FI0001129438

(12) **PATENTTIJULKAISU**
PATENTSKRIFT

(10) **FI 112943 B**

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats **13.02.2004**

(51) Kv.lk.7 - Int.kl.7

C07D 239/47, 403/12, 409/04, 409/14,
C07F 9/6512, A61K 31/505, 31/675

(21) Patenttihakemus - Patentansökning **963897**

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag **27.09.1996**

(24) Alkupäivä - Löpdag **29.03.1995**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig **27.09.1996**

(86) Kv. hakemus - Int. ansökan **PCT/US95/03909**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet

31.03.1994 US 221712 P

SUOMI – FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(73) Haltija - Innehavare

1 •**Vertex Pharmaceuticals Incorporated**, 130 Waverly Street, Cambridge, MA 02139-4242, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •**Dolle,Roland E.**, 550 Prince Frederick Street, King of Prussia, PA 19406, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
2 •**Prouty,Catherine P.**, 236 Windsor Way, Doylestown, PA 18901, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
3 •**Chaturvedula,Prasad V. C.**, 40 Quarry Village, Cheshire, CT 06410, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
4 •**Schmidt,Stanley J.**, 1191 Yellow Springs Road, Chester Springs, PA 19425, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Kolster Oy Ab
Iso Roobertinkatu 23, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

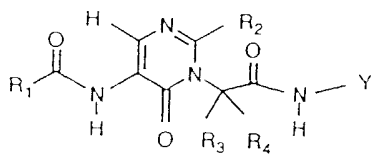
Pyrimidinyylijohdannaisia ja niiden käyttö lääkkeen valmistamiseksi interleukiini proteaasiaktiivisuuden inhiboimiseksi
Pyrimidinylderivat och deras användning för framställning av ett läkemedel för inhibering av interleukin proteasaktivitet

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

---

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Käsillä oleva keksintö kohdistuu yhdisteisiin, koostumuksiin ja menetelmiin interleukiini-1ß (IL-1ß) -proteaasiaktiivisuuden inhiboimiseksi. Yhdisteet, N-(pyrimidinyyli)asparagiinihapon α-substituoidut metyyliketonit ja asparagiinihappoaldehydit, ovat kaavan (I) mukaisia. Nämä yhdisteet ovat 1ß:aa konvertoivan entsyymin inhibiittoreita ja sellaisina käyttökelpoisia, kun tällaista inhibitiota halutaan. Niitä voidaan käyttää esimerkiksi tutkimusvälineinä farmakologisissa, diagnostisissa ja näihin liittyvissä tutkimuksissa sekä hoidettaessa sellaisia sairauksia nisäkkäissä, joissa on mukana IL-1ß-proteaasiaktiivisuutta.



(I)

Föreliggande uppfinning avser föreningar, kompositioner och sätt för inhibering av interleukin-1ß(IL-1ß)-proteasaktivitet. Föreningarna med formeln (I) är α-substituerade metylketoner av N-(pyrimidinyl)asparaginsyra och asparaginsyraaldehyder. Dessa föreningar är inhibitorer av det 1ß-konverterande enzymet och de kan användas som sådana vid behov av en sådan inhibering. De kan till exempel användas som verktyg vid farmakologisk, diagnostisk och relaterad forskning samt vid behandling av däggdjurssjukdomar med anknytning till IL-1ß-proteasaktivitet.

Pyrimidinyylijohdannaisia ja niiden käyttö lääkkeen valmistamiseksi interleukiini proteaasiaktiivisuuden inhiboimiseksi

Keksinnön tausta

Keksinnön ala

Käsillä oleva keksintö kohdistuu uusien aspartaamihappoanalogien ryhmään, jotka ovat selektiivisiä interleukiini-1ß:aa konvertoivan entsyymin *in vitro* ja *in vivo* inhibitiossa, koostumuksiin, jotka sisältävät uusia asparagiinihappoanalogeja sekä keksinnön mukaisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan käyttöön. Täsmällisemmin käsillä olevan keksinnön mukaiset interleukiini-1ß:aa konvertoivan entsyymin inhibiittorit sisältävät uusia N-(pyrimidinyyli)asparagiinihappoaldehydejä ja α-substituoituja metyyliketoneja, joilla on erityistä käyttökelpoisuutta hoidettaessa keuhkojen, keskushermoston ja sidekudosten tulehduksellisia ja immuunipohjaisia sairauksia.

Raportoidut kehitystulokset

Interleukiini-1ß (IL-1ß) -proteaasi (tunnetaan myös nimellä interleukiini-1ß:aa konvertoiva entsyymi tai ICE) on entsyymi, joka vastaa biologisesti inaktiivisen 31 kD:n prekursori IL-1ß:n prosessoinnista biologisesti aktiiviseen 17 kD:n muotoon (M. J. Kostura, M. J. Tocci, G. Limjuco, J. Chin, P. Cameron, A. G. Hillman, N. A. Chartrain, J. A. Schmidt, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86 (1989) 5227 - 5231, ja R. A. Black, S. R. Kronheim, P. R. Sleath, *FEBS Let.* 247 (1989) 386 - 391). Sen lisäksi, että IL-1ß toimii yhtenä kehon varhaisista vasteista vammoihin ja tulehduksiin, sen on ehdotettu toimivan myös useiden erilaisten sairauksien, kuten nivelreuman, luu-niveltulehduksen, tulehduksisen suolisairauden, sepsiksen, akuutin ja kroonisen myelinisoituneen leukemian ja osteoporoosin, välittäjänä (C. A. Dinarello, S. M. Wolff, *New Engl. J. Med.* 328 (1993) 106). Luonnossa esiintyvää IL-1ß reseptoriantagonistia on käytetty osoitettaessa IL-1ß:n välittävä vaikutus useissa ihmisen

sairauksissa ja eläinmalleissa (C. H. Hannum, C. J. Wilcox, W. P. Arend, G. G. Joslin, D. J. Dripps, P. L. Heimdal, L. G. Armes, A. Sommer, S. P. Eisenberg, R. C. Thompson, *Nature* 343 (1990) 336 - 340; S. P. Eisenberg, R. J. Evans, W. P. Arend, E. Verderber, M. T. Brewer, C. H. Hannum, R. C. Thompson, *Nature* 343 (1990), 341 - 346; K. Ohlsson, P. Bjork, M. Bergenfeldt, R. Hageman, R. C. Thompson, *Nature* 348 (1990) 550 - 552; G. Wakabayashi, *FASEB* (1991) 338 - 343; R. Pacafici *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86 (1989) 2398 - 2402; ja I. Yamamoto *et al.*, *Cancer Rsh.* 49 (1989) 4242 - 4246). IL-1ß:n spesifistä roolia tulehduksissa ja vastustuskyvyn ympäristöön sopeutumisessa tukevat viimeaikaiset havainnot, että lehmärokkovirus käyttää ICE-inhibiittoria tukahduttaessaan isäntänsä tulehdusvastetta (C. A. Ray, *Cell* 69 (1992) 597 - 604).

Yhteenvetona voidaan sanoa, että useat alan ammattilaiset ovat ehdottaneet ja osoittaneet ICE-inhibiittoreiden *in vivo* käyttökelpoisuuden modifioitaessa tiettyjä IL-1ß-välitteisiä sairaustiloja. Seuraava yhteenveto ICE-tutkimuksen nykytilasta vielä tukee ICE-inhibiittoreiden tällaista käyttökelpoisuutta:

1) Julkaisussa WO 93/09 135 (julk. 11.5.1993) osoitetaan, että peptidipohjaiset asparagiinihappoaryyliasyylioksiketonit ja -aryyloksimetyyliketonit ovat tehokkaita ICE:n inhibiittoreita *in vitro*. Nämä yhdisteet inhiboivat myös spesifisesti ICE:a koko solussa (*in vivo*) niiden kyvyllä inhiboida kypsän IL-1ß:n muodostusta koko soluissa. Näillä ICE-inhibiittoreilla osoitettiin olevan käyttökelpoisuutta myös alennettaessa kuumetta ja tulehdusta/turvotusta rotissa.

2) Lymen tautia sairastavilla potilailla kehittyy joskus Lymen niveltulehdus. *B. burgdorferi*, Lymen tautia aiheuttava aine, on tehokas IL-1-synteesin kiihdytin yksitumaisilla soluilla. Miller *et al.* (L. C. miller, E. A. Lynch, S. Isa, J. W. Logan, C. A. Dinarello ja A. C. Steere, "Balance of synovial fluid IL-1ß Receptor Antagonist

and Recovery from Lyme arthritis", *Lancet* 341 (1993) 146 - 148) osoittivat, että potilailla, jotka toipuvat nopeasti Lymen niveltulehduksesta, oli IL-1-beetan ja IL-1ra:n tasapaino nivelvoiteessa IL-ra:n hyväksi. Kun tasapainoa muutettiin IL-1ß:n hyväksi, kesti sairaudesta paraneminen paljon pitempään. Päätelmä oli, että IL-1ra:n ylimäärä esti IL-1ß:n vaikutukset tutkituissa potilaissa.

3) IL-1:a on läsnä kohdekudoksissa haavaisessa paksusuolentulehduksessa ihmisissä. Mallissa IL-1ra:n anto vähensi kudoskuoliota ja tulehdussolujen määrää lynkkysuolessa. Katso F. Cominelli, C. C. Nast, B. D. Clark, R. Schindler, R. Llerena, V. E. Eysselein, R. C. Thompson ja C. A. Dinarello, "Interleukin-1 Gene Expression, Synthesis, and Effect of Specific IL-1 Receptor Blockade in Rabbit Immune Complex Colitis", *J. Clin. Investigations*, vol 86, s. 972 - 980 (1990).

4) IL-1ra tukahduttaa nivelten turpoamisen niveltulehduksen PG-APS-mallissa rotissa. Katso J. H. Schwab, S. K. Amderle, R. R. Brown, F. G. Dalldorf ja R. C. Thompson, "Pro- and Anti-Inflammatory Roles of Interleukin-1 in Recurrence of Bacterial Cell Wall-Induced Arthritis in Rats", *Infect. Immun.* 59 (1991) 4436 - 4442.

5) IL-1ra osoittaa tehoa pienessä avoimessa ihmisen nivelreumatutkimuksessa. Katso M. E. Lebsack, C. C. Paul, C. C. Bloedow, F. X. Burch, M. A. Sack, W. Chase ja M. A. Catalano, "Subcutaneous IL-1 Receptor Antagonist in Patients with Rheumatoid Arthritis", *Arth. Rheum.* 34 (1991) 545.

6) IL-1 näyttää olevan autokriininen kasvutekijä kroonisten myelinisoituneiden leukemiasolujen lisäkasvun suhteen. Sekä IL-1ra että sIL-1R inhiboivat kasvupesäkkeiden kasvua soluissa, jotka on poistettu leukemiapotilailta. Katso Z. Estrov, R. Kurzrock, M. Wetzler, H. Kantarjian, M. Blake, D. Harris, J. U. Gutterman ja M. Talpaz, "Suppression of Chronic Myelogenous Leukemia Colony Growth by Interleukin-1 (IL-1) Receptor Antagonist and Soluble IL-1 Re-

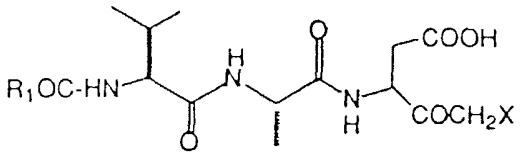
ceptors: a Novel Application for Inhibitors of IL-1 Activity", *Blood* 78 (1991) 1476 - 1484.

7) Kuten edellä kohdassa 6), mutta kroonisen myelinisoidun leukemian sijasta akuutin myelinisoidun leukemian suhteen. Katso Z. Estrov, R. Kurzrock, E. Estey, M. Wetzler, A. Ferrajoli, D. Harris, M. Blake, J. U. Gutterman ja M. Talpaz, "Inhibition of Acute Myelogenous Leukemia Blast Proliferation by Interleukin-1 (IL-1) Receptor Antaoinist and Soluble IL-1 Receptors, *Blood* 79 (1992) 1938 - 1945.

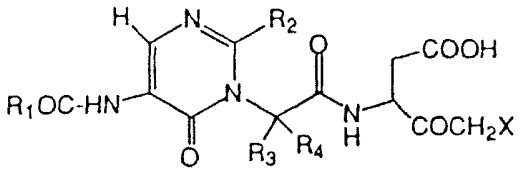
Tehokas terapia täytyy kehittää vielä kaupallisesti IL-1ß välitteisten tulehdussairauksien hoitoon. Siispä on olemassa tarve saada käyttöön sellaisia terapeuttisia aineita, joilla hoidetaan ja ehkäistään näitä sairauksia.

Kaikki tällä hetkellä hakijoiden tuntemat ICE-inhibiittorit ovat peptidipohjaisia, joilla saavutetaan etua entsyymin substraattispesifisyyden suhteen. Me kuvaamme tässä keksinnössä ei-peptidipohjaisia ICE-inhibiittoreita, erityisesti sellaisia, joissa pyrimidiini toimii tunnistuskorvikkeena P2- ja P3-aminohapoille, joita tähän asti tuli olla läsnä tehokkaissa ICE-inhibiittoreissa (katso kuvio 1). Eräs hyvin tunnettu ei-peptidi-inhibiittoreiden etu niiden peptidivastinosan suhteen on se, että *in vivo* metabolia ja tällaisten ei-peptidisten aineiden eritys vähenee suuresti johtaen siten näiden yhdisteiden parempaan hyötyosuuteen eläimissä ja ihmisissä (M. J. Humprey ja P. S. Ringrose, "Peptides and Related Drugs: A Revoew of Their Absorption, Metabolism, and Excretion", *Drug Metabolism Reviews* 17 (1986) 283 - 310. Myös J. J. Plattner ja D. W. Norbeck, "Obstacles to Drug Development from Peptide Leads", *Drug Discovery Technologies*, luku 5, s. 92 - 126 (toim. C. R. Clark ja W. H. Moos), Horwood:Chichester, Iso-Britannia, 1990.

Kuvio 1



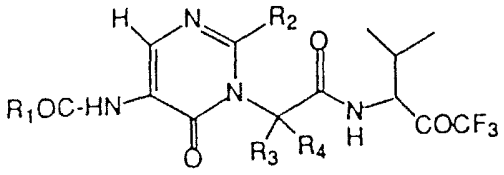
Peptidipohjainen ICE-inhibiittori
(R. Dolle *et al.*, *J. Med. Chem.* 37 (1994) 563)



Pyrimidiinipohjainen ICE-inhibiittori
(käsillä oleva keksintö)

On huomattava, että pyrimidiinipohjaisia trifluorimetyyliketoneja (kuvio 2) kuvattiin äskettäin sereeniproteaasin, elastaasin, inhibiittoreina. Koska ICE on kysteiiniproteaasi ja on sinänsä tunnettua, että trifluorimetyyliketonit ovat melko huonoja kysteiiniproteaasien inhibiittoreita (katso B. Imperialia ja R. H. Ables, *Biochemistry* 25 (1986) 3760 - 3767), on odotettavissa, että kuvion 2 mukaiset yhdisteet eivät olisi ICE:n inhibiittoreita. Lisäksi on tunnettua, että ICE vaatii asparagiinihappoketjun (-CH_2COOH) P1:ssä. Pyrimidiinit, jotka inhiboivat elastaasia (kuvio 2) sisältävät valiinisivuketjun (-$CHMe_2$). Lisäksi, kuten myöhemmin osoitetaan, eivät käsillä olevan keksinnön mukaiset pyrimidiinipohjaiset ICE-inhibiittorit (kuvio 1) inhiboi ihmisen valkosolun elastaasia ja siksi ne ovat erittäin selektiivisiä ICE:n suhteen ja ovat selvästi erilaisia kuin tunnetut elastaasi-inhibiittorit.

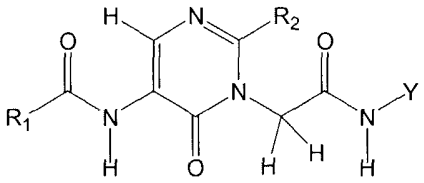
Kuvio 2



Pyrimidiinipohjainen elastaasi-inhibiittori
(Imperial Chemical Industries; EPO 528633-A1, 1993)

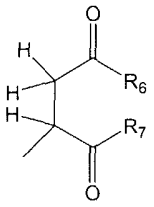
Keksinnön yhteenveto

Käsillä olevan keksinnön mukaisesti annetaan käyttöön kaavan (1) mukainen yhdiste tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola,

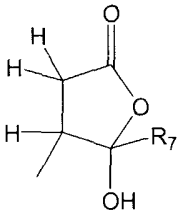


jossa

Y on



tai

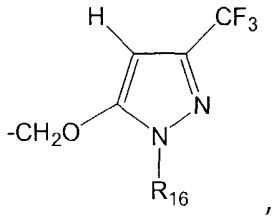


tai

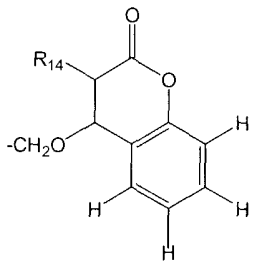
R_6 on OR_8, jossa R_8 on H tai alkyyli;

R_2 on C_1-C_6-alkyyli, fenyyli, tienyyli tai pyridinyyli,
jolloin fenyyli, tienyyli tai pyridinyyli on mahdollisesti substituoitu halogeenilla;

R_7 on H, $CH_2O(CO)_{0-1}$-fenyyli, jolloin fenyyliryhmä on mahdollisesti substituoitu halogeenilla, $CH_2OP(O)R_{14}R_{15}$,



,



joissa

R_{14} on fenyyli;

R_{15} on fenyyli;

R_{16} on fenyyli tai pyridinyyli, jolloin fenyyli tai pyridinyyli on mahdollisesti substituoitu halogeenilla; ja

R_1 on C_1-C_6-alkoksi, C_1-C_6-alkoksifenyyli tai fenyyli, joka on mahdollisesti substituoitu C_1-C_6-alkyylitiolla.

Termillä "farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat" tarkoitetaan happo- ja emäsadditiosuoloja.

Termillä "happoadditiosuolat" tarkoitetaan niitä suoloja, jotka säilyttävät vapaiden emästen biologisen tehokkuuden ja ominaisuudet ja jotka eivät ole biologisesti tai muuten ei-toivottavia, jotka muodostuvat epäorgaanisten happojen, kuten suolahapon, bromivetyhapon, rikkihapon, typpihapon, fosforihapon ja vastaavien kanssa sekä orgaanisten happojen, kuten etikkahapon, propionihapon, glykolihapon, palorypälehapon, oksaalihapon, maleiinihapon, malonihapon, meripihkahapon, fumaarihapon, viinihapon, sitruunahapon, bentsoehapon, kanelihapon, mantelihapon, metaanisulfonihapon, etaanisulfonihapon, p-tolueenisulfonihapon, salisyylihapon ja vastaavien happojen kanssa.

Termillä "emäsadditiosuolat" tarkoitetaan niitä suoloja, jotka on johdettu epäorgaanisista emäksistä, kuten natriumista, kaliumista, litiumista, ammoniumista, kalsiumista, magnesiumista, raudasta, sinkistä, kuparista, man-

gaanista, alumiinista ja vastaavista. Erityisen edullisia ovat ammonium-, kalium-, natrium-, kalsium- ja magnesium-suolat, jotka on johdettu farmaseuttisesti hyväksyttävistä orgaanisista myrkyttömistä emäksistä, joita ovat primaaristen, sekundaaristen ja tertiääristen amiinien suolat, substituoidut amiinit, kuten luonnossa esiintyvät substituoidut amiinit, sykliset amiinit ja emäksiset ioninvaihtohartsit, kuten isopropyyliamiini, trimetyyliamiini, dietyyliamiini, trietyyliamiini, tripropyyliamiini, etanoliamiini, 2-dimetyyliaminoetanoli, 2-dietyyliaminoetanoli, trimetamiini, disykloheksyyliamiini, lysiini, arginiini, histidiini, kofeiini, prokaiinit, hydrabamiini, koliini, betaiini, etyleenidiamiini, glukosamiini, metyyliglukamiini, teobromiini, puriinit, piperatsiini, piperidiini, N-etyylipiperidiini, polyamiinihartsit ja vastaavat. Erityisen edullisia orgaanisia, myrkyttömiä emäksiä ovat isopropyyliamiini, dietyyliamiini, etanoliamiini, trimetamiini, disykloheksyyliamiini, koliini ja kofeiini.

Seuraavilla tässä hakemuksessa käytetyillä termeillä on seuraavat merkitykset, jollei muuta mainita:

"Alkyyli" tarkoittaa tyydyttynyttä alifaattista hiilivetyä, joka voi olla joko suora- tai haaraketjuinen. Edullisissa ryhmissä ei ole enempää kuin noin 12 hiiliatomia ja niitä voivat olla metyyli, etyyli, propyyli jne. ja propyylin, butyylin, pentyylin, heksyylin, oktyylin, nonyylin, dekyylin, undekyylin ja dodekyylin rakenteelliset isomeerit.

"Sykloalkyyli" tarkoittaa tyydyttynyttä syklistä alifaattista hiilivetyä, jossa on vähintään 3 ja enintään 8 hiiliatomia. Edullisia ryhmiä ovat syklopropyyli, syklobutyyli, syklopentyyli, sykloheksyyli, sykloheptyyli ja syklo-oktyyli.

"Aryyli" tarkoittaa fenyyli- tai naftyylirengasta ta substituoitua fenyyli- tai naftyylirengasta, joissa yksi tai useampi vetyatomi on korvattu samalla tai erilaisella substituentilla, kuten R_1, COR_1 tai R_{25}, jossa R_{25} on H, OH,

halo, $-OC(O)R_{11}$, $-C(O)R_{11}$, $-NR_{11}C(O)R_1$, $-NR_{11}C(O)(CR_3R_4)_{2-6}R_1$, $-COOR_{11}$, $-CONR_9,R_{11}$, $R_{11}S-$, $-NR_9,R_{11}SO_2R_8$, $-SO_2NR_9,R_{11}$ nitro, syano, $-NR_{11}CONR_9,R_{11}$, joissa R_1, R_8, R_9, R_{11} ja R_{12} ovat kuten edellä on määritelty.

"Heteroaryyli" tarkoittaa substituoimatonta tai valinnaisesti substituoitua mono- tai bisyklistä rengassysteemiä, jossa on noin 5 - noin 12 hiiliatomia, ja jossa jokaisessa monosyklisessä renkaassa voi olla 0 - noin 4 heteroatomia, ja jokaisessa bisyklisessä renkaassa voi olla 0 - noin 5 heteroatomia, joita voivat olla N, O tai S, sillä edellytyksellä, että mainitut heteroatomit eivät ole vierekkäisiä happi- ja/tai rikkiatomeja ja joissa substituentit, numeroitu nollasta viiteen, voivat sijaita missä tahansa sopivassa rengassysteemin asemassa ja ne on valinnaisesti valittu substituenteista, jotka on määritelty aryylin kohdalla. Esimerkkejä tällaisista mono- ja bisyklisistä rengassysteemeistä, joita ei missään tapauksessa tule pitää käsillä olevan keksinnön piiriä rajoittavina, ovat bentsofuraani, bentsotiofeeni, indoli, bentsopyratsoli, kumariini, isokinoliini, pyrroli, tiofeeni, furaani, tiatsoli, imidatsoli, pyratsoli, triatsoli, kinoliini, pyrrollidenoni, pyrimidiini, pyridiini, pyridoni, pyratsiini, pyridatsiini, isotiatsoli, isoksatsoli ja tetratsoli.

"Aralkyyli" tarkoittaa alkyyliryhmää, joka on substituoitu aryyliradikaalilla. Esimerkkinä bentsyyli.

"Heteroaralkyyli" tarkoittaa alkyyliryhmää, joka on substituoitu heteroaryyliradikaalilla. Esimerkkinä (4-pyridyyli)metyyli.

"Alkoksi" tarkoittaa O-atomia, joka on substituoitu alkyylillä, aryylillä tai aralkyyliradikaalilla. Esimerkkeinä metoksi, etoksi, fenoksi ja bentsyylioksi.

"Halo" tarkoittaa jodia, bromia, klooria ja fluoria.

Nimitys "$(CR_3R_4)_{2-4}$" tarkoittaa alkyylisidosta, joka koostuu ainakin kahdesta mutta korkeintaan neljästä hiiliatomista, joissa mainitut hiiliatomit on toisistaan riip-

pumatta substituoitu radikaaleilla, joita kuvataan R_3 ja R_4. Esimerkkejä tällaisista sidoksista ovat, näihin kuitenkaan rajoittumatta, etyyli, propyyli, butyyli, 2-metyylietyyli-($MeHCCH_2$-), 2,2-dimetyylietyyli-(Me_2CCH_2-).

Käsillä oleva keksintö koskee myös farmaseuttista koostumusta ja kaavan I mukaisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan käyttöä lääkkeen valmistamiseksi, jota käytetään IL-1ß-proteaasivälitteisten tautitilojen tai häiriöiden hoitamiseksi tällaisen hoidon tarpeessa olevassa nisäkkäässä. Tällöin potilaalle annetaan kaavan (I) mukaisia IL-1ß-proteaan-inhibiittoreita aktiivisena aineena. Tällaisia tautitiloja ja häiriöitä ovat tulehdussairaudet, kuten aivokalvontulehdus ja korvatorven tulehdus, septinen shokki, hengitysteiden sairaudet, tulehduksiset tilat, kuten niveltulehdus, sappitiehyttulehdus, paksusuolentulehdus, aivotulehdus, maksatulehdus, haimatulehdus ja reperfuusiovammat, immuunipohjaiset sairaudet, kuten liikaherkkyys, auto-immuunisairaudet, kuten MS-tauti, luusairaudet sekä tietyt kasvaimet ja leukemiat.

Käsillä olevalla keksinnöllä on erityistä käyttökelpoisuutta IL-1ß:n *prosessoinnin moduloinnissa* nivelreuman hoitamiseksi. IL-1ß:n tasojen tiedetään kohoavan tätä tautia sairastavien potilaiden nivelvoidenesteessä. Lisäksi IL-1ß stimuloi sellaisten entsyymien synteesiä, joiden uskotaan olevan mukana tulehduksessa, kuten kollagenaasin ja PLA2:n synteesiä, ja aiheuttaa niveltuhoa, joka on hyvin samankaltainen nivelreuman kanssa, sen jälkeen, kun sitä on annettu intra-artikulaarisena injektiona eläimille.

Käytännön mukaisesti annetaan tehokas määrä käsillä olevan keksinnön mukaista yhdistettä tai sitä sisältävää koostumusta tällaisen hoidon tarpeessa olevalle tai sitä haluavalle kohteelle. Näitä yhdisteitä tai koostumuksia voidaan antaa millä tahansa tavalla riippuen spesifisestä loppukäytöstä, kuten oraalisesti, parenteraalisesti (kuten subkutaanisesti, intra-artikulaarisesti, intramuskulaarisesti ja intravenoosisesti), rektaalisesti, bukkaalisesti

(kuten sublinguaalisesti), transdermaalisesti tai intranasaalisesti. Sopivin reitti jokaisessa tapauksessa riippuu käytöstä, aktiivisesta ainesosasta ja kyseessä olevasta kohteesta. Yhdistettä tai koostumusta voidaan antaa myös hitaasti vapautuvina, depot-implanttina tai injektoitavina formulaatioina, kuten jäljempänä kuvataan täsmällisemmin.

Tavallisesti käsillä olevassa keksinnössä kuvatuissa käytöissä on edullista antaa aktiivista ainesosaa noin 0,1 - 100 mg painokiloa kohden, edullisemmin noin 0,1 - 30 mg painokiloa kohden, ja ihmisterapiassa aktiivista ainesosaa annetaan edullisesti noin 0,1 mg - noin 20 - 50 mg painokiloa kohden päivässä. Tämä anto voidaan suorittaa yhdellä kerralla, antamalla useita kertoja päivässä tai käyttämällä hitaasti vapautuvaa muotoa mahdollisimman tehokkaiden tulosten saamiseksi. Kun aktiivista ainesosaa annetaan yksittäisenä annoksena, on se edullisimmin noin 0,1 - noin 10 mg painokiloa kohden.

Näiden yhdisteiden ja koostumusten tarkka annos hoito-ohjelma riippuu välttämättä yksittäisen hoidettavan kohteen tarpeista, hoitotyypistä ja kärsimyksen tai tarpeen asteesta. Tavallisesti parenteraalisessa annossa tarvitaan alempaa annosta kuin muissa antomenetelmissä, jotka ovat enemmän riippuvaisia absorptiosta.

Käsillä olevan keksinnön lisäaspekti kohdistuu farmaseuttisiin koostumuksiin, jotka sisältävät aktiivisena ainesosana käsillä olevan keksinnön mukaista yhdistettä yhdessä farmaseuttisesti hyväksyttävän, myrkyttömän kantajan kanssa. Kuten edellä on jo mainittu, voidaan tällaiset koostumukset valmistaa parenteraalista (subkutaanista, intra-artikulaarista, intramuskulaarista tai intravenoosista) antoa varten erityisesti nestemäisten liuosten tai suspensioiden muodossa, oraalista tai bukkaalista antoa varten erityisesti tablettien tai kapseleiden muodossa, tai intranasaalista antoa varten erityisesti jauheiden, nenätippojen tai aerosolien muodossa.

Kun yhdisteitä annetaan oraalisesti (tai rektaalisesti), ne tavallisesti formuloidaan yksikköannosmuotoon, kuten tabletti, kapseli, peräpuikko tai tärkkelyskapseli. Tällaiset formulaatiot sisältävät tyypillisesti kiinteää, puolikiinteää tai nestemäistä kantajaa tai diluenttia. Esimerkkejä diluenteista ja vehikkeleistä ovat laktoosi, dekstroosi, sakkaroosi, sorbitoli, mannitoli, tärkkelykset, arabikumi, kalsiumfosfaatti, mineraaliöljy, kaakaovoi, teobromiöljy, aginaatit, tragantti, gelatiini, siirappi, metyyliselluloosa, polyoksietyleenisorbitolimonolauraatti, metyylihydroksibentsoaatti, propyylihydroksibentsoaatti, talkki ja magnesiumstearaatti.

Koostumukset voidaan valmistaa millä tahansa farmasian alalla tunnetulla menetelmällä, kuten esimerkiksi teoksessa *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17. painos (Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985) on kuvattu. Parenteraalisesti annettavat formulaatiot voivat sisältää yleisinä täyteaineina steriiliä vettä tai suolaliuosta, alkyleeniglykoleja, kuten propyleeniglykolia, polyalkyleeniglykoleja, kuten polyetyleeniglykolia, kasvisperäisiä öljyjä, hydrattuja naftaleenejä ja vastaavia. Esimerkkejä parenteraalisesssa annossa käytettävistä vehikkeleistä ovat vesi, vesipitoiset vehikkelit, kuten suolaliuos, Ringerin liuos, dekstroosiliuos ja Hankin liuos ja ei-vesipitoiset vehikkelit, kuten rasvaöljyt (kuten maissi, pellavansiemen, pähkinä ja seesami), etyylioleaatti ja isopropyylimyristaatti. Steriili suolaliuos on edullinen vehikkeli ja yhdisteet ovat riittävän vesiliukoisia ja siksi niitä voidaan saada liuoksina kaikkiin ennalta arvattaviin tarpeisiin. Vehikkeli voi sisältä pieniä määriä lisäaineita, kuten aineita, jotka parantavat liukoisuutta, isotonisuutta ja kemiallista pysyvyyttä, esimerkiksi antioksidantit, puskurit ja säilöntäaineet. Oraalisessa annossa formulaatiota voidaan parantaa lisäämällä sappisuoloja ja myös lisäämällä asyylikarnitiinejä (*Am. J. Physiol.* 251 (1986) 332). Nasaalisesti annettavat formulaatiot voivat olla kiinteitä ja ne

voivat sisältää täyteaineina esimerkiksi laktoosia tai dekstraania, tai ne voivat olla vesi- tai öljyliuoksia, joita annetaan nenätippoina tai mittasuihkeina. Bukkaalisessa annossa tyypillisiä täyteaineita ovat sokerit, kalsiumstearaatti, magnesiumstearaatti, esigelatinoitu tärkkelys ja vastaavat.

Formuloitaessa nasaalista antoa varten paranee absorptio nenän limakalvon yli pinta-aktiivisilla aineilla, joita ovat esimerkiksi glykolihappo, sappihappo, taurosappihappi, etosappihappo, desoksisappihappo ja vastaavat (katso B. H. Vickery, "LHRH and its Analogs - Contraception and Therapeutic Applications", osa 2 (toim. B. H. Vickery ja J. S. Nester), MTP Press, Lancaster, Iso-Britannia, 1987).

Keksinnön yksityiskohtainen kuvaus

Käsillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet valmistettiin käyttämällä yleisiä synteettisiä menetelmiä, joita on kuvattu kaavioissa 1, 2, 3 ja 4. Z-asparagiinihappo-α-bromimetyyliketonia (kaavio 1; kaava 1; Z = bentsyylioksikarbonyyli) käsitellään alkoholilla tai karboksyylihapolla KF:n läsnä ollessa käyttäen DMF:a liuottimena ja näin saadaan α-substituoituja Z-asparagiinihappometyyliketoneja (kaava 2). Kaavan 1 mukaisen bromidin valmistus ja sen konversio kaavan 2 mukaisiksi yhdisteiksi suoritetaan käyttämällä menetelmiä, joita A. Krantz *et al.* ovat kuvanneet (*Biochemistry* 30 (1991) 4678 - 4687). Sitten Z-ryhmä poistetaan N-terminaalisen amiinin (kaavan 3) saamiseksi hydrogenolyyttisissä olosuhteissa. Reagenssit ja olosuhteet, joita tyypillisesti käytetään suoritettaessa Z-ryhmän hydrogenolyyttinen poisto, ovat vetykaasu, ympäristön lämpötila ja ympäristön paine, 5-%:inen palladioitu hiili katalyyttinä alkoholisessa liuottimessa, esimerkiksi metanolissa, joka sisältää valinnaisesti 2 ekvivalenttia suolahappoa. Välituotteen vapaata amiinia (tai hydrokloridisuolaa, jos suolahappoa käytetään hydrogenolyysissä) ei ole tarpeen puhdistaa, joskin tämän materiaalin tulee olla kuivaa ja

alkoholitonta seuraavaa paritusreaktiota varten hyvän saannon saamiseksi. Sitten näin saatu amiini (kaava 3) kondensoidaan pyrimidiinkarboksyylihapon (kaava 4) kanssa kaavan 5 mukaisten välituotteiden saamiseksi. Yleensä on tarpeen ensin aktivoida pyrimidiinikarboksyylihappo happokloridina tai seosanhydridinä ja sitten antaa sen reagoida vapaan amiinin (tai hydrokloridisuolan) kanssa orgaanisen emäksen, esimerkiksi N-metyylimorfoliinin kanssa. Vaihtoehtoisesti pyrimidiinikarboksyylihapon paritus välituoteamiinin kanssa suoritetaan käyttämällä amidia kytkeviä reagensseja/olosuhteita, joita käytetään peptidien kytkentäkemiassa (*The Practice of Peptide Synthesis*, M. Bodanszky, Springer-Verlag, NY, 1984; *The Peptides*, vol. 1 - 3, (toim. E. Gross ja J. Meienhofer), Academic Press, NY, 1981). Jäljelle jäävä synteettinen transformointi ICE-inhibiittoreiden saamiseksi on t-butyyliesteritoiminnan hydrolyysi. Tämä suoritetaan panemalla t-butyyliesteri (kaava 5) 25-%:iseen liuokseen, jossa on trifluorietikkahappoa (TFA) metyleenikloridissa 25 °C:ssa. De-esteröinti on tavallisesti täydellinen 3 tunnin kuluessa. Haihtuvan TFA:n ja orgaanisen liuottimen poiston jälkeen saadaan asparagiinihappoa (kaava 6). Reaktion saanto on kvantitatiivinen useimmissa tapauksissa, jolloin t-butyyliesterilähtöaine on erittäin puhdasta. Jos puhdistusta tarvitaan, se voidaan suorittaa uudelleenkiteyttämällä tai kromatografisilla tekniikoilla, jotka ovat alan ammattilaisten sinänsä tuntemia. TFA:n pitoisuus voi vaihdella välillä 5 - 100 % ja muita orgaanisia liuottimia, kuten kloroformia, voidaan käyttää. TFA-metyleenikloridiliuoksen sijasta voidaan käyttää yhtä suuren tehon saamiseksi myös 3-molaarista liuosta, jossa on vedetöntä suolahappoa etyyliasetaatissa.

Kaaviossa 2 kuvataan pyrimidiinejä sisältävän aspartyylialdehydin synteesiä. Lähtöaine synteesissä on aspartyylisemikarbatsoni (kaava 7). Z-ryhmä poistetaan tavanomaisissa hydrausolosuhteissa vastaavan amiinin (kaava 8) saamiseksi. Sitten tämä yhdiste kytketään pyrimidiinihap-

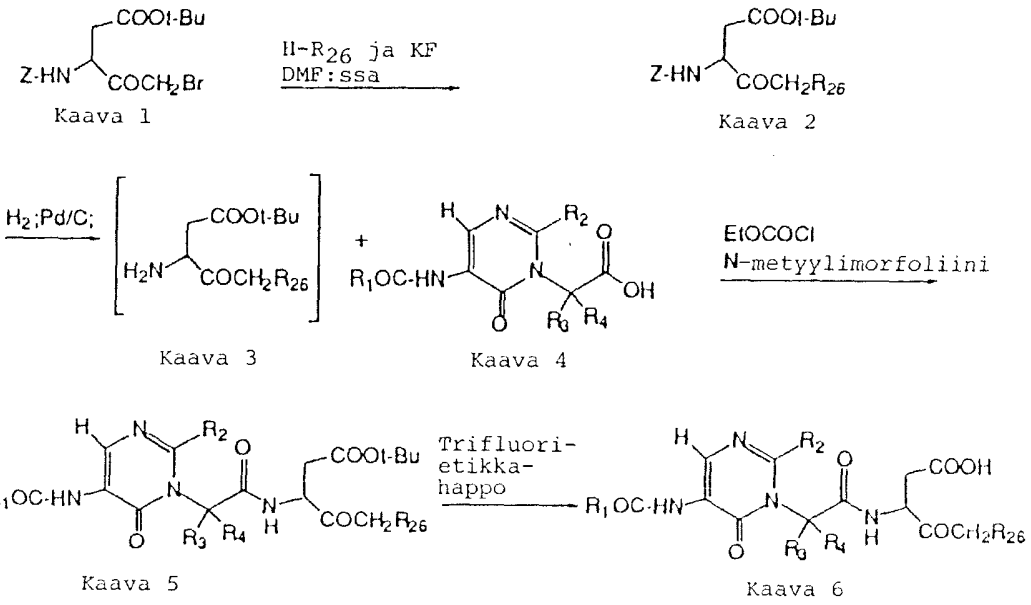
poon (kaava 4) käyttämällä kytkentäolosuhteita, jotka ovat samanlaiset kuin edellä on kuvattu. Kaksinkertaista suojauksen poistoa tarvitaan beetakarboksyylihapon (trifluorietikkahapon) ja alfa-aldehydin vapauttamiseksi (37 % vesipitoinen paraformaldehydi, etikkahappo, metanoli), jolloin saadaan kaavan 10 mukaisia yhdisteitä.

Kaaviossa 3 kuvataan vaihtoehtoista synteettistä menetelmää R_1-ryhmien saamiseksi pyrimidiini-5-aminofunktioon, joka vielä parantaa käsillä olevaa keksintöä. Pyrimidiinit joko vapaina happoinaan, estereinään tai asparagiinihappoamideinaan, jotka sisältävät Z-ryhmän (kaava 11), voidaan alistaa hydrausolosuhteisiin (samanlaisiin kuin yllä on kuvattu) vastaavien 5-aminopyrimidiinien (kaava 12) saamiseksi. Amiiniosan voidaan antaa reagoida happokloridien tai aktivoitujen karboksyylihappojen kanssa (olosuhteet samankaltaiset kuin edellä esitetyssä kaaviossa 1 kuvatut kaavan 3 ja 4 mukaisten yhdisteiden kytkennässä käytetyt olosuhteet), jolloin saadaan R_1-ryhmän sisältäviä pyrimidiinejä, joiden rakenteellinen erilaisuus on R_1:ssä.

Kaaviossa 4 kuvataan tarpeellisten pyrimidiinien synteesiä. Käytetyt lähtöaineet ovat 3-karboksietyylipyrimidiinejä, joissa on joko N-allyyli (kaava 13) tai N-asetaldehydidimetyyliasetaali (kaava 14). Alan ammattilaiset osaavat helposti päätellä näiden synteesit käyttämällä kirjallisuudessa esitettyjä reaktio-olosuhteita (C. A. Veale, *et al., J. Org. Chem.* 58 (1993) 4490 - 4493; K. A. Gupta, *et al., Ind. J. Chem.* 21B, 228; M. P. Nemeryuk, *et al., Collect. Czech. Chem. Commun.* 51 81986) 215 - 233). Etyyliesterit hydrolysoidaan vesipitoisen emäksen (LiOH H_2O-THF:ssa tai NaOH H_2O-THF:ssa) läsnä ollessa, ja näin saadaan vastaavia happoja (kaavat 15 ja 16). Karboksyylihapot puolestaan alistetaan Curtiuksen uudelleenjärjestelyyn (J. R. Pfister, *et al., Synthesis* (1983) 38; A. S. Radhakrishna, *et al., Synthesis* (1983) 538; K. Ninomiya, *et al., tetrahedron* 30 (1974) 2151), jolloin saadaan erittäin reaktiivista isosyanaattia (kaavat 17 ja 18), jota ei eristetä,

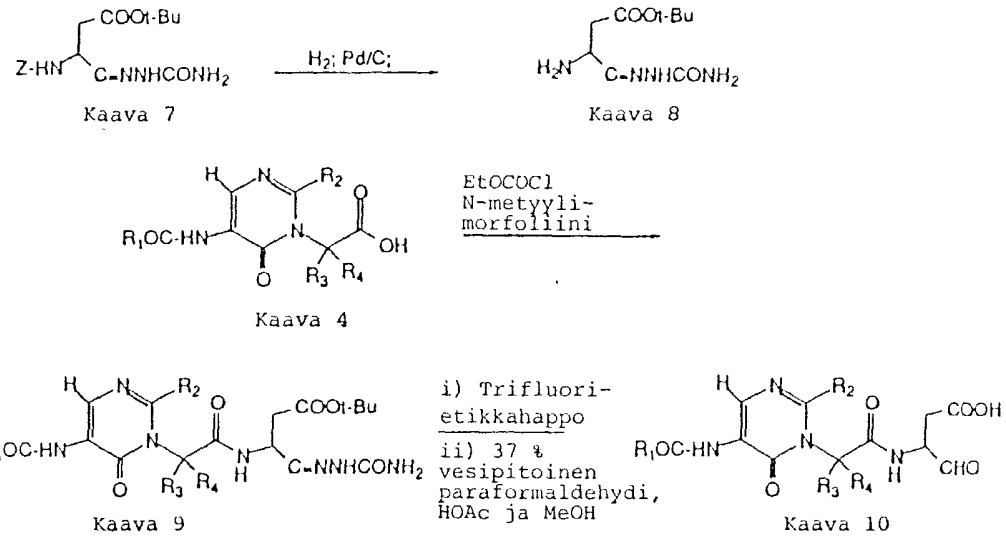
vaan sen annetaan reagoida heti alkoholin tai amiinin kanssa (katso K. Ninomiya *et al.*, *supra*). Tästä kokonaisprosessista saadaan joko karbamaattia (isosyanaatti kiinni alkoholin kanssa) tai ureaa (isosyanaatti kiinni amiinin kanssa), kuten kaavoissa 19 ja 20 esitetään. Tässä kohdassa synteesi menee eri suuntiin siinä, että jos lähtöaineena käytettiin N-allyylipyrimidiiniä (kaava 19), hapetetaan olefiini osmiumtetroksidi/N-metyylimorfoliini-N-oksidin (katso V. VanRheenen, *et al.*, *Tetrahedron Lett.* (1976) 1973 - 1976; *Organic Synthesis*, vol. 58, s. 43 - 51) ja natrium- tai kaliumperjodaatin (H. O. House, *Modern Synthetic Reactions*, W. A. Benjamin, Inc., Menlo Park, CA, 1972, s. 353 - 359) kanssa, jolloin saantona saadaan välituotealdehydiä (kaava 13 → kaava 19 → kaava 21). Vaihtoehtoisesti, jos lähtöaineena käytettiin N-asetaldehydidimetyyliasetaalia (kaava 20), käsitellän dimetyyliasetaalifunktionaalisuutta laimealla hapolla (vesipitoinen HCl) välituotealdehydin vapauttamiseksi (kaava 14 → kaava 20 → kaava 21). Kaavan 4 mukaiset hapot saadaan kaavan 21 mukaisista aldehydeistä natrium- tai kaliumkloriittivälitteisellä hapetuksella (B. S. Bal, *et al.*, *Tetrahedron* 37 (1981) 2091). Olisi huomattava, että kiinnittämällä isosyanaatti (kaavat 17 ja 18) bentsyylialkoholin kanssa, saadaan Z-karbamaattivälituotteita, jotka lopulta johtavat kaavan 11 mukaiseen yhdisteeseen (kaavio 3).

Kaavio 1



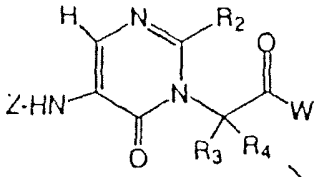
Kaava 1 Kaava 2 Kaava 3 Kaava 4 Kaava 5 Kaava 6

Kaavio 2



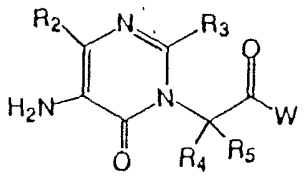
Kaava 7 Kaava 8 Kaava 4 Kaava 9 Kaava 10

Kaavio 3



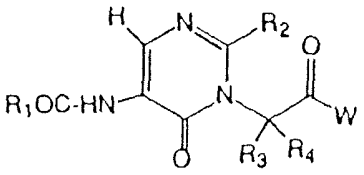
Kaava 11

H_2; Pd/C;
2 ekv. HCl

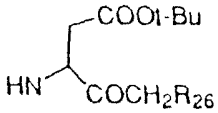


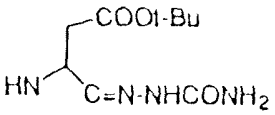
Kaava 12

R_1COCl tai
R_1CO_2COR

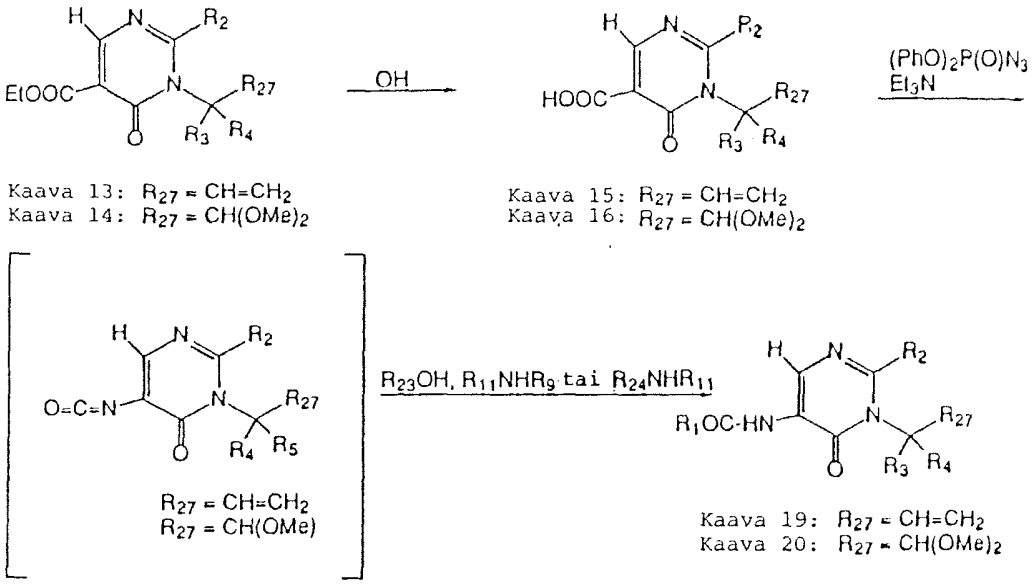


Kaava 4: W = OH

Kaava 5: W = 

Kaava 9: W = 

Kaavio 4



Kaava 13: R_{27} = CH=CH_2
Kaava 14: R_{27} = $CH(OMe)_2$

Kaava 15: R_{27} = CH=CH_2
Kaava 16: R_{27} = $CH(OMe)_2$

R_{27} = CH=CH_2
R_{27} = CH(OMe)

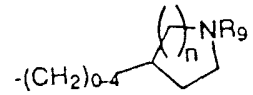
Kaava 19: R_{27} = CH=CH_2
Kaava 20: R_{27} = $CH(OMe)_2$

Kaava 21

Kaava 4

joissa

R_3 ja R_4 ovat toisistaan riippumatta H, alkyyli tai aralkyyli;

R_2 on H, alkyyli, $-(CH_2)_{0-4}$-sykloalkyyli, , , aryyli, heteroaryyli, aralkyyli, heteroaralkyyli, $-(CH_2)_{2-4}-R_{10}$,

jossa

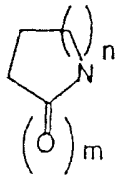
n on 1 - 3;

R_{10} on alkoksi, CH_2F, CHF_3, CF_3, CF_2CF_3, OH, $COOR_{11}$, $CONR_9R_{11}$ tai NR_9R_{11};

R_9 on toisista riippumatta H, alkyyli, aryyli, aralkyyli, heteroaryyli, heteroaralkyyli, $-CH_2CH_2O$-alkyyli tai $C(O)-R_{12}$;

R_{11} on toisista riippumatta H, alkyyli, aryyli, aralkyyli, heteroaryyli tai heteroaralkyyli;

ja kun R_9 ja R_{11} ovat yhdessä, ne voivat olla seuraavan tyyppisiä 5-, 6- tai 7-jäsenisiä renkaita



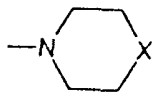
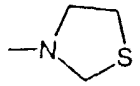
joissa n on 1 - 3 ja m on 0 - 1; ja

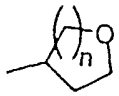
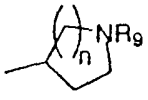
R_1 on määritelty siten, että se on

$R_{19}-R_2$, $R_{19}-R_{20}$, $R_{19}-R_{21}$, $R_{19}-NR_9R_{11}$,

jossa

R_{19} on $(CR_3R_4)_{0-4}$;

R_{20} on  ja , jossa X on O, S, NR_9

R_{21} on  ja , jossa n on 1 - 3;

$R_{22}O$-

jossa

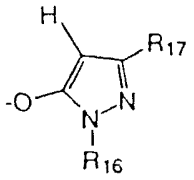
R_{22} on alkyyli, aryyli, heteroaryyli, aralkyyli, heteroaralkyyli, R_{19}-sykloalkyyli, R_{19}-R_{21}, R_{23}-R_{10}, R_{23}-R_{20}, jossa R_{23} on $(CR_3R_4)_{2-4}$;

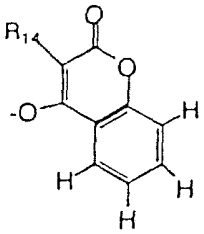
$R_9R_{11}N$- ja $R_{24}R_{11}N$-,

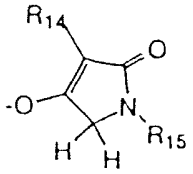
jossa

R_{24} on R_{19}-sykloalkyyli, R_{19}-R_{21}, R_{23}-R_{10}, R_{23}-R_{20}, CR_3R_4C-OOR_{11} tai $CR_3CR_4CONR_9R_{11}$,

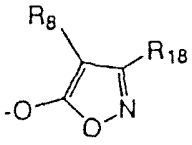
Z on kuten bentsyylioksikarbonyyliryhmän kohdalla on määritelty, W on OH-ryhmä, $HNC(-H)(CH_2COOtBu)COCH_2R_{26}$-osa tai $HNC(H)(CH_2COOtBu)C{=}NNHCONH_2$-osa, jossa R_{26} on F, $-O(CO)_{0-1}$-aryyli, $-OP(O)R_{14}R_{15}$,



,


,


tai



joissa

R_8 on toisista riippumatta H, alkyyli tai aralkyyli;

R_{14} on H, alkyyli tai aryyli;

R_{15} on H, alkyyli tai aryyli;

R_{16} on H, alkyyli, aryyli, heteroaryyli, aralkyyli tai heteroaralkyyli;

R_{17} on H, alkyyli, CF_3, CF_2CF_3, aryyli, heteroaryyli, aralkyyli, heteroalkyyli, $COOR_{11}$ tai $CONR_9R_{11}$ ja

R_{18} on H, alkyyli, CF_3, CF_2CF_3, aryyli, heteroaryyli, arylkyyli, heteroaralkyyli.

Seuraavat esimerkit kuvaavat käsillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä lisää.

Esimerkki 1

N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli-L-asparagiinihappo-2,6-diklooribentsoyylioksimetyyliketoni

Osa A: N-bentsyylioksikarbonyyli-L-asparagiinihapon bromimetyyliketoni-ß-tert-butyyliesteriä (0,3 g, 0,76 mM) liuotettiin 12 ml:aan vedetöntä DMF:a. Tähän liuokseen lisättiin jauhettua kaliumfluoridia (0,11 g, 19 mmol) ja 2,6-diklooribentsoehappoa (0,17 g, 0,91 mmol) ja reaktioseosta sekoitettiin yön yli. Liuos laimennettiin Et_2O:lla ja pestiin vedellä, vesipitoisella kyllästetyllä $NaHCO_3$:lla sekä suolavedellä ja kuivattiin ($MgSO_4$). Näin saatu ketoni puhdistettiin silikageelikromatografisesti käyttäen etyyliasetaatti/heksaania eluointiliuottimena (^1H NMR ($CDCl_3$) δ 7,36 (m, 9H), 5,90 (d, 1H), 5,20 (m, 4H), 4,67 (m, 1H), 3,00 ja 2,75 (dublettien dubletti, 1H kukin), 1,42 (s, 9H)).

Osa B: N-bentsyylioksikarbonyyli-L-asparagiinihapon 2,6-diklooribentsoyylioksimetyyliketoni-ß-tert-butyyliesteriä (1,02 g, 2 mmol, saatu edellä esitetyn osan A mukaisesti) liuotettiin absoluuttiseen etanoliin (100 ml, 4 mmol), joka sisälsi 2 ekvivalenttia 6 N vesipitoista suolahappoa (4 mmol) ja 10-%:ista palladioitua hiiltä (96 mg). Reaktioseosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa vetykaasun ilmakehässä noin 1 tunti (ohutlevykromatografointi [5 % MeOH-CH_2Cl_2] osoitti lähtöaineen häviämisen). Liuos suodatettiin ja liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin L-asparagiinihapon 2,6-diklooribentsoyylioksimetyyliketoni-ß-tert-butyyliesterin HCl-suolaa, joka käytettiin välittömästi seuraavassa reaktiossa, jota on kuvattu osassa C.

Osa C: Liuos, jossa oli 2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)etikkahappoa (771 mg, 2,05 mmol) CH_2Cl_2:ssa (10 ml), jäähdytettiin -20 °C:een ja siihen lisättiin peräkkäin isobutyylikloroformaattia (0,28 ml, 2,05 mmol) ja N-metyylimorfoliinia (0,23 ml, 2,05 mmol). Reaktioseosta sekoitettiin 15 minuuttia ja siihen lisättiin liuosta, jossa oli

asparagiinihapon 2,6-diklooribentsoyylioksimetyyliketoni-ß-tert-butyyliesterin HCl-suolaa (valmistettu edellä esitetyssä osassa B) ja sitten siihen lisättiin vielä toistamiseen N-metyylimorfoliinia (0,23 ml, 2,05 mmol). Reaktioseosta sekoitettiin 30 minuuttia ja sitten se laimennettiin EtOAc:lla, pestiin vedellä, vesipitoisella, kyllästetyllä $NaHCO_3$:lla sekä suolavedellä ja kuivattiin ($MgSO_4$). Liuottimet poistettiin tyhjössä ja tuote puhdistettiin silikageelikromatografisesti käyttämällä 40-%:ista EtOAc-heksaania eluenttina ja näin saatiin N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli-L-asparagiinihappo 2,6-diklooribentsoyylioksimetyyliketoni-ß-tert-butyyliesteriä (1,2 g, 80 %).

Osa D: Liuosta, jossa oli N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli-L-asparagiinihappo 2,6-diklooribentsyylioksimetyyliketoni-ß-tert-butyyliesteriä (valmistettu edellä esitetyssä osassa C) metyleenikloridissa, joka sisälsi 25 tilavuus-% (v/v) trifluorietikkahappoa (20 ml), sekoitettiin 2 tuntia 0 °C:ssa. Liuotin poistettiin tyhjössä ja jäännös puhdistettiin silikageelikromatografisesti, jolloin saatiin analyyttisesti puhdasta N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli-L-asparagiinihappo-2,6-diklooribentsoyylioksimetyyliketonia, matala resoluutiomassaspektri: m/z = 699 (M+H).

Esimerkki 2

N-[2-(5-tiometyylibentsoyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-2,6-diklooribentsoyylioksimetyyliketoni

Osa A: N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli-L-asparagiinihappo-5-(1-(4-kloorifenyyli)-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni-ß-tert-butyyliesteri (2,5 g, 3,0 mmol) liuotettiin absoluuttiseen etanoliin (100 ml, 4 mmol), joka sisälsi 2 ekvivalenttia 6 N vesipitoista HCl:a.

Liuoksesta poistettiin kaasu typellä ja siihen lisättiin 10-%:ista palladioitua hiiltä (300 mg). Reaktioseosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa vetykaasun ilmanpaineessa noin 5 tuntia (ohutlevykromatografointi [50 % EtOAc-heksaani; lähtöaineen R_f = 0,5; tuotteen R_f = 0,0] osoitti lähtöaineen häviämisen). Liuos suodatettiin ja liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin N-[2-(5-amino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-(4-kloorifenyyli)-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni-ß-tert-butyyliesteriä, jota käsiteltiin aseotrooppisesti tolueenin kanssa ja tätä tuotetta käytettiin ilman lisäpuhdistusta seuraavassa reaktiossa, jota kuvataan osassa B.

Osa B: Liuokseen, jossa oli N-[2-(5-amino-6-okso-2-fenyyli-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-(4-kloorifenyyli)-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni-ß-tert-butyyliesteriä (713 mg, 1,0 mmol, valmistettu edellä kuvatussa osassa A) metyleenikloridissa (30 ml), lisättiin 5 °C:ssa 4-tiometyylibentsoyylikloridia (279 mg, 1,5 mmol) ja sitten N-metyylimorfoliinia (0,5 ml, 4,5 mmol) ja 4-N,N-dimetyyliaminopyridiiniä (10 mg). Reaktioseosta sekoitettiin 2 tuntia 5 °C:ssa ja sitten sen annettiin lämmetä huoneenlämpöön. Liuos laimennettiin EtOAc:lla, pestiin vedellä, vesipitoisella, kyllästetyllä $NaHCO_3$:lla sekä suolavedellä ja kuivattiin ($MgSO_4$). Liuottimet poistettiin tyhjössä. Tuote puhdistettiin silikageelikromatografisesti käyttämällä noin 30-%:ista EtOAc-heksaania eluenttina ja näin saatiin N-[2-(5-(4-tiometyylibentsoyyliamino)-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-(4-kloorifenyyli)-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni-ß-tert-butyyliesteriä 50 %:n saannolla.

Osa C: N-[2-(5-(4-tiometyylibentsoyyliamino)-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-(4-kloorifenyyli)-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni-ß-tert-butyyliesteri

konvertoitiin vastaavaksi hapokseen, N-[2-(5-(4-tiobentsoyyliamino)-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-(4-kloorifenyyli)-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketonia käyttämällä esimerkin 1 osassa D kuvattuja olosuhteita.

Massaspektri: m/z = 787 (M+H).

Kaavioiden 1 ja 2 mukaisten menetelmien ja esimerkeissä 1 ja 2 kuvattujen menetelmien mukaisesti valmistettiin seuraavat yhdisteet.

Esimerkki 3

N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappodifenyylifosfiinioksimetyyliketoni

Massaspektri: m/z = 727 (M+H).

Esimerkki 4

N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-(4-kloorifenyyli)-3-trifluorimetyyli)-pyratsolioksimetyyliketoni

Massaspektri: m/z = 771 (M+H).

Esimerkki 5

N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(3-fenyyli)kumarinyylioksimetyyliketoni

Massaspektri: m/z = 747 (M+H).

Esimerkki 6

N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-fenyyli-3-trifluorimetyyli)pyratsoliok-simetyyliketoni

Massaspektri: m/z = 737 (M+H).

Esimerkki 7

N-[2-(5-isopropyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-fenyyli-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-fenyyli-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni

Massaspektri: m/z = 671 (M+H).

Esimerkki 8

N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(3-pyridinyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-fenyyli-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni

Massaspektri: m/z = 720 (M+H).

Esimerkki 9

N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(2-tienyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-fenyyli-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni

Massaspektri: m/z = 725 (M+H).

Esimerkki 10

N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-metyyli-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-fenyyli-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni

Massaspektri: m/z = 657 (M+H).

Esimerkki 11

N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(2-tienyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-(2-pyridinyyli)-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni

Massaspektri: m/z = 726 (M+H).

Esimerkki 12

N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(2-tienyyli)]-L-asparagiinihappo-5-(1-(4-kloorifenyyli)-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni

Massaspektri: m/z = 759 (M+H).

Esimerkki 13

N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(2-tienyyli)]-L-asparagiinihappo-2,6-diklooribentsoyylioksimetyyliketoni

Massaspektri: m/z = 687 (M+H).

Esimerkki 14

N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(2-tienyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappoaldehydi

Massaspektri: m/z = 485 (M+H).

Käsillä olevan keksinnön mukaisista yhdisteistä testattiin IL-1ß-proteaasi-inhibitioaktiivisuus seuraavien ohjeiden mukaisesti:

In vitro

Toisen kertaluvun nopeusvakiot inaktivoinnin suhteen saatiin käyttämällä entsyymimääritystä, jonka R. E. Dolle *et al.*, ovat kuvanneet julkaisussa *J. Medicinal Chemistry* 37 (1994) 781.

Esimerkkien 1 - 13 yhdisteillä on IL-1ß-proteaasi-inhibitiota (kobs/l olivat > 50.000 $M^{-1}s^{-1}$).

In vivo

In vivo inhibitio (IC_{50}) määritettiin seuraavasti:

Ihmisen monosyyttejä eristettiin heparinisoiduista leukofereesiyksiköistä, jotka saatiin yhtiöstä Biological Specialty Corporation (Lansdale, PA). Monosyytit puhdistettiin Ficoll-Hupaque (Pharmacia Fine Chemicals, Piscataway, NJ) gradienttisentrifugoinnilla ja enemmän kuin 95 % puhtaista monosyyttipopulaatioista saatiin sentrifugointihuuhtelulla. Määritys suoritettiin kaksoisnäytteillä juuri eristettyjä ihmisen monosyyttejä, joita oli viljelty suspensiossa 37 °C:ssa ja pyöritetty varovasti kartionmuotoisissa polypropyleeniputkissa (Sardstedt Inc., Princeton, NJ). Ihmisen monosyyttejä pitoisuudessa 5 x 10^6 solua per millilitra uudelleensuspendoitiin 1 ml:aan RPMI 1 640:tä (yleinen kudospuskuri yhtiöstä M. A. Bioproducts, Walkersville, MD), joka sisälsi 1 % vasikkasikiön seerumia (FCS)

(HyClone, Logan, UT) ja 50 µg/ml gentamysiiniä (Gibco, Grand Island, NY). Soluja käsiteltiin joko käsillä olevan keksinnön mukaisella yhdisteellä (eli testiyhdisteellä) tai non-inhibiittorilla (kontrolliyhdiste, tyypillisesti 0,03 % DMSO) 15 minuuttia ja sitten aktivoitiin 0,01-%:isella kiinteällä *Staphylococcus aureus* -mikrobilla (The Enzyme Center, Malden, MA) 1 tunti. Sitten soluja sentrifugoitiin ja ne uudelleensuspendoitiin 1 ml:aan kysteiiniä, metioniinivapaata RPMI-väliainetta, joka sisälsi 1 % dialysoitua FCS:a (Hyclone). Soluja esikäsiteltiin testiyhdisteellä tai kontrolliyhdisteellä 15 minuuttia, jonka jälkeen niihin lisättiin 0,01 % kiinteää *S. aureus*ta sekä 100 µCi Tran 35-S leimaa (ICN, Irvine, CA) ja soluja inkuboitiin 37 °C:ssa 1 tunti. Inkuboinnin jälkeen solut sentrifugoitiin, pestiin kerran fosfaattipuskurisuolaliuoksessa ja uudelleensuspendoitiin 1 ml:aan RPMI:a, joka sisälsi 1 % vasikkasikiön seerumia. Soluja esikäsiteltiin taas testiyhdisteellä tai kontrolliyhdisteellä 15 minuuttia ja sitten 0,01 % *S. aureus* -mikrobeilla 2 tuntia. Inkuboinnin lopussa solut sentrifugoitiin ja supernatantit säästettiin immunosaostusta varten. Solut pestiin kerran fosfaattipuskurisuolaliuoksessa ja sitten liuotettiin RIPA:aan, jatkuvaan soluväliaineeseen, joka sisälsi 2 mM fenyylimetyylisulfonyylifluoridia, 10 mM jodiassetaattia, 1 µg/ml pepstatiinia A, 1 µg/ml leupeptiiniä ja 0,5 TIU aprotiniinia.

Immunosaostuksia varten supernatantteihin lisättiin yhtä suuri tilavuus 1-%:ista kuivamaitoa RIPA-puskurissa ja 50 µl uudelleensuspendoitua proteiini-A-sefaroosi CL-4B:a (Pharmacia, Piscataway, New York) ja 1 ml 4-%:ista kuivamaitoa, joka sisälsi proteiini-A-sefaroosi CL-4B:a, solulysaatteihin ja näytteitä pyöritettiin 30 minuuttia 4 °C:ssa. Sitten helmet sentrifugoitiin alas, näytteet siirrettiin tuoreisiin putkiin ja niitä inkuboitiin yön yli 40 µg kanin ei-ihmisen IL-1ß-polyklonaalisessa vasta-aineen kanssa (Genzyme, Cambridge, MA). Sitten IL-1ß-proteiinit saostettiin 70 µl proteiini-A-sefaroosia, uudelleensuspendoitiin

60 mikrolitraan SDS-puskuria ja laitettiin 15-%:isille SGD-PAGE-geeleille. Autoradiografia suoritettiin kuivatuilla geeleillä ja radioaktiivisuuden määrä (lukemat minuutissa, cpm) määritettiin käyttämällä Beta Scope 603 analysaattoria.

Tietojen analysointi

Monosyyttien sykeleikkausmäärityksessä jokaisesta testiparametristä ajettiin kaksoiskoe. Tiedot otettiin talteen Beta Scope -analysaattorista käyttämällä tietokonetta, sitten siirrettiin VAX-systeemiin cpm-keskiarvon ja keskiarvon keskihajonnan laskemiseksi. Kun testiyhdisteitä evaluoitiin, laskettiin kypsien IL-1ß:n vapautumisen prosentuaalinen inhibitio seuraavasti:

100 x [1 - (stimuloidut solut + testiyhdiste - stimuloimattomat solut) : (stimuloidut solut + kontrolliyhdiste - stimuloimattomat solu)]

Sitten näitä prosentuaalisia inhibitioarvoja käytettiin laskettaessa IC_{50}-arvo kullekin yhdisteelle. Koska ihmisen monosyyttien sykeleikkausmäärityksessä käytetään primaarisoluja eri luovuttajista, tehtiin jokaisesta kokeesta 2 - 3 erillistä koetta käyttäen monosyyttejä 2 - 3 eri luovuttajasta.

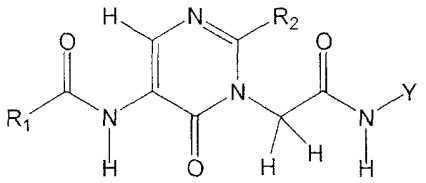
Esimerkkien 1, 6, 7 ja 9 yhdisteiden kohdalla *in vivo* IC_{50}-arvot vaihtelivat välillä noin 0,1 - noin 10 μM.

Elastaasi-inhibitio (*in vitro*)

Esimerkkien 1, 6 ja 7 yhdisteistä tutkittiin niiden kyky inhiboida elastaasia. *In vitro* määritys suoritettiin, kuten Cha on kuvannut julkaisussa *Biochem. Pharmacol.* 24 (1975) 2177 - 2185. Esimerkkien 1, 6 ja 7 yhdisteet, jotka ovat tämän ICE-inhibiittoriluokan edustajia, eivät inhiboineet elastaasia arvolla $IC_{50} \geq 10$ μM.

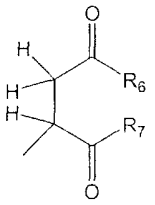
Patenttivaatimukset

1. Kaavan (I) mukainen yhdiste tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola,

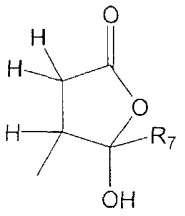


jossa

Y on



tai

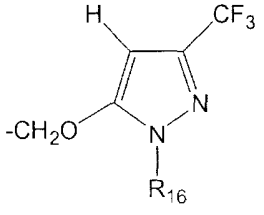


tai

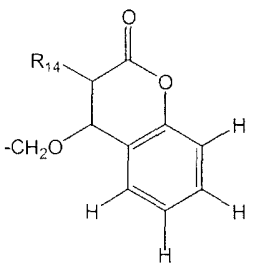
R_6 on OR_8, jossa R_8 on H tai alkyyli;

R_2 on C_1-C_6-alkyyli, fenyyli, tienyyli tai pyridinyyli,
jolloin fenyyli, tienyyli tai pyridinyyli on mahdollisesti substituoitu halogeenilla;

R_7 on H, $CH_2O(CO)_{0-1}$-fenyyli, jolloin fenyyliryhmä on mahdollisesti substituoitu halogeenilla, $CH_2OP(O)R_{14}R_{15}$,



,



joissa

R_{14} on fenyyli;

R_{15} on fenyyli;

R_{16} on fenyyli tai pyridinyyli, jolloin fenyyli tai pyridinyyli on mahdollisesti substituoitu halogeenilla; ja

R_1 on C_1-C_6-alkoksi, C_1-C_6-alkoksifenyyli tai fenyyli, joka on mahdollisesti substituoitu C_1-C_6-alkyylitiolla.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että R_2 on fenyyli, pyridinyyli tai tienyyli.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että se on valittu seuraavasta ryhmästä: N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli-L-asparagiinihappo-2,6-diklooribentsoyylioksimetyyliketoni, N-[2-(5-tiometyylibentsoyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-2,6-diklooribentsoyylioksimetyyliketoni, N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappodifenyylifosfiinioksimetyyliketoni, N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-(4-kloorifenyyli)-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni, N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(3-fenyyli)kumariinyylioksimetyyliketoni, N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(4-fluorifenyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)-asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-fenyyli-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni, N-[2-(5-isopropyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-fenyyli-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-fenyyli-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni, N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(3-pyridinyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-fenyyli-3-

trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni, N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(2-tienyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-fenyyli-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni, N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-metyyli-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-fenyyli-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni, N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(2-tienyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappo-5-(1-(2-pyridinyyli)-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni, N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(2-tienyyli)]-L-asparagiinihappo-5-(1-(4-kloorifenyyli)-3-trifluorimetyyli)pyratsolioksimetyyliketoni, N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(2-tienyyli)]-L-asparagiinihappo-2,6-diklooribentsoyylioksimetyyliketoni, N-[2-(5-bentsyylioksikarbonyyliamino-6-okso-2-(2-tienyyli)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyyli)asetoyyli]-L-asparagiinihappoaldehydi.

4. Farmaseuttinen koostumus, tunnettu siitä, että se käsittää minkä tahansa patenttivaatimuksen 1 - 3 mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa ja farmaseuttisesti hyväksyttävää kantajaa.

5. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1 -3 mukaisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan käyttö lääkkeen valmistuksessa, joka lääke on tarkoitettu interleukiini-1β-proteaasiaktiivisuuden inhiboimiseksi tällaisen hoidon tarpeessa olevassa nisäkkäässä.

6. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1 - 3 mukaisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan käyttö lääkkeen valmistamiseksi, joka on tarkoitettu sairauksien tai häiriöiden hoitamiseksi tai ehkäisemiseksi, jotka valitaan tarttuvien tautien, hengitystiesairauksien, tulehdustilojen, immuuniperäisten sairauksien, autoimmuunisairauksien, luusairauksien, kasvainten ja leukemioiden joukosta, sellaisen hoidon tarpeessa olevassa nisäkkäässä.

7. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1 - 3 mukaisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan käyttö lääkkeen valmistamiseksi, joka on tarkoitettu sairauksien tai häiriöiden hoitamiseksi ja ehkäisemiseksi, jotka valitaan aivokalvontulehduksen, korvatorven tulehduksen, septisen sokin, niveltulehduksen, sappitiehyttulehduksen, paksusuolitulehduksen, aivotulehduksen, endokeroliitin, hepatiitin, haimatulehduksen, reperfuusiovammojen, liikaherkkyyden, MS-taudin, nivelreuman, nivelrikon, tulehduksellisen suolistosairauden, verenmyrkytyksen, akuutin myelogeenisen leukemian, kroonisen myelogeenisen leukemian, osteoporoosin ja haavaisen paksusuolitulehduksen joukosta, sellaisen hoidon tarpeessa olevassa nisäkkäässä.

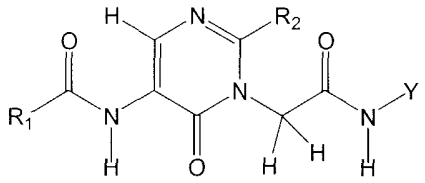
8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen käyttö, tunnettu siitä, että sairaus tai häiriö on septinen sokki, nivelreuma, nivelrikko, tulehduksellinen suolistosairaus, haimatulehdus tai haavainen paksusuolitulehdus.

9. Kaavan (I) mukainen yhdiste käytettäväksi terapeuttisena aineena.

112943

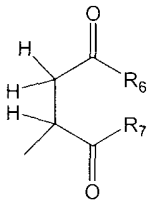
Patentkrav

1. Förening enligt formel (I) eller dess farmaceutiskt godtagbara salt

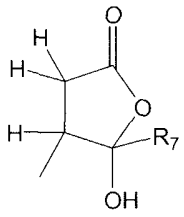


vari

Y är



eller

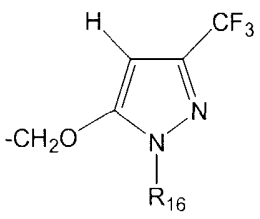


eller

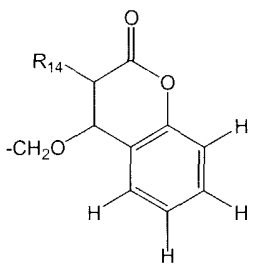
R_6 är OR_8, vari R_8 är H eller alkyl;

R_2 är C_1-C_6-alkyl, fenyl, tienyl eller pyridinyl, varvid fenyl, tienyl eller pyridinyl har eventuellt substituerats med halogen;

R_7 är H, $CH_2O(CO)_{0-1}$-fenyl, varvid fenylgruppen eventuellt har substituerats med halogen, $CH_2OP(O)R_{14}R_{15}$,



,



vari

R_{14} är fenyl;

R_{15} är fenyl;

R_{16} är fenyl eller pyridinyl, varvid fenyl eller pyridinyl eventuellt har substituerats med halogen;

R_1 är C_1-C_6-alkoxi, C_1-C_6-alkoxifenyl eller fenyl, som eventuellt har substituerats med C_1-C_6-alkyltio.

2. Förening enligt patentkrav 1, kännetecknad av att R_2 är fenyl, pyridinyl eller tienyl.

3. Förening enligt patentkrav 1, kännetecknad av att den har valts från följande grupp: N-[2-(5-bensyloxikarbonylamino-6-oxo-2-(4-fluorfenyl)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyl)acetoyl-L-asparaginsyra-2,6-diklorbensoyloximetylketon, N-[2-(5-tiometylbensoylamino-6-oxo-2-(4-fluorfenyl)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyl)acetoyl]-L-asparaginsyra-2,6-diklorbensoyloximetylketon, N-[2-(5-bensyloxikarbonylamino-6-oxo-2-(4-fluorfenyl)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyl)acetoyl]-L-asparaginsyradifenylfosfinoximetylketon, N-[2-(5-bensyloxikarbonylamino-6-oxo-2-(4-fluorfenyl)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyl)acetoyl]-L-asparaginsyra-5-(1-(4-klorfenyl)-3-trifluormetyl)pyrazoloximetylketon, N-[2-(5-bensyloxikarbonylamino-6-oxo-2-(4-fluorfenyl)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyl)acetoyl]-L-asparaginsyra-5-(3-fenyl)kumarinyloximetylketon, N-[2-(5-bensyloxikarbonylamino-6-oxo-2-(4-fluorfenyl)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyl)acetoyl]-L-asparaginsyra-5-(1-fenyl-3-trifluormetyl)pyrazoloximetylketon, N-[2-(5-isopropyloxikarbonylamino-6-oxo-2-fenyl-1,6-dihydro-1-pyrimidinyl)acetoyl]-L-asparaginsyra-5-(1-fenyl-3-trifluormetyl)pyrazoloximetylketon, N-[2-(5-bensyloxikarbonylamino-6-oxo-2-(3-pyridinyl)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyl)acetoyl]-L-asparaginsyra-5-(1-fenyl-3-trifluormetyl)-pyrazoloximetylketon, N-[2-(5-bensyloxikarbonylamino-6-oxo-2-(2-tienyl)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyl)acetoyl]-L-asparaginsyra-5-(1-fenyl-3-trifluormetyl)pyrazoloximetylketon, N-[2-(5-bensyloxikarbonylamino-6-oxo-2-metyl-1,6-dihydro-1-pyrimidinyl)acetoyl]-L-asparaginsyra-5-(1-fenyl-

3-trifluormetyl)pyrazoloximetylketon, N-[2-(5-bensyloxikarbonylamino-6-oxo-2-(2-tienyl)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyl)acetoyl]-L-asparaginsyra-5-(1-(2-pyridinyl)-3-trifluormetyl)pyrazoloximetylketon, N-[2-(5-bensyloxikarbonylamino-6-oxo-2-(2-tienyl)]-L-asparaginsyra-5-(1-(4-klorfenyl)-3-trifluormetyl)pyrazoloximetylketon, N-[2-(5-bensyloxikarbonylamino-6-oxo-2-(2-tienyl)]-L-asparaginsyra-2,6-diklorbensoyloximetylketon, N-[2-(5-bensyloxikarbonylamino-6-oxo-2-(2-tienyl)-1,6-dihydro-1-pyrimidinyl)acetoyl]-L-asparaginsyraaldehyd.

4. Farmaceutisk komposition, kännetecknad av att den omfattar en förening enligt något av patentkraven 1-3 eller dess farmaceutiskt godtagbara salt och en farmaceutisk godtagbar bärare.

5. Användning av en förening enligt något av patentkraven 1 - 3 eller dess farmaceutiskt godtagbara salt vid framställning av ett läkemedel, vilket läkemedel är avsett för inhibering av interleukin-1β-proteasaktivitet hos ett däggdjur som är i behov av dylik vård.

6. Användning av en förening enligt något av patentkraven 1-3 eller dess farmaceutiskt godtagbara salt vid framställning av ett läkemedel, som är avsett för vård eller förebyggande av sjukdomar eller störningar, som väljs bland smittosamma sjukdomar, luftvägssjukdomar, inflammationstillstånd, immunhärstammande sjukdomar, autoimmunsjukdomar, bensjukdomar, tumörer och leukemier, hos ett däggdjur som är i behov av dylik vård.

7. Användning av en förening enligt något av patentkraven 1 - 3 eller dess farmaceutiskt godtagbara salt vid framställning av ett läkemedel, som är avsett för vård och förebyggande av sjukdomar eller störningar, som väljs bland hjärnhinneinflammation, örontrumpetinflammation, septisk chock, ledinflammation, gallgängsinflammation, tjocktarmsinflammation, hjärninflammation, endokerolit, hepatit, bukspottkörtelinflammation, reperfusionskador, överkänslighet, MS-sjukdom, reumatoid artrit, artros, in-

flammatorisk tarmsjukdom, blodförgiftning, akut myelogenisk leukemi, kronisk myelogenisk leukemi, osteoporos och ulcerös kolit, hos ett däggdjur som är i behov av dylik vård.

8. Användning enligt patentkrav 7, k ä n n e t e c k n a d av att sjukdomen eller störningen är septisk chock, reumatoid artrit, artros, inflammatorisk tarmsjukdom, bukspottkörtelinflammation eller ulcerös kolit.

9. Förening enligt formel (I) för användning som ett terapeutiskt medel.