

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
8. April 2010 (08.04.2010)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2010/037536 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

A61P 33/06 (2006.01) A61P 33/02 (2006.01)
A61K 31/341 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/381 (2006.01) A61P 19/10 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01) A61P 19/02 (2006.01)
C07D 307/66 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
C07D 333/38 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2009/007025

(22) Internationales Anmeldedatum:
30. September 2009 (30.09.2009)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2008 049 767.3
30. September 2008 (30.09.2008) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT WÜRZBURG [DE/DE]; Sanderring 2, 97070 Würzburg (DE). TECHNISCHE UNIVERSITÄT CAROLO-WILHELMINA ZU BRAUNSCHWEIG [DE/DE]; Po-ckelsstrasse 14, 38106 Braunschweig (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHIRMEISTER, Tanja [DE/DE]; Auwaldstrasse 114, 79110 Freiburg (DE). SCHMUCK, Carsten [DE/DE]; Gerbrunner Weg 1, 97074 Würzburg (DE). MACHON, Uwe [DE/DE]; Dreikronenstrasse 15, 97082 Würzburg (DE). LANGOLF, Sebastian [DE/DE]; Leistenstrasse 20, 97082

Würzburg (DE). BAUMANN, Knut [DE/DE]; Lübeck-strasse 46, 38108 Braunschweig (DE). ROHRER, Sebas-tian, G. [DE/DE]; Annastrasse 9, 97072 Würzburg (DE).

(74) Anwälte: ENGELHARD, Markus et al.; Boehmert & Boehmert, Hollerallee 32, 28209 Bremen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)

(54) Title: N-PROTECTED GUANIDINE-SUBSTITUTED FURANS, THIOPHENES, AND PYRROLS AS CYSTEINE PRO-TEASE INHIBITORS

(54) Bezeichnung : N-GESCHÜTZTE GUANIDIN-SUBSTITUIERTE FURANE, THIOPHENE UND PYRROLE ALS CY-STEIN-PROTEASE-INHIBITOREN

(57) Abstract: The present invention relates to N-protected guanidine-substituted furans, thiophenes, and pyrrols, to the use thereof as cysteine protease inhibitors, to pharmaceutical compositions containing said compounds, and to the use thereof for the treatment of autoimmune diseases, parasitic diseases, and cancer.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft N-geschützte Guanidin-substituierte Furane, Thiophene und Pyrrole, ihre Verwendung als Cystein-Protease-Inhibitoren, pharmazeutische Zusammensetzungen, die diese Verbindungen enthalten, so-wie ihren Einsatz zur Behandlung von Autoimmunkrankheiten, parasitären Krankheiten und Krebs.



WO 2010/037536 A1

N-geschützte Guanidin-substituierte Furane, Thiophene und Pyrrole als Cystein-Protease-Inhibitoren

Die vorliegende Erfindung betrifft N-geschützte Guanidin-substituierte Furane, Thiophene und Pyrrole, ihre Verwendung als Cystein-Protease-Inhibitoren, pharmazeutische Zusammensetzungen, die diese Verbindungen enthalten, sowie ihren Einsatz zur Behandlung von Autoimmunkrankheiten, parasitären Krankheiten und Krebs.

Cystein-Proteasen sind bei Pflanzen, Bakterien, Viren, Pilzen, Protozoen, Würmern und bei Säugetieren, also auch beim Menschen, weit verbreitet [Otto H.H. und Schirmeister T. *Chem. Rev.* 1997, 97, 133-171]. Sie sind charakterisiert durch eine so genannte katalytische Triade bestehend aus Cystein, Histidin und Aspartat, die das aktive Zentrum des Enzyms bildet. Beim Menschen sind Cystein-Proteasen bei einer Vielzahl von physiologischen und pathophysiologischen Prozessen beteiligt und nicht nur, wie zunächst angenommen wurde, für den unspezifischen Proteinabbau in der Zelle zuständig. Die Mehrzahl der humanen Cystein-Proteasen gehört zum Clan CA (C für Cystein), der noch in die Familie C1 (lysosomale Cathepsine) und die Familie C2 (cytoplasmatische Calpaine) unterteilt wird.

Durch Überexpression oder Fehlregulation der Proteasen (insbesondere der hochaktiven lysosomalen Cathepsine) kann es zu unerwünscht hohen Aktivitäten dieser Enzyme und damit zum Abbau körpereigener Strukturen und möglicherweise pathologischen Zuständen kommen. Die Ursachen der Überexpression sind weitestgehend ungeklärt und sind Gegenstand intensiver Forschung. Zum Beispiel wurden in Tumorgewebe erhöhte Cathepsin B-Expression und -Sekretion nachgewiesen, was auf eine Rolle dieses Enzyms bei der Tumordinvasion und der Metastasierung hindeutet [Frosch B.A., Berquin I., Emmert-Buck M.R., Moin K. und Sloane B.F. *Apmis* 1999, 107, 28-37].

Cathepsin B und L sind ubiquitär im menschlichen Körper vertreten, doch wurden in den letzten Jahren auch gewebe- und zellspezifische Cathepsine, wie Cathepsin K in den Osteoklasten, Cathepsin S in peripheren, antigen-präsentierenden Zellen oder Cathepsin W in natürlichen Killerzellen, identifiziert [Bromme D. und Kaleta J. *Curr. Pharm. Design* 2002, 8, 1639-1658].

Bei Parasiten spielen Cystein-Proteasen nicht nur für die Invasion des Wirts und die Verbreitung innerhalb desselben unter Umgehung seines Immunsystems eine wichtige Rolle. Die Erreger der Malaria, die Plasmodien, ernähren sich z.B. vom Proteinanteil des menschlichen Hämoglobins und bauen diesen mit Hilfe von Falcipainen ab.

Protease	(Patho-)physiologische Bedeutung	Referenzen
Cathepsin B (human)	Krebs, Arthritis, Osteoarthritis	1) Herszényi L., Farinati F., Cardin R., István G., Molnár L.D., Hritz I., De Paoli M., Plebani M. und Tulassay Z. <i>BMC Cancer</i> 2008, 8, 194 2) Frlan R. und Gobec S. <i>Curr Med Chem.</i> 2006, 13, 2309-27 3) Baici A., Lang A., Zwicky R. und Müntener K. <i>Semin Arthritis Rheum.</i> 2005, 34, 24-28 4) Yan S. und Sloane B.F. <i>Biol Chem.</i> 2003, 384, 845-854
Cathepsin L (human)	Krebs, Arthritis, Osteoarthritis	1) Herszényi L., Farinati F., Cardin R., István G., Molnár L.D., Hritz I., De Paoli M., Plebani M. und Tulassay Z. <i>BMC Cancer</i> 2008, 8, 194 2) Solau-Gervais E., Zerimech F., Lemaire R., Fontaine C., Huet G. und Flipo R.M. <i>Scand J Rheumatol.</i> 2007, 36, 373-377
Cathepsin K (human)	Osteoporose, Knochentumore	1) Stoch S.A. und Wagner J.A. <i>Clin Pharmacol Ther.</i> 2008, 83, 172-176 2) Husmann K., Muff R., Bolander M.E., Sarkar G., Born W. und Fuchs B. <i>Mol Carcinog.</i> 2008, 47, 66-73
Cathepsin S (human)	Immunmodulation, Kardiovaskuläre Erkrankungen, Obesitas	1) Gupta S., Singh R.K., Dastidar S. und Ray A. <i>Expert Opin Ther Targets</i> 2008, 12, 291-299 2) Taleb S. und Clément K. <i>Clin Chem Lab Med.</i> 2007, 45, 328-332
Calpaine (human)	Katarakt, traumatische Gehirnverletzungen; Alzheimer, Typ-2-Diabetes, Ischämie, Muskuläre Dystrophie	1) Wu H.Y., Tomizawa K. und Matsui H. <i>Acta Med Okayama</i> 2007, 61, 123-137 2) Raynaud F. und Marcilhac A. <i>FEBS J.</i> 2006, 273, 3437-3443 3) Carragher N.O. <i>Curr Pharm Des.</i> 2006, 12, 615-638
Falcipain 2 und 3 (<i>Plasmodium falciparum</i>)	Malaria	1) Rosenthal P.J. <i>Int J Parasitol.</i> 2004, 34, 1489-1499 2) Blackman M.J. <i>Cell Microbiol.</i> 2008 Jun 16. [Epub ahead of print]
Rhodesain, tbCatB, Cruzain	Afrikanische Schlafkrankheit,	1) Costales J. und Rowland E.C. <i>J Parasitol.</i> 2007, 93.

u.a. trypanosomale Cystein-Proteasen (<i>Trypanosoma brucei</i> und <i>cruzi</i>)	Chagas-Krankheit	1350-1359 2) Lakhdar-Ghazal F., Blonski C., Willson M., Michels P. und Perie J. <i>Curr Top Med Chem.</i> 2002, 2, 439-456 3) Lalmanach G., Boulangé A., Serveau C., Lecaille F., Scharfstein J., Gauthier F. und Authié E. <i>Biol Chem.</i> 2002, 383, 739-749 4) Caffrey C.R., Scory S. und Steverding D. <i>Curr Drug Targets</i> 2000, 1, 155-162
Leishmania-Cystein-Proteasen (versch. Leishmania-Species)	Leishmaniosen	Mottram J.C., Coombs G.H. und Alexander J. <i>Curr Opin Microbiol.</i> 2004, 7, 375-81
Andere Calpain- und Cathepsin-ähnliche Cystein-Proteasen aus Parasiten	parasitäre Infektionen	1) Knox D.P. <i>Parasite Immunol.</i> 2007, 29, 57-71 2) DuBois K.N., Abodeely M., Sajid M., Engel J.C. und McKerrow J.H. <i>Parasitol Res.</i> 2006, 99, 313-316 3) Ohta N., Kumagai T., Maruyama H., Yoshida A., He Y. und Zhang R. <i>Parasitol Int.</i> 2004, 53, 175-181

Tabelle 1: Ausgewählte Cystein-Proteasen und ihre (patho-)physiologische Bedeutung.

Die meisten Inhibitoren von Cystein-Proteasen wurden gemäß dem klassischen Substrat-basierten Prinzip für die Entwicklung von Proteasen synthetisiert. Sie haben generell eine reaktive (bei Cystein-Proteasen ist dies eine elektrophile) Kopfgruppe, ein sog. „warhead“, der mit einer Peptidkette verknüpft ist. Der Peptidteil ist die Erkennungssequenz für die entsprechende Protease und entspricht entweder der eines bevorzugten Substrats oder der eines natürlich vorkommenden peptidischen Inhibitors dieser Protease. Die elektrophile Kopfgruppe soll mit dem Cysteinat im aktiven Zentrum reagieren und die katalytische Fähigkeit des Enzyms blockieren. Bei den meisten Inhibitoren kommt es dabei zu einer kovalenten Bindung an das Enzym.

Da Peptide als Arzneistoffe schlecht applizierbar sind und auch schnell von hydrolytischen Enzymen gespalten werden, wurde lange Zeit die Entwicklung von peptidomimetischen Inhibitoren vorangetrieben. Hierbei wird die Peptidkette z.B. durch Heterozyklen rigidisiert oder es werden unnatürliche Aminosäuren eingebaut, die zu einer besseren Stabilität gegen den hydrolytischen Abbau führen sollen.

Bislang wurden zwar sehr viele peptidische und immer mehr peptidomimetische Wirkstoffe synthetisiert, es sind jedoch nur vergleichbar wenige nicht-peptidische Wirkstoffe bekannt [Schirmeister T. und Käßler U. *Mini Rev. Med. Chem.* 2003, 3, 361-373].

Zu den irreversiblen Inhibitoren dieser Gruppe gehören die 3-Chlor-4-carboxamido-6-arylpyridazine, die gegen das „interleukin converting enzyme“ (ICE, Caspase-1) gerichtet sind. Man vermutet, dass sie durch nukleophile Substitution des Chloratoms in Position 3 des Pyridazinrings durch das Thiolat des aktiven Zentrums wirken. Auch das als Hemmstoff der Alkoholdehydrogenase bekannte und zum Alkoholentzug eingesetzte Disulfiram wurde als Inhibitor der Cystein-Proteasen Caspase 1 und 3 identifiziert. Disulfiram bildet mit dem Cystein im aktiven Zentrum ein gemischtes Disulfid.

Durch ein Screening wurden Homophthalimide als Inhibitoren der 3C-Protease des humanen Rhinovirus (HRV) identifiziert. Eine kovalente Bindung wurde massenspektroskopisch im Verhältnis 1:1 (Enzym:Inhibitor) nachgewiesen.

Organotellur-(IV)-Verbindungen wurden als selektive, irreversible Inhibitoren von Papain und Cathepsin B (im Gegensatz zu Serin-, Aspartat- und Metalloproteasen) identifiziert, was durch eine Oxidation des aktiven Zentrums der beiden Proteasen erklärt werden kann. Durch Thiolzusatz kann die katalytische Aktivität wieder hergestellt werden.

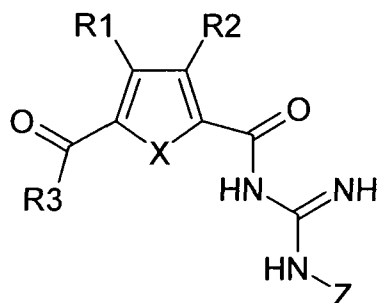
Ähnlich wirken auch die Stickstoffmonoxid-Donatoren wie *S*-Nitrosoglutathion (GSNO) oder *S*-Nitroso-*N*-acetylpenicillamin (SNAP). Neben der bekannten *S*-Nitrosylierung kommt es zur Ausbildung eines gemischten Disulfids zwischen dem Thiol des aktiven Zentrums und Glutathion bzw. *N*-Acetylpenicillamin. Auch hier kann die Wirkung durch Zusatz von Thiolen aufgehoben werden. Verbindungen wie NOR-1 oxidieren den Cysteinrest im aktiven Zentrum dagegen zur Sulfin- bzw. Sulfonsäure. Hier ist nur eine teilweise Regeneration mit Thiolen möglich.

Zu nicht-peptidischen, reversiblen Inhibitoren gibt es nur sehr wenige Publikationen. Diese betreffen Cathepsin K-Inhibitoren vom Biaryl-Typ [Robichaud J., Oballa R., Prasit P., Falguyret J.P., Percival M.D., Wesolowski G., Rodan S.B., Kimmel D., Johnson C., Bryant C., Venkatraman S., Setti E., Mendonca R. und Palmer J.T. *J Med Chem.* 2003, 46, 3709-3727], die sich von peptidischen Nitrilen ableiten, sowie andere Cyanamid-basierte Inhibitoren von Cathepsin K und L [Falguyret J.P., Oballa R.M., Okamoto O., Wesolowski G., Aubin Y., Rydzewski R.M., Prasit P., Riendeau D., Rodan S.B. und Percival M.D. *J Med Chem.* 2001, 44, 94-104]. Auch diese Inhibitoren gehen zwar eine reversible, aber trotzdem kovalente Bindung zu den Ziel-Enzymen ein.

Es war folglich eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, neue nicht-peptidische, reversible Cystein-Protease-Inhibitoren bereit zu stellen. Diese Inhibitoren sollen insbesondere zum Einsatz als Pharmazeutika zur Behandlung von Krankheiten geeignet sein, bei denen

spezifische Cystein-Proteasen eine Rolle spielen, wie z.B. parasitäre Krankheiten, Autoimmunkrankheiten und Krebs.

Die Aufgaben der vorliegenden Erfindung werden gelöst durch die Verwendung einer Verbindung mit der Formel



A

als Cystein-Protease-Inhibitor,

wobei X O oder S ist,

R₁ und R₂ unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe, umfassend H, substituierte und nicht-substituierte Alkyle, Aryle, Alkyl-Aryle, und Aryl-Alkyle,

R₃ ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend substituierte oder nicht-substituierte Alkyle, Aryle, Alkyl-Aryle, und Aryl-Alkyle, und

Z ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend t-Butoxycarbonyl (Boc), Benzyloxycarbonyl (Cbz), 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) und andere Acyl-Reste.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist X O, R₁ und R₂ sind H, und R₃ ist ein substituiertes Aryl, Alkyl-Aryl oder Aryl-Alkyl.

In einer Ausführungsform ist die Verbindung A eine Verbindung mit einer der Strukturformeln 11-16 (siehe Tabelle 2).

In einer Ausführungsform ist die Cystein-Protease eine Cystein-Protease, die einem Organismus, ausgewählt aus der Gruppe, umfassend *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi* und Leishmanien, entstammt.

In einer anderen Ausführungsform ist die Cystein-Protease eine humane Cystein-Protease. Vorzugsweise ist die humane Cystein-Protease ausgewählt aus der Gruppe, umfassend Calpaine und Cathepsine B, L, K, S, F, X.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung einer oben definierten Verbindung A zur Behandlung von Krankheiten.

Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung einer oben definierten Verbindung A zur Behandlung von Krankheiten ausgewählt aus der Gruppe, umfassend Malaria, Schlafkrankheit, Chagas-Krankheit, Leishmaniosen, Krebs, Osteoporose, Osteoarthritis, rheumatoide Arthritis und Alzheimer.

Ein anderer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung einer oben definierten Verbindung A zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krankheiten. Vorzugsweise handelt es sich bei besagten Krankheiten um eine Krankheit ausgewählt aus der Gruppe, umfassend Malaria, Schlafkrankheit, Chagas-Krankheit, Leishmaniosen, Krebs, Osteoporose, Osteoarthritis, rheumatoide Arthritis und Alzheimer.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft eine pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend eine oben definierte Verbindung A zusammen mit geeigneten Zusatz- oder Hilfsstoffen.

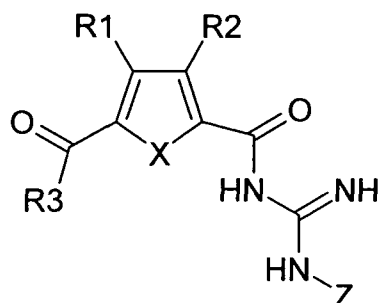
Vorzugsweise liegt hierbei die oben definierte Verbindung A in Form einer Depotsubstanz oder als Vorläufer zusammen mit einer geeigneten, pharmazeutisch verträglichen Verdünnungslösung oder Trägersubstanz vor.

Besonders bevorzugt sind pharmazeutische Zusammensetzungen, in denen die Verbindung in einer pharmazeutisch wirksamen Menge vorliegt.

Erfindungsgemäß kann die pharmazeutische Zusammensetzung in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Tropflösungen, Suppositorien, Injektions- oder Infusionszubereitungen zur peroralen, rektalen oder parenteralen Verwendung vorliegen. Solche Darreichungsformen und deren Herstellung sind dem Fachmann bekannt.

Die Aufgaben der vorliegenden Erfindung werden ebenfalls gelöst durch eine oben definierte Verbindung A zur Verwendung als Cystein-Protease-Inhibitor oder zur Behandlung von Krankheiten.

Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin eine Verbindung mit der Formel



A

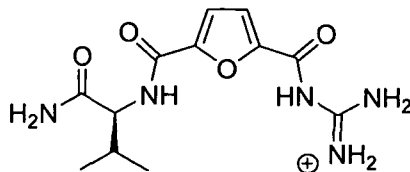
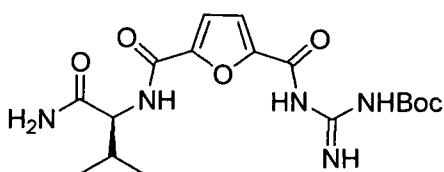
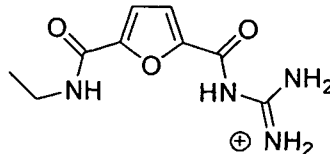
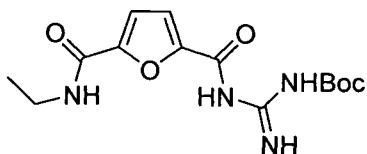
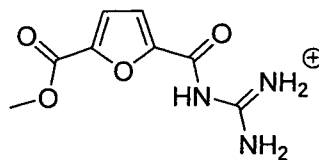
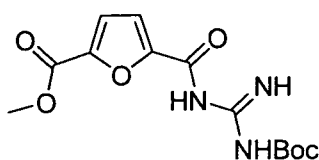
wobei X O oder S ist,

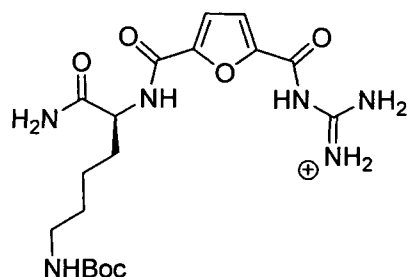
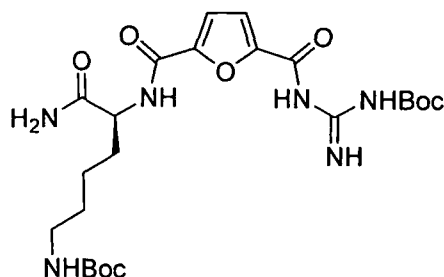
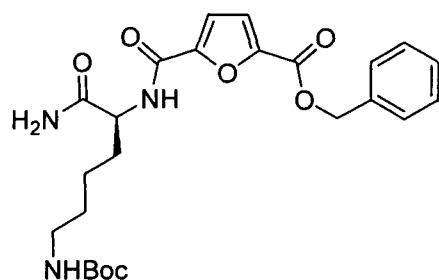
R₁ und R₂ unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe, umfassend H, substituierte und nicht-substituierte Alkyle, Aryle, Alkyl-Aryle, und Aryl-Alkyle,

R₃ ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend substituierte oder nicht-substituierte Alkyle, Aryle, Alkyl-Aryle, und Aryl-Alkyle, und

Z ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend t-Butoxycarbonyl (Boc), Benzyloxycarbonyl (Cbz), 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) und andere Acyl-Reste,

mit der Maßgabe, dass die folgenden Verbindungen ausgenommen sind:

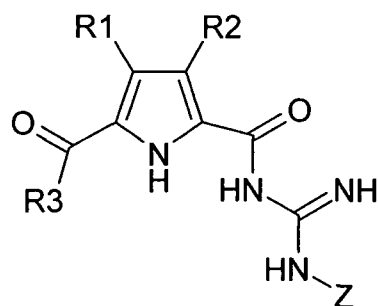




In einer bevorzugten Ausführungsform ist X O, R₁ und R₂ sind H, und R₃ ist ein substituiertes Aryl, Alkyl-Aryl oder Aryl-Alkyl.

In einer Ausführungsform ist die Verbindung A eine Verbindung mit einer der Strukturformeln 11-16 (siehe Tabelle 2).

Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft auch die Verwendung einer Verbindung mit der Formel



B

wobei R₁ und R₂ unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe, umfassend H, substituierte und nicht-substituierte Alkyle, Aryle, Alkyl-Aryle, und Aryl-Alkyle, R₃ ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend substituierte oder nicht-substituierte Alkyle, Aryle, Alkyl-Aryle, und Aryl-Alkyle, und

Z ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend t-Butoxycarbonyl (Boc), Benzyloxycarbonyl (Cbz), 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) und andere Acyl-Reste, als Cystein-Protease-Inhibitor, mit der Maßgabe, dass es sich bei der Cystein-Protease nicht um Falcipain-2 handelt.

In einer bevorzugten Ausführungsform sind R_1 und R_2 H, und R_3 ist ein substituiertes Aryl, Alkyl-Aryl oder Aryl-Alkyl.

In einer Ausführungsform ist die Verbindung **B** eine Verbindung mit einer der Strukturformeln **1-10 und 17** (siehe **Tabelle 2**).

In einer Ausführungsform ist die Cystein-Protease eine Cystein-Protease, die einem Organismus, ausgewählt aus der Gruppe, umfassend *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi* und Leishmanien, entstammt.

In einer anderen Ausführungsform ist die Cystein-Protease eine humane Cystein-Protease. Vorzugsweise ist die humane Cystein-Protease ausgewählt aus der Gruppe, umfassend Calpaine und Cathepsine B, L, K, S, F, X.

Ein anderer Aspekt der Erfindung betrifft die Verwendung einer oben definierten Verbindung mit der Formel **B** zur Behandlung von Krankheiten ausgewählt aus der Gruppe, umfassend Malaria, Schlafkrankheit, Chagas-Krankheit, Leishmaniosen, Krebs, Osteoporose, Osteoarthritis, rheumatoide Arthritis und Alzheimer, mit der Maßgabe, dass Malaria nicht durch Inhibierung von Falcipain-2 behandelt wird.

Ein anderer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung einer oben definierten Verbindung **B** zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krankheiten. Vorzugsweise handelt es sich bei besagten Krankheiten um eine Krankheit ausgewählt aus der Gruppe, umfassend Malaria, Schlafkrankheit, Chagas-Krankheit, Leishmaniosen, Krebs, Osteoporose, Osteoarthritis, rheumatoide Arthritis und Alzheimer, mit der Maßgabe, dass Malaria nicht durch Inhibierung von Falcipain-2 behandelt wird.

Eine weitere Lösung der erfindungsgemäßen Aufgaben stellt eine pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend eine oben definierte Verbindung mit der Formel **B** zusammen mit geeigneten Zusatz- oder Hilfsstoffen, dar.

Vorzugsweise liegt die Verbindung hier in Form einer Depotsubstanz oder als Vorläufer zusammen mit einer geeigneten, pharmazeutisch verträglichen Verdünnungslösung oder Trägersubstanz vor.

Besonders bevorzugt sind pharmazeutische Zusammensetzungen, in denen die Verbindung in einer pharmazeutisch wirksamen Menge vorliegt.

Bevorzugt ist weiterhin eine pharmazeutische Zusammensetzung in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Tropflösungen, Suppositorien, Injektions- oder Infusionszubereitungen zur peroralen, rektalen oder parenteralen Verwendung vor. Solche Darreichungsformen und deren Herstellung sind dem Fachmann bekannt.

Unter „Vorläufer“ einer Substanz soll im Rahmen der vorliegenden Erfindung zum einen eine Substanz verstanden werden, die im Laufe ihrer Verabreichung zur Behandlung durch die Bedingungen im Körper (z.B. pH im Magen) so verändert wird oder aber durch den Körper nach Aufnahme so metabolisiert wird, dass sich als wirksame Substanz die erfindungsgemäße Verbindung bilden.

„IC₅₀“ ist die mittlere inhibitorische Konzentration, also die Konzentration eines Inhibitors, bei der eine halbmaximale Inhibition beobachtet wird. „K_i“ bezeichnet die Bindungsaffinität des Inhibitors.

Die Ziel-Proteasen der neuen Inhibitoren sind Cystein-Proteasen der sog. Papain-Familie (Clan CA). Zu dieser Familie gehören sowohl parasitäre Proteasen der Erreger *Plasmodium falciparum* [Rosenthal P.J. *Int J Parasitol.* 2004, 34, 1489-99], *Trypanosoma brucei* und *Leishmania major*, aber auch humane Proteasen (Cathepsine B, L, K, S, V, usw.), die an Krankheiten wie Krebs, Arthritis, Alzheimer, Osteoporose (hier befindet sich z.B. der Cathepsin K-Inhibitor Odanacatib in Phase III der Klinischen Prüfung) beteiligt sind [Otto H. und Schirmeister T. *Chem. Rev.* 1997, 97, 133-171; Lecaille F., Kaleta J. und Brömme D. *Chem Rev.* 2002, 102, 4459-88; Brömme D. und Kaleta J. *Curr Pharm Design* 2002, 8, 1639-

58; Deaton D.N. und Tavares F.X. *Curr Top Med Chem.* 2005, 5, 1639-75; Liu J., Sukhova G.K., Sun J.S., Xu W.H., Libby P. und Shi G.P. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004, 24, 1359-66.; Turk D., Turk B. und Turk V. *Biochem Soc Symp.* 2003, 70, 15-30; Leung-Toung R., Zhao Y., Li W., Tam T.F., Karimian K. und Spino M. *Curr Med Chem.* 2006, 13, 547-81] Damit ergibt sich, je nach Selektivität des Inhibitors, ein breites Spektrum an Anwendungsmöglichkeiten, also anti-parasitäre Arzneistoffe oder Arzneistoffe zur Therapie der genannten Erkrankungen, bei denen die humanen Cathepsine eine Rolle spielen.

Es gibt zahlreiche Inhibitoren von Cystein-Proteasen der Papain-Familie. Meist sind diese jedoch peptidischer Natur bzw. von Peptiden abgeleitet (Peptidomimetika). In vielen Fällen besitzen diese Inhibitoren einen Baustein, der kovalent (reversibel oder irreversibel) an den Schwefel des aktiven Zentrums der Protease bindet [Powers J.C., Asgian J.L., Ekici O.D. und James K.E. *Chem Rev.* 2002, 102, 4639-750; Schirmeister T. und Klockow A. *Mini Rev. Med. Chem.* 2003, 3, 585-596; Vicik R., Busemann M., Baumann K. und Schirmeister T. *Curr. Top. Med. Chem.* 2006, 6, 331-353]. Sowohl der peptidische Charakter der Inhibitoren als auch die kovalente Bindung an Ziel-Proteasen führen häufig dazu, dass solche Inhibitoren nicht in die weitere Entwicklung gelangen: der Peptidcharakter führt oft zu mangelnder oraler Bioverfügbarkeit, die kovalente Hemmung bewirkt häufig Nebenwirkungen durch Reaktion mit anderen Proteinen des Organismus. Daher ist die Entwicklung nicht-peptidischer, reversibler Inhibitoren ein wichtiges Forschungsziel. Allerdings gibt es hier bisher nur wenige aktive Verbindungsklassen [Schirmeister T. und Käßler U. *Mini Rev. Med. Chem.* 2003, 3, 361-373].

Die erfindungsgemäßen Substanzen sind nicht-peptidische, reversible Inhibitoren und weisen somit erhöhte orale Bioverfügbarkeit und ein geringeres Nebenwirkungspotential auf, da keine kovalente Bindung an die Ziel-Proteasen stattfindet. Die bisher aktivsten der hier offenbarten Verbindungen besitzen einen Pyrrol- oder Furan-Ring, der auf der einen Seite mit einem lipophilen aromatischen Rest substituiert ist, auf der anderen Seite eine geschützte Guanidino-Funktion trägt.

Die Erfindung soll im Folgenden anhand von Beispielen beschrieben werden, ohne sie jedoch auf diese Beispiele zu begrenzen.

Beispiele

1. Experimentelle Durchführung

1.1 Messung der Hemmkonstanten an isolierten Enzymen

Die Bestimmung der Hemmkonstanten wurde nach literaturbekannten Methoden durchgeführt [Hemmung von Falcipainen: Gelhaus C., Vicik R., Hilgenfeld R., Schmidt C.L., Leippe M. und Schirmeister T. *Biol. Chem.* 2004, 435-438; Schulz F., Gelhaus C., Degel B., Vicik R., Heppner S., Breuning A., Leippe M., Gut J., Rosenthal P.J. und Schirmeister T. *ChemMedChem* 2007, 2, 1214-1224 / Hemmung von Rhodesain: Vicik R., Hoerr V., Glaser M., Schultheis M., Hansell E., McKerrow J.H., Holzgrabe U., Caffrey C.R., Ponte-Sucre A., Moll H., Stich A. und Schirmeister T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006, 16, 2753-2757 / Hemmung von Cathepsin B und L: Vicik R., Busemann M., Gelhaus C., Stiefl N., Scheiber J., Schmitz W., Schulz F., Mladenovic M., Engels B., Leippe M., Baumann K. und Schirmeister T. *ChemMedChem* 2006, 1, 1126-1141]. Eingesetzt wurden fluorimetrische Enzymassays mit Cbz-Phe-Arg-AMC oder im Falle von Falcipain 3 Cbz-Leu-Arg-AMC als Substrat. Die Zunahme der Fluoreszenz durch proteolytische Spaltung des Substrates wurde mit einem Cary Eclipse Fluoreszenzspektrometer der Fa. Varian in Anwesenheit des Inhibitors (Verdünnungsreihe) oder mit DMSO (max. 10%) als Negativkontrolle gemessen (Exzitations-Wellenlänge: 365 nm; Emissions-Wellenlänge: 460 nm). Es wurden 96-Loch-Platten der Fa. Nunc GmbH Wiesbaden verwendet.

1.2 Biologische Aktivitäten / Messung der In-vitro-Hemmung

1.2.1 Wirkung gegen Parasiten der Gattung *Leishmania*

Leishmania major-Promastigoten (MHOM/IL81/FE/BNI) wurden in Blutagar-Kulturen bei 26°C, 5% CO₂ und 95% Luftfeuchtigkeit kultiviert. Für das Experiment wurden die Promastigoten zweimal mit salinem Phosphatpuffer (PBS) gewaschen und anschließend (10⁸ Zellen/ml) in Click-RPMI-1640-Medium ohne Phenolrot als Kulturmedium, versetzt mit 10% FCS, 2 mM L-Glutamin, 10 mM HEPES-Puffer, pH 7.2, 100 µg/ml Penicillin, 160 mg/ml Gentamicin, 7.5% NaHCO₃ und 50 µM 2-Mercaptoethanol, suspendiert. Zur Aktivitätsbestimmung wurden jeweils 200 µl der Promastigoten-Suspension in Mikrotiterplatten mit den erfindungsgemäßen Substanzen in einer geometrischen Verdünnungsreihe 24 Stunden lang, bei 26°C, 5% CO₂ und 95% Luftfeuchtigkeit inkubiert.

Anschließend wurden jeder Mikrokultur 20 µL Alamar Blue (Trinova Biochem, Gießen, Deutschland) hinzugefügt und die Kulturen weiter inkubiert. Kulturen, die nur Medium und die jeweilige Substanz oder nur die Zellsuspension (ohne Substanz) enthielten, dienten als Kontrollen. Die optische Dichte wurde nach weiteren 24 Stunden mit einem ELISA-Reader bei den Wellenlängen 550 nm und 630 nm gemessen. Die IC₅₀-Werte der Substanzen wurden durch lineare Interpolation [Mikus L. und Steverding D. *Parasitol. Int.* 2000, 48, 265-269] berechnet.

1.2.2 Anti-trypanosomiale Wirkungen

Es wurden Blutstromformen des TC-221-Stammes von *Trypanosoma brucei brucei* in angereichertem Baltz-Nährmedium in einer Atmosphäre von 5 % CO₂ bei 37°C kultiviert. Zur Aktivitätsbestimmung wurde eine definierte Erregerzahl (10⁴ Trypanosomen pro ml) in 96-Lochplatten mit den erfindungsgemäßen Substanzen in unterschiedlicher Konzentration über 48 bis 72 Stunden inkubiert. Der Effekt der Wirkstoffe war über die IC₅₀-Werte durch lineare Interpolation quantifizierbar. Die trypanozide Aktivität der Testsubstanzen wurde über Absorptionsmessungen am MR 700 Microplate Reader (Testwellenlänge 550 nm, Referenzwellenlänge 630 nm) mittels Alamar Blue®, einem Indikator metabolischer Zellfunktionen, bestimmt. Die Zugabe des Farbstoffes erfolgte 24 Stunden nach Beginn der Inkubation. Der bei der Absorptionsmessung genutzte Farbumschlag von Alamar Blue® beruht auf Reduktionsprozessen, in welchen NADH oder NADH-abhängige Enzyme involviert sind. Inkubationszeiten und die benötigte Farbstoffkonzentration korrelieren mit der Stoffwechselaktivität der Trypanosomen. Als Positivkontrolle und Referenz diente Suramin Na.

1.2.3 Anti-plasmodiale Wirkungen

Für die Bestimmung der anti-plasmodialen Aktivitäten nach Literatur [Schulz F., Gelhaus C., Degel B., Vicik R., Heppner S., Breuning A., Leippe M., Gut J., Rosenthal P.J. und Schirmeister T. *ChemMedChem* 2007, 2, 1214-1224] wurde *Plasmodium falciparum* W2 oder *P. falciparum* FCBR *in vitro* in humanen Erythrocyten unter Standardbedingungen (RPMI 1640 Medium, Sigma Aldrich) bei Supplementierung mit 25 mM HEPES, 20 mM NaHCO₃ und 0,5% AlbuMAX I (Invitrogen) kultiviert. Die erfindungsgemäßen Substanzen/Inhibitoren wurden in verschiedenen Konzentrationen zugegeben (Verdünnungsreihe). Nach 48 h wurde das AlbuMAX-Medium entfernt und die Kulturen mit 1%-iger Formaldehyd-Lösung in PBS

(pH 7,4) für 2 h inkubiert. Die so fixierten Parasiten wurden in eine 0,1% Triton-X-100-Lösung in PBS mit 1 nM YOYO-1-Farbstoff überführt und durch FACS-Analyse (fluorescence-activated cell sorting) analysiert. Außerdem wurde der MTT (microculture tetrazolium test) durchgeführt. Chloroquin und E-64 dienten als Referenzen.

1.2.4 Zytotoxizität (J.774.1 Makrophagen)

Makrophagen der Zelllinie J774.1 wurden gewaschen und in Kulturmedium suspendiert (2×10^8 Zellen/ml). Für den Test wurden 200 μ L der Zellsuspension und der erfindungsgemäßen Substanzen in einer geometrischen Verdünnungsreihe in Kulturen von Mikrotiterplatten pipettiert. Nach 24 Stunden Inkubation bei 37°C, 5 % CO₂ und 95% Luftfeuchtigkeit wurden jeder Mikrokultur 20 μ L Alamar Blue zugefügt und die Mikrotiterplatte weiter inkubiert. Mikrokulturen mit Medium und erfindungsgemäßer Substanz sowie Mikrokulturen, die nur Zellsuspension (ohne Substanz) enthielten, dienten als Kontrollen. Die optische Dichte wurde nach 24, 48 und 72 Stunden mit einem ELISA-Reader bei den Wellenlängen 550 nm und 630 nm gemessen. Der IC₅₀-Wert der Substanzen wurde durch lineare Interpolation berechnet. Amphotericin B diente als Referenzsubstanz und Positivkontrolle.

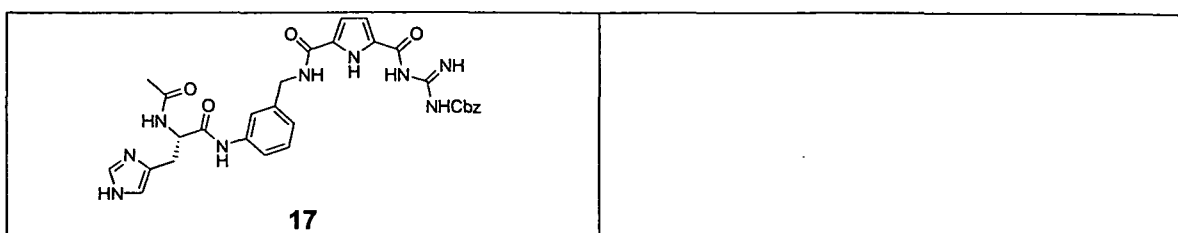
1.2.5 Zytotoxizität (293 Nierenepithelzellen)

Die Zytotoxizität wurde mittels eines Alamar-Blue®-Assays bestimmt. Zuerst wurde eine geometrische Verdünnungsreihe der jeweiligen Substanz im Zellmedium (293 Nierenepithelzellen; ohne Phenolrot) mit 1 % DMSO hergestellt und in 96-Loch-Polystyrol-Flachboden-Mikrotiterplatten vorgelegt. Die Zellen wurden trypsinisiert und einmal gewaschen. Für den Test wurde eine Zellsuspension von 10^5 Zellen/ml vorbereitet und 20 μ L davon in die Vertiefungen pipettiert. Das Endvolumen betrug 200 μ L. Nach 24h Inkubation bei 37°C und 5 % CO₂ wurde in jede Vertiefung 20 μ L Alamar Blue (Trinova Biochem, Gießen, Deutschland) hinzugefügt und die Mikrotiterplatte weiter inkubiert. Die Vertiefungen, die das Medium und die jeweilige Substanz, sowie solche, die nur Zellsuspension (ohne Substanz) enthielten, dienten als Negativ- bzw. Positivkontrolle. Die optische Dichte wurde nach 24h und 48h mit einem ELISA-Reader bei den Wellenlängen 550 nm und 630 nm gemessen. Der IC₅₀ Wert wurde nach linearer Interpolation [Huber J. C. *KoellaActa Tropica* 1993, 55, 257-261] berechnet.

2. Ergebnisse

Die Zahlen 1-17 beziehen sich auf beispielhafte, erfindungsgemäße Substanzen, die in Tabelle 2 aufgelistet sind.

1	2
3	4
5	6
7	8
9	10
11	12
13	14
15	16

**Tabelle 2:** Beispiele erfindungsgemäßer Substanzen.

2.1 Inhibierung von Cystein-Proteasen (Teil I)

Verbindung	IC ₅₀ (Mittelwert; µM)		Hemmung bei 100 µM (Mittelwert; %)
	Rhodesain	Falcipain-2	Cathepsin B
1 (SL65)	n.d.	190	9
2 (SL62)	n.d.	57.3	21
3 (SL59)	5.20	2.62	75
4 (SL53)	15.2	15.0	n.d.
5 (SL28)	18.0	41.9	10
6 (MM005)	2.39	32.2	32
7 (EM015)	5.37	1.12	n.d.
8 (UM122)	5.15	4.80	n.d.
9 (EM014)	1.37	1.87	n.d.
10 (MG9)	5.88	1.10	n.d.

Tabelle 3: Inhibierung von Cystein-Proteasen durch erfindungsgemäße Substanzen (Pyrrolsysteme).

Verbindung	IC ₅₀ (Mittelwert; µM)		Hemmung bei 100 µM (Mittelwert; %)
	Rhodesain	Falcipain-2	Cathepsin B
11 (UM17.3)	n.d.	32.4	16
12 (EM018)	4.66	3.26	n.d.
13 (UM123)	2.35	2.49	n.d.
14 (EM019)	4.04	2.34	n.d.
15 (SL015)	3.59	10.1	79

Tabelle 4: Inhibierung von Cystein-Proteasen durch erfindungsgemäße Substanzen (Furansysteme).

Als Beispiele sind Hemmdaten gegen die Cathepsin L-ähnlichen Proteasen Rhodesain und Falcipain-2 angegeben. Die Inhibitoren weisen hier IC₅₀-Werte im unteren mikromolaren

Bereich auf. Gegenüber Cathepsin B ist, soweit bisher getestet, eine schwächere Hemmung festzustellen.

2.2 Anti-parasitäre Wirkung

2.2.1 Trypanosomazide Wirkung (*Trypanosoma brucei brucei* 221)

Verbindung	IC ₅₀ (Mittelwert ± Standardabweichung; µM)	
	nach 48 h	nach 72 h
11 (UM17.3)	35,77 ± 6,41	>100
1 (SL65)	2,51 ± 0,60	4,09 ± 0,50
2 (SL62)	2,28 ± 0,33	3,00 ± 0,19
3 (SL59)	0,22 ± 0,06	0,30 ± 0,01
4 (SL53)	1,81 ± 0,47	3,02 ± 0,12
5 (SL28)	27,84 ± 5,43	36,99 ± 6,20
6 (MM005)	9,17 ± 1,05	26,71 ± 1,95
7 (EM015)	1.23 ± 0.49	1.63 ± 0.31
12 (EM018)	2.28 ± 0.19	2.70 ± 0.21
8 (UM122)	2.49 ± 0.84	2.71 ± 0.39
13 (UM123)	8.31 ± 1.45	15.74 ± 3.43
9 (EM014)	>100	>100
14 (EM019)	5.65 ± 1.67	14.4 ± 5.13
10 (MG9)	2.32 ± 0.87	2.94 ± 0.05

Tabelle 5: Trypanosomazide Wirkung von erfindungsgemäßen Substanzen.

2.2.2 Leishmanizide Wirkung

Verbindung	IC ₅₀ (Mittelwert; µM)	
	<i>Leishmania major</i>	J 774.1 Makrophagen
11 (UM17.3)	>100	>100
1 (SL65)	>100	>100
2 (SL62)	33	32,5
3 (SL59)	>100	30,5
4 (SL53)	>100	>100
5 (SL28)	>100	>100
6 (MM005)	>100	>100
7 (EM015)	>100	>100

12 (EM018)	>100	>100
8 (UM122)	>100	>100
13 (UM123)	>100	>100
9 (EM014)	>100	33.7
14 (EM019)	>100	54.9
10 (MG9)	>100	>100

Tabelle 6: Leishmanizide Wirkung von erfindungsgemäßen Substanzen.

2.2.3 Anti-plasmodiale Wirkung

Verbindung	IC₅₀ (Mittelwert; μM)
11 (UM17.3)	68.1
1 (SL65)	n.d.
2 (SL62)	n.d.
3 (SL59)	<0.1
4 (SL53)	16.5
5 (SL28)	n.d.
6 (MM005)	n.d.
7 (EM015)	7.52
12 (EM018)	6.34
8 (UM122)	3.38
13 (UM123)	6.45
9 (EM014)	3.69 $\pm$ 4.86
14 (EM019)	1.06 $\pm$ 0.30
10 (MG9)	5.92 $\pm$ 2.06

Tabelle 7: Anti-plasmodiale Wirkung von erfindungsgemäßen Substanzen.

Die Inhibitoren wirken insbesondere gegen die Erreger *Trypanosoma brucei* und *Plasmodium falciparum* mit IC₅₀-Werten im unteren oder sogar sub-mikromolaren Bereich. Verbindung 3 weist dabei die höchste Wirksamkeit gegen beide Erreger auf.

2.3 Zytotoxizität

Verbindung	IC₅₀ (Mittelwert +/- Standardabweichung; μM)
	293T, Nierenepithelzellen
11 (UM17.3)	n.d.

1 (SL65)	27,21 +/- 0,92
2 (SL62)	19,01 +/- 2,59
3 (SL59)	18,69 +/- 0,18
4 (SL53)	> 160
5 (SL28)	n.d.
6 (MM005)	n.d.

Tabelle 8: Zytotoxische Wirkung von erfindungsgemäßen Substanzen.

Die IC₅₀-Werte für die Zytotoxizität liegen soweit bisher getestet höher als die Werte für die Erreger *Trypanosoma brucei* und *Plasmodium falciparum*. Insbesondere hervorzuheben sind die Selektivitätsindices SI (IC₅₀(humane Zellen)/IC₅₀(Erreger)) für die Verbindungen 3 (SI > 187 für *P.f.* und SI = 85 für *T.b.*) und 4 (SI > 9 für *P.f.* und SI > 88 für *T.b.*). Verbindung 4 ist nicht-toxisch bis zu einer Konzentration von 160 µM.

2.4 Vergleichsdaten von Referenzinhibitoren

Referenzinhibitor	Rhodesain aus <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> ^b	Falcipain-2 aus <i>Plasmodium falciparum</i> ^a	<i>Trypanosoma brucei brucei</i> ^a	<i>Plasmodium falciparum</i> ^a	<i>Leishmania major</i> ^a (promastigotes Stadium)	J 774.1 Makrophagen ^a
E-64	-	0.015	-	5.3	-	-
Chloroquin	-	keine Hemmung	-	0.3	-	-
Melarsoprol	94.3	-	0.0026	-	-	4.3
Pentamidin	27.9	-	0.0029	-	-	41.6
Suramin	31.5	-	0.31	-	-	> 1000
Nifurtimox	-	-	3.4	-	-	> 200
Eflornithin	30.7	-	22.9	-	-	> 1000
Amphotericin B	-	-	-	-	5.1	-
Miltefosin	-	-	-	-	33	-

Tabelle 9: Vergleichsdaten von Referenzinhibitoren. a) IC₅₀-Werte in [µM] b) K_ai-Werte in [µM]

Die Inhibitoren sind bzgl. der Hemmung parasitärer Cystein-Proteasen etwas schwächer als der Referenzinhibitor E-64, weisen aber eine vergleichbare oder bessere anti-plasmodiale Wirksamkeit auf. Die Anti-plasmodiale Wirksamkeit der Verbindung 3 ist besser als die des Arzneistoffes Chloroquin. Die Inhibitoren sind bzgl. ihrer anti-trypanosomalen Aktivität vergleichbar mit den bisher eingesetzten Arzneistoffen Suramin, Nifurtimox und Eflornithin.

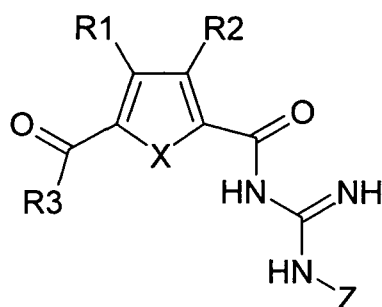
2.5 Inhibierung von Cystein-Proteasen (Teil II)

Verbindung	Hemmung bei 100 μ M (Mittelwert, %)	
	Rhodesain	Cathepsin K
12 (EM018)	100	93
15 (SL015)	100	99
16 (SL034)	100	97
3 (SL59)	99	76
6 (MM005)	95	57
8 (UM122)	99	88
7 (EM015)	98	65
17 (SL053)	0	67

Tabelle 10: Inhibierung von Cystein-Proteasen durch erfindungsgemäße Substanzen.

Patentansprüche

1. Verwendung einer Verbindung mit der Formel



A

wobei X O oder S ist,

R₁ und R₂ unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe, umfassend H, substituierte und nicht-substituierte Alkyle, Aryle, Alkyl-Aryle, und Aryl-Alkyle,

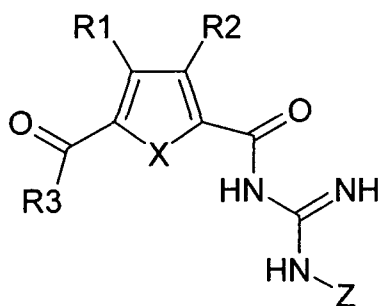
R₃ ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend substituierte oder nicht-substituierte Alkyle, Aryle, Alkyl-Aryle, und Aryl-Alkyle, und

Z ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend t-Butoxycarbonyl (Boc), Benzyloxycarbonyl (Cbz), 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) und andere Acyl-Reste,

als Cystein-Protease-Inhibitor.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Cystein-Protease eine Cystein-Protease ist, die einem Organismus, ausgewählt aus der Gruppe, umfassend *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi* und Leishmanien, entstammt.
3. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Cystein-Protease eine humane Cystein-Protease ist.
4. Verwendung nach Anspruch 3, wobei die humane Cystein-Protease ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend Calpaine und Cathepsine B, L, K, S, F, X.

5. Verwendung einer in Anspruch 1 definierten Verbindung zur Behandlung von Krankheiten.
6. Verwendung einer in Anspruch 1 definierten Verbindung zur Behandlung von Krankheiten ausgewählt aus der Gruppe, umfassend Malaria, Schlafkrankheit, Chagas-Krankheit, Leishmaniosen, Krebs, Osteoporose, Osteoarthritis, rheumatoide Arthritis und Alzheimer.
7. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend eine in Anspruch 1 definierte Verbindung zusammen mit geeigneten Zusatz- oder Hilfsstoffen.
8. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 8, wobei die Verbindung in Form einer Depotsubstanz oder als Vorläufer zusammen mit einer geeigneten, pharmazeutisch verträglichen Verdünnungslösung oder Trägersubstanz vorliegt.
9. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 8 oder 9, wobei die Verbindung in einer pharmazeutisch wirksamen Menge vorliegt.
10. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 8 bis 10 in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Tropflösungen, Suppositorien, Injektions- oder Infusionszubereitungen zur peroralen, rektalen oder parenteralen Verwendung.
11. Verbindung, wie in Anspruch 1 definiert, zur Verwendung als Cystein-Protease-Inhibitor oder zur Behandlung von Krankheiten.
12. Verbindung mit der Formel



A

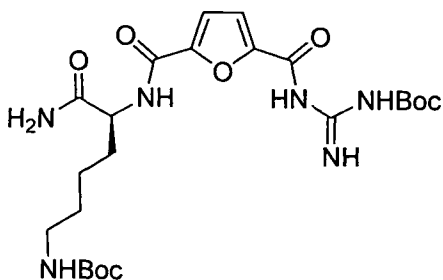
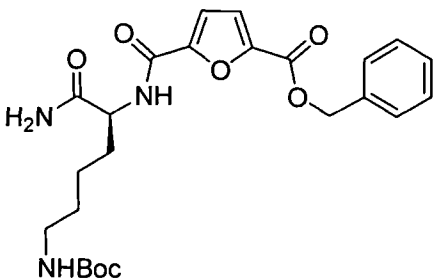
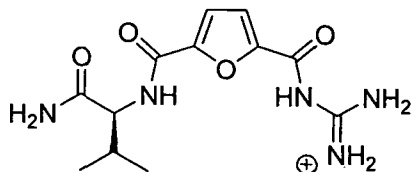
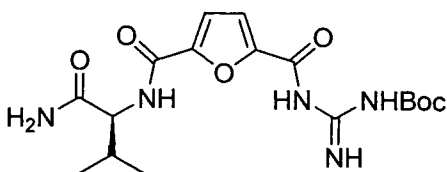
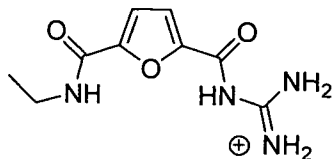
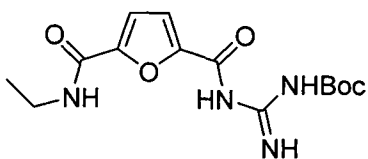
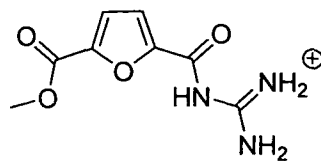
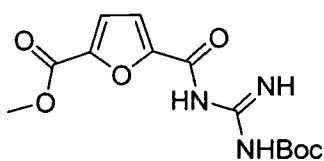
wobei X O oder S ist,

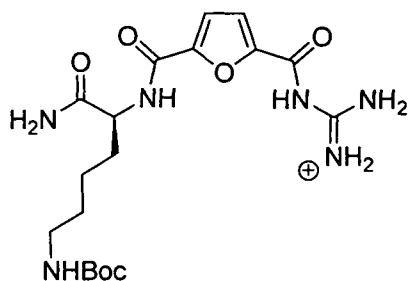
R₁ und R₂ unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe, umfassend H, substituierte und nicht-substituierte Alkyle, Aryle, Alkyl-Aryle, und Aryl-Alkyle,

R₃ ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend substituierte oder nicht-substituierte Alkyle, Aryle, Alkyl-Aryle, und Aryl-Alkyle, und

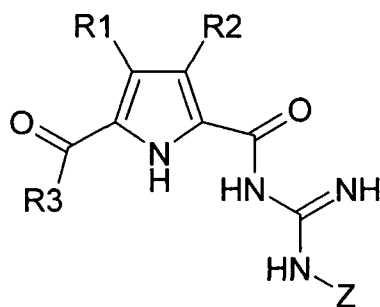
Z ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend t-Butoxycarbonyl (Boc), Benzyloxycarbonyl (Cbz), 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) und andere Acyl-Reste,

mit der Maßgabe, dass die folgenden Verbindungen ausgenommen sind:





13. Verwendung einer Verbindung mit der Formel



B

wobei R_1 und R_2 unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe, umfassend H, substituierte und nicht-substituierte Alkyle, Aryle, Alkyl-Aryle, und Aryl-Alkyle, R_3 ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend substituierte oder nicht-substituierte Alkyle, Aryle, Alkyl-Aryle, und Aryl-Alkyle, und Z ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend t-Butoxycarbonyl (Boc), Benzyloxycarbonyl (Cbz), 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) und andere Acyl-Reste, als Cystein-Protease-Inhibitor, mit der Maßgabe, dass es sich bei der Cystein-Protease nicht um Falcipain-2 handelt.

14. Verwendung nach Anspruch 13, wobei die Cystein-Protease eine Cystein-Protease ist, die einem Organismus, ausgewählt aus der Gruppe, umfassend *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi* und Leishmanien, entstammt.
15. Verwendung nach Anspruch 13, wobei die Cystein-Protease eine humane Cystein-Protease ist.
16. Verwendung nach Anspruch 15, wobei die humane Cystein-Protease ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend Calpaine und Cathepsine B, L, K, S, F, X.

17. Verwendung einer in Anspruch 13 definierten Verbindung zur Behandlung von Krankheiten ausgewählt aus der Gruppe, umfassend Malaria, Schlafkrankheit, Chagas-Krankheit, Leishmaniosen, Krebs, Osteoporose, Osteoarthritis, rheumatoide Arthritis und Alzheimer,
mit der Maßgabe, dass Malaria nicht durch Inhibierung von Falcipain-2 behandelt wird.
18. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend eine in Anspruch 13 definierte Verbindung zusammen mit geeigneten Zusatz- oder Hilfsstoffen.
19. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 18, wobei die Verbindung in Form einer Depotsubstanz oder als Vorläufer zusammen mit einer geeigneten, pharmazeutisch verträglichen Verdünnungslösung oder Trägersubstanz vorliegt.
20. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 18 oder 19, wobei die Verbindung in einer pharmazeutisch wirksamen Menge vorliegt.
21. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 18 bis 20 in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Tropflösungen, Suppositorien, Injektions- oder Infusionszubereitungen zur peroralen, rektalen oder parenteralen Verwendung.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2009/007025

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61P33/06 A61K31/341 A61K31/381 A61K31/40 C07D307/66
 C07D333/38 A61P33/02 A61P35/00 A61P19/10 A61P19/02
 A61P25/28

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data, BEILSTEIN Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A,P	UWE MACHON: "Entwicklung von Cysteinproteaseinhibitoren Ein klassischer und ein kombinatorischer Ansatz zur Inhibitoroptimierung" [Online] 5 August 2009 (2009-08-05), Julius-Maximilians-Universität Würzburg , Würzburg , XP007910507 Retrieved from the Internet: URL: http://www.opus-bayern.de/uni-wuerzburg/volltexte/2009/3339/ [retrieved on 2009-11-13] the whole document ----- -/--	1-21



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 November 2009

Date of mailing of the international search report

01/12/2009

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Scheithe, Rupert

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2009/007025

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SCHMUCK C ET AL: "2-(Guanidiniocarbonyl)furans as a new class of potential anion host: synthesis and first binding studies" EUROPEAN JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, WILEY-VCH VERLAG, WEINHEIM, DE, vol. 2006, no. 19, 1 October 2006 (2006-10-01), pages 4385-4392, XP008114887 ISSN: 1434-193X [retrieved on 2006-08-01] the whole document -----	1-21

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2009/007025

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

INV. A61P33/06 A61K31/341 A61K31/381 A61K31/40 C07D307/66
C07D333/38 A61P33/02 A61P35/00 A61P19/10 A61P19/02
A61P25/28

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

A61K C07D

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data, BEILSTEIN Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
------------	--	--------------------

A,P	UWE MACHON: "Entwicklung von Cysteinproteaseinhibitoren Ein klassischer und ein kombinatorischer Ansatz zur Inhibitoroptimierung" [Online] 5. August 2009 (2009-08-05), Julius-Maximilians-Universität Würzburg , Würzburg , XP007910507 Gefunden im Internet: URL:http://www.opus-bayern.de/uni-wuerzburg/volltexte/2009/3339/ [gefunden am 2009-11-13] das ganze Dokument	1-21
-----	---	------

-/--



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

23. November 2009

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

01/12/2009

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Scheithe, Rupert

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	SCHMUCK C ET AL: "2-(Guanidiniocarbonyl)furans as a new class of potential anion host: synthesis and first binding studies" EUROPEAN JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, WILEY-VCH VERLAG, WEINHEIM, DE, Bd. 2006, Nr. 19, 1. Oktober 2006 (2006-10-01), Seiten 4385-4392, XP008114887 ISSN: 1434-193X [gefunden am 2006-08-01] das ganze Dokument -----	1-21