



NORGE

(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **313911**

(13) B1

(51) Int Cl⁷ C 07 C 311/13, C 07 D 217/24,
A 61 K 31/18, 31/47

Patentstyret

(21) Søknadsnr	19991674	(86) Int. inng. dag og	
(22) Inng. dag	1999.04.09	søknadsnummer	1997.10.09, PCT/US97/18396
(24) Løpedag	1997.10.09	(85) Videreføringsdag	1999.04.09
(41) Alm. tilgj.	1999.04.12	(30) Prioritet	1996.10.11, US, 28313
(45) Meddelt dato	2002.12.23		

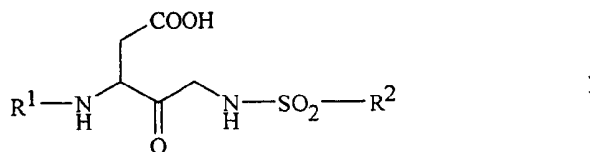
(71) Patenthaver	Warner-Lambert Co, 201 Tabor Road, Morris Plains, NJ 07950, US
(72) Oppfinner	Hans-Peter Albrecht, Gornheimertal, DE Hamish John Allen, Boylson, MA, US Kenneth Dale Brady, Worcester, MA, US William Glen Harter, Chelsea, MI, US Catherine Rose Kostlan, Saline, MI, US Bruce David Roth, Plymouth, MI, US Nigel Walker, Dossenheim, DE
(74) Fullmektig	Bryn Aarflot AS, 0104 Oslo

(54) **Benevnelse** Interleukin-1 β omdannelsesenzym-inhibitor-sulfonamider, anvendelse derav og farmasøytiske preparater inneholdende dem

(56) **Anførte publikasjoner** WO A 95/05192

(57) **Sammendrag**

Foreliggende oppfinnelse angår forbindelser som er inhibitorer for interleukin-1 β omdannelses-enzym med formelen I



Foreliggende oppfinnelse også angår en metode for behandling av slag, reperfusjonsskade, Alzheimer's sykdom, shigellose, inflammatoriske sykdommer og septisk sjokk og et farmasøytisk akseptabelt preparat som inneholder en forbindelse som er en inhibitor for interleukin-1 β omdannelses-enzym.

Foreliggende oppfinnelse angår forbindelser som er inhibitorer av interleukin-1
β-omdannende enzym. Foreliggende oppfinnelse angår også anvendelse av disse til
5 fremstilling av farmasøytiske preparater for behandling av slag, reperfusjonsskade,
Alzheimer's sykdom, shigellose og inflammatoriske sykdommer og et farmasøytisk
akseptabelt preparat som inneholder en av disse forbindelser som er inhibitorer for
interleukin-1β-omdannende enzym (Caspase-1).

BAKGRUNN FOR OPPFINNELSEN

10 Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse er inhibitorer av interleukin-1β
omdannende enzym (ICE) og er nyttige for behandling av sykdommer hvor
interleukin-1 spiller en rolle.

ICE virker på pro-interleukin-1β (pro-IL-1β) og gir interleukin-1β (IL-1β), som er
et inflammatorisk cytokin. I tillegg regulerer ICE (Caspase-1) minst fire cytokiner. ICE
15 aktiverer IL-β og IL-18 og regulerer indirekte fremstilling av IL-1α og IFNγ. Flere
sykdommer er forbundet med høy interleukin-1 aktivitet. Eksempler på sykdommer
hvor interleukin-1 er involvert omfatter, men er ikke begrenset til, inflammatoriske
sykdommer så som reumatoid artritt og inflammatorisk tarmsykdom og
neuroinflammatoriske lidelser så som slag. Andre sykdommer omfatter septisk sjokk,
20 reperfusjonsskade, Alzheimer's sykdom og shigellose.

Midler som modulerer IL-1β aktivitet er vist å ha fordelaktige in vivo effekter.
For eksempel er forbindelser som er interleukin-1 reseptor antagonister vist å hemme
ischemisk og excitotoksisk skade i rottehjerner. Se for eksempel Relton J.K., et al.,
Brain Research Bulletin, 1992;29:243-246. Ytterligere ble ICE inhibitorer vist å
25 redusere inflammasjon og pyrexi hos rotter. Se Elford P.R., et al., British Journal of
Pharmacology, 1995;115:601-606.

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse er også inhibitorer av andre
cysteinproteaser i ICE familien. Mange av disse proteaser er først nylig blitt beskrevet

-2-

i litteraturen. Skjønt nomenklaturen ennå er uløst, er de følgende proteaser representative medlemmer av denne klasse enzymer; Ich-2 (også kalt Tx eller ICErel-II), ICErel-III, Ich-I (også kalt Nedd-2), CPP-32 (også kalt apopain og yama), Mch-2, Mch-3 (også kalt ICE-lap3, CMH-1) og Ced-3. Se Henkart P.A., Immunity, 1996;4:195-201. Det erkjennes at medlemmer av denne enzymfamilien spiller biologiske nøkkelroller i både inflammasjon og apoptosis (programmert celledød). Spesielt kan Caspase-4 aktivere IL-1 β og IL-18. Det har blitt vist at en musedyr-homolog av Caspase-4 kan aaktivere ICE. Således il hemning av Caspase-4 vil bevirkne hemning av ICE. Se Thornberry N.A., et al., Perspectives in Medicament Discovery and Design, 1994;2:389-399.

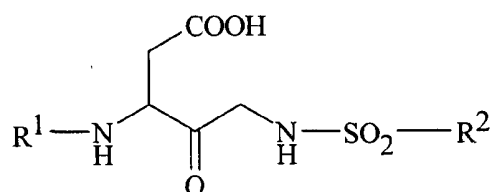
I tillegg til sine effekter på IL-1 β -produksjon er ICE vist å spille en rolle i produksjon av den inflammatoriske mediator interferon- γ (Ghayur, et al., Nature, 1997;386(6625):619-623). ICE prosesserer den inaktive proform av interferon- γ -induserende faktor (IGIF; Interleukin-18) til aktiv IGIF, et protein som induserer produksjon av interferon- γ med T-celler og naturlige killer-celler. Interferon- γ er blitt forbundet med patogenesen av sykdommer så som inflammatoriske lidelser og septisk sjokk. Derfor ville ICE inhibitorer forventes å ha fordelaktige effekter på slike sykdomstilstander gjennom virkninger på interferon- γ .

Nylig har nomenklaturen til disse cysteinproteaser i ICE familien (også kjent som Caspaser idet ICE er kjent som Caspase-1) blitt videre definert. De følgende proteaser er representative medlemmer for denne klasse av enzymer ved anvendelse av nomenklaturen beskrevet i Alnemri, et al., Celle, 1996;87:171: Caspase-2 (også kjent som Ich-1); Caspase-3 (også kjent som CPP32, Yama og apopain); Caspase-4 (også kjent som TX, Ich-2 og ICE rel-II); Caspase-5 (også kjent som ICE rel-III); Caspase-6 (også kjent som Mch2); Caspase-7 (også kjent som Mch3); Caspase-8 (også kjent som FLICE og Mch5); Caspase-9 (også kjent som ICE-LAP6 og Mch6); Caspase-10 (også kjent som Mch4).

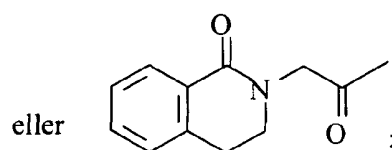
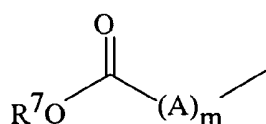
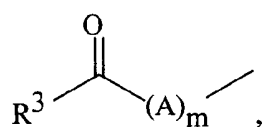
SAMMENFATNING AV OPPFINNELSEN

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer forbindelser med formel I

-3-



hvor R¹ er



R³ er hydrogen,

C₁-C₆ alkyl eller

-(CH₂)_n fenyl;

R⁷ er C₁-C₆ alkyl eller

-(CH₂)_n fenyl,

hver n er uafhængig 0 til 6;

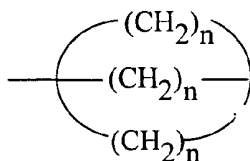
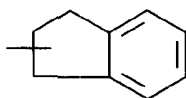
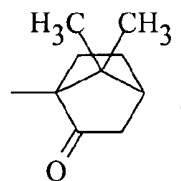
hver m er uafhængig 0, 1, 2 eller 3;

A er alanin, glycin, valin, asparagin, asparaginsyre eller glutaminsyre;

R² er -(CH₂)_n-Z; og

-4-

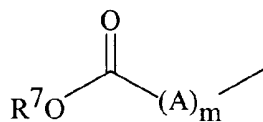
Z er fenyl, naftyl, C₃-C₇-cykloalkyl, C₁-C₆alkyl,



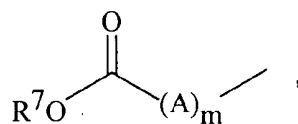
p = 1-3

fluorenyl med halogen substituert fluorenyl, og de farmasøytisk akseptable
salter, estere og amider derav.

I en foretrukket utførelsesform av forbindelsene med formel I er R¹

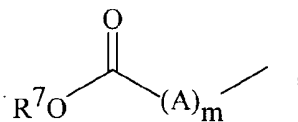


I en annen foretrukket utførelsesform av forbindelsene med formel I er R¹



m er 0 og R⁷ er -(CH₂)_n fenyl.

I en annen foretrukket utførelsesform av forbindelsene med formel I er R¹



m er 0 og R⁷ er -CH₂ fenyl.

I en annen foretrukket utførelsesform av forbindelsene med formel I er R²

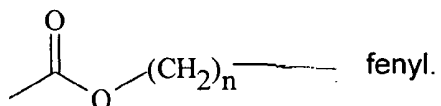
-(CH₂)_n fenyl eller -(CH₂)_n-naftyl.

I en annen foretrukket utførelsesform av forbindelsene med formel I er R² fenyl
eller naftyl.

-5-

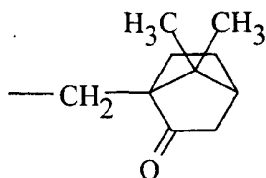
I en annen foretrukket utførelsesform av forbindelsene med formel I er R^2 $-(CH_2)_n$ -cykloalkyl.

I en annen foretrukket utførelsesform av forbindelsene med formel I er R^1

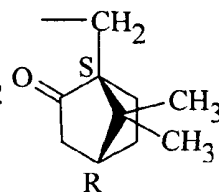


5

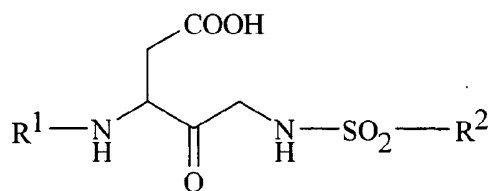
I en annen foretrukket utførelsesform av forbindelsene med formel I er R^2



I en annen foretrukket utførelsesform med formel I er R^2



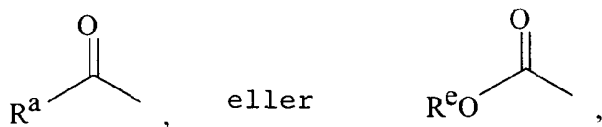
Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer også forbindelser med formel I



10

hvor R^2 er $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ -fenyl, $-\text{CH}_2\text{-C}_3\text{-C}_7$ -cykloalkyl eller $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C}_3\text{-C}_7$ -cykloalkyl;

R^1 er

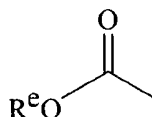


-6-

R^a er $-(CH_2)_n$ -fenyl;

R^e er $-CH_2$ fenyl; og de farmasøytisk akseptable salter, estere og amider derav.

I en foretrukket utførelsesform av forbindelsene med formel I er R^1



I en annen foretrukket utførelsesform av forbindelsene med formel I er R^e $-(CH_2)_n$ fenyl.

I en foretrukket utførelsesform tilveiebringer foreliggende oppfinnelse forbindelsene:

3-Benzylloksykarbonylamino-4-okso-5-(2-fenyletansulfonylamino)-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-4-okso-5-(3-fenyl-propan-1-sulfonylamino)-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-4-okso-5-fenylmetansulfonyl-amino-pentansyre;

5-Benzensulfonylamino-3-benzylloksykarbonylamino-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-metansulfonylamino-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(naftalen-1-sulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(2-cykloheksyl-etansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(2-naftalen-1-yl-etansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-(R)-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(indan-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(9-fluor-9H-fluoren-9-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-(S)-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-[2-(2-Benzylloksykarbonylamino-3-metyl-butyrylamino)-propionylamino]-4-okso-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre;

-7-

3-[2-(2-Benzylloksykarbonylamino-4-karboksy-butyrylamino)-3-metyl-
butyrylamino]-4-okso-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre;

3-{2-[4-Karboksy-2-(3-fenyl-propionylamino)-butyrylamino]-3-metyl-
butyrylamino}-4-okso-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre;

5 3-(2-{2-[2-Acetylamino-3-(4-hydroksy-fenyl)-propionylamino]-4-karboksy-
butyrylamino}-3-metyl-butylamino)-4-okso-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre;

3-(2-Acetylamino-3-metyl-butylamino)-5-(7,7-dimetyl-2-okso-
bicyklo[2,2,1]hept-1-(S)-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-(2-Acetylamino-propylamino)-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-(S)-
10 ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-[2-(2-Benzylloksykarbonylamino-3-metyl-butylamino)-propionylamino]-5-
(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-{2-[4-Karboksy-2-(3-fenyl-propionylamino)-butylamino]-3-
metyl-butylamino}-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-
15 4-okso-pentansyre;

3-(2-{2-[2-Acetylamino-3-(4-hydroksy-fenyl)-propionylamino]-4-karboksy-
butylamino}-3-metyl-butylamino)-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-
ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-[2-(2-Benzylloksykarbonylamino-4-karboksy-butyrylamino)-3-
20 metyl-butylamino]-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-
4-okso-pentansyre;

3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetanino-5-
benzensulfonylamino-4-okso-pentansyre;

(S)-5-(Bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-3-[2-(1-okso-3,4-
25 dihydro-1H-isokinolin-2-yl)-acetylamino]-pentansyre;

(S)- 4-Okso-3-[2-(1-okso-3,4-dihydro-1H-isokinolin-2-yl)-acetylamino]-5-(2-
fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre; og

4-Okso-3-[2-(1-okso-3,4-dihydro-1H-isokinolin-2-yl)-acetylamino]-5-
fenylmetansulfonylamino-pentansyre.

30 Gjenstand for foreliggende oppfinnelse er også anvendelse av en forbindelse
ifølge krav 1 eller 11 til fremstilling av et farmasøytisk preparat for inhibering av

-8-

interleukin-1 β -omdannende enzym, for inhibering av Caspase-4, for behandling av eller forebygging av slag, for behandling av inflammatoriske sykdommer.

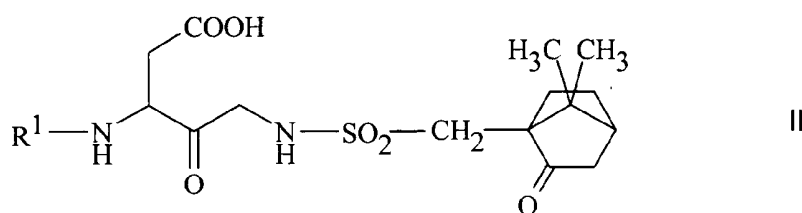
I en foretrukket utførelsesform er den inflammatoriske sykdom artritt.

I en annen foretrukket utførelsesform er den inflammatoriske sykdom inflammatorisk tarmsykdom.

Det tilveiebringes også et farmasøytisk akseptabelt preparat som inneholder en forbindelse med formel I eller II.

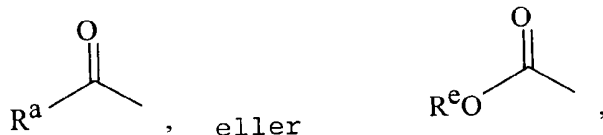
Gjenstand for foreliggende oppfinnelse er også anvendelse av en forbindelse ifølge krav 1 eller 11 til fremstilling av et farmasøytisk preparat for behandling av septisk sjokk, for behandling av reperfusjonsskade, for behandling av Alzheimer's sykdom, for behandling av shigellose.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer forbindelser med formel II



hvor

R¹ er

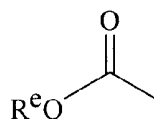


R^a er -(CH₂)_nfenyl;

R^b er aryl eller heteroaryl;

R^e er -CH₂fenyl og de farmasøytisk akseptable salter, estere og amider derav.

I en foretrukket utførelsesform av forbindelsene med formel II er R¹



I en annen foretrukket utførelsesform av forbindelsene med formel II er R^e -(CH₂)_nfenyl.

Videre vedrører oppfinnelsen anvendelse av en forbindelse ifølge krav 20 til

-9-

fremstilling av et farmasøytisk preparat for inhibering av interleukin-1 β -omdannende enzym, for inhibering av Caspase-4, for behandling av eller forebygging av slag, for behandling av septisk sjokk, for behandling av reperfusjonsskade, for behandling av Alzheimer's sykdom, for behandling av shigellose, eller for behandling av inflammatoriske sykdommer, særlig hvor den inflammatoriske tarmsykdom er artritt eller inflammatorisk tarmsykdom.

DETALJERT BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

Betegnelsen «alkyl» betyr et lineært eller forgrenet hydrokarbon.

Representative eksempler på alkylgrupper er metyl, etyl, propyl, isopropyl, isobutyl, butyl, tert-butyl, sek-butyl, pentyl og heksyl.

Betegnelsen «cykloalkyl» betyr en cyklisk alkylgruppe som har 3 til 8 karbonatomer. Cykloalkylgruppen kan være kondensert til én eller flere aryl- eller heteroarylgrupper. Representative eksempler er cyklopentyl, cykloheksyl, 1- eller 2-indanyl, 1- eller 2-tetralinyl og 9-fluorenyl. Betegnelsen «cykloalkyl» omfatter bicykloalkyl og substituert bicykloalkyl.

Symbolet «-» betyr en binding.

Forbindelsene med formel I eller II kan administreres til en pasient enten alene eller som del av et farmasøytisk akseptabelt preparat. Preparatene kan administreres til pasienter så som mennesker og dyr enten oralt, rektalt, parenteralt (intravenøst, intramuskulært eller subkutant), intracisternalt, intravaginalt, intraperitonealt, intravesicalt, lokalt (pulvere, salver eller drops) eller som en bukal eller nasal spray.

Preparater egnet for parenteral injeksjon kan omfatte fysiologisk akseptable sterile vandige eller ikke-vandige løsninger, dispersjoner, suspensjoner eller emulsjoner og sterile pulvere for rekonstituering i sterile injiserbare løsninger eller dispersjoner. Eksempler på egnede vandige og ikke-vandige bærere, fortynningsmidler, løsningsmidler eller vehikler omfatter vann, etanol, polyoler (propylenglykol, polyetylglykol, glycerol og lignende), egnede blandinger derav, vegetabiliske oljer (så som olivenolje) og injiserbare organiske estere så som etyloleat. Riktig flyte-evne kan oppnåes for eksempel ved anvendelse av et belegg så som

lecitin, ved opprettholdelse av den nødvendige partikkelstørrelse i tilfellet dispersjoner og ved anvendelse av overflateaktive midler.

Disse preparater kan også inneholde adjuvanter så som preservings-, fukte-, emulgerings- og dispergeringsmidler. Forebygging av virkningen av mikroorganismer kan sikres ved forskjellige antibakterielle og antisoppmidler, for eksempel parabener, klorbutanol, fenol, sorbinsyre og lignende. Det kan også være ønskelig å omfatte isotoniske midler, for eksempel sukkere, natriumklorid og lignende. Forlenget absorpsjon av den injiserbare farmasøytiske form kan oppnås ved anvendelse av midler som forsinker absorpsjon, for eksempel aluminummonostearat og gelatin.

Faststoff-doseformer for oral administrering omfatter kapsler, tabletter, piller, pulvere og granuler. I slike faststoff-doseformer blandes den aktive forbindelse med minst ett inert standardtilsetningsmiddel (eller -bærer) så som natriumsitrat eller dikalsiumfosfat eller (a) fyllmidler eller drøyningsmidler, som for eksempel stivelser, laktose, sukrose, glukose, mannitol og kiselsyre, (b) bindemidler, som for eksempel karboksymetylcellulose, alginater, gelatin, polyvinylpyrrolidon, sukrose og akasie, (c) fuktighetsbevarende midler, som for eksempel glycerol, (d) sprengningsmidler, som for eksempel agar-agar, kalsiumkarbonat, potet- eller tapiocastivelse, alginsyre, visse komplekse silikater og natriumkarbonat, (e) løsning retarderingsmidler som for eksempel paraffin, (f) absorpsjonsakseleratorer som for eksempel kvaternære ammoniumforbindelser, (g) fuktemidler, som for eksempel cetylalkohol og glycerol monostearat, (h) adsorbenter, som for eksempel kaolin og bentonit og (i) smøremidler, som for eksempel talkum, kalsiumstearat, magnesiumstearat, faststoff polyetylen- glykoler, natriumlaurylsulfat eller blandinger derav. I tilfellet kapsler, tabletter og piller, kan doseformene også omfatte buffermidler.

Faste preparater av en lignende type kan også anvendes som fyllmidler i fylte myk- og hardgelatinkapsler ved anvendelse av slik tilsetningsmidler som laktose eller melkesukker så vel som polyetylenglykoler med høy molekylvekt og lignende.

Faststoff-doseformer så som tabletter, drageer, kapsler, piller og granuler kan fremstilles med belegg og skall, så som enteriske belegg og andre som er velkjente på området. De kan inneholde opasitetsmidler og kan også være slike preparater at de frigjør den aktive forbindelse eller forbindelser i en bestemt del av fordøyelseskanalen på en forsinket måte. Eksempler på innstøpingspreparater som

kan anvendes, er polymersubstanser og voks. De aktive forbindelser kan også foreligge i mikro-innkapslet form, om nødvendig med ett eller flere av de ovenfor nevnte tilsetningsmidler.

Flytende doseformer for oral administrering omfatter farmasøytisk akseptable emulsjoner, løsninger, suspensjoner, siruper og eliksirer. I tillegg til de aktive forbindelser kan de flytende doseformer inneholde inerte fortynningsmidler som er vanlig anvendt på området så som vann eller andre løsningsmidler, solubiliseringsmidler og emulgeringsmidler, som for eksempel etylalkohol, isopropylalkohol, etylkarbonat, etylacetat, benzylalkohol, benzylbenzoat, propylenglykol, 1,3-butylenglykol, dimetylformamid, oljer, spesielt bormullsfrøolje, jordnøttolje, maisfrøolje, olivenolje, ricinusolje og sesamolje, glycerol, tetrahydrofurfurylalkohol, polyetylenglykoler og fettsyre-estere av sorbitan eller blandinger av disse substanser og lignende.

Ved siden av slike inerte fortynningsmidler kan preparatet også omfatte adjuvanser, så som fuktemidler, emulgerings- og suspenderingsmidler, søtnings-, smaks- og parfymemidler.

Suspensjoner kan i tillegg til de aktive forbindelser inneholde suspenderingsmidler, som for eksempel etoksylerte isostearylalkoholer, polyoksyetylenorbitol og sorbitanestere, mikrokrySTALLinsk cellulose, aluminum-metahydroksyd, bentonit, agar-agar og tragakant eller blandinger av disse substanser og lignende.

Preparater for rektale administreringer er fortrinnsvis suppositorier som kan fremstilles ved blanding av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse med egnete ikke-irriterende tilsetningsmidler eller bærere så som kakaosmør, polyetylenglykol eller en suppositoriumvoks, som er faststoff ved vanlige temperaturer, men flytende ved legemstemperatur, og derfor smelter i rectum eller vagina og frigjør den aktive komponent.

Doseformer for topisk administrering av en forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse omfatter salver, pulvere, spray-preparater og inhalanter. Den aktive komponent blir blandet under sterile betingelser med en fysiologisk akseptabel bærer og hvilke som helst konserveringsmidler, buffere eller drivmidler som kan være

nødvendige. Oftalmiske preparater, øyesalver, pulvere og løsninger er også tilsiktet å være innenfor omfanget ifølge foreliggende oppfinnelse.

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan administreres til en pasient ved dosenivåer i området omtrent 0,1 til omtrent 1,000 mg pr. dag. For et normalt voksent menneske som har en kroppsvekt på omtrent 70 kg, er en dose i området omtrent 0,01 til omtrent 100 mg/kg kroppsvekt pr. dag å foretrekke. Den spesifikke dose som anvendes kan imidlertid variere. For eksempel kan dosen avhenge av en rekke faktorer omfattende pasientens behov, alvorlighetsgraden av tilstanden som behandles og den farmakologiske aktivitet av forbindelsen som anvendes.

Bestemmelsen av optimumsdoser for en spesiell pasient er velkjent for fagfolk på området.

Betegnelsen «farmasøytisk akseptable salter, estere og amider» som den anvendes her, angir karboksylatsalter, amino- syreaddisjonssalter, estere, amider og promedikamenter av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse, som ligger innenfor omfanget av sunn medisinsk dømmekraft, egnet for anvendelse i kontakt med vevet til pasienter uten uakseptabel toksisitet, irritasjon, allergisk reaksjon og lignende, i forhold til et rimelig gevinst/risiko-forhold og effektivitet for deres tilsiktede anvendelse, så vel som zwitterionformene, hvor mulig, av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse. Betegnelsen «salter» angir de relativt ikke-toksiske, uorganiske og organiske syreaddisjonssalter av forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse. Disse salter kan fremstilles in situ under den endelige isolering og rensning av forbindelsene eller ved separat omsetning av den rensede forbindelse til sin frie baseform med en egnet organisk eller uorganisk syre og isolering av saltet som således dannes. Representative salter omfatter hydrobromid-, hydroklorid-, sulfat-, bisulfat-, nitrat-, acetat-, oksalat-, valerat-, oleat-, palmitat-, stearat-, laurat-, borat-, benzoat-, laktat-, fosfat-, tosylat-, citrat-, maleat-, fumarat-, succinat-, tartrat-, naftylatmesylat-, glucoheptonat-, laktobionat- og laurylsulfonatsalter og lignende. Disse kan omfatte kationer basert på alkali- og jordalkalimetallene, så som natrium, litium, kalium, kalsium, magnesium og lignende, så vel som ikke-toksiske ammonium-, kvaternære ammonium- og amin- kationer omfattende, men ikke begrenset til ammonium, tetrametylammonium, tetraetylammonium, metylamin, dimetylammin, trimetylammin, trietylammin, etylamin og lignende. (se for eksempel Berge S.M., et al.,

«Pharmaceutical Salts,» J. Pharm. Sci., 1977;66:1-19 som er inntatt her som referanse.)

Eksempler på farmasøytisk akseptable, ikke-toksiske estere av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse omfatter C₁-C₆ alkylestere hvor alkylgruppen er lineær eller forgrenet. Akseptable estere omfatter også C₅-C₇ cykloalkylestere så vel som arylalkylestere, men ikke begrenset til benzyl. C₁-C₄ alkylestere er foretrukket. Estere av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan fremstilles i henhold til konvensjonelle metoder.

Eksempler på farmasøytisk akseptable, ikke-toksiske amider av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse omfatter amider avledet fra ammoniakk, primære C₁-C₆ alkylaminer og sekundære C₁-C₆ dialkylaminer hvor alkylgruppene er lineære eller forgrenete. I tilfellet sekundære aminer kan aminet også foreligge i form av en 5- eller 6-leddet heterocyklus inneholdende et nitrogenatom. Amider avledet fra ammoniakk, primære C₁-C₃ alkylaminer og sekundære C₁-C₂ dialkylaminer er foretrukket. Amider av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan fremstilles i henhold til konvensjonelle metoder.

I tillegg kan forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse foreligge i usolvatiserte så vel som solvatiserte former med farmasøytisk akseptable løsningsmidler så som vann, etanol og lignende. Generelt blir de solvatiserte former ansett ekvivalente med de usolvatiserte former for formålet ifølge foreliggende oppfinnelse.

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan foreligge i forskjellige stereoisomere former i kraft av tilstedeværelsen av asymmetriske sentere i forbindelsene; dvs. hvert asymmetrisk karbon kan ha enten R- eller S-konfigurasjon. Det er tilsiktet at alle stereoisomere former av forbindelsene så vel som blandinger derav, omfattende racemiske blandinger, utgjør en del av foreliggende oppfinnelse.

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse administreres til en pasient med behov for ICE hemning. Generelt er pasienter med behov for ICE hemning de pasienter som har en sykdom eller tilstand hvor interleukin-1 spiller en rolle.

Eksempler på slike sykdommer omfatter, men er ikke begrenset til, inflammatoriske sykdommer så som reumatoid artritt, inflammatorisk tarmsykdom og

-14-

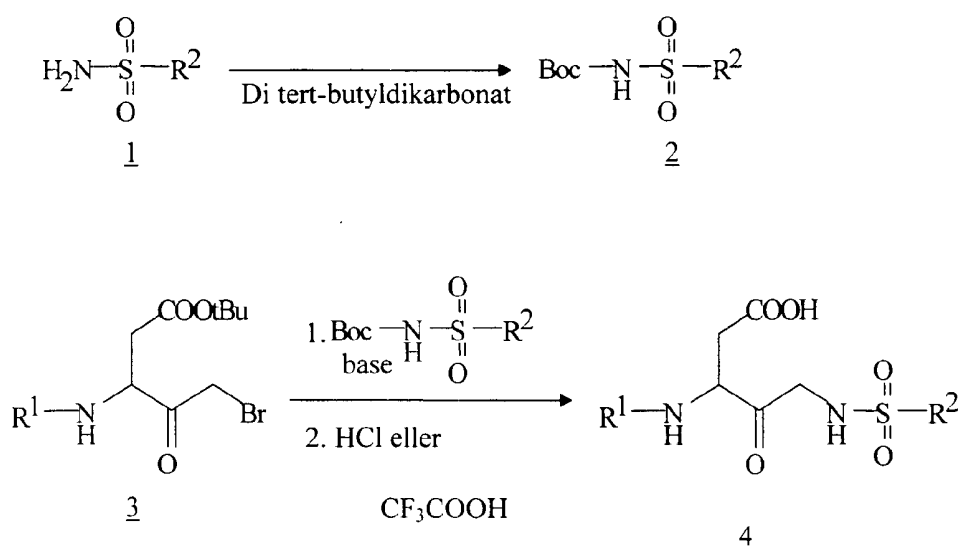
neuroinflammatoriske lidelser så som slag og septisk sjokk. Andre sykdommer omfatter reperfusjonsskade, Alzheimer's sykdom og shigellose.

En «terapeutisk effektiv mengde» er en mengde av en forbindelse med formel I eller II som, når den blir administrert til en pasient som har en sykdom, som kan behandles med en forbindelse med formel I eller II, lindrer et symptom av sykdommen. En terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse med formel I eller II blir lett bestemt av fagfolk på området ved administrering av en forbindelse med formel I eller II til en pasient og observing av resultatene.

De følgende eksempler illustrerer spesielle utførelsesformer ifølge foreliggende oppfinnelse og er ikke ment å begrense omfanget av beskrivelsen og kravene på noen som helst måte.

Forbindelser ifølge den foreliggende oppfinnelse kan fremstilles generelt ved omdannelse av det tilsvarende utgangs-sulfonamid 1 til Boc-sulfonamid 2 ved anvendelse av et reagens så som di-tert-butyldikarbonat. Boc-sulfonamid 2 kan deretter omsettes med den tilsvarende substituerte asparaginsyre-brommetylketon β tert-butylester 3 i nærvær av en base, fulgt av behandling med syre, hvilket gir det ønskede produkt 4.

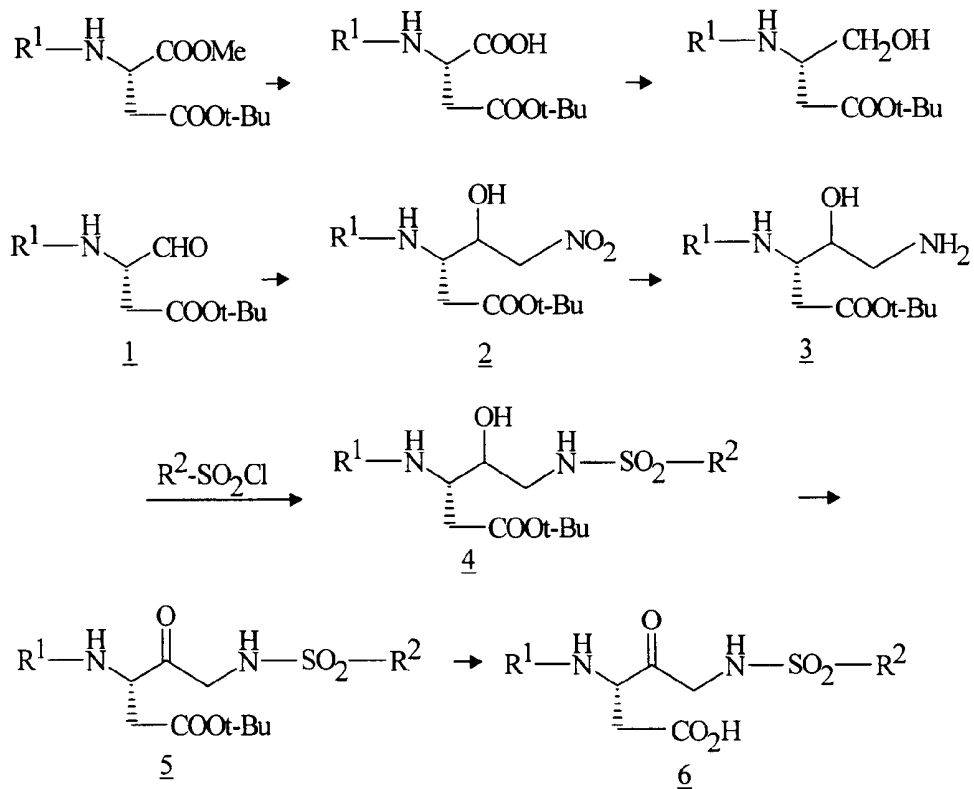
Skjema 1



-15-

Alternativt kan forbindelser ifølge den foreliggende oppfinnelse fremstilles generelt ved omsetning av det tilsvarende substituerte asparaginsyre-aldehyd 1 med nitrometan i nærvær av en base så som kalium-tert-butoksyd, hvilket gir nitroalkohol 2. Reduksjon av 2 til aminet 3, fulgt av omsetning med det tilsvarende sulfonylklorid gir 4, som kan oksyderes til ketonet 5 med et reagens så som Dess Martin periodinan eller ved en Swern-oksydasjon. Sur avbeskyttelse av t-butylesteren med HCl eller trifluoreddiksyre gir det ønskede produkt 6.

-16-



Skjema 2

EKSEMPEL 1a

1,1-Dimetyletyl [(2-fenyletyl)sulfonyl]karbamat

En oppløsning av di-tert-butyldikarbonat (1,07 g) i metylenklorid (3 ml) ble satt dråpevis til en løsning av 2-fenyletansulfonamid (0,78 g), trietylamin (0,48 g) og DMAP (dimetylamino-pyridin) (0,012 g) i metylenklorid (10 ml). Reaksjonsblandingen ble rørt i 3 timer ved omgivelsestemperatur og løsningsmidlet ble avdampet. Den resulterende olje ble tatt opp i etylacetat, vasket med 5% HCl, vann og deretter saltvann. Det organiske sjiktet ble tørket over natriumsulfat, filtrert og løsningsmidlet fordampet. Den resulterende olje ble rensset ved flash- kolonnekromatografi på silika (1% eter/10% heksan/metylenklorid gradient til 20% eter/10% heksan/metylenklorid), hvilket ga 1,1-dimetyletyl-[(2-fenyletyl)sulfonyl]-karbamat (0,87 g), smeltepunkt (Sm.p.) 99-102° C, som ble anvendt i neste trinn uten ytterligere rensning.

De følgende forbindelser ble fremstilt i henhold til metoden fra Eksempel 1a fra de tilsvarende sulfonamider:

EKSEMPEL 1b

1,1-Dimetyletyl [(3-fenylpropyl)sulfonyl]karbamat, Sm.p. 59-62°C.

EKSEMPEL 1c

1,1-Dimetyletyl [(fenylmetyl)sulfonyl]karbamat, Sm.p. 90-94°C (dec).

EKSEMPEL 1d

Tert-butyl[benzensulfonyl]karbamat

MS (AP-): 256.

CHN Beregnet: C, (51,35%); H, (5,88%); N, (5,44%); S, (12,46%).

Funnet: C, (51,41%); H, (5,59%); N, (5,40%); S, (12,44%).

EKSEMPEL 1e

Tert-butyl[metansulfonyl]karbamat

MS (AP-): 194.

CHN Beregnet: C, (36,91%); H, (6,71%); N, (7,17%); S, (16,42%).

-18-

Funnet: C, (36,96%); H, (6,54%); N, (7,08%); S, (16,39%).

EKSEMPEL 1f

Tert-butyl[naftalen-1-sulfonyl]karbamat

MS (AP-): 306.

CHN Beregnet: C, (58,62%); H, (5,57%); N, (4,56%); S, (10,43%).

Funnet: C, (58,54%); H, (5,40%); N, (4,44%); S, (10,40%).

EKSEMPEL 1g

Tert-butyl[2-cykloheksyl-etansulfonyl]karbamat

MS (AP-): 290.

CHN Beregnet: C, (53,58%); H, (8,65%); N, (4,81%); S (11,00%).

Funnet: C, (53,64%); H, (8,58%); N, (4,89%); S (11,26%).

EKSEMPEL 1h

Tert-butyl[2-naftalen-1-yl-etansulfonyl]karbamat

NMR (CDCl₃): 7,98 (d, 1H), 7,89 (d, 1H), 7,79 (d, 1H), 7,6-7,3 (m, 4H), 6,85 (br, 1H),

3,83-3,77 (m, 2H), 3,64-3,60 (m, 2H), 1,44 (s, 9H).

EKSEMPEL 1i

Tert-butyl[7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2.2.1]hept-1-ylmetansulfonyl]karbamat

MS (AP+): base peak 276 (parent med tap of isobutylene).

CHN Beregnet: C, (54,36%); H, (7,60%); N, (4,23%).

Funnet: C, (54,64%); H, (7,62%); N, (3,98%).

EKSEMPEL 1j

Tert-butyl[indan-1-ylmetansulfonyl]karbamat

IR (cm⁻¹): 3246, 3232, 2980, 2937, 1740, 1436, 1350, 1243, 1137, 9176, 830, 757.

MS (AP+): 310.

EKSEMPEL 1k

Tert-butyl[9-fluor-9H-fluoren-9-ylmetansulfonyl]karbamat

MS (AP-): 376.

-19-

CHN Beregnet: C, (60,46%); H, (5,34%); N, (3,71%); S, (8,50%); F, (5,03%).

Funnet: C, (60,19%); H, (5,40%); N, (3,64%); S, (8,33%); F, (4,89%).

EKSEMPEL 2a

3-Benzylloksykarbonylamino-4-okso-5-(2-fenyletan-sulfonylamino)-pentansyre

5 Til en løsning av 1,1-dimetyletyl [(2-fenyletyl)sulfonyl]karbamat (0,28 g) i tørt DMF (dimetylformamid) (2 ml) ble satt kalium-tert-butoksyd (0,12 g) og den resulterende løsning ble satt dråpevis til en is-avkjølt løsning av 3-benzylloksykarbonylamino-5-brom-4-okso-pentansyre-1,1-dimetyletylester (0,32 g) i DMF (2 ml). Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur i 24 timer, hellet i vann 10 (100 ml), og den resulterende løsning ble nøytralisert med fortynnet vandig NH_4Cl . Produktet ble ekstrahert over i eter (3×50 ml), og de samlede organiske sjikt ble vasket med vann, fortynnet $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ og deretter saltvann. Løsningen ble tørket over natriumsulfat, filtrert og løsningsmidlet ble avdampet, hvilket ga den rå mellomprodukteter (0,49 g) som en gul olje.

15 Oljen ble løst i metylenklorid (10 ml) og trifluoreddiksyre (10 ml), og den resulterende løsning ble rørt ved romtemperatur i 6 timer. Løsningsmidlet ble avdampet, hvilket ga en gul olje som ble rensset ved kolonnekromatografi (silika; 1% aceton/1% maursyre/metylenklorid-gradient til 20% aceton/1% maursyre/metylenklorid) og omkrystallisert fra eter/heksan, hvilket ga 20 3-benzylloksykarbonylamino-4-okso-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre (0,04 g), Sm.p. $100-101^\circ\text{C}$. (NMR [CD_3OD], ppm) 7,4-7,1 (m, 10H), 5,1 (s, 2H), 4,5 (t, 1H), 4,35 (d, 1H), 4,15 (d, 1H), 3,3-3,0 (m, 4H), 2,9-2,7 (m, 2H).

25 De følgende forbindelser ble fremstilt i henhold til metoden fra Eksempel 2a fra de tilsvarende Boc-beskyttete sulfonamider:

EKSEMPEL 2b

3-Benzylloksykarbonylamino-4-okso-5-(3-fenylpropan-1-sulfonylamino)-pentansyre

Sm.p. $96-104^\circ\text{C}$.

-20-

(NMR [CD₃OD], ppm) 7,4-7,1 (m, 10H), 5,11 (s, 2H), 4,5 (t, 1H), 4,3 (d, 1H), 4,1 (d, 1H), 3,05-2,6 (m, 6H), 2,2-2,0 (m, 2H).

EKSEMPEL 2c

3-Benzylloksykarbonylamino-4-okso-5-fenylmetansulfonyl-amino-pentansyre,

Sm.p. 160-164°C.

(NMR [CD₃OD], ppm) 7,5-7,2 (m, 10H), 5,13 (s, 2H), 4,47 (t, 1H), 4,30 (s, 2H), 4,20 (d, 1H), 4,0 (d, 1H), 2,9-2,7 (m, 2H).

EKSEMPEL 2d

5-Benzensulfonylamino-3-benzylloksykarbonylamino-4-okso-pentansyre

MS (AP+): 421.

CHN Beregnet: C, (54,28%); H, (4,79%); N, (6,66%); S, (7,63%).

Funnet: C, (54,19%); H, (4,85%); N, (6,47%); S, (7,36%).

Vann (0,10%).

EKSEMPEL 2e

3-Benzylloksykarbonylamino-5-metansulfonylamino-4-okso-pentansyre

NMR (ppm, CD₃OD): 7,4-7,2 (m, 5H), 5,48 (s, 2H), 4,51 (t, 1H), 4,4-4,1 (dd, 2H), 2,9-2,7 (m, 5H).

CHN Beregnet: C, (53,58%); H, (8,65%); N, (4,81%); S, (11,00%).

Funnet: C, (53,64%); H, (8,58%); N, (4,89%); S, (11,26%).

EKSEMPEL 2f

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(naftalen-1-sulfonylamino)-4-okso-pentansyre

MS (AP+): 471.

IR (KBr, cm⁻¹): 3347, 2928, 1717, 1508, 1327, 1162, 1134, 772, 589.

EKSEMPEL 2g

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(2-cykloheksyl-etansulfonylamino)-4-okso-pentansyre

NMR (ppm, CD₃OD): 7,4-7,2 (m, 5H), 5,12 (s, 2H), 4,50 (t, 1H), 4,4-4,2 (d, 1H), 4,2-4,0 (d, 1H), 3,1-2,7 (m, 4H), 1,8-1,6 (m, 8H), 1,4-1,1 (m, 5H), 1,0-0,8 (m, 2H).

-21-

EKSEMPEL 2h

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(2-naftalen-1-yl-etansulfonylamino)-4-okso-pentansyre

NMR (ppm, CD₃OD) 8,11 (d, 1H), 7,88 (d, 1H), 7,77 (d, 1H), 7,6-7,2 (m, 9H), 5,06 (s, 2H), 4,51 (t, 1H), 4,4 (d, 1H), 4,2 (d, 1H), 3,7-3,5 (m, 2H), 3,4-3,3 (m), 2,9-2,7 (m, 2H).

IR (KBr, cm⁻¹): 3307, 2926, 1735, 1685, 1544, 1398, 1322, 1275, 1136, 778, 698.

EKSEMPEL 2i

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-(R)-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre

IR (LF+CHCl₃, cm⁻¹): 3314, 2960, 1730,5, 1525, 1329, 1217, 1146, 1052, 754.

NMR (CD₃OD, ppm): 7,4-7,2 (m, 5H), 5,12 (s, 2H), 4,5 (t, 1H), 4,4 (d, 1H), 4,15 (d, 1H), 3,45 (d,1H), 3,0 (d, 1H), 2,9-2,6 (m, 2H), 2,5-2,3 (m, 2H), 2,2-1,8 (m, 3H), 1,8-1,6 (m, 1H), 1,5-1,4 (m, 1H), 1,06 (s, 3H), 0,87 (s, 3H).

EKSEMPEL 2j

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(indan-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre

IR (KBr, cm⁻¹): 3314, 2930, 1704, 1530, 1318, 1266, 1145, 1059, 746, 698.

MS (AP+): 475.

EKSEMPEL 2k

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(9-fluor-9H-fluoren-9-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre

MS (AP+): 521 (forbundet med tap av F-).

NMR (F19, CD₃OD, ppm) -77,1.

EKSEMPEL 2l

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-(S)-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre

MS (AP-): 493.

IR (KBr, cm⁻¹): 3374, 2961, 1733, 1522, 1455, 1416, 1330, 1274, 1204, 1179, 1146, 1052, 698.

-22-

EKSEMPEL 2m

(R)-3-Benzylloksykarbonylamino-5-(7,7-dimetyl-bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetan-sulfonylamino)-4-okso-pentansyre

MS (APCI-): 479,2

De følgende forbindelser ble fremstilt i henhold til metoden fra Eksempel 2a fra de tilsvarende di-, tri- eller tetrapeptid-brommetylketoner og tert-butyl[(2-fenyletyl)sulfonyl]karbammat:

EKSEMPEL 3a

3-[2-(2-Benzylloksykarbonylamino-3-metyl-butyrylamino)-propionylamino]-4-okso-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre

Beregnet for $C_{29}H_{38}N_4O_9S_1 \cdot 0,33 CF_3COOH$: C, 54,26; H, 5,88; N, 8,53.

Funnet: C, 54,26; H, 5,93; N, 8,55.

EKSEMPEL 3b

3-[2-(2-Benzylloksykarbonylamino-4-karboksy-butyrylamino)-3-metyl-butyrylamino]-4-okso-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre

EKSEMPEL 3c

3-{2-[4-Karboksy-2-(3-fenyl-propionylamino)-butyrylamino]-3-metyl-butyrylamino}-4-okso-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre

Beregnet for $C_{32}H_{42}N_4O_{10}S_1 \cdot 0,24 CF_3COOH$: C, 55,56; H, 6,06; N, 7,98.

Funnet: C, 55,56; H, 6,23; N, 8,07.

EKSEMPEL 3d

3-(2-{2-[2-Acetylamino-3-(4-hydroksy-fenyl)-propionylamino]-4-karboksy-butyrylamino}-3-metyl-butyrylamino)-4-okso-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre

De følgende forbindelser ble fremstilt i henhold til metoden fra Eksempel 2a fra de tilsvarende beskyttede di-, tri- eller tetrapeptidbrommetylketoner og tert-butyl[7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonyl]karbammat:

-23-

EKSEMPEL 4a

3-(2-Acetylamino-3-metyl-butyrylamino)-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-(S)-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre

MS (AP+): 502.

IR (KBr, cm^{-1}): 3338, 2965, 1738, 1653, 1540, 1395, 1328, 1148.

EKSEMPEL 4b

3-(2-Acetylamino-propylamino)-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-(S)-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre

MS (AP-): 472.

EKSEMPEL 4c

3-[2-(2-Benzylloksykarbonylamino-3-metyl-butyrylamino)-propionylamino]-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre

Beregnet for $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}_1 \cdot 0,30 \text{ CF}_3\text{COOH}$: C, 54,31; H, 6,39; N, 8,02.

Funnet: C, 54,31; H, 6,51; N, 7,80.

EKSEMPEL 4d

3-{2-[4-Karboksy-2-(3-fenyl-propionylamino)-butyrylamino]-3-metyl-butyrylamino}-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre

Beregnet for $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}_1 \cdot 0,43 \text{ CF}_3\text{COOH}$: C, 54,36; H, 6,34; N, 7,27.

Funnet: C, 54,36; H, 6,57; N, 7,35.

EKSEMPEL 4e

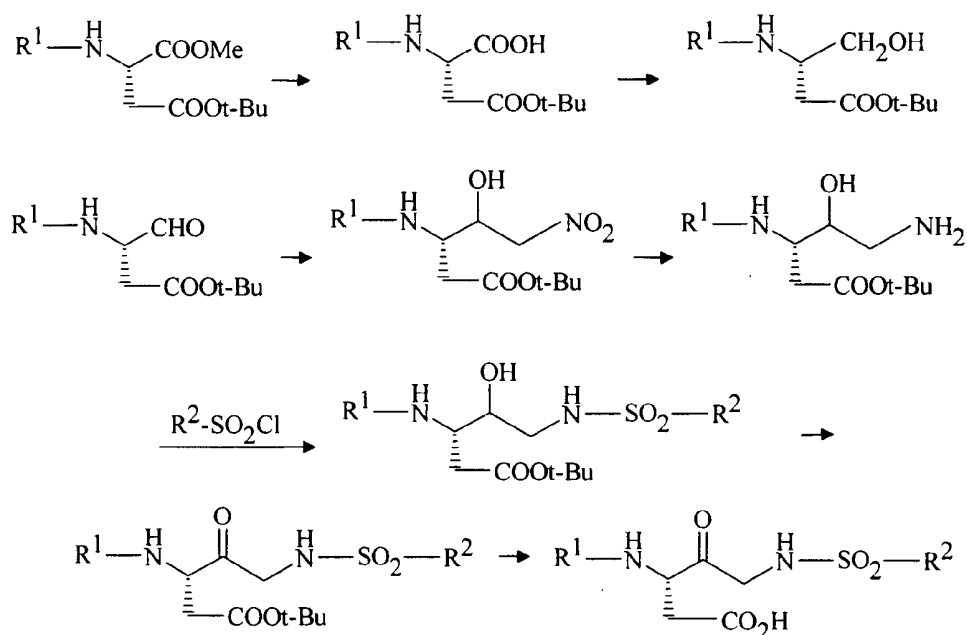
3-(2-[2-[2-Acetylamino-3-(4-hydroksy-fenyl)-propionylamino]-4-karboksy-butyrylamino]-3-metyl-butyrylamino)-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre

EKSEMPEL 4f

3-[2-(2-Benzylloksykarbonylamino-4-karboksy-butyrylamino)-3-metyl-butyrylamino]-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre

-24-

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan også syntetiseres ad den følgende vei:



EKSEMPEL 5a

3-(1,2,3,4-Tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)acetamino-5-benzensulfonyl amino-4-okso-pentansyre

Trinn A

Til en løsning av (1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)eddiksyre (2,7 g, 13,0 mMol) fremstilt i henhold til metoden til Anderson W.K., et al., J. Med. Chem., 1988;31:2097 og H-Asp (OtBu)OMe $\times$ HCl (2,9 g, 12,0 mMol) i dimetylformamid (40 ml) ble det satt ved 0°C 1-etyl-3-(3'-dimetylamino-propyl) karbodiimid $\times$ HCl (2,5 g, 13,0 mMol) og trietylamin (4,05 g, 40 mMol). Blandingen ble rørt ved romtemperatur i 16 timer. Mesteparten av løsningsmidlet ble fjernet under redusert trykk, og residuet ble løst i etylacetat. Den organiske fasen ble vasket suksessivt med vandig natriumhydrogenkarbonat og vann, tørket over natriumsulfat og konsentrert, hvilket ga 4,5 g av et amorf residue.

Residuet ble oppløst i 40 ml dioksan/vann (1:1) og hydrolysert i nærvær av thymolftalein ved dråpevis tilsetning av 1N NaOH (12,0 ml). Etter inndamping av

-25-

mesteparten av dioksanet og fortynning med vann ble den vandige løsningen ekstrahert med eter, surgjort med fortynnet HCl til pH 2-3 og produktet ekstrahert over i etylacetat. Den organiske fasen ble vasket med vann, tørket over natriumsulfat og konsentrert under redusert trykk, hvilket ga 3,4 g krystallinsk N-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetyl asparaginsyre, 4-tert-butylester.

Trinn B

Til en løsning av N-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetyl asparaginsyre, 4-tert-butylester (3,1 g, 8,25 mMol) i 50 ml tetrahydrofuran ble det satt ved -5°C N-metylmorfolin (1,25 ml, 11,0 mMol) og isobutylklorformiat (1 eq). Etter 15 minutter mellom -5°C og 0°C ble det dannete blandete anhydrid satt ved -78°C til en suspensjon av natriumborhydrid (0,75 g, 20 mMol) i 45 ml tetrahydrofuran og 15 ml metanol. Etter 2 timer ved -40°C ble reaksjonen avbrutt ved tilsetning av 5,0 ml eddiksyre. Etylacetat/heksan (250 ml, 1:1) og vann 30 ml ble tilsatt. Den organiske fasen ble vasket suksessivt med mettet vandig natriumhydrogenkarbonat og vann, tørket over natriumsulfat og konsentrert under redusert trykk. Rensning av residuet over silika (eluering med diklormetan/metanol 20:1) ga 3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetamino-4-hydroksy-pentansyre, tert-butylester (2,3 g).

Trinn C

Til en løsning ved -45°C under nitrogen av dimetylsulfoksyd (3,72 ml, 52,4 mMol) i diklormetan ble det satt dråpevis med sprøyte oksalyklorid (2,5 g, 28,8 mMol) fulgt av N-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetamino-4-hydroksy-pentansyre, tert-butylester (6,88 g, 24,0 mMol). Etter 30 minutter ble reaksjonen avbrutt ved tilsetning av diisopropyletylamin (12,4 ml, 72,0 mMol) og fordelt mellom etylacetat (800 ml) og vann (80 ml). Den organiske fasen ble vasket suksessivt med 1N natriumhydrogensulfat og vann, tørket over natriumsulfat og konsentrert under redusert trykk, hvilket ga 4,8 g 3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetamino-4-okso-pentansyre, tert-butylester.

Trinn D

Til 1,15 g (10,0 mMol) KOtBu (kalium-tertbutoksyd) i dimetylformamid (30 ml) ved 0°C under nitrogen og nitrometan (1,75 ml, 32,5 mMol) ble det satt

-26-

3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetamino-4-okso-pentansyre, tert-butylester (3,6 g, 10,0 mMol). Etter 3 timer ved 0°C ble reaksjonen avbrutt ved tilsetning av 1,5 ml eddiksyre og fordelt mellom etylacetat (200 ml) og vann (20 ml). Den organiske fasen ble vasket med mettet vandig natriumhydrogenkarbonat og vann, tørket over natriumsulfat og konsentrert under redusert trykk. Rensning av
5 residuet over silika (eluering med diklormetan/metanol 20:1) ga 2,7 g 3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetamino-4-hydroksy-5-nitro-pentansyre-tert-butylester som 1:1 blanding av diastereomerene.

Trinn E

10 En blanding av 3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetamino-4-hydroksy-5-nitro-pentansyre, tert-butylester (2,55 g, 6,05 mMol) og 10% Pd på aktivt karbon (1,5 g) i 100 ml metanol inneholdende 5 ml 10% vandig eddiksyre ble hydrogenert ved romtemperatur i 4 timer. Filtrering og inndamping av løsningsmidlet under redusert trykk ga 3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetamino-
15 5-amino-4-hydroksy-pentansyre-tert-butylester-hydroacetat (2,7 g).

Trinn F

Til en løsning av 3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetamino-5-amino-4-hydroksy-pentansyre-tert-butylester-hydroacetat (1,31 g, 2,9 mMol) i 15 ml diklormetan at 0°C ble det satt benzensulfonylchlorid (0,45 ml, 3,5 mMol) fulgt av
20 dråpevis tilsetning av N-metylmorfolin (0,8 ml, 9 mMol). Løsningen fikk stå ved romtemperatur i 16 timer og ble deretter fortynnet med etylacetat (100 ml). Den organiske fasen ble vasket suksessivt med natriumhydrogenkarbonat og vann, tørket over natriumsulfat og konsentrert under redusert trykk. Kromatografi over silika (eluering med diklormetan/metanol 15:1) ga 3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-
25 2-yl)-acetamino-5-benzensulfonylamino-4-hydroksy-pentansyre-tert-butylester (1,05 g).

Trinn G

Til 3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetamino-5-benzensulfonylamino-4-hydroksy-pentansyre-tert-butylester (0,9 g, 1,7 mMol) i
30 20 ml diklormetan ble det satt 1,1,1-triacetoksy-1,1-dihydro-1,2-benzjodoksol-3-(1H)-

-27-

on (Dess Martin periodinan, 1,08 g, 2,5 mMol). Etter 2 timer ved romtemperatur ble reaksjonsblandingen fortynnet med eter, filtrert, vasket med natriumhydrogenkarbonat og vann, tørket over natriumsulfat og konsentrert under redusert trykk. Kromatografi over silika (eluering med diklormetan/metanol 15:1) ga 3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetamino-5-benzensulfonylamino-4-okso-pentansyre-tert-butylester (0,45 g).

Trinn H

En løsning av 3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetamino-5-benzensulfonylamino-4-hydroksy-pentansyre, tert-butylester (0,44 g, 0,48 mMol) og 15 ml trifluoreddiksyre i 15 ml diklormetan ble rørt ved romtemperatur i 1 time. Løsningen ble konsentrert under redusert trykk. Krystallisering fra diklormetan/ether/heksan ga 0,17 g 3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetamino-5-benzensulfonylamino-4-okso-pentansyre.

De følgende forbindelser ble også fremstilt i henhold til metoden fra Eksempel 5 Trinn F-H fra de tilsvarende sulfonylklorider:

EKSEMPEL 5b

(S)-5-(Bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-3-[2-(1-okso-3,4-dihydro-1H-isokinolin-2-yl)-acetylamino]-pentansyre

EKSEMPEL 5c

(S)-4-Okso-3-[2-(1-okso-3,4-dihydro-1H-isokinolin-2-yl)-acetylamino]-5-(2-fenyletansulfonylamino)-pentansyre

EKSEMPEL 5d

4-Okso-3-[2-(1-okso-3,4-dihydro-1H-isokinolin-2-yl)-acetylamino]-5-fenylmetansulfonylamino-pentansyre

EKSEMPEL 6a

3-[2-(2-Benzyloksykarbonylamino-4-tert-butoksykarbonyl-butyrylamino)-3-metylbutyrylamino]-5-brom-4-okso-pentansyre tert-butylester

-28-

En løsning av Z-Glu(OtBu)ValAsp(OtBu)-OH (14,9 g, 24,6 mmol) og 4-metylmorfolin (2,7 ml, 24,6 mmol) i 200 ml THF ved ca. -40°C (tørris/CH₃CN bad) ble behandlet med iso-butyلكlorformiat (3,2 ml, 24,6 mmol). Fast stoff ble øyeblikkelig dannet. Prøven ble rørt i 15 minutter, deretter behandlet med kald diazometan (300 ml av en eter løsning, friskt fremstilt fra Diazald). Prøven ble rørt ved romtemperatur i 2 timer, avkjølt til 0°C og behandlet ved dråpevis tilsetning av en 48% bromhydrogensyre-eddiksyre-løsning (35 ml hver). Is-badet ble fjernet, prøven ble rørt ved romtemperatur i 30 minutter, deretter ekstrahert med etylacetat-vann (500 ml hver). Det organiske ekstrakt ble vasket med vann, mettet NaHCO₃ og saltvann-løsninger, tørket (MgSO₄), filtrert og konsentrert. Residuet ble krystallisert fra diklormetan-heksaner, hvilket ga 10,5 g (63%) 3-[2-(2-benzylloksykarbonylamino-4-tert-butoksykarbonyl-butyrylamino)-3-metyl-butyrylamino]-5-brom-4-okso-pentansyre-tert-butylester (Z-Glu(OtBu)ValAsp(OtBu)CH₂Br) som et hvitt, fast stoff.

Analyse: Beregnet for C₃₁H₄₆BrN₃O₉ (684,636): C, 54,39; H, 6,77; N, 6,14.

Funnet: C, 54,24; H, 6,63; N, 6,08.

Fra de tilsvarende peptider ble det også fremstilt i henhold til metoden fra Eksempel 6a:

EKSEMPEL 6b

3-(2-Acetylamino-3-metyl-butyrylamino)-5-brom-4-okso-pentansyre tert-butylester

EKSEMPEL 6c

3-(2-Acetylamino-propylamino)-5-brom-4-okso-pentansyre-tert-butylester

EKSEMPEL 6d

3-[2-(3-Fenyl-propionylamino-4-tert-butoksykarbonyl-butyrylamino)-3-metyl-butyrylamino]-5-brom-4-okso-pentansyre-tert-butylester

EKSEMPEL 6e

3-[2-(2-Benzylloksykarbonylamino-3-metyl-butyrylamino)-propionylamino]-5-brom-4-okso-pentansyre

HEMNINGSUNDERSØKELSER

Forbindelser med formel I og II er inhibitorer av ICE som demonstrert ved måling av K_i (μM) og IC_{50} (μM) ved anvendelse av forskriften beskrevet her. ICE (0,24 nM sluttkonsentrasjon) blir satt til 400 μl HGDE buffer (100 mM HEPES, 20% glycerol, 5 mM DTT, 0,5 mM EDTA) inneholdende 15 μM substrat (Ac-Tyr-Val-Ala-Asp-AMC; $K_M = 15 \mu\text{M}$) pluss bærer (DMSO) eller inhibitor i konsentrasjoner "bracketing" K_i . Substrathydrolyse overvåkes i 300 sekunder ved observering av fluorescensen av frigjort AMC ved anvendelse av eksitasjon ved 380 nm og emission ved 460 nm. Middelhastigheter av substrathydrolyse evalueres ved lineær regresjonsanalyse av fluorescensen mot tidsmålinger. For å evaluere K_i blir plotter av prosent hemning mot inhibitorkonsentrasjon tilpasset ved ikke-lineær regresjon til en reversibel, kompetitiv model:

$$\% \text{Inhibering} = \frac{100 * [I]}{[I] + K_i * \left(1 + \frac{[S]}{K_M}\right)}$$

hvor konkurransefaktor $(1 + [S]/K_M) = 2$.

ICE kolorimetrisk dose-respons (IC_{50}) måling

Fortynnet inhibitorstamløsninger blir fremstilt ved to-gangers seriell fortynning fra en primær stamløsning hvis konsentrasjon er valgt (basert på screening resultater eller på tidligere forsøk ved IC_{50} evaluering) for å oppnå omtrent 95% hemning i den mest konsentrerte brønn. Alikvoter av hver fortynning blir overført til en mikrotiter-plate in triplo.

ICE enzym blir fortynnet til omtrent 24 nM i HGE-buffer (100 mM HEPES pH 7,5, 0,5 mM EDTA, 20% glycerol, 0,1% Bovin Serum Albumin (BSA)) og aktivert ved tilsetning av dithiothreitol (DTT) til en sluttkonsentrasjon på 5 mM. Det aktive enzym blir deretter alikvotert i brønner inneholdende inhibitor eller bærer, og platen blir preinkubert i 60 minutter ved omgivelsestemperatur. Substrat (Ac-Tyr-Val-Ala-Asp-PNA) blir satt til hver brønn til en sluttkonsentrasjon på 50 μM , og platene blir plassert

-30-

i en mikrotiter-plate-leser termostatert til 25°C. Ved å begynne 5 minutter etter tilsetning av substratet, overvåkes absorbansen (405 nm) av brønner i 1 time, og aktivitet blir beregnet som den midlere forandringshastighet i absorbans gjennom dette intervallet.

5 Ich-2 (Caspase-4) Colorimetrisk Dose-Response (IC₅₀) Forsøk

Hemning av Ich-2 enzym måles som beskrevet ovenfor for ICE, bortsett fra at enzym blir anvendt ved 64 nM og 60 µM av det Ich-2-spesifikke substrat Ac-Leu-Glu-Val-Asp-pNA blir anvendt istedenfor ICE-substratet Ac-Tyr-Val-Ala-Asp-pNA.

Resultatene av disse forsøk er vist nedenfor i Tabell 1.

-31-

TABELL 1

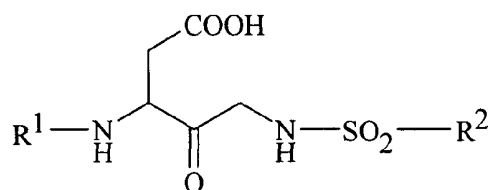
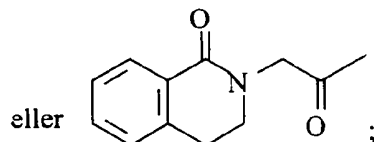
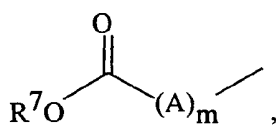
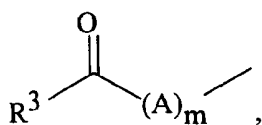
Eksempel nummer	ICE Ki (μ M)	ICE IC ₅₀ (μ M)	Ich-2 IC ₅₀ (Caspase-4) (μ M)
2a	11	73	96
2b	32	245	--
2c	14	168	124
2a	11,0	73,0	445,0
2b	34,5	245,0	8591,0
2c	18,0	168,0	2339,0
2d	37,0	291,0	
2e	735,0	1833,0	
2f	22,0	174,0	1008,0
2g	33,0	136,0	314,0
2h	16,0	55,6	199,0
2i	30,1	25,0	59,0
2j	65,0	194,0	159,0
2k	22,0		
2l	1,4	28,0	935,0
2m	2,8	35,3	
3a	0,007	0,072	18,0
3b	0,013	0,025	4,2
3c	0,0051	0,009	3,4
3d	0,0078	0,003	0,9
4a	0,27	7,6	
4c	0,001	0,015	8,5
4d	0,0016	0,003	1,6
4e	0,00011	0,002	0,7
4f	0,00061	0,002	3,2
5a	105,0	586,0	
5b	20,0	165,0	252,0
5c	45,0	371,0	
5d	27,0	234,0	

HEPES	=	4-(2-hydroksymetyl)-1-piperazinetansulfonsyre
DTT	=	Ditiothreitol
EDTA	=	Etylendiamintetraeddiksyre
AMC	=	7-amino-4-coumarin
Tyr	=	Tyrosin
Val	=	Valin
Ala	=	Alanin
Asp	=	Asparaginsyre
pNA	=	Para-nitroanilin
LEU	=	Leucin
Glu	=	Glutaminsyre
Me	=	Metyl
t-Bu	=	Tert-butyl

-32-

PATENTKRAV

1. Forbindelse karakterisert ved formel I

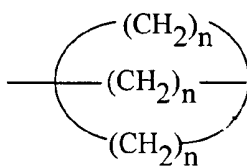
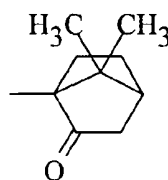
hvor R¹ erR³ er hydrogen,C₁-C₆ alkyl eller-(CH₂)_n fenyl;R⁷ er C₁-C₆ alkyl eller-(CH₂)_n fenyl,

hver n er uavhengig 0 til 6;

hver m er uavhengig 0, 1, 2 eller 3;

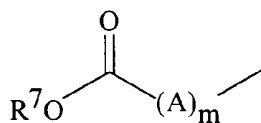
A er alanin, glycin, valin, asparagin, asparaginsyre eller glutaminsyre;

R² er -(CH₂)_n-Z; og

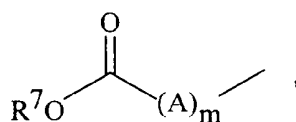


fluorenyl med halogen substituert fluorenyl, og de farmasøytisk akseptable salter, estere og amider derav.

2. Forbindelse ifølge krav 1, karakteriseret ved at R^1 er

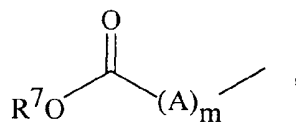


3. Forbindelse ifølge krav 1, karakteriseret ved at R^1 er



m er 0 og R^7 er $-(CH_2)_n$ fenyl.

4. Forbindelse ifølge krav 1, karakteriseret ved at R^1 er



m er 0 og R⁷ er -CH₂ fenyl.

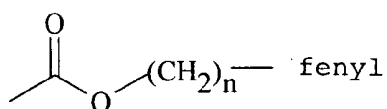
5. Forbindelse ifølge krav 1, karakteriseret ved at R^2 er

-(CH₂)_n fenyl eller -(CH₂)_n-naftyl.

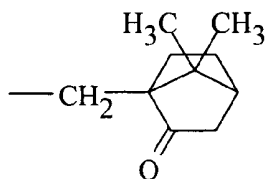
-34-

6. Forbindelse ifølge krav 5, karakteriseret ved at R^2 er fenyl eller naftyl.
7. Forbindelse ifølge krav 1, karakteriseret ved at R^2 er $-(CH_2)_n$ C_3 - C_7 -cykloalkyl.

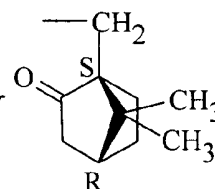
8. Forbindelse ifølge krav 1, karakteriseret ved at R^1 er



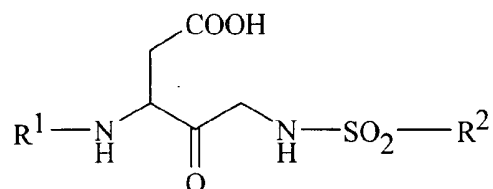
9. Forbindelse ifølge krav 1, karakteriseret ved at R^2 er



10. Forbindelse ifølge krav 1, karakteriseret ved at R^2 er



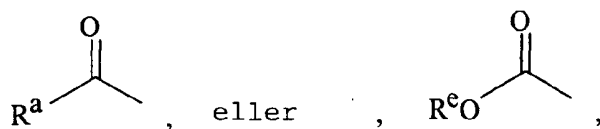
- 10 11. Forbindelse ifølge krav 1, karakteriseret ved formel I



hvor R^2 er $-CH_2CH_2-$ fenyl, $-CH_2-$ C_3 - C_7 -cykloalkyl eller $-CH_2CH_2-$ C_3 - C_7 -cykloalkyl;

R^1 er

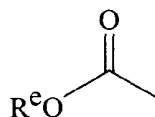
-35-



R^a er $-(\text{CH}_2)_n$ -fenyl;

R^e er $-\text{CH}_2$ -fenyl; og de farmasøytisk akseptable salter, estere og amider derav.

- 5 12. Forbindelse ifølge krav 11, karakterisert ved at R^1 er



13. Forbindelse ifølge krav 11, karakterisert ved at R^e er $-(\text{CH}_2)_n$ fenyl.

14. Forbindelser ifølge krav 1 valgt fra

3-Benzylloksykarbonylamino-4-okso-5-(2-fenyletansulfonylamino)-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-4-okso-5-(3-fenyl-propan-1-sulfonylamino)-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-4-okso-5-fenylmetansulfonyl-amino-pentansyre;

5-Benzensulfonylamino-3-benzylloksykarbonylamino-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-metansulfonylamino-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(naftalen-1-sulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(2-cykloheksyl-etansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

-36-

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(2-naftalen-1-yl-etansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-(R)-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(indan-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(9-fluor-9H-fluoren-9-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-Benzylloksykarbonylamino-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-(S)-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-(2-Acetylamino-3-metyl-butyrylamino)-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-(S)-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-(2-Acetylamino-propylamino)-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-(S)-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-(1,2,3,4-tetrahydro-1-okso-isokinolin-2-yl)-acetanino-5-benzensulfonylamino-4-okso-pentansyre;

(S)-5-(Bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-3-[2-(1-okso-3,4-dihydro-1H-isokinolin-2-yl)-acetylamino]-pentansyre;

(S)- 4-Okso-3-[2-(1-okso-3,4-dihydro-1H-isokinolin-2-yl)-acetylamino]-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre; og

4-Okso-3-[2-(1-okso-3,4-dihydro-1H-isokinolin-2-yl)-acetylamino]-5-fenylmetansulfonylamino-pentansyre.

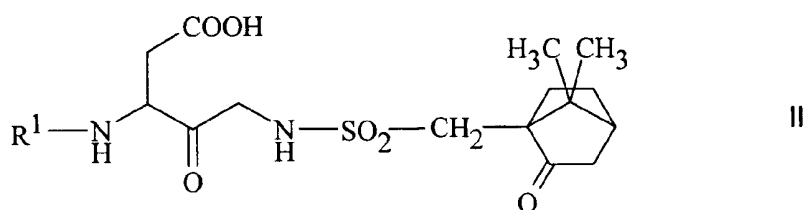
15 Anvendelse av en forbindelse ifølge krav 1 eller 11 til fremstilling av et farmasøytisk preparat for inhibering av interleukin-1 β omdannende enzym, for inhibering av Caspase-4, for behandling av eller forebygning av slag, for behandling av inflammatoriske sykdommer.

16. Anvendelse ifølge krav 15 hvor den inflammatoriske sykdom er artritt.

17. Anvendelse ifølge krav 15 hvor den inflammatoriske sykdom er inflammatorisk tarmsykdom.

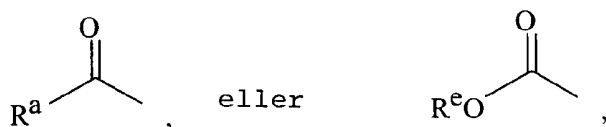
-37-

18. Farmasøytisk akseptabelt preparat, karakterisert ved at det inneholder en forbindelse ifølge krav 1.
19. Farmasøytisk akseptabelt preparat, karakterisert ved at det inneholder en forbindelse ifølge krav 11.
20. Anvendelse av en forbindelse ifølge krav 1 eller 11 til fremstilling av et farmasøytisk preparat for behandling av septisk sjokk, for behandling av reperfusjonskade, for behandling av Alzheimer's sykdom, for behandling av shigellose.
21. Forbindelse ifølge krav 1, karakterisert ved formel II



hvor

R¹ er

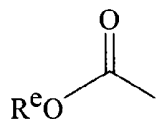


R^a er -(CH₂)_n- fenyl;

R^e er -CH₂ fenyl; og de farmasøytisk akseptable salter, estere og amider derav.

-38-

22. Forbindelse ifølge krav 21, karakterisert ved at R^1 er



23. Forbindelse ifølge krav 21, karakterisert ved at R^e er $-(CH_2)_n$ fenyl.

24. Anvendelse av en forbindelse ifølge krav 20 til fremstilling av et farmasøytisk preparat for inhibering av interleukin-1 β omdannende enzym, for inhibering av Caspase-4, for behandling av eller forebygning av slag, for behandling av septisk sjokk, for behandling av reperfusjonskade, for behandling av Alzheimer's sykdom, for behandling av shigellose, eller for behandling av inflammatoriske sykdommer,

25. Anvendelse ifølge krav 24 hvor den inflammatoriske sykdom er artritt.

26. Anvendelse ifølge krav 24 hvor den inflammatoriske sykdom er inflammatorisk tarmsykdom.

27. Forbindelser ifølge krav 1, hvilke er valgt fra::

3-[2-(2-Benzylloksykarbonylamino-3-metyl-butyrylamino)-propionylamino]-4-okso-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre;

3-[2-(2-Benzylloksykarbonylamino-4-karboksy-butyrylamino)-3-metyl-butyrylamino]-4-okso-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre;

3-{2-[4-Karboksy-2-(3-fenyl-propionylamino)-butyrylamino]-3-metyl-butyrylamino}-4-okso-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre;

3-[2-(2-Benzylloksykarbonylamino-3-metyl-butyrylamino)-propionylamino]-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-[2-(2-Benzylloksykarbonylamino-4-karboksy-butyrylamino)-3-metyl-butyrylamino]-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

-39-

3-{2-[4-Karboksy-2-(3-fenyl-propionylamino)-butyrylamino]-3-metyl-butrylamino}-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre;

3-(2-{2-[2-Acetylamino-3-(4-hydroksy-fenyl)-propionylamino]-4-karboksy-butrylamino}-3-metyl-butrylamino)-5-(7,7-dimetyl-2-okso-bicyklo[2,2,1]hept-1-ylmetansulfonylamino)-4-okso-pentansyre; og

3-(2-{2-[2-Acetylamino-3-(4-hydroksy-fenyl)-propionylamino]-4-karboksy-butrylamino}-3-metyl-butrylamino)-4-okso-5-(2-fenyl-etansulfonylamino)-pentansyre.