

(11) **EE 05036 B1**

(51) Int.Cl.
C07D 401/04 (2007.10)
A61P 19/02 (2007.10)
A61P 29/00 (2007.10)

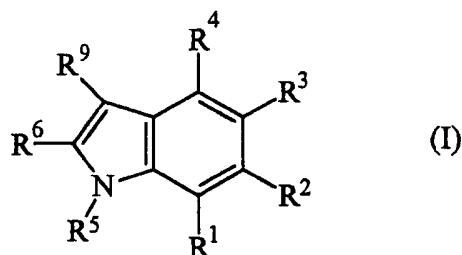
(12) **PATENDIKIRJELDUS**

(21) Patenditaotluse number: P200200217	(73) Patendiomanik: Sanofi-Aventis Deutschland GmbH Brüningstrasse 50, D-65929 Frankfurt am Main, DE
(85) Rahvusvahelise patendi- taotluse siseriiklikku menetlusse esitamise kuupäev: 24.04.2002	(72) Leiutise autorid: Olaf Ritzeler Annabergstrasse 53, 65931 Frankfurt am Main, DE
(86) Rahvusvahelise patendi- taotluse number: PCT/EP00/10210	Hans Ulrich Stilz Johannesallee 18, 65929 Frankfurt, DE
(86) Rahvusvahelise patendi- taotluse esitamise kuupäev: 17.10.2000	Bernhard Neises Flösserweg 5 c, 77652 Offenburg, DE
(30) Prioriteediandmed: 26.10.1999 DE 19951360.0	Gerhard Jaehne Seebachstrasse 22, 65929 Frankfurt, DE
(24) Patendi kehtivuse alguse kuupäev: 17.10.2000	Jörg Habermann Königsteiner Strasse 122, 65812 Bad Soden, DE
(43) Patenditaotluse avaldamise kuupäev: 16.06.2003	(74) Patendivolinik: Harald Tehver Patendibüroo Turvaja OÜ Liivalaia 22, 10118 Tallinn, EE
(45) Patendikirjelduse avaldamise kuupäev: 16.06.2008	

(54) **Asendatud indoolid NFkB aktiivsuse moduleerimiseks, nende valmistamismeetod ja kasutamine ning ravim ja selle valmistamismeetod**

(57) Käesolev leiutis käsitleb ühendeid valemiga (I), mis on sobilikud ravimite valmistamiseks selliste haiguslike seisundite profülaktikaks ja raviks, mille korral NFkB aktiivsus on tõusnud. Nimetatud ühendid on spetsiifilised IκB-kinaasi inhibiitorid.

(57) The present invention relates to compounds of formula (I) which are suitable for the production of medicaments for the prophylaxis and treatment of disease states, the course of which involves increased NFkB activity. Said compounds are specific IκB-kinase inhibitors.



**ASENDATUD INDOOLID NFkB AKTIIVSUSE MODULEERIMISEKS,
NENDE VALMISTAMISMEETOD JA KASUTAMINE NING RAVIM JA
SELLE VALMISTAMISMEETOD**

- 5 Käesolev leiutis käsitleb uudseid asendatud indoole, nende valmistamismeetodeid ja kasutamist ravimitena.

Publikatsioon WO 94/12478 kirjeldab muuhulgas indooli derivaate, mis inhibeerivad vereliistakute agregatsiooni. WO 94/08962 kirjeldab fibrinogeeni retseptori antagonistide, mis inhibeerivad fibrinogeeni seostumist ja vereliistakute agregatsiooni.

10 NFkB on heterodimeerne transkriptsioonitegur, mis võib aktiveerida paljusid gene, mis kodeerivad muuhulgas põletikulisi tsütokiine nagu IL-1, IL-2, TNF α või IL-6. NFkB esineb rakavedelikus komplekseerunult I κ B-ga, mis on tema looduslikult esinev inhibiitor. Rakkude stimuleerimine näiteks tsütokiinidega viib I κ B fosforüülimiseni ja järgneva proteolüütilise degradatsioonini. See proteolüütiline degradatsioon põhjustab NFkB aktivatsiooni ja tema järgnevat migreerumist rakutuuma, aktiveerides seal mitmeid põletikulisi gene.

Haiguste nagu reumatoidartriit (põletiku korral), osteoartriit, astma, südameinfarkt, Alzheimeri tõbi või ateroskleroos korral aktiveeritakse NFkB üle tavapärase taseme.

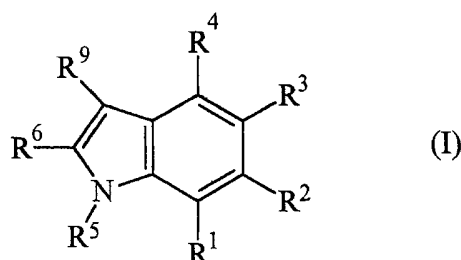
20 NFkB inhibeerimine on kasulik ka vähiteraapias, kuna teda kasutatakse seal tsütostaatilise teraapia tugevdamiseks. On õnnestunud näidata, et sellised ravimid nagu glükokortikoidid, salitsülaadid või kullasoolad, mida kasutatakse reumaravis, sekkuvad pärssival moel mitmesse NFkB aktivatsioonisignaali kaskaadi punkti või häirivad otseselt geenide transkriptsiooni.

25 Nimetatud signaalikaskaadi esimene aste on I κ B degradatsioon. Seda fosforülatiooni reguleerib spetsiifiline I κ B kinaas. Seniajani pole teada inhibiitoreid, mis inhibeeriksid spetsiifiliselt I κ B kinaasi.

Püüdes leida aktiivseid ühendeid reumatoidartriidi (põletiku korral), osteoartriidi, astma, südameinfarkti, Alzheimeri tõve, vähiloomuliste haiguste (tsütotoksiliste teraapiate tugevdamine) või ateroskleroosi raviks, on nüüd selgunud, käesolevale

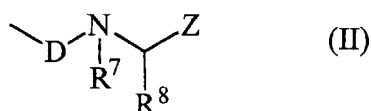
leiutisele vastavad indooli derivaadid on tõhusad ja väga spetsiifilised IkB kinaasi inhibiitorid.

Seega käsitleb käesolev leiutis ühendeid valemiga I



5

ja/või ühendi valemiga I stereoisomeerset vormi ja/või ühendi valemiga I füsioloogiliselt vastuvõetavat soola, kus üks asendajatest R^1 , R^2 , R^3 ja R^4 on radikaal valemiga II



10 milles:

D on $-C(O)-$, $-S(O)-$ või $-S(O)_2-$;

R^7 on vesinik või $-(C_{1-4})$ -alküülrühm;

R^8 on R^9 või iseloomulik aminohapperadikaal,

R^9 on 1. asendatud või asendamata arüülrühm;

15

2. 5- kuni 14-lüliline asendatud või asendamata heteroarüülrühm;

3. 5- kuni 12-lüliline asendatud või asendamata heterotsükkel; või

4. $-(C_{1-6})$ -alküülrühm, mis on hargnemata või hargnenud ahelaga ja on asendamata või on sõltumatult mono-, di või triasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:

20

4.1 asendatud või asendamata arüülrühm;

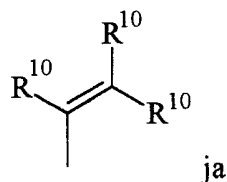
4.2 5- kuni 14-lüliline asendatud või asendamata heteroarüülrühm;

4.3 5- kuni 12-lüliline asendatud või asendamata heterotsükkel;

25

4.4 $-O-R^{10}$;

- 4.5 =O;
- 4.6 halogeen;
- 4.7 -CN;
- 4.8 -CF₃;
- 5 4.9 -S(O)_x-R¹⁰, kus x on täisarv 0, 1 või 2;
- 4.10 -C(O)-O-R¹⁰;
- 4.11 -C(O)-N(R¹⁰)₂;
- 4.12 -N(R¹⁰)₂;
- 4.13 -(C₃₋₆)-tsükloalküülrühm;
- 10 4.14 radikaal valemiga



- 4.15 radikaal valemiga



- R¹⁰ on
- 15 a) vesinik;
- b) -(C₁₋₆)-alküülrühm, mis on hargnemata või hargnenud ahelaga ja on asendamata või on mono- kuni triasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:
- 20 1. arüülrühm;
2. 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm;
3. 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel;
4. halogeen;
5. -N-(C₁₋₆)_n-alküülrühm, milles n on täisarv 0, 1 või 2 ja alküülrühm on asendamata või on sõltumatult mono-, di- või triasendatud halogeeniga või rühmaga -C(O)-
- 25 OH; ja
6. -C(O)-OH;
- c) arüülrühm;
- d) 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm; või

e) 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel ja
(R¹⁰)₂ korral on kumbki R¹⁰ sõltumatult rühm loetelust a) kuni e);

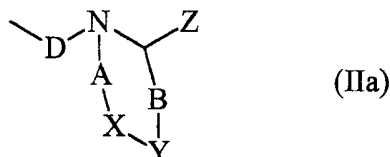
Z on

1. asendamata või asendatud arüülrühm;
2. 5- kuni 14-lüliline asendamata või asendatud heteroarüülrühm;
3. 5- kuni 12-lüliline asendamata või asendatud heterotsükkel; või
4. -C(O)-R¹¹, kus

R¹¹ on

1. -O-R¹⁰ või
2. -N(R¹⁰)₂, või

R⁷ ja R⁸ moodustavad koos lämmastiku- ja süsinikuaatomiga, millega neist kumbki on seotud, heterotsükli valemiga IIa



milles: D, Z ja R¹¹ on defineeritud valemis II,

A on lämmastikuaatom või radikaal -CH₂-;

B on hapnikuaatom, väävliatom, lämmastikuaatom või radikaal -CH₂-;

X on hapnikuaatom, väävliatom, lämmastikuaatom või radikaal -CH₂-;

Y puudub või on hapnikuaatom, väävliatom, lämmastikuaatom või radikaal -CH₂-; või

X ja Y moodustavad koos fenüül-, 1,2-diasiin-, 1,3-diasiin või 1,4-diasiinradikaali;

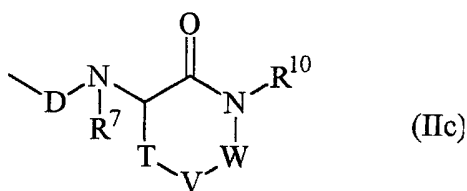
kusjuures N, A, X, Y, B ja süsinikuaatomist moodustunud tsükkel ei sisalda üle ühe hapnikuaatomi, X ei ole hapnik, väävel või lämmastik kui A on lämmastik, tsükkel ei sisalda üle ühe väävliatomi, sisaldab 1, 2, 3 või 4 lämmastikuaatomit ning hapniku- ja väävliatom ei esine selles üheaegselt;

kusjuures N, A, X, Y, B ja süsinikuaatomist moodustunud tsükkel on asendamata või on sõltumatult mono- kuni triasendatud -(C₁₋₈)-alküülrühmaga, või on asendamata või on mono- või diasendatud mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:

1.1 -OH;

- 1.2 $-(C_{1-8})$ -alkoksürühm;
 1.3 halogeen;
 1.4 $-NO_2$;
 1.5 $-NH_2$;
 5 1.6 $-CF_3$;
 1.7 metüleendioksürühm;
 1.8 $-C(O)-CH_3$;
 1.9 $-CH(O)$;
 1.10 $-CN$;
 10 1.11 $-C(O)-OH$;
 1.12 $-C(O)-NH_2$;
 1.13 (C_{1-4}) -alkoksükarbonüülühm;
 1.14 fenüülühm;
 1.15 fenoksürühm;
 15 1.16 bensüülühm;
 1.17 bensüüloksürühm;
 1.18 tetrasolüülühm ja
 1.19 $-OH$;

20 R^8 ja Z moodustavad koos süsinikuaatomitega, millega neist kumbki on seotud, heterotsükli valemiga IIc



milles: D, R^7 ja R^{10} on defineeritud valemis II;

- T on hapnikuaatom, väävliatom, lämmastikuaatom või radikaal
 $-CH_2-$;
 25 W on hapnikuaatom, väävliatom, lämmastikuaatom või radikaal
 $-CH_2-$;
 V puudub või on hapnikuaatom, väävliatom, lämmastikuaatom või radikaal
 $-CH_2-$; või

T ja V või V ja W moodustavad koos fenüül-, 1,2-diaasiin-, 1,3-diaasiin või 1,4-diaasiinrühma;

kusjuures N, T, V, W ja kahest süsinikuaatomist moodustunud tsükel ei sisalda üle ühe hapnikuaatomi, üle ühe väävliatomi ja sisaldab 1, 2, 3 või 4 lämmastikuaatomi, hapniku- ja väävliatom ei esine üheaegselt ning N, T, V, W ja kahest süsinikuaatomist moodustunud tsükel on asendamata või mono- kuni triasendatud üksteisest sõltumatult mõnega rühmadest, mis on defineeritud punktides 1.1 kuni 1.19; ning vastavad muud asendajad R^1 , R^2 , R^3 ja R^4 on igaüks üksteisest sõltumatult:

1. vesinik;
- 10 2. halogeen;
3. asendamata või asendatud arüülrühm;
4. 5- kuni 14-lüliline asendatud või asendamata heteroarüülrühm;
5. 5- kuni 12-lüliline asendatud või asendamata heterotsükel;
6. $-(C_{1-6})$ -alküülrühm;
- 15 7. -CN;
8. $-O-R^{10}$;
9. $-N(R^{10})_2$;
10. $-S(O)_x-R^{10}$, kus x on täisarv 0, 1 või 2; või
11. $-CF_3$;
- 20 R^5 on 1. vesinik;
2. -OH; või
3. =O; ja
- R^6 on 1. asendamata või asendatud arüülrühm;
2. 5- kuni 14-lüliline asendamata või mono- kuni triasendatud heteroarüülrühm; või
- 25 3. 5- kuni 12-lüliline asendamata või mono- kuni triasendatud heterotsükel.

Eelistatud ühend valemiga I on selline, kus:

30 üks asendajatest R^1 , R^2 , R^3 ja R^4 on radikaal valemiga II, milles:

D on $-C(O)-$;

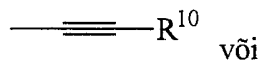
R^7 on vesinik või $-(C_{1-4})$ -alküülrühm;

R^8 on 1. $-(C_{1-4})$ -alküülrühm, mis on hargnemata või hargnenud ahelaga ja on mono- või diasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:

- 5
- 1.1 5- kuni 14-lüliline asendamata või asendatud heteroarüülrühm;
 - 1.2 5- kuni 12-lüliline asendamata või asendatud heterotsükkel;
 - 1.3 $-O-R^{10}$;
 - 1.4 $-S(O)_x-R^{10}$, kus x on täisarv 0, 1 või 2;
 - 1.5 $-N(R^{10})_2$;
 - 1.6 radikaal valemiga



- 1.7 radikaal valemiga



2. iseloomulik aminohapperadikaal;

R^9 on 1. R^8

15 2. $-(C_{1-4})$ -alküülrühm, mis on hargnemata või hargnenud ahelaga ja on mono-, di- või triasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:

- 20
- 2.1 asendamata või asendatud arüülrühm;
 - 2.2 halogeen;
 - 2.3 $-CN$; ja
 - 2.4 $-CF_3$; või

3. asendamata või asendatud arüülrühm;

R^{10} on a) vesinik;

b) $-(C_{1-6})$ -alküülrühm, mis on hargnemata või hargnenud ahelaga ja on asendamata või mono- kuni triasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:

25

1. arüülrühm;
2. 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm;

3. 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel;
4. halogeen;
5. $-N-(C_{1-6})_n$ -alküülrühm, kus n on täisarv 0, 1 või 2 ja alküülrühm on asendamata või mono-, di- või triasendatud üksteisest sõltumatult halogeeniga või rühmaga $-C(O)-OH$; ja
- 5 6. $-C(O)-OH$;
- c) arüülrühm;
- d) 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm; või
- e) 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel ja
- 10 $(R^{10})_2$ korral on kumbki R^{10} sõltumatult rühm loetelust a) kuni e);
- Z on 1. 1,3,4-oksadiasoolrühm, mis on asendamata või mono- kuni triasendatud $-NH_2$, OH või $-(C_{1-4})$ -alküülrühmaga; või
2. $-C(O)-R^{11}$, milles
- R^{11} on 1. $-O-R^{10}$ või
- 15 2. $-N(R^0)_2$ või
- R^7 ja R^8 moodustavad koos lämmastiku- ja süsinikuaatomiga, millega neist kumbki on seotud, heterotsükli valemiga IIa, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad pürrool, pürroliin, indool, pürrolidiin, püridiin, piperidiin, piperüleen, püridasiin, pürimidiin, pürasiin, piperasiin, pürasool, imidasool, pürasoliin, imidasoliin, pürasolidiin, imidasolidiin, oksasool, puriin, isoksasool, 2-isoksasolidiin, isoksasolidiin, morfoliin, 20 isotiasool, tiasool, tiadiasool, bensimidiasool, tiomorfoliin, isotiasolidiin, indasool, kinoliin, triasool, ftalasiin, kinasoliin, kinoksaliin, pteridiin, tetrahüdrokiniin, isokinoliin, 1,2,3,5-oksatiadiasool-2-oksiidid, tetrasool, oksadiasoloonid, isoksasoloonid, triasoloonid, oksadiasolidiindioonid, triasoolid, mis on asendatud F,
- 25 $-CN$, $-CF_3$ või $-C(O)-O-(C_{1-4})$ -alküülrühmaga, 3-hüdroksüpürrool-2,4-dioonid, 5-okso-1,2,4-tiadiasoolid ja tetrahüdrosokinoliin; või
- R^8 ja Z moodustavad koos süsinikuaatomitega, millega neist kumbki on seotud, heterotsükli valemiga IIc, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad pürrool, pürroliin, pürrolidiin, püridiin, piperidiin, piperüleen, püridasiin, pürimidiin, pürasiin, piperasiin, pürasool, imidasool, pürasoliin, 1,3,4-oksadiasool, imidasoliin, pürasolidiin, imidasolidiin, oksasool, isoksasool, 2-isoksasolidiin, isoksasolidiin, morfoliin, 30 isotiasool, tiasool, isotiasolidiin, tetrasool, tiomorfoliin, indasool, tiadiasool,

bensimidiasool, kinoliin, triasool, ftaalasiin, kinasoliin, kinoksaliin, puriin, pteridiin, indool, tetrahüdrokuinoliin-, triasooloonid, tetrahüdrosokiniin-, 1,2,3,5-oksatiadiasool-2-oksiidid, oksadiasooloonid, isoksasooloonid, oksadiasolidiindioonid, triasoolid, mis on asendatud F, -CN, -CF₃ või -C(O)-O-(C₁₋₄)-alküülrühmaga, 3-
5 hüdroksüpürrool-2,4-dioonid, 5-okso-1,2,4-tiadiasoolid ja isokiniin; ja
muud asendajad R¹, R², R³ ja R⁴ on igaüks üksteisest sõltumatult:

1. vesinik;
2. halogeen;
3. asendamata või asendatud arüülrühm;
- 10 4. asendamata või asendatud 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm;
5. asendamata või asendatud 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel;
6. -(C₁₋₆)-alküülrühm;
7. -CN;
8. -CF₃;
- 15 9. -O-R¹⁰;
10. -N(R¹⁰)₂; või
11. -S(O)_x-R¹⁰, kus x on täisarv 0, 1 või 2;

R⁵ on vesinik; ning

R⁶ on 1. fenüülrühm, mis on asendamata või on mono- või diasendatud üksteisest
20 sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:

- 1.1 -CN;
- 1.2 -CF₃;
- 1.3 halogeen;
- 1.4 -O-R¹⁰;
- 25 1.5 -N(R¹⁰)₂;
- 1.6 -NH-C(O)-R¹¹;
- 1.7 -S(O)_x-R¹⁰, kus x on täisarv 0, 1 või 2;
- 1.8 -C(O)-R¹¹, ja
- 1.9 -(C₁₋₄)-alküül-NH₂;
- 30 2. 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm, mis on asendamata või mono- di- või triasendatud üksteisest sõltumatult mõnega rühmadest, mis on defineeritud punktides 1.1 kuni 1.9;

3. 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel, kus heterotsükkel on asendamata või mono- di- või triasendatud üksteisest sõltumatult mõnega rühmadest, mis on defineeritud punktides 1.1 kuni 1.9.
- 5 Eriti eelistatud ühend valemiga I on selline, kus:
 üks asendajatest R^1 , R^2 , R^3 ja R^4 on radikaal valemiga II, milles:
 D on $-C(O)-$;
 R^7 on vesinik;
 Z on $-C(O)-OH$ või $-C(O)-NH_2$;
- 10 R^8 on 1. $-(C_{1-4})$ -alküülrühm, mis on hargnemata või hargnenud ahelaga ja on mono- või diasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:
- 1.1 $-S(O)-R^{10}$, kus R^{10} on defineeritud allpool;
 1.2 $-N(R^{10})_2$, kus R^{10} on defineeritud allpool; ja
 15 1.3 pürroolrühm; või
2. iseloomulik aminohapperadikaal;
- R^{10} on a) vesinik;
 b) $-(C_{1-6})$ -alküülrühm, mis on hargnemata või hargnenud ahelaga ja on asendamata või sõltumatult mono- kuni triasendatud halogeeniga;
- 20 c) fenüülrühm, mis on asendamata või sõltumatult mono- kuni triasendatud halogeeni või $-(C_{1-4})$ -alküülrühmaga; ja $(R^{10})_2$ korral on kumbki R^{10} sõltumatult rühm loetelust a) kuni c);
- muud asendajad R^1 , R^2 , R^3 ja R^4 on kõik vesinikud;
 R^5 on vesinik;
- 25 R^6 on fenüül- või püridiinrühm; ning
 R^9 on 1. vesinik;
 2. $-(C_{1-4})$ -alküülrühm, mis on hargnemata või hargnenud ahelaga ja on sõltumatult mono-, di- või triasendatud rühmadega $-C(O)-OH$, $-OH$ või $-C(O)-NH_2$;
- 30 3. fenüülrühm, mis on asendamata või sõltumatult mono- kuni triasendatud halogeeni või $-(C_{1-4})$ -alküülrühmaga.

Termin "halogeen" on mõeldud tähistama fluori, kloori, broomi või joodi. Terminid "(C₁₋₈)-alküül", "(C₁₋₆)-alküül" või "(C₁₋₄)-alküül" on mõeldud tähistama süsivesinikradikaale, mille süsinikuahel on hargnemata või hargnenud ja mis sisaldavad vastavalt 1 kuni 8, 1 kuni 6 ja 1 kuni 4 süsinikuaatomit. Tsüklilised
 5 alküülradikaalid on näiteks 3- kuni 6-lülilised monotsüklid nagu tsüklopropüül-, tsüklobutüül-, tsüklopentüül- või tsükloheksüülrühm.

Termini "R⁷ ja R⁸ moodustavad koos lämmastiku- ja süsinikuaatomiga, millega neist kumbki on seotud, heterotsükli valemiga IIa" all mõeldakse radikaale, mis saadakse
 10 pürroolist, pürroliinist, pürrolidiinist, imidasoolist, pürasoolist, oksasoolist, isoksasoolist, tetrasoolist, isoksasoliinist, isoksasolidiinist, morfoliinist, tiasoolist, isotiasoolist, isotiasoliinist, puriinist, isotiasolidiinist, tiomorfoliinist, püridiinist, piperidiinist, pürasiinist, piperasiinist, pürimidiinist, püridasiinist, indoolist, isoindoolist, indasoolist, bensimidiasoolist, ftaalasiinist, kinoliinist, isokinoliinist,
 15 kinoksaliinist, kinasoliinist, 3-fenüül-2-propeenist, pteridiinist, triasooloonidest, tetrasoolist, 1,2,3,5-oksatiadiasool-2-oksiididest, oksadiasooloonidest, isoksasooloonidest, oksadiasolidiindioonidest, triasoolidest, mis on asendatud F, -CN, -CF₃ või -C(O)-O-(C₁₋₄)-alküülrühmaga, 3-hüdroksüpürrool-2,4-dioonidest, 5-okso-1,2,4-tiadiasoolidest, imidasolidiinist, karboliinist ja nende heterotsüklite
 20 bensoderivaatidest.

Termini "arüül" all mõeldakse 6 kuni 14 süsinikuaatomiga tsüklilist aromaatsset süsivesinikradikaali. (C₆₋₁₄)-arüülradikaalid on näiteks fenüül-, naftüül- (nagu 1-naftüül-, 2-naftüülrühm), bifenüül- (nagu 2-bifenüül- ja 3-bifenüül- ja 4-bifenüülrühm), antrüül- või fluorenüülrühmad. Eelistatud arüülradikaalid on
 25 bifenüül-, naftüül- ja eriti fenüülrühmad. Arüül-, eriti fenüülrühmad võivad olla mono- või polüasendatud, eelistatult mono-, di- või triasendatud samade või erinevate radikaalidega, eelistatult radikaalidega, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad: (C₁₋₈)-alküül-, eriti (C₁₋₄)-alküülrühm, (C₁₋₈)-alkoksü-, eriti (C₁₋₄)-alkoksürühm, halogeen,
 30 nitro-, amino-, trifluorometüül-, hüdroksüül-, hüdroksü-(C₁₋₄)-alküül- (nagu hüdroksümetüül-, 1-hüdroksüetüül- või 2-hüdroksüetüülrühm), metüleendioksü-, etüleendioksü-, formüül-, atsetüül-, tsüano-, hüdroksükarbonüül-, aminokarbonüül-,

(C₁₋₄)-alkoksükarbonüül-, fenüül-, fenoksü-, bensüül-, bensüüloksü- ja tetrasolüülrühm. Sama kehtib ka näiteks arüülalküül- või arüülkarbonüülradikaali kohta. Arüülalküülradikaalid on eriti bensüül- aga ka 1- ja 2-naftüülmetüül-, 2-, 3- ja 4-bifenüülmetüül- ja 9-fluorenüülmetüülrühmad. Asendatud arüülalküülradikaalid on näiteks bensüül- ja naftüülmetüülrühmad, mille arüülrühm on asendatud ühe või mitme (C₁₋₈)-alküülrühmaga, eriti (C₁₋₄)-alküülrühmaga nagu näiteks 2-, 3- ja 4-metüülbensüül-, 4-isobutüülbensüül-, 4-*tert*-butüülbensüül-, 4-oktüülbensüül-, 3,5-dimetüülbensüül-, pentametüülbensüül-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- ja 8-metüül-1-naftüülmetüül-, 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- ja 8-metüül-2-naftüülmetüülrühmaga või ühe või mitme (C₁₋₈)-alkoksürühmaga, eriti (C₁₋₄)-alkoksü-, bensüül- või naftüülmetüülrühmaga, mille arüülrühm on asendatud näiteks 4-metoksübensüül-, 4-neopentüüloksübensüül-, 3,5-dimetoksübensüül-, 3,4-metüleendioksübensüül-, 2,3,4-trimetoksübensüülrühmaga või nitrobensüülradikaalidega (nagu 2-, 3- ja 4-nitrobensüülrühm), halogenobensüülradikaalidega (nagu 2-, 3- ja 4-kloro- ning 2-, 3- ja 4-fluorobensüül-, 3,4-diklorobensüül- või pentafluorobensüülrühm) või trifluorometüülbensüülradikaalidega (nagu 3- ja 4-trifluorometüülbensüül- või 3,5-bis(trifluorometüül)bensüülrühm).

Monoasendatud fenüülradikaalides võib asendaja paikneda 2-, 3- või 4-asendis. Diasendatud fenüülrühm võib olla asendatud 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- või 3,5-asendis. Triasendatud fenüülradikaalides võivad asendajad paikneda 2,3,4-, 2,3,5-, 2,4,5-, 2,4,6-, 2,3,6- või 3,4,5-asendis.

Arüülradikaalide kohta toodud selgitused kehtivad ka vastavate kahevalentsete arüleenradikaalide puhul nagu näiteks fenüleenradikaalid, mis võivad esineda 1,4-fenüleen- või 1,3-fenüleenrühmadena.

Fenüleen-(C₁₋₆)-alküülrühm on eelkõige fenüleenmetüül- (-C₆H₄-CH₂-) ja fenüleenetüülrühm, (C₁₋₆)-alküleenfenüülrühm on eelkõige metüleenfenüülrühm (-CH₂-C₆H₄-). Fenüleen-(C₂₋₆)-alkenüülrühm on eelkõige fenüleenetenüül- ja fenüleenpropenüülrühm.

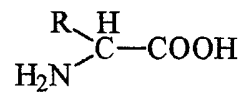
- Väljend "5- kuni 14-lüliline heteroarüül-" tähistab 5- kuni 14-lülilist monotsüklilist või polütsüklilist aromaatsset radikaali, mille tsükel sisaldab 1, 2, 3, 4 või 5 heteroaatomit. Sobivad heteroaatomid on N, O ja S. Mitme heteroaatomi korral on need samad või erinevad. Heteroarüülradikaalid võivad samuti olla mono- või polüasendatud, eelistatult mono-, di- või triasendatud samade või erinevate radikaalidega, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad (C₁₋₈)-alküül-, eriti (C₁₋₄)-alküülrühm, (C₁₋₈)-alkoksü-, eriti (C₁₋₄)-alkoksürühm, halogeen, nitrorühm, -N(R¹⁰)₂, trifluorometüül-, hüdroksüül-, hüdroksü-(C₁₋₄)-alküül- (näiteks hüdroksümetüül-, 1-hüdroksüetüül- või 2-hüdroksüetüülrühm), metüleendioksü-, formüül-, atsetüül-, tsüano-, hüdroksükarbonüül-, aminokarbonüül-, (C₁₋₄)-alkoksükarbonüül-, fenüül-, fenoksü-, bensüül-, bensüüloksü- ja tetrasolüülrühm. 5- kuni 14-lüliga heteroarüül tähistab eelistatult mono- või bitsüklilist aromaatsset radikaali, mille tsükel sisaldab 1, 2, 3 või 4, eriti 1, 2 või 3 sama või erinevat heteroaatomit nagu N, O ja S ning mida saab asendada 1, 2, 3 või 4, eriti 1 kuni 3 sama või erineva asendajaga, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad (C₁₋₆)-alküül-, (C₁₋₆)-alkoksürühm, F, Cl, nitrorühm, -N(R¹⁰)₂, trifluorometüül-, hüdroksüül-, hüdroksü-(C₁₋₄)-alküül-, (C₁₋₄)-alkoksükarbonüül-, fenüül-, fenoksü-, bensüüloksü- ja bensüülrühm. "Heteroarüül-" tähistab eelistatult 5- kuni 10-lülilist mono- või bitsüklilist aromaatsset radikaali, eriti 5- või 6-lülilist monotsüklilist aromaatsset radikaali, mis sisaldab 1, 2 või 3, eriti 1 või 2 sama või erinevat heteroaatomit nagu N, O või S ja mida saab asendada 1 või 2 identse või erineva asendajaga, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad (C₁₋₄)-alküülrühm, halogeen, hüdroksüülrühm, -N(R¹⁰)₂, (C₁₋₄)-alkoksü-, fenüül-, fenoksü-, bensüüloksü- ja bensüülrühm.
- Väljend "5- kuni 12-lüliline heterotsükel" tähistab mono- või bitsüklilist 5- kuni 12-lülilist heterotsükli, mis on osaliselt või täielikult küllastunud. Sobivad heteroaatomid on N, O ja S. Nimetatud heterotsükli süsinikuaatomid või heteroaatomid on asendamata või asendatud ühe või mitme sama või erineva asendajaga. Nimetatud asendajad on eelnevalt defineeritud heteroarüülradikaali jaoks. Eelkõige on heterotsükli süsinikuaatomid mono- või polüasendatud, näiteks monoasendatud, diasendatud, triasendatud või tetraasendatud identsete või erinevate radikaalidega, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad: (C₁₋₈)-alküül-, näiteks (C₁₋₄)-alküül-, (C₁₋₈)-

alkoksü-, näiteks (C₁₋₄)-alkoksü- (nagu metoksürühm), fenüül-(C₁₋₄)-alkoksü- (nagu bensüüloksürühm), hüdroksüül-, oksorühm, halogeen, nitro-, amino- ja trifluorometüülrühm. Samuti võivad ülalnimetatud heterotsükli lämmastikuaatomid olla asendatud (C₁₋₈)-alküül-, näiteks (C₁₋₄)-alküül- (nagu metüül- või etüülrühm), vajadusel asendatud fenüül- või fenüül-(C₁₋₄)-alküülrühmaga (nagu bensüülrühm). Lämmastikuaatomitega heterotsükliidid võivad esineda ka N-oksiidide või kvaternaarse soolade kujul.

5- kuni 14-lülilist heteroarüülrühmade või 5- kuni 12-lüliliste heterotsükliite näideteks on radikaalid, mis on tuletatud järgmistest ühenditest: pürrool, furaan, tiofeen, imidasool, pürasool, oksasool, isoksasool, tiasool, isotiasool, tetrasool, 1,2,3,5-oksatiadiasool-2-oksiidid, triasooloonid, oksadiasooloonid, isoksasooloonid, oksadiasolidiindioonid, triasoolid, mis on asendatud -F, -CN, -CF₃ või -C(O)-O-(C₁₋₄)-alküülrühmaga, 3-hüdroksüpürrool-2,4-dioonid, 5-okso-1,2,4-tiadiasoolid, püridiin, pürasiin, pürimidiin, indool, isoindool, indasool, ftaalasiin, kinoliin, isokinoliin, kinoksaliin, kinasoliin, 3-fenüül-2-propeen, karboliin ja nende heterotsükliite bensoliitunud, tsüklopenta-, tsükloheksa- või tsükloheptaliitunud derivaadid. Eriti eelistatud radikaalid on 2- või 3-pürrolüül-, fenüülpürrolüül- (nagu 4- või 5-fenüül-2-pürrolüülrühm), 2-furüül-, 2-tienüül-, 4-imidasolüül-, metüülimidazolüül- (näiteks 1-metüül-2-, 1-metüül-4- või 1-metüül-5-imidasolüülrühm), 1,3-tiasool-2-üül-, 2-püridüül-, 3-püridüül-, 4-püridüül-, 2-, 3- või 4-püridüül-N-oksiid-, 2-pürasiinüül-, 2-, 4- või 5-pürimidinüül-, 2-, 3- või 5-indolüül-, asendatud 2-indolüül- (näiteks 1-metüül-, 5-metüül-, 5-metoksü-, 5-bensüüloksü-, 5-kloro- või 4,5-dimetüül-2-indolüül-, 1-bensüül-2- või 1-bensüül-3-indolüül-, 4,5,6,7-tetrahydro-2-indolüülrühm), tsüklohepta[b]-5-pürrolüül-, 2-, 3- või 4-kinolüül-, 1-, 3- või 4-isokinolüül-, 1-okso-1,2-dihüdro-3-isokinolüül-, 2-kinoksalinüül-, 2-bensofuranüül-, 2-bensotienüül-, 2-bensoksasolüül- või bensotiasolüül- või dihydro-püridinüül-, pürrolidinüül- (näiteks 2- või 3-(N-metüülpürrolidinüül)-rühm), piperasiinüül-, morfolinüül-, tiomorfolinüül-, tetrahydro-tienüül- või bensodioksolanüülrühm.

30

α -aminohapete struktuurvalem on järgmine:



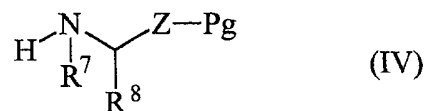
Nimetatud α -aminohapped erinevad üksteisest radikaali R poolest, mida käesoleva leiutise kohaselt kirjeldatakse kui aminohappe "iseloomulikku radikaali".

- Juhul kui R⁸ on aminohappe iseloomulik radikaal, siis kasutatavad iseloomulikud radikaalid on eelistatult looduslikult esinevad α -aminohapped nagu glütsiin,alaniin, valiin, leutsiin, isoleutsiin, fenüülalaniin, türosiin, trüptofaan, seriin, treoniin, tsüsteiin, metioniin, aspargiin, glutamiin, lüsiin, histidiin, arginiin, glutaamhape ja aspartaamhape. Eriti eelistatud on histidiin, trüptofaan, seriin, treoniin, tsüsteiin, metioniin, aspargiin, glutamiin, lüsiin, arginiin, glutaamhape ja aspartaamhape.
- Eelistatud aminohappe iseloomulikud radikaalid, mida kasutatakse samuti radikaalina R⁸, on ka looduslikult mitteesinevad aminohapped nagu 2-aminoadipihape, 2-aminobutaanhape, 2-aminoisobutaanhape, 2,3-diaminopropaanhape, 2,4-diaminobutaanhape, 1,2,3,4-tetrahüdroisokinoliin-1-karboksüülhape, 1,2,3,4-tetrahüdroisokinoliin-3-karboksüülhape, 2-aminopimeliinhape, fenüülglytsiin, 3-(2-tienüül)alaniin, 3-(3-tienüül)alaniin, 2-(2-tienüül)glytsiin, 2-aminoheptaanhape, pipekoolhape, hüdroksülüsiin, sarkosiin, N-metüülisoleutsiin, 6-N-metüüllüsiin, N-metüülvaliin, norvaliin, norleutsiin, ornitiin, alloisoleutsiin, allotreoniin, allohüdroksülüsiin, 4-hüdroksüproliin, 3-hüdroksüproliin, 3-(2-naftüül)alaniin, 3-(1-naftüülalaniin), homofenüülalaniin, homotsüsteiin, homotsüsteinhape, homotrüptofaan, tsüsteinhape, 3-(2-püridüül)alaniin, 3-(3-püridüül)alaniin, 3-(4-püridüül)alaniin, 2-amino-3-fenüülaminopropaanhape, 2-amino-3-fenüülaminoetüülpropaanhape, fosfinotriisiin, 4-fluorofenüülalaniin, 3-fluorofenüülalaniin, 2-fluorofenüülalaniin, 4-klorofenüülalaniin, 4-nitrofenüülalaniin, 4-aminofenüülalaniin, tsükloheksüülalaniin, tsitrulliin, 5-fluorotrüptofaan, 5-metoksütrüptofaan, metioniinsulfoon, metioniinsulfoksiid või -NH-NR¹⁰-CON(R¹⁰)₂, mis on samuti vajadusel asendatud. Nii looduslike kui ka mittelooduslike aminohapete puhul, mis sisaldavad selliseid funktsionaalrühmi nagu hüdroksüül-, karboksüül-, merkapt-, guanidüül-, imidasolüül- või indolüülrühm, võivad nimetatud rühmad olla ka kaitstud.

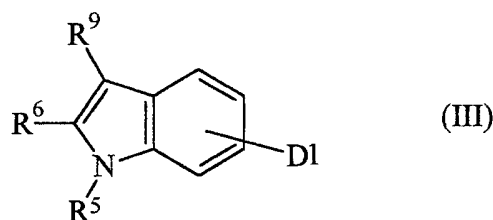
Sobivad kaitserühmad on eelistatult N-kaitserühmad, mida tavapäraselt kasutatakse peptiidikeemias, näiteks uretaani tüüpi, bensüülloksükarbonüül- (Z), *t*-butoksükarbonüül- (Boc), 9-fluoreenüülloksükarbonüül- (Fmoc), allüülloksükarbonüülrühm (Aloc) või happeamiidi tüüpi, eriti formüül-, atsetüül- või trifluoroatsetüülrühm, ja alküülrühma tüüpi nagu bensüülrühm. Juhul kui R⁸ on imidasoolradikaal, siis kasutatakse näiteks sulfoonamiidi valmistamisel imidasooli lämmastiku kaitserühmana sulfoonhappe derivaati valemiga IV, mida võib uuesti eemaldada eriti leeliste juuresolekul nagu naatriumhüdroksiidi vesilahus. Nimetatud keemiliste reaktsioonide lähteained on tuntud või neid saab hõlpsasti valmistada kirjanduses teadaolevate meetodite põhjal.

Käesolev leiutis käsitleb veel ühendite valemiga I ja/või ühendi valemiga I stereoisomeerse vormi ja/või ühendi valemiga I füsioloogiliselt vastuvõetava soola valmistamismeetodit, mille kohaselt:

a) ühendil valemiga IV



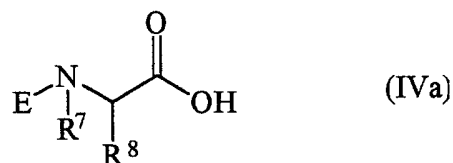
milles Pg on sobiv kaitserühm (näiteks metüülester), amiid- või hüdroksüülrühm ning Z, R⁷ ja R⁸ on defineeritud valemis I, lastakse reageerida atsüülkloriidiga või ühendi valemiga III aktiveeritud estriga



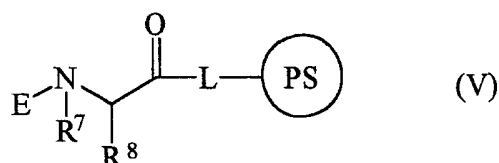
20

milles D1 on -COOH või sulfonüülhalogeen ja R⁵, R⁶ ja R⁹ on defineeritud valemis I, sobiva aluse või sobivusel dehüdraativa ühendi juuresolekul lahuses ning pärast kaitserühma eemaldamist muudetakse saadud ühend ühendiks valemiga I või

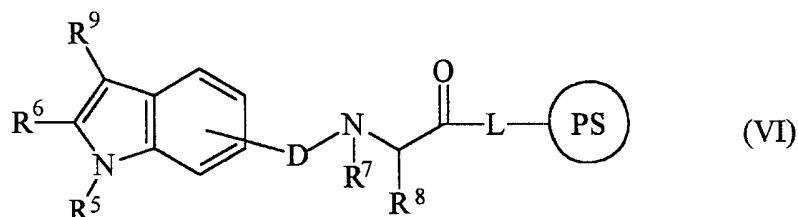
25 b) ühendi valemiga IVa



milles R^7 ja R^8 on defineeritud valemis I ja E on N-aminokaitserühm, karbonüülühm seostatakse vaheahela L kaudu vaiguga PS, saades ühendi valemiga V



- 5 millel lastakse pärast kaitserühma E selektiivset eemaldamist reageerida ühendiga valemiga III, milles R^5 , R^6 ja R^9 on defineeritud valemis I, sobiva aluse või sobivusel dehüdraatava ühendi juuresolekul, saades ühendi valemiga VI



mis muudetakse pärast kandjalt eraldamist ühendiks valemiga I, või

10

c) ühend valemiga I muudetakse vastavaks füsioloogiliselt vastuvõetavaks soolaks.

Meetodi variandis a) annab ühendi valemiga IVa happefunktsiooni kaitserühm Pg. See selektiivne karboksüülhappe derivatiseerimine viiakse läbi vastavalt meetoditele, mida on kirjeldatud publikatsioonis Houben-Weyl "Methoden der Org. Chemie", Vol. 15/1.

15 Meetodi variandis b) annab lähteainete valemiga IVa aminofunktsiooni kaitserühm E. See selektiivne aminorühmade derivatiseerimine viiakse läbi vastavalt meetoditele, mida on kirjeldatud publikatsioonis Houben-Weyl "Methoden der Org. Chemie", vol. 15/1.

20

Selleks otstarbeks eelistatult kasutatav kaitserühm Pg on tavapäraselt peptiidikeemias kasutatavad karboksüülkaitserühmad nagu näiteks alküülestri tüüpi (näiteks metüül-, etüül-, *tert*-butüül-, isopropüül-, bensüül-, fluorenüülmetüül- ja allüülühm), arüülestri

- tüüpi (näiteks fenüülrühm), amiiditüüpi (näiteks amiid- või benshüdrüülamiinrühm). Selleks kasutatavad sobivad kaitserühmad E on eelistatult peptiidikeemias tavapärased N-kaitserühmad, näiteks uretaani tüüpi (nagu bensüüloksükarbonüül- (Z), *t*-butoksükarbonüül- (Boc), 9-fluorenüüloksükarbonüül- (Fmoc), allüüloksükarbonüül- rühm (Aloc)) või happeamiidi tüüpi (nagu formüül-, atsetüül- või trifluoroatsetüülrühm) või alküültüüpi nagu bensüülrühm.
- Selleks otstarbeks on osutunud eriti sobilikuks ka (trimetüülsilüül)-etoksükarbonüülrühm (Teoc) (P. Kociński, Protecting Groups, Thieme Verlag 1994).
- 10 Indoolkarboksüülhappe derivaadid valmistati vastavalt meetodile, mida on kirjeldatud publikatsioonis Houben-Weyl, "Methoden der Org. Chemie", Vol. E6-2A ja E6-2B. Nii eelistatakse indoolkarboksüülhappe derivaatide valemiga III valmistamisel hüdrasinobensoehapete ja arüülketoonide või heteroarüülketoonide reageerimist polüfosforhappes 145 °C juures. Vajaminevaid hüdrasinobensoehapped valmistatakse
- 15 vastavalt eriala asjatundjale teadaolevatele meetoditele, näiteks lähtudes vastavatest bensoehappe aniliinidest. Sarnaselt valmistatakse arüülketoonid või heteroarüülketoonid eriala asjatundjale teadaolevate meetodite kohaselt, lähtudes vastavatest atsüülkloriididest või -nitrilidest reaktsiooni teel näiteks metallorgaaniliste ühenditega.
- 20 Ühendite valemiga IV kondenseerimiseks ühenditega valemiga III kasutatakse eelistatult eriala asjatundjale *per se* hästi teadaolevaid liitumismeetodeid (vt. näiteks Houben-Weyl, "Methoden der Org. Chemie", Vol. 15/1 ja 15/2, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1974). Sobivad kondenseerijad või sidujad on sellised ühendid nagu
- 25 karbonüüldiimidiasool, karbodiimiidid nagu ditsükloheksüülkarbodiimiid või diisopropüülkarbodiimiid (DIC), *O*-((tsüano(etoksükarbonüül)metüleen)amino)-*N,N,N,N*-tetrametüüluroonium tetrafluoroboraat (TOTU) või propaanfosfoohappe anhüdriid (PPA).
- 30 Kondenseerimist võib läbi viia standardtingimustel. Kondenseerimisel on reeglina vaja mittereageerivaid aminorühmi kaitsta eemaldatavate kaitserühmadega. Sama kehtib ka reaktsioonis mitteesalevate karboksüülrühmade kohta, mis kondensatsiooni

- ajal on eelistatult (C_{1-6})-alküülestritena, bensüülestritena või *tert*-butüülestritena. Aminorühmade kaitsmine pole vajalik siis, kui aminorühmad esinevad aminorühma lähteainetena nagu nitrorühmad või tsüanorühmad ja aminorühmad moodustuvad alles hüdrokeenimisel kondenseerimise järel. Pärast kondenseerimist eemaldatakse kaitserühmad sobival moel. Näiteks NO_2 rühmi (guanidiinkaitse aminohapetes), 5 bensüülloksükarbonüülühmi ja bensüülühmi saab bensüülestritest eemaldada hüdrokeenimisega. *Tert*-butüültüüpi kaitserühmi eemaldatakse happeliselt, samas kui 9-fluoreenüülmetoksükarbonüülühm eemaldatakse sekundaarsete amiinidega.
- 10 Polümeerne kandja, mida tähistatakse valemities V ja VI tähisega PS, on ristseotud polüstüreenivaik, mis sisaldab sidujana vaheahelat L. See siduja kannab sobivat funktsionaalühmi nagu näiteks amiin (Rinki amiinivaik), või hüdroksüülühmi (Wangi vaik või Kaiseri oksiiinivaik). Alternatiivselt võib kasutada muid polümeerseid kandjaid nagu klaas, puuvill või tselluloos, mis sisaldavad erinevaid vaheahelaid L.
- 15 Vaheahel L on kovalentselt seotud polümeerse kandjaga ja tagab pöörduva amiidi- või estrisarnase sideme ühendiga valemiga IVa, mis jääb stabiilseks seotud ühendi valemiga IVa edasisel reaktsioonil, kuid tugevalt happelistel tingimustel, näiteks segus trifluoroetaanhappega, vabastab uuesti sidujas oleva rühma. Soovitud ühendit valemiga I saab sidujast vabastada reaktsioonijärjestuse eri 20 etappides.

A. Kaitstud aminokarboksüülhapete valemiga IVa tahkele kandjale sidumise üldprotseduur

- 25 Süntees viidi läbi 15 ml mahutavusega reaktorites. Igasse reaktorisse lisati 0,179 g Rinki amiidvaiku AM (Fmoc-Rink amiid AM/Nova-Biochem; 0,56 mmol/g ehk 0,1 mmol reaktori kohta). Fmoc kaitserühma eemaldamiseks vaigult doseeriti igasse reaktorisse 30% piperidiini lahust DMF-is ja saadud segu loksutati 45 minutit. Segu filtriti ja vaiku pesti 3 korda dimetüülformamiidiga (DMF). Kaitstud aminohappe sidumiseks lisati selliselt ettevalmistatud vaigule vastava Fmoc-aminohappe 0,5M 30 lahust (0,3 mmol DMF-is), HOBt lahust (0,33 mmol DMF-is) ja DIC lahust (0,33 mmol DMF-is) ja saadud segu loksutati 35 °C juures 16 tundi. Seejärel pesti vaiku

korduvalt DMF-iga. Liitumise kontrollimiseks võeti mõned vaiguhelmed ja sooritati KAISER'i test, mis osutus kõikidel juhtudel negatiivseks.

Fmoc kaitserühm eemaldati eelkirjeldatud viisi 30% piperidiini lahusega DMF-is.

Bensimidiasoolkarboksüülhapete sidumiseks lisati vaigule vastava 4- või 5-asendatud
5 happe 0,1M lahust (0,4 mmol DMF-is), siduva reagenti TOTU 0,5M lahust (0,44 mmol DMF-is) ja DIPEA 0,5M lahust (0,6 mmol DMF-is) ning saadud segu loksutati 40 °C juures 16 tundi. Seejärel pesti vaiku korduvalt DMF-iga. Reaktsiooni kontrollimiseks võeti mõned vaiguhelmed ja sooritati KAISER'i test.

Soovitud ainete eemaldamiseks kandjalt pesti vaiku korduvalt diklorometaaniga.

10 Seejärel lisati lõhustamislahust (50% diklorometaani ja 50% segu koostisega 95% TFA, 2% vett, 3% triisopropüülsilaani) ning saadud segu loksutati toatemperatuuril tund aega. Saadud segu filtriti ja filtraat kontsentreeriti kuivaks. Saadud jääki sadestati dietüüleertris ja filtriti.

15 Tahked jäägid sisaldasid tavaliselt kõrge puhtusastmega soovitudprodukte või neid fraktsioneeriti näiteks pöördfaasiliselt HPLC abil (eluent: A: H₂O/0,1% TFA, B: atsetonitriil/0,1% TFA). Saadud fraktsioonide lüofiliseerimine andis soovitud produktid.

20 Soolasid moodustavate ühendite valemiga I ja nende stereoisomeersete vormide füsioloogiliselt vastuvõetavaid soolasid valmistati *per se* tuntud moel, kasutades aluselisi reagente nagu hüdroksiidid, karbonaadid, vesinikkarbonaadid, alkoksiidid ja samuti ammooniaak või orgaanilised alused (näiteks trimetüül- või trietüülamiin, etanoolamiin või trietanoolamiin) või, alternatiivselt, aluselised aminohapped (näiteks
25 lüsiin, ornitiin või arginiin), karboksüülhapete stabiilsed soolad leelismetallidega, leelismuldmetallidega või vajadusel asendatud amooniumisoolad. Kui ühendid valemiga I sisaldavad aluselisi rühmi, siis saab valmistada stabiilseid happe liitsoolasid tugevate hapetega. Selleks otstarbeks on sobivad nii anorgaanilised kui ka
30 orgaanilised happed nagu vesinikkloriid-, vesinikbromiid-, väävel-, fosfor-, metaansulfoon-, benseensulfoon-, *p*-tolueensulfoon-, 4-bromobenseensulfoon-, tsükloheksüülamidool-, trifluorometüülsulfoon-, etaan-, etaandi-, viin-, butaandi- või trifluoroetaanhape.

Käesolev leiutis käsitleb ka ravimeid, mis sisaldavad efektiivses koguses vähemalt üht ühendit valemiga I ja/või selle füsioloogiliselt talutavat soola ja/või vajadusel selle stereoisomeerset vormi koos farmatseutiliselt sobiva ja füsioloogiliselt talutava ekstsipiendiga, lisandiga ja/või muude toimeainete ja abiainetega.

Mis puutub farmatseutilistesse omadusetesse, siis on leiutisekohased ühendid sobilikud kõikide nende haiguste profülaktikaks ja raviks, mille mille korral NFkB aktiivsus on tõusnud. Sellised seisundid on näiteks lokomotoorse süsteemi kroonilised haigused nagu põletikulised, immunoloogilised või metaboolsed akuutsed ja kroonilised artriidid, artropaatiad, reumatoidartriit, või degeneratiivsed liigesehaigused nagu osteoartroosid, spondüloosid, kõhre purunemisest tingitud liigesetraumad või liigese pikaajaline immobilisatsioon pärast meniski või põlvekedra vigastusi või desmopaatia või sidekoehaigused nagu kollagenoosid ja periodontaalsed haigused, müalgiaid ja luu metabolismi häired, või haigused, mis on põhjustatud kasvaja nekroositeguri α (TNF α) üleekspressioonist või TNF α suurenenud kontsentratsioonist nagu kahheksia, hulgikoldekõvastumus, kolju-aju traumad, Crohni tõbi ja sooletuumorid, või sellised haigused nagu ateroskleroos, stenoos, haavandid, Alzheimeri tõbi, lihaste kahjustused, vähiloomulised haigused (teraapia tugevdamine tsütotoksiliste ühenditega), müokardi infarkt, podagra, veremürgistus, septiline šokk, viirusinfektsioonid nagu gripp, hepatiit, HIV infektsioonid, AIDS või adenoviiruste või herpesviiruste põhjustatud haigused, parasiitinfektsioonid nagu malaaria või leepira, seeninfektsioonid või pärmseeninfektsioonid, meningiit, kroonilised põletikulised kopsuhaigused nagu krooniline bronhiit või astma, akuutne respiratoorne distressisündroom, akuutne sünoviit, tuberkuloos, psoriaas, diabeet, organi vastuvõtjale siirdatud organi vastase akuutse või kroonilise hülgamisreaktsiooni ravi, kroonilised peremehe siirikuvastased haigused ja põletikulised vaskulaarhaigused.

Leiutisekohaseid ravimeid manustatakse tavaliselt peroraalselt või parenteraalselt. Samuti on võimalik rektaalne või transdermaalne manustamisviis.

Leiutis käsitleb samuti ravimi valmistamismeetodit, mille kohaselt vähemalt üks ühend valemiga I viiakse sobivasse manustamisvormi koos farmatseutiliselt sobiva ja füsioloogiliselt talutava ekstsipiendi ja sobivusel koos sobivaid teiste toimeainete, lisandite või abiainetega.

5

Sobivad tahked või farmatseutilised preparaadid on näiteks graanulid, pulbrid, kaetud tabletid, tabletid, (mikro)kapslid, ravimküünlad, siirupid, mahlad, suspensioonid, emulsioonid, tilgad või süstelahused, ning preparaadid toimeaine pikendatud vabastamisega, kusjuures neis preparaatides kasutatakse tavapäraseid abiaineid nagu ekstsipiendid, paakumisvastased ained, sideained, katteained, pundumisained, libi- või määrdeained, maitseaineid, magusained ja solubilisaatorid. Sagedasti kasutatavad abiained on näiteks magneesiumkarbonaat, titaandioksiid, laktoos, mannitool ja teised suhkrud, talk, laktoproteiin, želatiin, tärklis, tselluloos ja selle derivaadid, loomsed ja taimsed õlid nagu tursamaksaõli, päevalilleõli, maapähkliõli ja seesamiõli, polüetüleenglükool ja lahustid nagu näiteks steriliseeritud vesi ja mono- või polüaluselised alkoholid nagu glütserool. Farmatseutilisi preparaate valmistatakse ja manustatakse eelistatult doosiühikutena, kusjuures iga doosiühik sisaldab toimeainena leiutisekohase ühendi valemiga I kindlat doosi. Tahkete doosiühikute nagu tabletid, kapslid, kaetud tabletid või ravimküünlad korral võib nimetatud doos olla kuni umbes 1000 mg, eelistatult umbes 50 kuni 300 mg, ja ampullis olevate süstelahuste korral kuni umbes 300 mg, eelistatult umbes 10 kuni 100 mg. Ligikaudu 70 kg kaaluva täiskasvanud patsiendi ravimiseks võib määrata, sõltuvalt ühendi valemiga I efektiivsusest, päevaseks doosiks umbes 20 kuni 1000 mg, eelistatult 100 kuni 500 mg toimeainet. Teatavatel tingimustel võivad siiski asjakohased olla isegi kõrgemad või madalamad päevased doosid. Päevast doosi võib manustada ühekordse annustamisega individuaalse doosiühiku kujul või mitme väiksema doosiühikuna ja jagatud doosi mitmekordse annustamisega kindlate ajavahemike järel.

Reeglina määratakse reaktsioonide lõpp-produktid massispektroskoopia meetodite abil (FAB-MS, ESI-MS). Temperatuurid on toodud Celsiuse kraadides, RT tähistab toatemperatuuri (22-26 °C). Lühendid on kas siin seletatud või vastavad tavapärastele kokkulepetele.

Näited**Asendatud indoolkarboksüülhapete valmistamine****5 Protsessi variant A)**2,3-difenüül-1*H*-indool-5-karboksüülhape

Desoksübensoiini (1,96 g; 10 mmol) ja 4-hüdrasinobensoehapet (1,52 g) jahvatati uhmris ja seejärel sulatati avatud kolvis 160 °C juures 15 minutit. Jahtunud sulatis segati etaanhappega (100 ml) ja kontsentreeritud vesinikkloriidhappega (30 ml), misjärel saadud segu keedeti 3 tundi. Jahtunud lahus segati veega, mille tagajärjel sadenes produktina 2,3-difenüül-1*H*-indool-5-karboksüülhape. Tekkinud produkt eraldati imifiltratsiooniga ja jääki pesti veega ning kuivatati. Puhastamiseks segati toorprodukti sooja tolupeeniga, imifiltriti ja kuivatati, saades 2,3-difenüül-1*H*-indool-5-karboksüülhappe.

Protsessi variant B)2-püridiin-4-üül-1*H*-indool-5-karboksüülhape

P₂O₅ (20 g) ja H₃PO₄ (12,5 ml; 85%) segati kokku, kusjuures reaktsioonisegu temperatuur tõusis tugevalt. Seejärel jahutati reaktsioonisegu 60 °C-ni ning sellele lisati 4-propionüülpüridiini (8,90 g; 65,84 mmol) ja 4-hüdrasinobensoehapet (4,20 g; 27,60 mmol). Saadud segu segati 145 °C juures 45 minutit. Reaktsioonisegu valati vette, mille tulemusena sadenes kollase produktina 2-püridiin-4-üül-1*H*-indool-5-karboksüülhape. Saadud sade imifiltriti ja seda pesti veega kuni neutraalse pH-ni. Selle meetodiga kvantitatiivse saagisega saadud 2-püridiin-4-üül-1*H*-indool-5-karboksüülhapet kasutati ilma edasise puhastamiseta nende sidumisel aminohappe derivaatidega.

Aminohappe derivaatide sidumine asendatud indoolkarboksüülhappe derivaatidega**Protsessi variant C)**

5

Näide 1*N*-(1-karbamoüül-3-fenüülpropüül)-2,3-difenüül-1*H*-indool-5-karboksamiid

2,3-difenüül-1*H*-indool-5-karboksüülhape (0,16 g; 0,5 mmol) (vt. protsessi varianti A) lahustati toatemperatuuril kuivas dimetüülformamiidis (10 ml) ning segati järjestikku
10 L-homofenüülalaniinamiidi vesinikloriidi (0,11 g; 0,5 mmol), TOTU (*O*-
[(tsüano(etoksükarbonüül)metülideen)amino-1,1,3,3-tetrametüül]urooniumtetrafluoro-
boraadi) (0,16 g) ja diisopropüülamiiniga (0,14 ml; 1 mmol). Saadud reaktsioonisegu
segati toatemperatuuril 6 tundi ja seejärel kontsentreeriti vähendatud rõhul ning
saadud jääk lahustati etüülatsetaadis. Orgaanilist faasi pesti järjestikku veega,
15 küllastunud naatriumkarbonaadi lahusega, veega ja küllastunud naatriumkloriidi
lahusega, kuivatati (MgSO₄), filtriti ja kontsentreeriti vähendatud rõhul, saades *N*-(1-
karbamoüül-3-fenüülpropüül)-2,3-difenüül-1*H*-indool-5-karboksamiidi (st. 120-125
°C).

20 Näide 7*N*-(1-karbamoüül-3-pürrool-1-üülpropüül)-3-metüül-2-püridiin-4-üül-1*H*-indool-5-
karboksamiid

3-metüül-2-püridiin-4-üül-1*H*-indool-5-karboksüülhape (0,13 g; 0,5 mmol) (vt.
protsessi varianti A) lahustati toatemperatuuril kuivas dimetüülformamiidis (10 ml) ja
25 segati järjestikku 4-(1-pürrolüül)-L-2-bensüüloksükarbonüülaminobutaanamiidi
(0,083 g; 0,5 mmol), TOTU (*O*-[(tsüano(etoksükarbonüül)metülideen)amino-1,1,3,3-
tetrametüül]urooniumtetrafluoroboraadi) (0,16 g; 0,5 mmol) ja etüüldiisopropüül-
amiiniga (0,14 ml; 1 mmol). Saadud reaktsioonisegu segati toatemperatuuril 6 tundi ja
seejärel kontsentreeriti vähendatud rõhul ning saadud jääk lahustati etüülatsetaadis.
30 Orgaanilist faasi pesti järjestikku veega, küllastunud naatriumkarbonaadi lahusega,
veega ja küllastunud naatriumkloriidi lahusega, kuivatati (MgSO₄), filtriti ja
kontsentreeriti vähendatud rõhul. Puhastamine viidi läbi preparatiivse HPLC abil.

a: 4-(1-pürrolüül)-L-2-bensüüloksükarbonüülaminobutaanhape

N_{α} -Z-L-2,4-diaminobutaanhape (1,25 g; 5,0 mmol) lahust vees (60 ml), millest oli juhitud läbi argooni, segati kokku 2,5-dimetoksütetrahüdrofuraaniga (0,66 g; 5,0
5 mmol), misjärel lisati jää-äädikhapet (1,7 ml) ja saadud segu segati 20 °C juures 12 tundi. Reaktsioonisegu ekstraheeriti korduvalt etüülatsetaadiga, orgaanilised faasid ühendati ja kuivatati (Na_2SO_4) ning filtraati kontsentreeriti vähendatud rõhul. Saadud toorprodukti puhastati kolonnkromatograafia silikageelil ($CH_2Cl_2/CH_3OH/CH_3COOH$ 100/5/1). Mobiilse faasi eemaldamine andis 4-(1-pürrolüül)-L-2-
10 bensüüloksükarbonüülaminobutaanhape (1,3 g; 87%).

b: 4-(1-pürrolüül)-L-2-bensüüloksükarbonüülaminobutaanamiid

4-(1-pürrolüül)-L-2-bensüüloksükarbonüülaminobutaanhape (1,2 g; 4,0 mmol) ja *N*-hüdrosübensotriasooli ammooniumisool (0,61 g; 4,0 mmol) lahustati koos DMF-is
15 (10 ml), kuhu lisati 0 °C juures segades *N,N*-ditsükloheksüülkarbodiimiidi (0,82 g; 4,0 mmol) ja *N*-etüül-diisopropüülamiini (0,68 ml; 4,0 mmol) ning saadud segu segati 0 °C juures 30 minutit ja 20 °C juures 3 tundi. Sadenenud urea imifiltriti välja ja filtraat kontsentreeriti kuivaks vähendatud rõhul. Saadud toorprodukti puhastati kromatograafia silikageelil ($CH_2Cl_2/CH_3OH/CH_3COOH$ 100/5/1). Saagis 0,89 g
20 (74%).

c: 4-(1-pürrolüül)-L-2-aminobutaanamiid

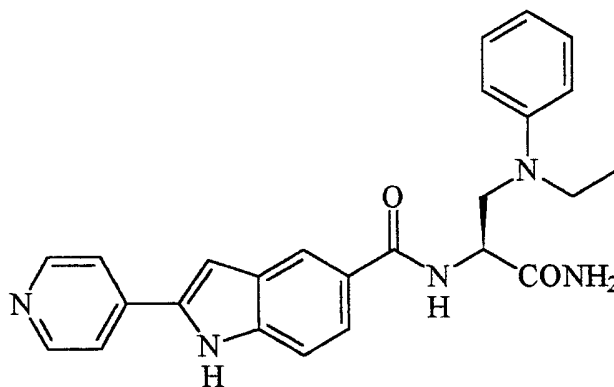
Inertgaasi atmosfääris lahustati 4-(1-pürrolüül)-L-2-bensüüloksükarbonüülaminobutaanamiid (0,80 g; 2,65 mmol) metanoolis (20 ml) ning segati katalüsaatoriga (80
25 mg; 10% Pd/C). Saadud segusse juhiti vesinikku kuni kaitserühma Z täieliku vabanemiseni. Katalüsaator filtriti välja ja filtraati kontsentreeriti, saades 4-(1-pürrolüül)-L-2-aminobutaanamiidi (0,4 g; 90,5%).

2. Protsessi variant D)Näide 3

N-(1-karbamöül-2-fenüülsulfanüületüül)-2-püridiin-4-üül-1*H*-indool-5-karboksamiid
 5 *N*-(1-karbamöül-2-fenüülsulfanüületüül)-2-püridiin-4-üül-1*H*-indool-5-karboksüülhape (0,20 g; 0,84 mmol) segati DMF-is (40 ml) kokku 2-amino-3-fenüülsulfanüülpropaanhappega (0,21 g; 1,07 mmol) ning saadud segusse lisati 0 °C juures bensotriasool-1-üüloksütripürrolidinofosfoonium-heksafluorofosfaati (0,66 g; 1,27 mmol) ja *N*-etüül-*N,N*-diisopropüülamiini (0,37 ml; 2,12 mmol) ning saadud segu segati 20 °C juures 2 tundi. Saadud lahust
 10 kontsentreeriti vähendatud rõhul ja puhastati keskmise rõhuga kolonnkromatograafia ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 9:1), saades *N*-(1-karbamöül-2-fenüülsulfanüületüül)-2-püridiin-4-üül-1*H*-indool-5-karboksamiidi (0,19 g; 54%).

Näide 9

15 3-fenüülaminoetüül-2-[(2-püridiin-4-üül-1*H*-indool-5-karbonüül)amino]propaanamiid



a) L-2-amino-3-fenüülaminoetüülpropaanhape

Trifenüülfosfiin (54,8 g; 0,209 mmol) suspendeeriti atsetonitriilis (600 ml) ja jahutati niiskuse eemaldamisega -35 kuni -45 °C-ni. Selle temperatuuri juures lisati lahusesse
 20 tilkhaaval 50 minuti jooksul dietüülrasodikarboksülaati (36,4 g; 0,209 mmol). Saadud segu segati -35 °C juures veel 15 minutit ja siis lisati sellele tilkhaaval *N*-bensüüloksükarbonüül-*L*-seriini (50 g; 0,209 mmol) lahust atsetonitriilis (500 ml), kusjuures temperatuuri hoiti allpool -35 °C. Segul lasti reageerida 5 °C juures 12 tundi, misjärel segu soojendati toatemperatuurini. Lahusti eemaldati vähendatud rõhul
 25 ja saadud toorprodukti puhastati keskmise rõhuga kolonnkromatograafia silikageelil

(DCM/AcCN 25/1). Lahusti eemaldati, saades puhta *N*-bensüüloksükarbonüül-*L*-seriin- β -laktooni (20,8 g; 45%) (vt. ka Org. Synth. 1991 (70) 1ff.) peente nõeljate kristallidena. Empiiriline valem: $C_{11}H_{11}NO_4$; M.W. = 221,2; MS (M+H) 222,1.

5 Argooni atmosfääris lisati *N*-etüülaniliini (7,3 ml; 57,36 mmol) lahusele atsetonitriilis (250 ml) *N,O*-bis(trimetüülsilüül)atseetamiidi (15,5 ml; 63,51 mmol) ja saadud segu segati 50 °C juures 3 tundi. Saadud lahusele lisati 20 °C juures ülaltoodud laktooni (10,7 g; 48,37 mmol) lahust atsetonitriilis (250 ml) ja saadud segu keedeti 17 tundi. Lahusti eemaldati ja jääki segati küllastunud naatriumkarbonaadi lahusega, kusjuures
10 lahuse pH hoiti alla 9. Vesisuspensiooni pesti vähese koguse dietüületriga, seejärel hapestati (pH = 6-7) kontsentreeritud vesinikkloriidhappega ja seejärel viidi $NaHPO_4$ puhvri abil lahuse pH 5-ni. Saadud vesilahust ekstraheeriti korduvalt etüülatsetaadiga. Lahustite aurustamine andis soovitud produkti (7,4 g; saagis 45%). Empiiriline valem: $C_{19}H_{22}N_2O_4$; M.W. = 342,4; MS (M+H) 343,2.

15 Metanoolile (75 ml) lisati -10 °C juures tilkhaaval tionüülkloriidi (6,5 ml; 89,1 mmol) ja saadud segu segati 30 minutit. Seejärel lisati segule *L*-2-aminoetüül-3-fenüülaminopropaanhappe (8,6 g; 25,12 mmol) lahust metanoolis (75 ml) ning saadud segu segati -10 °C juures 30 minutit ja toatemperatuuril veel 3 tundi. Lahustid
20 aurustati, jääk lahustati etüülatsetaadis ning saadud lahust pesti naatriumkarbonaadi lahusega. Lahusti aurustati ja jääki puhastati kolonnkromatograafia (*n*-heptaan/etüülatsetaat 7/3), saades *L*-2-aminoetüül-3-fenüülaminopropaanhappe (4,43 g; saagis 50%). Empiiriline valem: $C_{20}H_{24}N_2O_4$; M.W. = 356,4; MS (M+H) 357,3.

25 Kaitserühma eemaldamiseks lahustati *Z*-kaitstud derivaat (4,4 g; 12,35 mmol) metanoolis (500 ml), lahusele lisati inertgaasi atmosfääris katalüsaator (100 mg; 10% $Pd(OH)_2/C$) ja läbi lahuse juhiti vesinikku kuni kaitserühma *Z* täieliku vabanemiseni. Katalüsaator filtriti välja ja filtraati kontsentreeriti, saades *L*-2-aminoetüül-3-fenüülaminopropaanhappe (2,8 g) (kvant.). Empiiriline valem: $C_{12}H_{18}N_2O_2$; M.W. =
30 223,3; MS (M+H) 223,1.

Protsessi etapp b)

2-püridiin-4-üül-1*H*-indool-5-karboksüülhape (0,63 g; 2,64 mmol) (valmistati vastavalt protsessi variandile B)) suspendeeriti DMF-i (150 ml) ja segati järjestikku TOTU (1,01 g; 3,08 mmol) ja etüüldiisopropüülamiiniga (0,63 ml; 3,71 mmol).

- 5 Saadud segu segati toatemperatuuril 20 minutit ja saadud selgesse lahusesse lisati (S)-2-amino-3-fenüülaminoetüülpropanaati (0,73 g; 3,28 mmol), mis valmistati vastavalt punktile a). Saadud segu segati vähendatud rõhul 15 tundi, misjärel soovitud ühendi metüülester eraldati kolonnkromatograafia silikageelil (DCM/MeOH 19/1). Saagis 0,44 g. Empiiriline valem: $C_{26}H_{26}N_4O_3$; M.W. = 442,2; MS (M+H) 443,3.

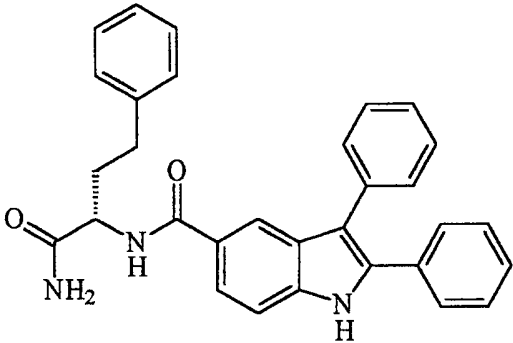
10

Saadud metüülester (0,22 g; 0,497 mmol) lahustati metanoolis (100 ml), saadud lahus jahutati 0 °C-ni ning läbi selle juhiti 1,5 tunni vältel ammoniaaki. Saadud lahusel lasti seista öö läbi toatemperatuuril, misjärel metanool aurustati. Saadud toorprodukti puhastati kolonnkromatograafia silikageelil (DCM/MeOH 19/1). Saagis 0,096 g (45,2%), $C_{25}H_{25}N_5O_2$; M.W. = 427,2; MS (M+H) 428,3.

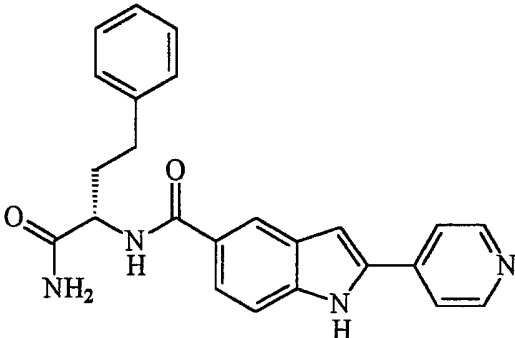
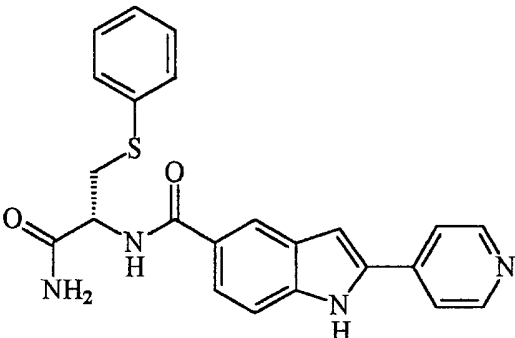
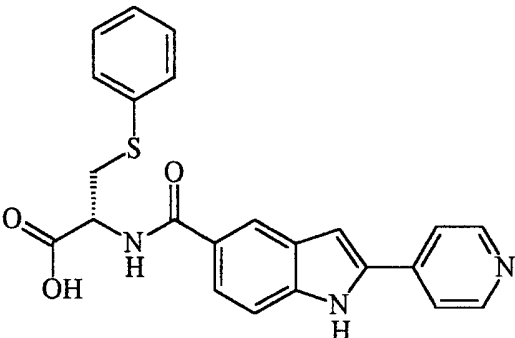
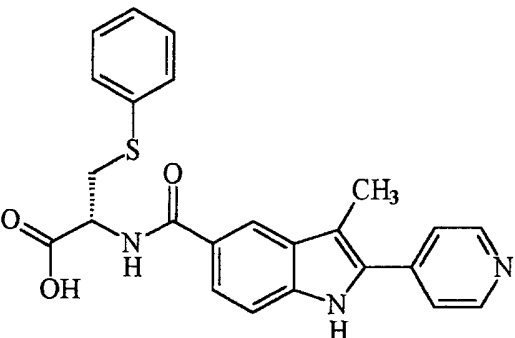
15

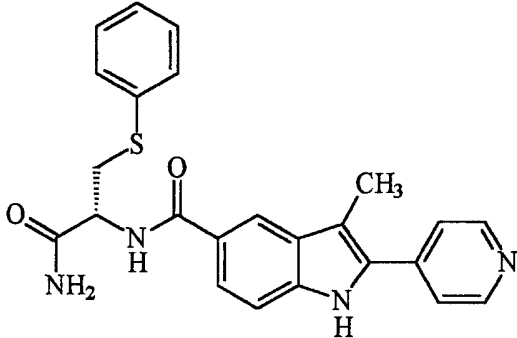
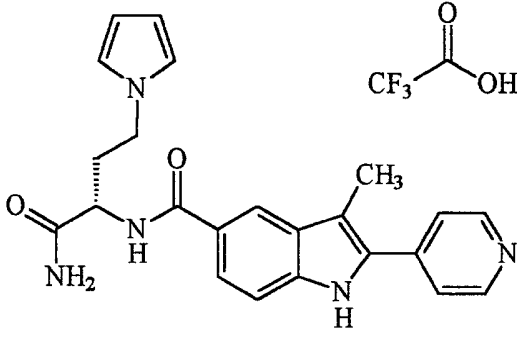
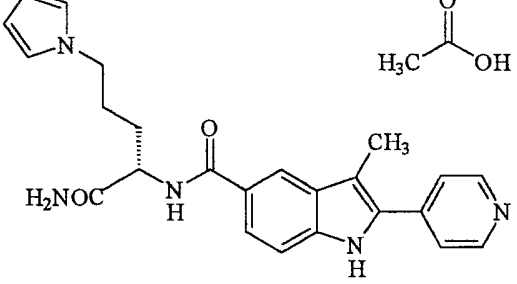
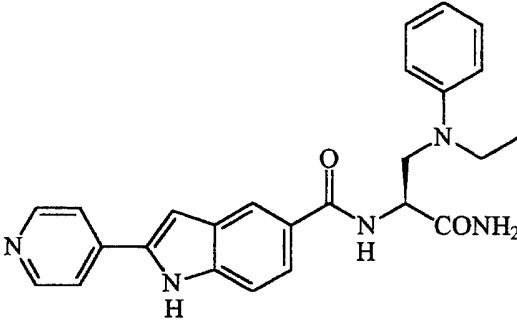
Alltoodud tabelis 1 olevad ühendid valmistati analoogselt protsessidele A) kuni D).

Tabel 1

Nt	Struktuur	Empiiriline valem	MS (M+H)	Märkused
1		M.W. = 473,58 $C_{31}H_{27}N_3O_2$	474,2	pr. v. A) pr. v. C)

20

Nt	Struktuur	Empiirilise valem	MS (M+H)	Märksed
2		M.W. = 398,46 $C_{24}H_{22}N_4O_2$	399,3	pr. v. B) pr. v. C)
3		M.W. = 416,50 $C_{23}H_{20}N_4O_2S$	417,1	pr. v. A) pr. v. D)
4		M.W. = 417,9 $C_{23}H_{19}N_3O_3S$	418,1	pr. v. B) pr. v. C)
5		M.W. = 431,51 $C_{24}H_{21}N_3O_3S$	432,1	pr. v. B) pr. v. C)

Nt	Struktuur	Empiiriline valem	MS (M+H)	Märkused
6		M.W. = 430,53 $C_{24}H_{22}N_4O_2S$	431,2	pr. v. B) pr. v. C)
7		M.W. = 516,47 $C_{23}H_{22}N_4O_3^*$ $C_2HF_3O_2$	403,2	pr. v. B) pr. v. C)
8		M.W. = 475,50 $C_{24}H_{25}N_5O_2^*$ $C_2H_4O_2$	416,5	pr. v. B) pr. v. C)
9		M.W. = 427,2 $C_{25}H_{25}N_5O_2$	428,3	

pr. v. - protsessi variant

Farmakoloogilised näitedIκB kinaasi ELISA test

5 IκB kinaasi aktiivsus määrati ELISA testiga, kus kasutati biotinüleeritud substraatpeptiidi, mis sisaldas valgu IκB seriinide 32 kuni 36 aminohappejärjestust ja spetsiifilist polü- või monoklonaalset antikeha (näiteks firmalt New England Biolabs, Beverly, MA, USA, cat.: 9240), mis seostub vaid peptiid IκB fosforüleeritud vormiga. See kompleks immobiliseeriti antikeha siduvale plaadile (kaetud valguga A) ja detekteeriti, kasutades biotiiniga seostuva valgu ja HRP (näiteks streptavidiini HRP) 10 konjugaati. Aktiivsust saab määrata kvantitatiivselt, kasutades substraat-fosfopeptiidi standardkõverat.

Protseduur

Kinaasikompleksi saamiseks lahjendati HeLa S3 rakuekstrakti S100 (10 ml) 50 mM 15 HEPES lahusega (40 ml), mille pH oli 40% ammooniumsulfaadi abil viidud 7,5-ni, ja saadud segu inkubeeriti jääl 30 minutit. Sadenenud tomp lahustati SEC puhvrts (5 ml; 50 mM HEPES-t, pH 7,5, 1 mM DTT-d, 0,5 mM EDTA-d, 10 mM 2-glütserofosfaati). tsentrifuugiti 20000 × g juures 15 minutit ja filtriti läbi 0,22 μm filtri. Saadud proov kanti 320 ml Superose-6 FPLC kolonni (Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, 20 SE), mis oli tasakaalustatud SEC puhvriga ja mida rakandati voolukiirusega 2 ml/min 4 °C juures. Fraktsioonid, mis vastasid 670 kDa molekulmassiga standardi elueerimisajale, ühendati aktiveerimiseks. Aktiveerimiseks inkubeeriti neid fraktsioone 45 minutit koos 100 nM MEKK1Δ, 250 μM MgATP, 10 mM MgCl₂, 5 mM ditiotreitooli (DTT), 10 mM 2-glütserofosfaadi ja 2,5 μM mikrotsüstiin LR-ga 25 °C juures. Aktiveeritud ensüümi säilitati -80 °C juures.

DMSO-s (2 μl) lahustatud testühendeid inkubeeriti eelnevalt 25 °C juures koos 43 μl aktiveeritud ensüümiga (lahjendatud 1:25 reaktsioonipuhvriga: 50 mM HEPES-t, pH 7,5, 10 mM MgCl₂, 5 mM DTT-d, 10 mM β-glütserofosfaati, 2,5 μM mikrotsüstiin LR-i) 30 minutit. Lahusele lisati 5 μl substraatpeptiidi (biotiin-(CH₂)₆- 30 DRHDSGLDSMKD-CONH₂) (200 μM), saadud segu inkubeeriti tund aega ning reaktsioon kustutati 150 μl seguga, mille koostis oli: 50 mM HEPES-t, pH 7,5, 0,1%

BSA-d, 50 mM EDTA-d, antikeha [1:200]. 100 µl kustutatud reaktsioonisegu või fosfopeptiidi standardlahuse lahjendust (biotiin-(CH₂)₆-DRHDS[PO₃]GLDSMKD-CONH₂) kanti seejärel valgu A plaadile (Pierce Chemical Co., Rockford, IL, USA) ja inkubeeriti loksutil 2 tundi.

- 5 Peale kolme pesemisetappi PBS-iga lisati 30 minuti jooksul 100 µl 0,5 µg/ml streptaviidiin-HRP-d (mädarõika peroksidaas) (lahjendatud 50 mM HEPES/0,1% BSA segus). Pärast viiekordset pesemist PBS-iga lisati 100 µl TMB substraati (Kirkegaard & Perry Laboratories, Gaithersburg, MD, USA) ja värvi teke peatati, lisades 100 µl 0,18M väävelhappe lahust. Lahuse absorptsiooni mõõdeti 450 nm juures.
- 10 Standardkõver saadi lineaarse regressiooniga vastavalt 4-parameetrilisele doosi-aktiivsuse suhtele. Nimetatud standardkõvera abil määrati kvantitatiivselt ensüümi aktiivsus või selle inhibeerimine testühendite poolt.

Meetod PKA, PKC, CK II

- 15 cAMP-sõltuv valgu kinaas (PKA), valgu kinaas C (PKC) ja kaseiini kinaas II (CK II) määrati vastavate testikomplektide (Upstate Biotechnologie) abil vastavalt tootja instruksioonidele ATP kontsentratsioonil 50 µM. Siiski kasutati fosfotselluloosfiltrite asemel multiskriinplaate (Millipore, Phosphocellulose MS-PH, cat. MAPHNOB10) koos vastava aspiratsioonisüsteemiga. Plaat mõõdeti seejärel firma Wallac stsintsillatsiooniloenduril MicroBeta. Iga kord kasutati 100 µM testühendit.
- 20 Igat ühendit testiti topelt. Kontrolli (ilma ensüümita) keskmine tulemus lahutati saadud keskmistest (ensüüm koos ja ilma aineteta) ja arvutati inhibeerimisprotsent. IC₅₀ arvutused sooritati tarkvarapaketi GraFit 3.0. Tulemused on esitatud alltoodud tabelis 2.

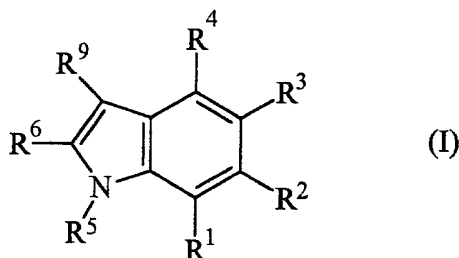
Tabel 2. Kinaasi inhibeerimine ühendi kontsentratsioonil 100 μM või IC_{50} (μM)

Nt. nr.	I κ B kinaas IC_{50}	PKA inhibeerimis- protsent	PKC inhibeerimis- protsent	CK II inhibeerimis- protsent
1	32	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,61	24	15	35
3	0,55	35	39	37
4	0,50	42	33	47
5	1,8	55	8	27
6	4,9	60	58	39
7	3,0	n.d.	n.d.	18
9	1,0	0	23	0

n.d. - ei määratud

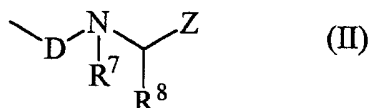
PATENDINÕUDLUS

1. Ühend valemiga I



- 5 ja/või ühendi valemiga I stereoisomeerne vorm ja/või ühendi valemiga I füsioloogiliselt vastuvõetav sool, kus:

üks asendajatest R^1 , R^2 , R^3 ja R^4 on radikaal valemiga II

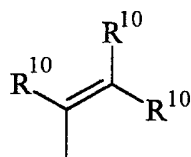


milles:

- 10 D on $-C(O)-$, $-S(O)-$ või $-S(O)_2-$;
 R^7 on vesinik või $-(C_{1-4})$ -alküülrühm;
 R^8 on R^9 või iseloomulik aminohapperadikaal, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad glütsiin,alaniin, valiin, leutsiin, isoleutsiin, fenüülalaniin, türosiin, seriin, trüptofaan, treoniin, tsüsteiin, metioniin, aspargiin, glutamiin, lüsiin, histidiin, arginiin, glutaanhape, aspartaanhape, 2-aminoadiphape, 2-aminoisobutaanhape, 2-aminobutaanhape, 2,3-diaminopropaanhape, 2,4-diaminobutaanhape, 1,2,3,4-tetrahüdroisokinoliin-1-karboksüülhape, 1,2,3,4-tetrahüdroisokinoliin-3-karboksüülhape, 2-aminopimeliinhape, fenüülglytsiin, 3-(2-tienüül)alaniin, 3-(3-tienüül)alaniin, 2-(2-tienüül)glütsiin, 2-aminoheptaanhape, pipekoolhape, hüdroksülüsiin, sarkosiin, *N*-metüülisoleutsiin, 6-*N*-metüüllüsiin, *N*-metüülvaliin, norvaliin, norleutsiin, ornitiin, alloisoleutsiin, allotreoniin, allohüdroksülüsiin, 4-hüdroksüproliin, 3-hüdroksüproliin, 3-(2-naftüül)alaniin, 3-(1-naftüülalaniin), homofenüülalaniin, homotsüsteiin, homotsüsteinhape,
- 15
- 20
- 25

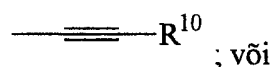
- homotrüptofaan, tsüsteinhape, 3-(2-püridüül)alaniin, 3-(3-püridüül)alaniin, 3-(4-püridüül)alaniin, 2-amino-3-fenüülaminopropaanhape, 2-amino-3-fenüülaminoetüülpropaanhape, fosfinotritsiin, 4-fluorofenüülalaniin, 3-fluorofenüülalaniin, 2-fluorofenüülalaniin, 4-klorofenüülalaniin, 4-nitrofenüülalaniin, 4-aminofenüülalaniin, tsitrulliin, tsükloheksüülalaniin, 5-fluorotrüptofaan, 5-metoksütrüptofaan, metioniinsulfoon, metioniinsulfoksiid ja $-NH-NR^{10}-C(O)N(R^{10})_2$,
- R^9 on
- arüülrühm, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad fenüül-, naftüül-, bifenüül-, antrüül- ja fluorenüülrühm, ning mis on asendamata või mono-, di- või triasendatud identsete või erinevate radikaalidega, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad (C_{1-8})-alküül-, (C_{1-8})-alkoksürühm, halogeen, nitro-, amino-, trifluorometüül-, hüdroksüül-, hüdroksü-(C_{1-4})-alküülrühm nagu hüdroksümetüül-, 1-hüdroksüetüül- või 2-hüdroksüetüülrühm, metüleendioksü-, etüleendioksü-, formüül-, atsetüül-, tsüano-, hüdroksükarbonüül-, aminokarbonüül-, (C_{1-4})-alkoksükarbonüül-, fenüül-, fenoksü-, bensüül-, bensüüloksü- ja tetrasolüülrühm;
 - 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm, milleks on 5- kuni 14-lüliline mono- või polütsüklliline aromaatne tsükliüsteem, mis sisaldab 1, 2, 3, 4 või 5 heteroaatomit, mis on valitud N, O ja S hulgast, mis võivad mitme heteroaatomi korral olla identsed või erinevad, ja heteroarüülrühm on asendamata või mono-, di- või triasendatud samade või erinevate radikaalidega, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad (C_{1-8})-alküül-, (C_{1-8})-alkoksürühm, halogeen, nitrorühm, $-N(R^{10})_2$, trifluorometüül-, hüdroksüül-, hüdroksü-(C_{1-4})-alküül-, metüleendioksü-, formüül-, atsetüül-, tsüano-, hüdroksükarbonüül-, aminokarbonüül-, (C_{1-4})-alkoksükarbonüül-, fenüül-, fenoksü-, bensüül-, bensüüloksü- ja tetrasolüülrühm;
 - 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel, milleks on mono- või bitsüklliline 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel, mis on osaliselt või täielikult küllastunud ja sisaldab heteroaatomeid, mis on valitud N, O ja

- S hulgest ning kus nimetatud heterotsükkel on asendamata või asendatud ühe või mitme süsiniku- või heteroatomi juures identsete või erinevate radikaalidega, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad (C₁₋₈)-alküül-, (C₁₋₈)-alkoksürühm, halogeen, nitrorühm, -N(R¹⁰)₂, trifluorometüül-, hüdroksüül-, hüdroksü-(C₁₋₄)-alküül-, metüleendioksü-, formüül-, atsetüül-, tsüano-, hüdroksükarbonüül-, aminokarbonüül-, (C₁₋₄)-alkoksükarbonüül-, fenüül-, fenoksü-, bensüül-, bensüüloksü- ja tetrasolüülrühm;
4. hargnemata või hargnenud ahelaga -(C₁₋₆)-alküülrühm, mis on asendamata või mono-, di- või triasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:
- 4.1 ülalpool defineeritud arüülrühm, mis on asendamata või asendatud vastavalt ülaltoodule;
- 4.2 ülalpool defineeritud 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm, mis on asendamata või asendatud vastavalt ülaltoodule;
- 4.3 ülalpool defineeritud 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel, mis on asendamata või asendatud vastavalt ülaltoodule;
- 4.4 -O-R¹⁰;
- 4.5 =O;
- 4.6 halogeen;
- 4.7 -CN;
- 4.8 -CF₃;
- 4.9 -S(O)_x-R¹⁰, kus x on täisarv 0, 1 või 2;
- 4.10 -C(O)-O-R¹⁰;
- 4.11 -C(O)-N(R¹⁰)₂;
- 4.12 -N(R¹⁰)₂;
- 4.13 -(C₃₋₆)-tsükloalküülrühm;
- 4.14 radikaal valemiga



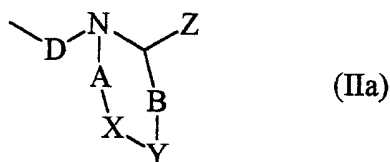
ja

4.15 radikaal valemiga



5. vesinik;
- R^{10} on
- 5 a) vesinik;
- b) $-(C_{1-6})$ -alküülrühm, mis on hargnemata või hargnenud ahelaga ja asendamata või mono-, di või triasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:
1. ülalpool defineeritud arüülrühm;
- 10 2. ülalpool defineeritud 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm;
3. ülalpool defineeritud 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel;
4. halogeen;
- 15 5. $-N-(C_{1-6})_n$ -alküülrühm, milles n on täisarv 0, 1 või 2 ja alküülrühm on asendamata või mono-, di- või triasendatud üksteisest sõltumatult halogeeni või rühmaga $-COOH$, ja
6. $-COOH$;
- c) ülalpool defineeritud arüülrühm;
- d) ülalpool defineeritud 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm;
- 20 e) ülalpool defineeritud 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel, ja $(R^{10})_2$ korral on kumbki R^{10} sõltumatult rühm loetelust a) kuni e);
- Z on
1. ülalpool defineeritud arüülrühm, mis on asendamata või asendatud vastavalt eeltoodule;
- 25 2. ülalpool defineeritud 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm, mis on asendamata või asendatud vastavalt eeltoodule;
3. ülalpool defineeritud 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel, mis on asendamata või asendatud vastavalt eeltoodule; või
4. $-C(O)-R^{11}$, kus
- R^{11} on
- 30 1. $-O-R^{10}$ või
2. $-N(R^0)_2$, või

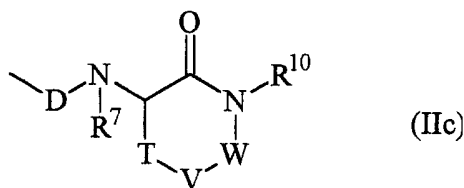
R^7 ja R^8 moodustavad koos lämmastiku- ja süsinikuaatomiga, millega neist kumbki on seotud, heterotsükli valemiga IIa



- milles: D, Z ja R^{11} on defineeritud valemis II,
- 5 A on lämmastikuaatom või radikaal $-\text{CH}_2-$;
- B on hapnikuaatom, väävliatom, lämmastikuaatom või radikaal $-\text{CH}_2-$;
- X on hapnikuaatom, väävliatom, lämmastikuaatom või radikaal $-\text{CH}_2-$;
- 10 Y puudub või on hapnikuaatom, väävliatom, lämmastikuaatom või radikaal $-\text{CH}_2-$; või
- X ja Y moodustavad koos fenüül-, 1,2-diasiin-, 1,3-diasiin või 1,4-diasiinrühma;
- 15 kusjuures N, A, X, Y, B ja süsinikuaatomist moodustunud tsükkel ei sisalda üle ühe hapnikuaatomi, X ei ole hapnik, väävel või lämmastik kui A on lämmastik, tsükkel ei sisalda üle ühe väävliatomi, sisaldab 1, 2, 3 või 4 lämmastikuaatomit ning hapniku- ja väävliatom ei esine üheaegselt;
- kusjuures N, A, X, Y, B ja süsinikuaatomist moodustunud tsükkel on asendamata või mono- kuni triasendatud üksteisest sõltumatult $-(\text{C}_{1-8})$ -alküülrühmaga, või on
- 20 asendamata või mono- või diasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:
- 1.1 $-\text{OH}$;
- 1.2 $-(\text{C}_{1-8})$ -alkoksürühm;
- 1.3 halogeen;
- 25 1.4 $-\text{NO}_2$;
- 1.5 $-\text{NH}_2$;
- 1.6 $-\text{CF}_3$;
- 1.7 metüleendioksürühm;
- 1.8 $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_3$;

- 1.9 -CH(O);
 1.10 -CN;
 1.11 -C(O)-OH;
 1.12 -C(O)-NH₂;
 5 1.13 (C₁₋₄)-alkoksükarbonüülrühm;
 1.14 fenüülrühm;
 1.15 fenoksürühm;
 1.16 bensüülrühm;
 1.17 bensüüloksürühm;
 10 1.18 tetrasolüülrühm või
 1.19 -OH; või

R⁸ ja Z moodustavad koos süsinikuaatomitega, millega neist kumbki on seotud, heterotsükli valemiga IIc



- 15 milles: D, R⁷ ja R¹⁰ on defineeritud valemis II;
 T on hapnikuaatom, väävliaatom, lämmastikuaatom või radikaal -CH₂-;
 W on hapnikuaatom, väävliaatom, lämmastikuaatom või radikaal -CH₂-;
 20 V puudub või on hapnikuaatom, väävliaatom, lämmastikuaatom või radikaal -CH₂-; või

T ja V või V ja W moodustavad koos fenüül-, 1,2-diaasiin-, 1,3-diaasiin või 1,4-diaasiinrühma;

- 25 kusjuures N, T, V, W ja kahest süsinikuaatomist moodustunud tsükel ei sisalda üle ühe hapnikuaatomi, üle ühe väävliaatomi ja sisaldab 1, 2, 3 või 4 lämmastikuaatomi, hapniku- ja väävliaatom ei esine üheaegselt ning N, T, V, W ja kahest süsinikuaatomist moodustunud tsükel on asendamata või mono- kuni triasendatud üksteisest sõltumatult mõnega rühmadest, mis on defineeritud punktides 1.1 kuni 1.19; ning vastavad muud asendajad R¹, R², R³ ja R⁴ on igaüks üksteisest sõltumatult;

1. vesinik;
2. halogeen;
3. ülalpool defineeritud arüülrühm, mis on asendamata või asendatud vastavalt eeltoodule;
- 5 4. ülalpool defineeritud 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm, mis on asendamata või asendatud vastavalt ülaltoodule;
5. ülalpool defineeritud 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel, mis on asendamata või asendatud vastavalt ülaltoodule;
6. $-(C_{1-6})$ -alküülrühm;
- 10 7. $-CN$;
8. $-O-R^{10}$;
9. $-N(R^{10})_2$;
10. $-S(O)_x-R^{10}$, kus x on täisarv 0, 1 või 2; või
11. $-CF_3$;
- 15 R^5 on 1. vesinik;
2. $-OH$; või
3. $=O$; ning
- R^6 on 1. ülalpool defineeritud arüülrühm, mis on asendamata või asendatud vastavalt ülaltoodule;
- 20 2. ülalpool defineeritud 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm;
3. ülalpool defineeritud 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel.

2. Nõudluspunktile 1 vastav ühend valemiga I, kus üks asendajatest R^1 , R^2 , R^3 ja R^4 on radikaal valemiga II, milles:

25 D on $-C(O)-$;

R^7 on vesinik või $-(C_{1-4})$ -alküülrühm;

R^8 on 1. hargnemata või hargnenud ahelaga $-(C_{1-4})$ -alküülrühm, mis on mono- või diasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:

30 1.1 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm või 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad pürrool, püridiin, pürasiin, furaan, tiofeen, imidasool, pürasool, oksasool, isoksasool, tiasool, isotiasool, tetrasool, triasooloonid, 1,2,3,5-oksatiadiasool-2-

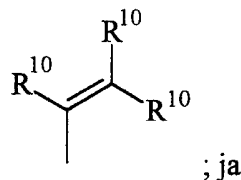
5 oksiidid, oksadiasoolid, isoksasoolid, oksadiasolidiindioonid, triasoolid, mis on asendatud F, -CN, -CF₃ või -C(O)-O-(C₁₋₄)-alküülrühmaga, 3-hüdroksüpürrool-2,4-dioonid, 5-okso-1,2,4-tiadiasoolid, pürimidiin, indool, isoindool, indasool, ftaalasiin, kinoliin, isokinoliin, kinoksaliin, kinasoliin, 3-fenüül-2-propeen, karboliin ja nende heterotsüklite benso-, tsüklopenta-, tsükloheksa-, tsükloheptaliitunud derivaadid;

1.2 -O-R¹⁰;

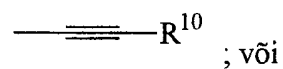
1.3 -S(O)_x-R¹⁰, kus x on täisarv 0, 1 või 2;

10 1.4 -N(R¹⁰)₂;

1.5 radikaal valemiga



1.6 radikaal valemiga



15 2. iseloomulik aminohapperadikaal, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad histidiin, trüptofaan, seriin, treoniin, tsüsteiin, metioniin, aspargiin, glutamiin, lüsiin, arginiin, glutaamhape ja aspartaamhape;

R⁹ on 1. R⁸

20 2. hargnemata või hargnenud ahelaga -(C₁₋₄)-alküülrühm, mis on mono-, di- või triasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:

3.1 nõudluspunktile 1 vastav arüülrühm, mis on asendamata või asendatud vastavalt nõudluspunktile 1;

3.2 halogeen;

25 3.3 -CN; ja

3.4 -CF₃;

4. nõudluspunktile 1 vastav arüülrühm, mis on asendamata või asendatud vastavalt nõudluspunktile 1; või

5. vesinik;
- R^{10} on
- a) vesinik;
 - b) hargnemata või hargnenud ahelaga $-(C_{1-6})$ -alküülrühm, mis on asendamata või mono- kuni triasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:
 1. arüülrühm, mis on defineeritud nõudluspunktis 1;
 2. 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm, mis on defineeritud eelnevalt;
 3. 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel, mis on defineeritud eelnevalt;
 4. halogeen;
 5. $-N-(C_{1-6})_n$ -alküülrühm, kus n on täisarv 0, 1 või 2 ja alküülrühm on asendamata või mono-, di- või triasendatud üksteisest sõltumatult halogeeni või rühmaga $-C(O)-OH$; ja
 6. $-C(O)-OH$;
- 10
- c) arüülrühm, mis on defineeritud nõudluspunktis 1;
 - d) 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm, mis on defineeritud eelnevalt; või
 - e) 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel, mis on defineeritud eelnevalt ja
- 15
- 20 $(R^{10})_2$ korral on kumbki R^{10} sõltumatult rühm loetelust a) kuni e);
- Z on
1. 1,3,4-oksadiasoolrühm, mis on asendamata või mono- kuni triasendatud $-NH_2$, OH või $-(C_{1-4})$ -alküülrühmaga; või
 2. $-C(O)-R^{11}$, milles
- R^{11} on
1. $-O-R^{10}$ või
 2. $-N(R^0)_2$, või
- 25
- R^7 ja R^8 moodustavad koos lämmastiku- ja süsinikuaatomiga, millega neist kumbki on seotud, heterotsükli valemiga IIa, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad pürrool, pürroliin, pürrolidiin, püridiin, piperidiin, piperüleen, püridasiin, pürimidiin, pürasiin, piperasiin, pürasool, imidasool, pürasoliin, imidasoliin, pürasolidiin, imidasolidiin, oksasool, tetrasool, 1,2,3,5-oksatiadiasool-2-oksiidid, triasooloonid, oksadiasooloonid, isoksasooloonid, oksadiasolidiindioonid, triasoolid, mis on asendamata või asendatud F, $-CN$, $-CF_3$ või $-C(O)-O-(C_{1-4})$ -alküülrühmaga, 3-hüdroksüpürrool-2,4-dioonid, 5-
- 30

okso-1,2,4-tiadiasoolid, isoksasoolid, 2-isoksasolidiin, isoksasolidiin-, morfoliin, isotiasool, tiasool, isotiasolidiin, tiomorfoliin, indasool, tiadiasool, bensimidiasool, kinoliin, triasool, ftaalasiin, kinasoliin, kinoksaliin, puriin, pteridiin, indool, isokinoliin, tetrahüdrokiniin ja tetrahüdrosokiniin; või

- 5 R^8 ja Z moodustavad koos süsinikuaatomitega, millega nad on seotud, tsükli valemiga IIc, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad pürrool, pürroliin, pürrolidiin, püridiin, piperidiin, pürasoliin, ftaalasiin, piperüleen, püridasiin, pürimidiin, pürasiin, piperasiin, pürasool, imidasool, 1,3,4-oksadiasool, imidasoliin, pürasolidiin, imidasolidiin, oksasool, isoksasool, 2-isoksasolidiin, isoksasolidiin, morfoliin, 10 isotiasool, tiasool, isotiasolidiin, tiomorfoliin, indasool, tiadiasool, bensimidiasool, kinoliin, triasool, tetrasool, 1,2,3,5-oksatiadiasool-2-oksiidid, oksadiasoloonid, isoksasoloonid, triasoloonid, oksadiasolidiindioonid, triasoolid, mis on asendamata või asendatud F, -CN, -CF₃ või -C(O)-O-(C₁₋₄)-alküülrühmaga, 3-hüdrosüpürrool-2,4-dioonid, 5-okso-1,2,4-tiadiasoolid, kinasoliin, kinoksaliin, puriin, indool, pteridiin, 15 tetrahüdrokiniin, tetrahüdrosokiniin ja isokinoliin; ning muud asendajad R^1 , R^2 , R^3 ja R^4 on igäuks sõltumatult:

1. vesinik;
2. halogeen;
3. nõudluspunktis 1 defineeritud arüülrühm, mis on asendamata või 20 asendatud vastavalt nõudluspunktile 1;
4. eelnevalt defineeritud 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm, mis on asendamata või asendatud vastavalt nõudluspunktile 1;
5. eelnevalt defineeritud 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel, mis on asendamata või asendatud vastavalt nõudluspunktile 1;
- 25 6. -(C₁₋₆)-alküülrühm;
7. -CN;
8. -CF₃;
9. -O-R¹⁰;
10. -N(R¹⁰)₂; või
- 30 11. -S(O)_x-R¹⁰, kus x on täisarv 0, 1 või 2;

R^5 on vesinik; ning

- R^6 on 1. fenüülrühm, mis on asendamata või mono- või diasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:
- 1.1 -CN;
 - 1.2 CF_3 ;
 - 5 1.3 halogeen;
 - 1.4 $-O-R^{10}$;
 - 1.5 $-N(R^{10})_2$;
 - 1.6 $-NH-C(O)-R^{11}$;
 - 1.7 $-S(O)_x-R^{10}$, kus x on täisarv 0, 1 või 2;
 - 10 1.8 $-C(O)-R^{11}$; ja
 - 1.9 $-(C_{1-4})$ -alküül- NH_2 ;
2. eelnevalt defineeritud 5- kuni 14-lüliline heteroarüülrühm, mis on asendamata või mono- di- või triasendatud üksteisest sõltumatult mõnega rühmadest, mis on defineeritud punktides 1.1 kuni 1.9;
- 15 3. eelnevalt defineeritud 5- kuni 12-lüliline heterotsükkel, mis on asendamata või mono- di- või triasendatud üksteisest sõltumatult mõnega rühmadest, mis on defineeritud punktides 1.1 kuni 1.9.
3. Nõudluspunktile 1 või 2 vastav ühend valemiga I, milles üks asendajatest R^1 , R^2 , R^3 ja R^4 on radikaal valemiga II, kus:
- 20 D on $-C(O)-$;
- R^7 on vesinik;
- Z on $-C(O)-OH$ või $-C(O)-NH_2$;
- R^8 on 1. $-(C_{1-4})$ -alküülrühm, mis on hargnemata või hargnenud ahelaga ja on
- 25 mono- või diasendatud üksteisest sõltumatult mõne rühmaga grupist, kuhu kuuluvad:
- 1.1 $-S(O)-R^{10}$, kus R^{10} on defineeritud allpool;
 - 1.2 $-N(R^{10})_2$, kus R^{10} on defineeritud allpool; ja
 - 1.3 pürroolrühm;
- 30 2. iseloomulik aminohapperadikaal, mis on valitud grupist, kuhu kuuluvad: histidiin, trüptofaan, seriin, treoniin, tsüsteiin, metioniin, aspargiin, glutamiin, lüsiin, arginiin, glutaamhape ja aspartaamhape;

- R^9 on 1. vesinik;
 2. $-(C_{1-4})$ -alküülrühm, mis on hargnemata või hargnenud ahelaga ja on mono-, di- või triasendatud üksteisest sõltumatult rühmadega $-C(O)-OH$, $-OH$ või $-C(O)-NH_2$;
 5 3. fenüülrühm, mis on asendamata või mono- kuni triasendatud üksteisest sõltumatult halogeeni või $-(C_{1-4})$ -alküülrühmaga;

- R^{10} on a) vesinik;
 b) $-(C_{1-6})$ -alküülrühm, mis on hargnemata või hargnenud ahelaga ja on asendamata või sõltumatult mono- kuni triasendatud halogeeni;
 10 c) fenüülrühm, mis on asendamata või sõltumatult mono- kuni triasendatud halogeeni või $-(C_{1-4})$ -alküülrühmaga;

muud asendajad R^1 , R^2 , R^3 ja R^4 on kõik vesinikud;

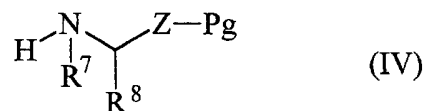
R^5 on vesinik; ning

R^6 on fenüül- või püridiinrühm.

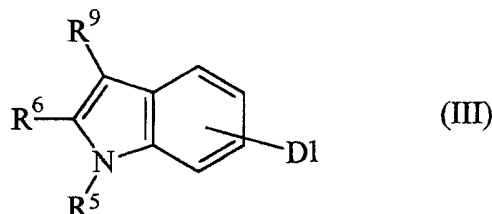
15

4. Mis tahes nõudluspunktile 1 kuni 3 vastava ühendi valemiga I valmistamise meetod, mille kohaselt

a) ühendil valemiga IV

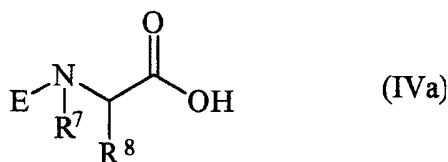


- 20 milles Pg on sobiv kaitserühm (näiteks metüülester), amiid- või hüdroksüülrühm ning Z, R^7 ja R^8 on defineeritud valemis I, lastakse reageerida atsüükloriidiga või ühendi valemiga III aktiveeritud estriga

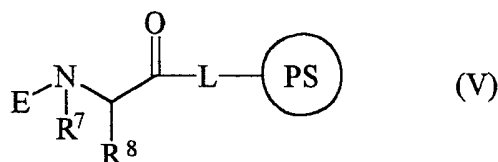


- 25 milles D1 on $-COOH$ või sulfonüülhalogeen ja R^5 , R^6 ja R^9 on defineeritud valemis I, sobiva aluse või vajadusel dehüdraatava ühendi juuresolekul lahuses, ning pärast kaitserühma eemaldamist muudetakse saadud ühend ühendiks valemiga I, või

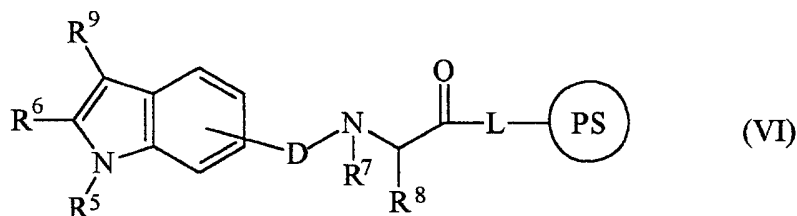
b) ühendi valemiga IVa



5 milles R^7 ja R^8 on defineeritud valemis I ja E on N-aminokaitserühm, karbonüülühm seostatakse vaheahela L kaudu vaiguga PS, saades ühendi valemiga V



millel lastakse pärast kaitserühma E selektiivset eemaldamist reageerida ühendiga valemiga III, milles R^5 , R^6 ja R^9 on defineeritud valemis I, sobiva aluse või sobivusel dehüdraativa ühendi juuresolekul, saades ühendi valemiga VI



10

mis muudetakse pärast kandjalt eraldamist ühendiks valemiga I, või

c) ühend valemiga I muudetakse vastavaks füsioloogiliselt vastuvõetavaks soolaks.

15 5. Ravim, mis sisaldab efektiivses koguses vähemalt üht mis tahes nõudluspunktile 1 kuni 3 vastavat ühendit valemiga I koos farmatseutiliselt sobiva ja füsioloogiliselt vastuvõetava ekstsipiendiga, lisandiga ja/või muu toimeaine ja abiainega.

20 6. Vähemalt ühe mis tahes nõudluspunktile 1 kuni 3 vastava ühendi valemiga I kasutamine ravimite valmistamiseks selliste haiguste profülaktikaks ja raviks, mille korral NFkB aktiivsus on tõusnud.

7. Nõudluspunktile 6 vastav kasutamine selliste haiguste raviks nagu lokomotoorse süsteemi kroonilised haigused nagu põletikulised, immunoloogilised või metaboolsed akuutsed ja kroonilised artriidid, artropaatiad, reumatoidartriit, või degeneratiivsed liigesehaigused nagu osteoartroosid, spondüloosid, kõhre purunemisest tingitud liigesetraumad või liigese pikaajaline immobilisatsioon meniski või põlvekedra vigastuse järel või desmopaatia või sidekoehaigused nagu kollagenoosid ja periodontaalsed haigused, müalgiaid ja luu metabolismi häired, või haigused, mis on põhjustatud kasvaja nekroositeguri α (TNF α) üleekspressioonist või TNF α suurenenud kontsentratsioonist nagu kahheksia, hulgioldekõvastumus, kolju-aju traumad, Crohni tõbi ja sooletuumorid, või ateroskleroos, stenoos, haavandid, Alzheimeri tõbi, lihaste kahjustused, vähiloomulised haigused (teraapia tugevdamine tsütotoksiliste ühenditega), müokardi infarkt, podagra, veremürgistus, septiline šokk, viirusinfektsioonid nagu gripp, hepatiit, HIV infektsioonid, AIDS või adenoviiruste või herpesviiruste põhjustatud haigused, parasiitinfektsioonid nagu malaaria või leepra, seeninfektsioonid või pärmseeninfektsioonid, meningiit, kroonilised põletikulised kopsuhaigused nagu krooniline bronhiit või astma, akuutne respiratoorne distressisündroom, akuutne sünoviit, tuberkuloos, psoriaas, diabeet, organi vastuvõtjale siirdatud organi vastase akuutse või kroonilise hülgamisreaktsiooni ravi, kroonilised peremehe siirikuvastased haigused ja põletikulised vaskulaarhaigused.
8. Ravimi valmistamismeetod, mille kohaselt vähemalt üks mis tahes nõudluspunktile 1 kuni 3 vastav ühend valemiga I viiakse sobivasse manustamisvormi koos farmatseutiliselt sobiva ja füsioloogiliselt talutava ekstsipiendi ja vajadusel koos teiste sobivate toimeainete, lisandite või abiainetega.

20

25