og/eller behandlinger; (ii) lindre eller redusere tilfeller av resistens ovenfor antikreft legemidler og/eller behandlinger; (iii) reversere resistens ovenfor antikreft legemidler og/eller behandlinger; (iv) potensierte aktiviteten til antikreft legemidler og/eller behandlinger; (v) forsinke eller hindre utbruddet av resistens ovenfor antikreft legemidler og/eller
 15 behandlinger.

Følgelig tilveiebringer oppfinnelsen ytterligere forbindelsene i oppfinnelsen til bruk i:

- En fremgangsmåte for profylakse eller behandling (eller lindring eller reduksjon av tilfellet) av en sykdom eller tilstand mediert av Hsp90, hvilken
 20 fremgangsmåte innbefatter administrering til et subjekt som trenger det en forbindelse i følge oppfinnelsen, hvori sykdommen eller tilstanden mediert av Hsp90 er utviklingen av resistens ovenfor et kreft legemiddel.
- En fremgangsmåte for: (i) sensitisere malignante celler ovenfor et antikreft legemiddel; (ii) lindre eller redusere tilfelle av resistens ovenfor et antikreft
 25 legemiddel; (iii) reversere resistens ovenfor et antikreft legemiddel; (iv) potensierte aktiviteten til et antikreft legemiddel; (v) forsinke eller hindre utbruddet av resistens ovenfor et antikreft legemiddel, hvilken fremgangsmåte innbefatter administrering til et subjekt som trenger det en forbindelse i følge oppfinnelsen.
- En fremgangsmåte for behandling av en kreftform, hvilken fremgangsmåte
 30 innbefatter administrering til et subjekt som trenger det en forbindelse i følge oppfinnelsen, hvilken fremgangsmåte er karakterisert ved fravær av legemiddel resistens.
- En fremgangsmåte for profylakse eller behandling (eller lindring eller reduksjon
 35 av tilfellet) av en sykdom eller tilstand mediert av Hsp90 hos et subjekt som gjennomgår behandling med et terapeutisk middel (slik som et antikreft middel), hvilken fremgangsmåte innbefatter administrering til subjektet en forbindelse i

følge oppfinnelsen, hvori sykdommen eller tilstanden mediert av Hsp90 er utvikling av resistens ovenfor nevnte terapeutiske middel.

- En fremgangsmåte for: (i) sensitisering av malignante celler ovenfor et antikreft middel; (ii) lindre eller redusere tilfelle av resistens ovenfor et antikreft middel; (iii) reversere resistens ovenfor et antikreft middel; (iv) potensiere aktiviteten til et antikreft middel; (v) forsinke eller hindre utbruddet av resistens ovenfor et antikreft middel, hvilken fremgangsmåte innbefatter administrering til et subjekt som gjennomgår behandling med nevnte antikreft middel en forbindelse i følge oppfinnelsen.
- En fremgangsmåte for behandling av en kreftform hos et subjekt som gjennomgår behandling med et antikreft middel, hvilken fremgangsmåte innbefatter administrering til et subjekt som trenger det en forbindelse i følge oppfinnelsen, hvilken fremgangsmåte er karakterisert ved fravær av legemiddel resistens ovenfor antikreft middelet.

15

Den biologiske aktiviteten til melkesyresalter av forbindels med formlene (1) (særlig L-laktatet) og krystall formene derav, for eksempel som inhibitorer av Hsp90, kan måles ved anvendelse av undersøkelsene fremsatt i eksemplene nedenfor, for eksempel isothermisk titrering kalorimetri (ITC) eksperimentene beskrevet i Eksempel 6 og anti-proliferativ aktivitet undersøkelsene beskrevet i Eksempel 7. Aktivitetsnivået fremvist av en gitt forbindelse i ITC undersøkelsen kan defineres som K_d verdien, og forbindelsene i følge oppfinnelsen har en K_d verdi på mindre enn 1 mikromolar. I anti-proliferativ aktivitet undersøkelsene kan aktivitetsnivået fremvist av en gitt forbindelse i en undersøkelse defineres som IC_{50} verdien, og forbindelsene i følge oppfinnelsen har hver en IC_{50} verdi på mindre enn 0.1 mikromolar.

Sent på 1990 tallet måtte flere legemidler, godkjent av US FDA, trekkes fra salg i USA når det ble funnet at de var implisert i dødfall forårsaket av hjerte malfunksjon. Det ble senere funnet at en bivirkning med disse legemidlene var utvikling av arrhythmier forårsaket av blokkering av hERG kanalene i hjerteceller. hERG kanalen er en av en familie av kalium ione kanaler hvor den første medlemmen av hvilke ble identifisert sent på 1980 tallet i en mutant *Drosophila melanogaster* bananflue (se Jan, L.Y. og Jan, Y.N. (1990). "A Superfamily of Ion Channels". *Nature*, 345(6277):672). De biofysiske egenskapene til hERG kalium ione kanalen er beskrevet i Sanguinetti, M.C., Jiang, C., Curran, M.E., og Keating, M.T. (1995). "A Mechanistic Link Between an Inherited and an Acquired Cardiac Arrhythmia: hERG encodes the I_{Kr} potassium channel". *Cell*, 81:299-307, og Trudeau, M.C., Warmke, J.W., Ganetzky, B., og Robertson, G.A.

(1995). "HERG, a Human Inward Rectifier in the Voltage-Gated Potassium Channel Family". Science, 269:92-95.

5 Elimineringen av hERG blokkeringsaktiviteten er fortsatt en viktig overveielse ved utvikling av et hvilket som helst nytt legemiddel.

Forbindelsen med formel (1) har lav hERG aktivitet og en god separasjon mellom Hsp90 inhiberingsaktivitet og hERG aktivitet. Særlig har forbindelsen med formel (1) en midlere IC_{50} verdi ovenfor hERG som er større enn 30 ganger IC_{50} verdiene til
10 forbindelsen i cellulære proliferasjonsundersøkelser. Forbindelsen med formel (1) har en midlere IC_{50} verdi ovenfor hERG som er større enn 15 μM .

Forbindelsene i følge oppfinnelsen har fordelaktige ADME egenskaper og særlig bedre tumor fordeling.

15 Forbindelsene i følge oppfinnelsen har Hsp90 inhiberende eller modulerende aktivitet og er som sådan anvendelige ved anvendelse ved behandling, lindring eller hindring av visse cdk5 medierte sykdommer og tilstander.

20 Følgelig, i et første aspekt, tilveiebringer oppfinnelsen anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for behandling av smerte.

I et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen anvendelsen av en forbindelse i følge
25 oppfinnelsen som definert heri derav for fremstilling av et medikament for profylakse eller behandling av slag.

I et ytterligere aspekt tilveiebringer oppfinnelsen anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for anvendelse som et
30 neurobeskyttende middel.

I andre aspekter tilveiebringer oppfinnelsen:

- En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved behandling av smerte.
- 35 • En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved reduksjon eller eliminering av smerte hos en pasient (for eksempel et pattedyr slik som et menneske) som lider av smerte.

- Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for anvendelse ved reduksjon eller eliminering av smerte hos en pasient (for eksempel et pattedyr slik som et menneske) som lider av smerte.
- 5 • Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for behandling av en hvilken som helst en eller flere av nocicepsjon, somatisk smerte, visceral smerte, akutt smerte, kronisk smerte, hyperalgesi, allodyni, post operativ smerte, smerte på grunn av hypersensitivitet, hodepine, inflammatorisk smerte (reumatisk, dental, 10 dysmenorrhe eller infeksjon), neurologisk smerte, muskelskjellett smerte, kreft relatert smerte eller vaskulær smerte.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved behandling av en hvilken som helst en eller flere av nocicepsjon, somatisk smerte, visceral smerte, akutt smerte, kronisk smerte, hyperalgesi, allodyni, post 15 operativ smerte, smerte på grunn av hypersensitivitet, hodepine, inflammatorisk smerte (reumatisk, dental, dysmenorrhe eller infeksjon), neurologisk smerte, muskelskjellett smerte, kreft relatert smerte eller vaskulær smerte.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for behandling av smerte hos en pasient slik som et pattedyr (for eksempel 20 menneske),
- En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for reduksjon eller eliminering av smerte hos en pasient (for eksempel et pattedyr slik som et menneske) som lider av smerte,
- En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for 25 behandling av en hvilken som helst en eller flere av nocicepsjon, somatisk smerte, visceral smerte, akutt smerte, kronisk smerte, hyperalgesi, allodyni, post operativ smerte, smerte på grunn av hypersensitivitet, hodepine, inflammatorisk smerte (reumatisk, dental, dysmenorrhe eller infeksjon), neurologisk smerte, muskelskjellett smerte, kreft relatert smerte eller vaskulær smerte,
- 30 • En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved profylakse eller behandling av slag.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for profylakse eller behandling av slag hos en pasient slik som et pattedyr (for eksempel menneske).
- 35 • En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse som et neurobeskyttende middel.

- En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for hindring eller reduksjon av neuronal skade hos en pasient som lider av slag,.
- Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for hindring eller reduksjon av risiko for slag hos pasienter med risiko for slag, for eksempel en pasient som fremviser et eller flere av følgende risikofaktorer valgt fra vaskulær inflammasjon, aterosklerose, arterial hypertensjon, diabetes, hyperlipidemi og atrial fibrillering.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for hindring eller reduksjon av risiko for slag hos pasienter med risiko for slag, for eksempel en pasient som fremviser en eller flere risikofaktorer valgt fra vaskulær inflammasjon, aterosklerose, arterial hypertensjon, diabetes, hyperlipidemi og atrial fibrillering.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for hindring eller reduksjon av risiko for slag hos pasienter med risiko for slag, for eksempel en pasient som fremviser en eller flere risikofaktorer valgt fra vaskulær inflammasjon, aterosklerose, arterial hypertensjon, diabetes, hyperlipidemi og atrial fibrillering.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved profylakse eller behandling av en sykdom eller tilstand mediert av en cyklin avhengig kinase 5.
- Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for profylakse eller behandling av en sykdom eller tilstand mediert av en cyklin avhengig kinase 5.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for profylakse eller behandling av en sykdom eller tilstand mediert av en cyklin avhengig kinase 5.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for lindring eller reduksjon av tilfelle av en sykdom eller tilstand mediert av en cyklin avhengig kinase 5.
- Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for profylakse eller behandling av en sykdom eller tilstand mediert av cdk5 eller p35.
- Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for profylakse eller behandling av en sykdom eller tilstand mediert av cdk5 eller p35, nevnte sykdom eller tilstand er forskjellig fra Alzheimer's sykdom, Huntington's sykdom eller Creutzfeldt-Jakob sykdom.

- Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for profylakse eller behandling av en sykdom eller tilstand mediert av cdk5 eller p35, nevnte sykdom eller tilstand er forskjellig fra en neurodegenerativ sykdom.
- 5 • Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for profylakse eller behandling av en sykdom eller tilstand karakterisert ved hevede nivåer av cdk5 eller p35.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved profylakse eller behandling av en sykdom eller tilstand mediert av cdk5 eller
10 p35, nevnte sykdom eller tilstand er forskjellig fra Alzheimer's sykdom, Huntington's sykdom eller Creutzfeldt-Jakob sykdom.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved profylakse eller behandling av en sykdom eller tilstand mediert av cdk5 eller p35, nevnte sykdom eller tilstand er forskjellig fra en neurodegenerativ sykdom.
- 15 • En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved profylakse eller behandling av en sykdom eller tilstand karakterisert ved hevede nivåer av cdk5 eller p35.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for profylakse eller behandling av en sykdom eller tilstand mediert av cdk5 eller
20 p35, nevnte sykdom eller tilstand er forskjellig fra Alzheimer's sykdom, Huntington's sykdom eller Creutzfeldt-Jakob sykdom.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for profylakse eller behandling av en sykdom eller tilstand mediert av cdk5 eller p35, nevnte sykdom eller tilstand er forskjellig fra en neurodegenerativ sykdom.
- 25 • En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for profylakse eller behandling av en sykdom eller tilstand karakterisert ved hevede nivåer av cdk5 eller p35.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved profylakse eller behandling av en neuropati, slik som perifer neuropati,
30 forskjellig fra Alzheimer's sykdom, Huntington's sykdom eller Creutzfeldt-Jakob sykdom.
- Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for profylakse eller behandling av neuropati, slik som perifer neuropati, forskjellig fra Alzheimer's sykdom, Huntington's sykdom eller Creutzfeldt-Jacob sykdom.
35
- En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for profylakse eller behandling av en neuropati, slik som perifer neuropati,

forskjellig fra Alzheimer's sykdom, Huntington's sykdom eller Creutzfeldt-Jacob sykdom.

Forbindelser i følge oppfinnelsen og deres krystallinske former derav har antifungal
5 aktivitet, anti-protozoal aktivitet og anti-parasitt aktivitet.

Særlig er forbindelser i følge oppfinnelsen anvendelige ved behandling av infeksjon ved
patogen sopp, protozoa og parasitter hvor infeksjon med patogener normalt er assosiert
med en antistoff response ovenfor HSP90.

10

I en utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen laktat addisjonssalt forbindelser med
formel (I) for anvendelse som antifungale midler.

15

Eksempler på sopp inkluderer de som er patogener i mennesket og andre dyr, for
eksempel:

20

25

30

35

- Candida arter slik som *Candida albicans* og *Candida tropicalis*;
- Cryptococcus arter slik som *Cryptococcus neoformans* og *Cryptococcal meningitis*;
- Aspergillus arter slik som *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* og
20 *Aspergillus niger*;
- Microsporum arter slik som *Microsporum canis* og *Microsporum gypseum*;
- Epidermophyton arter;
- Trichophyton arter slik som *Trichophyton equinum*, *Trichophyton mentagrophytes* og *Trichophyton rubrum*;
- 25 • *Epidermophyton floccosum*;
- *Exophiala werneckii*;
- Fusarium arter slik som *Fusarium solani*;
- *Sporothrix schenckii*;
- Penicillin arter slik som *Penicillium rubrum*;
- 30 • *Alternaria* arter;
- *Ceratocystis pilifera*;
- *Chrysosporium pruinatum*;
- Helminthosporium arter;
- *Paecilomyces variotti*;
- 35 • gjær, for eksempel *Saccharomyces cerevisiae* og *Pityrosporum* arter slik som
Pityrosporum orbiculare og *Pityrosporum ovale*;
- Histoplasma arter slik som *Histoplasma capsulatum*;

- *Coccidioides* arter;
- *Paracoccidioides* arter; og
- *Blastomyces* arter.

5 I andre utførelsesformer tilveiebringer oppfinnelsen forbindelser som definert heri for anvendelse som anti-protozoale midler.

Eksempler på protozoa inkluderer:

- *Trypanosoma cruzi*;
- 10 • *Leishmania* arter; for eksempel *L. donovani* komplekset (*L. donovani*, *L. infantum*, og *L. chagasi*); *L. mexicana* komplekset (3 hovedarter - *L. mexicana*, *L. amazonensis*, og *L. venezuelensis*); *L. tropica*; *L. major*; *L. aethiopica*; og underslekten *Viannia* med fire hovedarter (*L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) panamensis*, og *L. (V.) peruviana*);
- 15 • *Toxoplasma gondii*; og
- *Trichomonas vaginalis*.

- I en ytterligere utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen forbindelser som definert heri for anvendelse som anti-parasitt midler.

20

- Eksempler på parasitter inkluderer parasitt ormer slik som:
- parasitt rundormer slik som *Ascaris lumbricoides*;
- parasitt flatormer slik som parasitt trematode ormer, for eksempel *Schistosoma mansoni*.

25

Oppfinnelsen tilveiebringer blant annet:

- En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved profylakse eller behandling av en fungal, protozoal eller parasitt sykdom eller tilstand (forskjellig fra en sykdom eller tilstand på grunn av *Plasmodium falciparum*), for eksempel en sykdom eller tilstand karakterisert ved en antistoff respons ovenfor Hsp90.
- 30 • Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for profylakse eller behandling av en fungal, protozoal eller parasitt sykdom eller tilstand (forskjellig fra en sykdom eller tilstand på grunn av *Plasmodium falciparum*), for eksempel en sykdom eller
- 35 tilstand karakterisert ved en antistoff respons ovenfor Hsp90.

- En forbindelse ifølge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for profylakse eller behandling av en fungal, protozoal eller parasitt sykdom eller tilstand (forskjellig fra en sykdom eller tilstand på grunn av *Plasmodium falciparum*), for eksempel en sykdom eller tilstand karakterisert ved en antistoff respons ovenfor Hsp90.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved profylakse eller behandling av en fungal sykdom eller tilstand, for eksempel en sykdom eller tilstand karakterisert ved en antistoff respons ovenfor Hsp90.
- Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for profylakse eller behandling av en fungal sykdom eller tilstand, for eksempel en sykdom eller tilstand karakterisert ved en antistoff respons ovenfor Hsp90.
- En forbindelse ifølge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for profylakse eller behandling av en fungal sykdom eller tilstand, for eksempel en sykdom eller tilstand karakterisert ved en antistoff respons ovenfor Hsp90.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved hindring, arrestering eller reversering av infeksjonen til et dyr (slik som et pattedyr, for eksempel et menneske) ved patogen sopp.
- Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for hindring, arrestering eller reversering av infeksjonen til et dyr (slik som et pattedyr, for eksempel et menneske) med patogen sopp.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for hindring, arrestering eller reversering av infeksjonen til et dyr (slik som et pattedyr, for eksempel et menneske) med patogen sopp.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for en hvilken som helst av anvendelsene og fremgangsmåtene fremsatt ovenfor, og slik det er beskrevet ellers heri.
- Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for profylakse eller behandling av en hvilken som helst av sykdommene eller tilstandene beskrevet heri.
- En kombinasjon av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri og en hjelpeforbindelse som er et antifungalt middel (for eksempel et azol antifungalt middel).
- En farmasøytisk sammensetning som innbefatter en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri med en hjelpeforbindelse som er et antifungalt middel (for eksempel et azol antifungalt middel).

- En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved hindring, redusering eller reversering av utvikling av resistens ovenfor et anti-fungalt middel, anti-protozoalt middel eller anti-parasittisk middel (foretrukket et anti-fungalt middel) ko-administrert dermed.
- 5 • Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for koadministrasjon med et anti-fungalt middel, anti-protozoalt middel eller anti-parasittisk middel (foretrukket et anti-fungalt middel) for å hindre, redusere eller reversere utviklingen av resistens ovenfor det anti-fungale middelet, anti-protozoale middelet eller anti-parasittiske middelet.
- 10 • En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for hindring eller redusering av utvikling av resistens ovenfor et anti-fungalt middel hos en pasient (for eksempel en menneske pasient), hvilken fremgangsmåte innbefatter administrering til pasienten en kombinasjon av et anti-fungalt middel, anti-protozoalt middel eller anti-parasittisk middel (foretrukket et anti-fungalt middel) og en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri.
- 15 • En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for profylakse eller behandling (eller lindring eller redusering av tilfellet) av en sykdom eller tilstand mediert av Hsp90, hvilken fremgangsmåte innbefatter administrering til et subjekt som trenger det en kombinasjon av en forbindelse i

20 følge oppfinnelsen som definert heri med et anti-fungalt, anti-protozoalt eller anti-parasittisk legemiddel, hvori sykdommen eller tilstanden mediert av Hsp90 er utviklingen av resistens ovenfor det anti-fungale, anti-protozoale eller anti-parasittiske legemiddelet.
- En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for: (i)

25 sensitisering av fungale, protozoale eller parasittiske celler ovenfor et anti-fungalt, anti-protozoalt eller anti-parasittisk legemiddel; (ii) lindre eller redusere tilfellet av resistens ovenfor et anti-fungalt, anti-protozoalt eller anti-parasittisk legemiddel ; (iii) reversere resistens ovenfor et anti-fungalt, anti-protozoalt eller anti-parasittisk legemiddel; (iv) potensierte aktiviteten til et anti-fungalt, anti-

30 protozoalt eller anti-parasittisk legemiddel; (v) forsinke eller hindre utbruddet av resistens ovenfor et anti-fungalt, anti-protozoalt eller anti-parasittisk legemiddel, hvilken fremgangsmåte innbefatter administrering til et individ som trenger det en kombinasjon av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri med nevnte anti-fungale, anti-protozoale eller anti-parasittiske legemiddel.
- 35 • En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for behandling av en fungal, protozoal eller parasittisk sykdom eller tilstand, hvilken fremgangsmåte innbefatter administrering til et subjekt som trenger det

en kombinasjon av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri med et anti-fungalt, anti-protozoalt eller anti-parasittisk legemiddel, hvilken fremgangsmåte er karakterisert ved fravær av legemiddel resistens.

- 5 • En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for profylakse eller behandling (eller lindring eller redusering av tilfellet) av en sykdom eller tilstand mediert av Hsp90 hos et individ som gjennomgår behandling med et anti-fungalt, anti-protozoalt eller anti-parasittisk legemiddel, hvilken fremgangsmåte innbefatter administrering til individet en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri, hvori sykdommen eller tilstanden mediert

10 av Hsp90 er utvikling av resistens ovenfor nevnte anti-fungale, anti-protozoale eller anti-parasittiske legemiddel.
- 15 • En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for: (i) sensitisere fungale, protozoale eller parasitt celler for et anti-fungalt, anti-protozoalt eller anti-parasitt legemiddel; (ii) lindre eller redusere tilfellet av resistens ovenfor et anti-fungalt, anti-protozoalt eller anti-parasitt legemiddel; (iii) reversere resistens ovenfor et anti-fungalt, anti-protozoalt eller anti-parasitt legemiddel; (iv) potensere aktiviteten til et anti-fungalt, anti-protozoalt eller anti-parasitt legemiddel; (v) forsinke eller hindre utbruddet av resistens ovenfor et anti-fungalt, anti-protozoalt eller anti-parasitt legemiddel.
- 20 • En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for behandling av en fungal, protozoal eller parasitt sykdom hos et subjekt som gjennomgår behandling med et anti-fungalt, anti-protozoalt eller anti-parasitt legemiddel, hvilken fremgangsmåte innbefatter administrering til et subjekt som trenger det en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri, hvilken

25 fremgangsmåte er karakterisert ved fravær av legemiddel resistens, for eksempel ovenfor nevnte anti-fungale, anti-protozoale eller anti-parasitt legemiddel.

Slik det er beskrevet ovenfor i innledningen til foreliggende søknad har forbindelser som har Hsp90 inhiberingsaktivitet blitt funnet å fremvise potent anti-fungal aktivitet og

30 hindrer utvikling av resistens ovenfor anti-fungale midler og særlig Hsp90 avhengig resistens ovenfor anti-fungale midler. Videre har det blitt funnet at inhibering av Hsp90 aktivitet kan redusere utvikling av resistens ovenfor vanlige anvendte anti-fungale legemidler slik som azolene. Forbindelsene i følge oppfinnelsen vil derfor være anvendelige ved profylakse eller behandling av et spekter av fungale sykdommer og

35 tilstander og vil også være anvendelig, når koadministrert med andre anti-fungale legemidler slik som azolene, med å øke aktiviteten til de anti-fungale legemidlene.

Den antifungale aktiviteten til forbindelsene i følge oppfinnelsen kan evalueres ved å bestemme den minimale fungistatiske (inhibering) konsentrasjonen (m.i.c.). Denne testen blir vanligvis utført ved å frembringe en serie plater eller rør som inneholder et passende ernæringsmedium, hver plate eller rør inneholder også en forskjellig konsentrasjon og testforbindelse og deretter inokkulere mediet med de fungale artene. Etter en inkuberingsperiode blir platene undersøkt visuelt for tilstedeværelse eller fravær av fungal vekst. m.i.c. er den minimale konsentrasjonen som kreves for å hindre fungal vekst.

- 10 Forbindelsene kan anvendes innen dyre medisin (for eksempel ved behandling av pattedyrs slik som mennesker).

Fungale infeksjoner hos dyr ovenfor hvilke forbindelsen i følge oppfinnelsen som definert heri kan anvendes inkluderer:

- 15 • Superfisiale mykoser – det vil si fungale infeksjoner begrenset til de ytterste lagene til hud og hår;
- Kutante mykoser – det vil si fungale infeksjoner som går dypere inn i epidermis, men er typisk begrenset til keratiniserte lag til hud, hår og negler;
- Subkutante mykoser – det vil si fungale infeksjoner som involverer dermis, subkutan vev, muskel og fascia;
- 20 • Systemiske mykoser på grunn av primære patogener (disse stammer typisk primært fra lunger og kan spre seg til ytre organsystemer); og
- Systemiske mykoser på grunn av opportunistiske patogener (infeksjoner hos pasienter med immunsvekkelse som vil ellers ikke bli infisert).
- 25 • Særlige eksempler på fungale sykdomstilstander for hvilke forbindelser i følge oppfinnelsen som definert heri kan anvendes inkluderer:
- Dermatocytt infeksjoner slike som tinea versicolor (en overflate fungal infeksjon på huden), tinea pedis (“Athletes’ Foot”), tinea capitis (overflate fungal infeksjon på hodet), tinea barbae (fungal infeksjon på skjegg-bevokste områder), tinea corporis (fungal infeksjon på glatt hud områder).
- 30 • Mukosal Candidiasis slik som Oral Candidiasis, esofagitt og Vaginal candidiasis.
- Invasiv eller dyp organ candidiasis (for eksempel fungemia, endokarditt og endoftalmititt).
- 35 • Cryptococcale infeksjoner slik som Cryptococcal meningitis.
- Histoplasmose.

- Blastomykose, en fungal infeksjon i lungene og til tider på huden.
- Invasive fungale infeksjoner hos pasienter med svekkede immunsystemer eller under behandling med antikreft eller anti-AID legemidler, for eksempel invasiv Candidiasis og invasiv Aspergillosis.
- 5 • Aspergilloses slik som Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis.
- Aspergilloma.
- Intertrigo infeksjoner (fungale infeksjoner som forekommer i hudfolder mellom for eksempel tærne eller fingrene, i underarms området eller i lyske området).
- Maduramykose (fungal invasjon av fotvev, også kjent som madura fot).
- 10 • Coccidioidomykose.
- Mucormykose.
- Blastomykose.
- Geotrikose.
- Chromoblastomykose.
- 15 • Conidiosporose.
- Histoplasmose.
- Rhinosporidose.
- Nocardiose.
- Para-actinomykose.
- 20 • Penicilliose.
- Monoliase.
- Sporotrikose.

Fungale infeksjoner av særlig interesse er Candidiasis og Aspergillosis.

25

Salter i følge oppfinnelsen har også anti-protozoal aktivitet og anti-parasitt aktivitet. Den antiprotozoale aktiviteten til saltene i følge oppfinnelsen kan bestemmes ved vanlige fremgangsmåter, for eksempel ved å bestemme minimum inhiberingskonsentrasjonen (m.i.c.) eller 50% inhiberingsnivået (IC₅₀).

30

Eksempler på protozoale og parasitt sykdommer eller tilstander for hvilke salteri følge oppfinnelsen kan vise seg å være anvendelige inkluderer:

- Chagas sykdom (trypanosomiase) - en infeksjon forårsaket av parasitten *Trypanosoma cruzi*.
- 35 • Ascariase - en human sykdom forårsaket av parasitt rundormen *Ascaris lumbricoides*.
- Leishmaniase - en sykdom forårsaket av parasitter i slekten *Leishmania*.

- Toksoplasmose - en parasitt sykdom forårsaket av protozoanen *Toksoplasma gondii*.
- Schistosomiase (Bilharzia) - en sykdom forårsaket av parasitten *Schistoma mansoni*.
- 5 • Trichomoniase – en seksuelt overført sykdom forårsaket av parasitt protozoanet *Trichomonas vaginalis*.

Slik det er diskutert ovenfor i de innledende delene av foreliggende søknad resulterer infeksjon av en vertscelle med viral RNA/DNA i en vesentlig omlegging av cellulær protein syntese mot nøkkel virale proteiner kodet av den virale nukelinsyren, og dette gir hyppig opphav til oppregulering av varmesjokk proteiner. Det antas at en funksjon av HSP induksjonen kan være å assistere ved stabilisering og folding av de høye nivåene av ”fremmed” protein generert ved forberedelsen på virus replikasjon og det har blitt vist (Nagkagawa *et al.*) at HSP 90 inhibitorer kan blokkere viral replikasjon.

15 Følgelig er forbindelsene i følge oppfinnelsen anvendelige ved bekjempelse av virale infeksjoner, for eksempel ved å blokkere eller inhibere viral replikasjon.

Derfor, i et annet aspekt, tilveiebringer oppfinnelsen en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved profylakse eller behandling av en viral infeksjon (eller viral sykdom).

20

I ytterligere aspekter tilveiebringer oppfinnelsen:

- Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for profylakse eller behandling av en viral infeksjon (eller viral sykdom).
- 25 • En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for profylakse eller behandling av en viral infeksjon (eller viral sykdom).
- En forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for anvendelse ved blokkering eller inhibering av viral replikasjon i en vertsorganisme (for eksempel et dyr slik som et pattedyr (for eksempel menneske)).
- 30 • Anvendelsen av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri for fremstilling av et medikament for anvendelse ved blokkering eller inhibering av viral replikasjon i en vertsorganisme (for eksempel et dyr slik som et pattedyr (for eksempel menneske)).
- 35 • En forbindelse i følge oppfinnelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for blokkering eller inhibering av viral replikasjon i en vertsorganisme (for eksempel et dyr slik som et pattedyr (for eksempel menneske)), hvilken

fremgangsmåte innbefatter administrering til vertsorganismen en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri.

Eksempler på virale infeksjoner som kan behandles med forbindelsene i følge

5 oppfinnelsen inkluderer infeksjoner på grunn av et eller flere av følgende virus:

- Picornaviruser slik som rhinoviruser (forkjølelsesvirus), Coxsackie virus (for eksempel Coxsackie B virus); og "foot and mouth" sykdomsvirus;
- Hepatitt viruser slik som hepatitt A virus (HAV), hepatitt B virus (HBV), hepatitt C virus (HCV), hepatitt D virus (HDV) og hepatitt E virus (HEV),
- 10 • Coronavirus (for eksempel forkjølelsesvirus og alvorlig akutt respiratorisk syndrom (SARS) virus);
- Adenovirus slik som Humane Adenoviruser (en årsak til respiratoriske og konjunktivale infeksjoner);
- Astroviruser (en årsak til influensa-lignende symptomer);
- 15 • Flaviviruser slik som gulfeber viruset;
- Orthomyxoviruser slik som influensa viruser (for eksempel influensa A, B og C viruser);
- Parainfluenza viruser;
- Respiratorisk syncytial virus;
- 20 • Enteroviruser slik som Poliovirus (Poliomyelitt virus);
- Paramyxoviruser slik som mesling (rubeola) viruset, kuma virus, respiratorisk syncytial virus (RSV) og hunde distemper virus (CDV);
- Togaviruser slik som Rubella (tysk mesling) virus og Sindbis virus;
- Herpes viruser slik som:
- 25 • Herpes simplex virus (HSV), for eksempel HSV-1 som forårsaker feber blemmer (forkjølelsessår), gingivostomatitt, herpes keratitt, eksem herpeticum og HSV encefalititt); og HSV-2 som forårsaker genitale lesjoner, neonatale infeksjoner, HSV meningitt, HSV proctitt;
- Varicella zoster virus (VZV), som forårsaker vannkopper, kongenital
- 30 varicella syndrom og helvetesild;
- Epstein-Barr Virus (EBV), som forårsaker infektøs mononukleose, Burkitt's lymfom og nasofaryngeal kreft;
- Cytomegalovirus (CMV), for eksempel human cytomegalovirus (HCMV);
- 35 • Human herpes virus 6 (HHV-6), som forårsaker exanthum subitum eller roseola infantum;

- Human herpes virus 8 (HHV-8) eller Kaposi's sarkom-assosiert herpes virus (KSHV), som finnes i spytt til mange AIDS pasienter og assosiert med Kaposi's sarkom;
- Papovaviridae slik som polyoma virus og human papilloma virus (HPV);
- 5 • Parvoviruser;
- Poxviruser slik som Variola virus (human småkoppe virus);
- Rhabdoviruser slik som rabies virus og vesikulær stomatitt virus (VSV); og
- Retroviruser slik som Human immunsvikt virus (HIV) som er ansvarlig for oppnådd immunsvikt syndrom (AIDS); og Human T-lymfotrofisk virus (HTLV).

10

Særlige virus infeksjoner ovenfor hvilke forbindelsene i følge oppfinnelsen kan anvendes inkluderer herpes virus, kopper virus, Epstein-Barr virus, Sindbis virus, adenovirus, HIV (for hindring av AIDS utvikling hos HIV-infiserte individer), HPV, HCV og HCMV virus.

15

Den virale infeksjonen kan være forskjellig fra en infeksjon med hepatitt C virus (HCV).

20

Aktiviteten til forbindelsene i følge oppfinnelsen som midler for å blokkere eller hindre viral replikasjon hos vertsorganismer eller vertsceller kan bestemmes i henhold til standard fremgangsmåter godt kjente for fagmannen.

25

30

Forbindelsene i følge oppfinnelsen kan anvendes som det eneste antivirale middelet eller de kan anvendes sammen med andre antivirale midler slike som acyklovir, ganciclovir, oseltamavir (Tamiflu®) og zanamavir (Relenza®), amantidin, rimantadin, adefovir dipivoxil, interferoner (for eksempel interferon alfa-2b og pegylert interferon alfa-2a), lamivudin, entecavir, ribavirin, famciclovir, valcyclovir, valacyclovir, azidotymidin (AZT - Retrovir®), atazanavir, fosamprenavir, lamivudin, lamivudin + abacavir, tenofovir disoproxil fumarat, tenofovir disoproxil fumarat + emtricitabin, tipranavir, nelfinavir, indinavir, raltegravir, ritonavir, lopinavir + ritonavir, darunavir, amprenavir, enfuvirtid, saquinavir, hydroksyurea, VGV-1 og anti-viral vaksiner.

Følgelig tilveiebringer oppfinnelsen videre:

35

- En kombinasjon av en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri med en hjelpeforbindelse som er et antiviralt middel.

- En farmasøytisk sammensetning som innbefatter en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri med en hjelpeforbindelse som er et antiviralt middel.

Farmasøytiske formuleringer

- 5 Mens det er mulig for den aktive forbindelsen å bli administrert alene, er det foretrukket å presentere den som en farmasøytisk sammensetning (for eksempel formulering) som innbefatter minst en aktiv forbindelse i følge oppfinnelsen sammen med en eller flere farmasøytisk akseptable bærere, adjuvanter, eksipienter, fortynningsmidler, fyllstoffer, buffere, stabilisatorer, konserveringsmidler, smøremidler eller andre materialer godt
- 10 kjente for fagmannen og eventuelt andre terapeutiske eller profylaktiske midler; for eksempel midler som reduserer eller lindrer noen av bivirkningene assosiert med kjemoterapi. Særlige eksempler på slike midler inkluderer anti-emetiske midler og midler som hindrer eller reduserer varigheten på den kjemoterapi assosierte neutropeni og hindrer komplikasjoner som oppstår fra reduserte nivåer av røde blodceller eller
- 15 hvite blodceller, for eksempel erythropoietin (EPO), granulocyt makrofag-koloni stimulerende faktor (GM-CSF) og granulocyt-koloni stimulerende faktor (G-CSF).

- Således tilveiebringer foreliggende oppfinnelse ytterligere farmasøytiske sammensetninger, som definert ovenfor, og fremgangsmåter for fremstilling av en
- 20 farmasøytisk sammensetning som innbefatter sammenblanding av minst en aktiv forbindelse, som definert ovenfor, sammen med en eller flere farmasøytisk akseptable bærere, eksipienter, buffere, adjuvanter, stabilisatorer eller andre materialer, slik det er beskrevet heri.
- 25 Begrepet "farmasøytisk akseptabel" slik det anvendes heri omfatter forbindelser, materialer, sammensetninger og/eller doseringsformer som er, innenfor rimelig medisinsk vurdering, egnet for anvendelse i kontakt med vev til et subjekt (for eksempel menneske) uten overdreven toksisitet, irritasjon, allergisk respons eller annet problem eller komplikasjon, med hensyn til et rimelig fordel/risiko forhold. Hver bærer,
- 30 eksipient, etc., må også være "akseptabel" i betydningen å være kompatibel med de andre ingrediensene i formuleringen.

- Følgelig, i et annet aspekt, tilveiebringer oppfinnelsen en forbindelse i følge oppfinnelsen som definert heri og særlig laktat salter med forml (1) og krystallinske
- 35 former derav som definert heri i form av farmasøytiske sammensetninger.

- De farmasøytiske sammensetningene kan være i en hvilken som helst form egnet for oral, parenteral, topisk, intranasal, oftalmisk, otisk, rektal, intra-vaginal eller transdermal administrasjon. Der sammensetningene er tiltenkt for parenteral administrasjon kan de formuleres for intravenøs, intramuskulær, intraperitoneal, subkutant administrasjon eller for direkte levering inn i et mål organ eller vev ved injeksjon, infusjon eller ved hjelp av annen levering. Leveringen kan være ved en bolus injeksjon, korttids infusjon eller lengre tids infusjon og kan være via passiv levering eller ved anvendelse av en passende infusjonspumpe.
- 10 Farmasøytiske formuleringer tilpasset parenteral administrasjon inkluderer vandige og ikke-vandige sterile injeksjonsløsninger som kan inneholde antioksidanter, buffere, bakteriostatisk midler, ko-løsemidler, organiske løsemiddelblandinger, cyclodekstrin komplekseringsmidler, emulgeringsmidler (for å danne og stabilisere emulsjonsformuleringer), liposom komponenter for å danne liposomer, gelerbare polymerer for å danne polymere geler, lyofiliseringsprotektanter og kombinasjoner av midler for blant annet stabilisering av den aktive ingrediensen i en løselig form og gjøre formuleringen isoton med blodet til den tiltenkte resipienten. Farmasøytiske formuleringer for parenteral administrasjon kan også ha form av vandige og ikke-vandige sterile suspensjoner som kan inkludere suspenderingsmidler og fortykningsmidler (R. G. Strickly, "Solubilizing
- 15 20 Excipients in oral and injectable formulations", Pharmaceutical Research, vol 21(2) 2004, s. 201-230).

Et legemiddel molekyl som er ioniserbart kan solubiliseres til den ønskede konsentrasjonen ved pH justering hvis legemiddelets pK_a er tilstrekkelig unna formulerings pH verdien. Det akseptable området er pH 2-12 for intravenøs og intramuskulær administrasjon, men subkutant er området pH 2.7-9.0. Løsnings pH verdien kontrolleres ved enten saltformen av legemiddelet, sterke syrer/baser slike som saltsyre eller natrium hydroksid, eller ved løsninger av buffere som inkluderer, men er ikke begrenset til, buffer løsninger dannet fra glysin, citrat, acetat, maleat, suksinat, histidin, fosfat, tris(hydroksymetyl)aminometan (TRIS) eller karbonat.

25 30

Kombinasjonen av en vandig løsning og et vannløselig organisk løsemiddel/surfaktant (det vil si et ko-løsemiddel) blir ofte anvendt i injiserbare formuleringer. De vannløselige organiske løsemidlene og surfaktantene anvendt i injiserbare formuleringer inkluderer, men er ikke begrenset til, propylen glykol, etanol, polyetylen glykol 300, polyetylen glykol 400, glyserin, dimetylacetamid (DMA), N-metyl-2-pyrrolidon (NMP; Pharmasolve),

35

dimetylsulfoksid (DMSO), Solutol HS 15, Cremophor EL, Cremophor RH 60 og polysorbat 80. Slike formuleringer kan vanligvis bli, men ikke alltid, fortynnet før injeksjon.

Propylen glykol, PEG 300, etanol, Cremophor EL, Cremophor RH 60 og polysorbat 80 er de fullt organisk vann-blandbare løsemidlene og surfaktantene som anvendes i kommersielle injiserbare formuleringer og kan anvendes i kombinasjon med hverandre. De resulterende organiske formuleringene blir vanligvis fortynnet minst 2 ganger før IV bolus eller IV infusjon.

- Alternativt kan økt vannløselighet oppnås gjennom molekylær kompleksing med med cyclodekstriner.

Liposomer er lukkede sfæriske vesikler bestående av ytre lipid bilag membraner og en indre vandig kjerne og med en total diameter på $<100\text{ }\mu\text{m}$. Avhengig av hydrofobisitetensnivået kan moderat hydrofobe legemidler bli solubilisert med liposomer hvis legemiddelet blir innkapslet eller interkalatert i liposomen. Hydrofobe legemidler kan også solubiliseres med liposomer hvis legemiddel molekylet blir en integrert del av lipid bilag membranen, og i dette tilfellet blir det hydrofobe legemiddelet løst i lipid delen til lipid bilaget. En typisk liposom formulering inneholder vann med fosfolipid ved 5-20 mg/ml, et isotonisitettsfremmende middel, en pH 5-8 buffer og eventuelt kolesterol.

Formuleringene kan presenteres i enhetsdose eller multidoser beholdere, for eksempel forseglede ampuller og medisinflasker, og kan lagres i en frysetørket (lyofilisert) tilstand som kun krever tilsetning av en steril flytende bærer, for eksempel vann for injeksjoner, umiddelbart før anvendelse.

Den farmasøytiske formuleringen kan fremstilles ved å lyofilisere en forbindelse i følge oppfinnelsen eller syreaddisjonssalt derav. Lyofilisasjon refererer til prosedyren med frysetørring av en sammensetning. Frysetørring og lyofilisasjon blir derfor anvendt heri som synonymer. En typisk fremgangsmåte for å solubilisere forbindelsen og den resulterende formuleringen er klargjøring, steril filtrering og aseptisk overføring til beholdere passende for lyofilisasjon (for eksempel medisinflasker). I tilfellet medisinflasker blir de delvis satt hette på med lyo-stoppere. Formuleringen kan avkjøles til frysing eller gjøres til gjenstand for lyofilisasjon under standard betingelser og deretter hermetisk settes lokk på for å danne en stabil, tørr lyofil formulering.

Sammensetningen vil typisk ha et lavt rest vann innhold, for eksempel mindre enn 5%, for eksempel mindre enn 1% i forhold til vekt basert på vekten av lyofile.

- Lyofilisasjonsformuleringen kan inneholde andre eksipienter for eksempel
- 5 fortykningsmidler, dispergeringsmidler, buffere, antioksidanter, konserveringsmidler og tonisitetstjusterende midler. Typisk inkluderer buffere fosfat, acetat, citrat og glysin. Eksempler på antioksidanter inkluderer askorbinsyre, natrium bisulfitt, natrium metabisulfitt, monotioglyserol, tiourea, butylert hydroksytoluen, butylert hydroksyl anisol og etylendiamintetraeddiksyre salter. Konserveringsmidler kan inkludere
- 10 benzosyre og dens salter, sorbinsyre og dens salter, alkyl estere av *para*-hydroksybenzosyre, fenol, klorbutanol, benzyl alkohol, timerosal, benzalkonium klorid og cetylpyridinium klorid. Bufferne nevnt tidligere, såvel som dekstrose og natrium klorid, kan anvendes for tonisitetstjustering hvis nødvendig.
- 15 Bulk midler blir generelt anvendt i lyofilisasjonsteknologi for å lette prosessen og/eller tilveiebringe bulk og/eller mekanisk integritet til den lyofiliserte kaken. Bulk middel betyr et fritt vannløselig, fast partikulært fortynningsmiddel som, når det ko-lyofiliseres med forbindelsen eller salt derav, gir en fysisk stabil lyofilisert kake, en mer optimal frysetørke prosess og rask og fullstendig rekonstitusjon. Bulk middelet kan også
- 20 anvendes for å gjøre løsningen isoton.

- Det vannløselige bulk middelet kan være et hvilket som helst av de farmasøytisk akseptable inerte faste materialene som typisk anvendes for lyofilisasjon. Slike bulk midler inkluderer for eksempel sukker slik som glukose, maltose, sukrose, og laktose;
- 25 polyalkoholer slik som sorbitol eller mannitol; aminosyrer slik som glysin; polymerer slik som polyvinylpyrrolidin; og polysakkarider slik som dekstran.

- Forholdet mellom vekten av bulk middelet og vekten av den aktive forbindelsen er typisk i området fra cirka 1 til cirka 5, for eksempel fra cirka 1 til cirka 3, for eksempel i
- 30 området fra cirka 1 til 2.

- Alternativt kan de bli tilveiebrakt i en løsningsform som kan bli konsentrert og forsegle i en passende medisinflaske. Sterilisering av doseringsformer kan skje via filtrering eller ved autoklaving av medisinflasken og deres komponenter ved passende trinn i
- 35 formuleringsprosessen. Den leverte formuleringen kan kreve ytterligere fortynning eller preparering før levering for eksempel fortynning over i passende sterile infusjonspakker.

Ekstemporære injeksjonsløsninger og suspensjoner kan fremstilles fra sterile pulvere, granuler og tabletter.

- 5 I en foretrukket utførelsesform i følge oppfinnelsen er den farmasøytiske sammensetningen i en form egnet for i.v. administrasjon, for eksempel ved injeksjon eller infusjon.

- I en annen foretrukket utførelsesform er den farmasøytiske sammensetningen i en form
10 egnet for subkutan (s.c.) administrasjon.

Farmasøytiske doseringsformer egnet for oral administrasjon inkluderer tabletter, kapsler, kapletter, piller, losenger, siruper, løsninger, pulvere, granuler, eliksirer og suspensjoner, sublinguale tabletter, waffere eller plastere og bukkale plastere.

15

Farmasøytiske sammensetninger som inneholder forbindelser med formel (I) kan formuleres i henhold til kjente teknikker, se for eksempel "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Company, Easton, PA, USA.

- 20 Således kan tablett sammensetninger inneholde en enhetsdosering av aktiv forbindelse sammen med et inert fortynningsmiddel eller bærer slik som et sukker eller sukker alkohol, for eksempel laktose, sukrose, sorbitol eller mannitol; og/eller et ikke-sukker avledet fortynningsmiddel slik som natrium karbonat, kalsium fosfat, kalsium karbonat eller en cellulose eller derivat derav slik som metyl cellulose, etyl cellulose,
25 hydroksypropyl metyl cellulose og stivelser slik som maisstivelse. Tabletter kan også inneholde slike standard ingredienser som bindemidler og granuleringsmidler slik som polyvinylpyrrolidon, desintegreringsmidler (for eksempel svellbare tverrbundede polymerer slik som tverrbundet karboksymetylcellulose), smøremidler (for eksempel stearater), konserveringsmidler (for eksempel parabener), antioksidanter (for eksempel
30 BHT), buffere (for eksempel fosfat eller citrat buffere) og brusemidler slik som citrat/bikarbonat blandinger. Slike eksipienter er godt kjent og trenger ikke å bli diskutert i detalj heri.

- Kapsel formuleringer kan være av hard gelatin eller myk gelatin typen og kan inneholde
35 den aktive komponenten i fast, delvis fast eller flytende form. Gelatin kapsler kan dannes fra dyre gelatin eller syntetiske eller plante avledede ekvivalenter derav.

De faste doseringsformene (for eksempel tabletter, kapsler etc.) kan være belagte eller ikke belagte, men har typisk et belegg, for eksempel et beskyttende film belegg (for eksempel et voks eller lakk) eller et frigivelseskontrollerende belegg. Belegget (for eksempel en Eudragit TM type polymer) kan designes for å frigi den aktive komponenten ved en ønsket lokalisering i gastrointestinal trakten. Således kan belegget velges slik at det brytes ned under visse pH betingelser i gastrointestinal trakten, hvorved forbindelsen selektivt frigis i magen eller i ileum eller tolvfingertarmen. Alternativt eller i tillegg kan belegget anvendes som et smaksmaskerende belegg for å maskere ubehagelige smaker slik som legemidler som smaker bittert. Belegget kan inneholde sukker eller andre midler som assisterer med å maskere ubehagelige smaker.

Istedenfor, eller i tillegg til, et belegg kan legemiddelet presenteres i en fast matriks som innbefatter et frigivelseskontrollerende middel, for eksempel et frigivelsesforsinkende middel som kan være tilpasset til selektivt å frigi forbindelsen under betingelser med variabel surhet eller alkalinitet i gastrointestinal trakten. Alternativt kan matriks materialet eller det frigivelsesretarderende belegget ha form av en eroderbar polymer (for eksempel en maleinsyre anhydrid polymer) som blir i det vesentlige kontinuerlig erodert i det doseringsformen passerer gjennom gastrointestinal trakten. Som et ytterligere alternativ kan den aktive forbindelsen formuleres i et leveringssystem som tilveiebringer osmotisk kontroll av frigivelsen av forbindelsen. Osmotisk frigivelse og annen forsinket frigivelse eller vedvarende frigivelse formuleringer kan fremstilles i henhold til fremgangsmåter godt kjente for fagmannen.

De farmasøytiske formuleringene kan presenteres for en pasient i “pasientpakker” som inneholder hele behandlingsforløpet i en enkel pakning, vanligvis en blemmepakke. Pasientpakker har en fordel i forhold til tradisjonelle foreskrivninger, hvor en farmasøyt deler en pasients levering av et farmasøytisk middel fra en bulk levering, ved at pasienten alltid har adgang til pakningsinnlegget innbefattet i pasientpakken, som normalt mangler i pasient foreskrivninger. Inklusjonen av et pakningsinnlegg har vist seg å forbedre pasient etterlevelse i forhold til legens instruksjoner.

Sammensetninger for topisk anvendelse inkluderer salver, kremer, sprayer, plastery, geler, væskedråper og innsetninger (for eksempel intraokulære innsetninger). Slike sammensetninger kan formuleres i henhold til kjente fremgangsmåter.

Sammensetninger for parenteral administrasjon er typisk tilstede som sterile vandige eller oljeaktige løsninger eller fin suspensjoner, eller kan bli tilveiebrakt i fint oppdelt fri pulver form for fremstilling ekstemporært med sterilt vann for injeksjon.

- 5 Eksempler på formuleringer for rektal eller intra-vaginal administrasjon inkluderer pessarer og stikkpiller som for eksempel kan dannes fra et formet støpbart eller voksaktig materiale som inneholder den aktive forbindelsen. Således kan enhetsdose stikkpiller eller pessarer fremstilles ved å blande den aktive ingrediensen med en eller flere vanlige bærere, for eksempel kakaosmør, og forme den resulterende blandingen.
- 10 Ytterligere eksempler på støpbare voksaktige materialer inkluderer polymerer slik som høy molekylvekt polyalkylen glykoler, for eksempel høy molekylvekt polyetylen glykoler.

- Alternativt, i tilfellet vaginal administrasjon, kan formuleringen presenteres som en
- 15 tampong impregnert med de aktive ingrediensene og eventuelt en eller flere eksipienter eller fortynningsmidler. Andre formuleringer egnet for rektal og vaginal administrasjon inkluderer kremer, geler, skum, pastaer og sprayer.

- Ytterligere eksempler på topiske sammensetninger inkluderer forbindinger slike som
- 20 bandasjer og adhesiv plastere impregnert med de aktive ingrediensene og eventuelt en eller flere eksipienter eller fortynningsmidler. Bærer som kan anvendes inkluderer for eksempel polyhydroksy alkoholer slik som polyetylen glykoler, propylen glykol eller glyserol. Egnede eksipienter er de som er kjent i litteraturen for å være passende.

- 25 Sammensetninger for administrasjon ved inhalasjon kan ha form av inhalerbare pulver sammensetninger eller væske eller pulver sprayer, og kan administreres i standard form ved anvendelse av pulver inhaleringsinnretninger eller aerosol utslippende innretninger. Slike innretninger er godt kjente. For administrasjon ved inhalasjon innbefatter de pulveriserte formuleringene typisk den aktive forbindelsen sammen med et inert fast
- 30 pulverisert fortynningsmiddel slik som laktose.

- Forbindelsene i følge oppfinnelsen vil generelt presenteres i enhetsdoseringsform og vil som sådan typisk inneholde tilstrekkelig forbindelse til å tilveiebringe en ønsket grad av biologisk aktivitet. For eksempel kan en formulering inneholde fra 1 nanogram til 2
- 35 gram aktiv ingrediens, for eksempel fra 1 nanogram til 2 milligram aktiv ingrediens. Innenfor dette området er særlig underområder av forbindelse 0.1 milligram til 2 gram av aktiv ingrediens (mer vanlig fra 10 milligram til 1 gram, for eksempel 50 milligram

til 500 milligram) eller 1 mikrogram til 20 milligram (for eksempel 1 mikrogram til 10 milligram, for eksempel 0.1 milligram til 2 milligram av aktiv ingrediens).

For orale sammensetninger kan en enhetsdoseringsform inneholde fra 1 milligram til 2 gram, mer typisk 10 milligram til 1 gram, for eksempel 50 milligram til 1 gram, for eksempel 100 milligram til 1 gram, av aktiv forbindelse.

Den aktive forbindelsen vil administreres til en pasient som trenger det (for eksempel en menneske eller dyre pasient) i en mengde tilstrekkelig til å oppnå den ønskede terapeutiske effekten.

Forbindelsene i følge oppfinnelsen vil være anvendelige ved profylakse eller behandling av et antall sykdommer eller tilstander mediert av Hsp90 klient proteiner. Eksempler på slike sykdommer og tilstander er fremsatt ovenfor.

Forbindelsene blir generelt administrert til et subjekt som trenger slik administrasjon, for eksempel en menneske eller dyre pasient, foretrukket et menneske.

Forbindelsene vil typisk bli administrert i mengder som er terapeutisk eller profylaktisk anvendelige og som generelt er ikke-toksiske. Imidlertid, i visse situasjoner (for eksempel i tilfelle livstruende sykdommer) kan fordelene ved å administrere en forbindelse med formel (I) oppveie ulempene ved eventuelle toksiske effekter eller bivirkninger, i hvilke tilfelle det kan vurderes ønskelig å administrere forbindelser i mengder som er assosiert med en grad av toksisitet.

Forbindelsene kan administreres over en forlenget tidsperiode for å opprettholde fordelaktige terapeutiske effekter eller kan administreres i kun en kort tidsperiode. Alternativt kan de administreres på en pulserende eller kontinuerlig måte.

En typisk daglig dose av forbindelsen i følge oppfinnelsen kan være i området fra 100 pikogram til 100 milligram per kilogram kroppsvekt, mer typisk 5 nanogram til 25 milligram per kilogram kroppsvekt, og mer vanlig 10 nanogram til 15 milligram per kilogram (for eksempel 10 nanogram til 10 milligram, og mer typisk 1 mikrogram per kilogram til 20 milligram per kilogram, for eksempel 1 mikrogram til 10 milligram per kilogram) kroppsvekt selv om høyere eller lavere doser kan administreres hvis påkrevet. Forbindelsen kan administreres på en daglig basis eller på gjentakende basis og er 2,

eller 3, eller 4, eller 5, eller 6, eller 7, eller 10 eller 14, eller 21, eller 28 dag for eksempel.

I et bestemt doseringsregime vil en pasient gis en infusjon av en forbindelse i perioder
5 på en time daglig opptil ti dager særlig opptil fem dager i løpet av en uke, og
behandlingen gjentas ved et ønsket intervall slik som to til fire uker, særlig hver tredje
uke.

Mer særlig kan en pasient gis en infusjon av en forbindelse i perioder på en ganger
10 daglig i 5 dager og deretter gjentas behandlingen hver tredje uke.

I et annet særlig doseringsregime blir en pasient gitt en infusjon i løpet av 30 minutter
til 1 time fulgt av opprettholdende infusjoner med forskjellig varighet, for eksempel 1 til
5 timer, for eksempel 3 timer.

15 I et ytterligere spesielt doseringsregime blir en pasient gitt en kontinuerlig infusjon i en
periode på 12 timer til 5 dager, og særlig en kontinuerlig infusjon på 24 timer til 72
timer.

20 Til slutt vil imidlertid mengden forbindelse administrert og type sammensetning
anvendt vurderes ut fra typen sykdom eller fysiologisk tilstand som behandles og vil
bestemmes av legen.

Forbindelsene slik de er definert heri kan administreres som det eneste terapeutiske
25 middelet eller de kan administreres i kombinasjonsbehandling med en eller flere andre
forbindelser for behandling av en bestemt sykdomstilstand, for eksempel en neoplastisk
sykdom slik som en kreftform som tidligere definert.

Et ytterligere aspekt ved oppfinnelsen er laktat salter av forbindelser med formel (1),
30 eller krystallinske former derav, i kombinasjon med en eller flere andre terapeutiske
agens. Eksempler på andre terapeutiske midler eller behandlinger inkludert i denne
oppfinnelsen som kan administreres sammen (enten det er samtidig eller ved
forskjellige tidsintervaller) med saltene i følge oppfinnelsen inkluderer, men er ikke
begrenset til:

- 35
- Topoisomerase I inhibitorer
 - Antimetabolitter
 - Tubulin målrettende midler

- DNA bindende midler og topoisomerase II inhibitorer
- Alkyleringsmidler
- Monoklonale antistoffer
- Anti-hormoner
- 5 • Signal transduksjonsinhibitorer
- Proteasom inhibitorer
- DNA metyl transferaser
- Cytokiner og retinoider
- Kromatin målrettende behandlinger, for eksempel HDAC eller HAT
- 10 modulatorer
- Strålebehandling; og
- Andre terapeutiske eller profylaktiske midler; for eksempel midler som reduserer eller lindrer noen av bivirkningene assosiert med kjemoterapi. Særlige eksempler på slike midler inkluderer anti-emetiske midler og midler som hindrer
- 15 eller reduserer varigheten på kjemoterapi assosiert neutropeni og hindrer komplikasjoner som oppstår fra reduserte nivåer av røde blodceller eller hvite blodceller, for eksempel erythropoietin (EPO), granulocyt makrofag-koloni stimulerende faktor (GM-CSF) og granulocyt-koloni stimulerende faktor (G-CSF). Også inkludert er midler som inhiberer ben resorpsjon slik som
- 20 bisfosfonat midler for eksempel zoledronat, pamidronat og ibandronat, midler som undertrykker inflammatoriske responser (slik som deksametazon, prednison og prednisolon) og midler anvendt for å redusere blod nivåer av veksthormon og IGF-I hos akromegali pasienter slik som syntetiske former av hjerne hormonet somatostatin, som induserer oktreotid acetat som er et langtidsvirkende
- 25 oktapeptid med farmakologiske egenskaper som etterligner de til det naturlige hormonet somatostatin. Videre inkludert er midler slike som leucovorin, som anvendes som en motgift for legemidler som reduserer nivået av folsyre, eller folinsyre i seg selv og midler slik som megestrol acetat som kan anvendes for behandling av bivirkninger som inkluderer ødem og tromboemboliske episoder.

30

For tilfellet med Hsp90 inhibitorer kombinert med andre behandlinger kan de to eller flere behandlingene gis i individuelt varierende doseringsregimer og via forskjellige ruter.

35

Der forbindelsen administreres i kombinasjonsbehandling med en, to, tre, fire eller flere andre terapeutiske midler (foretrukket en eller to, mer foretrukket en) kan forbindelsene administreres simultant eller sekvensielt. Ved sekvensiell administrasjon kan de

administreres ved intervaller med kort mellomrom (for eksempel i løpet av en periode på 5-10 minutter) eller ved lengre intervaller (for eksempel 1, 2, 3, 4 eller flere timer fra hverandre, eller til og med lengre perioder fra hverandre hvis påkrevet), hvor det presise doseringsregimet tar hensyn til egenskapene til de terapeutiske midlene.

5

Forbindelsene i følge oppfinnelsen kan også administreres sammen med ikke-kjemoterapeutiske behandlinger slik som strålebehandling, fotodynamisk terapi, gen terapi; kirurgi og kontrollerte dietter.

- 10 For anvendelse i kombinasjonsbehandling med andre kjemoterapeutisk midler kan forbindelsen og en, to, tre, fire eller flere andre terapeutiske midler for eksempel formuleres sammen i en doseringsform som inneholder to, tre, fire eller flere terapeutiske midler. I et alternativ kan de individuelle terapeutiske midlene formuleres separat og presenteres sammen i form av et kitt, eventuelt med instruksjoner for deres
- 15 anvendelse.

Fagmannen vil kjenne til gjennom hans eller hennes generelle kunnskap doseringsregimer og kombinasjonsbehandlinger for anvendelse.

- 20 Før administrasjon av en forbindelse kan en pasient screenes for å bestemme om en sykdom eller tilstand fra hvilken pasienten lider av eller kan lide av er en som vil være mottakelig for behandling med en forbindelse som har aktivitet ovenfor Hsp90.

- For eksempel kan en biologisk prøve tatt fra en pasient analyseres for å bestemme om
- 25 en tilstand eller sykdom, slik som kreft, som pasienten lider av eller kan lide av er en som er karakterisert ved en genetisk abnormalitet eller abnormal protein ekspresjon som fører til mutasjonen eller overaktiveringen av et Hsp90 klient protein. Eksempler på slike abnormaliteter som resulterer i aktivering av Hsp90 klient proteiner inkluderer; Bcr-ABL translokasjon, Flt-3 intern duplisering og mutasjon av Braf eller over-
- 30 ekspresjon av ErbB2.

- Således kan pasienten gjøres til gjenstand for en diagnostisk test for å detektere en markør karakteristisk for oppregulering. Begrepet diagnose inkluderer screening. Med markør inkluderer vi genetiske markører som for eksempel inkluderer måling av DNA
- 35 sammensetning for å identifisere mutasjoner av Braf, BCR-abl og Flt3 eller andre berørte klient proteiner. Begrepet markør inkluderer også proteiner slik som ErbB2, som inkluderer nivåer eller konsentrasjoner av proteinet eller noen fragmenter eller

nedbrytningsprodukter og for enzymer den enzymatiske aktiviteten. Proteinet (for eksempel fosforylert eller ikke) og mRNA nivåer av de ovenfor nevnte proteinene kan også bestemmes for å karakterisere en forandring i aktivitet. For eksempel kan nivået av fosforylert AKT være en indikator på sensitivitet ovenfor HSP90 inhibitorer.

5

De diagnostiske testene blir typisk utført på en biologisk prøve valgt fra for eksempel tumor biopsi prøver, blodprøver (isolasjon og anrikning av utfelte tumor celler), avføringsbiopsier, sputum, kromosom analyse, pleural fluid, peritoneal fluid, bukkale spirer eller biopsi eller fra urin.

10

Screening prosessen vil typisk involvere direkte sekvensering, oligonukleotid eller protein mikroarray analyse, proteom analyse med masse spektrometri, immunohistokjemiske teknikker eller deteksjon ved anvendelse av et spesifikt antistoff.

15

Fremgangsmåter for identifisering og analysering av mutasjoner og oppregulering av proteiner er godt kjent for fagmannen. Screening fremgangsmåter kan inkludere, men er ikke begrenset til, standard fremgangsmåter slik som revers-transkriptase polymerase kjedereaksjon (RT-PCR), in-situ hybridisering eller immunoblotting.

20

Ved screening med RT-PCR blir nivået av mRNA i tumoren bestemt ved å danne en cDNA kopi av mRNA fulgt av amplifisering av cDNA med PCR. Fremgangsmåter for PCR amplifisering, seleksjon av primere og betingelser for amplifisering er godt kjent for fagmannen. Nukleinsyre manipuleringer og PCR utføres ved standard fremgangsmåter, slik det for eksempel er beskrevet i Ausubel, F.M. et al., red. "Current

25

Protocols in Molecular Biology", 2004, John Wiley & Sons Inc., eller Innis, M.A. et-al., red. "PCR Protocols: a guide to methods and applications", 1990, Academic Press, San Diego. Reaksjoner og manipuleringer som involverer nukleinsyre teknikker er også beskrevet i Sambrook et al., 2001, 3. utg., "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press. Alternativt kan et kommersielt tilgjengelig kitt

30

for RT-PCR (for eksempel Roche Molecular Biochemicals) anvendes, eller metodologi fremsatt i US patentene 4,666,828; 4,683,202; 4,801,531; 5,192,659, 5,272,057, 5,882,864, og 6,218,529 og innbefattet heri med referanse.

35

Et eksempel på en in-situ hybridiseringsteknikk for å bestemme mRNA ekspresjon vil være fluorescens in-situ hybridisering (FISH) (se Angerer, 1987 Meth. Enzymol., 152: 649).

- Generelt innbefatter in situ hybridisering følgende hovedtrinn: (1) fiksering av vev som skal analyseres; (2) prehybridiseringsbehandling av prøven for å øke tilgjengeligheten av mål nukleinsyre, og å redusere ikke-spesifikk binding; (3) hybridisering av blandingen av nukleinsyrer til nukleinsyren i den biologiske strukturen eller vev; (4) post-hybridiseringsvaskinger for å fjerne nukleinsyre fragmenter ikke bundet i hybridiseringen, og (5) deteksjon av de hybridiserte nukleinsyre fragmentene. Probene anvendt i slike applikasjoner blir typisk merket, for eksempel med radioisotoper eller fluorescens reportere. Foretrukne prober er tilstrekkelig lange, for eksempel fra cirka 50, 100 eller 200 nukleotider til cirka 1000 eller flere nukleotider, for å muliggjøre spesifikk hybridisering med mål nukleinsyrene under stringente betingelser.
- Kommersielt tilgjengelig FISH prober eksisterer også for cytogen deteksjon av kromosom omleiringer, som kan anvendes for å detektere Flt3 og Bcr-Abl translokasjoner i leukemi celle populasjoner. Standard fremgangsmåter for utføring av FISH er beskrevet i Ausubel, F.M. et al., red. "Current Protocols in Molecular Biology", 2004, John Wiley & Sons Inc og "Fluorescence In Situ Hybridization: Technical Overview" av John M. S. Bartlett i "Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols", 2, utg.; ISBN: 1-59259-760-2; mars 2004, s. 077-088; Serie: "Methods in Molecular Medicine".
- Fremgangsmåter for gen ekspresjons profilering er beskrevet av (DePrimo *et al.*, *BMC Cancer* 2003, 3:3). Kort fortalt er protokollen som følger: dobbelt-strengt cDNA syntetiseres fra total RNA ved anvendelse av en (dT)24 oligomer for priming første-streng cDNA syntese, fulgt av andre streng cDNA syntese med randomiserte heksamer primere. Det dobbelt-strengede cDNA blir anvendt som et templat for in vitro transkripsjon av cRNA ved anvendelse av biotinylerde ribonukleotider. cRNA blir kjemisk fragmentert i henhold til protokoller beskrevet av Affymetrix (Santa Clara, CA, USA), og deretter hybridisert over natten på Human Genome Arrays.
- Alternativt kan protein produktene uttrykt fra mRNAene bestemmes ved immunohistokjemi av tumor prøver, fast fase immunundersøkelse med mikrotiter plater, Western blotting, 2-dimensjonal SDS-polyakrylamid gel elektroforese, ELISA, strømnings cytometri og andre fremgangsmåter kjent i litteraturen for deteksjon av spesifikke proteiner. Deteksjonsfremgangsmåter vil inkludere anvendelsen av sete spesifikke antistoffer. Fagmannen vil se at alle slike godt kjente teknikker for deteksjon av "filadelfia kromosomet" er indikativ for BCR-ABL translokasjon.

Derfor kan alle disse teknikkene også anvendes for å identifisere tumorer særlig egnet for behandling med forbindelsene i følge oppfinnelsen.

EKSEMPLER

5

Oppfinnelsen vil nå bli illustrert, men ikke begrenset, med referanse til de spesifikke utførelsesformene beskrevet i følgende eksempler.

I eksemplene kan følgende forkortelser anvendes.

10

AcOH	eddiksyre
BOC	<i>tert</i> -butyloksykarbonyl
Bn	benzyl
CDI	1,1-karbonyldiimidazol
15 DMAW90	Løsemiddel blanding: DCM: MeOH, AcOH, H ₂ O (90:18:3:2)
DMAW120	Løsemiddel blanding: DCM: MeOH, AcOH, H ₂ O (120:18:3:2)
DMAW240	Løsemiddel blanding: DCM: MeOH, AcOH, H ₂ O (240:20:3:2)
DCM	diklormetan
DMF	dimetylformamid
20 DMSO	dimetyl sulfoksid
EDC	1-etyl-3-(3'-dimetylaminopropyl)-karbodiimid
Et ₃ N	trietylamin
EtOAc	etyl acetat
Et ₂ O	dietyl eter
25 h	time(r)
HOAt	1-hydroksyazabenzotriazol
HOBt	1-hydroksybenzotriazol
MeCN	acetonitril
MeOH	metanol
30 min.	minutter
Ms	mesyl
MsO	mesylat
P.E.	petroleum eter
PG	beskyttende gruppe
35 r.t.	romtemperatur
SiO ₂	silica
TBTU	N,N,N',N'-tetrametyl-O-(benzotriazol-1-yl)uronium tetrafluorborat

THF tetrahydrofuran

Proton magnetisk resonans (^1H NMR) spektra ble avlest på et Bruker AV400 instrument som ble operert ved 400.13 MHz, i DMSO- d_6 eller MeOH- d_4 (slik det er indikert) ved
 5 27°C, med mindre annet er angitt og er rapportert som følger: kjemiske shift δ/ppm (antall protoner, multiplisitet var s=singlett, d=dublett, t=triplett, q=kvartett, m=multipltett, br=bred). Rest protisk løsemiddel ble anvendt som intern referanse.

I eksemplene ble de fremstilte forbindelsene karakterisert med væske kromatografi og
 10 masse spektroskopi ved anvendelse av systemet og operasjonsbetingelsene fremsatt nedenfor. Der atomer med forskjellige isotoper er tilstede og en enkel masse er angitt er massen som er angitt for forbindelsen monoisotop massen (det vil si ^{35}Cl ; ^{79}Br etc.). Forskjellige systemer ble anvendt, som beskrevet nedenfor, og disse ble utstyrt med, og ble satt opp til å kjøre under, svært tilsvarende operasjonsbetingelser. De anvendte
 15 operasjonsbetingelsene er også beskrevet nedenfor.

System beskrivelse:

System 1 (analytisk system):

20

HPLC System:	Waters 2795
Mass Spek Detektor:	Mikromass Platform LC
PDA Detektor:	Waters 2996 PDA

System 2 (preparativt og analytisk system):

HPLC System:	Waters Fractionlynx system
Mass Spek Detektor:	Waters ZQ
PDA Detektor:	Waters 2996 PDA

30

System 3 (preparativt og analytisk system):

HPLC System:	Agilent 1100 system
Mass Spek Detektor:	LC/MSD
35 UV Detektor:	Agilent MWD

Operasjonsbetingelser:

Sure analytiske betingelser:

	Eluent A:	H ₂ O (0.1% maursyre)
5	Eluent B:	CH ₃ CN (0.1% maursyre)
	Gradient:	5-95% eluent B i løpet av 3.5 minutter (i løpet av 15 minutter w/ kolonne 2)
	Strømningshastighet:	0.8 ml/min
	Kolonne 1:	Fenomenex Synergi 4μ MAX-RP 80A, 2.0 x 50 mm
10	Kolonne 2:	Fenomenex Synergi 4μ MAX-RP 80A, 2.0 x 150 mm

Basiske analysebetingelser:

	Eluent A:	H ₂ O (10 mM NH ₄ HCO ₃ buffer justert til pH=9.2 med NH ₄ OH)
15	Eluent B:	CH ₃ CN
	Gradient:	5-95% eluent B i løpet av 3.5 minutter
	Strømningshastighet:	0.8 ml/min
	Kolonne:	Fenomenex Gemini 5μ 2.0 x 50 mm

20 MS betingelser (Waters systems):

	Kapillær spenning:	3.6 kV (3.40 kV på ES negativ)
	Konus spenning:	25 V
	Kilde temperatur:	120°C
25	Scan område:	125-800 amu
	Ionisasjons modus:	ElektroSpray Positiv, Negativ eller Positiv & Negativ

MS betingelser (Agilent systems):

30

	Kapillær spenning:	4000 V (3500 V på ES Negativ)
	Fragmentor/Gain:	150 / 1
	Tørrgass temp/strømningshastighet:	350°C / 13.0 L/min ⁻¹
	Forstøvningstrykk:	50 psig
35	Scan område:	125-800 amu
	Ionisasjons modus:	ElektroSpray Positiv eller Negativ

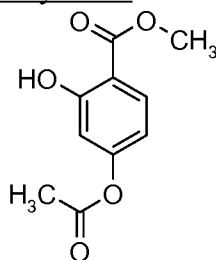
Utgangsmaterialene for hvert av eksemplene er kommersielt tilgjengelige med mindre annet er spesifisert.

EKSEMPEL 1

5

Trinn 1

4-acetoksy-2-hydroksy-benzosyre metyl ester

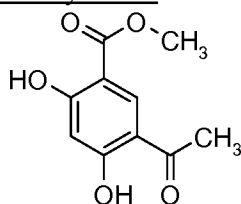


Resorcinol metyl ester (50 g, 0.298 mol) og N,N-dimetyl-4-aminopyridin (0.27 g,
10 0.0022 mol, 0.74 mol%) ble tilsatt til toluen 0.2L fulgt av eddiksyre anhydrid (30 mL, 0.318 mol). Løsningen ble varmet opp til 50°C i 2 timer. Løsemiddelet ble fjernet ved fordamping ved 50°C til lite volum og residuet azeotropisk behandlet en gang med toluen. Til residuet i form av en olje ble det umiddelbart tilsatt toluen (100 mL) mens blandingen var varm og løsningen anvendt i Trinn 2 uten ytterligere rensing.

15

Trinn 2

5-acetyl-2,4-dihydroksy-benzosyre metyl ester



Toluen løsningen fra Trinn 1 ble avkjølt på et isbad under N₂ og trifliksyre (26 mL) ble
20 tilsatt sakte i løpet av 30 min. Etter røring ble et fint hvitt fast stoff dannet som ble løst opp ved røring i 16 timer ved RT som ga en gul løsning. Til løsningen ble det tilsatt acetyl klorid (2 mL) og løsningen ble rørt ved RT i ytterligere 1 time. Denne løsningen ble kannulert over i en rørt avkjølt (0°C) løsning av EtOAc (600 mL) og NaOAc.3H₂O (40 g) løst i vann (400 mL). Den organiske fasen ble vasket med vann (to ganger, 200
25 mL), mettet saltvann og ble fordampet til et lite volum uten tørking. Residuet ble azeotropisk behandlet med heptan (to ganger, 100 mL) og heptan (100 mL) ble tilsatt og det krystallinske faste stoffet fjernet ved filtrering, vasket godt på sinter med heptan og tørket som ga 49.5 g (79%).

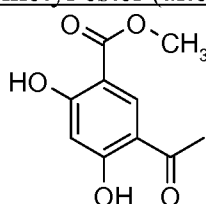
Endelig rensing av kombinerte batcher.

De kombinerte batchene av fast stoff (96.3 g) ble varmet opp til koking med 10% IPA/heptan (250 mL) og avkjølt til RT og til slutt til 0°C, filtrert og residue tørket i 72 timer (oljepumpe) som ga (88.04 g, 91.5%), ren med hplc, tlc og NMR.

¹H NMR (DMSO-d₆) 12.58 (1H, s), 11.22 (1H, s), 8.33 (1H, s), 6.45 (1H, s), 3.90 (3H, s), 2.62 (3H, s).

Trinn 3

10 5-acetyl-2,4-dihydroksy-benzosyre metyl ester (alternativ fremgangsmåte)



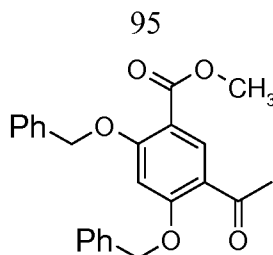
Resorcinol metyl ester (50 g, 0.298 mol) og amberlyst 15 harpiks (40 g) ble suspendert i toluen 150 mL (under en nitrogen atmosfære) og løsningen ble varmet opp i et oljebad ved 70°C (indre temp 56°C). Acetyl klorid (22 mL, 308 mmol) ble tilsatt i 5 mL
 15 porsjoner i løpet av 30 minutter som ga utvikling av gassformig HCl (som ble skurbet ved passering av nitrogen strømmen gjennom vandig NaOH). Løsningen ble rørt ved 70°C i 4.5 timer og deretter varmet opp i en oljebad temperatur (indre temperatur 96°C) i 3.5 timer. Løsningen ble avkjølt til 50°C og EtOAc (100 mL) ble tilsatt og løsningen filtrert ved denne temperaturen. Rest harpiksen ble vasket med EtOAc (50 mL) og de
 20 kombinerte filtratene ble konsentrert til slurry av krystallinsk fast stoff (totalvekt 128 g for fast stoff pluss løsemiddel). Til slurryen ble det tilsatt heptan (100 mL) og etter 10 minutter ved RT ble det faste stoffet fjernet ved filtrering. Residuet ble vasket med heptan:toluen (2:1, 60 mL) og deretter med petroleum eter kokepunkt 40-60°C og tørket i vakuum som ga avling 1 29 g (46.4%) (NMR viste 3% av materialet som resultat av
 25 forsåpning av metyl esteren).

Filtratet ble fordampet til et lite volum og 20% EtOAc i heptan (100 mL) ble tilsatt. Etter henstand ved RT i 16 timer ble en andre avling av 4.75 g (7.6%) oppnådd (NMR identisk med avling 1).

30

Trinn 4

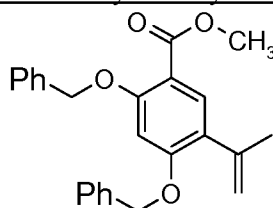
5-acetyl-2,4-bis-benzyloksy-benzosyre metyl ester



Benzyl bromid (70 ml, 0.59 mol) ble tilsatt til en rørt blanding av metyl 5-acetyl-2,4-dihydroksybenzoat (60.7 g, 0.29 mol) og vannfri kalium karbonat (87.8 g, 0.64 mol) i acetonitril (800 ml) og blandingen ble rørt og holdt ved reflux i 16 timer. Etter
 5 avkjøling til romtemperatur ble blandingen helt over i vann (3L) og rørt kraftig i 2 timer. De faste stoffene ble samlet opp ved filtrering, rensset med vann (2L), sugd tørre under redusert trykk og tørket til konstant masse i vakuum ovn ved 60°C over natten som ga metyl 5-acetyl-2,4-bis-benzyloksybenzoat (112.1 g, 99%) som et kremaktig fast stoff. ¹H NMR (DMSO-d₆) 8.21 (1H, s), 7.55 (4H, m), 7.43 (4H, m), 7.37 (2H, m), 7.04
 10 (1H, s), 5.38 (4H, s), 3.79 (3H, s), 2.48 (3H, s). MS: [M+H]⁺ 391.

Trinn 5

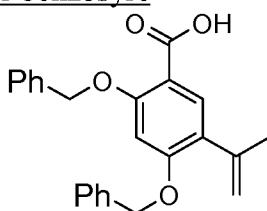
2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-benzosyre metyl ester



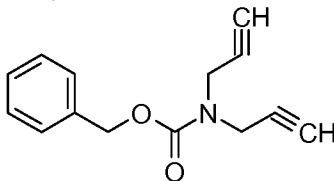
Kalium *tert*-butoksid (29.1 g, 0.26 mol) ble tilsatt til en rørt suspensjon av metyltrifenylfosfonium bromid (92.8 g, 0.26 mol) i vannfri tetrahydrofuran (1L) og blandingen ble rørt ved romtemperatur i 10 minutter hvoretter metyl 5-acetyl-2,4-bis-benzyloksybenzoat (78.0 g, 0.2 mol) ble tilsatt og blandingen ble rørt ved romtemperatur i ytterligere 30 minutter. Metanol (100 ml) ble tilsatt for å reagere med
 20 overskudd fosfor ylid og løsemiddelet ble fjernet i vakuum som ga en oransje olje som krystalliserte etter henstand. Residuet ble rekrystallisert fra metanol (330 ml). De faste stoffene ble samlet opp ved sug filtrering, vasket med metanol (50 ml) og sug tørket under redusert trykk som ga metyl 2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-benzoat som matt gule nåler. Mor luten ga en andre avling av materialet etter henstand over natten
 25 (kombinert utbytte: 56.55 g, 73%). ¹H NMR (DMSO-d₆) 7.59 (1H, s), 7.52 (2H, d), 7.64-7.32 (8H, m), 6.97 (1H, s), 5.28 (2H, s), 5.22 (2H, s), 5.09 (1H, s), 5.04 (1H, s), 3.76 (3H, s), 2.02 (3H, s). MS: [M+H]⁺ 389.

En ytterligere avling av esteren kan oppnås som følger. Krystalliseringsresiduene ble
 30 fordampet til tørrhet i vakuum og det oljeaktige faste stoffet behandlet med 5% etyl

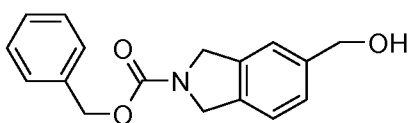
acetat i heptan (250 ml). Etyl acetat ble tilsatt i små porsjoner til den kraftig rørte blandingen til residuet ga en stor mengde av fast trifenyfosfin oksid. De faste stoffene ble fjernet ved filtrering og filtratet fordampet til tørrhet i vakuum som ga en oransje olje. Rekrystallisering fra metanol (som beskrevet ovenfor) ga ytterligere metyl 2,4-bis-
5 benzyloksy-5-isopropenyl-benzoat som et matt gult krystallinsk fast stoff (total utbytte 85-90%).

Trinn 62,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-benzosyre

Kalium hydroksid (10.96 g, 0.19 mmol) ble tilsatt til en rørt suspensjon av metyl 2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-benzoat (61.0 g, 0.16 mol) i metanol (750 ml) og vann (250 ml) og blandingen ble rørt og holdt ved reflux i 16 timer. Etter avkjøling ble det organiske løsemiddelet fjernet i vakuum og blandingen surgjort til pH 2 eller lavere ved tilsetning av 2M saltsyre (200 ml). Blandingen ble fortynnet med vann (2L) og ekstrahert med etyl acetat (2L), det organiske sjiktet ble separert og løsemiddelet fjernet i vakuum som ga 2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-benzosyre (58.8 g, 100%) som et fargeløst fast stoff. ^1H NMR (DMSO- d_6) 7.52 (2H, d), 7.47-7.29 (9H, m), 6.82 (1H, s), 5.20 (2H, s), 5.17 (2H, s), 5.06 (1H, s), 5.04 (1H, s), 2.03 (3H, s). MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 375.

Trinn 7Di-prop-2-ynyl-karbaminsyre benzyl ester

Til en avkjølt (0°C) løsning av dipropargylamin (46.7 g, 502 mmol) i EtOAc (200 mL) og 10% vandig K_2CO_3 (700 mL, 507 mmol) ble det sakte tilsatt en løsning av N-(benzyloksykarbonyloksy)suksinimid (125 g, 502 mmol) i EtOAc (500 mL) i løpet av 20 minutter. Løsningen ble rørt ved 0°C i 2 timer og deretter ved RT i 16 timer. Fasene ble separert og den organiske fasen vasket med 10% vandig K_2CO_3 (700 mL, 507 mmol) og deretter med mettet saltvann (500 mL) og fortynnet med 1000 mL EtOAc som ga en 0.5M løsning.

Trinn 85-hydroksymetyl-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylsyre benzyl ester

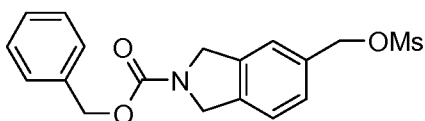
En løsning av propargyl alkohol (26.4 mL, 424 mmol) i toluen (120 mL) ble avgasset. 0.5M-diyn løsningen ovenfor (440 mL, 220 mmol) ble fordampet og residue løst i

toluen (80 mL). Denne beskyttede diyn løsningen og Wilkinson's katalysator (2.26 g, 2.44 mmol, 1.11%) ble tilsatt i 14 like porsjoner i løpet av en 2 timer periode med konstant overvåking av den indre temperaturen slik at temperaturen holdt seg mellom 50-100°C. Løsningen ble avkjølt til 50°C i løpet av 30 min og deretter ble løsningen
 5 fordampet (for å fjerne overskudd propargyl alkohol). Residue ble varmet opp med toluen (500 mL) og trekull (Darco 4-12 mesh, 20 g) ved 100°C i 30 min og deretter filtrert varmt gjennom en Celite seng og den brune løsningen ble fordampet. Residuet ble løst i EtOAc (400 mL) ved 80°C og deretter ble silica gel (kromatografi kvalitet 65 g) tilsatt og oppvarming fortsatte i 20 minutter. Løsningen ble filtrert varm og deretter
 10 fordampet (med såing) som ga et matt brunt fast stoff. 10% EtOAc/heptan (volum/volum, 100 mL) ble tilsatt og det faste stoffet fjernet ved filtrering. Det faste stoffet ble vasket på sintere med heptan (100 mL) og tørket (50°C, oljepumpe, 16 timer) som ga tittelforbindelsen 59.0 g (95%). ¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 7.51-7.16 (m, 8H), 5.21 (s, 2H), 4.74 (s, 2H), 4.70 (s, 2H), 4.61 (s, 2H).

15

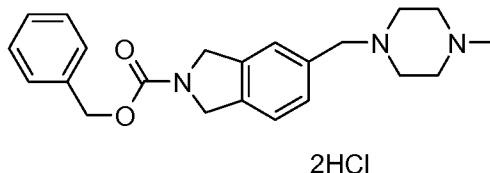
Trinn 9

5-metansulfonyloksymetyl-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylysyre benzyl ester

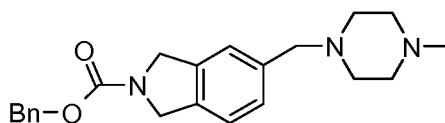


Til en løsning av 5-hydroksymetyl-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylysyre benzyl ester
 20 (65.75 g, 0.232 mol) i THF (470 mL) og EtOAc (770 mL) ble det tilsatt Et₃N (39 mL, 0.28 mol). Løsningen ble avkjølt på et isbad og en løsning av metansulfonyl klorid (19 mL, 0.245 mol) løst i EtOAc (50 mL) ble tilsatt (slik at den indre temperaturen <12°C). Etter røring i 2 timer i isbadet ble ytterligere tilsetninger av metansulfonyl klorid (1.9 mL og 0.95 mL) og Et₃N (3.9 mL) gjort (slik at det i henhold til tlc ikke var noe
 25 gjenværende utgangsmateriale eller ytterligere 1 time med røring). NaHCO₃ (550 mL) ble tilsatt og løsningen ble rørt i 20 minutter og deretter ble mettet saltvann (200 mL) tilsatt og fasene ble separert. Den organiske fasen ble tørket (MgSO₄) og fordampet med såing som ga et dampaktig fast stoff som ble anvendt i neste trinn uten omfattende tørking.

30

Trinn 105-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylysyre benzyl ester dihydroklorid salt

- 5 Det faste stoffet fra Trinn 9 (antatt 0.232 mol) ble løst i aceton (700 mL) og denne løsningen ble tilsatt i løpet av 45 minutter til en avkjølt (indre temperatur 15-17°C) suspensjon av K₂CO₃ (48 g) og N-metylpiperazin (50 mL, 0.45 mol) i aceton (330 mL). Suspensjonen ble rørt ved 15°C i 3 timer (fullstendig fjerning av utgangsmaterialet med tlc) og løsningen ble fordampet til et lite volum og residue fordelt mellom EtOAc (1000
- 10 mL) og en blanding av vann (500 mL) og mettet saltvann (50 mL). Den organiske fasen ble vasket med en blanding av vann (500 mL) og mettet saltvann (150 mL) og til slutt vasket med mettet saltvann (300 mL). Løsningen ble tørket (MgSO₄) og filtrert og til denne løsningen ble det tilsatt 1M-HCl i MeOH (430 mL, 0.43 mol). Suspensjonen ble avkjølt (0°C i 30 minutter) og det faste stoffet fjernet ved filtrering og ble vasket med
- 15 EtOAc og deretter heptan på sintere og det faste stoffet tørket (oljepumpe, RT 72 timer) som ga avling 1 av tittelforbindelsen 66.34 g (65%) som et fargeløst fast stoff. ¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 7.64-7.51 (m, 2H), 7.51-7.29 (m, 6H), 5.23 (s, 2H), 4.79 (dd, J = 16.2, 6.1 Hz, 4H), 4.49 (s, 2H), 3.66 (s, 8H), 3.03 (s, 3H).

Alternativt Trinn 10A5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylysyre benzyl ester dihydroklorid

Trinn 10A kan anvendes som en alternativ rute for å erstatte trinnene 9 og 10 ovenfor.

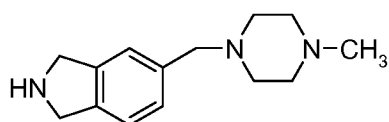
25

- Til en suspensjon av mangan dioksid (15.5 g, 178 mmol) i DCM (100 mL) ble det tilsatt 5-hydroksymetyl-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylysyre benzyl ester (3.35 g, 11.8 mmol) og etter 6 timer røring ved RT ble det gjort en ytterligere tilsetning av mangan dioksid (5 g, 57 mmol). Etter ytterligere 1 time røring ved RT ble Celite (7 g) tilsatt og
- 30 løsningen ble filtrert gjennom en CeliteTM seng som ga en klar matt gul løsning. CeliteTM ble vasket med DCM og volumet av den kombinerte organiske løsningen justert til 100 mL ved fordamping. N-metylpiperazin (1.31 mL, 11.8 mmol) og

- eddiksyre (0.68 mL) ble tilsatt fulgt av natrium triacetoksyborhydrid (4.98 g, 23.5 mmol). Den gule løsningen ble rørt i 16 timer som ga en fargeløs løsning. Til løsningen ble det tilsatt 2M-HCl (10 mL, 20 mmol) som ga en brusing. Etter 30 min ble vann (10 mL) og K₂CO₃ (5.5 g, 39.8 mmol) tilsatt og den organiske fasen ble tørket (Na₂SO₄).
- 5 Etter filtrering ble 4M-HCl i dioksan (6 mL) tilsatt med røring og suspensjonen ble fordampet til tørrhet. Residuet ble løst i MeOH med oppvarming og etter fordampning ble det faste stoffet vasket på et sinter med EtOAc og deretter petrol (kokepunkt 40-60°C) fulgt av tørking i vakuum ved 50°C som ga tittelforbindelsen 3.61 g (70%). ¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 7.65-7.51 (2H, m), 7.51-7.27 (6H, m), 5.23 (2H, s), 4.83-10 4.69 (4H, m), 4.49 (2H, s), 3.66 (8H, d), 3.03 (3H, s)

Trinn 11

5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-2,3-dihydro-1H-isoindol



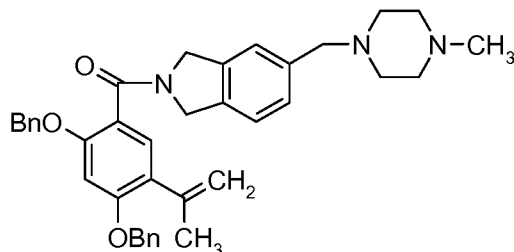
- 15 Til 5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksytsyre benzyl ester dihydroklorid salt (Trinn 10, 59.8 g, 136.7 mmol) ble det tilsatt EtOAc (400 mL) og 10% vandig K₂CO₃ (400 mL). Den organiske fasen ble vasket med mettet saltvann (200 mL) og deretter tørket (MgSO₄). Løsningen ble filtrert og fordampet til en olje (som krystalliserte etter henstand med petroleum eter (kokepunkt 40-60°C)). Det faste stoffet 20 ble tørket i vakuum som ga et fargeløst fast stoff: 48.8 g (133.5 mmol).

- En del av det faste stoffet (24.4 g, 66.8 mmol) ble løst i MeOH (170 mL) og etter avgassing av løsningen og overstrømming med nitrogen ble 10% Pd/C (1.22 g) tilsatt og blandingen hydrogenert ved 1 atmosfære i 2.5 timer. Løsningen ble filtrert og løsningen 25 fordampet og residue azeotropisk behandlet to ganger med toluen ved 30-40°C. Residue ble løst i DMF (92 mL) og løsningen ble umiddelbart avgasset og overstrømmet med N₂.

- (NB Produktet på dette trinnet er sensitivt ovenfor luft og blir mørkt ved kontakt med 30 oksygen. DMF løsningen ble anvendt umiddelbart, men kan lagres ved avgassing og lagring under en atmosfære av N₂).

Trinn 12

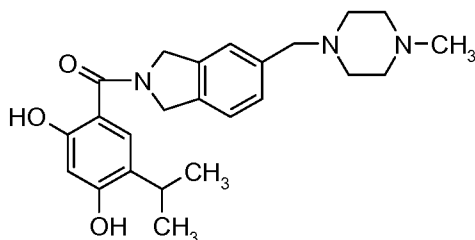
(2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon



- 5 En løsning av resorcinol syren (Trinn 6, 23.7 g, 63.4 mmol) og 1-hydroksybenzotriazol (10.21 g, 66.7 mmol) ble løst i DMF (92 mL) og til denne løsningen ble det tilsatt N-etyl-N'-(3-dimetylaminopropyl)karbodiimid hydroklorid (12.8 g, 66.8 mmol). Løsningen ble rørt ved RT i 40 minutter og denne løsningen ble tilsatt til løsningen av aminet fra Trinn 11 (66.8 mmol) sammen med DMF (5 mL) vaskinger. Løsningen ble
- 10 avgasset og løsningen rørt ved RT i 16 timer. Til løsningen ble det tilsatt 10% K₂CO₃ (500 mL) og EtOAc (500 mL) og den organiske fasen ble vasket sekvensielt med 10% K₂CO₃ (500 mL), vann (4 x 100 mL) og mettet saltvann (200 mL). Løsningen ble fordampet til et lite volum og 20% EtOAc i heptan (250 mL) ble tilsatt og blandingen lagret ved 0°C. Det faste stoffet som hadde blitt dannet ble fjernet ved filtrering, vasket
- 15 med heptan to ganger og ble tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen, 35.05 g (94.4 %). ¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 7.49-7.10 (m, 14H), 6.86 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 5.17 (d, J = 2.5 Hz, 4H), 5.09 (d, J = 11.3 Hz, 2H), 4.88 (s, 2H), 4.63 (s, 2H), 3.54 (d, J = 16.0 Hz, 2H), 2.50 (s, 7H), 2.28 (d, J = 7.6 Hz, 3H), 2.11 (s, 3H).

20 Trinn 13

(2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon



- Produktet fra Trinn 12 (4.7 g) ble løst i 1:1 MeOH/vann (98 mL) og etter
- 25 overstrømming med N₂ ble 10% Pd/C og K₂CO₃ (2.38 g, 17.2 mmol) tilsatt og suspensjonen ble hydrogenert i 16 timer under en atmosfære av H₂. Løsningen ble filtrert og løsemiddelet fordampet. Til residue ble det tilsatt vandig 2M-HCl (40 mL) og løsningen ble vasket med 1:1 EtOAc/petrol (40 mL x 2) og deretter ble pH justert til pH

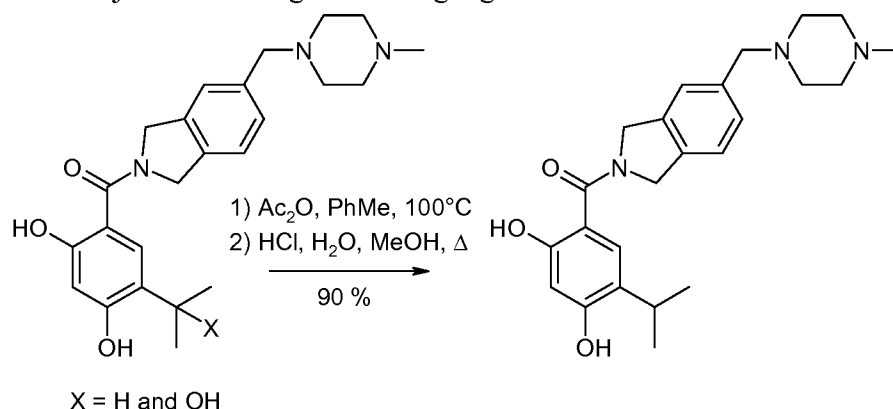
8.5 ved tilsetning av NaOH og EtOAc (50 mL) ble tilsatt. Løsningen ble varmet opp til 60°C og vann fasen fjernet. Den varme organiske fasen ble vasket med vann (30 mL) og deretter fordampet til et lite volum (cirka 5 mL) og ble stående ved romtemperatur i 16 timer med såing. Til det krystallinske materialet ble det tilsatt 1:1 EtOAc/petrol (10 mL) og blandingen ble filtrert og tørket som ga tittelforbindelsen som den frie basen 1.76 g. ¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 7.29 (s, 3H), 7.19 (s, 1H), 6.39 (s, 1H), 4.91 (s, 4H), 3.56 (s, 2H), 3.28-3.15 (m, 1H), 2.53 (s, 8H), 2.31 (s, 3H), 1.23 (d, J = 6.9 Hz, 7H).

Eventuelt Trinn 14

Rensing av (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon

I noen batcher av produkt kan tittelforbindelsen (X = H i formelen) inneholde små mengder av urenheten 2,4-dihydroksy-5-(2-hydroksyprop-2-yl)-fenyl-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon (X = OH i formelen).

Urenhetene kan fjernes ved følgende fremgangsmåte.



Eddiksyre anhydrid (1.04 ml, 11.0 mmol) ble tilsatt til en rørt suspensjon av uren 2-(2,4-dihydroksy-5-isopropylbenzoyl)-5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydroisoindol (2.05 g, 5.0 mmol) i toluen (20 ml) og den resulterende blandingen ble rørt og holdt ved 100°C i 16 timer. Etter avkjøling til romtemperatur ble løsemiddelet fjernet i vakuum som ga en brun olje som ble løst i metanol (20 ml). Konsentrert saltsyre (1 ml) ble tilsatt og blandingen ble rørt og holdt ved reflux i 5 timer. Etter avkjøling til romtemperatur ble det organiske løsemiddelet og det flyktige materialet fjernet i vakuum og det vandige residuet ble fortynnet med vann (25 ml) og gjort basisk til pH 8 med kraftig røring ved forsiktig tilsetning av 10% vandig kalium karbonat løsning. 50% etyl acetat i heptan (50 ml) ble tilsatt og blandingen ble rørt kraftig ved romtemperatur i 16 timer. Det faste materialet ble samlet opp ved sug filtrering, rens

med 50% etyl acetat i heptan (50 ml), sug tørket under redusert trykk og tørket over natten i en vakuum ovn ved 50°C som ga 2-(2,4-dihydroksy-5-isopropylbenzoyl)-5-(4-metylpiperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydroisoindol (1.85 g, 90%) som et off-white fast stoff. ¹H NMR (DMSO-d₆) 10.07 (1H, br s), 9.60 (1H, br s), 7.24 (3H, m), 7.06 (1H, s), 6.40 (1H, s), 4.76 (4H, br s), 3.44 (2H, s), 3.10 (1H, m), 2.32 (8H, m), 2.14 (3H, s), 1.15 (6H, d). MS: [M+H]⁺ 410.

EKSEMPEL 2

10 (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon L-laktat salt (form FL1)

Produktet i Eksempel 1 (1.24 g, 3.303 mmol) ble suspendert i etanol (3 mL) og EtOAc (5 mL) og en løsning av L-melkesyre (0.285 g, 3.13 mmol) løst i etanol (3 mL) ble tilsatt. Løsningen ble varmet opp til klar løsning og deretter filtrert. EtOAc (5 mL) ble anvendt for å vaske filteret og de kombinerte filtratene ble rørt ved RT i 2 timer med såing. Den krystallinske massen som ble dannet ble fjernet ved filtrering, vasket med EtOAc og deretter tørket i vakuum ved 50°C som ga tittelforbindelsen, 1.29 g. ¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 7.30 (s, 3H), 7.18 (s, 1H), 6.39 (s, 1H), 4.91 (s, 4H), 4.08 (q, J = 6.8 Hz, 1H), 3.70-3.63 (m, 2H), 3.28-3.15 (m, 1H), 3.01 (s, 4H), 2.68 (m, 7H), 1.36 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.23 (d, J = 6.9 Hz, 6H).

EKSEMPEL 2A

25 (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon L-laktat salt

Eksempel 2A beskriver en synteserute som i det vesentlige inneholder samme fremgangsmåte trinn som ruten beskrevet i Eksempel 1 og 2, men hvori fremgangsmåte betingelsene er mer egnet for stor skala reaksjoner.

Trinn 1

4-acetoksy-2-hydroksy-benzosyre metyl ester

35 Til en oppvarmet løsning (50°C) av resorcinol metyl ester (16.5 Kg, 98.1 mol) og N,N-dimetyl-4-aminopyridin (89.1 g, 0.73 mol, 7.4 mol%) i toluen (66L) ble det sakte tilsatt (i løpet av 2 timer) eddiksyre anhydrid (9.9L, 104.9 mol). Løsningen ble varmet opp til

50°C i ytterligere 1.5 timer og deretter ble løsemiddelet fjernet ved fordamping ved 50°C til et lite volum og residue ble azeotropisk behandlet en gang med toluen. Til residuet i form av en olje ble det umiddelbart tilsatt toluen (33L) mens blandingen var varm og løsningen ble anvendt i Trinn 2 uten ytterligere rensing.

5

Trinn 2

5-acetyl-2,4-dihydroksy-benzosyre metyl ester

Toluen løsningen fra Trinn 1 ble avkjølt på et isbad under N₂ og trifliksyre (9.44L) ble
10 tilsatt sakte i løpet av 3 timer. Etter røring ble et fint hvitt fast stoff dannet som løste opp
etter oppvarming til RT i løpet av 20 timer og deretter ble blandingen rørt ved RT i 37
timer som ga en gul løsning. Til løsningen ble det tilsatt acetyl klorid (726 mL) og
løsningen ble rørt ved RT i ytterligere 1 time. Denne løsningen ble kannulert over i en
rørt avkjølt (0°C) løsning av EtOAc (217.8 L) og NaOAc.3H₂O (14.52 Kg) løst i vann
15 (145 L). Den organiske fasen ble vasket med mettet saltvann (to ganger, 72.6 L) og ble
fordampet til 5.5 Kg. Toluene:isopropanol (2:3) ble tilsatt og det krystallinske faste
stoffet fjernet ved filtrering og tørket som ga 12.6 Kg (61% i løpet av 2 trinn), smp 124-
126°C.

Trinn 3

5-acetyl-2,4-bis-benzyloksy-benzosyre metyl ester

Til en rørt løsning av benzyl bromid (16.14 L, 136 mol) og vannfri kalium karbonat
(20.25 Kg, 147.6 mol) i acetonitril (184.5 L) ble det tilsatt metyl 5-acetyl-2,4-
25 dihydroksybenzoat (14 Kg, 66.6 mol, trinn 2) i 6 porsjoner i løpet av 5 timer.
Blandingene ble rørt og holdt ved reflux i 20 timer, avkjølt til romtemperatur og
blandingene ble helt over i vann (682 L) og rørt kraftig i 2 timer. De faste stoffene ble
samlet opp ved sentrifugering og tørket under redusert trykk til konstant masse i en
vakuumbad ved 60°C over natten som ga metyl 5-acetyl-2,4-bis-benzyloksybenzoat
30 (23.5 Kg, 97.3%) som et kremaktig fast stoff, smp 114-115°C.

Trinn 4

2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-benzosyre metyl ester

35 En løsning av kalium *tert*-butoksid (6.72 Kg, 60.1 mol) i vannfri THF (60 L) ble tilsatt i
løpet av 3 timer til en rørt suspensjon av metyltrifenylfosfonium bromid (21.43 Kg, 60.1
mol) og metyl 5-acetyl-2,4-bis-benzyloksybenzoat (21.3 Kg, 54.6 mol, trinn 3) i vannfri

tetrahydrofuran (213 L) ved 15°C. Blandingen ble rørt ved 15°C i 70 minutter og deretter varmet opp til 20°C i løpet av 60 minutter. Metanol (27.3 L) ble tilsatt for å reagere med overskudd fosfor ylid og løsemiddelet ble konsentrert i vakuum fulgt av tilsetning av EtOAc og vann. Den organiske fasen ble behandlet med aktivert trekull, filtrert og fordampet til et lite volum. Residuet ble krystallisert fra kokende MeOH og de faste stoffene ble samlet opp ved seg filtrering, vasket med metanol og tørket under redusert trykk som ga metyl 2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-benzoat 18.1 Kg (85%) som matt gule nåler, smp 92-94°C (99.6% ren med hplc).

10 Trinn 5

2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-benzosyre

Kalium hydroksid (0.527 Kg, 9.4 mol) ble tilsatt til en rørt suspensjon av metyl 2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-benzoat (3.1 Kg, 8 mol, trinn 4) i metanol (18.6 L) og vann (12.4 L) og blandingen ble rørt og holdt ved reflux i 3 timer. Metanolet ble fjernet under delvis vakuum fra karet og til den gjenværende løsningen ble det tilsatt toluen (62 L). Løsningen ble varmet opp til 40°C og til blandingen ble det tilsatt konsentrert HCl (1.36L). To-fase blandingen ble varmet opp til 50°C og fasene separert. Den organiske fasen ble vasket med vann (31 L) ved 50°C og den organiske fasen ble fordampet under redusert trykk som ga 2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-benzosyre 2.851 Kg (95% utbytte) som et fargeløst fast stoff.

Trinn 6

Di-prop-2-ynyl-karbaminsyre benzyl ester

25

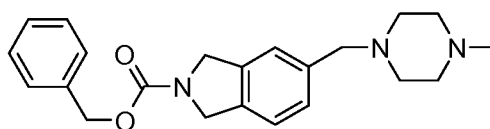
Til en avkjølt (5°C) løsning av K_2CO_3 (4 Kg, 29.0 mol) i vann (17.5 L) og toluen (12.5 L) ble det tilsatt dipropargylamin (2.50 Kg, 26.88 mol). Benzyloksyklarformat (4.8 Kg, 28.14 mol) ble tilsatt ved en hastighet slik at $T < 10^\circ C$. Løsningen ble rørt ved 5°C i 10 minutter og deretter varmet opp til RT. Vannfasen ble separert og den organiske fasen vasket med 0.2M HCl (12.5 L), mettet $NaHCO_3$ (13.5 L) og saltvann (17 L) og den resulterende løsningen anvendt i trinn 7 (undersøkt til å inneholde 6.23 Kg, 102% basert på en fordampet porsjon).

Trinn 75-hydroksymetyl-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylysyre benzyl ester

En løsning av propargyl alkohol (2.11 Kg, 37.7 mol) i toluen (32.48L) ble avgasset og varmet opp til 55°C. Løsningen av di-prop-2-ynyl-karbaminsyre benzyl ester (4.06 Kg, 17.86 mol, trinn 6) i toluen og Wilkinsons katalysator (0.162 Kg) ble tilsatt i 10 like porsjoner slik at temperaturen <65°C (eksotermen fikk gi seg før neste tilsetning ble gjort). Løsningen ble deretter rørt ved 55°C i 1 time og deretter avkjølt til 20°C. DCM (8.12 L) ble tilsatt og blandingen konsentrert til et lite volum. Toluene (8L) ble tilsatt og løsningen fordampet til konstant vekt som ga tittelforbindelsen 5.72 Kg (113%).

Trinn 85-metansulfonyloksymetyl-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylysyre benzyl ester

Til en avkjølt løsning (5°C) av 5-hydroksymetyl-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylysyre benzyl ester (11 Kg, 38.8 mol, trinn 7) og Et₃N (7.04 L, 50.6 mol) i DCM (55L) ble det tilsatt metansulfonyl klorid (2.97 L, 38.4 mol) slik at den indre temperaturen <10°C. Etter røring i 0.5 timer ved 5°C ble løsningen anvendt nedenfor i trinn 9.

Trinn 95-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylysyre benzyl ester dihydroklorid salt

2HCl

Det faste stoffet fra Trinn 8 (antatt 0.232 mol) ble løst i aceton (700 mL) og denne løsningen ble tilsatt i løpet av 45 minutter til en avkjølt (indre temperatur 15-17°C) suspensjon av K₂CO₃ (48 g) og N-metylpiperazin (50 mL, 0.45 mol) i aceton (330 mL). Suspensjonen ble rørt ved 15°C i 3 timer (fullstendig fjerning av utgangsmaterialet med tlc) og deretter ble løsningen fordampet til et lite volum og residue fordelt mellom EtOAc (1000 mL) og en blanding av vann (500 mL) og mettet saltvann (50 mL). Den organiske fasen ble vasket med en blanding av vann (500 mL) og mettet saltvann (150 mL) og til slutt vasket med mettet saltvann (300 mL). Løsningen ble tørket (MgSO₄) og filtrert og til denne løsningen ble det tilsatt 1M-HCl i MeOH (430 mL, 0.43 mol). Suspensjonen ble avkjølt (0°C i 30 minutter) og det faste stoffet ble fjernet ved filtrering og ble vasket med EtOAc og deretter heptan på sintere og det faste stoffet tørket

(oljepumpe, RT i 72 timer) som ga en avling 1 av tittelforbindelsen 66.34 g (65%) som et fargeløst fast stoff. ¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 7.64-7.51 (m, 2H), 7.51-7.29 (m, 6H), 5.23 (s, 2H), 4.79 (dd, J = 16.2, 6.1 Hz, 4H), 4.49 (s, 2H), 3.66 (s, 8H), 3.03 (s, 3H).

5

Trinn 9

5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylysyre benzyl ester

DCM (33L) og N-metylpiperazin (21.45 L, 193.4 mol) ble rørt ved 25°C og løsningen fra trinn 8 ble tilsatt i løpet av minimum 30 minutter slik at temperaturen var 20-30°C. Etter røring av løsningen i ytterligere 30 minutter ble vann (55 L) tilsatt og den organiske fasen ble vasket med vann (2 x 55 L). Produktet ble ekstrahert over i 0.8M HCl (66 L) og sjiktene separert. Vannfasen ble vasket med DCM (55 L) og deretter gjort basisk med 2M NaOH til pH 10-11 og produktet ble ekstrahert over i EtOAc (2 x 15 55 L). Den kombinerte organiske fasen ble filtrert for å fjerne faste stoffer og fordampet fulgt av azeotropisk behandling med toluen og tørking til konstant vekt som ga tittelforbindelsen, 6.63 kg (47% utbytte, 98% ren med hplc).

Trinn 10

5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-2,3-dihydro-1H-isoindol

Til en avgasset løsning av 5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylysyre benzyl ester (Trinn 9, 1.3 Kg, 3.55 mol) løst i EtOH (13L) ble det tilsatt 10% Pd/C (0.065 Kg). Hydrogen ble passert gjennom blandingen ved 30°C i 4 timer eller til fullstendig reaksjon med NMR. Løsningen ble deretter rørt i 1 time under en atmosfære av N₂ og deretter filtrert for å fjerne katalysatoren gjennom et GF/F filter fulgt av filtrering gjennom et Cuno filter. Filtratet ble fordampet til et lite volum, azeotropisk behandlet med toluen (3.9 L) og tørket til konstant vekt som ga tittelforbindelsen som et rødt/sort oljeaktig fast stoff (0.78 Kg) som ble lagret under 30 nitrogen til det var påkrevet.

Trinn 11

(2,4-bis-benzyloksi-5-isopropenyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon

35

1,1'-karbonyldiimidazol (4.82 Kg, 29.8 mol) ble tilsatt til en løsning av 2,4-bis-benzyloksi-5-isopropenyl-benzosyre (10.58 Kg, 28.3 mol, trinn 5) i DMF (21.2 L) ved

25°C. Etter 20 minutter ved 25°C ble en løsning av 5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-2,3-dihydro-1H-isoindol (7.2 Kg, 31.1 mol, trinn 10) i DMF (7.2 L) tilsatt mens temperaturen ble holdt under 35°C og løsningen rørt ved 25°C i minimum 12 timer. Det faste stoffet som hadde blitt dannet ble fjernet ved filtrering, vasket med isopropyl
 5 acetat (2 x 21.6 L) og tørket ved 35°C til konstant vekt som ga tittelforbindelsen 8.7 Kg (77% utbytte, renhet med hplc 97.5%).

Trinn 12

10 (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon

Produktet fra Trinn 11 (0.9 kg, 1.53 mol) ble løst i isopropanol (6.8L) og vann (1.04 L) og etter overstrømming med N₂ ble 10% Pd/C (90g) og K₂CO₃ (0.212 Kg, 1.53 mol) tilsatt og suspensjonen ble hydrogenert i 60 til 70 minutter under et 3 Barr H₂ trykk.
 15 Løsningen ble fortynnet med vann (0.5 L) og filtrert. Til filtratet ble det tilsatt vandig HCl (30% saltsyre, 0.85 kg fortynnet med vann 5.42 kg) og løsningen ble konsentrert ved 60°C under vakuum (fjerning av 10L isopropanol). Vann (0.45L) ble tilsatt til løsningen og konsentrering fortsatte (til ytterligere 10L isopropanol hadde blitt fjernet). Vannfasen ble vasket med EtOAc (4.61 L), fortynnet med acetonitril (4.06 L) og
 20 nøytralisert til pH 7.5-8.5 ved tilsetning av konsentrert ammoniakk løsning (0.35 kg). Suspensjonen ble rørt i 2.5 timer og deretter ble det faste stoffet fjernet ved filtrering. Residuet ble vasket med acetonitril (2 x 0.8 L) og tørket ved 40°C til konstant vekt som ga tittelforbindelsen 588 g (94% utbytte).

25 Trinn 13

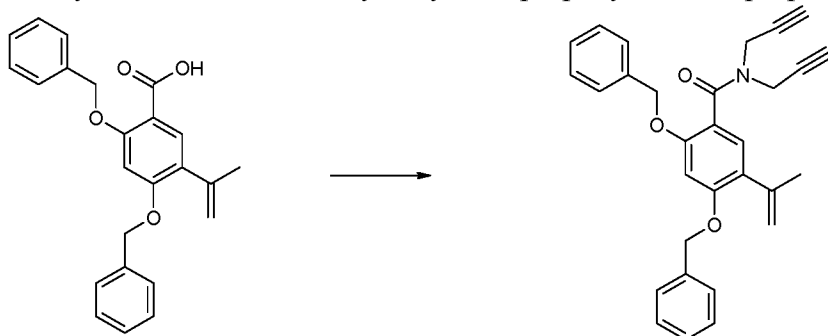
(2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon L-laktat salt (form FL1)

Produktet fra Trinn 12 (646 g, 1.58 mol) ble løst i etanol (5.17 L) og løsningen filtrert.
 30 En løsning av L-melkesyre (142 g, 1.58 mol) løst i etanol (2.59 L) ble filtrert og tilsatt til løsningen av den filtrerte løsningen (ovenfor) og deretter ble det til blandingen tilsatt EtOAc (7.75 L). Suspensjonen ble rørt ved RT i 12 timer og deretter avkjølt til 5°C i ytterligere 2 timer. Det faste stoffet som hadde blitt dannet ble fjernet ved filtrering, vasket med EtOAc (2 x 2.58 L) og heptan (2 x 1.94 L) og tørket til konstant vekt ved
 35 35°C som ga tittelforbindelsen (581 g, 74 % utbytte).

EKSEMPEL 3(2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon dihydroklorid salt (form FH3)

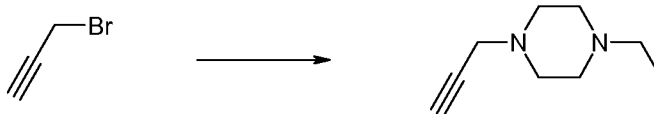
5

Produktet fra Eksempel 1 (0.49 g, 1 mmol) ble løst i etanol (10 mL) og 4M HCl i dioksan (0.5 mL, 2 mmol) ble løst opp med oppvarming og deretter ble løsningen fordampet til tørrhet. Residuet ble løst med oppvarming i etanol:vann (9:1; 5 mL). Løsningen ble rørt i 16 timer med såing og det faste stoffet som ble dannet ble fjernet ved filtrering og tørket i vakuum som ga tittelforbindelsen. ¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 7.63-7.52 (m, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 4.96 (d, J = 7.0 Hz, 4H), 4.47 (s, 2H), 3.87-3.40 (m, 8H), 3.30-3.16 (m, 1H), 3.02 (s, 3H), 1.23 (d, J = 6.9 Hz, 6H).

15 EKSEMPEL 4Syntese av (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-etyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon (sammenlignings eksempel)20 4A. Syntese av 2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-N,N-di-prop-2-ynyl-benzamid

En rørt løsning av 2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-benzosyre (Eksempel 1 Trinn 6) (1 ekvivalent) i diklormetan (10 ml) ble behandlet suksessivt med N-etyl-N'-(3-dimetylaminopropyl)karbodiimid hydroklorid (1.2 ekvivalenter), 1-hydroksybenzotriazol (1.2 ekvivalenter) og dipropargylamin (1.5 ekvivalenter) og blandingen ble rørt ved romtemperatur over natten. Blandingene ble vasket suksessivt med 2M saltsyre og 2M natrium hydroksid, det organiske sjiktet ble separert og løsemiddelet fjernet i vakuum som ga produktet som enten ble oppnådd rent eller ble rensert med kolonne kromatografi på silica (eluert med blandinger av etyl acetat i petroleum eter eller metanol i etyl acetat slik det er hensiktsmessig). MS: [M+H]⁺ 450.

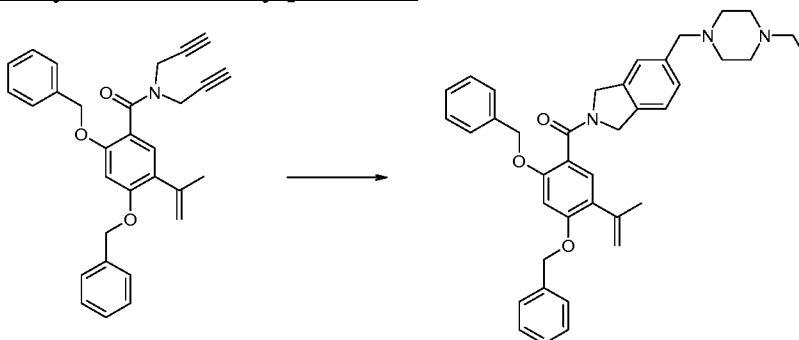
4B. Syntese av 1-etyl-4-prop-2-ynyl-piperazin



Til 1-etyl-piperazinet (2.33 g, 20.2 mmol) og K₂CO₃ (2.79 g, 20.2 mmol) i aceton (27 ml) ble det tilsatt propargyl bromid (2.00 g, 13.5 mmol) dråpevis ved 0°C under N₂.

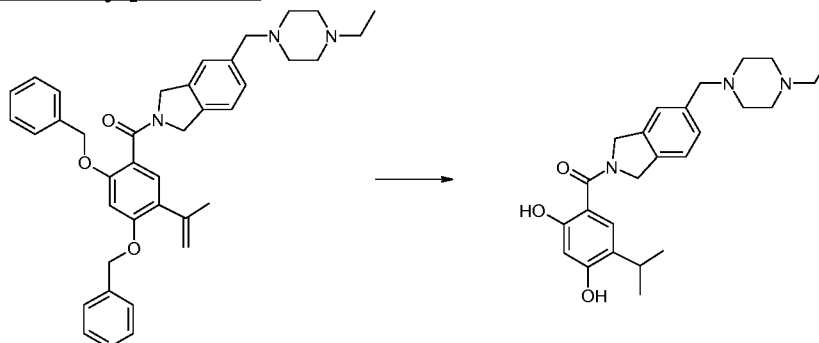
- 5 Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur over natten. Reaksjonsblandingen ble filtrert og saltene vasket med en liten mengde aceton. Filtratene ble kombinert og fordampet forsiktig for konsentrering. Residuet ble tatt opp i EtOAc og vasket med vann. Vannfasen ble re-ekstrahert med EtOAc. De kombinerte organiske sjiktene ble vasket med saltvann og tørket over MgSO₄. Produktet ble filtrert og fordampet til
- 10 tørrhet som ga en matt oransje olje.

4C. Syntese av (2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-fenyl)-[5-(4-etyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon



- 15 Tittelforbindelsen ble fremstilt ved anvendelse av fremgangsmåten i Eksempel 5B unntatt at rensing ble utført ved anvendelse av kolonne kromatografi snarere enn salt dannelse. MS: [M+H]⁺ 602.

4D. Syntese av (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-etyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon



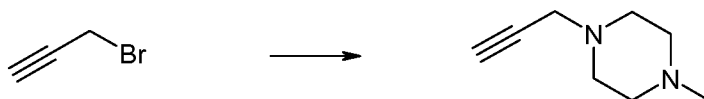
Hydrogenering av (2,4-bis-benzyloksy-5-isopropenyl-fenyl)-[5-(4-etyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon ved anvendelse av fremgangsmåten

beskrevet i Eksempel 1 Trinn 13 unntatt at opparbeiding og rense fremgangsmåtene ble forandret. Således, etterfølgende hydrogenering, ble katalysatoren filtrert og filtratet fordampet. Vann og EtOAc ble tilsatt til produktet og vann sjiktet ble nøytralisert. Produktet ble deretter ekstrahert med EtOAc (x3). De kombinerte organiske sjiktene ble vasket med saltvann og tørket over MgSO_4 . Den resulterende løsningen ble filtrert og fordampet til tørrhet som ga en matt gul olje/fast stoff. Produktet ble renset med kolonne kromatografi (gradient eluering 100% DCM til 10% MeOH i DCM) som ga produktet som et matt gult fast stoff. MS: $[\text{M}+\text{H}]^+ 424$.

10 EKSEMPEL 5

Alternativ syntese av 5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-2,3-dihydro-1H-isoindol

5A. Syntese av 1-metyl-4-prop-2-ynyl-piperazin

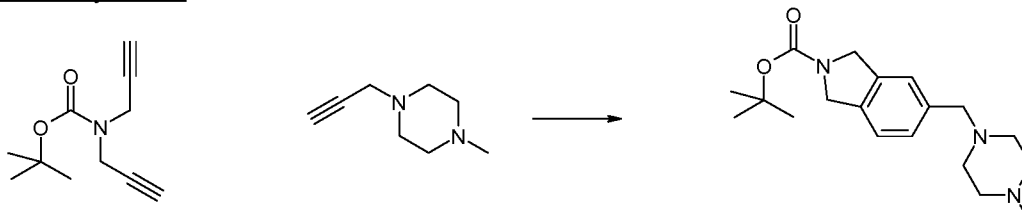


15

Til 1-metylpiperazin (37.7 ml, 337 mmol) og K_2CO_3 (46.6 g, 337 mmol) i aceton (380 ml) ble det tilsatt propargyl bromid (25 ml, 225 mmol, 80% i toluen) i aceton (70 ml) dråpevis ved 0°C under N_2 . Den interne temperaturen til reaksjonsblandingen ble holdt $<10^\circ\text{C}$. Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur i 3 timer. Reaksjonsblandingen ble filtrert og saltene ble vasket med små porsjoner aceton (x2). Filtratene ble kombinert og fordampet for konsentrering (forsiktig). Til residuet ble det tilsatt vann og produktet ble ekstrahert med DCM (x3). De kombinerte organiske sjiktene ble vasket med saltvann og tørket over MgSO_4 . Produktet ble filtrert og fordampet til tørrhet som ga 1-metyl-4-prop-2-ynyl-piperazin som en gul olje.

25

5B. Syntese av 5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylysyre tert-butyl ester



30

En løsning av N-boc-dipropargylamin (36.3 ml, 226 mmol, 86% ren) i EtOAc (30 ml) ble blandet sammen og avgasset ved bobling gjennom N_2 , i en skilletrakt. Tris(trifenylfosfin)rodium(I)klorid (1.39 g, 1.50 mmol, 1mol%) ble tilsatt til

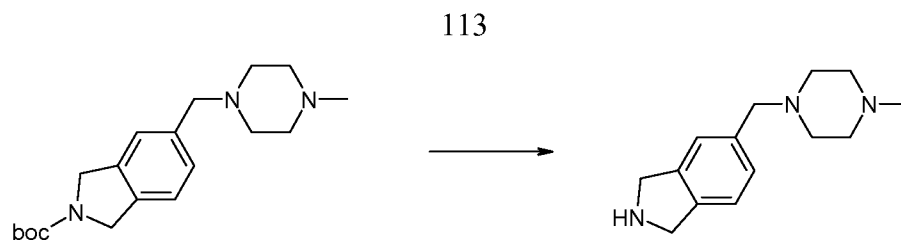
forhåndsavgasset EtOAc (15 ml) i en andre skilletrakt. (NB CpRu(COD)Cl) kan også anvendes som en alternativ katalysator).

I hovedreaktorkolben ble 1-propargyl-4-metylpiperazin (32.3 ml, 150 mmol, 90% ren) 5 fortynnet med EtOAc (75 ml) og ble avgasset ved bobling av N₂ gjennom blandingen. Blandingen ble avkjølt i et is-vannbad og deretter ble tris(trifenylfosfin)rodium(I)klorid (1.39 g, 1 mol%) i EtOAc tilsatt. Sakte tilsetning av N-boc-dipropargylamin/EtOAc ble gjort som ga en mild eksoterm. Den indre temperaturen ble hevet til 25°C og holdt ved denne temperaturen. Etter tilsetning var cirka en tredel fullstendig (~45 minutter) ga 10 eksotermen seg (til tross for fortsatt sakte tilsetning av N-boc-dipropargylamin/EtOAc). En annen porsjon tris(trifenylfosfin)rodium(I)klorid katalysator (1.39 g, 1 mol%) i EtOAc (15 ml, forhåndsavgasset) ble fremstilt og tilsatt svært sakte til reaksjonsblanding. Etter noen minutter startet en ny eksoterm og vokste til 30°C. Reaksjonstemperaturen ble avkjølt forsiktig ved tilsetning av en liten mengde is til 15 vannbadet. I det eksotermen begynte å gi seg fortsatte sakte tilsetning av N-boc-dipropargylamin/EtOAc. Hele tilsetningen ble utført i løpet av en 2 timers periode. Reaksjonsblanding ble deretter værende ved romtemperatur over natten før fortynning med EtOAc og vasking med NH₄Cl (x2) (vandig, mettet) for å fjerne overskudd 1-propargyl-4-metylpiperazin. Blanding ble fortynnet med en liten mengde 20 vann for å løse opp saltene. Det organiske sjiktet ble vasket med vann, saltvann og tørket over MgSO₄. Produktet ble filtrert og fordampet til tørrhet som ga en brun olje.

Til olje residuet som ble oppnådd ble det tilsatt *n*-heptan. Olje/heptan ble stående (~10 minutter) til dannelse av et rødt presipitat. Presipitatet ble filtrert og vasket med ny *n*- 25 heptan (x2). Filtratene ble tørket som ga produktet som en rød olje.

Det ønskede produktet ble ytterligere rensed ved å danne toluensulfonsyre (TsOH) saltet. Således ble dette urene produktet tatt opp i MeOH (20 ml) og TsOH.H₂O (1 ekvivalent for å estimere renhet med NMR) ble tilsatt. Løsningen ble fordampet til tørrhet og 30 deretter løst i toluen (x1) og fordampet en gang til. Det resulterende produktet ble tatt opp i eter. Etter noen få minutter ble det dannet et presipitat og løsning. Presipitatet ble filtrert og vasket med mer eter (x2) til filtratet var fargeløst. Det gule faste stoffet ble tørket som ga produktet som TsOH saltet. MS: [M+H]⁺ 332.

35 5C. Syntese av 5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-2,3-dihydro-1H-isoindol



Isoindolin tosylat saltet ble tatt opp i DCM (0.3 M) og TFA (12 ekvivalenter) ble tilsatt sakte ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt over natten ved romtemperatur.

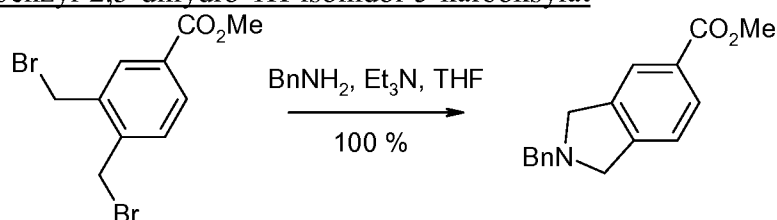
Reaksjonsblandingen ble fordampet til tørrhet og deretter med toluen/MeOH (X3) som ga produktet som en blanding av syreaddisjonssalter. MS: $[M+H]^+$ 232.

Forbindelsen i Eksempel 5C kan anvendes i fremgangsmåten i Eksempel 1 Trinn 12.

EKSEMPEL 6

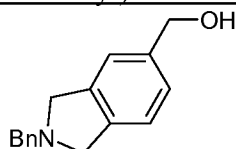
Alternativ syntese av 5-hydroksymetyl-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylysyre benzyl ester

6A. Metyl 2-benzyl-2,3-dihydro-1H-isoindol-5-karboksylat



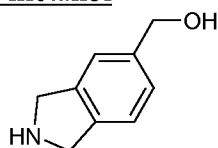
Benzylamin (3.21 g, 30.0 mmol) i vannfri tetrahydrofuran (25 ml) ble tilsatt til en rørt blanding av metyl 3,4-bis-(brommetyl)benzoat (9.66 g, 30.0 mmol) (oppnådd fra Fluorchem) og trietylamin (9 ml, 64.7 mmol) i vannfri tetrahydrofuran (50 ml) og den resulterende blandingen ble rørt ved romtemperatur i 3 timer. Løsemiddelet ble fjernet i vakuum ved 40°C og residue fordelt mellom etyl acetat (100 ml) og vann (100 ml). Det organiske sjiktet ble vasket med en ytterligere porsjon vann (100 ml), separert og løsemiddelet fjernet i vakuum ved 40°C som ga metyl 2-benzyl-2,3-dihydro-1H-isoindol-5-karboksylat som et matt oransje fast stoff som ble anvendt umiddelbart uten ytterligere rensing slik det er beskrevet nedenfor. ^1H NMR (DMSO- d_6) 7.82 (2H, m), 7.40-7.25 (6H, m), 3.90 (3H, s), 3.88 (2H, s), 3.84 (4H, s). MS: $[M+H]^+$ 268.

6B. (2-benzyl-2,3-dihydro-1H-isoindol-5-yl)-metanol



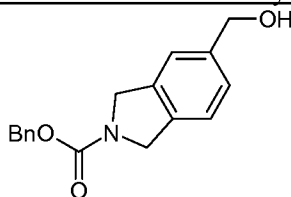
Metyl 2-benzyl-2,3-dihydro-1H-isoindol-5-karboksylat (fra ovenfor) ble løst i vannfri tetrahydrofuran (75 ml) og tilsatt dråpevis i løpet av 15 minutter tilsatt til en raskt rørt suspensjon av litium aluminium hydrid (1.71 g, 45.0 mmol) i vannfri tetrahydrofuran (75 ml). Blandingen ble rørt ved romtemperatur i 2 timer hvorefter overskudd litium aluminium hydrid ble ødelagt ved langsom dråpevis tilsetning av 1M natrium sulfat
 5 løsnings (12 ml). De faste stoffene ble fjernet ved filtrering, renses med etyl acetat (2 x 50 ml) og sugd tørre. Løsemiddelet ble fjernet i vakuum som ga (2-benzyl-2,3-dihydro-1H-isoindol-5-yl)-metanol (7.15 g, 99%) som et gyldenbrunt fast stoff. ¹H NMR (DMSO-d₆) 7.40-7.30 (4H, m), 7.28 (1H, m), 7.17-7.10 (3H, m), 5.10 (1H, t), 4.47 (2H,
 10 d), 3.85 (2H, s), 3.82 (2H, s), 3.80 (2H, s). MS: [M+H]⁺ 240.

6C. (2,3-dihydro-1H-isoindol-5-yl)-metanol



10% palladium på aktivert karbon (200 mg) ble tilsatt til en løsning av (2-benzyl-2,3-dihydro-1H-isoindol-5-yl)-metanol (2.39 g, 10.0 mmol) i etanol (60 ml) og den
 15 resulterende blandingen ble plassert i en Parr apparatur, varmet opp til 50°C og ristet under en hydrogen atmosfære ved 60 psi i 30 timer. Etter avkjøling til romtemperatur ble blandingen filtrert ved gravitasjon, de faste stoffene ble renses med etanol (2 x 10 ml) og løsemiddelet fjernet i vakuum som ga (2,3-dihydro-1H-isoindol-5-yl)-metanol
 20 (1.49 g, 100%) som et off-white fast stoff. ¹H NMR (DMSO-d₆) 7.20 (1H, s), 7.18 (1H, d), 7.12 (1H, d), 5.10 (1H, br s), 4.46 (2H, s), 4.05 (4H, s). MS: [M+H]⁺ 150.

6D. 5-hydroksymetyl-1,3-dihydro-isoindol-2-karboksylsyre benzyl ester



25 En blanding av (2,3-dihydro-1H-isoindol-5-yl)-metanol (1.34 g, 9.0 mmol) i vannfri tetrahydrofuran (50 ml) ble varmet opp forsiktig for å hjelpe oppløsning og ble avkjølt til romtemperatur. Trietylamin (1.5 ml, 10.8 mmol) ble tilsatt og den rørte blandingen ble behandlet dråpevis med benzyl klorformat (1.35 ml, 9.5 mmol) og rørt ved romtemperatur i 3 timer. Løsemiddelet ble fjernet i vakuum og residuet fordelt mellom
 30 etyl acetat (30 ml) og 2M saltsyre (30 ml). Det organiske sjiktet ble vasket med vann (30 ml), separert og løsemiddelet fjernet i vakuum som ga en rosa olje som størknet etter henstand. De faste stoffene ble triturerert med 10% etyl acetat i heksan (10 ml),

filtrert, rensed med heptan (10 ml) og sugd tørre som ga tittelforbindelsen (2.5 g, 98%) som et matt rosa fast stoff. ^1H NMR (DMSO- d_6) 7.45-7.21 (8H, m), 5.20 (1H, t), 5.17 (2H, s), 4.71 (2H, br s), 4.64 (2H, br s), 4.50 (2H, d). MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 284.

- 5 Tittelforbindelsen kan anvendes i Trinn 9 i Eksempel 1.

BIOLOGISK AKTIVITET

EKSEMPEL 7

10

Isotermisk titrering kalorimetri

Evnen til forbindelsene i følge oppfinnelsen til å binde til human Hsp90 proteiner ble bestemt ved anvendelse av isotermisk titrering kalorimetri.

15

- Isotermisk titrering kalorimetri (ITC) eksperimenter ble utført med et VP-ITC titrering kalorimeter (Microcal Inc., Northampton, MA, USA). Kloning, ekspresjon og rensing av det Humane Hsp90 α N-terminale domenet ble utført i henhold til publiserte fremgangsmåter (Jez, J.M. *et al*, *Chem Biol*. 2003 Apr;10(4):361-8.) Løsninger av det humane Hsp90 α N-terminale domenet og forbindelse ble fremstilt i en buffer som innbefatter 25 mM Tris, 100 mM NaCl, 1 mM MgCl_2 , 1mM TCEP, 5% DMSO, pH 7.4. Alle løsninger ble filtrert og avgasset før titrering ble utført. Entalpi forandringen som kom som resultat av hver injeksjon av ligand ble oppnådd gjennom integrering av det kalorimetriske signalet. Data ble analysert ved anvendelse av Origin 7.0 (Microcal Software Inc., Northampton, MA). Fortynningsvarme ble estimert ved anvendelse av de endelige injeksjonene av hver individuelle titrering og subtrahere før data tilpasning. Forskjellige ITC eksperimentelle formater ble anvendt for å oppnå forbindelse dissosiasjonskonstanter (K_d 'er) over et bredt affinitetsområde. For svakt bindende forbindelser ble en lav c-verdi ITC fremgangsmåte anvendt (Turnbull W.B. & Daranas A.H. *J. Am. Chem. Soc.* 2003 Des 3;125(48):14859-66) hvori proteinet var tilstede ved 10-20 μM i den kalorimetriske cellen og forbindelse konsentrasjonen var 1-20 mM i injeksjonssprøyten. I denne eksperiment typen ble den støkkiometriske parameteren (N) låst ved 1 for data tilpasning. For K_d 'er i 20-0.004 μM området ble eksperimentet konfigurert slik at bindingssete konsentrasjonen delt med K_d (c-verdi) var mellom 5 og 1000. For hoveddelen av disse eksperimentene var konsentrasjonen I den kalorimetriske cellen i området 4-100 μM og ligand konsentrasjonen i injeksjonssprøyten varierte fra 50-1500 μM . I sjeldne tilfeller var forbindelse løselighet begrensende, forbindelse

løsningen ble plassert i den kalorimetriske cellen og titrert med protein fra injeksjonssprøyten, holdt ved en c-verdi på mellom 5 og 1000. Konkurrerende ITC eksperimenter ble anvendt for å bestemme K_d 'er < 4 nM ved utføring av titreringer under nærvær av en svakere bindingskonkurrent i henhold til fremgangsmåten beskrevet i Sigurskjold B.W. Anal Biochem. 2000 Jan 15; 277(2):260-6.

Forbindelse (1) har en K_d verdi på mindre enn 0.1 mikromolar.

EKSEMPEL 8

10

Anti-proliferativ aktivitet

De anti-proliferative aktivitetene til forbindelser i følge oppfinnelsen kan bestemmes ved å måle evnen til forbindelsene til å inhibere cellevekst i et antall cellelinjer slik som den humane kolon kreft cellelinjen HCT116. Inhibering av cellevekst måles ved anvendelse av Alamar Blue undersøkelsen (Nociari, M. M, Shalev, A., Benias, P., Russo, C. *Journal of Immunological Methods* 1998, 213, 157-167). Fremgangsmåten er basert på evnen til levedyktige celler til å redusere resazurin til dens fluorescens produkt resorufin. For hver proliferasjonsundersøkelse ble celler tilsatt 96 brønns plater og ble værende i 16 timer før tilsetning av inhibitor forbindelsene i ytterligere 72 timer. Ved slutten av inkuberingsperioden ble 10% (volum/volum) Alamar Blue tilsatt og inkubert i ytterligere 6 timer før bestemmelse av fluorescens produktet ved 535nm eks/590nm em. I tilfelle av den ikke-prolifererende celle undersøkelsen ble cellene holdt ved konfluens i 96 timer før tilsetning av inhibitor forbindelser i ytterligere 72 timer. Antallet levedyktige celler bestemmes med Alamar Blue undersøkelsen som tidligere. Cellelinjer kan oppnås fra ECACC ("European Collection of cell Cultures").

30

Den anti-proliferative aktiviteten til (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon L-laktat salt ble testet i undersøkelser ovenfor et hundre cellelinjer med Oncodesign (Dijon, Frankrike). IC_{50} verdiene ovenfor hver cellelinje er fremsatt i tabellen nedenfor og figurene i tabellen refererer til nanomolar konsentrasjoner.

35

Forbindelsene ble testet opptil en konsentrasjon på 10,000 nanomolar.

Nr	Cellelinjer	Konsentrasjon av testforbindelse (nanomolar)
BLOD		
1	ARH-77	>10000
2	BV-173	73
3	CCRF-CEM	107
4	CCRF-CEM/VLB	>10000
5	Daudi	136
6	EHEB	> 10000
7	HL-60	389
8	HL-60/R10	847
9	K-562	147
10	K-562/Gleevec	175
11	KCL-22	24
12	KG-1	> 10000
13	LAMA-84	1098
14	MC90	93
15	NAMALWA	93
16	OCI-AML2	> 10000
17	Raji	881
18	Ramos	46
19	RPMI 8226	10
20	RPMI 8226/Dox40	213
21	SUP-B15	37
22	U-937	104
HJERNE		
23	CGL-1	> 10000
24	CGL-3	75
25	CGL-9	161
BRYST		
26	CAMA-1	22
27	Evsa-T	168
28	HCC1954	28
29	MCF-7	>10000
30	MCF-7/ras	166

118

31	MDA-MB-435	122
32	MDA-MB-435S	26
33	ZR-75-1	131
KOLON		
34	DLD-1	56
35	HCT 116	38
36	HCT-15	>10000
37	LoVo	51
38	LS 174T	159
BINDEVEV		
39	SW-872	>10000
HODE OG HALS		
40	BB30-HNSCC	273
41	BB49-HNSCC	146
42	FaDu	29
43	KB	48
44	KB3	48
45	LB1617-HNSCC	139
46	LB771-HNSCC	391
NYRE		
47	A-498	267
48	BB64-RCC	>10000
49	BB65-RCC	1251
50	Caki-1	> 10000
51	LB1047-RCC	58
52	LB996-RCC	158
LEVER		
53	Hep 3B2.1-7	95
54	SK-HEP-1	> 10000
LUNGE		
55	A-427	130
56	Calu-1	270
57	Calu-3	>10000
58	Calu-6	32
59	LB11-SCLC/OC1	17
60	LB12-SCLC/OC2	52

119

61	LB13-SCLC/OC3	21
62	LB37-NSCLC	63
63	LB61-NSCLC	>10000
64	NCI-H1299	587
65	NCI-H460	118
66	NCI-H520	98
67	NCI-H596	84
68	NCI-H69	162
69	NCI-H82	>10000
70	SK-MES-1	270
EGGSTOKK		
71	Caov-3	94
72	IGROV-1	109
73	IGROV-1/CDDP	147
74	NIH:OVCAR-3	45
75	NIH:OVCAR-3/CPT20	>10000
76	PA-1	> 10000
BUKSPYTTKJERTEL		
77	BxPC-3	196
78	Capan-2	144
79	PANC-1	327
PROSTATA		
80	DU 145	85
81	LNCaP-FGC	78
HUD		
82	A-375	1481
83	A-375-SM	340
84	A-431	3799
85	BB74-MEL	162
86	CMEL-5	130
87	Hs 294T	219
88	LB1319-MEL	35
89	Malme-3M	157
90	SK-MEL-2	138
91	SK-MEL-5	185

120

92	UZG4-MEL	180
MAGE		
93	AGS	66
94	Hs 746T	34
95	KATO III	162
TYROID		
96	FTC-238	26
URINBLÆRE		
97	J82	20
98	LB796-BLC	83
99	LB831-BLC	149
100	T24	852

Resultatene demonstrerer at (2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon L-laktat har potensiell anti-proliferativ aktivitet ovenfor et bredt spekter av forskjellige cellelinjer.

5

FARMASØYTISKE FORMULERINGER

EKSEMPEL 9

10 (i) Tablett formulering

En tablett sammensetning som inneholder en forbindelse med formel (1) fremstilles ved å blande 50 mg av forbindelsen med 197 mg laktose (BP) som fortynningsmiddel, og 3 mg magnesium stearat som et smøremiddel og sammenpresse for å danne en tablett på kjent måte.

15

(ii) Kapsel formulering

En kapsel formulering fremstilles ved å blande 100 mg av en forbindelse med formel (1) med 100 mg laktose og fylle den resulterende blandingen i standard opaque harde gelatin kapsler.

20

(iii) Injiserbar formulering I

En parenteral sammensetning for administrasjon ved injeksjon kan fremstilles ved å løse opp en forbindelse med formel (1) (for eksempel i en salt form) i vann som inneholder 10% propylen glykol som gir en konsentrasjon av aktiv forbindelse på 1.5 vekt%.

25 Løsningen blir deretter sterilisert ved filtrering, fylt i en ampulle for forseglet.

(iv) Injiserbar formulering II

En parenteral sammensetning for injeksjon fremstilles ved å løse opp i vann en forbindelse med formel (1) (for eksempel i salt form)) (2 mg/ml) og mannitol (50
 5 mg/ml), steril filtrere løsningen og fylle den i forseglbare 1 ml medisinflasker eller ampuller.

v) Injiserbar formulering III

En formulering for i.v. levering ved injeksjon eller infusjon kan fremstilles ved å løse
 10 opp forbindelsen med formel (1) (for eksempel i en salt form)) i vann ved 20 mg/ml. Medisinflasken kan deretter forsegles og steriliseres ved autoklaving.

vi) Injiserbar formulering IV

En formulering for i.v. levering ved injeksjon eller infusjon kan fremstilles ved å løse
 15 opp forbindelsen med formel (1) (for eksempel i en salt form) i vann som inneholder en buffer (for eksempel 0.2M acetat pH 4.6) ved 20 mg/ml. Medisinflasken blir deretter forseglet og sterilisert ved autoklaving.

(vii) Subkutant injeksjonsformulering

20 En sammensetning for subkutant administrasjon fremstilles ved å blande en forbindelse med formel (1) med farmasøytisk kvalitet maisstivelse for å gi en konsentrasjon på 5 mg/ml. Sammensetningen steriliseres og fylles i en passende beholder.

viii) Lyofilisert formulering

25 Alikvoter av formulert forbindelse med formel (1) tilsettes til 50 ml medisinflasker og lyofiliseres. I løpet av lyofilisasjon blir sammensetningene frosset ved anvendelse av en en-trinns fryseprotokoll ved (–45°C). Temperaturen heves til –10°C for herding, reduseres deretter til frysing ved –45°C, fulgt av primær tørking ved +25°C i cirka 3400 minutter, fulgt av en sekundær tørking med økende trinn til temperatur på 50°C. Trykket
 30 i løpet av primær og sekundær tørking settes til 80 millitor.

(ix) 2% topisk fel formulering

	% vekt/vekt
Forbindelse	2.00
Hydroksypropyl metyl cellulose (Methocel F4M)	2.50
Polyetylenoksid (Polyox WSR -205)	0.25

122

Propylen glykol	10.00
Metylparaben	0.15
Propylparaben	0.05
Renset vann til	100.00

EKSEMPEL 10KRYSTALL STRUKTUR STUDIER

5

Forbindelsen med formel (1) og dens salter eksisterer i et antall forskjellige krystallinske former. Disse har blitt identifisert og karakterisert ved anvendelse av fremgangsmåtene beskrevet nedenfor.

10

GENERELLE FREMGANGSMÅTEREnkelt krystall diffraksjonsmetodologi

15

Krystallografiske data ble samlet opp ved romtemperatur (20°C) ved anvendelse av synkrotron stråling ($\lambda = 0.775 \text{ \AA}$) fra ESRF ID23.1 strålelinje utstyrt med ϕ goniometer og en ADSC Quantum 315 CCD detektor. Bilder ble samlet opp i to ϕ scan med $\phi=0-180^\circ$ og $\Delta\phi=1^\circ$, en med høy stråle dose og en med lav dose. Detektor til krystall distanse var 110 mm. Data oppsamling ble kontrollert med ProDC software og bilder ble prosessert og skalert med Dtrek.

20

Krystall strukturene ble løst ved anvendelse av direkte fremgangsmåter implementert i SHELXS-97 og raffinert med SHELXL-97. Hydrogenatomer ble generert på geometriske grunner mens lokaliseringen av heteroatom bundede hydrogenatomer ble bekreftet ved inspeksjon av Fo-Fc differansekart. De posisjonsmessige og termiske parameterene til hydrogenatomer ble begrenset til å sitte på korresponderende ikke-hydrogenatomer. Den termiske bevegelsen av ikke-hydrogenatomer ble modulert med anisotropiske termiske faktorer.

30

Pulver diffraksjonsmetodologi

Prøver for røntgen pulver diffraksjon (XRPD) data oppsamling ble forsiktig oppmalt med marmor morter og tilsatt til en krystallografisk kapillær (fra Hampton Research, Quartz or Glass Type 10, 0.4 eller 0.7 mm diameter). Diffraksjonsmønstre ble samlet

opp ved romtemperatur ved anvendelse av CuK α bestråling ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) fra en Rigaku roterende anode RU3HR, Osmisk blå konfokal optikk, $\frac{1}{4}$ c goniometer og en Rigaku HTC bilde plate detektor. 2D bilder ble samlet opp under spinning rundt ϕ aksen med en detektor til krystall distanse på 250 mm. Data oppsamling ble kontrollert med
 5 CrystalClear software og 2D bilder ble omdannet til 1D plot (2θ vs. intensitet) med Datasqueeze (intensitet beregnet som gjennomsnitt over azimuthal vinkelen $0 < \chi < 360^\circ$ for 2θ området $3-30^\circ$ i 0.02° trinn). På hus programmet AstexXRPD ble anvendt for manipulering og visualisering av 1D XRPD mønstrene.

10 Bestemmelse av salt støkkiometri ved titrerings eksperimenter

I de følgende eksemplene, hvor de relaterer til salter og støkkiometrien til saltet er gitt, ble støkkiometrien bestemt ved anvendelse av følgende titrerings fremgangsmåte.

- 15 En løsning (KCl/HCl løsning) av 150 mM KCl og 20 mM HCl ble fremstilt nye for hver batch av titrerings eksperimenter. En alikvot av 1 ml av løsningen ble titrert og den potensiometriske titreringskurven således frembrakt ble anvendt som kontrollkurven. Alle titreringer ble utført ved 25°C og med 300 mM KOH i 2 μl trinn ved anvendelse av et Mettler Toledo MP220 pH meter. Elektrode potensial avlesninger for 4 standard
 20 buffere ble avlest før og etter daglig batch måling. Prøver av Forbindelse (1) salter på (1-3 mg) ble løst i 1 ml KCl/HCl løsning og titrert med kraftig røring ved anvendelse av en liten magnetisk rører. De avleste elektrode potensialene ble omdannet til pH verdier ved anvendelse av en kalibreringskurve fra 4 standard buffere. Prøve og kontroll titreringsdata ble prosessert som ga et Bjerrum plot i pH området 2-12. Bjerrum plot
 25 beregningen og analyse metoden er beskrevet i gjennomgangen "Physicochemical Profiling (Solubility, Permeability and Charge State)", A. Avdeef ("Current Topics in Medicinal Chemistry" 2001, s. 277-351).

- 30 Støkkiometrien til forbindelsen (1) saltene ble avledet fra utgangs nH (antall protoner ved pH=2), (det vil si fri base starter med -2 protoner, mono-salt med -1 proton (Forbindelse (1)⁺ syre⁻)), mens dobbel salter (Forbindelse (1)²⁺ syre²⁻ eller Forbindelse (1)²⁺ 2* syre⁻) starter ved nH=0.

10A. Fri base salt former (sammenlignings eksempler)

(A-i) Fri base krystall form FB1

En mettet løsning av Forbindelse (1) i 1-butanol ble fremstilt ved romtemperatur. Sakte
 5 presipitasjon med cirka 4x volum av di(isopropyl)eter ga krystall form FB1. XRPD
 analyse av den nye prøven ga mønsteret vist i Figur 1 og hoved toppene listet i Tabell 1
 nedenfor. Etter tørking i luft i tre dager ble et nytt XRPD mønster oppnådd som viste at
 krystall formen FB1 har blitt omdannet fullstendig til krystall form FB3.

10 Tabell 1. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) Form FB1

$2\theta/^{\circ}$	$d/\text{\AA}$	I/%
5.52	15.99	100
9.44	9.36	5
11.05	8.00	6
11.99	7.38	4
15.21	5.82	16
16.11	5.50	16
16.72	5.30	11
17.09	5.18	8
18.21	4.87	19
19.23	4.61	6
19.73	4.50	9
20.29	4.37	16
21.09	4.21	5
26.72	3.33	3

(A-ii) Fri base krystall form FB2

En mettet løsning av Forbindelse (1) i THF ble fremstilt ved romtemperatur. Sakte
 15 presipitasjon med cirka 4x volum av isopropyl acetat gir krystall form FB2. XRPD
 mønsteret av en ny prøve av form FB2 er vist i Figur 2 og hoved toppene i XRPD
 mønsteret er listet i Tabell 2 nedenfor. Prøven ble tørket i luft i 3 dager hvorefter et nytt
 XRPD mønster ble oppnådd: dette demonstrerte at krystall formen FB2 hadde blitt
 forandrett til krystall form FB3.

20

Tabell 2. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) krystall form FB2

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	I/%
5.35	16.49	100
6.73	13.13	2
10.40	8.50	3
10.67	8.28	4
14.68	6.03	13
17.00	5.24	11
18.26	4.85	8
18.61	4.76	10
18.87	4.70	8
19.24	4.61	7
19.86	4.47	18
20.15	4.40	16
21.13	4.20	9
21.44	4.14	7
26.86	3.32	3

(A-iii) Fri base krystall form FB3

Krystall form FB3 ble oppnådd fra former FB1 og FB2 som beskrevet ovenfor eller ved fordamping av en løsning av den frie basen. XRPD mønsteret for krystall form FB3 er vist i Figur 3 og hoved toppene er listet i Tabell 3 nedenfor. Krystall form FB3 ble funnet å være stabil i luft og ved 40°C og 75% relativ fuktighet i minst en måned.

Tabell 3. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) krystall form FB3

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	I/%
6.05	14.59	100
7.87	11.22	9
9.15	9.66	7
10.22	8.65	3
12.15	7.28	11
13.60	6.50	14
15.77	5.62	17
16.62	5.33	4
17.16	5.16	7
17.82	4.97	11

18.89	4.69	22
19.64	4.52	12
20.20	4.39	21
20.93	4.24	10
22.19	4.00	5
23.33	3.81	6
24.53	3.63	5

(A-iv) Fri base krystall form FB4

Krystall form FB4 ble observert i presipitasjonseksperimenter av etanol løsninger av Forbindelse (1). Enkelt krystall røntgen analyse viste at krystall formen er et dihydrat.

- 5 En mettet løsning av Forbindelse (1) i etanol ble fremstilt ved romtemperatur. Sakte presipitasjon med cirka 4x volum isopropyl eter ga krystall form FB4 som ble funnet å være stabil i luft. XRPD mønsteret av form FB4 er vist i Figur 4 og hoved toppene er listet i Tabell 4 nedenfor. Krystall pakke diagrammet og atom koordinatene er i Figur 5 og Tabell 5.

10

Tabell 4. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) krystall form FB4

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	I/%
6.29	14.04	100
8.91	9.92	12
9.96	8.87	14
12.62	7.01	4
14.11	6.27	16
16.11	5.50	14
17.11	5.18	10
17.40	5.09	5
17.88	4.96	8
18.48	4.80	17
19.33	4.59	4
19.91	4.46	10
20.35	4.36	8
21.57	4.12	23
22.46	3.95	13
23.59	3.77	14

24.88	3.58	17
27.25	3.27	9

Tabell 5. Enhet celle parametere og koordinater i sitt format for krystall struktur av Forbindelse (1) krystall form FB4

```

5  "space gruppe: P42/n
unit cell at 293K med a, b & c som har 5% s.u.:
a=b=28.2
c=6.0
alpha=beta=gamma=90

10  Coordinates in cif format:

loop_
  _atom_site_label
15  _atom_site_type_symbol
  _atom_site_fract_x
  _atom_site_fract_y
  _atom_site_fract_z
  _atom_site_U_iso_or_equiv
20  _atom_site_adp_type
  _atom_site_occupancy
  _atom_site_symmetry_multiplicity
  _atom_site_calc_flag
  _atom_site_refinement_flags
25  _atom_site_disorder_assembly
  _atom_site_disorder_gruppe
C1 C 0.60531(14) 0.59657(13) 0.3978(7) 0.0816(11) Uani 1 1 d . . .
H1A H 0.6390 0.5959 0.3641 0.098 Uiso 1 1 calc . . .
H1B H 0.6000 0.6175 0.5237 0.098 Uiso 1 1 calc . . .
30  N2 N 0.58709(11) 0.54841(11) 0.4433(6) 0.0845(10) Uani 1 1 d . . .
C3 C 0.55080(14) 0.53422(15) 0.2788(8) 0.0924(13) Uani 1 1 d . . .
H3A H 0.5207 0.5275 0.3505 0.111 Uiso 1 1 calc . . .
H3B H 0.5608 0.5065 0.1955 0.111 Uiso 1 1 calc . . .
C4 C 0.54727(14) 0.57663(14) 0.1322(7) 0.0838(11) Uani 1 1 d . . .
35  C5 C 0.57724(14) 0.61201(14) 0.2011(7) 0.0801(11) Uani 1 1 d . . .

```


128

C6 C 0.51860(15) 0.58333(16) -0.0535(8) 0.0921(13) Uani 1 1 d . . .
 H6 H 0.4985 0.5592 -0.1007 0.111 Uiso 1 1 calc . . .
 C7 C 0.52000(15) 0.62568(18) -0.1672(8) 0.0926(13) Uani 1 1 d . . .
 C8 C 0.54951(17) 0.66174(16) -0.0895(8) 0.0966(13) Uani 1 1 d . . .
 5 H8 H 0.5497 0.6908 -0.1625 0.116 Uiso 1 1 calc . . .
 C9 C 0.57843(16) 0.65525(16) 0.0930(8) 0.0935(13) Uani 1 1 d . . .
 H9 H 0.5983 0.6794 0.1423 0.112 Uiso 1 1 calc . . .
 C10 C 0.49149(17) 0.63467(19) -0.3746(8) 0.1025(14) Uani 1 1 d . . .
 H10A H 0.5120 0.6491 -0.4853 0.123 Uiso 1 1 calc . . .
 10 H10B H 0.4808 0.6045 -0.4336 0.123 Uiso 1 1 calc . . .
 N11 N 0.44995(12) 0.66545(12) -0.3408(6) 0.0847(10) Uani 1 1 d . . .
 C12 C 0.41355(16) 0.64016(16) -0.2169(7) 0.0928(12) Uani 1 1 d . . .
 H12A H 0.4257 0.6319 -0.0708 0.111 Uiso 1 1 calc . . .
 H12B H 0.4056 0.6110 -0.2941 0.111 Uiso 1 1 calc . . .
 15 C13 C 0.36951(16) 0.67000(18) -0.1912(8) 0.1005(14) Uani 1 1 d . . .
 H13A H 0.3458 0.6524 -0.1081 0.121 Uiso 1 1 calc . . .
 H13B H 0.3771 0.6985 -0.1080 0.121 Uiso 1 1 calc . . .
 N14 N 0.35044(13) 0.68296(14) -0.4066(6) 0.0961(11) Uani 1 1 d . . .
 C15 C 0.38701(19) 0.70846(17) -0.5299(7) 0.1001(14) Uani 1 1 d . . .
 20 H15A H 0.3953 0.7373 -0.4509 0.120 Uiso 1 1 calc . . .
 H15B H 0.3749 0.7173 -0.6753 0.120 Uiso 1 1 calc . . .
 C16 C 0.43006(17) 0.67828(18) -0.5565(7) 0.0987(14) Uani 1 1 d . . .
 H16A H 0.4218 0.6497 -0.6376 0.118 Uiso 1 1 calc . . .
 H16B H 0.4537 0.6954 -0.6425 0.118 Uiso 1 1 calc . . .
 25 C17 C 0.3076(2) 0.7126(2) -0.3808(11) 0.137(2) Uani 1 1 d . . .
 H17A H 0.2836 0.6950 -0.3029 0.206 Uiso 1 1 calc . . .
 H17B H 0.2959 0.7215 -0.5250 0.206 Uiso 1 1 calc . . .
 H17C H 0.3154 0.7407 -0.2978 0.206 Uiso 1 1 calc . . .
 C18 C 0.59855(15) 0.51789(15) 0.6047(8) 0.0896(12) Uani 1 1 d . . .
 30 O19 O 0.57503(11) 0.47935(11) 0.6072(6) 0.1109(11) Uani 1 1 d . . .
 C20 C 0.63596(13) 0.52545(13) 0.7750(7) 0.0818(11) Uani 1 1 d . . .
 C21 C 0.64335(16) 0.48917(15) 0.9312(8) 0.0920(13) Uani 1 1 d . . .
 C22 C 0.67703(18) 0.49413(16) 1.0959(8) 0.0986(14) Uani 1 1 d . . .
 H22 H 0.6811 0.4701 1.2002 0.118 Uiso 1 1 calc . . .
 35 C23 C 0.70497(16) 0.53453(15) 1.1082(8) 0.0907(12) Uani 1 1 d . . .
 C24 C 0.70021(15) 0.57066(15) 0.9542(8) 0.0877(12) Uani 1 1 d . B .
 C25 C 0.66614(15) 0.56535(14) 0.7956(8) 0.0889(12) Uani 1 1 d . . .

129

H25 H 0.6624 0.5898 0.6929 0.107 Uiso 1 1 calc . . .
 O26 O 0.61807(14) 0.44835(11) 0.9277(7) 0.1192(12) Uani 1 1 d . . .
 H26 H 0.5962 0.4508 0.8383 0.179 Uiso 1 1 calc R . .
 O27 O 0.73840(13) 0.53982(12) 1.2687(6) 0.1135(11) Uani 1 1 d . . .
 5 H27 H 0.7403 0.5153 1.3418 0.170 Uiso 1 1 calc R . .
 C28 C 0.73311(18) 0.61386(17) 0.9614(10) 0.1084(16) Uani 1 1 d . . .
 H28 H 0.7646 0.6017 1.0009 0.130 Uiso 1 1 calc . A 1
 C29 C 0.7389(2) 0.6388(2) 0.7301(12) 0.107(3) Uani 0.775(12) 1 d P B 1
 H29A H 0.7600 0.6654 0.7448 0.160 Uiso 0.78 1 calc P B 1
 10 H29B H 0.7085 0.6497 0.6790 0.160 Uiso 0.78 1 calc P B 1
 H29C H 0.7518 0.6167 0.6246 0.160 Uiso 0.78 1 calc P B 1
 C30 C 0.7207(3) 0.6487(3) 1.1347(14) 0.120(3) Uani 0.775(12) 1 d P B 1
 H30A H 0.7434 0.6741 1.1332 0.180 Uiso 0.78 1 calc P B 1
 H30B H 0.7211 0.6336 1.2778 0.180 Uiso 0.78 1 calc P B 1
 15 H30C H 0.6896 0.6612 1.1060 0.180 Uiso 0.78 1 calc P B 1
 C29 C 0.6972(10) 0.6587(7) 0.927(11) 0.22(3) Uani 0.225(12) 1 d P B 2
 C30 C 0.7740(7) 0.6111(12) 0.913(5) 0.147(13) Uani 0.225(12) 1 d P B 2
 O1W O 0.75198(14) 0.46640(15) 1.5369(7) 0.1195(12) Uani 1 1 d D . .
 H1W1 H 0.7317(14) 0.4461(18) 1.565(11) 0.16(3) Uiso 1 1 d D . .
 20 H2W1 H 0.7750 0.4600 1.6200 0.220 Uiso 1 1 d D . .
 O2W O 0.31342(14) 0.60501(17) 0.3540(9) 0.1423(15) Uani 1 1 d D . .
 H1W2 H 0.337(2) 0.595(3) 0.285(14) 0.220 Uiso 1 1 d D . .
 H2W2 H 0.324(3) 0.629(2) 0.424(13) 0.220 Uiso 1 1 d D . . ".

25 (A-v) Fri base krystall form FB5

Form FB5 er en ustabil form som kun ble observert i krystalliseringseksperimenter som involverer isopropanol løsninger av Forbindelse (1). Form FB5 omdanner til FB6 i luft. Uten ønske om å være bundet til noen teori antas det at FB5 er et isopropanol solvat.

30 Form FB5 ble dannet ved fremstilling av en mettet løsning av Forbindelse (1) i isopropanol ved romtemperatur fulgt av sakte presipitasjon med cirka 4 volum isopropyl acetat. XRPD mønsteret til en ny prøve er vist i Figur 6 og hoved toppene er listet i Tabell 6 nedenfor. En prøve av FB5 ble tørket i luft i 2 dager hvorefter XRPD analyse viste omdanning til form FB6.

35

Tabell 6. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) FB5

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	$I/\%$
7.12	12.41	100
9.71	9.10	14
10.14	8.72	17
11.50	7.69	4
13.73	6.45	16
14.60	6.06	5
15.34	5.77	4
16.58	5.34	21
16.94	5.23	6
18.71	4.74	32
19.46	4.56	48
20.15	4.40	13
21.97	4.04	6
22.35	3.97	14
23.43	3.79	9
26.36	3.38	8

(A-vi) Fri base krystall form FB6

Form FB6 ble kun observert som et produkt av form FB5 aldring. Form FB6 er stabil i luft. XRPD mønsteret av en prøve av form FB6 som har blitt fremstilt ved å la form

- 5 FB5 tørke i 2 dager i luft er vist i Figur 7. En liste av hoved toppene er fremsatt i Tabell 7 nedenfor.

Tabell 7. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) form FB6

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	$I/\%$
4.60	19.21	4
9.09	9.72	14
9.68	9.13	25
16.08	5.51	25
16.46	5.38	28
16.94	5.23	14
18.13	4.89	23
18.66	4.75	100
20.05	4.42	31

22.48	3.95	10
26.53	3.36	9

10B. Forbindelse (1) hydroklorid 1:2 salt krystall former

(B-i) Forbindelse (1) hydroklorid - Form FH1

- 5 EtOAc/HCl ble tilsatt til 2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon og deretter MeOH til en løsning ble dannet. Løsemiddelet ble fordampet og fordampet en gang til med toluen og deretter med MeOH til tørr, som ga 2,4-dihydroksy-5-isopropyl-fenyl)-[5-(4-metyl-piperazin-1-ylmetyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-metanon som di-HCl saltet. Denne formen er svært
- 10 hygroskopisk og løser opp i luftfuktighet. XRPD mønsteret er vist i Figur 8 og hoved toppene er fremsatt i Tabell 8 nedenfor.

Tabell 8. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) hydroklorid form - FH1

2 θ /°	d/Å	I/%
5.59	15.79	16
7.34	12.04	100
7.99	11.05	19
10.33	8.56	11
11.70	7.56	3
13.95	6.34	4
14.32	6.18	10
14.72	6.01	4
15.29	5.79	11
16.37	5.41	4
16.82	5.27	8
18.59	4.77	10
19.99	4.44	3
20.40	4.35	4
20.82	4.26	2
21.26	4.18	4
22.57	3.94	3
23.01	3.86	1
24.60	3.62	6

25.32	3.51	20
25.82	3.45	6
27.10	3.29	4
28.27	3.15	7
28.78	3.10	7

(B-ii) Forbindelse (1) hydroklorid - Form FH2

Form FH2 ble observert i presipitasjonseksperimenter med DMSO eller DMF løsninger for å danne FH1. Denne formen omdannes i luft til form FH3. En mettet løsning av form FH1 (B-i) i DMF ble fremstilt ved romtemperatur. Sakte presipitasjon med cirka 4 volum aceton ga form FH2. XRPD mønsteret av en ny prøve av form FH2 er vist i Figur 9 og hoved toppene er listet i Tabell 9 nedenfor. En prøve av form FH2 ble tørket i luft i 2 dager hvorefter XRPD analyse viste at omdanning til form FH3 hadde funnet sted.

10

Tabell 9. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) hydroklorid Form FH2

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	I/%
3.40	25.99	100
6.04	14.62	3
6.81	12.97	81
9.03	9.78	29
11.84	7.47	20
13.01	6.80	3
13.69	6.46	4
15.70	5.64	10
16.10	5.50	31
16.59	5.34	8
17.17	5.16	4
18.13	4.89	14
20.84	4.26	23
21.39	4.15	6
21.87	4.06	8
23.19	3.83	13
23.94	3.71	14
24.78	3.59	6

25.65	3.47	18
25.97	3.43	6
26.94	3.31	5
27.59	3.23	3
28.06	3.18	5
29.53	3.02	6

(B-iii) Forbindelse (1) hydroklorid - Form FH3

Form FH3 ble observert i presipitasjonseksperimenter med etanol eller isopropanol løsninger av form FH1 så vel som i nedbrytingen av form FH2. Form FH3 er stabil i luft og ved 40°C og 75% RH i minst en måned. Presipitasjonen av form FH3 er beskrevet i Eksempel 3 nedenfor. XRPD mønsteret for form FH3 er vist i Figur 10 og hoved toppene er listet i Tabell 10.

Tabell 10. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) hydroklorid Form FH3

10

2 θ /°	d/Å	I/%
5.83	15.15	5
9.35	9.45	100
10.40	8.50	89
10.78	8.20	19
11.35	7.79	11
11.71	7.55	16
12.51	7.07	48
13.35	6.63	10
13.81	6.41	17
14.10	6.27	5
14.78	5.99	42
17.18	5.16	8
17.65	5.02	9
18.74	4.73	51
19.09	4.65	35
19.46	4.56	13
20.11	4.41	8
21.18	4.19	18
21.68	4.10	28

22.32	3.98	76
23.07	3.85	28
23.71	3.75	16
24.86	3.58	96
25.14	3.54	45
26.49	3.36	5
27.03	3.30	8
28.09	3.17	14
28.70	3.11	16
29.02	3.07	29
29.52	3.02	17

(B-iv) Forbindelse (1) hydroklorid - Form FH4

Form FH4 ble observert kun i et presipitasjonseksperiment (DMF/dioksan). Denne formen er ustabil og desintegrerer i luft. En mettet løsning av form FH1 i DMF ble fremstilt ved romtemperatur. Sakte presipitasjon med cirka 4 volum 1,4-dioksan ga form FH4. XRPD mønsteret av en ny prøve av FH4 er vist i Figur 11 og hoved toppene er listet i Tabell 11 nedenfor. Prøven desintegrerer i luft.

Tabell 11. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) hydroklorid - Form FH4

10

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	I/%
7.04	12.55	31
9.89	8.93	10
11.62	7.61	100
12.30	7.19	10
13.27	6.67	8
14.14	6.26	14
15.54	5.70	57
16.06	5.51	17
16.68	5.31	34
17.99	4.93	13
18.54	4.78	26
19.24	4.61	19
20.73	4.28	43
22.26	3.99	28

135

22.94	3.87	27
23.36	3.81	13
23.77	3.74	35
24.63	3.61	12
25.07	3.55	36
25.72	3.46	8
26.91	3.31	15
27.63	3.23	11

(B-v) Forbindelse (1) hydroklorid - Form FH5

Form Fh5 ble observert kun i et presipitasjonseksperiment (metanol/acetone). Denne formen er ustabil og løses opp i fuktig luft. En mettet løsning av Form FH1 i metanol ble fremstilt ved romtemperatur. Sakte presipitasjon med cirka 4 volum acetone ga form FH5. XRPD mønsteret til en ny prøve av FH5 er vist i Figur 12 og hoved toppene er listet i Tabell 12 nedenfor. Prøven desintegrerer i luft.

Tabell 12. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) hydroklorid - Form FH5

10

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	I/%
2.32	38.00	100
6.15	14.35	18
11.79	7.50	6
15.79	5.61	5
20.81	4.27	8
22.76	3.90	3
23.76	3.74	5

10C. Forbindelse (1) L-laktat 1:1 salt krystall former(C-i) Forbindelse (1) L-laktat - Form FL1

L-Laktat salt formen FL1 ble fremstilt som beskrevet i Eksempel 2 nedenfor.

5

Form FL1 er stabil i luft og ved 40°C og 75% RH i minst en måned. XRPD mønsteret for form FL1 er vist i Figur 13 og hoved toppene er listet i Tabell 13.

Tabell 13. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) laktat – Form FL1

10

2 θ /°	d/Å	I/%
6.18	14.30	15
6.53	13.52	50
8.39	10.54	19
11.08	7.98	7
13.10	6.75	85
14.13	6.26	33
14.40	6.15	23
15.21	5.82	4
16.21	5.46	6
16.81	5.27	100
17.22	5.15	45
18.65	4.75	23
19.52	4.54	33
19.82	4.48	34
20.49	4.33	7
20.76	4.27	13
21.13	4.20	17
22.02	4.03	12
22.33	3.98	44
22.84	3.89	40
23.09	3.85	25
23.94	3.71	14
25.19	3.53	7
26.41	3.37	14
26.95	3.31	5

27.81	3.21	14
-------	------	----

(C-ii) Forbindelse (1) L-laktat - Form FL2

Form FL2 ble observert i presipitasjonseksperimenter av metanol løsninger av form FL1. Enkelt krystall røntgen analyse viste at form FL2 er hydratisert. Den er nominelt et trihydrat på grunn av at det er 3 krystall vann posisjoner i den asymmetriske enheten, men de er ikke 100% okkupert ved romtemperatur og laboratorie fuktighet. En mettet løsning av form FL1 i metanol:vann 9:1 ble fremstilt ved romtemperatur. Sakte presipitasjon med cirka 4 volum aceton ga form FL2 som er stabil i luft. XRPD mønsteret for form FL2 er vist i Figur 14 og hoved toppene er listet i Tabell 14 nedenfor. Et krystall pakke diagram er vist i Figur 15 og atom koordinatene er listet i Tabell 15 nedenfor.

Tabell 14. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) laktat salt – form FL2

2 θ /°	d/Å	I/%
8.03	11.00	29
10.71	8.26	53
11.98	7.38	90
13.13	6.74	49
15.39	5.75	29
16.09	5.50	32
16.61	5.33	42
17.26	5.13	37
18.17	4.88	20
18.82	4.71	56
20.40	4.35	40
21.01	4.22	49
21.53	4.12	27
22.34	3.98	100
22.56	3.94	73
23.71	3.75	82
24.30	3.66	8
24.65	3.61	12
26.56	3.35	13
27.70	3.22	21

28.29	3.15	16
-------	------	----

Tabell 15. Enhets celle parametere og koordinater i cif format for krystall struktur av Forbindelse (1) laktat salt – form FL2

```

5  "space gruppe: P21
   unit cell at 293K med a, b, c & β som har 5% s.u.:
   a=5.8
   b=16.6
   c=14.9
10  beta=98
   alpha=gamma=90

```

Coordinates in cif format:

```

15  loop_
     _atom_site_label
     _atom_site_type_symbol
     _atom_site_fract_x
     _atom_site_fract_y
20  _atom_site_fract_z
     _atom_site_U_iso_or_equiv
     _atom_site_adp_type
     _atom_site_occupancy
     _atom_site_symmetry_multiplicity
25  _atom_site_calc_flag
     _atom_site_refinement_flags
     _atom_site_disorder_assembly
     _atom_site_disorder_gruppe
   C1 C -0.643(2) 1.1037(6) 0.6763(7) 0.097(3) Uani 1 1 d . . .
30  H1A H -0.6995 1.0577 0.6395 0.117 Uiso 1 1 calc . . .
     H1B H -0.5231 1.1308 0.6484 0.117 Uiso 1 1 calc . . .
     N2 N -0.5563(16) 1.0791(5) 0.7694(6) 0.096(2) Uani 1 1 d . . .
     C3 C -0.692(3) 1.1148(8) 0.8352(8) 0.124(4) Uani 1 1 d . . .
     H3A H -0.7713 1.0734 0.8651 0.148 Uiso 1 1 calc . . .
35  H3B H -0.5925 1.1454 0.8805 0.148 Uiso 1 1 calc . . .
     C4 C -0.8553(19) 1.1667(7) 0.7825(7) 0.094(3) Uani 1 1 d . . .

```

139

C5 C -0.8393(19) 1.1609(6) 0.6900(7) 0.092(3) Uani 1 1 d . . .
 C6 C -1.036(3) 1.2141(8) 0.8083(8) 0.110(3) Uani 1 1 d . . .
 H6 H -1.0636 1.2139 0.8682 0.132 Uiso 1 1 calc . . .
 C7 C -1.172(2) 1.2611(8) 0.7456(8) 0.105(3) Uani 1 1 d . . .
 5 C8 C -1.145(2) 1.2560(8) 0.6564(9) 0.111(3) Uani 1 1 d . . .
 H8 H -1.2387 1.2867 0.6138 0.133 Uiso 1 1 calc . . .
 C9 C -0.979(2) 1.2053(9) 0.6287(7) 0.109(3) Uani 1 1 d . . .
 H9 H -0.9640 1.2017 0.5677 0.130 Uiso 1 1 calc . . .
 C10 C -1.3561(18) 1.3173(8) 0.7739(9) 0.106(3) Uani 1 1 d . . .
 10 H10A H -1.4455 1.3402 0.7202 0.127 Uiso 1 1 calc . . .
 H10B H -1.4617 1.2864 0.8055 0.127 Uiso 1 1 calc . . .
 N11 N -1.2550(14) 1.3836(6) 0.8332(6) 0.096(2) Uani 1 1 d . . .
 C12 C -1.1136(17) 1.4353(6) 0.7839(7) 0.091(3) Uani 1 1 d . . .
 H12A H -1.2098 1.4591 0.7324 0.109 Uiso 1 1 calc . . .
 15 H12B H -0.9935 1.4035 0.7615 0.109 Uiso 1 1 calc . . .
 C13 C -1.0015(17) 1.5021(7) 0.8462(8) 0.100(3) Uani 1 1 d . . .
 H13A H -0.8991 1.4783 0.8961 0.121 Uiso 1 1 calc . . .
 H13B H -0.9092 1.5368 0.8128 0.121 Uiso 1 1 calc . . .
 N14 N -1.1853(15) 1.5509(5) 0.8822(6) 0.094(2) Uani 1 1 d . . .
 20 H14 H -1.2741 1.5755 0.8352 0.113 Uiso 1 1 calc . . .
 C15 C -1.3350(18) 1.4966(7) 0.9279(7) 0.095(3) Uani 1 1 d . . .
 H15A H -1.4599 1.5276 0.9479 0.114 Uiso 1 1 calc . . .
 H15B H -1.2441 1.4730 0.9808 0.114 Uiso 1 1 calc . . .
 C16 C -1.4358(17) 1.4308(7) 0.8658(8) 0.098(3) Uani 1 1 d . . .
 25 H16A H -1.5310 1.3959 0.8977 0.117 Uiso 1 1 calc . . .
 H16B H -1.5346 1.4542 0.8148 0.117 Uiso 1 1 calc . . .
 C17 C -1.068(2) 1.6140(9) 0.9439(9) 0.119(4) Uani 1 1 d . . .
 H17A H -1.1835 1.6447 0.9694 0.178 Uiso 1 1 calc . . .
 H17B H -0.9807 1.6492 0.9103 0.178 Uiso 1 1 calc . . .
 30 H17C H -0.9658 1.5886 0.9916 0.178 Uiso 1 1 calc . . .
 C18 C -0.382(2) 1.0287(9) 0.7999(8) 0.113(4) Uani 1 1 d . . .
 O19 O -0.345(2) 1.0216(8) 0.8837(6) 0.156(4) Uani 1 1 d . . .
 C20 C -0.228(2) 0.9847(6) 0.7418(7) 0.096(3) Uani 1 1 d . . .
 C21 C -0.069(3) 0.9286(9) 0.7863(9) 0.119(4) Uani 1 1 d . . .
 35 C22 C 0.064(2) 0.8867(9) 0.7367(9) 0.114(4) Uani 1 1 d . . .
 H22 H 0.1812 0.8547 0.7669 0.137 Uiso 1 1 calc . . .
 C23 C 0.038(2) 0.8879(7) 0.6447(8) 0.097(3) Uani 1 1 d . . .

140

C24 C -0.1201(18) 0.9425(7) 0.5972(8) 0.096(3) Uani 1 1 d . B .
 C25 C -0.253(2) 0.9882(7) 0.6463(8) 0.100(3) Uani 1 1 d . . .
 H25 H -0.3632 1.0228 0.6160 0.120 Uiso 1 1 calc . . .
 O26 O -0.036(2) 0.9229(9) 0.8775(6) 0.169(5) Uani 1 1 d . . .
 5 H26 H -0.1427 0.9456 0.8980 0.253 Uiso 1 1 calc R . . .
 O27 O 0.1658(15) 0.8404(5) 0.5948(6) 0.118(3) Uani 1 1 d . . .
 H27 H 0.2091 0.7999 0.6238 0.176 Uiso 1 1 calc R . . .
 C28 C -0.141(4) 0.9478(11) 0.4948(10) 0.138(6) Uani 1 1 d . . .
 H28 H -0.0894 0.8953 0.4750 0.166 Uiso 1 1 calc . A 1
 10 C29 C -0.029(11) 1.004(4) 0.449(3) 0.24(3) Uani 0.58(6) 1 d P B
 1
 H29A H -0.0741 0.9976 0.3847 0.363 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 H29B H 0.1361 0.9972 0.4628 0.363 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 H29C H -0.0703 1.0575 0.4662 0.363 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 15 C30 C -0.417(7) 0.950(3) 0.4621(19) 0.159(19) Uani 0.58(6) 1 d P
 B 1
 H30A H -0.4911 0.9083 0.4918 0.239 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 H30B H -0.4462 0.9424 0.3978 0.239 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 H30C H -0.4773 1.0016 0.4772 0.239 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 20 C29 C -0.156(11) 1.040(2) 0.465(2) 0.14(2) Uani 0.42(6) 1 d P B
 2
 H29D H -0.0071 1.0655 0.4814 0.215 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 H29E H -0.2703 1.0675 0.4943 0.215 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 H29F H -0.1983 1.0438 0.4003 0.215 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 25 C30 C -0.295(12) 0.897(4) 0.446(2) 0.150(19) Uani 0.42(6) 1 d P
 B 2
 H30D H -0.3403 0.9185 0.3870 0.224 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 H30E H -0.4300 0.8910 0.4766 0.224 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 H30F H -0.2234 0.8451 0.4418 0.224 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 30 O1L O -1.5549(12) 1.6174(6) 0.7786(6) 0.124(3) Uani 1 1 d . . .
 O2L O -1.7419(12) 1.7087(6) 0.6890(7) 0.125(3) Uani 1 1 d . . .
 C1L C -1.5569(17) 1.6742(7) 0.7238(8) 0.098(3) Uani 1 1 d . . .
 C2L C -1.3365(17) 1.6989(8) 0.6926(9) 0.108(4) Uani 1 1 d . . .
 H2L H -1.3065 1.7549 0.7117 0.129 Uiso 1 1 calc . . .
 35 C3L C -1.355(2) 1.6971(12) 0.5917(11) 0.143(5) Uani 1 1 d . . .
 H3L1 H -1.2130 1.7162 0.5734 0.214 Uiso 1 1 calc . . .
 H3L2 H -1.4813 1.7312 0.5662 0.214 Uiso 1 1 calc . . .

141

H3L3 H -1.3842 1.6429 0.5706 0.214 Uiso 1 1 calc . . .
 O3L O -1.1538(13) 1.6538(7) 0.7316(8) 0.150(4) Uani 1 1 d . . .
 H3L H -1.0243 1.6711 0.7191 0.224 Uiso 1 1 d . . .
 O1W O -0.448(6) 1.237(6) 1.045(2) 0.45(5) Uani 0.78(6) 1 d P . .
 5 O2W O 0.021(15) 0.8037(17) 0.9990(19) 0.74(7) Uani 1 1 d . . .
 O3W O -0.35(3) 0.773(9) 0.953(15) 0.77(8) Uani 0.22(6) 1 d P . .
 ”.

(C-iii) Forbindelse (1) L-laktat - Form FL3

- 10 Form FL3 ble observert i presipitasjonseksperimenter av THF løsninger av form FL1.
 Form FL3 omdannes i luft til form FL1. En mettet løsning av form FL1 i THF ble
 fremstilt ved romtemperatur. Sakte presipitasjon med cirka 4 volum heptan ga form
 FL3. XRPD mønsteret av en ny prøve av form FL3 er vist i Figur 16 og hoved toppene
 er listet i Tabell 16 nedenfor. En prøve av FL3 ble tørket i luft i 2 dager hvorefter XRPD
 15 analyse viste at omdanning til form FL1 hadde funnet sted.

Tabell 16. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) laktat salt – form FL3

$2\theta/^{\circ}$	$d/\text{\AA}$	I/%
5.53	15.98	100
8.36	10.56	5
11.07	7.98	41
13.16	6.72	12
13.85	6.39	8
16.69	5.31	39
17.17	5.16	21
18.00	4.92	49
18.49	4.80	11
19.28	4.60	14
19.79	4.48	5
20.34	4.36	7
21.05	4.22	21
21.47	4.14	7
21.93	4.05	4
22.47	3.95	16
22.84	3.89	23

24.56	3.62	4
26.28	3.39	6
27.06	3.29	3
27.47	3.24	3
29.11	3.07	6

10D. Forbindelse (1) sulfat 1:1 salt krystall former (sammenlignings eksempler)

(D-i) Forbindelse (1) sulfat - Form FS1

- 5 Form FS1 ble observert i krystalliseringseksperimenter som involverer acetonitril som presipiteringsmiddelet. Den er ustabil i luft og omdannes til form FS3. En mettet løsning av 1:1 saltet av Forbindelse (1) (fremstilt ved å løse opp Forbindelse (1) i H_2SO_4 og fordampe til tørrhet) i vann ble fremstilt ved romtemperatur. Sakte presipitasjon med cirka 4 volum acetonitril ga form FS1. XRPD mønsteret for FS1 er vist i Figur 17 og
- 10 hoved toppene er listet i Tabell 17.

Tabell 17. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) sulfat – Form FS1

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	I/%
4.79	18.45	100
10.02	8.82	28
10.68	8.28	3
11.28	7.84	10
12.89	6.86	6
14.38	6.15	34
15.27	5.80	12
16.91	5.24	17
17.64	5.02	7
18.29	4.85	11
18.86	4.70	3
19.28	4.60	4
20.12	4.41	10
20.82	4.26	8
21.21	4.19	3
21.76	4.08	10
22.32	3.98	13

143

22.89	3.88	7
23.83	3.73	5
24.22	3.67	3
24.42	3.64	3
25.13	3.54	8
29.04	3.07	8

Forbindelse (1) sulfat - Form FS2

Form FS2 er ustabil i luft og omdannes til form FS5. Hvis den holdes ved 40°C og 75% RH omdannes form FS2 til form FS4. Forbindelse (1) løses i 1 mol ekvivalent

- 5 konsentrert H_2SO_4 , presipiteres med cirka 4 volum acetonitril og krystall massen som dannes filtreres. XRPD mønsteret for FS2 er vist i Figur 18 og hoved toppene er listet i Tabell 18.

Tabell 18. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) sulfat – Form FS2

10

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	I/%
4.17	21.20	2
7.03	12.57	24
7.43	11.89	100
8.09	10.92	11
8.67	10.19	90
9.27	9.54	17
9.65	9.16	19
10.41	8.49	7
10.98	8.05	6
11.76	7.52	31
12.53	7.06	5
13.84	6.40	26
14.55	6.08	8
15.39	5.75	16
16.24	5.45	4
16.89	5.25	7
17.50	5.06	26
18.05	4.91	17
18.93	4.68	16

19.47	4.56	16
23.20	3.83	24
24.21	3.67	19
25.21	3.53	10
25.75	3.46	14
26.62	3.35	13
27.67	3.22	13

Forbindelse (1) sulfat - Form FS3

Form FS3 er en stabil form som ble observert som produkt av form FS1 etter aldring i luft og omdanningen av form FS6 i et varmt og fuktig miljø (40°C, 75% RH). XRPD
5 mønsteret av en prøve av form FS3 som ble fremstilt ved å la form FS1 tørke i 2 dager i luft er vist i Figur 19 og hoved toppene er listet i Tabell 19.

Tabell 19. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) sulfat – Form FS3

2 θ /°	d/Å	I/%
4.81	18.36	17
5.43	16.25	100
10.30	8.58	48
11.24	7.87	24
12.94	6.84	5
13.98	6.33	7
14.26	6.21	26
14.91	5.94	33
15.62	5.67	12
16.41	5.40	56
17.53	5.05	26
18.38	4.82	28
18.61	4.76	40
19.01	4.66	22
19.38	4.58	10
19.92	4.45	30
20.27	4.38	13
20.71	4.28	6
21.19	4.19	9

21.77	4.08	31
22.67	3.92	20
23.79	3.74	19
24.23	3.67	27
25.36	3.51	21
27.38	3.25	6
28.82	3.09	9

Forbindelse (1) sulfat - Form FS4

Form FS4 er en stabil form som ble kun observert som produkt av omdanningen av form FS2 i et varmt og fuktig miljø (40°C, 75% RH). Et XRPD mønster av en prøve av
5 form FS4 som ble fremstilt ved inkubering av form FS2 i flere uker ved 40°C og 75% RH er vist i Figur 20 og hoved toppene er listet i Tabell 20.

Tabell 20. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) sulfat – Form FS4

2 θ /°	d/Å	I/%
4.64	19.03	4
7.16	12.34	39
7.48	11.80	100
7.97	11.08	29
8.42	10.49	13
8.82	10.02	34
9.09	9.73	29
9.37	9.43	35
10.45	8.46	30
11.77	7.51	53
13.25	6.68	17
13.54	6.54	16
14.36	6.16	24
15.03	5.89	13
16.21	5.46	21
16.99	5.22	33
17.28	5.13	31
17.59	5.04	30
17.96	4.93	19

18.90	4.69	24
19.43	4.57	10
19.83	4.47	8
21.36	4.16	12
23.13	3.84	31
23.68	3.75	28
23.96	3.71	32
24.77	3.59	18
25.64	3.47	17
26.19	3.40	14
26.73	3.33	13
27.20	3.28	11
27.76	3.21	17
28.64	3.11	9

Forbindelse (1) sulfat - Form FS5

Form FS53 er en stabil form som ble observert som et produkt av aldringen av form FS2 i luft og omdanning av form FS4 i et tørt miljø (20°C, 11% RH). XRPD mønsteret til en prøve av form FS5 som ble fremstilt ved å la form FS2 tørke i 2 dager i luft er vist i Figur 21 og hoved toppene er listet i Tabell 21.

Tabell 21. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) sulfat – Form FS5

2θ/°	d/Å	I/%
4.70	18.80	19
7.11	12.42	56
7.99	11.05	100
9.33	9.47	42
9.57	9.23	29
10.45	8.46	54
11.64	7.60	30
13.27	6.67	62
14.28	6.20	20
14.65	6.04	13
15.12	5.86	14
15.60	5.67	24

16.98	5.22	88
17.65	5.02	22
18.01	4.92	35
18.80	4.72	48
19.32	4.59	17
19.83	4.47	13
21.08	4.21	18
23.21	3.83	39
23.51	3.78	23
23.92	3.72	36
24.30	3.66	19
25.06	3.55	22
26.24	3.39	37
27.28	3.27	13
28.67	3.11	18

Forbindelse (1) sulfat - Form FS6

Form FS6 ble identifisert i et antall forskjellige krystalliseringseksperimenter i løpet av form screening. Den er stabil i luft, men i varmt og fuktig miljø (40°C, 75% RH),
5 omdannes den til form FS3.

En mettet løsning av 1:1 sulfat saltet av Forbindelse (1) (fremstilt ved å løse opp Forbindelse (1) i H₂SO₄ og fordampe til tørrhet) i DMF ble fremstilt ved romtemperatur. Sakte presipitasjon med cirka 4 volum toluen ga form FS6. XRPD
10 mønsteret for FS6 er vist i Figur 22 og hoved toppene er listet i Tabell 22.

Tabell 22. Hoved XRPD topper for Forbindelse (1) sulfat – Form FS6

2θ/°	d/Å	I/%
4.82	18.32	100
9.98	8.86	32
11.35	7.79	9
12.92	6.85	4
14.45	6.13	36
15.38	5.76	17
16.97	5.22	19

17.52	5.06	7
18.18	4.87	15
19.42	4.57	9
20.23	4.39	16
20.93	4.24	13
21.31	4.17	5
21.66	4.10	5
21.89	4.06	7
22.29	3.98	17
22.84	3.89	8
23.04	3.86	6
23.94	3.71	4
24.51	3.63	4
25.26	3.52	9
29.18	3.06	7

EKSEMPEL 11

Bestemmelse av antifungal aktivitet

5

Den antifungale aktiviteten til forbindelsene med formel (I) ble bestemt ved anvendelse av følgende protokoll.

Forbindelsene ble testet ovenfor et panel av sopp som inkluderer *Candida parapsilosis*,
 10 *Candida tropicalis*, *Candida albicans*-ATCC 36082 og *Cryptococcus neoformans*. Test organismene ble holdt på Sabourahd dektrose agar skråstilt ved 4°C. Enkelt suspensjoner av hver organisme ble fremstilt ved å dyrke gjær over natten ved 27°C på en roterende trommel i gjær-nitrogen base buljong (YNB) med aminosyrer (Difco, Detroit, Mich.), pH 7.0 med 0.05 morfolinpropansulfonsyre (MOPS). Suspensjonen ble
 15 deretter sentrifugert og vasket to ganger med 0.85% NaCl før lydbehandling av den vaskede celle suspensjonen i 4 sekunder (Branson Sonifier, modell 350, Danbury, Conn.). Singlett blastosporene ble talt i et haemocytometer og justert til den ønskede konsentrasjonen i 0.85% NaCl.

20 Aktiviteten til test forbindelsene bestemmes ved anvendelse av en modifikasjon av en buljong mikrofortynnings teknikk. Testforbindelser fortynnes i DMSO til en 1.0 mg/ml andel og fortynnes deretter til 64 µg/ml i YNB buljong, pH 7.0 med MOPS (Fluconazol

anvendes som kontrollen) for å gi en arbeidsløsning av hver forbindelse. Ved anvendelse av en 96-brønns plate ble brønner 1 og 3 til og med 12 fremstilt med YNB buljong, ti ganger fortynninger av forbindelseløsningen ble gjort i brønner 2 til 11 (konsentrasjonsområder 64 til 0.125 µg/ml). Brønn 1 tjener som en sterilitetskontroll og blindprøve for de spektrofotometriske undersøkelsene. Brønn 12 tjener som en dyrkningskontroll. Mikrotiter platene inokuleres med 10 µl i hver av brønn 2 til 11 (slutt inokulum størrelse er 10^4 organismer/ml). Inokulerte plater inkuberes i 48 timer ved 35°C. MIC verdiene bestemmes spektrofotometrisk ved å måle absorbansen ved 420 nm (Automatic Microplate Reader, DuPont Instruments, Wilmington, Del.) etter risting av platene i 2 minutter med en virvler-mikser (Vorte-Genie 2 Mixer, Scientific Industries, Inc., Bolemia, N.Y.). MIC sluttpunktet blir definert som den laveste legemiddel konsentrasjonen som fremviser tilnærmet 50% (eller mer) reduksjon av veksten sammenlignet med kontrollbrønnen. Med turbiditetsundersøkelsen er denne definert som den laveste legemiddel konsentrasjonen hvorved turbiditet i brønnen er <50% av kontrollen (IC50). Minimale cytolytiske konsentrasjoner (MCC) bestemmes ved underdyrking av alle brønnene fra 96-brønns platen på en Sabourahd dekstrose agar (SDA) plate, inkubering i 1 til 2 dager ved 35°C og deretter sjekking av levedyktighet.

EKSEMPEL 12

20

Fremgangsmåter for testing av smerte reduserende eller smerte hindrende aktivitet

(I) Inflammatorisk hyperalgesi test

Mekanisk hyperalgesi kan undersøkes i en rotte modell for inflammatorisk smerte. Pote tilbaketrekningsterskel ovenfor en økende trykk stimulus ble målt med "the Randal-Sellito" teknikken ved anvendelse av et analgesymeter (Ugo Basile, Milano), på et naturlig dyr før en intraplantar injeksjon av fullstendig Freund's fullstendig adjuvans (FCA) inn i venstre bakpote. 24 timer senere ble pote tilbaketrekningsterskler målt igjen før (forhåndsdose) og deretter fra 10 minutter til 6 timer etterfølgende legemiddel eller vehikkel administrasjon. Reversering av hyperalgesi i den ipsilaterale poten beregnes i henhold til formel:

35

$$\% \text{ reversert} = \frac{\text{etterdose terskel} - \text{forhåndsdose terskel}}{\text{naturlig terskel} - \text{forhåndsdoseterskel}} \times 100$$

(ii) Neuropatisk hyperalgesi test

Mekanisk hyperalgesi kan undersøkes i en rotte modell for neuropatisk smerte induert ved delvis ligatering av den venstre isjias nerven. Cirka 14 dager etterfølgende kirurgi blir de mekaniske tilbaketrekningstersklene til både den ligaterterte (ipsilaterale) og ikke-ligaterterte (kontralaterale) poten målt før (forhåndsdose) og deretter fra 10 minutter til 6 timer etterfølgende legemiddel eller vehikkel administrasjon. Reversering av hyperalgesi ved hvert tidspunkt beregnes i henhold til formel:

10

$$\% \text{ reversert} = \frac{\text{ipsilateral etterdose terskel} - \text{ipsilateral forhåndsdoseterskel}}{\text{kontralateral forhåndsdoseterskel} - \text{ipsilateral etterhåndsterskel}} \times 100$$

Alle eksperimenter utføres ved anvendelse av grupper på 6 dyr. Forråds konsentrasjoner av legemidler løses i destillert vann og etterfølgende fortynninger gjøres i 0.9% saltvann for subkutan administrasjon på 4 ml kg⁻¹. Alle legemidler fremstilles i plast medisinflasker og holdes i mørket.

15

Statistiske analyser utføres på tilbaketrekningsterskel avlesninger (g) ved anvendelse av ANOVA med repeterende målinger fulgt av Tukey's HSD test. Effektivitet refererer til den maksimale reverseringen av hyperalgesi observert ved de anvendte dosene.

20

(iii) Testing av effekter av forbindelser med formel (0) en rotte modell for benkreft smerte

Voksne hunnkjønns rotter gis intra-tibiale injeksjoner av MRMZ-1 rotte brystkjertel karsinom celler (3 µl, 10⁷ celler/ml). Dyrene utvikler typisk gradvis mekanisk hyperalgesi, mekanisk allodyni (hud sensitivitet ovenfor ikke-skadelig stimuli) og bakben sparsommelighet, som begynner på dag 12-14 etterfølgende celle injeksjon. En forbindelse med formel (0) (for eksempel ved en dose på 10 og 30 µg/kg s.c.) administreres 3 ganger per uke fra celle injeksjonsdagen, og omfanget av inhibering av

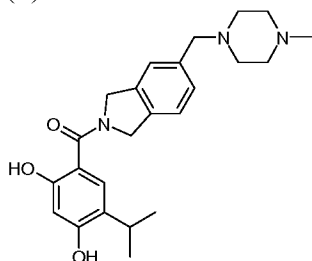
30

bakben sparsommelighet og mekanisk allodyn bestemmes sammenlignet med vehikkel behandlede kontroller.

De foregående eksemplene er presentert for formålet å illustrere oppfinnelsen og ansees
5 ikke som noen begrensning av omfanget av oppfinnelsen.

P a t e n t k r a v

1. Syreaddisjonssalt, k a r a k t e r i s e r t v e d at det er av en forbindelse med formel (1)



(1).

som er et salt dannet med melkesyre.

2. Syreaddisjonssalt i følge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at saltet er dannet med L-melkesyre.

3. Syreaddisjonssalt i vesentlig krystallinsk form ifølge krav 1, hvori den krystallinske formen er valgt fra formene:

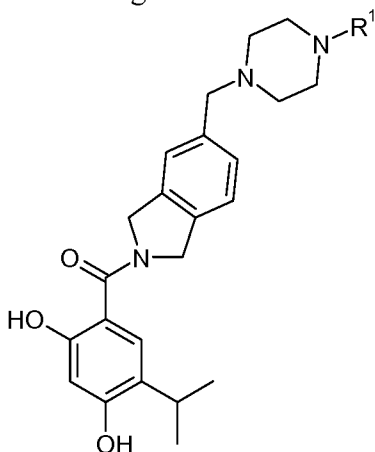
FL1: k a r a k t e r i s e r t v e d et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$)

topp ved 16,81, og

FL2: k a r a k t e r i s e r t v e d et XRPD mønster som har en diffraksjonsvinkel ($2\theta^\circ$)

topp ved 22,34.

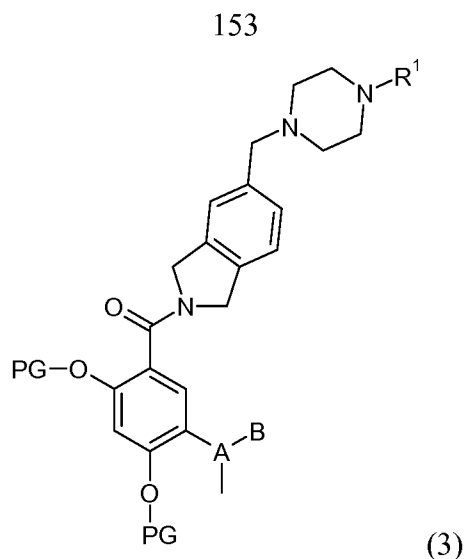
4. Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (2):



(2)

hvor R^1 er C_{1-4} alkyl; k a r a k t e r i s e r t v e d at fremgangsmåten innbefatter enten å utsette en forbindelse med formel (3)

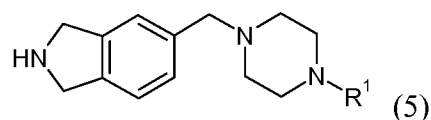
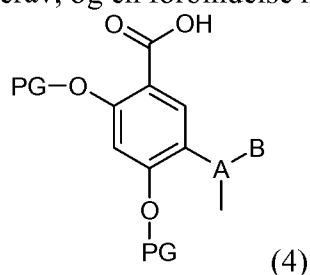
for katalytisk hydrogenering:



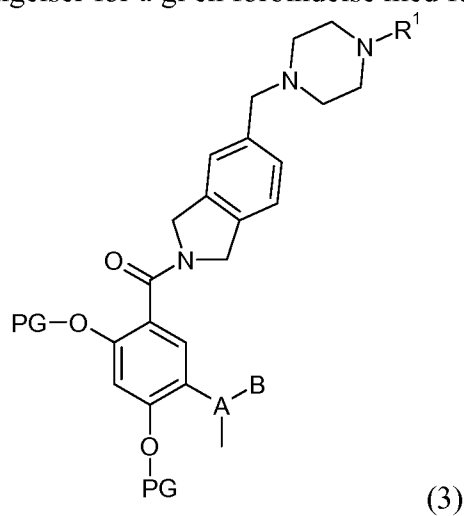
hvor PG er en beskyttende gruppe som kan fjernes under hydrogeneringsbetingelser og A-B er CH-CH₃ eller C=CH₂, og deretter, der forbindelsen med formel (2) fremstilles i form av en fri base, eventuelt omdanne den frie basen til et syreaddisjonssalt; eller

5

(a-i) reaksjon mellom en forbindelse med formel (4), eller en aktivert form eller derivat derav, og en forbindelse med formel (5):



under amid dannings betingelser for å gi en forbindelse med formel (3);



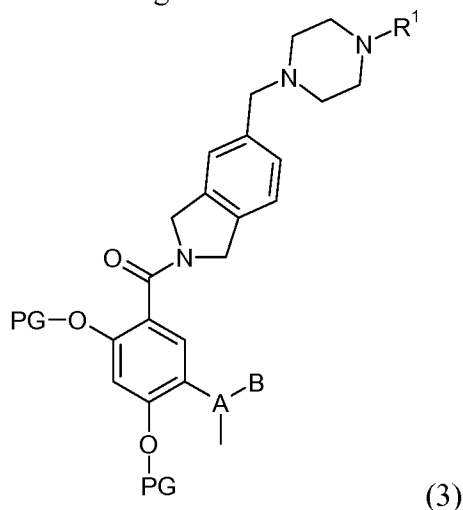
10

hvor R¹, PG, A-B er som definert ovenfor; og

(b) underkaste forbindelsen med formel (3) for katalytisk hydrogenering for å fjerne de beskyttende gruppene PG og, når A-B er C=CH₂, redusere gruppen A-B til en

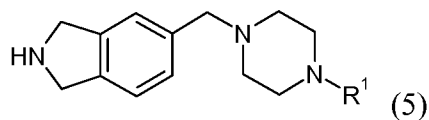
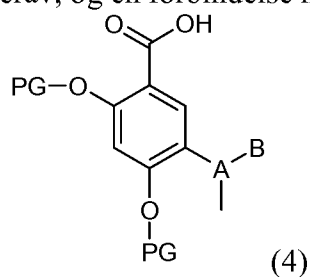
isopropyl gruppe og deretter, hvor forbindelsen med formel (2) fremstilles i form av en fri base, eventuelt omdanne den frie basen til et syreaddisjonssalt.

5. Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (3):



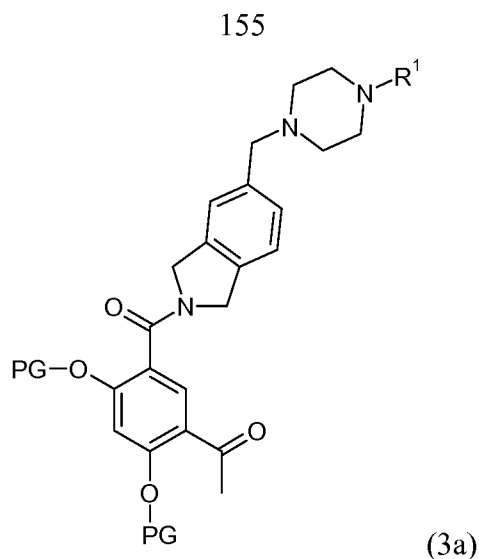
hvor R^1 , PG, A-B er som definert i krav 4; k a r a k t e r i s e r t v e d at fremgangsmåten innbefatter enten:

(a-i) reaksjon mellom en forbindelse med formel (4), eller en aktivert form eller derivat derav, og en forbindelse med formel (5):



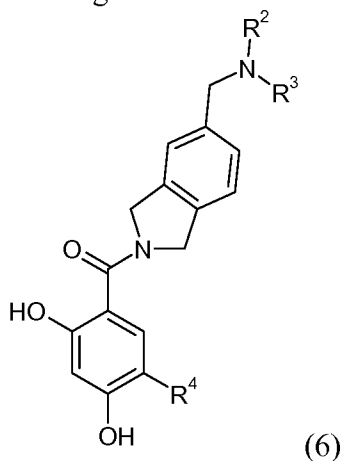
under amid dannings betingelser; eller

omsetning av en forbindelse med formel (3a):

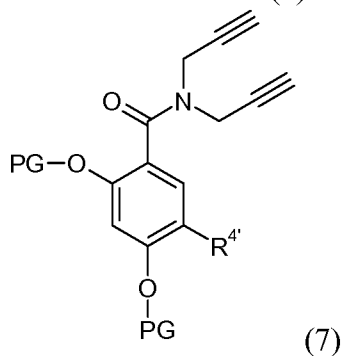


med et Wittig reagens eller annet reagens egnet for omdanning av gruppen $-C(=O)-CH_3$ til en gruppe $-C(=CH_2)-CH_3$.

- 5 6. Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (6):

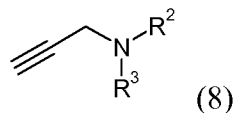


- hvor R^2 og R^3 er like eller forskjellige og hver er C_{1-4} alkyl eller NR^2R^3 danner en 4 til 7 leddet mettet heterocyklisk ring som eventuelt ytterligere inneholder et heteroatom valgt fra O, N og S og eventuelt substituert med en eller to C_{1-4} alkyl grupper; og R^4 er valgt fra hydrogen, halogen, C_{1-5} alkyl og C_{3-4} cykloalkyl grupper;
- 10 k a r a k t e r i s e r t v e d at fremgangsmåten innbefatter:
- (a-ii) reaksjon mellom en forbindelse med formel (7):

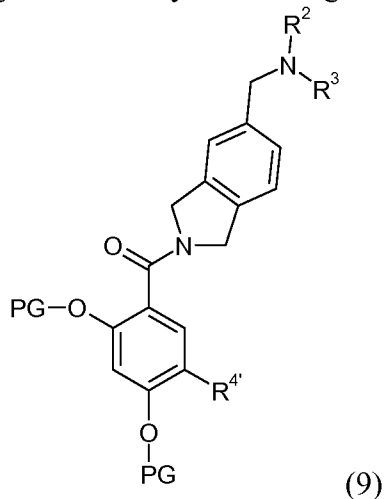


156

hvor PG er en beskyttende gruppe som kan fjernes under hydrogeneringsbetingelser og $R^{4'}$ er valgt fra hydrogen, halogen, C_{1-5} alkyl, C_{2-5} alkenyl og C_{3-4} cykloalkyl grupper; og en forbindelse med formel (8):



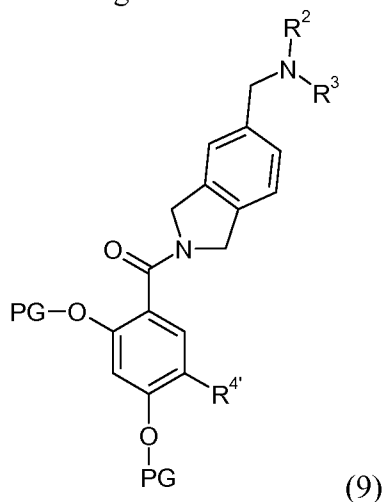
5 under nærvær av en overgangsmetall katalysator for å gi en forbindelse med formel (9);



og

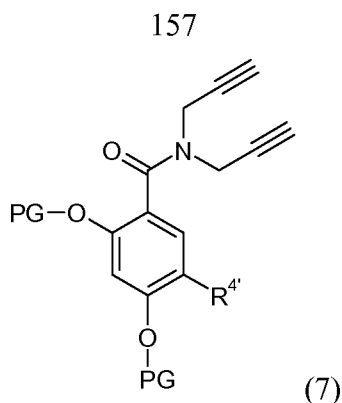
(b) utsette forbindelsen med formel (9) for katalytisk hydrogenering for å fjerne de beskyttende gruppene PG og, når $R^{4'}$ er C_{2-5} alkenyl, redusere gruppen $R^{4'}$ til C_{2-5} alkyl; og deretter, hvor forbindelsen med formel (6) fremstilles i form av en fri base, eventuelt omdanne den frie basen til et syreaddisjonssalt.

7. Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (9):

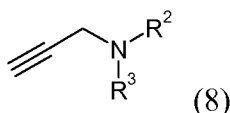


15 hvori R^2 , R^3 , $R^{4'}$ og PG er som definert i krav 6; k a r a k t e r i s e r t v e d at fremgangsmåten innbefatter:

(a-ii) reaksjon mellom en forbindelse med formel (7):



hvor PG er en beskyttende gruppe som kan fjernes under hydrogeneringsbetingelser og $R^{4'}$ er valgt fra hydrogen, halogen, C_{1-5} alkyl, C_{2-5} alkenyl og C_{3-4} cykloalkyl grupper; og en forbindelse med formel (8):



under nærvær av en overgangsmetall katalysator.

8. Kjemisk intermediat, k a r a k t e r i s e r t v e d at det har formel (3) som definert i krav 4 og 5, (7) som definert i krav 6 og 7 eller (9) som definert i krav 6 og 7.

9. Salt ifølge hvilket som helst av kravene 1-3 for anvendelse i medisin

10. Salt ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3 for anvendelse:

- i. som en inhibitor av Hsp90; eller
- ii. ved behandling av en sykdom eller tilstand som innbefatter eller som kommer som resultat av abnormal cellevekst hos et pattedyr; eller
- iii. i en fremgangsmåte for inhibering av Hsp90, hvor fremgangsmåten innbefatter å bringe Hsp90 i kontakt med en Hsp90-inhiberende forbindelse, krystallinsk form eller syreaddisjonssalt; eller
- iv. for anvendelse i behandling av en proliferativ sykdom valgt fra karsinom i blære, bryst, kolon, nyre, epidermis, lever, lunge, spiserør, galleblære, eggstokk, bukspyttkjertel, mage, cervix, tyroid, prostata, gastrointestinal system, eller hud, en hematopoietisk tumor av lymfoid type, en hematopoietisk tumor av myeloid type, tyroid follikulær kreft; en tumor av mesenchymal opprinnelse, en tumor i det sentrale eller perifere nervesystemet, teratokarsinom, melanom, seminom, osteosarkom, xeroderm pigmentosum, keratoacanthom, tyroid follikulær kreft eller Kaposi's sarkom; eller

- v. ved fremstilling av et medikament for profylakse eller behandling av en fungal, protozoal eller parasitt sykdom eller tilstand forskjellig fra en sykdom eller tilstand på grunn av *Plasmodium falciparum*; eller
- vi. ved fremstilling av et medikament for koadministrasjon med et anti-fungalt middel, anti-protozoalt middel eller anti-parasitt middel fortrinnsvis et anti-fungalt middel for å hindre, redusere eller reversere utviklingen av resistens ovenfor det anti-fungale middelet, anti-protozoale middelet eller anti-parasitt middelet; eller
- vii. i en fremgangsmåte for å hindre eller redusere utvikling av resistens ovenfor et anti-fungalt middel hos en pasient, hvor fremgangsmåten innbefatter administrering til pasienten en kombinasjon av et anti-fungalt middel, anti-protozoalt middel eller anti-parasitt middel og forbindelsen, krystallinsk form eller syreaddisjonssalt; eller
- viii. ved fremstilling av et medikament for anvendelse ved reduksjon eller eliminering av smerte hos en pasient som lider av smerte; eller
- ix. ved fremstilling av et medikament for behandling av en hvilken som helst av nocicepsjon, somatisk smerte, visceral smerte, akutt smerte, kronisk smerte, hyperalgesi, allodyni, postoperativ smerte, smerte på grunn av hypersensitivitet, hodepine, inflammatorisk smerte, neurologisk smerte, muskelskjellett smerte, kreft relatert smerte eller vaskulær smerte; eller
- x. i en fremgangsmåte for hindring eller redusering av neuronal skade hos en pasient som lider av slag, hvor fremgangsmåten innbefatter administrering til pasienten en effektiv neurobeskyttende mengde av forbindelsen, krystallinsk form eller syreaddisjonssalt; eller
- xi. ved fremstilling av et medikament for hindring eller redusering av risiko for slag hos pasienter med risiko for slag, for eksempel en pasient som fremviser en hvilken som helst en eller flere risikofaktorer valgt fra vaskulær inflammasjon, aterosklerose, arterial hypertensjon, diabetes, hyperlipidemi og atrial fibrillering; eller
- xii. ved profylakse eller behandling av en viral infeksjon ;
- xiii. for anvendelse ved blokkering eller inhibering av viral replikasjon hos en vertsorganisme; eller ;
- xiv. i en metode for blokkering eller inhibering av viral replikasjon hos en vertsorganisme , hvor fremgangsmåten innbefatter administrering av forbindelsen, krystallinsk form eller syreaddisjonssalt ; eller
- xv. i en fremgangsmåte for (i) sensitisere malignante celler ovenfor et antikreft legemiddel; (ii) lindre eller redusere tilfelle av resistens ovenfor et antikreft legemiddel; (iii) reversere resistens ovenfor et antikreft legemiddel; (iv) potensierte aktiviteten til et antikreft legemiddel; (v) forsinke eller hindre utbrudd av resistens ovenfor et antikreft legemiddel, hvor fremgangsmåten innbefatter administrering til

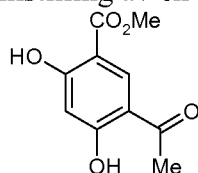
et subjekt som trenger det forbindelsen, krystallinsk form eller syreaddisjonssalt; eller

- xvi. i en fremgangsmåte for å behandle en kreft, hvor fremgangsmåten innbefatter administrering av forbindelsen, krystallinsk form eller syreaddisjonssalt til et subjekt som trenger det der fremgangsmåten er k a r a t e r i s e r t v e d fravær av legemiddel resistens; eller
- xvii. i en fremgangsmåte for profylakse eller behandling eller lindring eller reduksjon av tilfelle av en sykdom eller tilstand mediert av Hsp90 hos et individ som gjennomgår behandling med et terapeutisk middel, hvor fremgangsmåten innbefatter administrering av forbindelsen, den krystallinsk formen eller syreaddisjonssalt til individet, hvori sykdommen eller tilstanden mediert av Hsp90 er utviklingen av resistens ovenfor nevnte terapeutiske middel;
- xviii. i en fremgangsmåte for: (i) sensitisere malignante celler ovenfor et antikreft middel; (ii) lindre eller redusere tilfelle av resistens ovenfor et antikreft middel; (iii) reversere resistens ovenfor et antikreft middel; (iv) potensierte aktiviteten til et antikreft middel; (v) forsinke eller hindre utbruddet av resistens ovenfor et antikreft middel, hvor fremgangsmåten innbefatter administrering av forbindelsen, krystallinsk form eller syreaddisjonssalt til et individsom gjennomgår behandling med nevnte antikreft middel; eller
- xix. i en fremgangsmåte for behandling av kreft hos et individ som gjennomgår behandling med et antikreft middel, hvilken fremgangsmåte innbefatter administrering av forbindelsen, krystallinsk form eller syreaddisjonssalt til et individ som trenger det, hvor fremgangsmåten er k a r a k t e r i s e r t v e d fravær av legemiddel resistens ovenfor antikreft middelet.

25

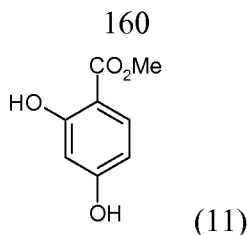
11. Anvendelse av et salt ifølge hvilket som helst av kravene 1-3, for fremstilling av et medikament for behandling av en sykdom, tilstand eller lidelse som definert i krav 10.

- 30 12. Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (13):



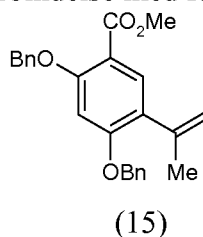
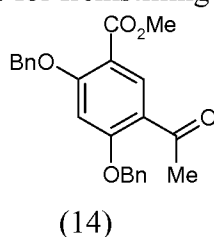
(13),

k a r a k t e r i s e r t v e d at fremgangsmåten innbefatter:
(i) reaksjon mellom en forbindelse med formel (11):



og (a) eddiksyre anhydrid under nærvær av 4-dimetylamino­pyridin , fulgt av (b) trifluormetansulfonsyre og eventuelt acetyl klorid (typisk ved romtemperatur); eller (ii) reaksjon mellom en forbindelse med formel (11) og acetyl klorid under nærvær av et katione ione-bytte harpiks.

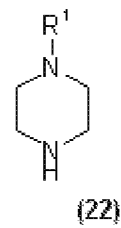
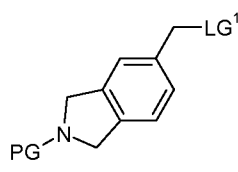
13. Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (15):



10 k a r a k t e r i s e r t v e d at den innbefatter å la forbindelse med formel (14) reagere med et Wittig reagens MePPh_3Br under nærvær av kalium tert-butoksid i THF.

14. Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (5) som definert i krav 4, k a r a k t e r i s e r t v e d at fremgangsmåten innbefatter:

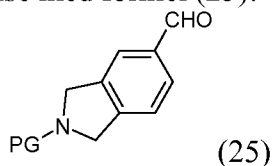
(i) reaksjon mellom en forbindelse med formel (24):



20

hvor PG er en beskyttende gruppe og LG^1 er en utgående gruppe og en forbindelse med formel (22); eller

(ii) reaksjon mellom en forbindelse med formel (25):



25 hvori PG er en beskyttende gruppe med en forbindelse med formel (22) som definert over under reductive amineringsbetingelser,

og deretter fjerne den beskyttende gruppen PG.

15. Kombinasjon, k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter et syreaddisjonssalt i følge et hvilket som helst av kravene 1 til 3 og ett eller flere andre terapeutiske midler

5

16. Kombinasjon i følge krav 15, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte ene eller flere andre terapeutiske midler er valgt fra gruppen bestående av:

- a. Topoisomerase I inhibitorer
- b. Antimetabolitter
- 10 c. Tubulin målsøkende midler
- d. DNA binder og topoisomerase II inhibitorer
- e. Alkylerende midler
- f. Monoklonale antistoffer.
- g. Anti-hormoner
- 15 h. Signal transduksjon inhibitorer
- i. Proteasom inhibitorer
- j. DNA metyl transferaser
- k. Cytokiner and retinoider
- l. Komatin målsøkende terapier
- 20 m. Strålebehandling og
- n. Andre terapeutiske eller profylaktiske midler.

17. Kombinasjon i følge kravene 15 eller 16, k a r a k t e r i s e r t v e d at laktatsaltet og det ene eller flere andre terapeutiske midler eller behandling
25 administreres samtidig, separat eller sekvensielt.

18. Kombinasjon i følge kravene 15 eller 16, k a r a k t e r i s e r t v e d at laktatsaltet og det ene eller flere andre terapeutiske midler er fysisk assosiert.

- 30 19. Kombinasjon i følge krav 18, k a r a k t e r i s e r t v e d at kombinasjonen er en fysisk assosiert kombinasjon i form av en:
- sammensetning som omfatter laktatsaltet og det ene eller flere andre terapeutiske midler i en blanding; eller
 - sammensetning som omfatter materiale der laktatsaltet og det ene eller flere
 - 35 terapeutiske midler er kjemisk/fysisk-kjemisk koblet; eller
 - sammensetning som omfatter materiale der laktatsaltet og det ene eller flere terapeutiske midler er kjemisk/fysisk-kjemisk pakket sammen; eller

· farmasøytisk kit, farmasøytisk pakning eller pasientpakning der laktatsaltet og det ene eller flere terapeutiske midler er pakket sammen eller presentert sammen.

5 20. Kombinasjon i følge krav 15 eller 16, k a r a k t e r i s e r t v e d at laktatsaltet og det ene eller flere terapeutiske midler ikke er fysisk assosiert.

21. Kombinasjon i følge krav 20, k a r a k t e r i s e r t v e d at kombinasjonen er en ikke-fysisk assosiert kombinasjon i form av et:

10 · materiale omfattende laktatsaltet og det ene eller flere andre terapeutiske midler sammen med instruksjoner for den ekstempererte assosiasjonen for den minst ene forbindelsene for å danne en fysisk assosiasjon med de to eller flere forbindelser/midler; eller

· materiale som omfatter laktatsaltet og det ene eller flere andre terapeutiske
15 midler sammen med instruksjoner for kombinasjonsterapi med de to eller flere forbindelser/midler; eller

· materiale som omfatter minst ett av laktatsaltet og det ene eller flere andre terapeutiske midler; eller

· sammen med instruksjoner for administrering til en pasientpopulasjon der det/de
20 andre av laktatsaltet og det ene eller flere terapeutiske midler har blitt (eller blir) administrert; eller

· materiale som omfatter minst ett av laktatsaltet og det ene eller flere andre terapeutiske midler i en mengde eller i en form som er spesielt tilpasset for anvendelse i kombinasjon med den andre av to eller flere forbindelser/midler.

25

22. Farmasøytisk sammensetning, k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter en kombinasjon i følge et hvilket som helst av kravene 15 til 19 og en farmasøytisk akseptabel bærer.

30 23. Kombinasjon som definert i et hvilket som helst av kravene 15 til 21 eller en sammensetning i følge krav 22 for behandling av en cancer.

24. Anvendelse av en kombinasjon som definert i et hvilket som helst av kravene 15 til 21 eller en sammensetning i følge krav 22 for fremstilling av et medikament for
35 behandling av en cancer.

25. Kombinasjon i følge et hvilket som helst av kravene 15 til 21, eller en sammensetning i følge krav 22 for behandling av smerte, slag, anvendelse som et neurobeskyttende middel, anvendelse som en anti-fungalt middel, anvendelse som et anti-protozoalt middel, for anvendelse som et anti-parasittisk middel.

5

26. Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter syre addisjonssalt og en farmasøytisk akseptabel bærer.

10