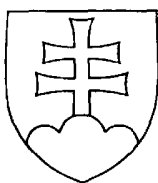


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ
PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA

- (22) Dátum podania prihlášky: **19. 11. 2001**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **60/252 252**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **21. 11. 2000**
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **3. 2. 2004**
Vestník ÚPV SR č.: **2/2004**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/US01/47688**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO02/42278**

(11), (21) Číslo dokumentu:

779-2003

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.7 :

C07D233/02

(71) Prihlasovateľ: **VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED, Cambridge, MA, US;**

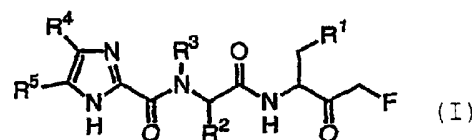
(72) Pôvodca: **Kay David, Purton, Wiltshire, GB;**
Golec Julian, Ashbury, Wiltshire, GB;

(74) Zástupca: **Čechvalová Dagmar, Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Deriváty imidazolu a benzimidazolu a ich použitie ako inhibítorov kaspázy**

(57) Anotácia:

Kaspázové inhibítory všeobecného vzorca (I), kde R¹ je skupina CO₂H, skupina CH₂CO₂H alebo ich estery, amidy alebo izostéry, R² a R³ sú nezávisle jeden od druhého vodík alebo prípadne substituovaná alifatická skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov, R⁴ a R⁵ sú každý nezávisle jeden od druhého vybrané zo skupiny obsahujúcej vodík, prípadne substituovanú alifatickú skupinu obsahujúcu 1 až 6 uhlíkových atómov alebo R⁴ a R⁵ tvoria spoločne s kruhom, ku ktorému sú pripojené, prípadne substituovaný bicyklický kruh. Kaspázové inhibítory sú vhodné na liečenie mnohých ochorení, ako je rakovina, akútne zápalové ochorenia a autoimunitné poruchy, ischemické choroby a niektoré neurodegeneratívne poruchy.



Deriváty imidazolu a benzimidazolu a ich použitie ako inhibítorov kaspázy

Oblasť techniky

Tento vynález sa týka oblasti medicínálnej chémie a opisuje nové zlúčeniny a ich farmaceutické kompozície, ktoré inhibujú kaspázy, sprostredkujúce bunkovú apoptózu a zápal. Vynález sa tiež týka spôsobov použitia zlúčenín a farmaceutických kompozícií podľa tohoto vynálezu na liečenie ochorení, v ktorých je zahrnutá kaspázová aktivita.

Doterajší stav techniky

Apoptóza alebo programová bunková smrť je základným mechanizmom, ktorým organizmy eliminujú nechcené bunky. Deregulácia apoptózy a to buď nadmerná apoptóza alebo jej zlyhanie, je zahrnutá v mnohých chorobách ako je rakovina, akútne zápal a autoimunitné poruchy, ischemické choroby a niektoré neurodegeneratívne poruchy (pozri všeobecne *Science*, 1998, 281, 1283-1312; *Ellis et al.*, *Ann. Rev. Cell. Biol.*, 1991, 7, 663).

Kaspázy sú rodinou cysteínových proteázových enzýmov, ktoré sú kľúčovými mediátormi v signálnej dráhe apoptózy a bunkového rozkladu (*Thornberry*, *Chem. Biol.*, 1998, 5, R97-8103). Tieto signálne dráhy sa líšia v závislosti od typu bunky a stimulov, avšak zdá sa, že všetky metabolické dráhy apoptózy konvergujú k bežnej efektorovej dráhe vedúcej k proteolýze kľúčových proteínov. Kaspázy sú zahrnuté ako v efektorovej fáze signálnej dráhy, tak aj ďalej „upstream“ od jej iniciácie. „Upstreamové“ kaspázy zahrnuté v iniciačných udalostiach sú aktivované a ďalej aktivujú ďalšie kaspázy, ktoré sa zúčastňujú neskorších fáz apoptózy.

Kaspáza 1, prvá identifikovaná kaspáza, je takisto známa ako interleukín konvertujúci enzým alebo „ICE“. Kaspáza 1 konvertuje prekursorový interleukín-1 β („pIL-1 β “) na protizápalovo aktívnu formu špecifickým štiepením pIL-1 β medzi Asp-116 a Ala-117. Okrem kaspázy 1 je tu ďalších jedenásť známych ľudských kaspáz, ktoré sa všetky špecificky štiepia na aspartylových zvyškoch. Tiež sa pozorovalo, že sú tu striktné požiadavky na aspoň štyri aminokyselinové zvyšky na N-koncovej strane štiepneho miesta.

Kaspázy sa rozdelili do troch skupín podľa ich aminokyselinovej sekvencie, ktorá je zvýhodnená alebo primárne rozpoznávaná. Ukázalo sa, že skupina kaspáz, ktorá zahŕňa kaspázy 1, 4 a 5 uprednostňuje hydrofóbne aromatické aminokyseliny v polohe 4 na N-koncovej strane štiepneho miesta. Ďalšia skupina, ktorá zahŕňa kaspázy 2, 3 a 7 rozpoznáva aspartylový zvyšok v oboch polohách 1 a 4 N-koncovej strany a výhodne sekvenciu Asp-Glu-X-Asp. Tretia skupina, ktorá zahŕňa kaspázy 6, 8, 9 a 10, toleruje mnoho aminokyselín v primárnej rozpoznávacej sekvencii, ale zdá sa, že uprednostňuje zvyšky s rozvetvenými alifatickými bočnými reťazcami ako je valín a leucín v polohe 4.

Kaspázy sa tiež rozdelili podľa ich predpokladanej funkcie. Prvá podskupina sa skladá z kaspázy 1 (ICE), 4 a 5. Preukázalo sa, že tieto kaspázy sú zahrnuté v protizápalovom processingu cytokínov a teda hrajú dôležitú úlohu pri zápale. Kaspáza 1, najviac skúmaný enzým tejto triedy, aktivuje IL-1 β prekursor proteolytickým štiepením. Tento enzým teda hrá kľúčovú úlohu v zápalovej odozve. Kaspáza 1 je tiež zahrnutá v spracovaní faktora indikujúceho interferón gama (IGIF alebo IL-18), ktorý stimuluje produkciu interferónu gama, kľúčového imunoregulátora modulujúceho prezentáciu antigénu, aktiváciu T buniek a bunkovú adhéziu.

Zostávajúce kaspázy tvoria druhú a tretiu podskupinu. Tieto enzýmy sú najdôležitejšie v intracelulárnej signálnej dráhe ve-

dúcej k apoptóze. Jedna podskupina sa skladá z enzýmov zahrnutých v iniciačných udalostiach dráhy apoptózy vrátane transdukcie signálov z plazmatickej membrány. Členovia tejto podskupiny zahŕňajú kaspázy 2, 8, 9 a 10. Druhá podskupina obsahujúca efektorové kaspázy 3, 6 a 7 je zahrnutá vo finálnom „downstream“ štiepení, ktoré vedie k systematickému rozpadu a smrti bunky apoptózou. Kaspázy zahrnuté v „upstream“ signálnej transdukcii aktivujú „downstreamové“ kaspázy, ktoré potom znemožňujú opravné mechanizmy DNA, fragmentujú DNA, rozoberajú bunkový cytoskelet a nakoniec fragmentujú bunky.

Znalosť sekvencie štyroch aminokyselín primárne rozoznávaných kaspázami sa použila na design kaspázových inhibítorov. Pripravili sa tetrapeptidové inhibítory so štruktúrou $\text{CH}_3\text{CO}-[\text{P4}]-[\text{P3}]-[\text{P2}]-\text{CH}(\text{R})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, kde P2 až P4 reprezentujú optimálnu rozpoznávaciu aminokyselinovú sekvenciu a R je aldehyd, nitril alebo ketón schopný viazania na kaspázový cysteínový sulfhydryl. Rano a Thornberry, *Chem. Biol.* 4, 145-155 (1997); Mjalli, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 3, 2689-2692 (1993); Nicholson et al., *Nature* 376, 37-43 (1995). Pripravili sa ireverzibilné inhibítory založené na analogickej tetrapeptidovej rozpoznávacej sekvencii, kde R je acyloxymetylketón $-\text{COCH}_2\text{OCOR}'$. R' je napr. prípadne substituovaný fenyl ako napr. 2,6-dichlórbenzoyloxy a kde R je COCH_2X , kde X je odstupujúca skupina ako F alebo Cl. Thornberry et al., *Biochemistry* 33, 3934 (1994); Dolle et al., *J. Med. Chem.* 37, 563-564 (1994).

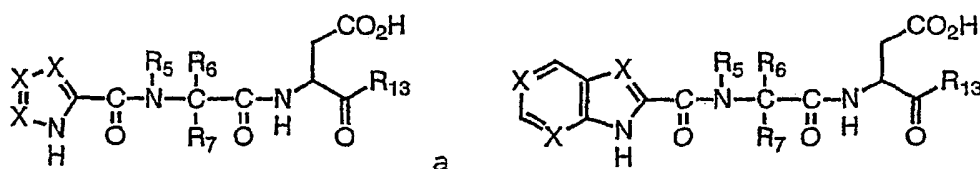
Využitie kaspázových inhibítorov na liečenie mnohých ochorení cicavcov spojených so zvýšením bunkovej apoptózy sa demonštrovalo použitím peptidických kaspázových inhibítorov. Napríklad, na modeloch hlodavcov sa ukázalo, že kaspázové inhibítory znižujú veľkosť infarktu a inhibujú kardiomyocytovú apoptózu po infarkte myokardu, znižujú objem lézií a neurologického deficitu vzniknutého po mŕtvici, znižujú posttraumatickú apoptózu a neurologický deficit pri traumatickom poranení mozgu, sú účinné pri liečení fulminantnej deštrukcie pečene a zlepšujú prežitie

po endotoxickom šoku. Yaoita et al., *Circulation*, 97, 276, (1998); Endres et al., *J Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 18, 238, (1998); Cheng et al., *J. Clin. Invest.*, 101, 1992, (1998); Yakovlev et al., *J Neuroscience*, 17, 7415 (1997); Rodriguez et al., *J. Exp. Med.*, 184, 2067 (1996); Grobmyer et al., *Mol. Med.*, 5, 585 (1999).

Všeobecne sú skôr opísané peptidické inhibítory veľmi účinné proti niektorým kaspázovým enzýmom. Avšak táto účinnosť nebola vždy reflektovaná na bunkových modeloch apoptózy. Okrem toho sú peptidové inhibítory typicky charakterizované nežiaducimi farmakologickými vlastnosťami, ako je slabá orálna absorpcia, slabá stabilita a rýchly metabolizmus. Plattner a Norbeck, *Drug Discovery Technologies*, Clark a Moos, Eds. (Elis Horwood, Chichester, England, 1990).

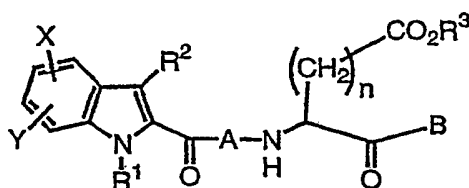
Vzhľadom na potrebu zlepšiť farmakologické vlastnosti peptidických kaspázových inhibítorov sa opísali peptidomimetiká a neprírodné aminokyselinové peptidové inhibítory.

WO 95/35308 opisuje inhibítory enzýmu konvertujúceho interleukín 1 β , okrem iných zlúčeniny vzorca:



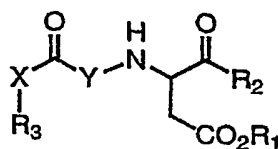
kde X je nezávisle vybrané z =N- alebo =CH-, R₅ predstavuje vodík, R₇ je vodík a R₆ je postranný reťazec α -aminokyseliny a R₁₃ zahŕňa vodík, aromatický alebo heteroaromatický kruh, C₁-C₆ rovnú alebo rozvetvenú alkylovú skupinu prípadne raz alebo niekoľkonásobne substituovanú F. WO 95/35308 opisuje také zlúčeniny, ktoré sú aktívne proti ICE a nevykazujú aktivitu proti iným kaspázam.

WO 98/10778 opisuje inhibíciu apoptózy použitím triedy inhibítorov enzýmu konvertujúceho interleukín 1 β (ICE)/CED-3 vzorca:



kde n je 1 alebo 2, R^1 , R^2 a R^3 sú rôzne skupiny, A je prírodná alebo neprírodná aminokyselina, B zahŕňa okrem iného halometylovú skupinu a X a Y sú rôzne substituenty.

WO 00/061542 opisuje dipeptidové inhibítory apoptózy vzorca:



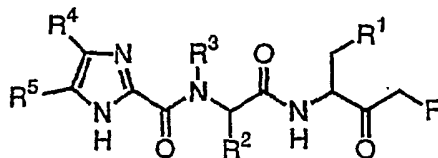
kde R^1 je prípadne substituovaný alkylovou skupinou alebo vodíkom, R^2 je vodík alebo prípadne substituovaný alkyl, Y je zvyšok prírodnej alebo neprírodnej aminokyseliny a R^3 je alkyl, nasýtená karbocyklická skupina, čiastočne nasýtená karbocyklická skupina, arylová skupina, nasýtená heterocyklická skupina, čiastočne nasýtená heterocyklická skupina alebo heteroarylová skupina, kde spomenutá skupina je prípadne substituovaná, X je O, S, NR^4 alebo skupina $(CR^4R^5)_n$, kde R^4 a R^5 sú v každom prípade nezávisle jeden od druhého vybrané zo skupiny obsahujúcej vodík, alkyl a cykloalkyl a n je 0, 1, 2 alebo 3, alebo X je NR^4 a R^3 a R^4 tvoria spoločne s dusíkovým atómom, ku ktorému sú pripojené, nasýtenú heterocyklickú, čiastočne nasýtenú heterocyklickú alebo heteroarylovú skupinu, pričom spomenutá skupina je prípadne substituovaná, alebo X je CR^4R^5 a R^3 a R^4 tvoria spoločne s uhlíkovým atómom, ku ktorému sú pripojené, nasýtenú karbocyklickú skupinu, čiastočne nasýtenú karbocyklickú skupinu, arylovú skupinu, nasýtenú heterocyklickú skupinu, čiastočne nasýtenú heterocyklickú skupinu alebo kyslík obsahujúci heteroarylovú

skupinu, kde spomenutá skupina je prípadne substituovaná a za predpokladu, že ak X je O potom R^3 nie je nesubstituovaný benzyl alebo terc-butyl a ak X je CH_2 potom R_3 nie je vodík.

Aj keď sa opísalo mnoho kaspázových inhibítorov, nie je jasné či vykazujú vhodné farmakologické vlastnosti, aby boli terapeuticky užitočné. Je tu teda pokračujúca potreba nízko-molekulárnych kaspázových inhibítorov, ktoré by boli účinné, stabilné a prenikali by membránou s cieľom poskytnúť účinnú inhibíciu apoptózy *in vivo*. Takéto zlúčeniny by boli extrémne užitočné na liečenie už skôr spomínaných ochorení, pri ktorých hrajú úlohu kaspázové enzýmy.

Podstata vynálezu

Zistilo sa, že zlúčeniny podľa tohoto vynálezu a farmaceutické kompozície s ich obsahom sú obzvlášť účinné ako inhibítory kaspáz a bunkovej apoptózy. Tieto zlúčeniny majú všeobecný vzorec I:



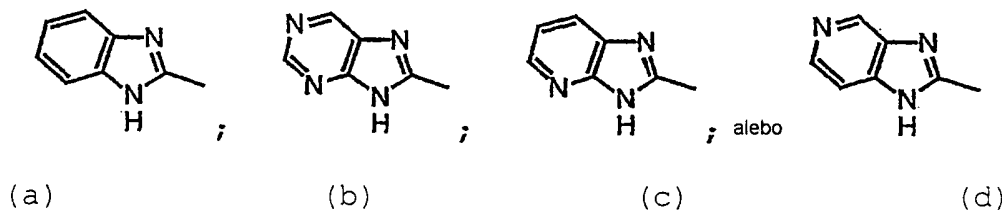
kde R^1 je skupina CO_2H , skupina CH_2CO_2H alebo ich estery, amidy alebo izostéry,

R^2 je vodík alebo prípadne substituovaná alifatická skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov,

R^3 je vodík alebo prípadne substituovaná alifatická skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov,

R^4 a R^5 sú každý nezávisle jeden od druhého vybrané zo skupiny obsahujúcej vodík, prípadne substituovanú alifatickú skupinu obsahujúcu 1 až 6 uhlíkových atómov alebo R^4 a R^5 tvoria

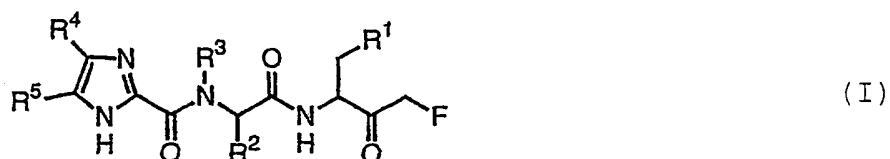
spoločne s kruhom, ku ktorému sa viažu, prípadne substituovaný bicyklický kruh, pričom spomenutý bicyklický kruh je vybraný z nasledujúcej skupiny:



Zlúčeniny podľa tohoto vynálezu majú veľmi účinné inhibičné vlastnosti voči spektru kaspázových cieľov s dobrou účinnosťou na bunkových modeloch apoptózy. Okrem toho sa očakáva, že tieto zlúčeniny majú zlepšenú bunkovú penetráciu a farmakokinetické vlastnosti a ako následok ich schopností majú zlepšenú účinnosť voči ochoreniam, v ktorých je zahrnuté pôsobenie kaspáz.

Detailný opis vynálezu

Tento vynález opisuje nové zlúčeniny a ich farmaceuticky prijateľné deriváty, ktoré sú obzvlášť účinné ako kaspázové inhibítory. Vynález tiež poskytuje spôsoby použitia týchto zlúčenín na liečenie s kaspázou súvisiacimi chorobnými stavov u cicavcov. Zlúčeniny majú všeobecný vzorec I:



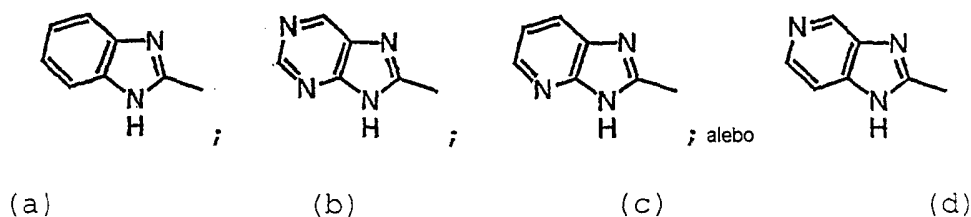
kde

R^1 je skupina CO_2H , skupina CH_2CO_2H alebo ich estery, amidy alebo izostéry,

R^2 je vodík alebo prípadne substituovaná alifatická skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov,

R^3 je vodík alebo prípadne substituovaná alifatická skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov,

R^4 a R^5 sú každý nezávisle jeden od druhého vybrané zo skupiny obsahujúcej vodík, prípadne substituovanú alifatickú skupinu obsahujúcu 1 až 6 uhlíkových atómov alebo R^4 a R^5 tvoria spoločne s kruhom, ku ktorému sa viažu, prípadne substituovaný bicyklický kruh, pričom spomenutý bicyklický kruh je vybraný z nasledujúcej skupiny:



Termín "alifatický" ako sa tu použil označuje uhľovodíky s lineárnym, rozvetveným alebo cyklickým reťazcom obsahujúcim 1 až 12 uhlíkových atómov, ktoré sú úplne nasýtené alebo ktoré obsahujú jednu alebo viac jednotiek nasýtenia, ktoré ale nie sú aromatické. Napríklad, vhodné alifatické skupiny zahrňujú substituovanú alebo nesubstituovanú lineárnu, rozvetvenú alebo cyklickú alkylovú, alkenylovú, alkinylovú skupinu a ich hybridy ako sú (cykloalkyl)alkylová, (cykloalkenyl)alkylová alebo (cykloalkyl)alkenylová skupina. Termíny „alkyl“, „alkoxy“, „hydroxyalkyl“, „alkoxyalkyl“ a „alkoxykarbonyl“, použité samotne alebo ako časť väčšej skupiny, zahrňujú ako priame tak aj rozvetvené reťazce obsahujúce jeden až dvanásť uhlíkových atómov. Termíny „alkenyl“ a „alkinyl“ použité samotne alebo ako časť väčšej skupiny, zahrňujú ako priame tak aj rozvetvené reťazce obsahujúce dva až dvanásť uhlíkových atómov. Termín „cykloalkyl“ použitý samotne alebo ako časť väčšej skupiny bude zahrňovať cyklické uhľovodíky obsahujúce 3 až 12 uhlíkových atómov, ktoré sú celkom nasýtené alebo ktoré obsahujú jednu alebo viac jednotiek nenasýtenia, ale ktoré však nie sú aromatické.

Termíny „haloalkyl“, „haloalkenyl“ a „haloalkoxy“ označujú alkyl, alkenyl alebo alkoxy, ktoré môžu byť substituované jedným alebo viacerými atómami halogénu. Termín „halogén“ označuje F, Cl, Br alebo I.

Termín „heteroatóm“ označuje dusík, kyslík alebo síru a zahŕňa ľubovoľnú oxidovanú formu dusíka a síry a kvarternizovanú formu ľubovoľného bázičského dusíka. Tak isto termín „dusík“ zahŕňa substituovateľný dusík heterocyklického kruhu. Ako príklad v nasýtenom alebo čiastočne nenasýtenom kruhu obsahujúcom 0 až 3 heteroatómy vybrané zo skupiny kyslík, síra alebo dusík, môže byť N (ako napríklad v 3,4-dihydro-2H-pyrollyl), NH (ako napríklad pyrrolidinylyl) alebo NR^+ (ako napríklad N-substituovaný pyrrolidinylyl).

Termíny „karbocyklus“, „karbocyklyl“, „karbocyklo“ alebo „karbocyklický“ ako sa tu použil označujú alifatický kruhový systém obsahujúci tri až štrnásť členov. Termíny „karbocyklus“, „karbocyklyl“, „karbocyklo“ alebo „karbocyklický“ či už nasýtený alebo čiastočne nenasýtený tak isto označujú kruhy ktoré sú prípadne substituované. Termíny „karbocyklus“, „karbocyklyl“, „karbocyklo“ alebo „karbocyklický“ tak isto zahrňujú alifatické kruhy, ktoré sú kondenzované k jednému alebo viacerým aromatickým alebo nearomatickým kruhom, ako napríklad v dekahydronaftylovej skupine, tetrahydronaftylovej alebo indanylovej skupine kde zvyšok alebo bod pripojenia je na alifatickom kruhu.

Termín „aryl“ použitý samotne alebo ako súčasť väčšej skupiny ako napríklad „aralkyl“, „aralkoxy“ alebo „aryloxyalkyl“ označuje aromatické skupiny kruhu obsahujúce päť až štrnásť členov, ako je fenyl, benzyl, fenetyl, 1-naftyl, 2-naftyl, 1-antracyl a 2-antracyl. Termín „aryl“ tak isto označuje kruhy, ktoré sú prípadne substituované. Termín „aryl“ sa môže tak isto použiť vzájomne zameniteľne s termínom „arylový kruh“. „Aryl“ tak isto zahŕňa kondenzované polycyklické aromatické kruhové systémy, v ktorých je aromatický kruh kondenzovaný k jednému

alebo viacerým kruhom. Príklady zahrňujú 1-naftyl, 2-naftyl, 1-antracyl a 2-antracyl. V rámci termínu „aryl“ tak ako sa používa v tomto vynáleze, je tak isto zahrnutá skupina, v ktorej sa aromatický kruh kondenzuje k jednému alebo viacerým nearomatickým kruhom, ako je indanyl, fenantridinyl alebo tetrahydro-naftyl, kde zvyšok alebo bod pripojenia je na aromatickom kruhu.

Termíny „heterocyklus“, „heterocyklyl“ alebo „heterocyklický“ označujú v tomto vynáleze nearomatické kruhové systémy, obsahujúce päť až štrnásť členov, výhodne päť až desať členov, kde je jeden alebo viacero uhlíkových atómov, výhodne jeden až štyri, je každý nahradený heteroatómom ako je N, O alebo S. Príklady heterocyklických kruhov zahrňujú 3-1*H*-benzimidazol-2-ón, (1-substituovaný)-2-oxobenzimidazol-3-yl, 2-tetrahydrofuranyl, 3-tetrahydrofuranyl, 2-tetrahydropyranyl, 3-tetrahydropyranyl, 4-tetrahydropyranyl, [1,3]-dioxalanyl, [1,3]-ditiolanyl, [1,3]-dioxanyl, 2-tetrahydrotiofenyl, 3-tetrahydrotiofenyl, 2-morfolinyl, 3-morfolinyl, 4-morfolinyl, 2-tiomorfolinyl, 3-tiomorfolinyl, 4-tiomorfolinyl, 1-pyrolidinyl, 2-pyrolidinyl, 3-pyrolidinyl, 1-piperazinyl, 2-piperazinyl, 1-piperidyl, 2-piperidyl, 3-piperidyl, 4-piperidyl, 4-tiazolidinyl, diazolonyl, *N*-substituovaný diazolonyl, 1-ftalimidinyl, benzoxanyl, benzopyrolidinyl, benzopiperidyl, benzoxolanyl, benzotiolanyl a benzotianyl. V rámci termínu „heterocyklyl“ alebo „heterocyklický“, tak ako sa používa v tomto vynáleze, je skupina v ktorej je nearomatický heteroatóm-obsahujúci kruh kondenzovaný k jednému alebo viacerým aromatickým alebo nearomatickým kruhom, ako je napríklad indolinyl, chromanyl, fenantridinyl, tetrahydrochinolinyl alebo tetrahydroizochinolinyl, kde zvyšok alebo bod pripojenia je na nearomatickom heteroatóme obsahujúcom kruhu. Termíny „heterocyklus“, „heterocyklyl“ alebo „heterocyklický“ či už nasýtený alebo čiastočne nenasýtený, tak isto označujú kruhy, ktoré sú prípadne substituované.

Termín „heteroaryl“, použitý samotne alebo ako súčasť väčšej skupiny ako „heteroaralkyl“ alebo „heteroarylalkoxy“ označu-

je heteroaromatické skupiny kruhu obsahujúce päť až štrnásť členov. Príklady heteroarylových kruhov zahrňujú 2-furanyl, 3-furanyl, *N*-imidazolyl, 2-imidazolyl, 4-imidazolyl, 5-imidazolyl, 3-furazanyl, 3-izoxazolyl, 4-izoxazolyl, 5-izoxazolyl, 2-oxadiazolyl, 5-oxadiazolyl, 2-oxazolyl, 4-oxazolyl, 5-oxazolyl, 1-pyrolyl, 2-pyrolyl, 3-pyrolyl, 1-pyrazolyl, 3-pyrazolyl, 4-pyrazolyl, 2-pyridyl, 3-pyridyl, 4-pyridyl, 2-pyrimidyl, 4-pyrimidyl, 5-pyrimidyl, 3-pyridazinyl, 2-tiazolyl, 4-tiazolyl, 5-tiazolyl, 5-tetrazolyl, 2-triazolyl, 5-triazolyl, 2-tienyl, 3-tienyl, karbazolyl, benzimidazolyl, benzotienyl, benzofuranyl, indolyl, chinolinyl, benzotriazolyl, benzotiazolyl, benzoxazolyl, benzimidazolyl, izochinolinyl, indolyl, akridinyl alebo benzoizoxazolyl. V rámci termínu „heteroaryl“ v tomto vynáleze sú zahrnuté skupiny, v ktorých je heteroaromatický kruh kondenzovaný k jednému alebo viacerým aromatickým alebo nearomatickým kruhom, kde zvyšok alebo bod pripojenia je na heteroaromatickom kruhu. Príklady zahŕňajú tetrahydrochinolinyl, tetrahydroizochinolinyl a pyrido[3,4-*d*]pyrimidinyl. Termín „heteroaryl“ tak isto označuje kruhy ktoré sú prípadne substituované. Termín „heteroaryl“ sa môže používať vzájomne zameniteľne s termínom „heteroarylový kruh“ alebo s termínom „heteroaromatický“.

Arylové (vrátane aralkylovej, aralkoxy, aryloxyalkylovej skupiny a podobne) alebo heteroarylové (vrátane heteroaralkylovej skupiny a heteroarylalkoxyskupiny a podobne) skupiny môžu obsahovať jeden alebo viacero substituentov. Príklady vhodných substituentov na nenasýtenom uhlíkovom atóme arylovej, heteroarylovej, aralkylovej alebo heteroaralkylovej skupiny zahrňujú halogén, skupinu $-R^0$, skupinu $-OR^0$, skupinu $-SR^0$, skupinu 1,2-metyléndioxy, skupinu 1,2-etyléndioxy, chránenú OH skupinu (ako je acyloxyskupina), fenylovú skupinu (Ph), substituovanú skupinu Ph, skupinu $-O(Ph)$, substituovanú skupinu $-O(Ph)$, skupinu $-CH_2(Ph)$, substituovanú skupinu $-CH_2(Ph)$, skupinu $-CH_2CH_2(Ph)$, substituovanú skupinu $-CH_2CH_2(Ph)$, skupinu $-NO_2$, skupinu $-CN$, skupinu $-N(R^0)_2$, skupinu $-NR^0C(O)R^0$, skupinu

$-\text{NR}^0\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^0)_2$, skupinu $-\text{NR}^0\text{CO}_2\text{R}^0$, skupinu $-\text{NR}^0\text{NR}^0\text{C}(\text{O})\text{R}^0$, skupinu $-\text{NR}^0\text{NR}^0\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^0)_2$, skupinu $-\text{NR}^0\text{NR}^0\text{CO}_2\text{R}^0$, skupinu $-\text{C}(\text{CO})\text{C}(\text{O})\text{R}^0$, skupinu $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{R}^0$, skupinu $-\text{CO}_2\text{R}^0$, skupinu $-\text{C}(\text{O})\text{R}^0$, skupinu $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^0)_2$, skupinu $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^0)_2$, skupinu $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^0$, skupinu $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^0)_2$, skupinu $-\text{S}(\text{O})\text{R}^0$, skupinu $-\text{NR}^0\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^0)_2$, skupinu $-\text{NR}^0\text{SO}_2\text{R}^0$, skupinu $-\text{C}(=\text{S})\text{N}(\text{R}^0)_2$, skupinu $-\text{C}(=\text{NH})-\text{N}(\text{R}^0)_2$, skupinu $-(\text{CH}_2)_y\text{NHC}(\text{O})\text{R}^0$, skupinu $-(\text{CH}_2)_y\text{NHC}(\text{O})\text{CH}(\text{V}-\text{R}^0)(\text{R}^0)$; kde R^0 je vodík, substituovaná alebo nesubstituovaná alifatická skupina, nesubstituovaný heteroarylový alebo heterocyklický kruh, fenyl (Ph), substituovaný Ph, skupina $-\text{O}(\text{Ph})$, substituovaná skupina $-\text{O}(\text{Ph})$, skupina $-\text{CH}_2(\text{Ph})$ alebo substituovaná skupina $-\text{CH}_2(\text{Ph})$; y je 0-6; a V je spojovacia skupina. Príklady substituentov na alifatickej skupine alebo fenylovom kruhu v R^0 zahrňujú aminoskupinu, alkylaminoskupinu, dialkylaminovú skupinu, aminokarbonylovú skupinu, halogén, alkyl, alkylaminokarbonylovú skupinu, dialkylaminokarbonylovú skupinu, alkylaminokarbonyloxyskupinu, dialkylaminokarbonyloxyskupinu, alkoxyskupinu, nitroskupinu, kyano skupinu, karboxyskupinu, alkoxykarbonylovú skupinu, alkylkarbonylovú skupinu, hydroxyskupinu, haloalkoxyskupinu alebo haloalkylovú skupinu.

Alifatická skupina alebo nearomatický heterocyklický kruh môžu obsahovať jeden alebo viacero substituentov. Príklady vhodných substituentov na nasýtenom uhlíku alifatickej skupiny alebo nearomatickom heterocyklickom kruhu zahŕňajú skôr uvedené príklady pre nenasýtený uhlík arylovej alebo heteroarylovej skupiny a nasledujúce substituenty:

skupinu $=\text{O}$, skupinu $=\text{S}$, skupinu $=\text{NNHR}^*$, skupinu $=\text{NN}(\text{R}^*)_2$, skupinu $=\text{N}-$, skupinu $=\text{NNHC}(\text{O})\text{R}^*$, skupinu $=\text{NNHCO}_2(\text{alkyl})$, skupinu $=\text{NNHSO}_2(\text{alkyl})$ alebo skupinu $=\text{NR}^*$, kde každý R^* je nezávisle vybraný zo skupiny obsahujúcej vodík, nesubstituovanú alifatickú skupinu alebo substituovanú alifatickú skupinu. Príklady substituentov na alifatickej skupine zahrňujú aminoskupinu, alkylaminoskupinu, dialkylaminoskupinu, aminokarbonylovú skupinu, halogén, alkyl, alkylaminokarbonylovú skupinu, dialkylaminokar-

bonylovú skupinu, alkylaminokarbonyloxyskupinu, dialkylaminokarbonyloxyskupinu, alkoxyskupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, karboxyskupinu, alkoxykarbonylovú skupinu, alkylkarbonylovú skupinu, hydroxyskupinu, haloalkoxyskupinu alebo haloalkylovú skupinu.

Vhodné substituenty na dusíku nearomatického heterocyklického kruhu zahŕňajú skupinu $-R^+$, skupinu $-N(R^+)_2$, skupinu $-C(O)R^+$, skupinu $-CO_2R^+$, skupinu $-C(O)C(O)R^+$, skupinu $-C(O)CH_2C(O)R^+$, skupinu $-SO_2R^+$, skupinu $-SO_2N(R^+)_2$, skupinu $-C(=S)N(R^+)_2$, skupinu $-C(=NH)-N(R^+)_2$ a skupinu $-NR^+SO_2R^+$; kde R^+ je vodík, alifatická skupina, substituovaná alifatická skupina, fenyl (Ph), substituovaný Ph, skupina $-O(Ph)$, substituovaná skupina $-O(Ph)$, skupina $-CH_2(Ph)$, substituovaná skupina $-CH_2(Ph)$ alebo nesubstituovaný heteroarylový alebo heterocyklický kruh. Príklady substituentov na alifatickej skupine alebo fenylovom kruhu zahŕňujú aminoskupinu, alkylaminoskupinu, dialkylaminoskupinu, aminokarbonylovú skupinu, halogén, alkylovú skupinu, alkylaminokarbonylovú skupinu, dialkylaminokarbonylovú skupinu, alkylaminokarbonyloxyskupinu, dialkylaminokarbonyloxyskupinu, alkoxyskupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, karboxyskupinu, alkoxykarbonylovú skupinu, alkylkarbonylovú skupinu, hydroxyskupinu, haloalkoxyskupinu alebo haloalkylovú skupinu.

Kombinácia substituentov alebo premenných je dovolená iba vtedy, keď táto kombinácia smeruje k stabilnej chemicky reálnej zlúčenine. Stabilná alebo chemicky reálna zlúčenina je taká zlúčenina, ktorej chemická štruktúra sa závažne nemení ak sa udržiava pri teplote 40 °C alebo nižšej v neprítomnosti vlhkosti alebo iných chemicky reaktívnych podmienok počas aspoň jedného týždňa.

Ak je R^1 skupina vo forme esteru alebo amidu, zlúčeniny podľa tohoto vynálezu podliehajú metabolickému štiepeniu pri cicavcoch na zodpovedajúce karboxylové kyseliny, ktoré sú aktívnymi kaspázovými inhibítormi. Pretože podliehajú metaboli-

ckému štiepeniu, presná povaha esterovej alebo amidickej skupiny nie je kriticky dôležitá na uskutočnenie tohoto vynálezu. Štruktúra skupiny R^1 sa môže pohybovať od relatívne jednoduchého dietylamidu do steroidného esteru. Príklady esterov R^1 karboxylových kyselín zahŕňajú, ale nie sú obmedzujúce, C_{1-12} alifatickú skupinu, ako napríklad alkylová skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov alebo cykloalkylová skupina obsahujúca 3 až 10 uhlíkových atómov, arylovú skupinu, ako je fenyl, aralkylovú skupinu, ako je benzyl alebo fenetylová skupina, heterocyklylovú skupinu, heterocyklylalkylovú skupinu, heteroarylovú skupinu a heteroaralkylovú skupinu. Príklady vhodných R^1 heterocyklylových kruhov zahrňujú, avšak nie sú obmedzujúce, 5 až 6 členné heterocyklické kruhy obsahujúce jeden alebo dva heteroatómy ako je piperidyl, piperazinylný alebo morfolinylný.

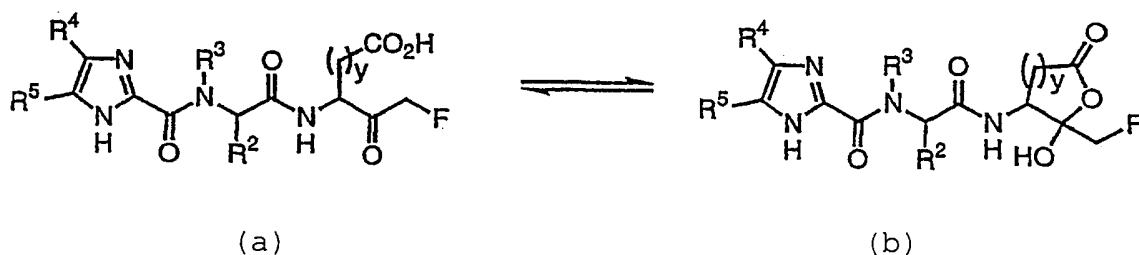
Príklady vhodných R^1 heteroarylových kruhov zahrňujú, avšak nie sú obmedzujúce, 5 až 6 členné heteroarylové kruhy obsahujúce jeden alebo dva heteroatómy ako je pyridyl, pyrimidinylný, furanylný a tienyl.

Amidy R^1 karboxylových kyselín môžu byť primárne, sekundárne alebo terciárne. Vhodné substituenty na amidickom dusíku zahŕňajú, avšak uvedené príklady nie sú obmedzujúce, jednu alebo dve skupiny vybrané navzájom nezávisle z alifatických, arylových, aralkylových, heterocyklylových, heterocyklylalkylových, heteroarylových a heteroaralkylových skupín opísaných skôr pre R^1 esterového alkoholu. Podobne sú zahrnuté ďalšie proliečivá v rámci tohoto vynálezu. Pozri Bradley D. Anderson, „Prodrugs for Improved CNS Delivery“ v *Advanced Drug Delivery Reviews* (1996), 19, 171-202.

Izostéry alebo bioizostéry R^1 karboxylových kyselín, esterov a amidov vznikajú výmenou atómu alebo skupiny atómov za vznik nového zlúčeniny s podobnými biologickými vlastnosťami ako materská karboxylová kyselina alebo ester. Bioizosterná náhrada môže byť na fyzikálnochemickom alebo topologickom základe. Prí-

kladom izosternej náhrady pre karboxylovú kyselinu je $\text{CONHSO}_2(\text{alkyl})$ ako napríklad CONHSO_2Me .

Zlúčeniny podľa tohoto vynálezu kde R^1 je skupina CO_2H alebo $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, γ -ketokyseliny alebo δ -ketokyseliny môžu existovať v roztoku buď v otvorenej forme (a) alebo v cyklizovanej hemiketálovej forme (b) ($y = 1$ pre γ -ketokyseliny, $y = 2$ pre δ -ketokyseliny). Reprézntácia jednej izomérskej formy v tomto vynáleze znamená, že zahŕňa aj ďalšiu formu.

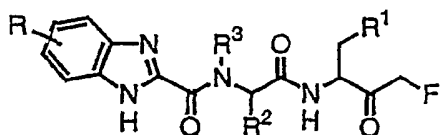


Podobne odborníkovi v odbore bude zrejmé, že niektoré zlúčeniny podľa tohoto vynálezu môžu existovať v tautomérnych formách alebo hydratovaných formách, všetky tieto formy zlúčenín sú v rámci platnosti tohoto vynálezu. Ak nie je uvedené inak, štruktúry tu zobrazené tak isto zahŕňajú všetky stereochemické formy štruktúry, to znamená *R* a *S* konfigurácie pre každé asymetrické centrum. Teda jednotlivé stereochemické izoméry rovnako ako enantiomérsne a diastereoizomérsne zmesi zlúčenín podľa tohoto vynálezu sú v rámci platnosti tohoto vynálezu. Ak nie je uvedené inak, štruktúry tu zobrazené, sú zamýšľané tak, že zahrňujú zlúčeniny, ktoré sa líšia iba prítomnosťou jedného alebo viacerých izotopovo obohatených atómov. Napríklad, zlúčeniny obsahujúce danú štruktúru s tou výnimkou, že vodík sa nahradil deutériom alebo trícium, alebo kde sa uhlík nahradil uhlíkom obohateným ^{13}C - alebo ^{14}C -, sú všetky v rámci platnosti tohoto vynálezu.

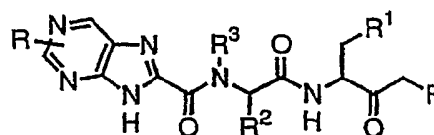
Množstvo dipeptidických ICE/kaspázových inhibítorov, ktoré sa všeobecne opísali vo WO 95/35308, sa teraz testovalo na aktivitu proti kaspázam v enzymatickom a na bunkách založenom teste

opísaných neskôr. Medzi testovanými zlúčeninami sa zistilo, že nové zlúčeniny vzorca I majú nečakane dobrú aktivitu proti mnohým kaspázovým enzýmom.

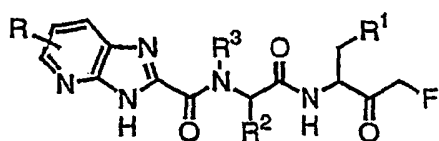
Keď R^4 a R^5 spoločne tvoria kruh kondenzovaný k imidazolu, tento vynález zahŕňa nasledujúce zlúčeniny:



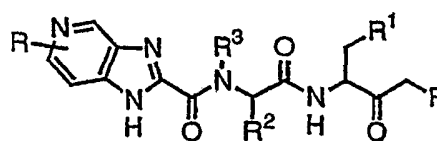
(I-A)



(I-B)



(I-C)



(I-D)

kde R^1 , R^2 a R^3 sú opísané pred týmto a R znamená jeden alebo viacero prípadných substituentov. Príklady R skupiny, ak sa viažu k polohe, ktorá nie je pripojená ku kruhovému dusíku, zahŕňajú alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 6 atómov uhlíka, alkoxy skupinu obsahujúcu 1 až 6 atómov uhlíka, halogén, alkylaminoskupinu, dialkylaminoskupinu, alkylaminokarbonylovú skupinu, dialkylaminokarbonylovú skupinu a alkylkarbonylovú skupinu. Príklady R skupín, keď sú viazané ku kruhovému dusíku, zahŕňujú alkyl obsahujúci 1 až 6 uhlíkových atómov, alkylaminovú skupinu a dialkylaminovú skupinu.

Výhodné zlúčeniny podľa tohoto vynálezu sú zlúčeniny vzorca I, ktoré majú jednu alebo viacero nasledujúcich znakov a výhodnejšie všetky z nasledujúcich znakov:

(a) R^1 je skupina CO_2H alebo jej estery, amidy alebo izostéry,

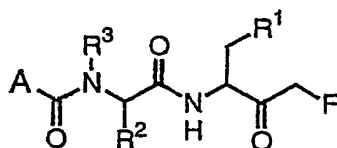
(b) R^2 je alkylová lineárna alebo rozvetvená skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov,

(c) R^3 je vodík, a

(d) R^4 a R^5 sú každý vodík, alebo R^4 a R^5 spoločne s kruhom ku ktorému sa viažu tvoria benzimidazolový kruh.

Keď R^2 je substituovaný, výhodné substituenty zahrňujú hydroxyskupinu, tioskupinu, aminoskupinu alebo halogén.

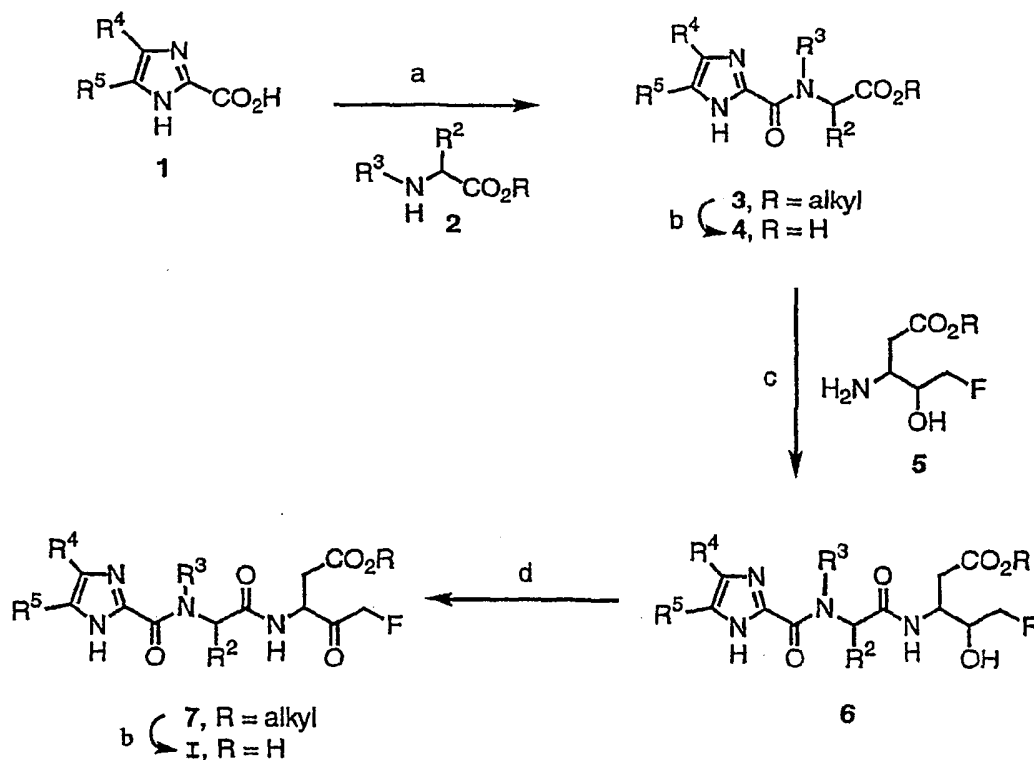
Konkrétne príklady zlúčenín vzorca I sú uvedené v Tabuľke 1.



| Číslo | Kruh | R^1 | R^2 | R^3 |
|-------|-----------------------------|---------|---------------|-------|
| 1 | Imidazol-2-yl | CO_2H | CH_3- | H |
| 2 | Benzimidazol-2-yl | CO_2H | CH_3- | H |
| 3 | Imidazol-2-yl | CO_2H | CH_3CH_2- | H |
| 4 | Imidazol-2-yl | CO_2H | $(CH_3)_2CH-$ | H |
| 5 | Benzimidazol-2-yl | CO_2H | $(CH_3)_2CH-$ | H |
| 6 | 9H-Purin-8-yl | CO_2H | $(CH_3)_2CH-$ | H |
| 7 | 3H-Imidazo[4,5-b]pyrid-2-yl | CO_2H | $(CH_3)_2CH-$ | H |

Zlúčeniny podľa tohoto vynálezu sa môžu všeobecne pripraviť metódami známymi odborníkom v odbore pre analogické zlúčeniny, ako sa ilustrovalo v nasledujúcej všeobecnej schéme I a ako sa uviedlo v nasledujúcich príkladoch prípravy.

Schéma I



Reakčné činidlá: (a) EDC, diizopropyletylamín, HOBT, 2; (b) hydrolýza alebo TFA/DCM; (c) DMAP, EDC, diizopropyletylamín, HOBT, 4; (d) Dess-Martin perjodičnan.

Schéma I ukazuje všeobecný postup prípravy zlúčenín podľa tohoto vynálezu. Použili sa nasledujúce skratky: EDC je 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etylkarbodiimid; HOBT je 1-hydroxybenzotriazol TFA je kyselina trifluóroctová, DCM je dichlórmetán a DMAP je 4-dimetylaminopyridín. Reakcie známej kyseliny imidazol-2-karboxylovej alebo známej kyseliny benzimidazol-2-karboxylovej (reprezentované generickou štruktúrou 1) s aminoesterovým derivátom 2 poskytuje amid 3. Ak ester 3 je *tert*-butylester, používa sa TFA v DCM na vznik kyseliny 4. Pre ďalšie R skupiny sa môže použiť štandardná hydrolýza. Kyselina 4 sa potom kondenzuje s aminoalkoholom 5 za vzniku derivátu 6. V závislosti od povahy R sa môže použiť aminoketón namiesto aminoalkoholu 5, čím sa obchádza nasledujúci oxidačný krok. V prípade fluorometylových ketónov, kde CO_2R je $\text{CO}_2\text{-}t\text{-Bu}$, môže sa amino-

alkohol **5** získať podľa metódy Revesz et al., Tetrahedron Lett., 1994, 35; 9693. Na záver sa hydroxyl v zlúčenine **6** oxiduje a zlúčenina sa potom ďalej spracováva v závislosti od povahy R^1 . Napríklad, ak produkt **I** vyžaduje, aby R^1 bola karboxylová kyselina, potom R^1 v **7** je výhodne ester a konečný krok v schéme je hydrolýza.

Zlúčeniny podľa tohoto vynálezu sa navrhli na inhibíciu kaspáz. Zlúčeniny podľa tohoto vynálezu sa teda môžu testovať na svoju schopnosť inhibovať apoptózu, uvoľňovanie IL-1 β alebo priamo kaspázovú aktivitu. Testy pre každú s týchto aktivít sú známe v odbore a sú detailne opísané nižšie v oddieli venovanom testovaniu.

V ďalšom uskutočnení vynález opisuje kompozície obsahujúce zlúčeniny podľa tohoto vynálezu alebo ich farmaceuticky prijateľné soli opísané skôr a farmakologicky prijateľný nosič.

Ak sa v týchto kompozíciách použijú farmaceuticky prijateľné soli zlúčenín podľa tohoto vynálezu, tieto soli sú výhodne odvodené od anorganických a organických kyselín a báz. Medzi týmito soľami kyselín sú zahrnuté nasledujúce: acetát, adipát, alginát, aspartát, benzoát, benzénsulfonát, bisulfát, butyrát, citrát, kamforát, kamforsulfonát, cyklopentánpropionát, diglukonát, dodecylsulfát, etánsulfonát, fumarát, glukohéptanoát, glycerofosfát, hemisulfát, heptanoát, hexanoát, hydrochlorid, hydrobromid, hydrojodid, 2-hydroxyetánsulfonát, laktát, maleát, metánsulfonát, 2-naftalénsulfonát, nikotínát, oxalát, pamoát, pektinát, persulfát, 3-fenylpropionát, pikrát, pivalát, propionát, sukcinát, vínan, tiokyanát, tosylát a undekanoát. Bázické soli zahrňujú amónne soli, soli alkalických kovov, ako sú sodné a draselné soli, soli alkalických zemín ako sú vápenaté a horečnaté soli, soli s organickými bázami, ako sú dicyklohexylamínové soli, *N*-metyl-D-glukamínové soli a soli s aminokyselinami ako sú arginín, lyzín a pod.

Tak isto bázické skupiny obsahujúce dusík môžu byť kvarte-
rizované činidlami ako sú nižšie alkylhalogenidy ako sú metyl,
etyl, propyl a butyl chloridy, bromidy a jodidy; dialkylsulfáty
ako sú dimetyl, dietyl, dibutyl a diamyl sulfáty, halogenidy s
dlhým reťazcom ako sú decyl, lauryl, myristyl a stearyl chlori-
dy, bromidy a jodidy, aralkyl halogenidy ako sú benzyl a fenetyl
bromidy a iné. Takto sa získavajú vodorozpustné alebo v oleji
rozpustné alebo dispergovateľné produkty.

Zlúčeniny použité v kompozíciách a spôsoboch podľa tohoto
vynálezu sa môžu tiež modifikovať pripojením vhodných funkčných
skupín na zvýšenie selektívnych biologických vlastností. Takéto
modifikácie sú v odbore známe a zahŕňajú také, ktoré zvyšujú
biologickú penetráciu do daného biologického systému (napr. krv,
lymfatický systém, centrálny nervový systém), zvýšenie orálnej
dostupnosti, zvýšenie rozpustnosti, na umožnenie podávania pomo-
cou injekcií, zmenu metabolizmu a zmenu rýchlosti vylučovania.

Farmaceuticky prijateľné nosiče, ktoré sa môžu použiť v
kompozíciách podľa tohoto vynálezu, zahŕňajú (avšak uvedené
príklady nie sú obmedzujúce) iónomeniče, aluminu, stearát hlini-
tý, lecitín, sérové proteíny ako napríklad ľudský sérový
albumín, pufrovacie látky ako sú fosfáty, glycín, kyselina sor-
bová, sorbát draselný, parciálne glyceridové zmesi nasýtených
rastlinných mastných kyselín, voda, soli alebo elektrolyty ako
protamín sulfát, hydrogenfosforečnan sodný, hydrogenfosforečnan
draselný, chlorid sodný, soli zinku, koloidný oxid kremičitý,
kremičitan horečnatý, polyvinylpyrolidón, zlúčeniny na báze ce-
lulózy, polyetylénglykol, sodná soľ karboxymetylcelulózy, poly-
akryláty, vosky, polyetylén-polyoxypropylén blokové polyméry,
polyetylénglykol a lanolín.

Podľa výhodného uskutočnenia sa kompozície podľa tohoto
vynálezu formulujú na farmaceutické podávanie pacientom, výhodne
ľudským pacientom. Jeden aspekt tohoto vynálezu sa vzťahuje na
spôsob liečenia kaspázami vyvolaných ochorení u pacientov, ktorí

to potrebujú, pričom spôsob zahŕňa podávanie terapeuticky účinného množstva zlúčeniny vzorca I alebo farmaceutickej kompozície s jej obsahom pacientom. Termín „pacient“ zahŕňa ľudské a veterinárne subjekty.

Takéto farmaceutické kompozície podľa tohoto vynálezu sa môžu podávať orálne, parenterálne, pomocou inhalačných sprejov, topicky, rektálne, nazálne, bukkálne, vaginálne alebo pomocou implantovaných rezervoárov. Termín „parenterálny“ použitý v tomto vynáleze zahŕňa subkutánne, intravenózne, intramuskulárne, intraartikulárne, intrasynoviálne, intrasternálne, intratekálne, intrahepatické, intralezionálne a intrakraniálne injekčné alebo infúzne techniky. Výhodne sú prípravky podľa tohoto vynálezu podávané orálne alebo intravenózne.

Sterilné injikovateľné formy kompozícií podľa tohoto vynálezu môžu byť vodné alebo olejovité suspenzie. Tieto suspenzie môžu byť formulované pomocou techník známych v odbore použitím vhodných dispergačných alebo zmáčacích činidiel a suspenzných činidiel. Sterilné injikovateľné prípravky môžu byť tiež sterilné injikovateľné roztoky alebo suspenzie v netoxických parenterálne prijateľných riedidlách alebo rozpúšťadlách, napríklad ako roztoky v 1,3-butándiole. Medzi akceptovateľné vehikulá a rozpúšťadlá sa môže zahrnúť voda, Ringerov roztok a izotonický roztok chloridu sodného. Okrem toho, sa sterilné fixované oleje konvenčne používajú ako rozpúšťadlá alebo suspenzné médium. Na tento účel sa môže použiť ľubovoľný nedráždivý fixovaný olej vrátane syntetických mono- alebo di-glyceridov. Mastné kyseliny ako je kyselina olejová a jej glyceridové deriváty sú užitočné v prípravkoch na injekcie ako napríklad prírodné farmaceuticky prijateľné oleje ako je olivový olej alebo ricínový olej, obzvlášť v ich polyoxyetylovaných verziách. Tieto olejové roztoky alebo suspenzie môžu tiež obsahovať riedidlá s dlhým alkoholovým reťazcom alebo dispergátory ako napríklad karboxymetylcelulózu alebo podobné dispergačné činidlá, ktoré sú bežne používané pri formulovaní farmaceuticky akceptovateľnej

dávkovej formy vrátane emulzií a suspenzií. Na účely formulácie môžu byť tiež použité ďalšie bežne používané surfaktanty ako *Tweens*, *Spans* a ďalšie emulgačné činidlá alebo činidlá na zvyšovanie biodostupnosti, ktoré sa bežne používajú pri výrobe farmaceuticky prijateľných pevných, kvapalných alebo iných dávkových foriem.

Farmaceutické kompozície podľa tohoto vynálezu sa môžu podávať orálne v mnohých orálne akceptovateľných dávkových formách zahrňujúcich (príklady nie sú obmedzujúce) kapsuly, tablety, vodné suspenzie alebo roztoky. V prípade tabliet na orálne použitie sú bežne používanými nosičmi laktóza a obilný škrob. Typicky sa pridávajú tiež lubrikačné činidlá ako napríklad stearát horečnatý. Na orálne podávanie vo forme kapsúl zahrňajú vhodné riedidlá laktózu a sušený obilný škrob. Keď sú vyžadované vodné suspenzie na orálne použitie aktívna ingrediencia sa kombinuje s emulgátormi a suspenznými činidlami. Ak sa to vyžaduje, môžu byť pridané niektoré sladidlá, chuťové činidlá alebo farbiace látky.

Alternatívne môžu byť farmaceutické kompozície podľa tohoto vynálezu podávané vo forme čapíkov na rektálne podávanie. Tieto môžu byť pripravené zmiešaním účinnej látky s vhodným neiritujúcim excipientom, ktorý je tuhý pri laboratórnej teplote, ale tekutý pri rektálnej teplote, a teda sa topí v rekte čím dochádza k uvoľňovaniu liečiva. Tieto materiály zahrňajú kakaové maslo, včelí vosk a polyetylén glykoly.

Farmaceutické kompozície podľa tohoto vynálezu sa môžu podávať tak isto topicky, najmä ak je cieľ liečenia miesto alebo orgán ľahko dostupný pre topickú aplikáciu, vrátane ochorenia oka, kože alebo spodného intestinálneho traktu. Vhodné topické formulácie sa ľahko pripravujú pre každý taký orgán alebo miesto.

Topická aplikácia pre spodný intestinálny trakt môže byť uskutočnená v prípravkoch pre rektálne čapíky (skôr uvedené)

alebo vo vhodných klystírových formuláciách. Môžu sa použiť tak isto topické transdermálne náplasti.

Pri topických aplikáciách sa môžu farmaceutické kompozície formulovať vo vhodných mastiach obsahujúcich aktívnu zložku suspendovanú alebo rozpustenú v jednom alebo viacerých nosičoch. Nosiče pre topické podávanie zlúčenín podľa tohoto vynálezu zahrňujú (ale nie sú tým obmedzované) minerálny olej, kvapalnú vazelínu, bielu vazelínu, propylénglykol, polyoxyetylén, polyoxypropylénové zlúčeniny, emulgované vosky a vodu. Alternatívne môžu byť farmaceutické prípravky podľa tohoto vynálezu formulované vo vhodných lotionoch alebo krémoch obsahujúcich ako aktívny komponent suspendovaný alebo rozpustený v jednom alebo viacerých farmaceuticky prijateľných nosičoch. Vhodné nosiče zahrňajú (ale príklady nie sú obmedzujúce) minerálny olej, sorbitan monoesterát, polysorbát 60, cetylesterový vosk, cetyl-arylalkohol, 2-oktyldodekanol, benzylalkohol a vodu.

Na oftalmické použitie môžu byť farmaceutické kompozície formulované ako mikronizované suspenzie v izotonickom pH adjustovanom sterilnom fyziologickom roztoku alebo výhodne ako roztoky v izotonickom pH adjustovanom sterilnom fyziologickom roztoku, buď s alebo bez konzervačných činidiel ako sú benzylalkónium chloridy. Alternatívne, farmaceutické kompozície na oftalmické použitie sa môžu formulovať v mazadlách ako je vazelína.

Farmaceutické kompozície podľa tohoto vynálezu môžu byť tak isto podávané pomocou nosného aerosólu alebo inhaláciou. Takéto kompozície sa pripravujú technikami známymi v odbore farmaceutických kompozícií a môžu sa pripraviť ako roztoky vo fyziologickom roztoku s použitím benzylalkoholu alebo iných vhodných konzervačných činidiel, promotérov absorpcie na zvýšenie biodostupnosti, fluorovaných uhľovodíkov a/alebo iných konvenčných solubilizačných alebo dispergačných činidiel.

Skôr opísané kompozície sú obzvlášť užitočné na liečenie ochorenia súvisiaceho s kaspázou. Termín „ochorenie súvisiace s kaspázou“ označuje ochorenia sprostredkované IL-1, ochorenie sprostredkované apoptózou, zápalové ochorenie, autoimunitné ochorenie, deštruktívne ochorenie kostí, proliferatívne ochorenie, infekčné ochorenie, degeneratívne ochorenie, ochorenie spojené s bunkovou smrťou, ochorenie spôsobené nadmernou konzumáciou alkoholu, ochorenie spôsobené vírusmi, uveitída, zápalová peritonitída, osteoartritída, pankreatitída, astma, syndróm respiračnej poruchy dospelých, glomerulonefritída, reumatoidná artritída, systémový lupus erythematosus, sklerodermia, chronická tyroiditída, Graveove ochorenie, autoimunitná gastritída, diabetes, autoimunitná hemolytická anémia, autoimunitná neutropénia, trombocytopenia, chronická aktívna hepatitída, ťažká myasténia, zápalové ochorenie čriev, Crohnova choroba, psoriáza, atopická dermatitída, zjazvenie, ochorenie súvisiace s reakciou štepu proti hostiteľovi, odmietnutie transplantovaného orgánu, osteoporóza, leukémia a podobné ochorenia, myelodysplastický syndróm, porucha kostí spojená s mnohonásobným myelómom, akútna myelogénna leukémia, chronická myelogénna leukémia, metastatický melanóm, Kaposiho sarkóm, viacnásobný myelóm, hemorragický šok, sepsa, septický šok, popáleniny, Shigellosa, Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, Huntingtonova choroba, Kennedyho choroba, priónové ochorenie, cerebrálna ischemia, epilepsia, myokardová ischemia, akútne a chronické srdcové ochorenia, infarkt myokardu, kongestívne zlyhanie srdca, ateroskleróza, bypass koronárnej artérie, spinálna muskulárna atrofia, amyotrofická laterálna skleróza, skleróza multiplex, HIV-príbuzná encefalitída, stárnutie, alopecia, neurologické poškodenie po mŕtvici, ulceratívna kolitída, traumatické poranenie mozgu, poranenie miechy, hepatitída B, hepatitída C, hepatitída G, žltá horúčka, horúčkovité ochorenie dengue alebo japonská encefalitída, rôzne formy ochorenia pečene, obličkové ochorenie, polyaptické obličkové ochorenie, gastrický a dvanástnikový vred spôsobený *H. pylori*, infekcia HIV, tuberkulóza a meningitída.

Výhodné použitie prípravkov podľa tohoto vynálezu zahŕňajú ochorenie sprostredkované IL-1, ochorenie sprostredkované apoptózou, zápalové ochorenie, autoimunitné ochorenie, deštruktívne ochorenie kostí, infekčné ochorenie, degeneratívne ochorenie, ochorenie spojené s bunkovou smrťou, ochorenie spôsobené nadmernou konzumáciou alkoholu, vírusové ochorenie, uveitída, zápalová peritonitída, osteoartritída, pankreatitída, syndróm respiračnej poruchy dospelých, glomerulonefritída, reumatoidná artritída, diabetes, trombocytopénia, zápalové ochorenie čriev, Crohnova choroba, psoriáza, zjazvenie, odmietnutie transplantovaného orgánu, osteoporóza, hemorragický šok, sepsa, septický šok, popáleniny, Shigellosa, Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, Huntingtonova choroba, Kennedyho choroba, priónové ochorenie, cerebrálna ischemia, epilepsia, akútne a chronické srdcové ochorenia, bypass koronárnych artérií, amyotrofická laterálna skleróza, skleróza multiplex, alopecia, ulceratívna kolitída, traumatické poranenie mozgu, poranenie miechy, rôzne formy ochorení pečene, obličkové ochorenie, gastrický a dvanástnikový vred spôsobený *H. pylori* a meningitída.

Zlúčeniny a kompozície podľa tohoto vynálezu sú tiež vhodné na liečenie komplikácií spojených s bypassom srdcových artérií. Zlúčeniny a prípravky podľa tohoto vynálezu sú tiež obzvlášť užitočné na liečenie rakoviny a to buď samotné alebo v kombinácii s ďalšou terapiou ako je chemoterapia alebo rádioterapia. Zlúčeniny a kompozície môžu byť tiež užitočné ako zložky imuno-terapie na liečenie rôznych foriem rakoviny.

Množstvo zlúčeniny prítomnej v kompozíciách podľa tohoto vynálezu by malo byť dostatočné na spôsobenie detekovateľného zníženia závažnosti ochorenia alebo kaspázovej aktivity a/alebo bunkovej apoptózy, ktoré sa meria pomocou ľubovoľnej z analýz opísaných v príkladoch.

Podľa ďalšieho uskutočnenia kompozície podľa tohoto vynálezu môžu ďalej zahŕňať ďalšie terapeutické činidlo. Tieto

čínidlá zahŕňajú (pravdaže vymenovanie príkladov nie je úplné) trombolytické čínidlá ako sú aktivátory tkanivového plazminogénu a streptokinázy. Ak je použité ďalšie čínidlo, druhé čínidlo sa môže podávať buď v oddelenej dávkovej forme alebo ako súčasť jedinej dávkovej formy so zlúčeninou alebo kompozíciami podľa tohoto vynálezu.

Je nutné chápať, že konkrétna dávka a liečebný režim pre konkrétneho pacienta bude závisieť od mnohých faktorov ako sú aktivita konkrétnej použitej zlúčeniny, vek, telesná hmotnosť, všeobecná kondícia, pohlavie, strava, čas podávania, rýchlosť vylučovania, kombinácia liečiv a posúdenie ošetrojúceho lekára a závažnosť konkrétnej liečenej choroby. Množstvo aktívnej zložky bude tiež závisieť od konkrétnej zlúčeniny a od ďalšieho terapeutického čínidla ak je prítomné v kompozícii.

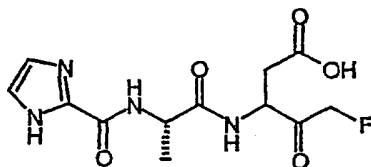
Vo výhodnom uskutočnení vynález opisuje spôsob liečenia cicavcov, obsahujúcim jedno z už spomenutých ochorení, zahrňujúcim krok podávania farmaceuticky prijateľného skôr opísanej kompozície už spomenutým cicavcom. V tomto uskutočnení, ak sa pacientovi podáva ďalšie terapeutické čínidlo alebo kaspázový inhibítor, môže sa podávať spoločne so zlúčeninou podľa tohoto vynálezu v jednej dávkovej forme alebo ako oddelená dávková forma. Ak je podávaný v oddelenej dávkovej forme, môže sa ďalší kaspázový inhibítor alebo čínidlo podávať súčasne s podávaním prijateľnej kompozície zahrňujúceho zlúčeninu podľa tohoto vynálezu, prípadne pred tým alebo potom.

Pre lepšie pochopenie vynálezu sú uvedené nasledujúce príklady prípravy a analýzy zlúčenín podľa tohoto vynálezu. Tieto príklady sú určené na ilustrovanie vynálezu a v žiadnom prípade nie sú zamýšľané ako obmedzujúce pre rozsah daného vynálezu.

Príklady uskutočnenia vynálezu

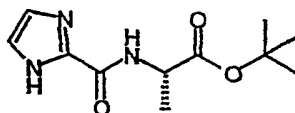
Príklad 1

Kyselina [3*S*/*R*, (2*S*)]-5-fluór-3-{2-[(1*H*-imidazol-2-karbonyl)amino]propionylamino}-4-oxopentánová, trifluóracetátová soľ (Zlúčenina 1)



Metóda A:

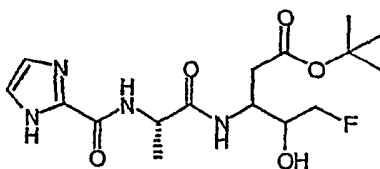
terc-Butylester kyseliny (2*S*)-2-[(1*H*-imidazol-2-karbonyl)amino]propionovej



K roztoku kyseliny 1*H*-imidazol-2-karboxylovej (0,17 g) v *N,N*-dimetylformamide (DMF) (3 ml) sa pridala alanín terc-butylester hydrochlorid (0,22 g), diizopropyletylamín (0,27 ml) a HOBT (0,41 g), zmes sa ochladila na 0 °C a reakčná zmes sa nechala reagovať s EDC.HCl (0,32 g). Chladiaci kúpeľ sa odstránil a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 18 hod a potom sa zriedila etylacetátom a premyla vodou a solankou, vysušila (MgSO₄) a zakoncentrovala sa pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistil chromatografiou na silikagéli použitím zmesi 30 % etylacetátu v hexáne pričom vznikne zlúčenina uvedená v názve vo forme bezfarebného oleja (0,263 g, 73%): ¹H NMR 400 MHz CDCl₃: 1,50 (9H, s), 1,51 (3H, d, J 7,2), 3,70 (1H, m), 7,28 (2H, s), 7,78 (1H, d, J 7,6), 11,49 (1H, brs).

Metóda B:

terc-Butylester kyseliny [3*S*/*R*, 4*S*/*R*, (2*S*)]-5-fluór-4-hydroxy-3-{2-[(1*H*-imidazol-2-karbonyl)amino]propionylamino}pentánovej

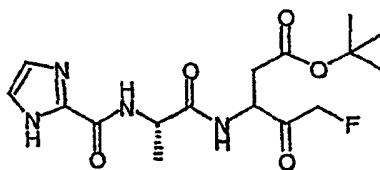


Roztok *tert*-butylesteru kyseliny (2*S*)-2-[(1*H*-imidazol-2-karbonyl)amino]propionovej (0,257 g) v dichlórmetáne (2 ml) sa ochladil na teplotu 0 °C a prikvapkala sa kyselina tri-fluóroctová a reakčná zmes sa zahriala na laboratórnu teplotu a miešala 2 hodiny. Zmes sa potom odparila pri zníženom tlaku. Zvyšok sa odparil s dichlórmetánom (dvakrát) a toluénom (dva-krát) pričom vznikla požadovaná kyselina (2*S*)-2-[(1*H*-imi-dazol-2-karbonyl)amino]propionová, ktorá sa použila bez ďalšieho čistenia (0,40 g).

Roztok kyseliny (2*S*)-2-[(1*H*-imidazol-2-karbonyl)amino]pro-pionovej a *tert*-butylesteru 3-amino-5-fluór-4-hydroxypentánovej (0,254 g) v THF (7 ml) sa ochladil na teplotu 0 °C a pridalo sa DMAP (0,151 g), diizopropyletylamín (0,56 ml), HOBT (0,16 g) a EDC.HCl (0,23 g). Reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote 18 hodín a zmes sa potom odparila pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistil chromatografiou na silikagéli použitím 5 % me-tanolu v dichlórmetáne za vzniku zlúčeniny uvedenej v názve vo forme bezfarebnej tuhej látky (0,386 g, 97%): ¹H NMR 400 MHz CDCl₃/CD₃OD 1,40 (12H, m), 3,92 (1H, m), 4,20-4,55 (4H, m), 7,11 (2H, d, J 15); ¹⁹F NMR CDCl₃ -229,74(m), -229,84 (m), -230,54 (m), -230,87 (m).

Metóda C

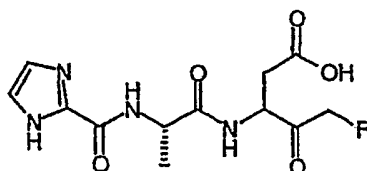
tert-Butylester kyseliny [3*S*/*R*, (2*S*)]-5-fluór-3-{2-[(1*H*-imidazol-2-karbonyl)amino]propionylamino}-4-oxopentánovej



Roztok *terc*-butylesteru [3*S*/*R*, (2*S*)]-5-fluór-4-hydroxy-3-
 -{2-[(1*H*-imidazol-2-karbonyl)amino]propionylamino}pentánovej
 (0,381 g) v dichlórmetáne sa ochladil na teplotu 0 °C a pridal
 sa 1,1,1-triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1*H*)-ón (0,476
 g). Zmes sa miešala pri laboratórnej teplote 2 hod a potom sa
 pridala ďalšia časť 1,1,1-triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodox-
 ol-3(1*H*)-ón (0,05 g) a reakčná zmes sa miešala 90 minút a potom
 sa koncentrovala pri zníženom tlaku. Zvyšok sa rozpustil v etyl-
 acetáte a premyl zmesou 1:1 vodného roztoku NaHSO₄ a vodného
 roztoku Na₂S₂O₃. Organická vrstva sa oddelila, sušila nad MgSO₄ a
 koncentrovala sa. Zvyšok sa čistil flash chromatografiou použi-
 tím zmesi 5 % metanolu v dichlórmetáne pričom vznikne zlúčenina
 uvedená v názve vo forme bezfarebnej peny (319 mg, 84 %): ¹H NMR
 400 MHz CDCl₃: 1,37 + 1,43 (9H, 2xs), 1,54 (3H, m), 2,85 (1H, m),
 3,03 (1H, m), 4,85-5,30 (4H, m), 7,18 (2H, d, J 16), 7,90 (1H,
 m), 7,98 (1H, m), 11,37+11,45 (1H, 2 x s); ¹⁹F NMR 376 MHz CDCl₃:
 -231,85 (t, J 48), -232,12 (t, J 48).

Metóda D:

Zlúčenina 1

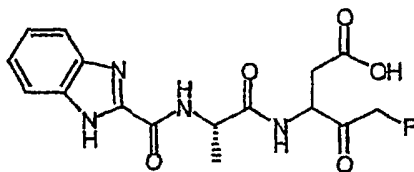


Roztok *terc*-butylesteru kyseliny [3*S*/*R*, (2*S*)]-5-fluór-3-{2-
 -[(1*H*-imidazol-2-karbonyl)amino-7-propionylamino}-4-oxopentáno-
 vej (0,31 g) v dichlórmetáne (2 ml) sa ochladilo na teplotu 0 °C
 a prikvapkala sa kyselina trifluóroctová a reakčná zmes sa
 zahriala na laboratórnu teplotu a miešala sa 2 hod a potom sa
 odparila pri zníženom tlaku. Zvyšok sa odparil s dichlórmetánom
 (dvakrát) a trituroval sa éterom pričom vznikla zlúčenina uvede-
 ná v názve vo forme bezfarebnej tuhej látky (0,35 g): IR 1785,7;
 1730,1; 1653,7; 1538,1; 1458,2; 1384,2; 1268,7; 1188,4; 1150,9;
 1053,3; 992,13; 931,8; 867,9; 847,0; 768,5 cm⁻¹; ¹H NMR 400 MHz

DMSO-d₆: 1,37 (3H, d); 2,40-2,85 (2H, m, asp CH₂); 4,34-4,75 (2,5H, m; 2xCH+0,5CH₂F); 5,13-5,41 (1,5H, m, CH₂F); 7,50 (2H, s, imidazol CH); 8,58-8,79 (2H, m, NH); ¹³C NMR 100 MHz DMSO-d₆: 18,13, 18,85 (ala CH₃); 33,13, 34,75 (asp CH₂); 48,68; 52,41 (CH); 83,46, 85,21 (CH₂F); 123,67 (CH imidazol); 139,57, 158,86, 172,35 (m) (C=O s); 202,70 (5 píkov ketón); ¹⁹F NMR 376 MHz DMSO-d₆ dekaplované: -75,19 (3F, s, CF₃COOH); -226,89, 226,96, 230,80, 231,59, 232,95, 233,06 (1F, 6xs, COCH₂F otvorený a uzavretý kruh).

Príklad 2

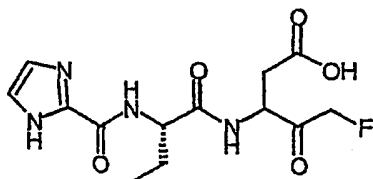
Kyselina [3*S*/*R*, (2*S*)]-3-{2-[(1*H*-benzimidazol-2-karboxyl)amino]-propionylamino}-5-fluór-4-oxopentánová, trifluóracetátová soľ (Zlúčenina 2)



Zlúčenina sa pripravila z kyseliny 1*H*-benzimidazol-2-karboxylovej použitím postupov opísaných skôr v metódach A až D (142 mg, 90 % pre konečný krok): (zlúčenina izolovaná ako TFA soľ) belavá tuhá látka; IR (tuhá látka, cm⁻¹): 3277,9, 1654,6, 1526,6, 1188,6, 1142,5, 1050,4, 927,5, 748,2, 712,4; ¹H NMR (DMSO-d₆): 1,42 (3H, d), 2,51-2,95 (2H, m), 4,21-4,75 (2H, m), 4,76-5,60 (3H, brm), 7,41 (2H, m), 7,65 (2H, m), 8,21-9,05 (2H, m); ¹³C NMR (DMSO-d₆): 18,0, 18,7, 18,8 (ala CH₃), 37,2, 34,6, 34,7 (Asp CH₂), 47,6, 48,8, 48,85, 49,1 (Asp CH); 52,0, 52,5 (Ala CH), 83,5, 85,2, 85,3, 103,8, 106,0 (CH₂F), 116,6, 123,9 (Aryl CH), 145,3, 145,4 (Aryl C), 158,4, 158,7, 158,8, 172,1, 172,2, 172,4, 172,5, 172,6, 172,7, 173,2 (NC=O), 202,6, 202,7, 202,8, 202,9 (C=O); nájdené M⁺ 364,1177. C₁₆H₁₇FN₄O₅ vyžaduje M⁺ 364,1183 (1,8 ppm).

Príklad 3

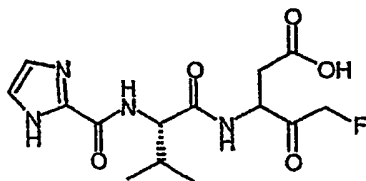
Trifluóracetátová soľ kyseliny [3*S*/*R*, (2*S*)]-5-fluór-3-{2-[(1*H*-imidazol-2-karbonyl)amino]butyrylamino}-4-oxopentánovej, (Zlúčenina 3)



Táto zlúčenina sa pripravila z kyseliny 1*H*-benzimidazol-2-karboxylovej použitím podobných postupov opísaných už skôr v metódach A až D (147 mg, 64 % pre konečný krok): IR: 3280,0, 1659,5, 157,9, 1192,5, 1141,6, 784,7, 721,1 cm^{-1} ; ^1H NMR 400 MHz (DMSO- d_6): 0,95 (3H, m), 1,78 (2H, m), 2,58-2,98 (2H, m), 4,30-4,78 (2,5H, m), 5,10-5,42 (1,5H, m), 7,41 (2H, s), 8,44+8,75 (2H, 2xm); ^{13}C NMR 100 MHz (DMSO- d_6): 10,19, 10,29, 15,52 (CH_3), 25,42, 25,49, 26,03, 33,06, 33,13, 34,65, 34,80 (CH_2); 47,45, 47,53, 52,0, 53,95, 54,13 (CH), 65,27 (CH_2), 84,36 (d, J 177, CH_2F), 103,81, 104,00 (C), 123,89 (CH), 139,74 (C=O), 156,9, 158,39, 158,74, 171,51, 171,8, 171,83, 172,02, 173,11 (C=O), 202,51, 202,66, 202,76, 202,90 ($\text{CH}_2\text{FC=O}$); ^{19}F NMR 376 MHz (DMSO- d_6): -226,82 (t, J 45), -226,84 (t, J 45), -230,67 (t, J 45), -231,43 (t, J 45), -232,79 (t, J 45), -232,82 (t, J 45).

Príklad 4

Kyselina [3*S*/*R*, (2*S*)]-5-fluór-3-{2-[(1*H*-imidazol-2-karbonyl)amino]-3-metylbutyrylamino}-4-oxopentánová, (Zlúčenina 4)

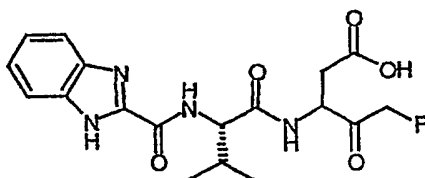


Táto zlúčenina sa pripravila z kyseliny 1*H*-benzimidazol-2-karboxylovej použitím postupov opísaných už skôr v metódach A až D (80 g, 85 % pre konečný krok): biely prášok, IR (tuhá látka, cm^{-1}): 1736, 1649, 1557, 1511, 1145, 1434, 1393; ^1H

NMR (DMSO+TFA): 0,92-0,95 (6H, m), 2,06-2,15 (1H, m), 2,56-2,90 (2H, m), 4,33-5,36 (4H, m), 7,79 (2H, s), 8,58-8,90 (2H, m); ¹⁹F NMR (DMSO-TFA): -226,8 (t), -230,6 (t), -231,0 (t), -232,5 (t), -232,6 (t); ¹³C NMR (DMSO+TFA): 18,1/18,4 (CH₃), 19,2/19,3 (CH₃), 34,5/34,8 (CH₂); 51,9/52,2 (CH), 58,5/58,8 (CH), 84,3/84,4 (2d, J 178/178,7, CH₂F), 122,0 (CH), 137,5 (C), 153,7 (C), 170,6 (C), 171,9/172,0 (C), 202,5/202,8 (2d, J 14,6/14,6, CO).

Príklad 5

Kyselina [3*S*/*R*, (2*S*)]-3-{2-[(1*H*-benzimidazol-2-karbonyl)amino]-3-metylbutyrylamino}-5-fluór-4-oxopentánová, (Zlúčenina 5)



Táto zlúčenina sa pripravila z kyseliny 1*H*-benzimidazol-2-karboxylovej použitím postupov opísaných už skôr v metódach A až D (90 mg, 87 % pre konečný krok): biely prášok, IR (tuhá látka, cm⁻¹): 1737, 1665, 1527, 1373, 1194, 1137; ¹H NMR (DMSO): 0,90-0,95 (6H, m), 2,15-2,18 (1H, m), 2,59-2,92 (2H, m), 4,33-4,76 a 5,12-5,38 (4H, 2m), 7,31-7,35 (2H, m), 7,66-7,68 (2H, m), 8,36-8,82 (2H, m); ¹⁹F NMR (DMSO+TFA): -226,7 (t), -226,9 (t), -232,4 (t), -232,6 (t); ¹³C NMR (DMSO): 18,3/18,4/18,5/18,7 (CH₃), 19,4/19,5 (CH₃), 31,0/31,1/31,6 (CH); 34,7/34,8 (CH₂), 51,8/52,1 (CH), 57,9/58,3/58,6 (CH), 84,3/84,4 (2d, J 178,7/178,7, CH₂F), 124,0 (CH), 145,2/145,2 (C), 158,4/158,5/158,7/158,8 (C), 170,9/171,1/171,2 (C), 172,0/172,0 (C), 173,1 (C), 173,9 (C), 202,06/202,6 (2d, J 13,8, CO).

Príklad 6

Enzýmové stanovenie

Stanovenie inhibície kaspázy je založené na štiepení fluo-rogénneho substrátu rekombinantnou purifikovanou ľudskou kaspázou -1, -3 alebo -8. Stanovenia sa uskutočňujú v podstate rovnakým spôsobom ako sa opísalo v WO 0142216.

Zlúčeniny 1 až 5 každá vykazuje hodnotu k_{inakt} vyššiu ako $20000 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ proti každej z kaspáz: kaspáza-1, kaspáza-3 a kaspáza-8.

Príklad 7

Inhibícia sekrécie IL-1 β zo zmiešanej populácie mononukleárnych buniek periférálnej krvi (PBMC)

Processing pre-IL-1 β kaspázou-1 sa môže merať v bunkovej kultúre použitím rôznych bunkových zdrojov. Ľudský PBMC získaný zo zdravých darcov poskytol zmiešanú populáciu lymfocytov a mononukleárnych buniek, ktoré produkujú spektrum interleukínov a cytokínov ako odozvu na mnoho tried fyziologických stimulátorov. Podmienky stanovenia použité na inhibíciu sekrécie IL-1 β zo zmiešanej populácie mononukleárnych buniek periférálnej krvi môžu byť nájdené v WO 0142216.

Inhibičné schopnosti zlúčenín podľa tohoto vynálezu sa môžu reprezentovať pomocou hodnôt IC₅₀, čo je koncentrácia inhibítora, pri ktorej je v supernatante detegovaných 50% zrelého IL-1 β v porovnaní s pozitívnymi kontrolami. Zistilo sa, že testované zlúčeniny poskytujú hodnoty IC₅₀ nižšie ako 1 μM na inhibíciu sekrécie IL-1 β z PBMC.

Príklad 8

Stanovenie anti-Fas indukovanej apoptózy

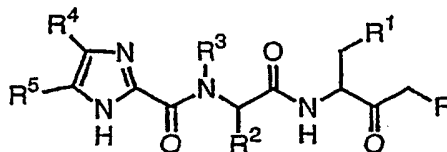
Bunková apoptóza môže byť indukovaná viazaním Fas ligandu (FasL) na jeho receptor, CD95 (Fas). Podmienky testu, pri ktorom sa meria vplyv zlúčeniny podľa tohoto vynálezu na inhibíciu kaspázu-8 sprostredkovanej dráhy apoptózy, sa môžu nájsť v WO 0142216.

Zistilo sa, že zlúčeniny 1 až 5 vykazujú hodnoty IC_{50} nižšie ako 200 nM pre aktivitu pri stanovení FAS indukovanej apoptózy.

Zatiaľ čo sa opísalo množstvo uskutočnení tohoto vynálezu, je zrejmé, že základné uvedené príklady sa môžu zmeniť, pričom vzniknú nové uskutočnenia, ktoré používajú zlúčeniny a spôsoby podľa tohoto vynálezu. Je teda zrejmé, že rozsah tohoto vynálezu je ďalej skôr definovaný pripojenými nárokmi než konkrétnymi uskutočneniami, ktoré sa reprezentovali pomocou príkladov.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Zlúčenina vzorca I:



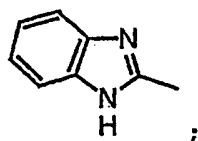
kde

R^1 je skupina CO_2H , skupina $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ alebo ich estery, amidy alebo izostéry,

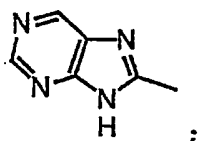
R^2 je vodík alebo prípadne substituovaná alifatická skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov,

R^3 je vodík alebo prípadne substituovaná alifatická skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov, a

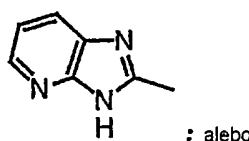
R^4 a R^5 sú každý nezávisle jeden od druhého vybrané zo skupiny obsahujúcej vodík, prípadne substituovanú alifatickú skupinu obsahujúcu 1 až 6 uhlíkových atómov alebo R^4 a R^5 tvoria spoločne s kruhom, ku ktorému sa viažu, prípadne substituovaný bicyklický kruh, pričom uvedený bicyklický kruh je vybraný z nasledujúcej skupiny:



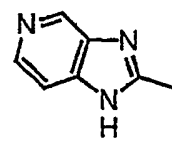
(a)



(b)



(c)



(d)

2. Zlúčenina podľa nároku 1, kde R^2 je prípadne substituovaná priama alebo rozvetvená alkylová skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov,

3. Zlúčenina podľa nároku 1, ktorá má jeden alebo viac znakov vybraných zo skupiny obsahujúcej:

(a) R^1 je skupina CO_2H alebo jej estery, amidy alebo izostéry,

(b) R^2 je alkylová lineárna alebo rozvetvená skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov,

(c) R^3 je vodík, a

(d) R^4 a R^5 sú každý vodík, alebo R^4 a R^5 spoločne s kruhom ku ktorému sa viažu tvoria benzimidazolový kruh.

4. Zlúčenina podľa nároku 3, ktorá má nasledujúce znaky:

(a) R^1 je skupina CO_2H alebo jej estery, amidy alebo izostéry,

(b) R^2 je alkylová lineárna alebo rozvetvená skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov,

(c) R^3 je vodík, a

(d) R^4 a R^5 sú každý vodík, alebo R^4 a R^5 spoločne s kruhom ku ktorému sa viažu tvoria benzimidazolový kruh.

5. Zlúčenina vybraná zo skupiny obsahujúcej:

kyselina [3S/R, (2S)]-5-fluór-3-{2-[(1H-imidazol-2-karbonyl)amino]propionylamino}-4-oxopentánová,

terc-butylester kyseliny [3S/R, (2S)]-5-fluór-3-{2-[(1H-imidazol-2-karbonyl)amino]propionylamino}-4-oxopentánovej,

kyselina [3S/R, (2S)]-3-{2-[(1H-benzimidazol-2-karbonyl)amino]propionylamino}-5-fluór-4-oxopentánová,

kyselina [3S/R, (2S)]-5-fluór-3-{2-[(1H-imidazol-2-karbonyl)amino]butyrylamino}-4-oxopentánová,

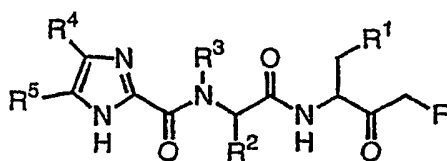
kyselina [3S/R, (2S)]-5-fluór-3-{2-[(1H-imidazol-2-karbonyl)amino]metylbutyrylamino}-4-oxopentánová,

kyselina [3S/R, (2S)]-3-{2-[(1H-benzimidazol-2-karbonyl)amino]-3-metylbutyrylamino}-5-fluór-4-oxopentánová,

alebo ich adičné soli.

6. Farmaceutická kompozícia v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že obsahuje zlúčeninu podľa niektorého z nárokov 1 až 5 a farmaceuticky prijateľný nosič.

7. Spôsob liečenia ochorenia súvisiaceho s kaspázou u pacienta, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že sa pacientovi podáva terapeuticky účinné množstvo zlúčeniny všeobecného vzorca I:



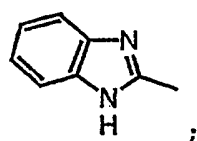
kde

R^1 je skupina CO_2H , skupina CH_2CO_2H alebo ich estery, amidy alebo izostéry,

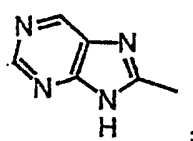
R^2 je vodík alebo prípadne substituované alifatická skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov,

R^3 je vodík alebo prípadne substituovaná alifatická skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov, a

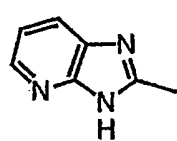
R^4 a R^5 sú každý nezávisle jeden od druhého vybrané zo skupiny obsahujúcej vodík, prípadne substituovanú alifatickú skupinu obsahujúcu 1 až 6 uhlíkových atómov alebo R^4 a R^5 tvoria spoločne s kruhom, ku ktorému sa viažu, prípadne substituovaný bicyklický kruh, pričom uvedený bicyklický kruh je vybraný z nasledujúcej skupiny:



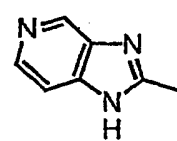
(a)



(b)



(c)



(d)

8. Spôsob podľa nároku 7, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že choroba alebo liečenie je vybrané zo skupiny obsahujúcej ochorenie sprostredkované IL-1, ochorenie sprostredkované apoptózou, zápalové ochorenie, autoimunitné ochorenie, deštruktívne ochorenie kostí, proliferatívne ochorenie, infekčné ochorenie, degeneratívne ochorenie, ochorenie spojené s bunkovou smrťou, ochorenie spôsobené nadmernou konzumáciou alkoholu, ochorenie spôsobené vírusmi, uveitídu, zápalovú peritonitídu, osteoartritídu, pankreatitídu, astmu, syndróm respiračnej poruchy dospelých, glomerulonefritídu, reumatoidnú artritídu, systémový lupus erythematosus, sklerodermiu, chronickú tyroiditídu, Graveove ochorenie, autoimunitnú gastritídu, diabetes, autoimunitnú hemolytickú anémiu, autoimunitnú neutropéniu, trombocytopéniu, chronickú aktívnu hepatitídu, ťažkú myasténiu, zápalové ochorenie čriev, Crohnovu chorobu, psoriázu, atopickú dermatitídu, zjazvenie, ochorenie súvisiace s reakciou štepu proti hostiteľovi, odmietnutie transplantovaného orgánu, osteoporózu, leukémiu a podobné ochorenia, myelodysplastický syndróm, ochorenie kostí spojenú s mnohonásobným myelómom, akútnu myelogénnu leukémiu, chronickú myelogénnu leukémiu, metastatický melanóm, Kaposiho sarkóm, mnohonásobný myelóm, hemorragický šok, sepsu, septický šok, popáleniny, Shigellosu, Alzheimerovu chorobu, Parkinsonovu chorobu, Huntingtonovu chorobu, Kennedyho chorobu, priónové ochorenie, cerebrálnu ischémiu, epilepsiu, myokardovú ischémiu, akútne a chronické srdcové ochorenia, infarkt myokardu, kongestívne zlyhanie srdca, aterosklerózu, bypass srdcovej artérie, spinálnu muskulárnu atrofiu, amyotrofickú laterálnu sklerózu, sklerózu multiplex, HIV-príbuznú encefalitídu, starnutie, alopeciu, neurologické poškodenie po mŕtvici, ulceratívnu kolitídu, traumatické poranenie mozgu, poranenie miechy, hepatitídu B, hepatitídu C, hepatitídu G, žltú horúčku, horúčkovité ochorenie dengue alebo japonskú encefalitídu, rôzne formy ochorenia pečene, obličkové ochorenie, polyaptické obličkové ochorenie, gastrický a dvanásnikový vred spôsobený *H. pylori*, infekciu HIV, tuberkulózu a meningitídu, liečenie komplikácií spo-

jených s bypassom srdcových artérií alebo imunoterapiu na liečenie rôznych foriem rakoviny.

9. Spôsob podľa nároku 8, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že choroba je vybraná zo skupiny obsahujúcej ochorenie sprostredkované IL-1, ochorenie sprostredkované apoptózou, zápalové ochorenie, autoimunitné ochorenie, deštruktívne ochorenie kostí, infekčné ochorenie, degeneratívne ochorenie, ochorenie spojené s bunkovou smrťou, ochorenie spôsobené nadmernou konzumáciou alkoholu, ochorenie spôsobené vírusmi, uveitídu, zápalovú peritonitídu, osteoartritídu, pankreatitídu, astmu, syndróm respiračnej poruchy dospelých, glomerulonefritídu, reumatoidnú artritídu, diabetes, trombocytopéniu, zápalové ochorenie čriev, Crohnovu chorobu, psoriázu, zjazvenie, odmietnutie transplantovaného orgánu, osteoporózu, hemorragický šok, sepsu, septický šok, popáleniny, Shigellosu, Alzheimerovu chorobu, Parkinsonovu chorobu, Huntingtonovu chorobu, Kennedyho chorobu, priónové ochorenie, cerebrálnu ischémiu, epilepsiu, akútne a chronické srdcové ochorenia, bypass srdcových artérií, amyotrofickú laterálnu sklerózu, sklerózu multiplex, alopeciu, ulceratívnu kolitídu, traumatické poranenie mozgu, poranenie miechy, rôzne formy ochorení pečene, obličkové ochorenia, gastrický a dvanástnikový vred spôsobený *H. pylori* a meningitídu.

10. Spôsob podľa nároku 7, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že choroba alebo stav je komplikácia spojená s bypassom srdcových tepien.

11. Spôsob podľa nároku 7, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že choroba je rakovina.

12. Spôsob podľa nároku 11, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že sa tento spôsob používa v kombinácii s chemoterapiou alebo rádioterapiou.

13. Spôsob podľa nároku 11, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zlúčenina je zložkou imunoterapie na liečenie rakoviny.

14. Spôsob podľa niektorého z nárokov 7 až 13, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zlúčenina má jeden alebo viac znakov vybraných zo skupiny obsahujúcej:

a) R^1 je skupina CO_2H alebo jej estery, amidy alebo izostéry,

b) R^2 je lineárna alebo rozvetvená alkylová skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov,

c) R^3 je vodík, a

d) R^4 a R^5 sú každý vodík, alebo R^4 a R^5 spoločne s kruhom ku ktorému sa viažu tvoria benzimidazolový kruh.

15. Spôsob liečenia podľa niektorého z nárokov 7 až 13, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zlúčenina má nasledujúce znaky:

(a) R^1 je skupina CO_2H alebo jej estery, amidy alebo izostéry,

(b) R^2 je alkylová lineárna alebo rozvetvená skupina obsahujúca 1 až 6 uhlíkových atómov,

(c) R^3 je vodík, a

(d) R^4 a R^5 sú každý vodík, alebo R^4 a R^5 spoločne s kruhom ku ktorému sa viažu tvoria benzimidazolový kruh.

16. Spôsob podľa niektorého z nárokov 7 až 13, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zlúčenina je vybraná zo skupiny obsahujúcej:

kyselina [3S/R, (2S)]-5-fluór-3-{2-[(1H-imidazol-2-karboxyl)-amino]propionylamino}-4-oxopentánová,

terc-butylester kyseliny [3*S*/*R*, (2*S*)]-5-fluór-3-{2-[(1*H*-imidazol-2-karbonyl)amino]propionylamino}-4-oxopentánovej,

kyselina [3*S*/*R*, (2*S*)]-3-{2-[(1*H*-benzimidazol-2-karbonyl)amino]propionylamino}-5-fluór-4-oxopentánová,

kyselina [3*S*/*R*, (2*S*)]-5-fluór-3-{2-[(1*H*-imidazol-2-karbonyl)amino]butyrylylamino}-4-oxopentánová,

kyselina [3*S*/*R*, (2*S*)]-5-fluór-3-{2-[(1*H*-imidazol-2-karbonyl)amino]metylbutyrylylamino}-4-oxopentánová,

kyselina [3*S*/*R*, (2*S*)]-3-{2-[(1*H*-benzimidazol-2-karbonyl)amino]-3-metylbutyrylamino}-5-fluór-4-oxopentánová,

alebo ich adičné soli.