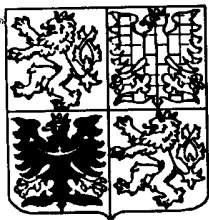


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(22) 29.10.92
(32) 04.11.91
(31) 91/9123326
(33) GB
(40) 15.12.94

(21) 1067-94

(13) A3

5(51)

C 07 K 5/04
C 07 K 5/06
A 61 K 37/02

(71) SANDOZ A.G., Basle, CH;

(72) Heng Richard dr., Bern, CH;
Payne Trevor Glyn dr., Bern, CH;
Révész Laszlo dr., Therwil, CH;
Weidmann Beat dr., Allschwil, CH;

(54) Peptidy

(57) Di-, tri- a tetrapeptidy, ve kterých poslední alfa-aminokyselina je na bázi kyseliny a je připojena ke zbytku A_5 , kterým je atom vodíku, CF_3 , skupina $-Z_1-Z_2-Y_2$, kde každé ze Z_1 a Z_2 jsou nezávisle na sobě přímá vazba nebo zbytek alfa-aminokyseliny a Y_2 je NH_2 , C_{1-4} alkylaminoskupina, di(C_{1-4} -alkyl)aminoskupina nebo heterocyklický zbytek připojený atomem dusíku k Z_2 , dále skupina $-CH_2-X_1-Y_3$, kde X_1 je O nebo S a Y_3 je heteroarylová skupina, dále skupina $-CH_2-Y_3$, substituovaná fenylová skupina, v kruhu fenoxymethylenová skupina nebo fenylthiomethylenová skupina, v kruhu substituovaná pyridyloxymethylenová skupina, nebo zbytek $-CH_2-X_1-CO-Y_4$, kde X_1 je O nebo S a Y_4 je trialkylmethylenová skupina nebo substituovaná fenylová nebo pyridylová skupina, ve volné formě nebo ve formě soli, přičemž tyto peptidy mají farmakologickou účinnost, například inhibují uvolňování IL-1beta.

Peptidy

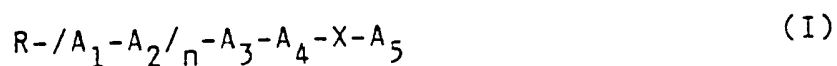
Oblast techniky

PŘÍL. PRŮMYSL. ÚSTAVU VLAŠTIVOSTI	02. V. 94	DOŠLO	024437	č.j.

Vynález se týká peptidů, které jsou farmaceuticky použitelné, způsobů jejich přípravy, farmaceutických prostředků, které tyto peptidy obsahují a použití těchto prostředků jako léčiv.

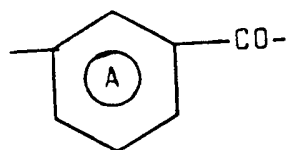
Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce I



ve kterém

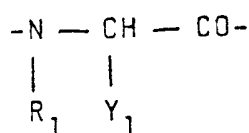
- R znamená atom vodíku, skupinu chránící aminoskupinu nebo popřípadě v kruhu substituovanou benzyloxyskupinu,
 A_1 znamená Val, Leu, Ala, Ile nebo trimethylsilyl-Ala,
 A_2 znamená Phe nebo Tyr,
 n znamená nulu nebo 1,
 A_3 znamená přímou vazbu, Val, Leu, Ala, Ile, trimethylsilyl-Ala nebo dvojvazný zbytek obecného vzorce (a)



(a)

ve kterém je kruh A popřípadě substituován hydroxyskupinou nebo alkoxyskupinou s 1 až 4 atomy uhlíku,

- A_4 znamená přímou vazbu nebo dvojvazný zbytek obecného vzorce (b)

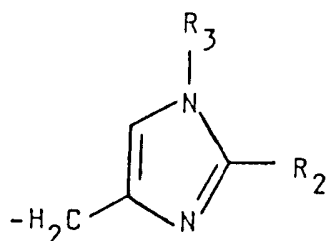


(b)

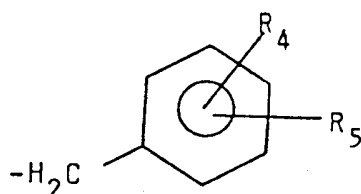
ve kterém

R_1 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku a

Y_1 znamená zbytek vázaný na alfa-uhlíkový atom alfa-aminokyseliny, který je popřípadě chráněný, skupinu $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{C}_{1-4}\text{alkyl})_2$, imidazol-2-yl-methylovou skupinu, benzimidazol-2-yl-methylovou skupinu, 1H-1,2,4-triazol-3-yl-methylovou skupinu, pyrazol-3-yl-methylovou skupinu, indazol-3-yl-methylovou skupinu nebo zbytek obecného vzorce (c) nebo (d)



(c)



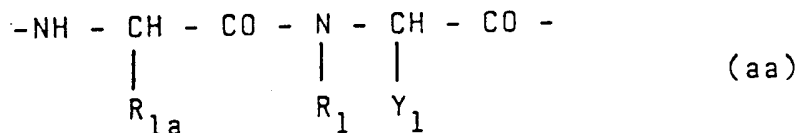
(d)

ve kterých

každá ze skupin R_2 a R_3 jsou nezávisle na sobě atom vodíku, atom halogenu, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, CF_3 nebo tritylová skupina, přičemž maximálně jedna ze skupin R_2 a R_3 je atom vodíku, a

každá ze skupin R_4 a R_5 jsou nezávisle na sobě atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, hydroxyskupina, alkoxyskupina s 1 až 4 atomy uhlíku, CF_3 , fenylová skupina nebo atom halogenu, přičemž maximálně jedna ze skupin R_4 a R_5 je atom vodíku, nebo

A_3 a A_4 spolu dohromady tvoří zbytek obecného vzorce (aa)

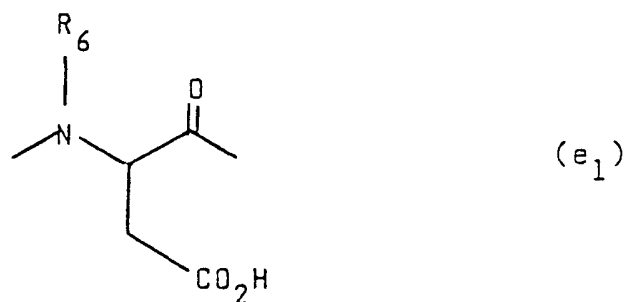


ve kterém

Y_1 má význam uvedený výše a

R_1 a R_{1a} spolu dohromady tvoří skupinu $-(\text{CH}_2)_m$, kde m znamená 2, 3, 4 nebo 5, a

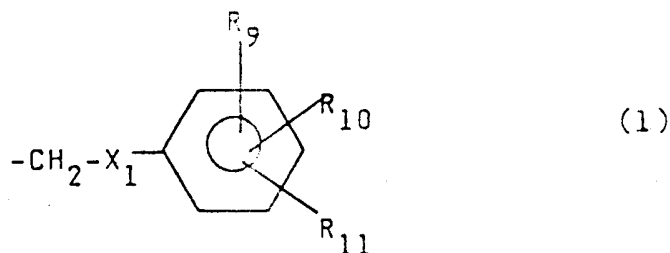
1) X znamená dvojvazný zbytek obecného vzorce (e_1)



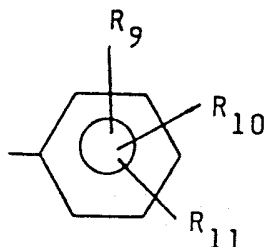
kde

R_6 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku a

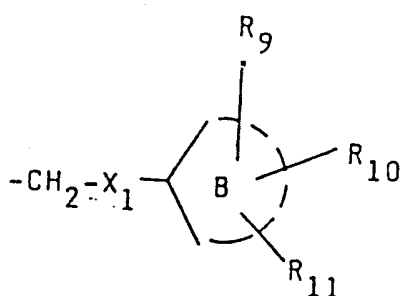
A_5 znamená atom vodíku, CF_3 , zbytek $-\text{CH}_2-\text{X}_1-\text{Y}_3$, kde X_1 znamená O nebo S a Y_3 znamená heteroarylovou skupinu, zbytek $-\text{CH}_2-\text{Y}_3$ nebo zbytky obecných vzorců (k) až (m)



nebo



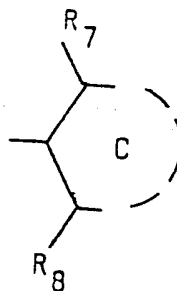
(m)



(o)

kde

Y_4 znamená tri(C_{1-4} alkyl)methylovou skupinu nebo zbytek obecného vzorce



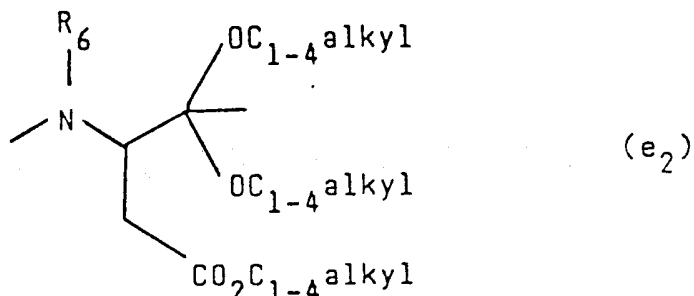
kruh B je pyridyl,

kruh C je fenyl nebo pyridyl,

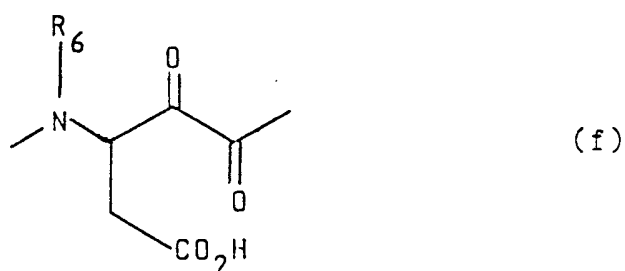
každý ze zbytků R_7 a R_8 jsou nezávisle na sobě alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, alkoxy skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, CF_3 , atom halogenu, nitroskupina nebo kyanoskupina, a

každý ze zbytků R_9 , R_{10} a R_{11} jsou nezávisle na sobě nitroskupina, kyanoskupina, CF_3 , karbamoylová skupina, CO_2R_{12} , $-CH=CH-CN$ nebo $-CH=CHCO_2R_{12}$, kde R_{12} je alky-

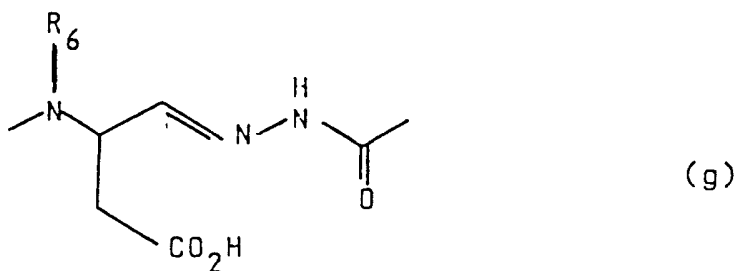
- lová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku,
X znamená také dvojbazný zbytek obecného vzorce (e_2)



- když A_5 znamená atom vodíku, nebo
2) X znamená dvojbazný zbytek obecného vzorce (f)

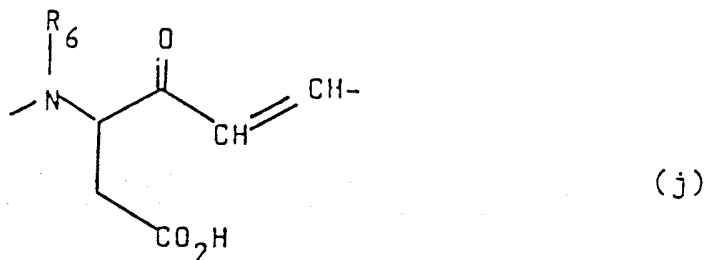
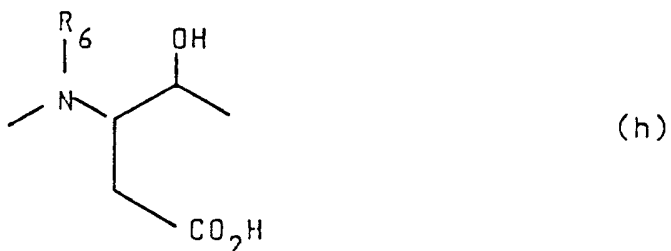


- a A_5 znamená skupinu $-Z_1-Z_2-Y_2$, kde každé ze Z_1 a Z_2 jsou nezávisle na sobě přímá vazba nebo zbytek alfa-amino-kyseliny a Y_2 znamená NH_2 , C_{1-4} alkylaminoskupinu, di- $(C_{1-4}$ alkyl)aminoskupinu nebo heterocyklický zbytek připojený atomem dusíku k Z_2 , nebo zbytky obecných vzorců (k) až (o), jak jsou definovány výše, nebo OR_{13} , nebo $NR_{14}R_{15}$, kde R_{13} znamená alkylovou skupinu s 1 až 12 atomy uhlíku, popřípadě substituovanou skupinou OH nebo přerušenou kyslíkem a každé z R_{14} a R_{15} jsou nezávisle na sobě atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 12 atomy uhlíku, cykloalkylová skupina s 5 až 7 atomy uhlíku nebo benzylová skupina, nebo
3) X znamená dvojbazný zbytek obecného vzorce (g)



a A_5 znamená skupinu $-Z_1-Z_2-Y_2$, jak je definována výše, nebo

- 4) X znamená dvojvazný zbytek obecných vzorců (h) nebo (j)



a A_5 znamená zbytek obecných vzorců (k) až (o),
 $-CH_2-Y_3$ nebo $-CH_2-X_1-Y_3$, jak jsou definovány výše,
s tou výhradou, že pouze jedna ze skupin A_3 a A_4 může znamenat
přímou vazbu, když n je nula, a každá ze skupin A_3 a A_4 je ji-
ná než přímá vazba, když n je 1,
a jejich fyziologicky hydrolysovatelné a přijatelné estery ne-
bo amidy,
ve volné formě, ve formě soli nebo ve formě komplexů.

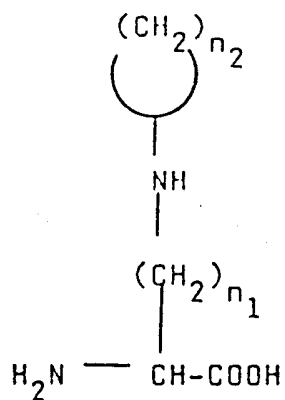
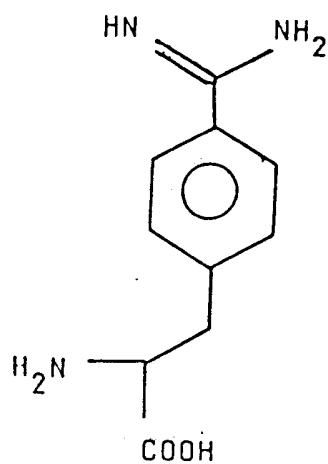
Příklady chránících skupin v substituentu R jsou například uvedeny v "Protective Groups in Organic Synthesis", T. W. Greene, J. Wiley and Sons NY (1981), 219 až 287, a jsou to například acylová skupina, jako je acetylová skupina, methoxysukcinylová skupina, hydroxysukcinylová skupina nebo benzoylová skupina, popřípadě substituovaná na fenylovém kruhu například v para-poloze methoxykarbonylovou skupinou, methoxyskupinou nebo nitroskupinou, alkoxykarbonylová skupina, jako je terc.butyloxykarbonylová skupina, arylmethoxykarbonylová skupina, jako je 9-fluorenylmethoxykarbonylová skupina nebo benzyloxykarbonylová skupina, popřípadě substituovaná v para-poloze methoxyskupinou, nitroskupinou, chlorem nebo v meta-poloze fenylovou skupinou, arylmethylová skupina, jako je benzylová skupina, popřípadě v kruhu substituovaná v para-poloze methoxyskupinou, nitroskupinou nebo chlorem, nebo arylsulfonylová skupina, jako je fenylsulfonylová skupina, popřípadě substituovaná v kruhu v para-poloze methylovou skupinou nebo methoxyskupinou, nebo naftylsulfonylová skupina, popřípadě substituovaná v kruhu, například aminoskupinou nebo dialkylaminoskupinou s 1 až 4 atomy uhlíku v každém z alkylů.

Jestliže R znamená v kruhu substituovanou benzyloxyskupinu, je to s výhodou benzyloxyskupina substituovaná hydroxyskupinou nebo alkoxyskupinou s 1 až 4 atomy uhlíku. Výhodnou skupinou R je nesubstituovaná benzyloxyskupina.

Výhodným atomem halogenu je atom fluoru nebo atom chloru.

Jestliže A_3 je substituovaný zbytek obecného vzorce (a), pak je tento zbytek s výhodou substituován alkoxyskupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, s výhodou v para-poloze vůči skupině $-C=O$.

Alfa-aminokyselinou se rozumí v přírodě se vyskytující nebo komerčně dostupná nebo nepřirodní alfa-aminokyselina nebo její optický isomer. Nepřirodní alfa-aminokyselinou je alfa-aminokyselina, která není zabudována do proteinu podle mRNA pravidla, například beta-Nal, fluor-alfa-aminokyselina, jako je fluoralanin, trimethylsilyl-Ala nebo alfa-aminokyselina, jako je



kde n_1 je celé číslo od 1 do 6 a n_2 je celé číslo od 1 do 12.

Chránící skupiny, které mohou být přítomny v Y_1 , jsou skupiny, které chrání O, S nebo N funkční skupinu v postranním řetězci aminoskupin alfa-aminokyseliny. N-chránící skupiny jsou například skupiny uvedené výše pro R nebo alkylová skupina se 3 až 5 atomy uhlíku, jako je isopropylová skupina, formylová skupina, zbytek cukru, jako je 1-deoxy-fruktosyl nebo alfa-glukosyl(1-4)-deoxyfruktosyl, dihydroxyalkylová skupina se 3 až 6 atomy uhlíku, jako je dihydroxypropylová skupina, cykloalkylová skupina s 5 až 7 atomy uhlíku, jako je cyklohexylová skupina nebo tropinylová skupina. O- a S-chránící skupiny pro hydroxylové a thiolové funkční skupiny jsou známy a mohou to být například methylová skupina, terc.butylová skupina nebo benzylová skupina.

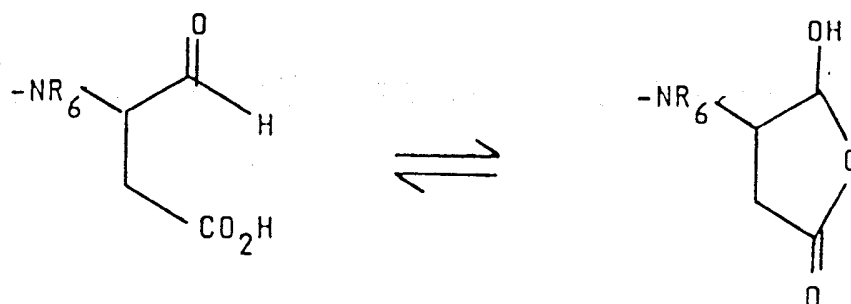
Jestliže Y_2 znamená heterocyklický zbytek, může to být například pěti- nebo šestičlenný kruh, například piperidinoskupina nebo pyrrolidinylová skupina.

Jako příklady pro heteroarylové skupiny pro substituent Y_3 lze uvést například pěti-, šesti- nebo sedmičlenné nenasyčené heterocyklické zbytky, které obsahují alespoň jeden atom dusíku a popřípadě další heteroatomy, jako je dusík, kyslík nebo síra. Výhodným Y_3 je heteroarylová skupina obsahující od 1 do 4 atomů dusíku, například pyridylová skupina, triazolylová skupina, tetrazolylová skupina, triazindionylová skupina.

V kruhu B zbytku obecného vzorce (o) může být atom dusíku v poloze ortho, meta nebo para. Jestliže kruh C ve zbytku obecného vzorce (k) je pyridyl, pak to může být 3-, 4- nebo 5-pyridyl.

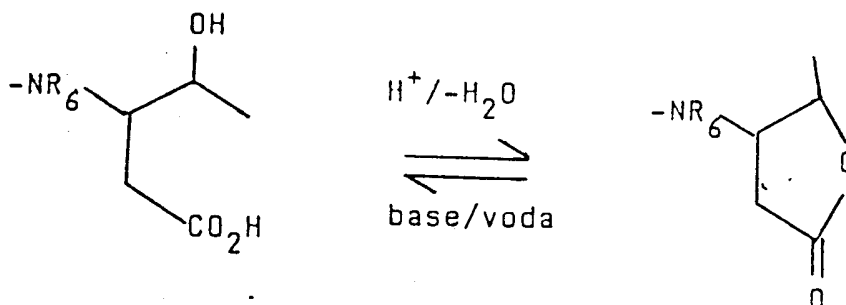
Zbytky obecných vzorců (e_1), (e_2), (f), (g) a (j) jsou odvozeny od Asp a obsahují jeden asymetrický atom uhlíku a zbytek obecného vzorce (h) obsahuje dva asymetrické atomy uhlíku, takže se u nich vyskytuje isomerismus. Rozumí se samo sebou, že předložený vynález zahrnuje všechny jednotlivé isomerní formy a diastereoisomery, jakož i jejich směsi, například racemáty, pokud není uvedeno jinak.

Zbytek obecného vzorce (e_1) připojený k substituentu A_5 , který znamená atom vodíku, může existovat jak v cyklické formě tak v necyklické formě, jak je například znázorněno rovnicí:



Rozumí se samo sebou, že v případě výskytu tautomerních forem, předložený vynález zahrnuje jak formy laktolu tak formy oxo-karboxylové kyseliny, t.j. i když sloučeniny obecného vzorce I, kde X znamená zbytek obecného vzorce (e_1), jsou výhodně označovány pouze jako forma oxo-karboxylové kyseliny, nelze chápat vynález pouze omezeně na zvláštní nomenklaturu nebo grafické znázornění použité pro tyto sloučeniny. Obdobné úvahy platí též pro výchozí sloučeniny vykazující laktol/oxo-karboxylová kyselina tautomerii, jak je popsáno výše.

Totéž platí také pro zbytek obecného vzorce (h), který může též existovat jak v lineární formě tak v cyklické formě, jak je znázorněno následující rovnicí:



a pro sloučeniny obecného vzorce I obsahující zbytek obecného vzorce (h) a pro odpovídající výchozí sloučeniny.

Výrazem "fysiologicky hydrolysovatelné a přijatelné estery nebo amidy" se rozumí estery a amidy, které jsou hydrolysovatelné za fysiologických podmínek na alkoholy nebo aminy, které jsou samy o sobě fysiologicky přijatelné, t.j. které jsou netoxické při požadovaných dávkových hladinách.

Tyto estery nebo amidy lze připravit esterifikací nebo amidací sloučeniny obecného vzorce I, kde X znamená zbytek obsahující karboxyskupinu. Tyto estery zahrnují estery s alifatickým nebo alicyklickým alkoholem nebo polyolem obsahujícím 1 až 12 atomů uhlíku. Amidy zahrnují amidy s alifatickými aminy, například s alkylaminy s 1 až 4 atomy uhlíku, s alkoxyalkylaminy s 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxyskupině a s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové skupině, jako je beta-methoxyethylamin, nebo s anilinem.

Sloučeniny obecného vzorce I mohou existovat například ve volné formě, ve formě soli s kyselinou nebo ve formě komplexů. Soli s kyselinami se mohou tvořit například s organickými kyselinami, s polymerními kyselinami a s anorganickými kyselinami. Těmito solemi s kyselinami jsou například hydrochloridy a acetáty. Soli mohou být také tvořeny s karboxylovou skupinou přítomnou ve sloučeninách obecného vzorce I, například soli s alkalickými kovy, jako je sodík nebo draslík, nebo dále substituované nebo nesubstituované amoniové soli. Komplexy jsou například tvořeny ze sloučenin obecného vzorce I přidáním anorganické látky, například anorganických solí nebo hydroxidů, jak jsou Ca- a Zn-soli a/nebo přidáním polymerních organických látek.

Dále jsou uvedeny významy výhodných substituentů použitých buď jednotlivě nebo v jakékoliv kombinaci nebo subkombinaci, které mohou být obsaženy ve sloučeninách obecného vzorce I:

1. R je skupina chránící aminoskupinu nebo benzyloxyskupina, s výhodou skupina chránící aminoskupinu. R je s výhodou benzyloxyskupina, jestliže n je nula a A_3 je zbytek obecného vzorce (a).

2. Každá ze skupin A_3 a A_4 je jiná než přímá vazba.
3. n je nula.
4. A_3 je zbytek obecného vzorce (a), když n je nula.
5. A_3 je přímá vazba, Val, Leu, Ala, Ile nebo trimethylsilyl-Ala.
6. R_1 je atom vodíku nebo methylová skupina, výhodně atom vodíku.
7. Y_1 je zbytek připojený k alfa-atomu uhlíku alfa-amino-kyseliny vybrané ze skupiny zahrnující Ala, Leu, His, Phe, Met, Trp, trimethylsilyl-Ala a popřípadě v postranním řetězci chráněnou Arg, Orn a Lys, nebo Y_1 je zbytek obecného vzorce (c).
8. A_3 a A_4 mohou také spolu dohromady tvořit zbytek obecného vzorce (aa), když n je nula.
9. m je 2 nebo 3.
10. X je zbytek obecného vzorce (e_1) a A_5 je jiné než atom vodíku.
11. X je zbytek obecného vzorce (g).
12. X je zbytek obecného vzorce (h) nebo (j).
13. R_6 je atom vodíku nebo methylová skupina, s výhodou atom vodíku.
14. Z_1 v A_5 je zbytek přírodní alfa-aminokyseliny, s výhodou aromaticko-heterocyklické alfa-aminokyseliny, zejména Pro.
15. Z_2 v A_5 je zbytek přírodní alfa-aminokyseliny, s výhodou alifatické alfa-aminokyseliny, zejména alifatické alfa-aminokyseliny neobsahující žádné další funkční skupiny, nejvýhodněji Val.
16. X je zbytek obecného vzorce (e_1), popřípadě esterifikovaný nebo amidovaný a A_5 je zbytek obecného vzorce (k), (l) nebo (o).
17. X je zbytek obecného vzorce (e_1), (h) nebo (j), popřípadě esterifikovaný nebo amidovaný a A_5 je $-\text{CH}_2-\text{X}_1-\text{Y}_3$, s výhodou $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{Y}_3$ nebo $-\text{CH}_2-\text{Y}_3$.

18. X je zbytek obecného vzorce (h) nebo (j), popřípadě esterifikovaný nebo amidovaný a A_5 je zbytek obecného vzorce (k).
19. X je zbytek obecného vzorce (j), popřípadě esterifikovaný nebo amidovaný a A_5 je zbytek obecného vzorce (m).
20. Zbytek obecného vzorce (m) je monosubstituovaný, s výhodou v poloze para, a ještě výhodněji to je 4-nitrofenyl.
21. Všechny přítomné zbytky alfa-aminokyselin kromě X mají L konfiguraci. X má D nebo L konfiguraci.
22. Asymetrický atom uhlíku ve zbytku obecného vzorce (h) nesoucím OH skupinu má S konfiguraci. Výhodně má asymetrický atom uhlíku ve zbytku obecného vzorce (j) nesoucím skupinu R_6 R konfiguraci.

Výhodnými jsou také sloučeniny obecného vzorce I, ve kterých

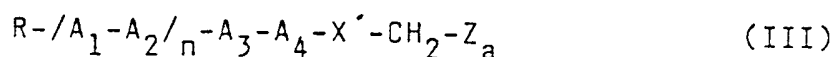
n je nula, A_3 je přímá vazba, Val, Leu, Ala, Ile nebo trimethylsilyl-Ala, A_4 má význam uvedený výše, nebo A_3 a A_4 spolu dohromady tvoří zbytek obecného vzorce (aa), jak je definován výše, a

- 1) X je zbytek obecného vzorce (e_1) nebo (e_2), jak jsou definovány výše, a A_5 je atom vodíku, nebo
- 2) X je zbytek obecného vzorce (e_1) nebo (f) a A_5 je zbytek obecného vzorce (k), (l) nebo (m), kde X_1 je 0,
- 3) X je zbytek obecného vzorce (g) a A_5 je $-Z_1-Z_2-Y_2$ nebo
- 4) X je zbytek obecného vzorce (j) a A_5 je zbytek obecného vzorce (k), (l) nebo (m), kde X_1 je 0.

Podstatou vynálezu je také způsob přípravy sloučenin obecného vzorce I, který se vyznačuje tím, že se:

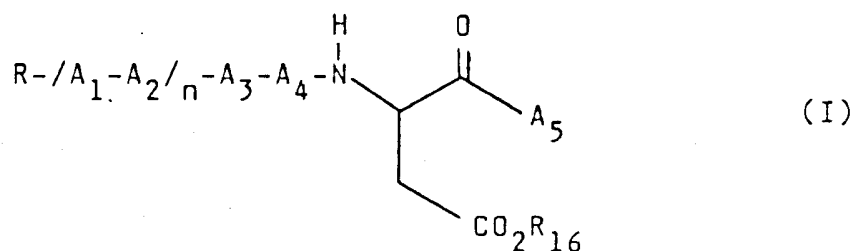
- a) odstraní alespoň jedna chránicí skupina ze sloučeniny obecného vzorce I v chráněné formě nebo se přidá chránicí skupina R k N-koncové skupině sloučeniny obecného vzorce I, nebo se

- b) převede jedna sloučenina obecného vzorce I na jinou sloučeninu obecného vzorce I, nebo se
- c) spojí spolu dohromady amidickou vazbou dva peptidové fragmenty, přičemž každý z nich obsahuje alespoň jednu aminokyselinu v chráněné nebo nechráněné formě a jeden peptidový fragment obsahující zbytek obecného vzorce (e_1) až (j), jak jsou definovány výše, přičemž peptidové fragmenty jsou takové, že se získá chráněný nebo nechráněný peptid mající sekvenci podle obecného vzorce I, a popřípadě se odstraní chránicí skupina nebo chránicí skupiny ze sloučeniny obecného vzorce I v chráněné formě, nebo se
- d) pro přípravu sloučenin obecného vzorce I, kde X je zbytek obecného vzorce (e_1) nebo (h) a A_5 je zbytek obecného vzorce (k), (l) nebo (o) nebo $-CH_2-X_1-Y_3$, nechá reagovat sloučenina obecného vzorce III

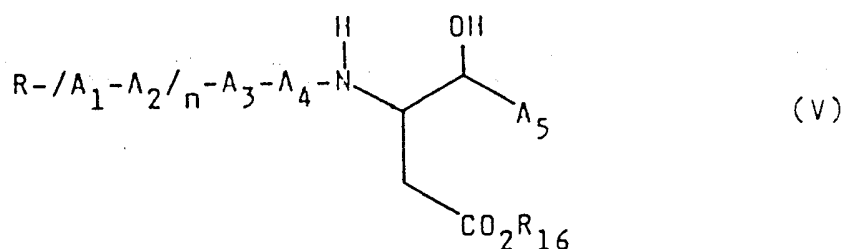


kde R, A_1 až A_4 a n mají výše uvedený význam, X' je zbytek obecného vzorce (e_1) nebo (h) a Z_a je odštěpitelná skupina, například atom halogenu, s odpovídajícím fenolem, thiofenolem nebo HX_1 -pyridinem nebo s kyselinou obecného vzorce HX_1-CO-Y_4 nebo s jejím funkčním derivátem nebo s HX_1-Y_3 , nebo se

- e) pro přípravu sloučeniny obecného vzorce I



kde R, A₁ až A₅ a n mají výše uvedený význam a R₁₆ je alifatický nebo alicyklický zbytek obsahující 1 až 12 atomů uhlíku, oxiduje sloučenina obecného vzorce V



kde R, A₁ až A₅, n a R₁₆ mají výše uvedený význam,

a izoluje se takto vzniklá sloučenina obecného vzorce I ve volné formě nebo ve formě soli nebo ve formě komplexu.

Postupy (a) až (e) se mohou provádět způsoby známými ze stavu techniky.

Odstranění chránicí skupiny ve stupni (a) může také zahrnovat odstranění R na N-koncové skupině sloučeniny obecného vzorce I. Například, jestliže R je benzyloxykarbonylová skupina, může se tato skupina odstranit hydrogenací v přítomnosti katalysátoru, například palladia.

V souhlasu s postupem podle stupně (b) se může například pro přípravu sloučeniny obecného vzorce I, kde X obsahuje karboxyskupinu, hydrolyzovat sloučenina obecného vzorce I, kde X obsahuje esterifikovanou nebo amidovanou karboxyskupinu. Tato hydrolysa se může provádět příslušnou alkalickou nebo kyselou hydrolysou, například v přítomnosti trifluoroctové kyseliny.

Dále v souhlasu s postupem podle stupně (b) pro přípravu sloučeniny obecného vzorce I, kde X obsahuje esterifikovanou nebo amidovanou karboxyskupinu, se může (trans)esterifikovat nebo amidovat sloučenina obecného vzorce I, kde X obsahuje karboxyskupinu nebo esterifikovanou karboxyskupinu. Tato tvor-

ba esteru nebo amidace se může provádět použitím způsobů známých ze stavu techniky, například převedením karboxyskupiny na funkční reaktivní skupinu, například na odpovídající karbonyl-halogenid nebo anhydrid, nebo použitím sloučeniny obecného vzorce I, kde X je zbytek obecného vzorce (h) ve formě laktonu, a reakcí takovéto skupiny s vybraným alkoholem nebo aminem.

Dále v souhlasu s postupem podle stupně (b) pro přípravu sloučeniny obecného vzorce I, kde X je zbytek obecného vzorce (g), se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce I, kde X je zbytek obecného vzorce (e_1) nebo (e_2) a A_5 je atom vodíku, se sloučeninou obecného vzorce II



kde A_5 má význam uvedený výše. Tento způsob se může provádět analogicky podle známých způsobů používaných pro přípravu semi-karbazonů.

Sloučeninu obecného vzorce I, kde X je zbytek obecného vzorce (e_1), lze také převést známými způsoby na sloučeninu obecného vzorce I, kde X je zbytek obecného vzorce (e_2), a naopak.

Postup podle stupně (c) se může provádět způsoby známými z chemie peptidů. Peptidovým fragmentem obsahujícím zbytek obecného vzorce (e_1) až (j), se také rozumí zbytek obsahující chránící skupinu na části $-\text{NR}_6-$ a příslušně končící, například A_5 nebo CH_2-Z_a , na opačném konci.

Postup podle stupně (d) se může provádět za použití Dess-Martinova činidla, například v přítomnosti base nebo halogenem se srážící stříbrné soli, nebo oxidačním postupem podle Swerna.

Je-li to žádoucí při těchto reakcích lze použít pro funkční skupiny, které se nezúčastní reakce, chránící skupiny. Mohou to být například skupiny chránící aminoskupinu, skupiny chránící karboxyskupinu, acetalové skupiny atd. Po skončení požadované reakce se chránící skupiny mohou odstranit.

Každý z výše uvedených postupů lze provádět za použití výchozích látek ve formě jednoho nebo dalšího jednotlivého op-

tického isomeru nebo ve formě jejich směsi /podle asymetrických atomů uhlíku přítomných ve zbytcích obecného vzorce (e_1) až (j) ve významu X nebo v prekursoru těchto zbytků/. Obvykle se jako výchozí látky používají S- nebo R-enantiomery, přičemž se získají sloučeniny obecného vzorce I, ve kterých asymetrický atom uhlíku ve zbytcích obecného vzorce (e_1) až (j) má S nebo R konfiguraci.

Výchozí látky používané ve stupních (d) nebo (e) postupu podle vynálezu lze připravit analogicky s postupem podle stupně (c).

Pokud není příprava výchozích látek jmenovitě popsána, jsou tyto sloučeniny známé nebo je lze připravit analogicky podle známých postupů, které se v praxi používají.

Následující příklady slouží k bližšímu objasnění předloženého vynálezu. Všechny teploty jsou uvedeny ve $^{\circ}\text{C}$.

V příkladech jsou používány následující zkratky:

THF	= tetrahydrofuran
TFA	= trifluoroctová kyselina
MeOH	= methanol
EtOAc	= ethylacetát
DCC	= dicyklohexylkarbodiimid
HOBt	= hydroxybenzotriazol
Z	= benzyloxykarbonyl
Fmoc	= 9-fluorenylmethoxykarbonyl
a	= amorfní

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Z-Val-Met-Asp(OH)-H

Beta-terc.butylester dimethylacetalu Z-Val-Met-aspartaldehydu (1,17 g) se dá do CH_2Cl_2 (150 ml), přidá se TFA (15 ml)

a voda (1 ml) a reakční směs se míchá při teplotě místnosti po dobu 2,5 hodiny. Rozpouštědlo se odpaří, přidá se dvakrát toluen a znovu se odpaří. Krystalický zbytek se rozpustí ve vodě (60 ml) za zahřátí, dekantuje se od nerozpuštěné látky a překrystaluje se při teplotě 5 °C, přičemž se získá první podíl produktu, teploty tání 117 °C. Všechny matečné louhy se spojí a chromatografují se (SiO_2 , aceton/hexan/EtOAc 60/40/-0,5) a získá se druhý podíl produktu a překrystaluje se po rozmělnění s vodou.

Příklad 2

Z-Val-Met-Asp(OH)-H semikarbazon

Sloučenina podle příkladu 1 (0,27 g, 0,55 mmol) v MeOH (2 ml) se smísí se semikarbazidem, HCl (0,6 ml 1 molárního roztoku), načež se přidá 5 kapek pyridinu. Produkt vykristaluje po 10 minutách při teplotě místnosti, má teplotu tání 233 až 235 °C.

Příklad 3

Z-Val-Met-Asp(OH)-H semikarbazonyl-Pro-Val-N(CH₃)₂

Sloučenina podle příkladu 1 (0,48 g, 1 mmol) se rozpustí ve směsi MeOH (2 ml), vody (0,5 ml) a 3 kapek pyridinu. N-(hydrazinokarbonyl)-Pro-Val-N(CH₃)₂ (0,3 g, 1 mmol) se rozpustí v MeOH (1 ml), vodě (2 ml) a 3 kapkách 2N HCl. Oba roztoky se smísí a zahřívají se 2 minuty na teplotu 40 až 50 °C. Produkt vykristaluje za chlazení, má teplotu tání 118 až 120 °C.

Opakováním postupu podle příkladu 1 se za použití odpovídajících výchozích sloučenin připraví následující sloučeniny:

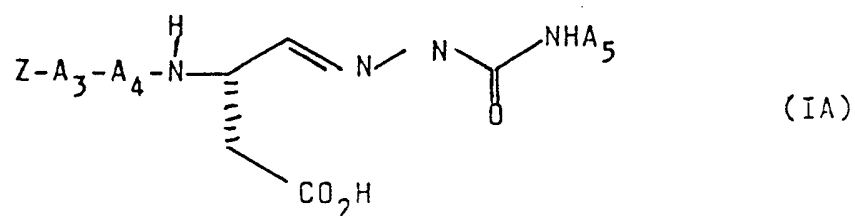
Příklad 4

Z-Val-Phe-Asp(OH)-H

Příklad 5

Z-Val-His-Asp(OH)-H.

Opakováním postupu podle příkladu 2 nebo 3 se za použití odpovídajících výchozích sloučenin připraví následující sloučeniny obecného vzorce IA



kde A₃, A₄ a A₅ mají výše uvedený význam.

příklad č.	A ₃	A ₄	A ₅	teplota tání °C
6	Val	Phe	H	a
7	Val	His	H	150
8	Val	Phe	Pro-Val-N(CH ₃) ₂	126 - 129
9	Val	His	Pro-Val-N(CH ₃) ₂	
10	Ala-Tyr-Val	Phe	H	205

Příklad 11

(3S)-3-(Z-valyl-fenylalanyl)-amino-5-(2,6-dimethylbenzoyloxy)-4-oxopentanová kyselina

Na terc.butylester (3S,4RS)-3-(Z-Val-His)amino-4-hydroxy-5-(2,6-dimethylbenzoyloxy)pentanové kyseliny (0,6 mmol) se působí Dess-Martinovým činidlem (0,77 mmol) v CH_2Cl_2 (4 ml) po dobu 45 minut a pak se směs přefiltruje. Přidá se aceton a 0,5 N NaOH a aceton se odpaří. Zbylá krystalická látka se promyje vodou, okyselí se 10 % kyselinou vinnou a extrahuje se EtOAc. Spojené EtOAc extrakty po odpaření poskytnou terc.butylester produktu ve formě žlutých krystalů. Ty se rozpustí v CH_2Cl_2 (4 ml), přidá se TFA (4 ml) a směs se míchá při teplotě místnosti po dobu 15 minut. Potom se směs odpaří k suchu a chromatografuje se (SiO_2 , aceton/hexan/EtOAc 60/40/1), čímž se získá požadovaný produkt ve formě mírně zbarvených krystalů.

Příklad 12

Éthylester (Z-valyl-alanyl)-(3R,4S)-3-amino-4-hydroxy-5-(2,6-dichlorbenzoyloxy)pentanové kyseliny

Ethylester (Z-valyl-alanyl)-(3R,4S)-3-amino-4,5-dihydroxy-pentanové kyseliny a 4-dimethylaminopyridin se rozpustí v pyridinu a po kapkách se přidá 2,6-dichlorbenzoylchlorid. Reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti, potom se přidá led a voda a směs se extrahuje AcOEt. Organická vrstva se promyje vodou, potom roztokem NaCl, vysuší se Na_2SO_4 , přefiltruje se, odpaří a surový produkt se chromatografuje. Získá se sloučenina uvedená v názvu.

(3R,4RS)-derivát sloučeniny uvedené v názvu se připraví následujícím způsobem:

Z-Val-Ala-OH (0,26 mmol), DCC (53 mg, 0,26 mmol) a HOBT. H_2O (39 mg, 0,26 mmol) se rozpustí ve směsi THF/DMF (2 ml/2 ml) a míchá se po dobu 5 minut, načež se přidá terc.butylester (3S,4RS)-3-amino-4-hydroxy-5-(2,6-dimethylbenzoyloxy)pentanové kyseliny (87 mg, 0,26 mmol) v THF (2 ml). Reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti, potom se odpaří a chro-

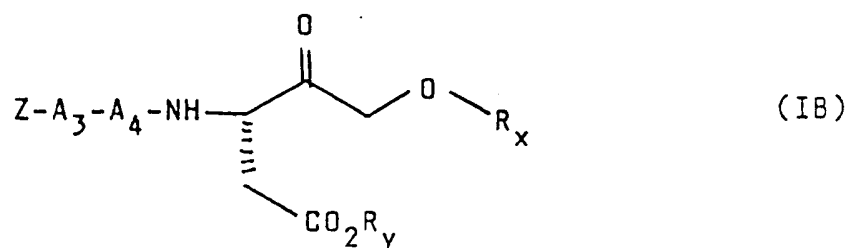
matografuje se (SiO_2 , EtOAc/MeOH/NH_3 95/5/0,5), čímž se získá (3R,4RS)-derivát sloučeniny uvedené v názvu.

Příklad 13

Ethylester (Z-valyl-alanyl)-(3R)-3-amino-4-oxo-5-(2,6-dichlorbenzoyloxy)pentanové kyseliny

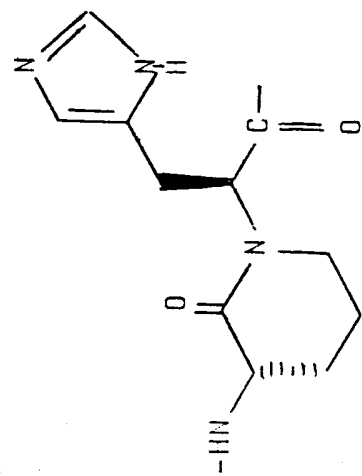
K roztoku oxalylchloridu v CH_2Cl_2 se při teplotě -50°C přidá po kapkách dimethylsulfoxid v CH_2Cl_2 . Po 15 minutách se přidá po kapkách roztok sloučeniny podle příkladu 12 v CH_2Cl_2 a reakční směs se míchá při teplotě -40°C po dobu 1 hodiny. Potom se přidá triethylamin a v míchání se pokračuje po dobu 3 hodin při teplotě místnosti. Pak se přidá voda a reakční směs se extrahuje CH_2Cl_2 . Organická vrstva se promyje roztokem NaHCO_3 a roztokem NaCl , vysuší se Na_2SO_4 , přefiltruje se a odpaří. Zbytek se chromatografuje a získá se sloučenina uvedená v názvu.

Opakováním postupu podle příkladů 1 až 3 a 11 až 13 se za použití odpovídajících výchozích sloučenin připraví následující sloučeniny obecného vzorce IB



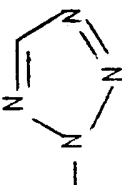
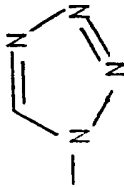
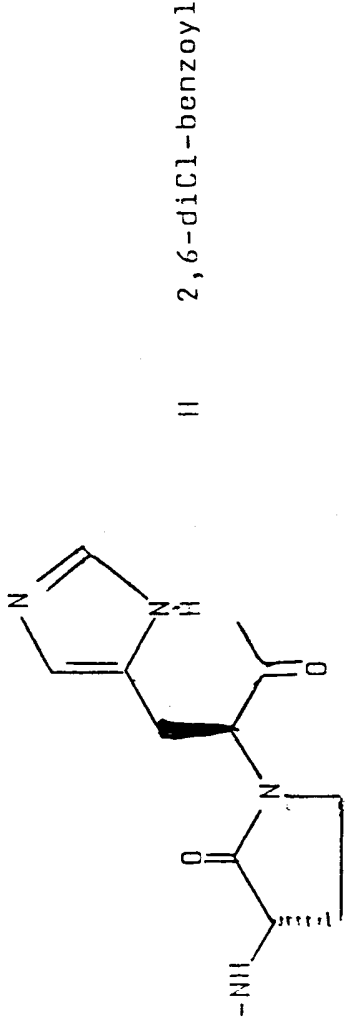
kde A_3 , A_4 , R_x a R_y mají významy uvedené níže.

příklad	Λ_3	Λ_4	R_y	R_x	α_D^{20} c (MeOH) nebo teplota tání °C (2)
14	Val	Phe	H	2,6-diMe-benzoyl	
15	Val	His	H	2,6-diMe-benzoyl	
16	Val	His	H	p-NO ₂ -fenyl	
17	Val	His	H	H	a (2)
		(1-trityl)			
18	Val	His	H	2,6-diCl-benzoyl	
19	Val	His	H	2,6-diCF ₃ -benzoyl	
20	Val	His	H	2,6-diNO ₂ -benzoyl	
21	Val	His	H	2,6-diCF ₃ -benzoyl	
		(2-CF ₃)			
22	Val	Trp	H	2,6-diCF ₃ -benzoyl	
23	tri-Me-silyl-Ala	His	H	2,6-diCl-benzoyl	

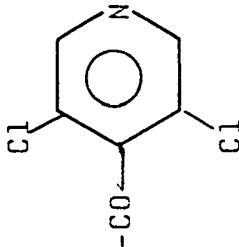
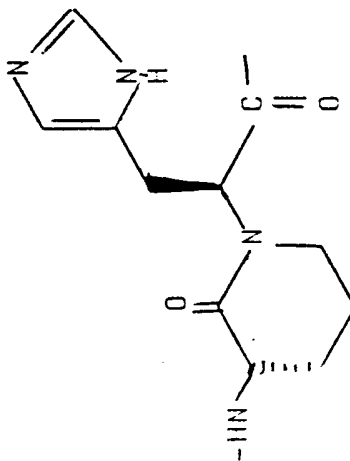


24

2,6-diCl-benzoyl

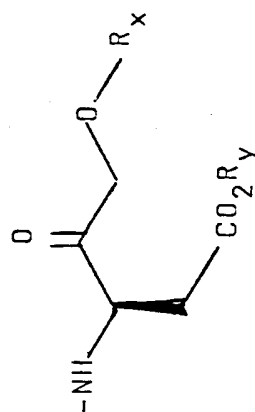
příklad	Λ_3	Λ_4	R_y	R_x	$\alpha/20$ c (MeOH) nebo teplota tání °C (2)
25	Ala-Tyr-Val	Phe	H	H	a (2)
26	D-Val	His	H	2,6-diCl-benzoyl	-39,2 ° 1,21
27	Val	Arg	H	2,6-diCl-benzoyl	
28	Val	His	C ₂ H ₅	2,6-diCl-benzoyl	-26,7 ° 1,02
29	Val	His	H		-18,0 ° 0,97
30	Val	His	H		-19,0 ° 0,96
31					

příklad	Λ_3	Λ_4	R_y	R_x	α/α_0^{20} c (MeOH) nebo teplota tání °C (2)
32	Val	Orn	H	2,6-diCl-benzoyl	
33	Val	Lys	H	2,6-diCl-benzoyl	
34	Val	Ala	H	2,6-diCl-benzoyl	
35	Val	His	H	pivaloyl	
36	Val	His	i-C ₄ H ₉	2,6-diCl-benzoyl	* *
37	Val	His	n-C ₁₀ H ₂₁	2,6-diCl-benzoyl	* *
38	Val	His	benzyl	2,6-diCl-benzoyl	* *
39	Val	His	CH ₂ CH ₂ OH	2,6-diCl-benzoyl	* *
40	Val	Ala	C ₂ H ₅	2,6-diCl-benzoyl	* *
41	Val	Leu	H	2,6-diCl-benzoyl	* *
42	Val	His	H	2,6-diF-benzoyl	
43	Val	His	H	2,6-diCl-benzoyl	
		(2-CF ₃)			
44	Val	His	C ₂ H ₅	pivaloyl	* *
45	Val	His	H	2,6-diCl-benzoyl	
46	Val	Lys	H	2,6-diCl-benzoyl	* *
		(N ^E -i-C ₃ H ₇)			
47	Val	Lys	C ₂ H ₅	2,6-diCl-benzoyl	* *
		(N ^E -i-C ₃ H ₇)			

příklad	Λ_3	Λ_4	R_y	R_x	α/D^{20} c (MeOH) nebo teplota tání °C (2)
48	Val	Ala	H	2,6-diCl-benzoyl	* *
49	Val	Ala	t-C ₄ H ₉	2,6-diCl-benzoyl	* *
50	Val	Ala	C ₂ H ₅	2,6-diCl-benzoyl	*
51	Val	Ala	C ₂ H ₅		*
52	triMe-silyl-Ala	His	C ₂ H ₅	2,6-diCl-benzoyl	
53			C ₂ H ₅	2,6-diCl-benzoyl	* *

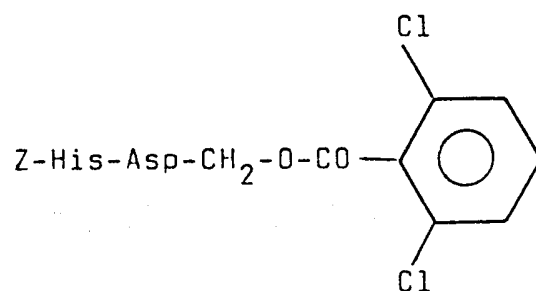
příklad	Λ_3	Λ_4	R_y	R_x	$[\alpha]_D^{20}$ c (MeOH) nebo teplota tání °C (2)
54	Val	Ala	i-C ₃ H ₇		* *
55	triMe-silyl-Ala	Ala	t-C ₄ H ₉	2,6-diCl-benzoyl	
56	triMe-silyl-Ala	Ala	"	2,6-diCl-benzoyl	
57	triMe-silyl-Ala	Ala	C ₂ H ₅	2,6-diCl-benzoyl	

* sloučeniny mají následující konfiguraci v aspartylové části



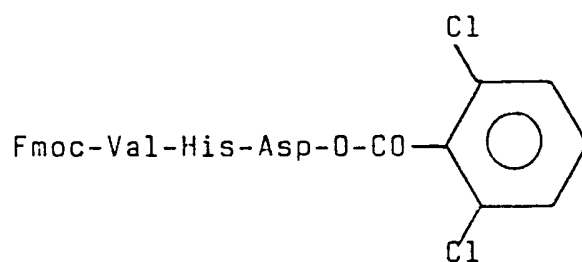
* * sloučeniny mají R,S konfiguraci v aspartylové části

Příklad 58

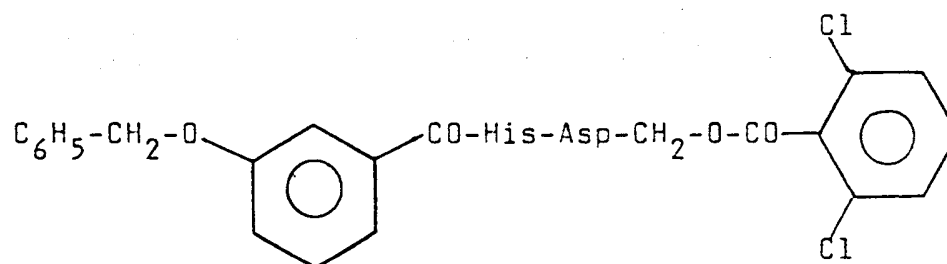


$$[\alpha]_D^{20} = -20,3^\circ \quad c = 1 \text{ v MeOH}$$

Příklad 59

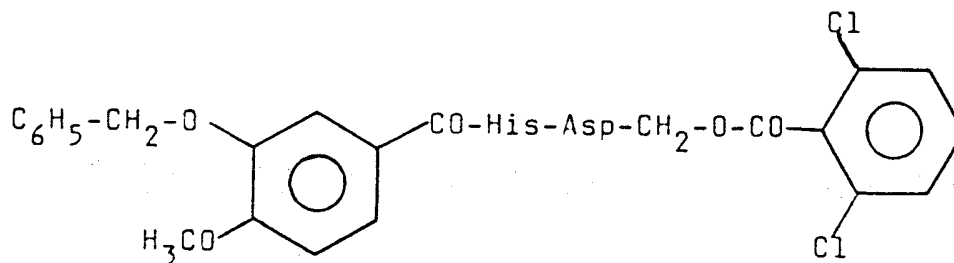


Příklad 60

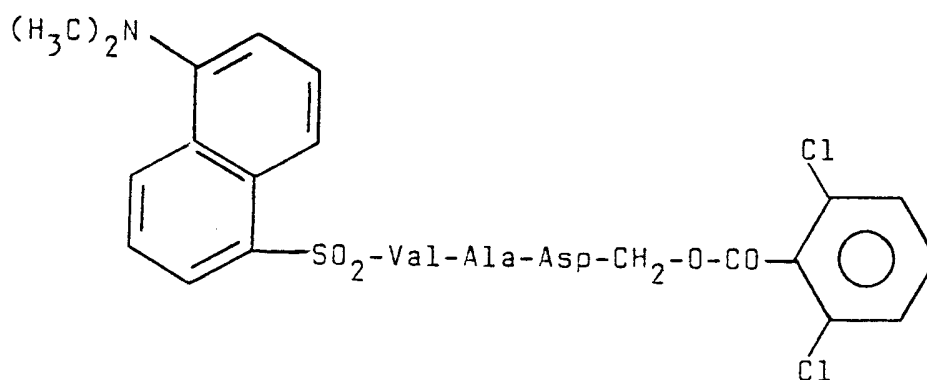


$$[\alpha]_D^{20} = -21,5^\circ \quad c = 1,07 \quad \text{MeOH}$$

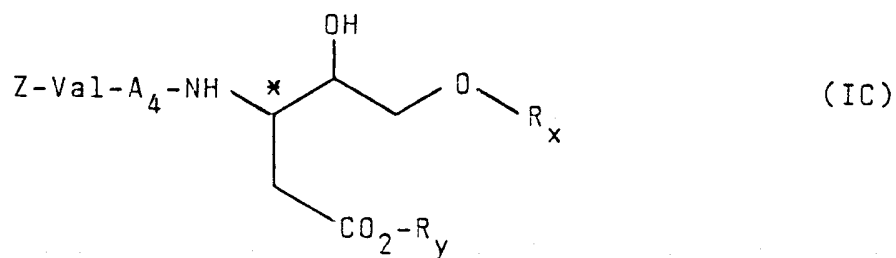
Příklad 61



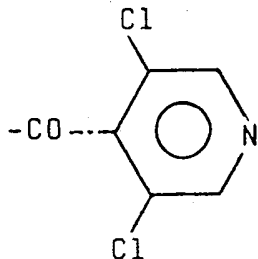
Příklad 62



Opakováním postupu podle příkladů 1 až 3 a 12 až 13 a za použití odpovídajících výchozích sloučenin se připraví následující sloučeniny obecného vzorce IC



kde A_4 , R_x a R_y mají význam uvedený níže:

příklad	A ₄	R _y	R _x	*
63	Ala	H	2,6-diCl-benzoyl	R,S
64	Ala	C ₂ H ₅		R
65	Ala	t-C ₄ H ₉	2,6-diCl-benzoyl	R,S
66	Ala	-C ₂ H ₄ -OCH ₃	2,6-diCl-benzoyl	R,S

Příklad 67

Terc.butylester (3RS)-3-(Z-valyl-fenylalanyl)amino-4-oxo-6-(p-nitrofenyl)-trans-5-hexenové kyseliny

5-diethylfosfonát terc.butylesteru (3RS)-3-(Z-valyl-fenylalanyl)amino-4-oxo-pentanové kyseliny (0,2 g, 0,29 mM) se rozpustí v THF (15 ml) při teplotě 5 °C. Přidá se NaH (25 mg, 0,59 mM) a směs se míchá po dobu 10 minut. Při teplotě 0 °C se přidá p-nitrobenzaldehyd (0,18 g, 1,1 mM) v THF (2 ml) a reakční směs se při této teplotě míchá po dobu 45 minut. Reakční směs se potom naleje do 5 % kyseliny vinné a extrahuje se ethylacetátem, organická fáze se vysuší Na₂SO₄, odpaří se a produkt se čistí chromatograficky. Získá se sloučenina uvedená v názvu.

Příklad 68

Beta-methylester dimethylacetalu Z-Val-Phe-aspartaldehydu

Z-Val-Phe-Asp(OH)-H (0,8 g) se rozpustí v MeOH (25 ml) obsahujícím 8 % HCl, nechá se při teplotě místnosti přes noc, potom se odpaří k suchu a zbylé krystaly se promyjí etherem, přičemž se získá sloučenina uvedená v názvu ve formě bílých krystalů, teploty tání 168 až 171 °C.

Výchozí sloučeniny se připraví následujícími způsoby:

Příklad 69

Terc.butylester (3S)-3-(fluorenylmethoxykarbonyl)amino-5-jod-4-oxo-butanové kyseliny

K terc.butylesteru (3S)-3-(fluorenylmethoxykarbonyl)amino-3-karboxybutanové kyseliny (3,5 g, 8,5 mmol) v THF (60 ml) se při teplotě -10 °C přidá triethylamin (1,3 ml, 9,6 mmol) a potom ethylchlorformiát (0,92 ml, 9,6 mmol). Po 10 minutách se pomalu přidá roztok diazomethanu v etheru a reakční směs se míchá při teplotě 0 až 5 °C po dobu 45 minut. Při teplotě 5 až 10 °C se přidává HCl (2 N) v etheru, až ustane vývin plynu. Reakční směs se odpaří k suchu, vyjme se do acetonu (50 ml), přidá se NaI (4 g) a míchá se při teplotě místnosti po dobu 1 hodiny. Potom se přidá ether (150 ml) a reakční směs se prefiltruje a odpaří. Zbytek se chromatografuje (SiO₂, EtOAc/hexan), přičemž se získá sloučenina uvedená v názvu ve formě světle žlutých krystalů.

Příklad 70

Terc.butylester (3S)-3-(fluorenylmethoxykarbonyl)amino-5-(2,6-dimethylbenzoyloxy)-4-oxo-pentanové kyseliny

Terc.butylester (3S)-3-(fluorenylmethoxykarbonyl)amino-

5-jod-4-oxo-butanové kyseliny (1 g, 1,8 mmol), 2,6-dimethylbenzoová kyselina (0,5 g, 3,3 mmol) a AgOAc (0,6 g, 3,6 mmol) se rozpustí v acetonu (25 ml) a zahřívá se k varu po dobu 1 hodiny. Po filtraci a odpaření se surový produkt chromatografuje (SiO_2 , ether/hexan 3/7) a získá se sloučenina uvedená v názvu.

Příklad 71

Terc.butylester (3S)-3-(fluorenylmethoxykarbonyl)amino-5-(4-nitrofenoxy)-4-oxo-pentanové kyseliny

Terc.butylester (3S)-3-(fluorenylmethoxykarbonyl)amino-5-jod-4-oxo-butanové kyseliny (1 g, 1,8 mmol), p-nitrofenol (0,5 g, 3,7 mmol) a K_2CO_3 (0,38 g, 2,8 mmol) se zahřívají k varu v acetonu (6 ml) po dobu 30 minut, načež se přidá CH_2Cl_2 a organická fáze se promyje 2 N NaHCO_3 . Spojené organické fáze se vysuší, odpaří a chromatografují (SiO_2 , EtOAc/hexan 2/8), přičemž se získá sloučenina uvedená v názvu ve formě žlutého oleje.

Příklad 72

Ethylester (Z-valyl-alanyl)-(3R,4S)-3-amino-4,5-dihydroxy-pentanové kyseliny

a) Ethyl-(3R,4S)-3-benzylamino-4,5-(isopropylidendioxy)-pentanoát (Y. Yamada, Tetrahedron Letters 1983, 24, 3009) a 10 % Pd/C v ethanolu se třepou při teplotě místnosti v atmosféře vodíku po dobu 30 minut. Filtrací a odpařením reakční směsi se získá ethyl-(3R,4S)-3-amino-4,5-(isopropylidendioxy)-pentanoát, který se použije dále bez dalšího čištění.

b) Z-Val-Ala-OH se rozpustí v THF, přidá se HOBT. H_2O a DCC při teplotě 5 °C. Reakční směs se míchá po dobu 20 minut při

teplotě 5 °C, načež se přidá diisopropylethylamin a ethyl-(3R,4S)-3-amino-4,5-(isopropylidendioxy)pentanoát v THF. Reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti, přefiltruje se, odpaří a chromatografuje se. Získá se ethylester (Z-valyl-alanyl)-(3R,4S)-3-amino-4,5-(isopropylidendioxy)pentanové kyseliny.

c) Sloučenina podle příkladu 74 b) se rozpustí v AcOH/H₂O (75/25) a míchá se při teplotě 40 °C po dobu 4 hodin. Po odpaření se přidá voda a směs se extrahuje AcOEt. Spojené extrakty se promyjí vodou, roztokem NaHCO₃, vysuší Na₂SO₄, přefiltruje se a odpaří. Získá se sloučenina uvedená v názvu.

Sloučeniny obecného vzorce I a jejich fyziologicky hydrolysovatelné a přijatelné estery a amidy a jejich farmaceuticky přijatelné soli (zde označované jako sloučeniny podle vynálezu) vykazují farmaceutickou účinnost a jsou proto použitelné jako léčiva.

Sloučeniny podle vynálezu zejména inhibují IL-1beta sekreci, jak je patrné z následujících provedení in vitro testu za použití THP-1 buněk a in vivo testu:

a) 900 μ l THP-1 buněk ($0,5 \times 10^6$ buněk) spolu s 100 U gamma-interferonu/0,9 ml RPMI 1640 media (obsahujícího 2 mM L-glutaminu a 5 % teplem inaktivovaného sera z plodu telete) se pipetuje do 24 kalíšků kultivačních misek. Potom se přidá 100 μ l testované sloučeniny. Po 3 hodinách se při teplotě 37 °C v atmosféře 5 % CO₂/95 % vzduchu přidá 10 μ l lipopolysacharidu (500 μ g/ml) a inkubace pokračuje dalších 40 hodin. Do pokusu se zahrnou příslušné kontroly (s a bez stimulu, rozpouštědla). Media se pak vyjmou a vyčerpí se centrifugací při 1000 g po dobu 10 minut, načež se do kalíšků přidá 1,0 ml 0,01 % digitoninu, aby došlo k lysi buněk, které se zkypří a seškrábou gumovou stěrkou a ponechají se při teplotě 4 °C po dobu 10 minut. Ihned po tom se provede měření laktát dehydrogenasy a vzorky se skladují při teplotě -20 °C až do dalších stanovení.

Těmito testy jsou: IL-1beta (medium a lysát), IL-6 (medium), TNF-alfa (medium), PGE2 (medium a lysát), laktát dehydrogenasa (LDH) a DNA (lysáty). Testy IL-1beta, IL-6 a TNF-alfa se stanoví použitím obchodně dostupných ELISA souprav (Cistron), PGE2 se měří použitím standardního RIA a DNA se měří fluorometricky použitím DAPI.

V tomto testu sloučeniny podle vynálezu selektivně inhibují uvolňování IL-1beta v koncentracích od asi 0,01 do 100 μ M. Na rozdíl od toho hladiny IL-6, TNF-alfa, PGE2 a DNA zůstávají v podstatě neovlivněny a sloučeniny jsou netoxické, protože uvolňování LDH je nezměněno. Například bylo stanoveno, že sloučeniny podle příkladů 40 a 50 mají hodnotu IC_{50} (koncentrace sloučeniny, která inhibuje 50 % uvolňování IL-1beta) 1 nebo 0,1 μ M.

b) LPS-horečka

Samcům Tuttlingen SD krys (150 až 160 g) se injikuje suspenze LPS (Sigma, č. L-5886, 100 μ g/5 ml glukosový roztok podkožně). Za 2 hodiny se měří tělesná teplota pomocí termistorového rektálního čidla připojeného na ELLAB teploměr. Po 4 hodinách se aplikuje testovaná sloučenin per os a po dalších 2 hodinách (6 hodin po aplikaci LPS) se znovu změří teplota. Přírůstek teploty naměřený u neošetřené kontroly se počítá jako 100 % a u ošetřené skupiny se tento vyjadřuje jako procenta této hodnoty. ED_{50} je dávka způsobující 50 % inhibici přírůstku teploty stanovené u kontrolních krys. Při tomto testu sloučeniny podle vynálezu inhibují přírůstek teploty indukovaný LPS při aplikaci dávky v rozmezí od 0,001 do 0,1 mg/kg per os. Například bylo stanoveno, že sloučeniny podle příkladů 40 a 50 mají každá hodnotu ED_{50} 0,01 mg/kg per os a sloučenina podle příkladu 51 má hodnotu ED_{50} 0,05 mg/kg per os.

c) Otoky tlapek u krys vyvolané carrageenanem

Pro každou skupinu se použijí 50FA samci krys o tělesné hmotnosti 150 až 170 g. Testovaná sloučenina se aplikuje orálně jako suspenze ve fyziologickém solném roztoku a 0,5 % tragacanthu, a to 1 hodinu před injekcí carrageenanu. Carrageenan

(0,1 ml 1 % suspense ve fyziologickém solném roztoku) se aplikuje subplantární injekcí do jedné zadní tlapky. Otok tlapky se měří antiflogometrem podle Kempera a Amelma. Kontrolní odečet se provede ihned po injekci a otok se měří po 3 a 5 hodinách. Průměrná hodnota z odečtů po 3 a 5 hodinách se odečte po odečtu kontrolního měření a získané hodnoty u ošetřených zvířat se vyjádří jako procenta hodnoty získané z neošetřených kontrol. Hodnota ED_{50} je dávka způsobující 50 % inhibici carrageenanem indukovaného otoku po 3 hodinách. V tomto testu sloučeniny podle vynálezu signifikantně inhibují carrageenanem indukované otoky při aplikaci per os v dávce v rozmezí od 0,02 do 5 mg/kg. Například bylo stanoveno, že sloučeniny podle příkladů 40 a 50 mají hodnoty ED_{50} 0,2 a 1 mg/kg per os.

Sloučeniny podle vynálezu jsou proto použitelné pro léčení poruch, jejichž příčinou je nadbytečné uvolňování IL-1beta, například u rozmanitých zánětlivých stavů a nemocí, jako jsou například vyčerpání vápníku u tkání, degenerativní procesy v kostech a chrupavkách, například revmatická artritida a osteoartritida, zánětlivá onemocnění střev, dráždivá onemocnění střev, septický šok, psoriása, astma, syndrom respirační úzkosti u dospělých, diabetes typu I, osteoporosa různého původu včetně například klimakterické nebo pomenopausální osteoporosy, jakož i osteoporosa následkem stárání, znehybnění nebo traumatu, arteriosklerosa a Alzheimerova nemoc.

Pro výše uvedená použití požadovaná dávka samozřejmě závisí na způsobu aplikace, příslušném stavu, který má být léčen, a na požadovaném účinku. Avšak obecně se dostatečných výsledků dosáhne při použití denních dávek v rozmezí od asi 0,001 do asi 100 mg/kg, s výhodou od 0,001 do asi 10 mg/kg tělesné hmotnosti. Vhodné denní dávky pro větší savce, například pro lidi, jsou v řádu od asi 0,1 mg do asi 1 g/den, přičemž lze vhodně použít dávku najednou, v rozdělených dávkách dvakrát až čtyřikrát za den nebo ve formě pomalého uvolňování.

Výhodné jsou sloučeniny podle příkladů 50 a 51.

V souhlasu s předcházejícím textem se předložený vynález také týká:

- a) Způsobu léčení stavů, jejichž příčina je spojena s nadbytečným uvolňováním IL-lbeta nebo které jsou způsobeny nadbytečným uvolňováním IL-lbeta, například jak je uvedeno výše u subjektu, který toto léčení vyžaduje, přičemž tento způsob léčení se vyznačuje tím, že se subjektu, který má být léčen, aplikuje účinné množství sloučeniny obecného vzorce I, jejího fyziologicky hydrolysovatelného a přijatelného esteru nebo amidu nebo její farmaceuticky přijatelné soli.
- b) Sloučeniny obecného vzorce I, jejího fyziologicky hydrolysovatelného a přijatelného esteru nebo amidu nebo její farmaceuticky přijatelné soli pro použití jako léčiva, například pro použití jako činidla pro ošetření stavů, jak jsou uvedeny výše.

Sloučeniny podle vynálezu se mohou aplikovat jakoukoliv běžnou metodou, zejména nasálně, enterálně, s výhodou orálně, například ve formě tablet nebo kapslí, nebo parenterálně, například ve formě injikovatelných roztoků nebo suspensí nebo ve formě čípků. Jednotkové dávkové formy obsahují například od asi 25 μ g do 500 mg sloučeniny podle vynálezu.

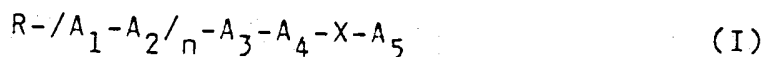
Sloučeniny podle vynálezu mohou být podávány ve volné formě nebo ve formě farmaceuticky přijatelné soli. Tyto soli lze připravit běžnými způsoby a vykazují stejnou účinnost jako volné sloučeniny.

Dále se předložený vynález týká také:

- c) Farmaceutického prostředku obsahujícího sloučeninu obecného vzorce I, její fyziologicky hydrolysovatelný a přijatelný ester nebo amid nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl, jak jsou definovány výše, spolu s farmaceuticky přijatelným ředidlem nebo nosičem. Tyto prostředky lze připravovat běžnými způsoby. Prostředky mohou obsahovat až do 99,9 % hmotnostních účinné látky.

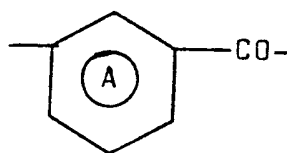
P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Sloučeniny obecného vzorce I



ve kterém

- R znamená atom vodíku, skupinu chránící aminoskupinu nebo popřípadě v kruhu substituovanou benzyloxyskupinu,
 n znamená nulu nebo 1,
 A₁ znamená Val, Leu, Ala, Ile nebo trimethylsilyl-Ala,
 A₂ znamená Phe nebo Tyr,
 A₃ znamená přímou vazbu, Val, Leu, Ala, Ile, trimethylsilyl-Ala nebo dvojbazný zbytek obecného vzorce (a)



(a)

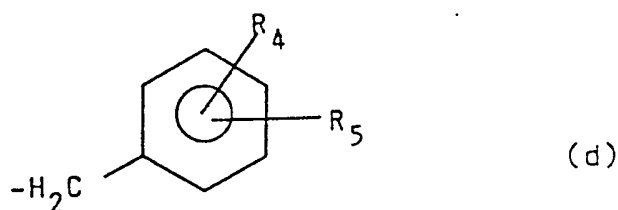
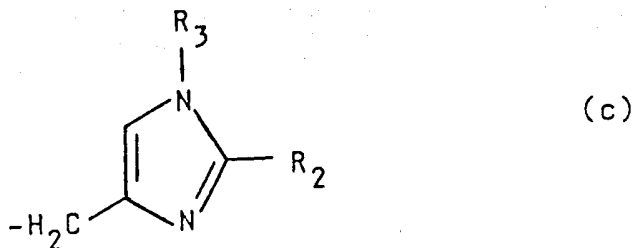
- ve kterém je kruh A popřípadě substituován hydroxyskupinou nebo alkoxyskupinou s 1 až 4 atomy uhlíku,
 A₄ znamená přímou vazbu nebo dvojbazný zbytek obecného vzorce (b)



ve kterém

- R₁ znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, a
 Y₁ znamená zbytek vázaný na alfa-uhlíkový atom alfa-aminokyseliny, který je popřípadě chráněný, skupinu -CH₂-CH₂-N(C₁₋₄alkyl)₂, imidazol-2-yl-methylovou

skupinu, benzimidazol-2-yl-methylovou skupinu, 1H-1,2,4-triazol-3-yl-methylovou skupinu, pyrazol-3-yl-methylovou skupinu, indazol-3-yl-methylovou skupinu nebo zbytek obecného vzorce (c) nebo (d)

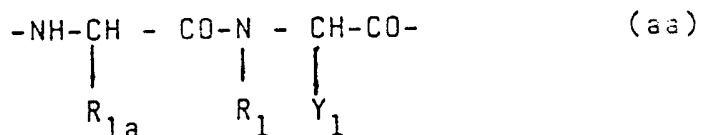


ve kterých

každá ze skupin R_2 a R_3 jsou nezávisle na sobě atom vodíku, atom halogenu, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, CF_3 nebo tritylová skupina, přičemž maximálně jedna ze skupin R_2 a R_3 je atom vodíku, a

každá ze skupin R_4 a R_5 jsou nezávisle na sobě atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, hydroxyskupina, alkoxy skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, CF_3 , fenylová skupina nebo atom halogenu, přičemž maximálně jedna ze skupin R_4 a R_5 je atom vodíku, nebo

A_3 a A_4 spolu dohromady tvoří zbytek obecného vzorce (aa)

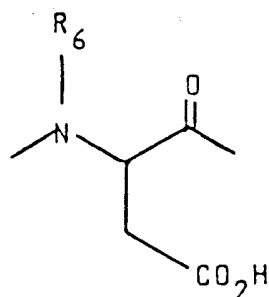


ve kterém

Y_1 má význam uvedený výše a

R_1 a R_{1a} spolu dohromady tvoří skupinu $-(CH_2)_m$, kde m znamená 2, 3, 4 nebo 5, a

1) X znamená dvojitý zbytek obecného vzorce (e_1)

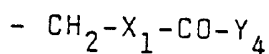


(e_1)

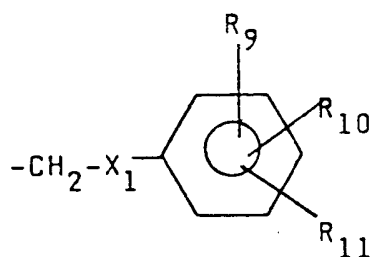
kde

R_6 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, a

A_5 znamená atom vodíku, CF_3 , zbytek $-CH_2-X_1-Y_3$, kde X_1 znamená O nebo S a Y_3 znamená heteroarylovou skupinu, zbytek $-CH_2-Y_3$ nebo zbytky obecných vzorců (k) až (m)

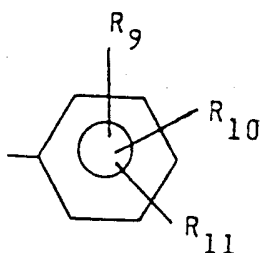


(k)

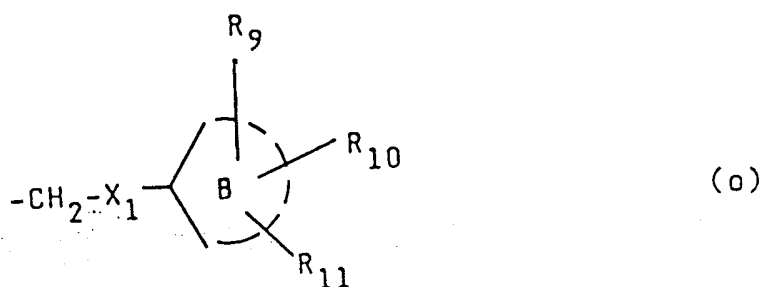


(l)

nebo

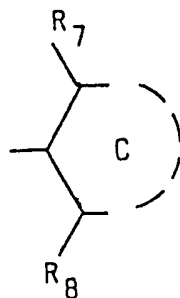


(m)



kde

Y_4 znamená tri(C_{1-4} alkyl)methylovou skupinu nebo zbytek obecného vzorce



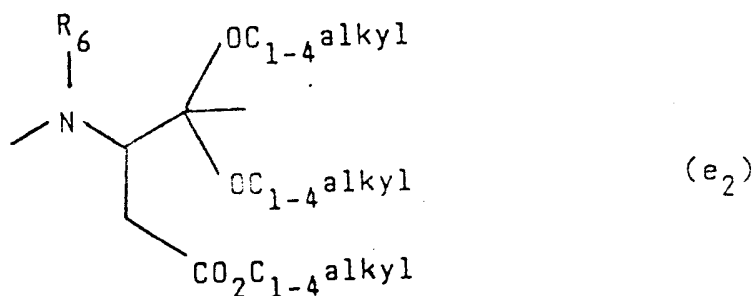
kruh B je pyridyl,

kruh C je fenyl nebo pyridyl,

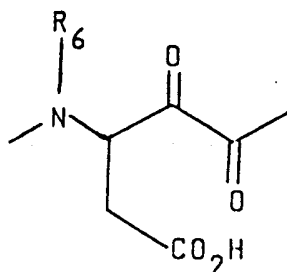
každý ze zbytků R_7 a R_8 jsou nezávisle na sobě alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, alkoxy skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, CF_3 , atom halogenu, nitroskupina nebo kyanoskupina, a

každý ze zbytků R_9 , R_{10} a R_{11} jsou nezávisle na sobě nitroskupina, kyanoskupina, CF_3 , karbamoylová skupina, CO_2R_{12} , $-CH=CH-CN$ nebo $-CH=CHCO_2R_{12}$, kde R_{12} je alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku,

X znamená také dvojbazný zbytek obecného vzorce (e_2)



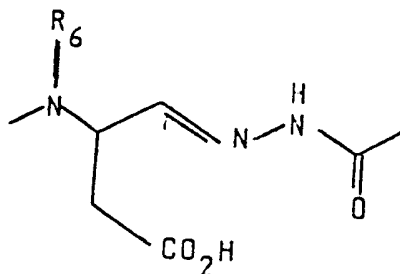
- 2) X když A_5 znamená atom vodíku, nebo
znamená dvojbazný zbytek obecného vzorce (f)



(f)

a A_5 znamená skupinu $-Z_1-Z_2-Y_2$, kde každé ze Z_1 a Z_2 jsou nezávisle na sobě přímá vazba nebo zbytek alfa-amino-kyseliny a Y_2 znamená NH_2 , C_{1-4} alkylaminoskupinu, di- $(C_{1-4}$ alkyl)aminoskupinu nebo heterocyklický zbytek připojený atomem dusíku k Z_2 , nebo zbytky obecných vzorců (k) až (o), jak jsou definovány výše, nebo OR_{13} , nebo $NR_{14}R_{15}$, kde R_{13} znamená alkylovou skupinu s 1 až 12 atomy uhlíku, popřípadě substituovanou skupinou OH nebo přerušenu kyslíkem a každé z R_{14} a R_{15} jsou nezávisle na sobě atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 12 atomy uhlíku, cykloalkylová skupina s 5 až 7 atomy uhlíku nebo benzylová skupina, nebo

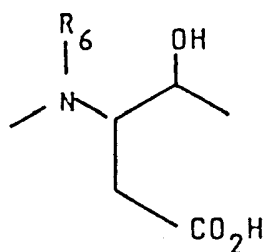
- 3) X znamená dvojbazný zbytek obecného vzorce (g)



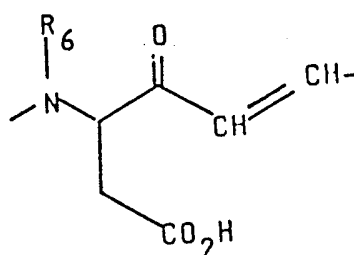
(g)

a A_5 znamená skupinu $-Z_1-Z_2-Y_2$, jak je definována výše, nebo

- 4) X znamená dvojbazný zbytek obecných vzorců (h) nebo (j)



(h)



(j)

a A_5 znamená zbytek obecných vzorců (k) až (o),
 $-\text{CH}_2-\text{Y}_3$ nebo $-\text{CH}_2-\text{X}_1-\text{Y}_3$, jak jsou definovány výše,

s tou výhradou, že pouze jedna ze skupin A_3 a A_4 může znamenat
 přímou vazbu, když n je nula, a každá ze skupin A_3 a A_4 je ji-
 ná než přímá vazba, když n je 1,
 a jejich fyziologicky hydrolysovatelné a přijatelné estery ne-
 bo amidy,
 ve volné formě, ve formě soli nebo ve formě komplexů.

2. Sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1, ve kterých
 n je nula, A_3 je přímá vazba, Val, Leu, Ala, Ile nebo trimethyl-
 silyl-Ala, A_4 má význam uvedený v nároku 1 nebo A_3 a A_4 spolu
 dohromady tvoří zbytek obecného vzorce (aa), jak je definován
 v nároku 1, a

- 1) X je zbytek obecného vzorce (e_1) nebo (e_2), jak je defi-
 nován v nároku 1 a A_5 je atom vodíku, nebo
- 2) X je zbytek obecného vzorce (e_1) nebo (f) a A_5 je zbytek
 obecného vzorce (k), (l) nebo (m), jak jsou definovány v

nároku 1, kde X_1 je 0,

- 3) X je zbytek obecného vzorce (g) a A_5 je skupina $-Z_1-Z_2-Y_2$, jak jsou definovány v nároku 1, nebo
- 4) X je zbytek obecného vzorce (j) a A_5 je zbytek obecného vzorce (k), (l) nebo (m), jak jsou definovány v nároku 1, kde X_1 je 0,

a jejich fyziologicky hydrolysovatelné a přijatelné estery nebo amidy,

ve volné formě, ve formě soli nebo ve formě komplexů.

3. Sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1, ve kterých n je nula a každá ze skupin A_3 a A_4 je jiná než přímá vazba, a jejich fyziologicky hydrolysovatelné a přijatelné estery nebo amidy, ve volné formě, ve formě soli nebo ve formě komplexů.

4. Sloučeniny obecného vzorce I podle nároků 1 nebo 3, ve kterých Y_1 je zbytek připojený k alfa-uhlíkovému atomu alfa-amino-kyseliny vybrané ze skupiny zahrnující Ala, Leu, His, Phe, Met, Trp, trimethylsilyl-Ala a popřípadě v postranním řetězci chráněnou Arg, Orn a Lys, nebo zbytek obecného vzorce (c), a jejich fyziologicky hydrolysovatelné a přijatelné estery nebo amidy, ve volné formě, ve formě soli nebo ve formě komplexů.

5. Sloučeniny obecného vzorce I podle nároků 1, 3 nebo 4, ve kterých X je zbytek obecného vzorce (e_1), (h) nebo (j), A_5 je jiné než atom vodíku, jestliže X je zbytek obecného vzorce (e_1), a jejich fyziologicky hydrolysovatelné a přijatelné estery nebo amidy, ve volné formě, ve formě solí nebo ve formě komplexů.

6. Ethylester (benzyloxykarbonyl-valyl-alanyl)-3R-3-amino-4-oxo-5-(2,6-dichlorbenzoyloxy)pentanové kyseliny,
ethylester (benzyloxykarbonyl-valyl-alanyl)-3R,S-3-amino-4-oxo-5-(2,6-dichlorbenzoyloxy)pentanové kyseliny,

ethyl-ester (benzyloxykarbonyl-valyl-alanyl)-3R-3-amino-4-oxo-5-(2,6-dichlorpyridyl-4-karbonyloxy)pentanové kyseliny,

(benzyloxykarbonyl-valyl-alanyl)-3R,S-3-amino-4-oxo-5-(2,6-dichlorbenzoyloxy)pentanová kyselina,

isopropylester (benzyloxykarbonyl-valyl-alanyl)-3R,S-3-amino-4-oxo-5-(2,6-dichlorbenzoyloxy)pentanové kyseliny,

terc.butylester (benzyloxykarbonyl-valyl-alanyl)-3R,S-3-amino-4-oxo-5-(2,6-dichlorbenzoyloxy)pentanové kyseliny a

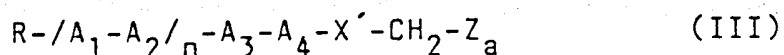
(benzyloxykarbonyl-valyl-alanyl)-3S-3-amino-4-oxo-5-(2,6-dichlorbenzoyloxy)pentanová kyselina

ve volné formě, ve formě soli nebo ve formě komplexů.

7. Způsob přípravy sloučenin obecného vzorce I a jejich fyziologicky hydrolysovatelných a přijatelných esterů a amidů, jak jsou definovány v nároku 1, v y z n a ě u j í c í s e t í m , že se

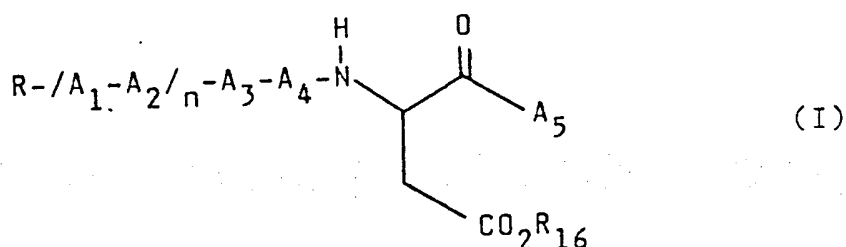
- a) odstraní alespoň jedna chránicí skupina ze sloučeniny obecného vzorce I v chráněné formě nebo se přidá chránicí skupina R, jak je definována v nároku 1, k N-koncové skupině sloučeniny obecného vzorce I, nebo se
- b) převede jedna sloučenina obecného vzorce I na jinou sloučeninu obecného vzorce I, nebo se
- c) spojí spolu dohromady amidickou vazbou dva peptidové fragmenty, přičemž každý z nich obsahuje alespoň jednu aminokyselinu v chráněné nebo nechráněné formě a jeden peptidový fragment obsahující zbytek obecného vzorce (e₁) až (j), jak jsou definovány v nároku 1, přičemž peptidové fragmenty jsou takové, že se získá chráněný nebo nechráněný peptid mající sekvenci podle obecného vzorce I a popřípadě se odstraní chránicí skupina nebo chránicí skupiny ze sloučeniny obecného vzorce I v chráněné formě, nebo se

- d) pro přípravu sloučenin obecného vzorce I, kde X je zbytek obecného vzorce (e_1) nebo (h) a A_5 je zbytek obecného vzorce (k), (l) nebo (o) nebo $-CH_2-X_1-Y_3$, jak jsou definovány v nároku 1, nechá reagovat sloučenina obecného vzorce III

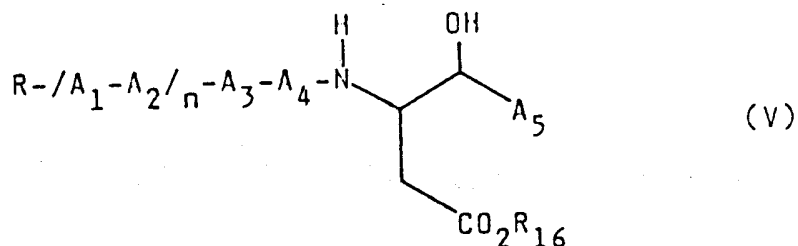


kde R, A_1 až A_4 a n mají význam uvedený v nároku 1, X' je zbytek obecného vzorce (e_1) nebo (h), jak jsou definovány v nároku 1, a Z_a je odštěpitelná skupina, s odpovídajícím fenolem, thiofenolem nebo HX_1 -pyridinem nebo s kyselinou obecného vzorce HX_1-CO-Y_4 nebo s jejím funkčním derivátem nebo s HX_1-Y_3 , kde X_1 , Y_3 a Y_4 mají význam uvedený v nároku 1, nebo se

- e) pro přípravu sloučenin obecného vzorce I



kde R, A_1 až A_5 a n mají význam uvedený v nároku 1, a R_{16} je alifatický nebo alicyklický zbytek obsahující 1 až 12 atomů uhlíku, oxiduje sloučenina obecného vzorce V



kde R, A₁ až A₅, n a R₁₆ mají výše uvedený význam,

a izoluje se takto vzniklá sloučenina obecného vzorce I nebo její fyziologicky hydrolyzovatelný a přijatelný ester nebo amid ve volné formě nebo ve formě soli nebo ve formě komplexu.

8. Sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 6 pro použití jako léčiva.

9. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje sloučeninu obecného vzorce I, jak je definována v nároku 1, nebo její fyziologicky hydrolyzovatelný a přijatelný ester nebo amid ve volné formě nebo ve formě fyziologicky přijatelné soli, spolu s farmaceuticky přijatelným ředidlem nebo nosičem.

10. Sloučenina vzorce I, tak jak je definována v nároku 1, její fyziologicky hydrolyzovatelný a fyziologicky přijatelný ester nebo amid nebo její farmaceuticky přijatelná sůl k použití pro léčení stavů, které jsou způsobeny nadbytečným uvolňováním IL-1beta.

Z a s t u p u j e :

