

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-527548

(P2004-527548A)

(43) 公表日 平成16年9月9日(2004.9.9)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C07D 211/60	C O 7 D 211/60	4 C O 5 4
A61K 31/445	A 6 1 K 31/445	4 C O 6 3
A61K 31/4525	A 6 1 K 31/4525	4 C O 8 6
A61K 31/4535	A 6 1 K 31/4535	
A61K 31/454	A 6 1 K 31/454	
	審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 156 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2002-583426 (P2002-583426)	(71) 出願人	399132906 バーテックス ファーマシューティカルズ インコーポレイテッド アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02 139-4242, ケンブリッジ, ウェ ーバリー ストリート 130
(86) (22) 出願日	平成14年4月19日 (2002.4.19)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(85) 翻訳文提出日	平成15年10月16日 (2003.10.16)	(74) 代理人	100062409 弁理士 安村 高明
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/012638	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(87) 国際公開番号	W02002/085899		
(87) 国際公開日	平成14年10月31日 (2002.10.31)		
(31) 優先権主張番号	60/285,051		
(32) 優先日	平成13年4月19日 (2001.4.19)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 カスパーゼ阻害剤としての複素環ジカルバミド

(57) 【要約】

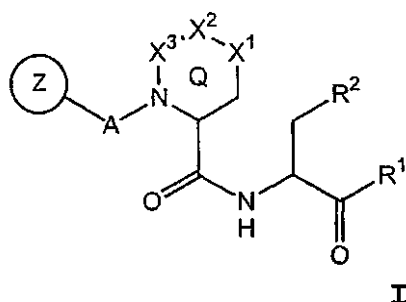
本発明は、新規種類の式 (I) の化合物に関し、これらは、カスパーゼおよび TNF - の阻害剤である。本発明はまた、これらの化合物を含有する薬学的組成物に関する。本発明の化合物および薬学的組成物は、カスパーゼおよび TNF - の活性を阻害するのに特に適しており、結果的に、有利なことに、カスパーゼ、インターロイキン - 1 (「IL - 1」)、アポトーシス、インターフェロン 誘発因子 (IGIF)、インターフェロン (「IFN - 」) または TNF - が媒介する疾患 (これには、炎症疾患、自己免疫疾患、破壊性骨障害、増殖性障害、感染性疾患および変性疾患が挙げられる) に対する薬剤として、使用できる。本発明はまた、本発明の化合物を調製する方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I の化合物またはその薬学的に受容可能な誘導体：

【化 1】



10

ここで、

R^1 は、水素、CN、 CHN_2 、Rまたは $-CH_2Y$ である；

Rは、脂肪族基、置換脂肪族基、アリール基、置換アリール基、アラルキル基、置換アラルキル基、非芳香族複素環式基または置換非芳香族複素環式基である；

Yは、電気陰性脱離基、 $-OR$ 、 $-SR$ 、 $-OC(=O)(R)$ または $-OPO(R^3)(R^4)$ である；

20

R^3 および R^4 は、独立して、RまたはORである；

R^2 は、 CO_2H 、 CH_2CO_2H 、または必要に応じて置換したエステル、アミドまたはそれらのアイソスターである；

Aは、 $C=O$ または SO_2 である；

X^1 は、酸素、イオウ、 $-NH$ または $-CH_2$ であり、ここで、 $-NH$ は、必要に応じて、アルキル基、シクロアルキル基、(シクロアルキル)アルキル基、アミノ酸N-末端保護基またはCORで置換されており、そして $-CH_2$ は、必要に応じて、フッ素、アルキル基、シクロアルキル基、(シクロアルキル)アルキル基、アラルキル基、アリール基、アルキルオキシ基、アルキルチオキシ基、アリールオキシ基、アリールチオキシ基、オキソ基(すなわち、 $=O$)またはNHCO R基で置換されている；

30

X^2 は、酸素、イオウ、 $-NH$ または $-CH_2$ であり、ここで、 $-NH$ は、必要に応じて、アルキル基またはアミノ酸N-末端保護基で置換されており、そして $-CH_2$ は、必要に応じて、アルキル基、アリール基、アルキルオキシ基、アルキルチオキシ基、アリールオキシ基、アリールチオキシ基、オキソ基(すなわち、 $=O$)またはNHCO R基で置換されている； X^1 および X^2 は、必要に応じて、隣接環Qに縮合されたフェニル環の一部を形成する；

X^3 は、 CH_2 であるか、または X^2 および X^3 は、必要に応じて、隣接環Qに縮合したフェニル環の一部を形成し、但し、 X^2 が X^3 と環を形成するとき、 X^2 は、 X^1 と環を形成しない；

環Qの隣接位置に結合された任意の2個の水素は、必要に応じて、二重結合で置き換えられる；そして

40

Zは、必要に応じて、炭素環、アリール、飽和複素環、部分飽和複素環およびヘテロアリールからなる群から選択される置換した環であり、ここで、該環は、環炭素にあるAに結合されている、
化合物。

【請求項 2】

R^1 が、 CH_2Y であり、そしてYが、F、OR、SRまたは $-OC(=O)(R)$ である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

Yが、Fである、請求項 2 に記載の化合物。

50

【請求項 4】

R^2 が、 CO_2H 、エステル、アミドまたはカルボン酸イソスターである、請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 5】

R^2 が、 CO_2H である、請求項 4 に記載の化合物。

【請求項 6】

X^1 および X^2 が、それぞれ、 CH_2 であるか、または X^1 および X^2 が結合して、環 Q に縮合された必要に応じて置換したフェニル環の一部を形成する、請求項 4 に記載の化合物。

【請求項 7】

X^1 および X^2 が、それぞれ、 CH_2 である、請求項 6 に記載の化合物。

10

【請求項 8】

A が、COである、請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 9】

Z が、必要に応じて置換したアリールであり、該アリールが、環炭素にある A に結合されている、請求項 8 に記載の化合物。

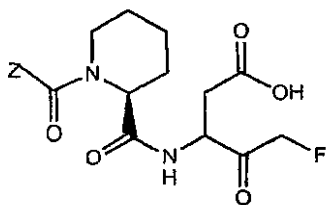
【請求項 10】

以下の表 1：

表 1：代表的な化合物

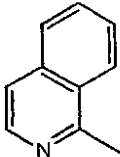
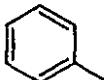
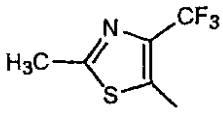
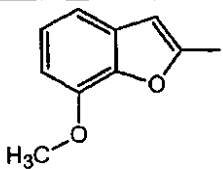
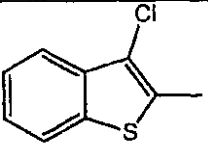
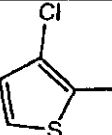
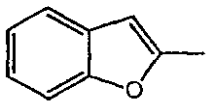
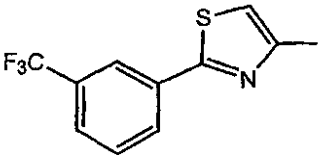
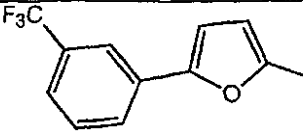
【表 1】

20



番号	Z
1	

30

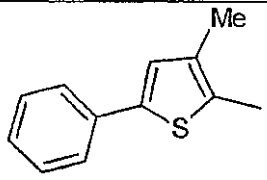
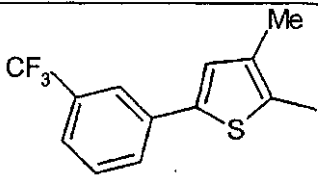
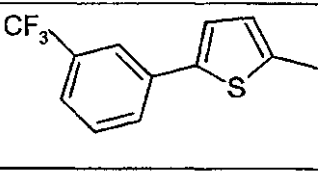
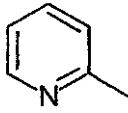
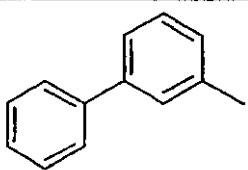
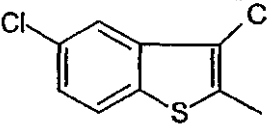
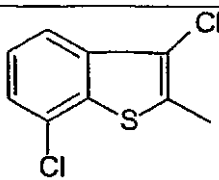
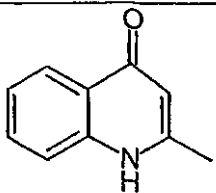
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

10

20

30

40

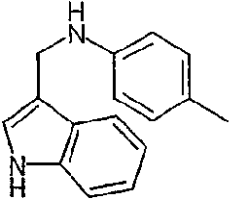
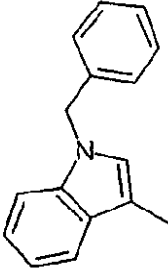
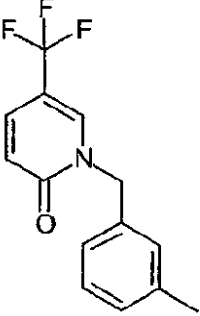
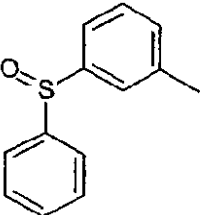
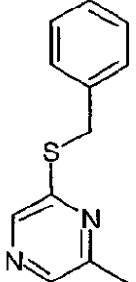
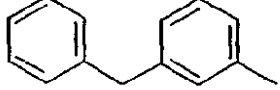
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	

10

20

30

40

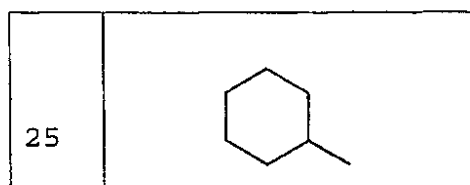
19	
20	
21	
22	
23	
24	

10

20

30

40



から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 1 1】

a) 請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその薬学的に受容可能な誘導体 ; および b) 薬学的に受容可能なキャリア、アジュバントまたはビヒクルを含有する、薬学的組成物。 10

【請求項 1 2】

被験体における以下からなる群から選択される疾患を処置または予防する方法であって、該被験体に、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の化合物もしくはその薬学的に受容可能な誘導体または請求項 1 1 に記載の薬学的組成物を投与する工程を包含する、方法：IL - 1 媒介疾患、アポトーシス媒介疾患、TNF - 媒介疾患、炎症疾患、自己免疫性疾患、破壊性骨障害、増殖性障害、感染性疾患、変性疾患、皮膚病、細胞死に関連した疾患、過剰な食用アルコール摂取疾患、ウイルス媒介疾患、網膜障害、ブドウ膜炎、炎症性腹膜炎、骨関節炎、膵炎、喘息、成人呼吸窮迫症候群、糸球体腎炎、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、硬皮症、慢性甲状腺炎、グレーブス病、自己免疫性胃炎、糖尿病、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性好中球減少症、血小板減少症、慢性活性肝炎、重症筋無力症、炎症性腸疾患、クローン病、乾癬、アトピー性皮膚炎、接触性皮膚炎、瘢痕、移植片対宿主病、臓器移植拒絶、火傷後臓器アポトーシス、骨粗鬆症、白血病および関連障害、脊髄形成異常症候群、多発性骨髄腫関連骨疾患、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、転移性メラノーマ、カポジ肉腫、多発性骨髄腫、出血症性ショック、敗血症、敗血症性ショック、火傷、外傷、全身性炎症応答症候群、多臓器不全症候群、志賀赤痢、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン舞踏症、ケネディ病、プリオン病、脳虚血、癲癇、心筋虚血、急性および慢性心臓病、心筋梗塞、うっ血性心不全、アテローム性動脈硬化症、冠状動脈バイパス移植、脊髄筋萎縮症、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、H I V 関連脳炎、老化、脱毛症、脳卒中による神経障害、潰瘍性大腸炎、外傷性脳傷害、脊髄傷害、B 型肝炎、C 型肝炎、G 型肝炎、黄熱病、デング熱、日本脳炎、種々の形態の肝臓病、腎臓病、腎多嚢胞病、H . p y l o r i 菌関連胃潰瘍および十二指腸潰瘍、H I V 感染、結核および髄膜炎。 20 30

【請求項 1 3】

前記疾患が、アポトーシス媒介疾患、炎症疾患、自己免疫性疾患、破壊性骨障害、増殖性障害、感染性疾患、変性疾患、細胞死に関連した疾患、過剰な食用アルコール摂取疾患、ウイルス媒介疾患、炎症性腹膜炎、糸球体腎炎、糖尿病、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性好中球減少症、血小板減少症、慢性活性肝炎、瘢痕、移植片対宿主病、臓器移植拒絶、骨粗鬆症、白血病および関連障害、脊髄形成異常症候群、転移性メラノーマ、出血症性ショック、敗血症、敗血症性ショック、火傷、外傷、全身性炎症応答症候群、多臓器不全症候群、志賀赤痢、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン舞踏症、ケネディ病、プリオン病、脳虚血、癲癇、心筋虚血、急性および慢性心臓病、心筋梗塞、うっ血性心不全、アテローム性動脈硬化症、冠状動脈バイパス移植、脊髄筋萎縮症、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、H I V 関連脳炎、老化、脱毛症、脳卒中による神経障害、外傷性脳傷害、脊髄傷害、B 型肝炎、C 型肝炎、G 型肝炎、種々の形態の肝臓病、腎臓病、腎多嚢胞病、H . p y l o r i 菌関連胃潰瘍および十二指腸潰瘍、H I V 感染、結核または髄膜炎である、請求項 1 2 に記載の方法。 40

【請求項 1 4】

被験体におけるカスパーゼ媒介機能を阻止する方法であって、該被験体に、請求項 1 ~ 1 50

0のいずれか1項に記載の化合物もしくはその薬学的に受容可能な誘導体または請求項11に記載の薬学的組成物を投与する工程を包含する、方法。

【請求項15】

被験体におけるTNF- α レベルまたは活性を低下させる方法であって、該被験体に、請求項1～10のいずれか1項に記載の化合物もしくはその薬学的に受容可能な誘導体または請求項11に記載の薬学的組成物を投与する工程を包含する、方法。

【請求項16】

被験体におけるIGIF- β またはTNF- α の産生を減らす方法であって、該被験体に、請求項1～10のいずれか1項に記載の化合物もしくはその薬学的に受容可能な誘導体または請求項11に記載の薬学的組成物を投与する工程を包含する、方法。

10

【請求項17】

冠状動脈バイパス移植に付随した合併症を治療する方法であって、被験体に、請求項1～10のいずれか1項に記載の化合物もしくはその薬学的に受容可能な誘導体または請求項11に記載の薬学的組成物を投与する工程を包含する、方法。

【請求項18】

細胞を保存する方法であって、請求項1～10のいずれか1項に記載の化合物もしくはその薬学的に受容可能な誘導体の溶液に、該細胞を浸す工程を包含する、方法。

【請求項19】

前記化合物またはその薬学的に受容可能な誘導体が、臓器移植または血液産物を保存するのに使用される、請求項18に記載の方法。

20

【請求項20】

癌を治療する方法であって、請求項1～10のいずれか1項に記載の化合物またはその薬学的に受容可能な誘導体または請求項11に記載の薬学的組成物を投与する工程を包含し、ここで、該化合物または組成物は、免疫療法の1成分として使用される、方法。

【請求項21】

前記化合物、誘導体または組成物が、追加治療薬と共に投与される、請求項12～19のいずれか1項に記載の方法。

【請求項22】

前記追加治療薬が、血小板溶解薬、抗炎症薬、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、リポキシゲナーゼ阻害剤、サイトカインアンタゴニスト、免疫抑制薬、抗癌薬、抗ウイルス薬、サイトカイン、成長因子、免疫調節薬、プロスタグランジンおよび抗血管過剰増殖化合物からなる群から選択される、請求項21に記載の方法。

30

【請求項23】

被験体におけるTNF媒介状態を抑制する方法であって、該被験体に、請求項1～10のいずれか1項に記載の化合物もしくはその薬学的に受容可能な誘導体または請求項11に記載の薬学的組成物を投与する工程を包含する、方法。

【請求項24】

前記TNF媒介状態が、再狭窄、中枢神経系の炎症疾患、神経系の脱髄疾患、多発性硬化症、敗血症性関節炎、動脈瘤性大動脈疾患、外傷性関節傷害、歯周病、黄斑変性症、糖尿病性網膜炎、眼球炎症、円錐角膜、シェーグレン症候群、角膜移植片拒絶、悪液質および拒食症からなる群から選択される、請求項23に記載の方法。

40

【請求項25】

細胞培養物におけるTNF- α のレベルを低下させる化合物を同定する方法であって、該細胞培養物に、請求項1～10のいずれか1項に記載の化合物もしくはその薬学的に受容可能な誘導体または請求項11に記載の薬学的組成物を投与する工程、および存在しているTNF- α の量を、該化合物で処理していない細胞培養物中に存在しているTNF- α の量と比較する工程を包含する、方法。

【請求項26】

細胞培養物におけるTNF- α の活性を低下させる化合物を同定する方法であって、該細胞培養物に、請求項1～10のいずれか1項に記載の化合物もしくはその薬学的に受容可

50

能な誘導体または請求項 11 に記載の薬学的組成物を投与する工程、および存在している TNF- α の量を、該化合物で処理していない細胞培養物中に存在している TNF- α の量と比較する工程を包含する、方法。

【請求項 27】

細胞培養物における TNF- α のレベルまたは活性を低下させる方法であって、該細胞培養物に、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の化合物もしくはその薬学的に受容可能な誘導体または請求項 11 に記載の薬学的組成物を投与する工程を包含する、方法。

【請求項 28】

カスパーゼ阻害剤と、TNF- α のレベルまたは活性を測定する器具とを含む、キット。

【請求項 29】

被験体における TNF- α のレベルを低下させる化合物を同定する方法であって、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の化合物もしくはその薬学的に受容可能な誘導体または該化合物を含有する薬学的組成物を投与する工程、および該化合物での治療前後の被験体に存在している TNF- α のレベルを比較する工程を包含する、方法。

10

【請求項 30】

被験体における TNF- α の活性を低下させる化合物を同定する方法であって、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の化合物もしくはその薬学的に受容可能な誘導体または該化合物を含有する薬学的組成物を投与する工程、および該化合物での治療前後の被験体に存在している TNF- α の活性を比較する工程を包含する、方法。

【発明の詳細な説明】

20

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、医薬品化学の分野であり、新規化合物およびそれらの薬学的組成物に関し、これらは、細胞アポトーシスおよび炎症を媒介するカスパーゼおよび/または TNF- α を阻害し、また、哺乳動物における過剰量の TNF- α の病態生理学的な効果を阻害する。本発明はまた、カスパーゼおよび/または TNF- α の活性が関係している疾患を治療するために本発明の化合物および薬学的組成物を調製するためのプロセスおよび使用方法に関する。

【背景技術】

30

【0002】

(発明の背景)

アポトーシス、すなわち、プログラム化された死は、生物が不要な細胞を排除する主な機構である。アポトーシスの調節解除(過剰なアポトーシスまたはそれを受けないこと)のいずれか)は、多数の疾患(例えば、癌、急性炎症疾患および自己免疫疾患、虚血疾患およびある種の神経変性疾患)に関係している(一般に、*Science*, 1998, 281, 1283~1312; および Ellisら、*Ann. Rev. Cell. Biol.*, 1991, 7, 663を参照)。

【0003】

カスパーゼは、アポトーシスおよび細胞分解の情報伝達経路における重要な媒介物である一群のシステインプロテアーゼ酵素である(Thornberry, *Chem. Biol.*, 1998, 5, R97-R103)。これらの情報伝達経路は、細胞型および刺激に依存して変わるが、全てのアポトーシス経路は、重要なタンパク質のタンパク質分解を引き起こす共通エフェクター経路に集中すると思われる。カスパーゼは、この情報伝達経路のエフェクター段階およびその開始におけるさらに上流の両方に関与している。開始事象に関与している上流カスパーゼは、活性化し、順に、アポトーシスの後の段階で関与している他のカスパーゼを活性化する。

40

【0004】

カスパーゼ-1は、最初に同定されたカスパーゼであるが、また、インターロイキン変換酵素または「ICE」として知られている。カスパーゼ-1は、Asp-116とAla

50

- 117との間でのpIL-の特異的開裂により、前駆体であるインターロイキン-1 (「pIL-1」)を炎症誘発性活性形態に変換する。カスパーゼ-1以外に、また、11種の他の公知のヒトカスパーゼがあり、これらの全ては、アスパルチル残基において、特異的に開裂する。それらはまた、その開裂部位のN-末端側にある少なくとも4個のアミノ酸残基に対して、厳しい要件を有することが観察されている。

【0005】

これらのカスパーゼは、好ましいかまたは最初に認識されたアミノ酸配列に依存して、3つの群に分類されている。カスパーゼ1、4および5を含むカスパーゼの群は、その開裂部位のN-末端側にある4位置の疎水性芳香族アミノ酸を好むことが示されている。カスパーゼ2、3および7を含む別の群は、その開裂部位のN-末端側にある1位置および4位置の両方のアスパルチル残基を認識し、そして好ましくは、Asp-Glu-X-Aspの配列を認識する。カスパーゼ6、8、9および10を含む第三の群は、第一認識配列にある多くのアミノ酸に耐性であるが、分枝脂肪族側鎖を備えた残基(例えば、4位置にあるバリンおよびロイシン)を好むように見える。

10

【0006】

これらのカスパーゼはまた、それらの認知された機能に従って、分類されている。第一の亜群は、カスパーゼ-1(ICE)、4および5からなる。これらのカスパーゼは、炎症誘発性サイトカインプロセッシングに参与していることが示されており、従って、炎症において重要な役割を果たす。カスパーゼ-1は、この種の最も研究された酵素であるが、タンパク質分解性の開裂により、IL-1前駆体を活性化する。この酵素は、従って、炎症応答において重要な役割を果たす。カスパーゼ-1はまた、インターフェロンガンマ誘発因子(IGIFまたはIL-18)(これは、インターフェロンガンマの産生を刺激し、抗原提示、T細胞活性化および細胞接着を変調させる重要な免疫調節因子である)のプロセッシングに参与している。

20

【0007】

残りのカスパーゼは、第二および第三の亜群を構成する。これらの酵素は、アポトーシスを引き起こす細胞内情報伝達経路において、非常に重要な酵素である。1つの亜群は、アポトーシス経路での開始事象(これは、原形質膜からの情報伝達を含む)に参与している酵素からなる。この亜群の構成要素には、カスパーゼ-2、8、9および10が挙げられる。他の亜群は、エフェクターカスパーゼ3、6および7からなるが、アポトーシスによる細胞の組織的な崩壊および死を引き起こす最終下流開裂事象に参与している。上流情報伝達に参与しているカスパーゼは、下流カスパーゼを活性化し、これは、次いで、DNA修復機構を無能にし、DNAを断片化し、細胞骨格を解体し、最後には、その細胞を崩壊する。

30

【0008】

カスパーゼで主に認識された4個のアミノ酸配列の知見は、カスパーゼ阻害剤を設計するのに使用されている。構造 $\text{CH}_3\text{CO}-[\text{P}4]-[\text{P}3]-[\text{P}2]-\text{CH}(\text{R})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ を有する可逆性テトラペプチド阻害物が調製され、ここで、P2~P4は、最適なアミノ酸認識配列を表わし、そしてRは、カスパーゼシステインスルフヒドリルに結合できるアルデヒド、ニトリルまたはケトンである。Rano and Thornberry, Chem. Biol. 4, 149~155 (1997); Mjallira, Bioorg. Med. Chem. Lett. 3, 2689~2692 (1993); および Nicholsonら, Nature 376, 37~43 (1995)。Rがアシルオキシメチルケトン(-COCH₂OCOR')である場合、R'は、必要に応じて置換したフェニル(例えば、2,6-ジクロロベンジルオキシ)で代表され、そしてRがCOCH₂Xである場合、Xは、脱離基(例えば、FおよびCl)である、類似のテトラペプチド認識配列をベースにした非可逆性阻害剤が調製されている。Thornberryら, Biochemistry 33, 3934 (1994); および Dollieら, J. Med. Chem. 37, 563~564 (1994)。

40

【0009】

50

細胞性アポトーシスの増大に関連した種々の哺乳動物の疾患状態を治療するカスパーゼ阻害剤の有用性は、ペプチド性カスパーゼ阻害剤を使用して、立証されている。例えば、齧歯類モデルにおいて、カスパーゼ阻害剤は、心筋梗塞後の梗塞の大きさを小さくし心筋細胞のアポトーシスを阻止すること、脳卒中 (stroke) から生じる損傷の容量および神経欠損を少なくすること、外傷性脳傷害における外傷後アポトーシスおよび神経欠損を少なくすること、劇症肝臓破壊を効果的に治療すること、および内毒素ショック後の生存率を高めることが明らかとなっている。Yao ita ら、Circulation, 97, 276 (1998); Endres ら、J Cerebral Blood Flow and Metabolism, 18, 238, (1998); Cheng ら、J. Clin. Invest., 101, 1992 (1998); Yakovlev ら、J Neuroscience, 17, 7415 (1997); Rodriguez ら、J. Exp. Med., 184, 2067 (1996); and Grobmyer ら、Mol. Med., 5, 585 (1999)。

10

【0010】

一般に、上記ペプチド阻害剤は、これらのカスパーゼ酵素のいくつかに対して、非常に強力である。しかしながら、この効力は、アポトーシスの細胞モデルにおいて、常に反映されている訳ではない。それに加えて、ペプチド性阻害剤は、典型的には、望ましくない薬理学的特性 (例えば、乏しい経口吸収、乏しい安定性および急速な代謝) により、特徴付けられる。Plattner and Norbeck, in Drug Discovery Technologies, Clark and Moos 編、(Ellis Horwood, Chichester, England, 1990)。

20

【0011】

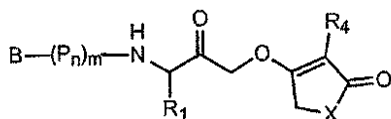
これらのペプチド性カスパーゼ阻害剤、ペプチドミメティック阻害剤および非天然アミノ酸ペプチド阻害剤の薬理学的特性を改善する必要性が認識されていると報告されている。

【0012】

WO96/40647 は、次式の ICE 阻害剤を開示しており：

【0013】

【化2】



30

ここで、B は、H または N - 末端ブロッキング基であり；R₁ は、その P₁ アミノ酸残基のアミノ酸側鎖であり、ここで、この P₁ アミノ酸は、Asp であり；P_n は、アミノ酸残基またはアミノ酸複素環置換であり、ここで、この複素環は、本明細書中で定義されており；R₄ は、ヒドロキシル、アルコキシル、アシル、水素、アルキルまたはフェニルであり；m は、0 または正の整数であり；そして X は、N、S、O または CH₂ である。

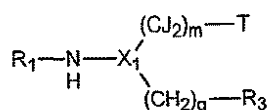
【0014】

WO97/22619 は、次式のインターロイキン - 1 変換酵素の阻害剤を開示しており：

40

【0015】

【化3】



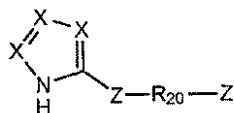
ここで、X₁ は、-CH であり；g は、0 または 1 であり；各 J は、独立して、-H、-OH および -F からなる群から選択されるが、但し、第一および第二の J が C に結合され、そしてこの第一の J が -OH であるとき、この第二の J は、-H であり；m は、0、1

50

または2であり；Tは、特に、 $-CO_2H$ であり； R_1 は、

【0016】

【化4】

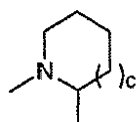


であり、ここで、各Zは、独立して、COまたは SO_2 であり； R_3 は、本明細書中で定義されるとおりであり；各Xは、独立して、 $=N-$ および $=CH-$ からなる群から選択され；そして R_{20} は、以下：

10

【0017】

【化5】



を含む群から選択される。

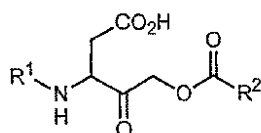
【0018】

WO98/16502は、次式のインターロイキン-1変換酵素のアスパラギン酸エステル阻害剤を開示しており；

20

【0019】

【化6】



ここで、 R^1 は、特に、 $R^5N(R^a)CHR^6CO$ であり； R^2 は、特定の基であり； R^6 は、H、 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_n$ アリール、 $-(CH_2)_nCO_2R^a$ 、ヒドロキシ置換 C_{1-6} アルキルまたはイミダゾール置換 C_{1-6} アルキルであり；各 R^a は、独立して、水素、 C_{1-6} アルキルまたは $(CH_2)_n$ アリールであり；そして R^5 は、特に、 $CONR^aR^a$ である。

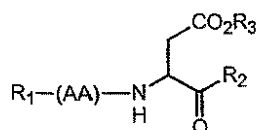
30

【0020】

WO99/18781は、次式を有するジペプチドアポトーシス阻害剤を開示しており；

【0021】

【化7】



40

ここで、 R_1 は、N-末端保護基であり；AAは、任意の天然-アミノ酸または-アミノ酸の残基であり； R_2 は、Hまたは CH_2R_4 であり、ここで、 R_4 は、電気陰性LG（例えば、F、Cl、 $TsO-$ 、 $MeO-$ 、 $ArO-$ 、 $ArCOO-$ 、 $ArN-$ および $ArS-$ ）であり；そして R_3 は、アルキルまたはHである。

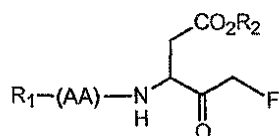
【0022】

WO99/047154は、次式を有するジペプチドアポトーシス阻害剤を開示しており；

【0023】

【化8】

50



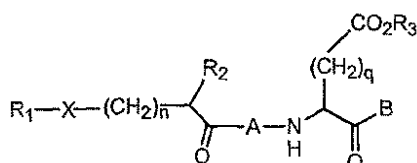
ここで、 R_1 は、N - 末端保護基であり；AA は、任意の非天然アミノ酸またはアミノ酸残基であり；そして R_2 は、本明細書中で定義されるように、必要に応じて置換したアルキルまたはHである。

【0024】

WO00/023421は、次式を有する（置換）アシルジペプチドアポトーシス阻害剤を開示しており；

【0025】

【化9】



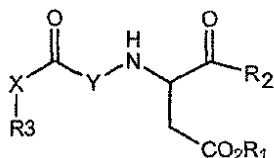
ここで、 n は、0、1または2であり； q は、1または2であり；A は、任意の天然または非天然アミノ酸であり；B は、水素原子、重水素原子、 C_{1-10} 直鎖または分枝アルキル、シクロアルキル、フェニル、置換フェニル、ナフチル、置換ナフチル、2 - ベンゾキサゾリル、置換2 - オキサゾリル、 $(CH_2)_m$ シクロアルキル、 $(CH_2)_m$ フェニル、 $(CH_2)_m$ （置換フェニル）、 $(CH_2)_m$ （1 - または2 - ナフチル）、 $(CH_2)_m$ ヘテロアリール、ハロメチル、 CO_2R_{13} 、 $CONR_{14}R_{15}$ 、 CH_2ZR_{16} 、 CH_2OCO アリール、 CH_2OCO （置換アリール）、 CH_2OCO （ヘテロアリール）、 CH_2OCO （置換ヘテロアリール）または $CH_2OPO(R_{17})R_{18}$ であり、ここで、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 、 R_{16} 、 R_{17} 、 R_{18} および m は、本明細書中で定義されるとおりであり； R_2 は、水素、アルキル、シクロアルキル、フェニル、置換フェニルおよび $(CH_2)_mNH_2$ からなる群から選択され； R_3 は、水素、アルキル、シクロアルキル、（シクロアルキル）アルキル、フェニルアルキルまたは置換フェニルアルキルであり；X は、 CH_2 、 $C=O$ 、O、S、NH、 $C(=O)NH$ または CH_2OCNH であり；そしてZ は、酸素原子またはイオウ原子である。

【0026】

WO00/061542は、次式を有するジペプチドアポトーシス阻害剤を開示しており；

【0027】

【化10】



ここで、 R_1 は、必要に応じて置換されたアルキルまたは水素基であり； R_2 は、水素または必要に応じて置換したアルキルであり；Y は、天然または非天然アミノ酸の残基であり； R_3 は、アルキル基、飽和炭素環式基、部分飽和炭素環式基、アリール基、飽和複素環式基、部分飽和複素環式基またはヘテロアリール基であり、ここで、上記の基は、必要に応じて、置換されており；そしてX は、O、S、 NR_4 または $(CR_4R_5)_n$ であり、ここで、 R_4 および R_5 は、各出現例において、独立して、水素、アルキルおよびシクロアルキルからなる群から選択され、そして n は、0、1、2または3であり；あるいはX は、 NR_4 であり、そして R_3 および R_4 は、それらが結合する窒素原子と一緒になっ

10

20

30

40

50

て、飽和複素環式基、部分飽和複素環式基またはヘテロアリアル基を形成し、ここで、上記の基は、必要に応じて、置換されているか；あるいはXは、 CR_4R_5 であり、 R_3 および R_4 は、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、飽和炭素環式基、部分飽和炭素環式基、アリアル基、飽和複素環式基、部分飽和複素環式基または酸素含有ヘテロアリアル基を形成し、ここで、上記の基は、必要に応じて、置換されているが；但し、XがOのとき、 R_3 は、非置換ベンジルでもt-ブチルでもなく；また、Xが CH_2 のとき、 R_3 は、Hではない。

【0028】

一般に、腫瘍壊死因子(TNF)との用語は、腫瘍壊死因子- (TNF、カケクチン) および腫瘍壊死因子- (リンホトキシン、TNF-) として知られている2種の密接に関連したサイトカイン(これらは、別々の遺伝子でコードされる)を意味する。両方のサイトカインは、同じ細胞膜レセプタと相互作用し、両方共、ヒトの疾病の病原性媒介物として、関係している。

10

【0029】

TNF- は、細胞のアポトーシスおよび炎症を調節するシグナル伝達経路に関与している。TNF- はまた、TNFSF2、TNFAおよびDIFとして、知られている。TNF- は、それが特定の細胞レセプタと相互作用することによって、細胞効果を誘発できる炎症誘発性の哺乳動物タンパク質である。それは、主に、活性化した単球およびマクロファージにより、産生される。グラム陰性最近の細胞壁由来のリポ多糖(LPS；これはまた、エンドトキシンとも呼ばれている)は、TNF- 合成の強力な刺激因子である。

20

【0030】

TNF- の過剰な産生または制御されていない産生から生じ得る悪影響が原因で、TNF- の血清レベルを調節する相当な努力が行われている。多数の疾患の病状は、TNF- の影響を受け、これには、再狭窄、中枢神経系の炎症疾患、神経系の脱髄疾患、多発性硬化症、敗血症性関節炎、動脈瘤性大動脈疾患、外傷性関節傷害、歯周病、黄斑変性症、糖尿病性網膜炎、眼球炎症、円錐角膜、シェーグレン症候群、角膜移植片拒絶、悪液質および拒食症が挙げられる。

【0031】

多数のカスパーゼおよびTNF- 阻害剤が報告されているものの、それらが治療上有用な適当な薬理学的特性を持っているかどうかは明らかではない。従って、引き続いて、インビボでアポトーシスを効果的に阻止する強力で安定で良好な膜貫入性を有する小分子カスパーゼおよびTNF- 阻害剤が必要とされている。このような化合物は、カスパーゼ酵素および/またはTNF- サイトカインが一定の役割を果たしている前記疾患状態を治療するのに、非常に有用である。

30

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0032】

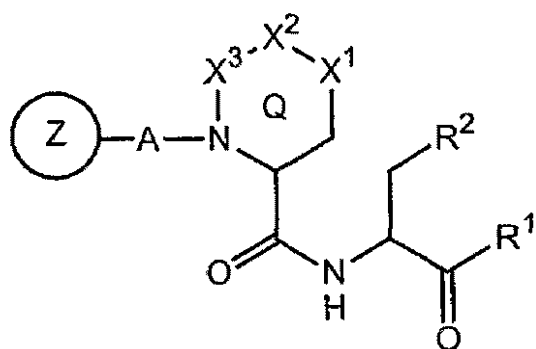
(発明の要旨)

本発明の化合物およびそれらの薬学的組成物は、カスパーゼの阻害剤として、TNF- のレベルまたは活性の調節因子として、および細胞アポトーシスおよび炎症応答の阻害剤として、特に有効である。これらの化合物は、一般式Iを有する：

40

【0033】

【化11】



I

10

ここで、

R^1 は、水素、CN、 CHN_2 、Rまたは $-CH_2Y$ であり；

Rは、脂肪族基、置換脂肪族基、アリール基、置換アリール基、アラルキル基、置換アラルキル基、非芳香族複素環式基または置換非芳香族複素環式基であり；

Yは、電気陰性脱離基、 $-OR$ 、 $-SR$ 、 $-OC=O(R)$ または $-OPO(R^3)(R^4)$ であり；

R^3 および R^4 は、独立して、RまたはORであり；

R^2 は、 CO_2H 、 CH_2CO_2H 、または必要に応じて置換したエステル、アミドまたはそれらのアイソスターであり；

Aは、 $C=O$ または SO_2 であり；

X^1 は、酸素、イオウ、 $-NH$ または $-CH_2$ であり、ここで、 $-NH$ は、必要に応じて、アルキル基、シクロアルキル基、(シクロアルキル)アルキル基、アミノ酸N-末端保護基またはCORで置換されており、そして $-CH_2$ は、必要に応じて、フッ素、アルキル基、シクロアルキル基、(シクロアルキル)アルキル基、アラルキル基、アリール基、アルキルオキシ基、アルキルチオキシ基、アリールオキシ基、アリールチオキシ基、オキソ基(すなわち、 $=O$)または $NHCOR$ 基で置換され；

X^2 は、酸素、イオウ、 $-NH$ または $-CH_2$ であり、ここで、 $-NH$ は、必要に応じて、アルキル基またはアミノ酸N-末端保護基で置換されており、そして $-CH_2$ は、必要に応じて、アルキル基、アリール基、アルキルオキシ基、アルキルチオキシ基、アリールオキシ基、アリールチオキシ基、オキソ基(すなわち、 $=O$)または $NHCOR$ 基で置換され； X^1 および X^2 は、必要に応じて、隣接環Qと縮合されたフェニル環の一部をなし；

X^3 は、 CH_2 であるか、または X^2 および X^3 は、必要に応じて、隣接環Qに縮合したフェニル環の一部をなすが、但し、 X^2 が X^3 と環を形成するとき、 X^2 は、 X^1 と環を形成せず；

環Qの隣接位置に結合された任意の2個の水素は、必要に応じて、二重結合で置き換えられ；そして

Zは、必要に応じて、炭素環式、アリール、飽和複素環、部分飽和複素環およびヘテロアリールからなる群から選択される置換した環であり、ここで、該環は、環炭素にあるAに結合されている。

【0034】

本発明の化合物は、カスパーゼおよびTNF活性の強力な阻害剤である。それらは、アポトーシスおよび炎症の細胞モデルにおいて、良好な効能を備えた一定範囲のカスパーゼ標的にわたる阻害活性を有する。それに加えて、これらの化合物は、細胞浸透特性および薬物動態特性が改良されると予想され、また、それらの効力の結果として、カスパーゼおよび/またはTNF- α が関係している疾患に対する効能が改良されると予想されている。

【0035】

50

本発明はまた、本発明の化合物および組成物を使用して、種々の細胞からのTNF- α の放出を阻害するかTNF- α のレベルまたは活性を低下させる方法に関する。本発明はまた、TNF- α のレベルまたは活性を低下させるのに有用な薬剤を同定する方法およびTNF媒介疾患を治療する方法に関する。本発明は、さらに、本発明の化合物または組成物と、TNF- α のレベルまたは活性を測定する器具とを含むキットに関する。

【0036】

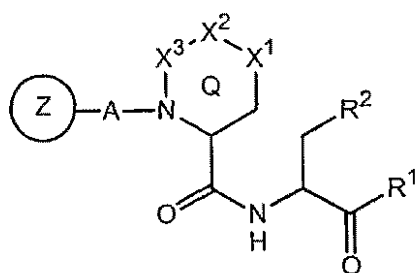
(発明の詳細な説明)

本発明は、カスパーゼ阻害剤および/またはTNF- α のレベルまたは活性の調節因子として特に有効な新規化合物およびそれらの薬学的に受容可能な誘導体を提供する。本発明はまた、これらの化合物を使用して哺乳動物におけるカスパーゼおよび/またはTNF- α 媒介疾患を治療する方法を提供する。これらの化合物は、一般式Iを有する：

10

【0037】

【化12】



I

20

ここで、

R^1 は、水素、CN、 CHN_2 、Rまたは $-CH_2Y$ であり；

Rは、脂肪族基、置換脂肪族基、アリール基、置換アリール基、アラルキル基、置換アラルキル基、非芳香族複素環式基または置換非芳香族複素環式基であり；

Yは、電気陰性脱離基、 $-OR$ 、 $-SR$ 、 $-OC=O(R)$ または $-OPO(R^3)(R^4)$ であり；

30

R^3 および R^4 は、独立して、RまたはORであり；

R^2 は、 CO_2H 、 CH_2CO_2H 、または必要に応じて置換したエステル、アミドまたはそれらのアイソスターであり；

Aは、 $C=O$ または SO_2 であり；

X^1 は、酸素、イオウ、 $-NH$ または $-CH_2$ であり、ここで、 $-NH$ は、必要に応じて、アルキル基、シクロアルキル基、(シクロアルキル)アルキル基、アミノ酸N-末端保護基またはCORで置換されており、そして $-CH_2$ は、必要に応じて、フッ素、アルキル基、シクロアルキル基、(シクロアルキル)アルキル基、アラルキル基、アリール基、アルキルオキシ基、アルキルチオキシ基、アリールオキシ基、アリールチオキシ基、オキソ基(すなわち、 $=O$)または $NHCOR$ 基で置換され；

40

X^2 は、酸素、イオウ、 $-NH$ または $-CH_2$ であり、ここで、 $-NH$ は、必要に応じて、アルキル基またはアミノ酸N-末端保護基で置換されており、そして $-CH_2$ は、必要に応じて、アルキル基、アリール基、アルキルオキシ基、アルキルチオキシ基、アリールオキシ基、アリールチオキシ基、オキソ基(すなわち、 $=O$)または $NHCOR$ 基で置換され； X^1 および X^2 は、必要に応じて、隣接環Qと縮合されたフェニル環の一部をなし；

X^3 は、 CH_2 であるか、または X^2 および X^3 は、必要に応じて、隣接環Qに縮合したフェニル環の一部をなすが、但し、 X^2 が X^3 と環を形成するとき、 X^2 は、 X^1 と環を形成せず；

環Qの隣接位置に結合された任意の2個の水素は、必要に応じて、二重結合で置き換えら

50

れ；そして

Zは、必要に応じて、炭素環式、アリアル、飽和複素環、部分飽和複素環およびヘテロアリアルからなる群から選択される置換した環であり、ここで、該環は、環炭素にあるAに結合されている。

【0038】

他に指示されていなければ、本明細書中で使用する以下の定義が適用される。「状態」または「病態」との用語は、被験体において有害な生物学的結果を生じる任意の疾患、障害または効果を意味する。

【0039】

本発明によれば、「TNF」または「TNF」とは、TNF-を意味する。

10

【0040】

「被験体」との用語は、動物、または動物から誘導した1個以上の細胞を意味する。好ましくは、この動物は、哺乳動物であり、最も好ましくは、ヒトである。これらの細胞は、任意の形態であり得、これには、組織に保持された細胞、細胞クラスター、不死化細胞、トランスフェクトまたは形質転換した細胞、および身体的または表現型的に変化した動物由来の細胞が挙げられるが、これらに限定されない。

【0041】

「インターフェロン誘発因子」または「IGIF」との用語は、IFN-の内生産を刺激できる因子を意味する。

【0042】

「脂肪族」との用語は、直鎖、分枝または環状の $C_1 \sim C_{12}$ 炭化水素を意味し、これらは、完全に飽和されているか、または1個以上の不飽和単位を含有する。例えば、適当な脂肪族基には、置換または非置換で直鎖、分枝または環状のアルキル基、アルケニル基またはアルキニル基およびそれらのハイブリッド（例えば、（シクロアルキル）アルキル、（シクロアルケニル）アルキルおよび（シクロアルキル）アルケニル）が挙げられる。「アルキル」との用語は、単独で使用されるか、基またはそれより大きい部分の一部として使用されるが、1～12個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖の両方を意味する。

20

【0043】

「ハロゲン」との用語は、F、Cl、BrまたはIを意味する。「ヘテロ原子」との用語は、窒素、酸素またはイオウを意味し、そして窒素およびイオウの任意の酸化形態（例えば、 $N(O)$ 、 $S(O)$ および $S(O)_2$ 、および窒素四級化形態）を含む。本発明の化合物は、天然に存在しているか化学的に安定なものに限られることが理解できるはずである。

30

【0044】

置換基または可変基(variable)の組合せは、このような組合せが安定な化合物または化学的に実現可能な化合物を生じる場合にのみ、許容できる。安定な化合物または化学的に実現可能な化合物とは、水分も他の化学的に反応性の状態もなしで、少なくとも1週間にわたって、40以下の温度で保ったとき、実質的に変化しないものである。

【0045】

「アリアル」との用語は、単独で使用されるか、基またはそれより大きい部分の一部として使用されるが、単環式または多環式の芳香族炭素環系、および単環式または多環式のヘテロ芳香族環系（これは、1個以上のヘテロ原子を含有する）を意味し、これらは、5～14個の原子を有する。このような基には、フェニル、ナフチル、アントリル、フラニル、チエニル、ピロリル、オキサゾリル、チアゾリル、イミダゾリル、ピラゾリル、イソキサゾリル、イソチアゾリル、オキサジアゾリル、トリアゾリル、チアジアゾリル、ピリジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、トリアジニル、インドリジニル、インドリル、イソインドリル、インドリニル、ベンゾフラニル、ベンゾチオフェニル、インダゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンズチアゾリル、プリニル、キノリジニル、キノリニル、イソキノリニル、シンノリニル、フタラジニル、キナゾリニル、キノキサリニル、1,8-ナフチリジニル、プテリジニル、カルバゾリル、アクリジニル、フェナジニル、フェ

40

50

ノチアジニル、フェノキサジニル、テトラヒドロフラニル、フタルイミジニル、テトラゾリルおよびクロマニルが挙げられるが、これらに限定されない。

【0046】

「アラルキル」との用語は、アリアル基で置換されたアルキルを意味する。「ヘテロアリアル」との用語は、1個以上のヘテロ原子を含有するアリアル基を意味する。「ヘテロアラルキル」との用語は、1個以上のヘテロ原子を含有するアラルキル基を意味する。

【0047】

「複素環式基」または「複素環」との用語は、飽和および不飽和の単環式または多環式の環系であって、1個以上のヘテロ原子を含有し環の大きさが3員～8員であることを意味する。このような基には、アジラニル、オキシラニル、アゼチジニル、テトラヒドロフラニル、ピロリニル、ピロリジニル、ジオキサニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、ピラニル、ピペリジニル、ジオキサニル、モルホリニル、ジチアニル、チオモルホリニル、ピペラジニル、トリチアニル、キヌクリジニル、オキセバニルおよびチエバニルが挙げられるが、これらに限定されない「複素環式環」との用語は、飽和であれ不飽和であれ、また、必要に応じて置換した環を意味する。「ヘテロシクリルアルキル」との用語は、複素環で置換されたアルキル基を意味する。

10

【0048】

「炭素環式基」または「炭素環」との用語は、飽和または不飽和で非芳香族の単環式または多環式の炭素環系を意味し、これらは、アリアル基または複素環式基に縮合できる。例には、シクロヘキシル、シクロペンチル、シクロブチル、シクロプロピル、インダニル、テトラヒドロナフチルなどを挙げることができる。「カルボシクリルアルキル」との用語は、炭素環式基で置換されたアルキルを意味する。

20

【0049】

アリアル基（ヘテロアリアルを含めて）またはアラルキル基（ヘテロアラルキルを含めて）（例えば、ベンジルまたはフェネチル）は、1個以上の置換基を含有できる。アリアル基またはアラルキル基の適当な置換基の例には、ハロゲン、 CF_3 、 $-R^5$ 、 $-OR^5$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-SR^5$ 、保護したOH（例えば、アシルオキシ）、およびWuts and Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3版, John Wiley & Sons, 1999)で記述されたもの、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^5$ 、 $-N(R^5)_2$ 、 $-NHCOR^5$ 、 $-NHCONHR^5$ 、 $-NHCON(R^5)_2$ 、 $-NR^5COR^5$ 、 $-NHCO_2R^5$ 、 $-CO_2R^5$ 、 $-CO_2H$ 、 $-COR^5$ 、 $-CONHR^5$ 、 $-CON(R^5)_2$ 、 $-S(O)_2R^5$ 、 $-SONH_2$ 、 $-S(O)R^5$ 、 $-SO_2NHR^5$ または $-NHS(O)_2R^5$ が挙げられ、ここで、 R^5 は、脂肪族基または置換脂肪族基（これは、好ましくは、1～3個の炭素原子を有する）、またはアリアル基または置換アリアル基であるが、但し、 R^5 が置換アリアル基のとき、該アリアルは、置換アリアルで置換できる。

30

【0050】

脂肪族基または非芳香族複素環は、1個以上の置換基を含有できる。脂肪族基または非芳香族複素環の適切な置換基の例には、アリアル基またはアラルキル基について上で列挙したもの、ならびに以下が挙げられる： $=O$ 、 $=S$ 、 $=NNHR^6$ 、 $=NN(R^6)_2$ 、 $=N-OR^6$ 、 $=NNHCOR^6$ 、 $=NNHCO_2R^6$ 、 $=NNHSO_2R^6$ および $=NR^6$ であって、ここで、 R^6 は、脂肪族基または置換脂肪族基である。

40

【0051】

芳香族または非芳香族の複素環上の置換可能な窒素は、必要に応じて、置換できる。この窒素上の適切な置換基には、 R^6 、 COR^6 、 $S(O)_2R^6$ および CO_2R^6 が挙げられる。

【0052】

「電気陰性脱離基」との用語は、当業者に公知の定義を有する(March, *Advanced Organic Chemistry*, 4版, John Wiley & Sons, 1992)。電気陰性脱離基の例には、ハロゲン（例えば、F、Cl、Brおよび

50

I)、アリアルスルホニルオキシ基およびアルキルスルホニルオキシ基、トリフルオロメタンスルホニルオキシ、 OR^7 、 SR^7 、 $-OC(=O)(R^7)$ 、 $-OPO(R^8)(R^9)$ が挙げられ、ここで、 R^7 は、脂肪族基、アリアル基、アラルキル基、炭素環式基、カルボシクロアルキル基、複素環式基またはヘテロシクリルアルキル基であり、そして R^8 および R^9 は、独立して、 R^7 または OR^7 である。

【0053】

「アミノ酸N-末端保護基」との用語は、当業者に公知の定義を有する。アミノ酸N-末端保護基の例には、Wuts and Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3版、John Wiley & Sons, 1999で記述されてものが挙げられる。

10

【0054】

カルボン酸およびエステルのアイソスターまたはバイオアイソスターは、親カルボン酸またはエステルと類似の生体特性を備えた新規化合物を作製するために、原子または原子群の交換から得られる。このバイオアイソスター置換は、物理化学的または位相幾何学的に基づき得る。カルボン酸に対するアイソスター置換の一例には、 $CONHSO_2J$ があり、ここで、 J は、アルキル基(例えば、メチル、エチル、プロピル、ブチルなど)である。

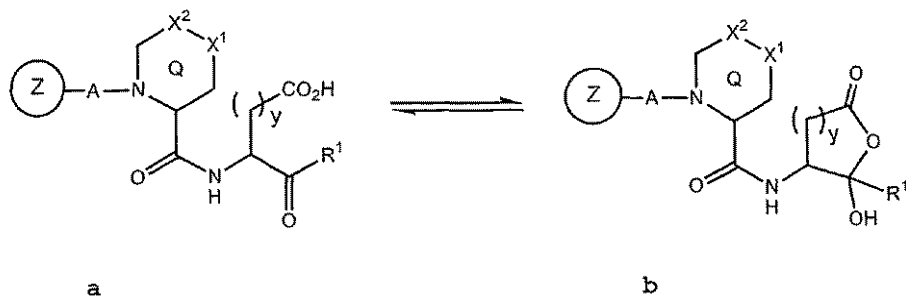
【0055】

本発明の化合物(ここで、 R^2 は、 CO_2H または CH_2CO_2H であり、それぞれ、 α -ケト酸または β -ケト酸である)は、開放形態(a)または環化ヘミケタール形態(b)のいずれかとして、溶液中で存在できる(α -ケタールについて、 $y=1$ であり、 β -ケタールについて、 $y=2$ である)。いずれかの異性体形態の本明細書中の描写は、他のものを含むことを意味する。

20

【0056】

【化13】



30

同様に、本発明の特定の化合物は、互変異性形態または水和形態で存在でき、このような形態の全てが本発明の範囲内であることは、当業者に明らかである。他に述べられていなければ、本明細書中で描写した構造はまた、これらの構造の全ての立体化学形態(すなわち、各不斉中心に対するR形態およびS形態)を含むことを意味する。従って、本発明の化合物の単一立体化学異性体、ならびに鏡像異性体およびジアステレオマーの混合物は、本発明の範囲内である。他に述べない限り、本明細書中に記載される構造はまた、1つ以上の同位体的に濃縮された原子の存在のみ異なる化合物を含むことを意味する。例えば、水素を重水素または三重水素で置換したこと以外または炭素を ^{13}C または ^{14}C に富んだ炭素で置換したこと以外は本発明の構造を有する化合物は、本願の範囲内である。

40

【0057】

好ましい R^1 基は、 CH_2Y であり、ここで、 Y は、電気陰性脱離基、 OR 、 SR または $-OC(=O)(R)$ であり、最も好ましくは、 Y は、 F である。

【0058】

好ましくは、 R^2 は、 CO_2H 、エステル、アミドまたはそれらのアイソスターである。

【0059】

50

X^1 は、好ましくは、 CH_2 である； X^2 は、好ましくは、 CH_2 である；または X^1 および X^2 は、結合して、環 Q に縮合された必要に応じて置換されたフェニル環の一部をなす。より好ましくは、 X^1 および X^2 は、ともに CH_2 である。

【0060】

A は、好ましくは、CO である。

【0061】

Z は、好ましくは、必要に応じて置換したアリールであり、該アリールは、環炭素にある A に結合されている。

【0062】

本発明の化合物の代表的な例は、以下の表 1 で示す。

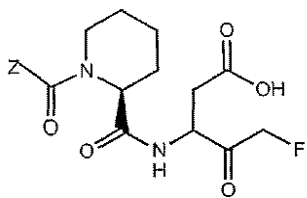
10

【0063】

(表 1 . 代表的な化合物)

【0064】

【表 2】



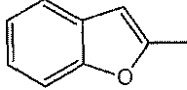
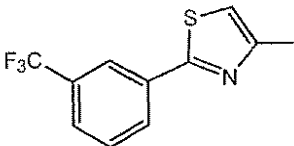
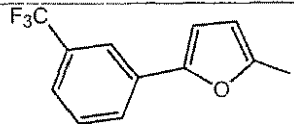
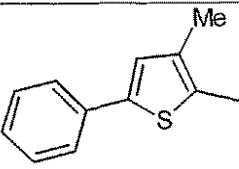
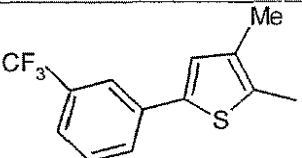
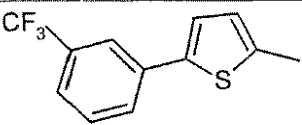
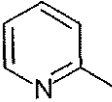
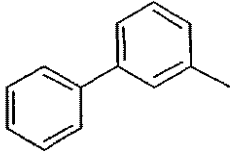
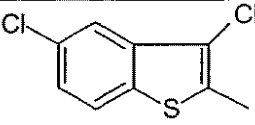
番号	Z
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	

10

20

30

40

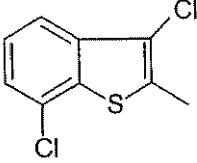
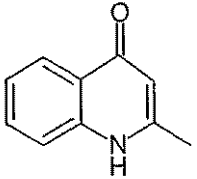
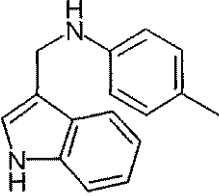
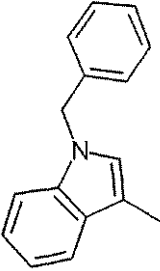
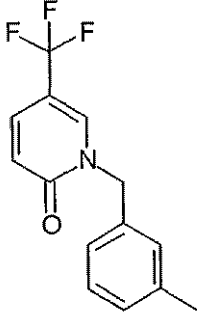
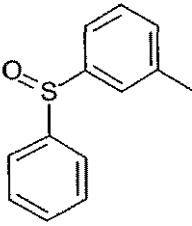
8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	

10

20

30

40

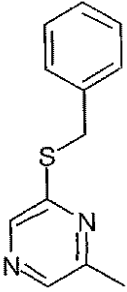
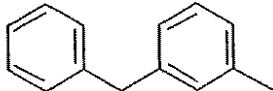
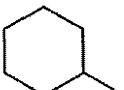
17	
18	
19	
20	
21	
22	

10

20

30

40

23	 <chem>C1=CN=C(SCC2=CC=CC=C2)N1</chem>
24	 <chem>CC1=CC=C(C=C1)CC2=CC=CC=C2</chem>
25	 <chem>CC1CCCCC1</chem>

10

20

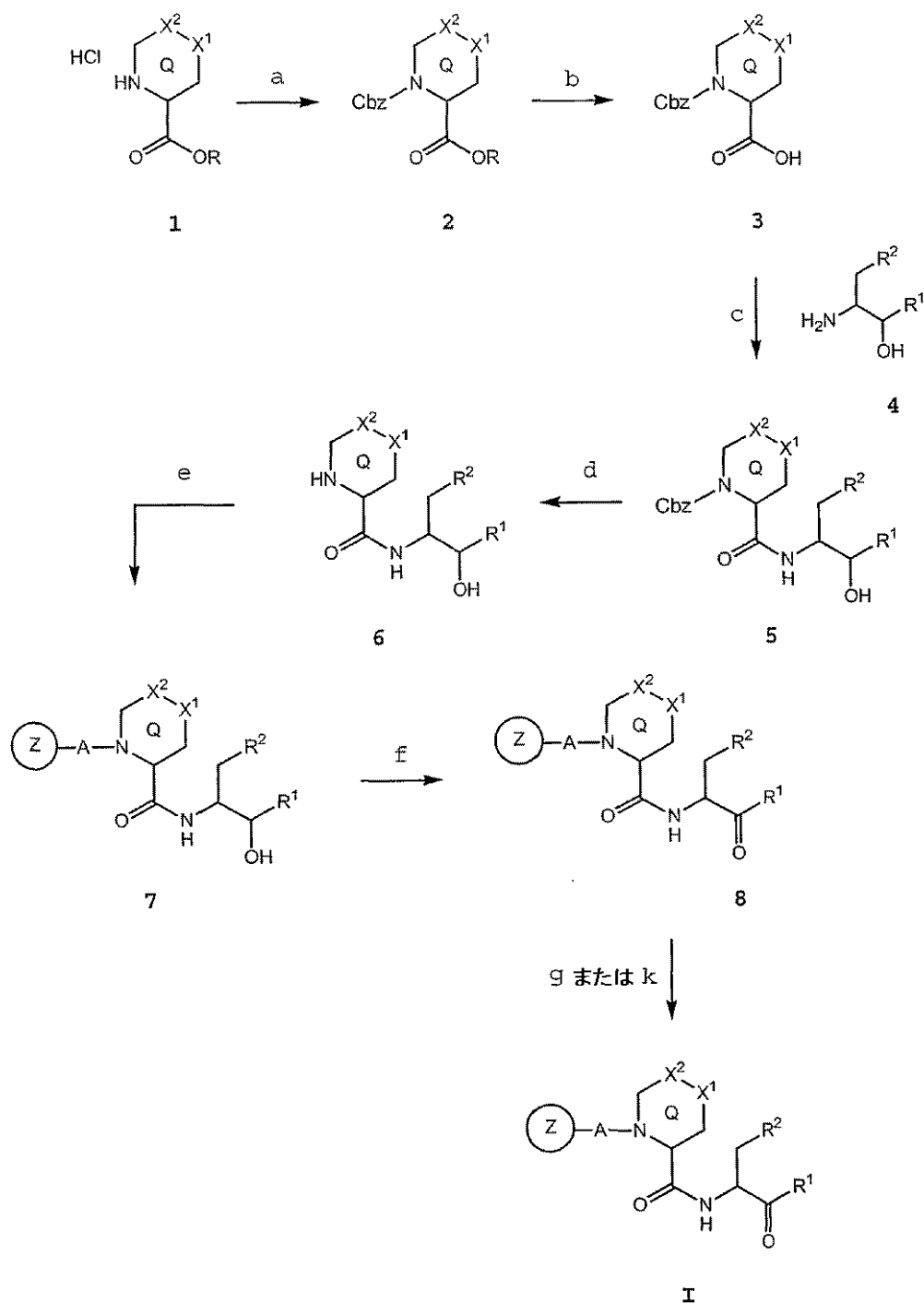
本発明の化合物は、一般に、以下の一般スキーム I および II で図示しているように、類似の化合物について当業者に公知の方法により、また、それに続く調製実施例により、調製できる。

【0065】

(スキーム I)

【0066】

【化14】



10

20

30

40

50

試薬：(a) CbzOSuc / THF / TEA ; (b) LiOH / THF / H₂O ; (c) EDC / DMAP / HOBT ; (d) H₂ / C担持10% Pd / EtOAc ; (e) TBTU / DIPEA / DMF ; (f) Dess - Martinペルヨージナン ; (g) TiCl₄ / DCM ; および (k) TFA / DCM。

【0067】

スキームIは、本発明の化合物を製造する一般的な方法を示す。出発物質であるエステル塩酸塩1は、まず、塩基(例えば、TFA(トリエチルアミン、工程a))の存在下にて、THF(テトラヒドロフラン)中で、公知のアミノ酸N-保護プロトコル(例えば、Cbz-OSuc(ベンジルオキシカルボニル-O-スクシンイミジル))を使用して、保護される。エステル2は、次いで、塩基を使用して、またはそのエステルがt-ブチル基であるとき、トリフルオロ酢酸(TFA)を使用して、加水分解される。酸3は、次いで、例えば、EDC(1-(3-ジメチル-アミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド

塩酸塩)、DMAP(4-ジメチルアミノピリジン)およびHOBt(1-ヒドロキシベンゾトリアゾール)を使用して、アミノアルコール4とカップリングされて、5が得られる。R¹およびR²の性質に依存して、4の代わりにアミノケトンが使用できるが、これにより、次の酸化工程が回避される。R¹がCH₂Fであるフルオロメチルケトンの場合、アミノアルコール4は、Reveszら、Tetrahedron Lett., 1994, 35, 9693の方法に従って、得ることができる。カーバメート5は、次いで、触媒水素化(例えば、EtOAc(酢酸エチル)中にて、C担持Pdと共にH₂)または酸分解を使用して、脱保護される。アミン6は、次いで、DIPEA(ジイソプロピルエチルアミン)の存在下にて、DMF(ジメチルホルムアミド)中で、例えば、工程eで図示した標準方法を使用して、所望のアシル化剤またはスルホン化剤、TBTU(2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムテトラフルオロボレート)でN-置換される。化合物7の水酸基は、次いで、例えば、工程fで図示した標準方法により、酸化される。最後に、化合物8は、DCM(ジクロロメタン)中のTiCl₄またはDCM中のTFAを使用して、R²の性質に従って、適切に処理されて、Iを発生させる。例えば、もし、Iには、R²がカルボン酸である必要があるなら、4中のR²は、好ましくは、エステルであり、このスキームの最終工程は、加水分解である。

10

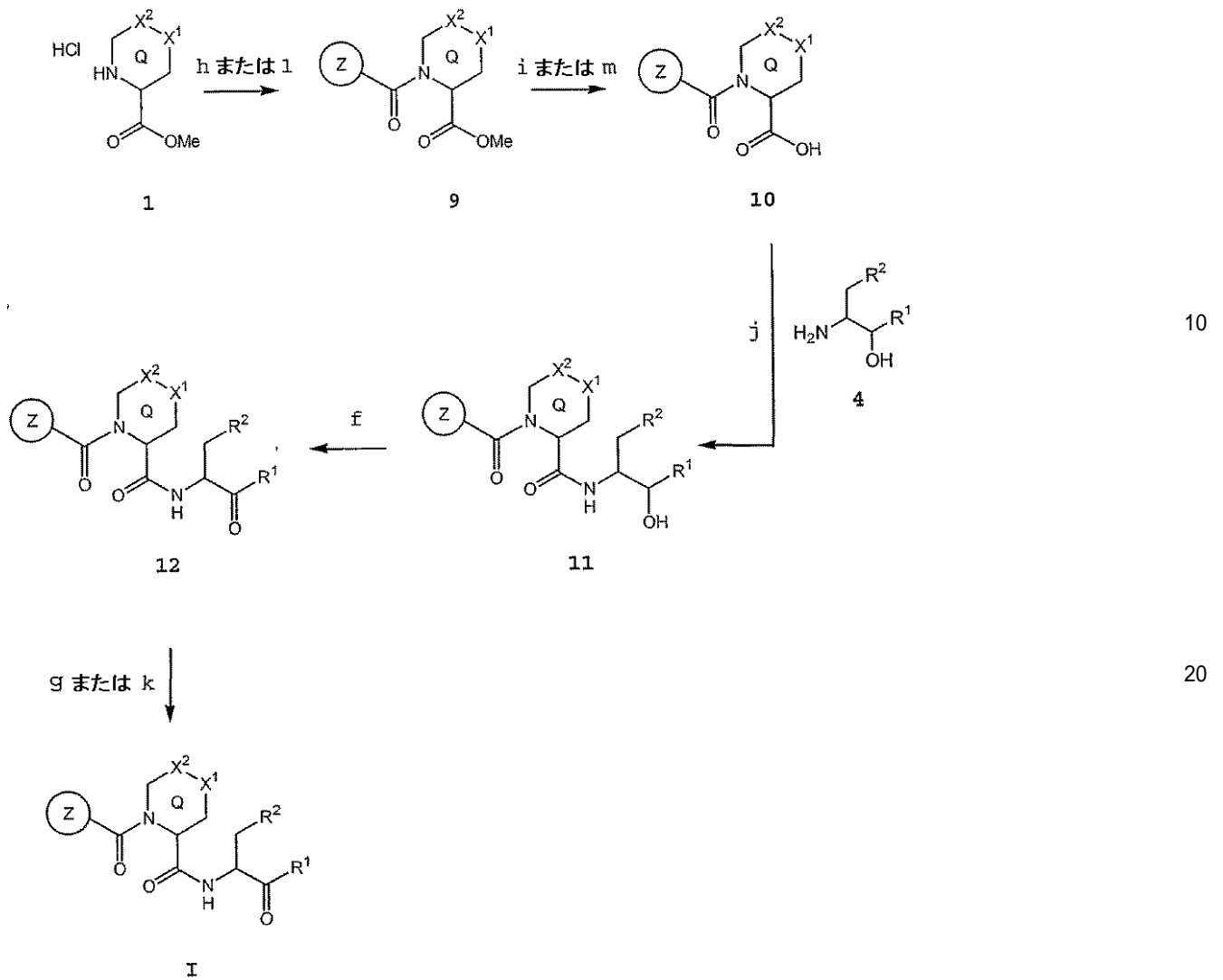
【0068】

(スキームII)

【0069】

【化15】

20



10

20

30

試薬：(h)

【0070】

【化16】

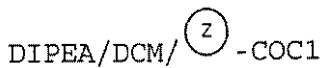


;(l)

【0071】

【化17】

40



;(i) LiOH/THF/H₂O; (m) KOH/MeOH/H₂O; (j) EDC/DMAP/HOBt; (f) Dess-Martinペリヨージナン; (g) TiCl₄/DCM; および (k) TFA/DCM。

【0072】

スキームIIは、本発明の化合物を製造する代替方法を表わす。出発物質であるエステル塩酸塩1は、まず、公知のアミド結合形成反応を使用して、カルボン酸または酸塩化物のいずれかと反応される。アミド9は、次いで、塩基を使用して加水分解される。酸10は

50

、次いで、アミノアルコール4とカップリングされて、11が得られる。R¹およびR²の性質に依存して、4の代わりにアミノケトンが使用できるが、これにより、次の酸化工程が回避される。R¹がCH₂Fであるフルオロメチルケトンの場合、アミノアルコール4は、Reveszら、Tetrahedron Lett., 1994, 35, 9693の方法に従って、得ることができる。化合物11の水酸基は、次いで、例えば、工程fで図示した標準方法により、酸化される。最後に、化合物12は、R²の性質に従って、適切に処理されて、Iを発生させる。例えば、もし、Iには、R²がカルボン酸である必要があるなら、4中のR²は、好ましくは、エステルであり、このスキームの最終工程は、加水分解である。

【0073】

本発明のある種の化合物は、以下のようにして得ることができる。スキームIで使用される親化合物である複素環エステル1またはそれらの酸または誘導体は、市販されているか、または標準方法を使用して調製できるか、いずれかである。例えば、親化合物である複素環エステル1（ここで、X¹⁻²は、それぞれ、CH₂である）は、市販されている（H-ホモプロリン-OMe）。親化合物である複素環エステル1（ここで、X¹は、CH₂である；そしてX²は、酸素である）は、標準方法（Wolfeら、Tetrahedron Lett., 1979, 3913）により、調製できる。親化合物である複素環エステル1（ここで、X¹は、CH₂であり、そしてX²は、イオウである）は、標準方法（Miyazakiら、Bull. Chem. Soc. Jpn., 1993, 66, 536）により、調製できる。親化合物である複素環エステル1（ここで、X²は、CH₂である；そしてX¹は、酸素である）は、標準方法（Kogamiら、Bull. Chem. Soc. Jpn., 1987, 60, 2963；Asherら、Tetrahedron Lett., 1981, 141；およびBrownら、J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1985, 2577）により、調製できる。このFmoc-N-保護アミノ酸はまた、市販されている。親化合物である複素環エステル1（ここで、X²は、CH₂である；そしてX¹は、イオウである）は、標準方法（Kogamiら、Bull. Chem. Soc. Jpn., 1987, 60, 2963；およびSakaiら、Chem. Pharm. Bull., 1981, 29, 1554）により、調製できる。対応している遊離アミノ酸もまた、市販されている。親化合物である複素環エステル1（ここで、X¹⁻²は、CH₂であり、そして種々の置換基を有する）は、標準方法（Shumanら、J. Org. Chem., 1990, 55, 738；Agamiら、Synlett, 1997, 799；およびNazihら、Synlett, 1998, 1337）により、調製できる。

【0074】

本発明の化合物は、特に、カスパーゼ活性を阻害するように、および/またはTNF-のレベルまたは活性を低下させるように、設計されている。これらの化合物は、例えば、アポトーシスを阻止し、IL-1の放出を阻止し、カスパーゼ活性を阻害し、および/またはTNF-のレベルまたは活性を低下させるために、アッセイできる。これらの活性の各々のアッセイは、当該技術分野で公知であり、実施例において、以下で詳細に記述する。従って、これらの化合物は、カスパーゼ（例えば、IL-1）、アポトーシス、IGIF、IFN-およびTNF-が媒介する疾患における事象、および炎症疾患、自己免疫疾患、破壊性骨障害、増殖性障害、感染性疾患および変性疾患における関連タンパク質の最終活性を標的にして阻害できる。

【0075】

本発明の化合物はまた、ICEを阻害することにより、プロ-IGIFが活性で成熟したIGIFに変換するのを阻止する。「インターフェロンガンマ誘発因子」または「IGIF」との用語は、IFN-の内生を刺激できる因子を意味する。

【0076】

ICEは、成熟IGIF（IL-18）の産生に必須であるので、ICEを阻害すると、成熟IGIFの産生を阻害することにより、IGIFが媒介する生理学的効果および症状

10

20

30

40

50

の開始が効果的に阻止される。I G I Fは、次には、I F N - の産生に必須である。I C Eは、従って、成熟I G I Fの産生を阻害してI F N - の産生を阻害することにより、I F N - が媒介する生理学的な効果および症状の開始を効果的に阻止する。

【0077】

本発明の化合物はまた、活性化細胞からのT N F - の放出を阻止する。

【0078】

本発明の薬学的組成物および方法は、従って、インビボでのカスパーゼおよびT N F - の活性を制御するのに有用である。本発明の組成物および方法は、それゆえ、インビボでのカスパーゼ、I L - 1、I G I F、I F N - またはT N F - のレベルを制御するのに有用であり、また、カスパーゼ、I L - 1、アポトーシス、I G I F、I F N - 、またはT N F - が媒介する疾患（疾患、障害または影響を含めて）の進行、重症度または影響を治療または軽減するのに有用である。

10

【0079】

他の実施形態によれば、本発明は、上記のような本発明の化合物またはその薬学的に受容可能な誘導体、および薬学的に受容可能なキャリアを含有する組成物を提供する。

【0080】

他の実施形態によれば、本発明の組成物は、さらに、他の治療剤を含有できる。このような治療剤には、血栓溶解薬（例えば、組織プラスミノゲン活性化剤およびストレプトキナーゼ）、抗炎症剤、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、リボキシゲナーゼ阻害剤、サイトカインアンタゴニスト、免疫抑制剤、抗癌剤、抗ウイルス剤、サイトカイン、成長因子、免疫調整剤（例えば、プロピリミン、抗ヒトアルファインターフェロン抗体、I L - 2、G M - C S F、メチオニンエンケファリン、インターフェロンアルファ、ジエチルジチオカーバメート、腫瘍壊死因子、ナルトレキソンおよびr E P O）、プロスタグランジンまたは抗血管過剰増殖化合物が挙げられるが、それらに限定されない。

20

【0081】

「薬学的に受容可能なキャリア」との用語は、本発明の化合物と共に患者に投与できる非毒性のキャリアであって、その薬理的な活性を損なわないものを意味する。

【0082】

これらの組成物で使用できる薬学的に受容可能なキャリアには、イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、血清タンパク（例えば、ヒト血清アルブミン）、緩衝液基質（例えば、リン酸塩）、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、飽和植物性脂肪酸の部分グリセリド混合物、水、塩または電解質（例えば、硫酸プロタミン）、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩、コロイド状シリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、セルロースベースの基質、ポリエチレングリコール、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ポリアクリレート、ワックス、ポリエチレン - ポリオキシプロピレンブロック共重合体、ポリエチレングリコールおよび羊毛脂が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0083】

「薬学的に受容可能な誘導体」とは、本発明の化合物の任意の薬学的に受容可能な塩、エステル、エステルの塩または他の誘導体であって、レシipientに投与した際、本発明の化合物またはそれらの阻害活性代謝物もしくは残留物を、直接的または間接的のいずれかで提供できるものを意味する。本発明の化合物の塩またはエステルを調製する方法は、当業者に公知である。

40

【0084】

本発明の化合物の薬学的に受容可能な誘導体には、エステル、アミノ酸エステル、リン酸エステル、金属塩およびスルホン酸エステルが挙げられるが、これらに限定されない。

【0085】

活性成分として式Iの化合物だけを含有する薬学的組成物では、これらの組成物を投与する方法はさらに、被験体にさらなる治療剤を投与する工程を包含し得る。このような治療剤には、血栓溶解薬（例えば、組織プラスミノゲン活性化剤およびストレプトキナーゼ

50

)、抗炎症剤、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、リポキシゲナーゼ阻害剤、サイトカインアンタゴニスト、免疫抑制剤、抗癌剤、抗ウイルス剤、サイトカイン、成長因子、免疫調整剤(例えば、プロピリミン、抗ヒトアルファインターフェロン抗体、IL-2、GM-CSF、メチオニンエンケファリン、インターフェロンアルファ、ジエチルジチオカーバメート、腫瘍壊死因子、ナルトレキソンおよびrEPO)、プロスタグランジン、または抗血管過剰増殖化合物が挙げられるが、それらに限定されない。第二の治療剤が使用される場合、第二の治療剤は、別の投薬形態としてか、または本発明の化合物もしくは組成物との単一の投薬形態の一部としてのいずれかで、投与され得る。

【0086】

上記組成物中に存在する化合物の量は、実施例で記述したアッセイのいずれかにより測定される場合、疾患の重症度、カスパーゼ活性および/または細胞アポトーシス、あるいはTNF-活性および/または細胞アポトーシスにおいて、検出可能な減少を引き起こすのに十分であるべきである。

10

【0087】

本発明の化合物は、インビボでのIGIFレベルおよびINF-レベルを制御するため、およびカスパーゼ、IL-1、アポトーシス、IGIF、IFN-、およびTNF-により媒介される疾患を治療するかまたはその影響の進行および重症度を軽減するための従来の様式で使用され得る。このような治療方法、それらの投薬レベルおよび必要条件は、利用可能な方法および技術から、当業者により選択され得る。

【0088】

これらの組成物において、本発明の化合物の薬学的に受容可能な塩が使用される場合、これらの塩は、好ましくは、無機または有機の酸または塩基から誘導される。このような酸塩には、以下が含まれる：酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、亜硫酸塩、酪酸塩、クエン酸塩、ショウノウ酸塩、ショウノウスルホン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプタン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩(hemisulfate)、ヘプタン酸塩、ヘキサ酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、シュウ酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、ピクリン酸塩、ピバリン酸塩、プロピオン酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トシラート、およびウンデカン酸塩。塩基塩には、アンモニウム塩、アルカリ金属塩(例えば、ナトリウム塩およびカリウム塩)、アルカリ土類金属塩(例えば、カルシウム塩およびマグネシウム塩)、有機塩基との塩(例えば、ジシクロヘキシルアミン塩、N-メチル-D-グルカミン)、およびアミノ酸との塩(例えば、アルギニン、リシンなど)が挙げられる。

20

30

【0089】

また、塩基性窒素含有基は、ハロゲン化低級アルキル(例えば、塩化、臭化およびヨウ化メチル、エチル、プロピルおよびブチル);硫酸ジアルキル(例えば、硫酸ジメチル、ジエチル、ジブチルおよびジアミル)、長鎖ハロゲン化物(例えば、塩化、臭化およびヨウ化デシル、ラウリル、ミリスチルおよびステアリル)、ハロゲン化アラキル(例えば、臭化ベンジルおよびフェネチル)などのような試薬で四級化され得る。それにより、水溶性または油溶性または水分散性または油分散性の生成物が得られる。

40

【0090】

本発明の組成物および方法で使用される化合物はまた、選択的な生物学的特性を高めるために、適切な官能基を付加することにより改変され得る。このような改変は、当該技術分野で公知であり、これには、所定の生体系(例えば、血液、リンパ系、中枢神経系)への生物学的浸透性を高める改変、経口適用性を高める改変、注射による投与を可能にするために溶解性を高める改変、代謝を変える改変、および排出速度を変える改変が挙げられる。

【0091】

50

好ましい実施形態によれば、本発明の組成物は、哺乳動物（好ましくは、ヒト）への薬学的投与のために処方される。

【0092】

本発明のこのような薬学的組成物は、経口的に、非経口的に、吸入噴霧により、局所的に、直腸内に、鼻内に、頬内に、腔内に、または移植したレザバを介して、投与され得る。本明細書中で使用する「非経口的」との用語は、皮下、静脈内、筋肉内、関節内、滑液内、胸骨内、鞘内、肝臓内、病巣内および頭蓋内の注射および注入方法を含む。好ましくは、これらの組成物は、経口的または静脈内で投与される。

【0093】

本発明の組成物の無菌注射可能形態は、水性懸濁液または油性懸濁液であり得る。これらの懸濁液は、適当な分散剤または湿潤剤および懸濁剤を用いて、当該技術分野で公知の方法に従って処方され得る。この無菌注射可能調製物はまた、例えば、1,3-ブタンジオール中の溶液として、非毒性の非経口的に受容可能な希釈剤または溶媒中の無菌注射可能溶液または懸濁液であり得る。使用され得る受容可能な賦形剤および溶媒には、水、リンガー溶液および等張性塩化ナトリウム溶液がある。さらに、無菌の非揮発性油が、溶媒または懸濁媒体として、従来から使用されている。この目的のために、任意の穏やかな非揮発性油が使用でき、これには、合成のモノグリセリドまたはジグリセリドが含まれる。脂肪酸（例えば、オレイン酸）およびそのグリセリド誘導体は、天然の薬学的に受容可能な油（例えば、オリーブ油またはひまし油、特に、それらのポリオキシエチレン化した形態）と同様に、注射可能物の調製に有用である。これらの油溶液または懸濁液はまた、長鎖アルコール希釈剤もしくは分散剤（例えば、カルボキシメチルセルロース）または類似の分散剤（これらは、一般的に、乳濁液または懸濁液を含む薬学的に受容可能な投薬形態を処方する際に、使用される）を含有し得る。他の一般的に使用される界面活性剤（例えば、Tweens、Spansおよび他の乳化剤）または生体利用能向上剤（これらは、薬学的に受容可能な固体、液体または他の投薬形態を製造する際に、一般的に使用される）もまた、処方の目的のために、使用され得る。

10

20

【0094】

固形キャリアが使用される場合、調製物は、錠剤化され得、粉末形態もしくはペレット形態で硬質ゼラチンカプセル中に加えられるか、またはトローチまたは薬用ドロップの形状であり得る。固体キャリアの量は、例えば、約25mgから400mgまでで、変化する。液体キャリアが使用される場合、調製物は、例えば、シロップ、乳濁液、軟質ゼラチンカプセル、無菌注射可能液（例えば、アンプルまたは非水性液状懸濁液）の形態であり得る。この組成物がカプセルの形態である場合、例えば、硬質ゼラチンカプセル殻にて上記キャリアを使用する任意の慣用的なカプセル化が適当である。

30

【0095】

シロップ処方は、香料または着色剤を含む、この化合物の液体キャリア（例えば、エタノール、グリセリン、または水）懸濁液または溶液からなり得る。エアロゾル調製物は、この化合物の液体キャリア（例えば、水、エタノール、またはグリセリン）溶液または懸濁液からなるのに対して、粉末乾燥エアロゾルでは、調製物は、例えば、湿潤剤を含有し得る。

40

【0096】

本発明の処方は、その1種以上の受容可能なキャリアおよび必要に応じて、任意の他の治療成分と共に、活性成分を含有する。このキャリアは、その処方の他の成分と相溶性でありレシピエントに有害ではないという意味で、「受容可能」であるべきである。

【0097】

本発明の薬学的組成物は、任意の経口的に受容可能な投薬形態（これには、カプセル、錠剤、および水性懸濁液または水性溶液が含まれるが、それらに限定されない）で、経口投与され得る。経口用途のための錠剤の場合には、一般的に使用されるキャリアには、ラクトースおよびコーンスターチが挙げられる。代表的に、潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム）もまた、添加される。カプセル形態での経口投与に有用な希釈剤には、ラク

50

トースおよび乾燥コーンスターチが挙げられる。経口用途のために水性懸濁液が必要な場合、活性成分は、乳化剤および懸濁剤と組み合わせられる。所望の場合、特定の甘味料、香料または着色剤がまた添加され得る。

【0098】

あるいは、本発明の薬学的組成物は、直腸投与のための座剤の形態で投与され得る。これらは、この試薬と、適当な非刺激性の賦形剤（これは、室温で固体であるが、直腸温では液体であり、従って、直腸で融解し活性成分を放出する）と混合することにより、調製され得る。このような物質には、ココアバター、密ろうおよびポリエチレングリコールが挙げられる。

【0099】

本発明の薬学的組成物はまた、特に、治療の標的が局所的な適用により容易にアクセスできる領域または器官（目、皮膚または下部腸管の疾患を含む）を含む場合、局所的に投与され得る。これらの領域または器官のそれぞれに適切な局所処方物は、容易に調製される。

【0100】

下部腸管に対する局所適用は、直腸座剤処方（上記）により、または適当な浣腸処方にて、行なわれ得る。局所的な経皮パッチもまた、使用され得る。

【0101】

局所的な適用のために、この薬学的組成物は、1種以上のキャリアに懸濁するかまたは溶解した活性成分を含む適当な軟膏で処方され得る。本発明の化合物の局所投与用のキャリアには、鉱油、液状石油、ホワイト石油、プロピレングリコール、ポリオキシエチレン、ポリオキシプロピレン化合物、乳化ワックスおよび水が挙げられるが、これらに限定されない。あるいは、この薬学的組成物は、1種以上の薬学的に受容可能キャリアに懸濁するかまたは溶解した活性成分を含む適切なローションまたはクリームで処方され得る。適当なキャリアには、鉱油、ソルビタンモノステアレート、ポリソルベート60、セチルエステルワックス、セテアリアルアルコール、2-オクチルドデカノール、ベンジルアルコールおよび水が挙げられるが、これらに限定されない。

【0102】

眼科用途には、この薬学的組成物は、防腐剤（例えば、ベンジルアルコニウムクロライド）と共にまたはそれなしで、pHを調整した等張性無菌生理食塩水の微細化懸濁液として、または、好ましくは、pHを調整した等張性無菌生理食塩水の溶液として、処方され得る。あるいは、眼科用途のために、この薬学的組成物は、軟膏（例えば、ペトロラタム）で処方され得る。

【0103】

本発明の薬学的組成物はまた、鼻エアロゾルまたは鼻吸入により投与され得る。このような組成物は、製薬処方の当該技術分野で周知の技術に従って調製され、生理食塩水中の溶液として、当該分野で公知のベンジルアルコールまたは他の適当な防腐剤、生物学的利用能を高めるための吸収促進剤、フルオロカーボン、および/または他の通常の可溶化剤または分散剤を使用して調製され得る。

【0104】

この薬学的に受容可能なキャリアまたは希釈剤の形態および特性は、それと混ぜ合わせる活性成分の量、投与経路および他の周知の可変基により支配されることが当業者に認識されている。

【0105】

上記化合物および組成物は特に、以下の疾患に関連した治療用途に有用である：IL-1媒介疾患、アポトーシス媒介疾患、炎症疾患、自己免疫性疾患、破壊性骨障害、増殖性障害、感染性疾患、変性疾患、皮膚疾患、細胞死関連疾患、過剰食用アルコール摂取疾患、ウイルス媒介疾患、網膜障害、ブドウ膜炎、炎症性腹膜炎、骨関節炎、膵炎、喘息、成人呼吸窮迫症候群、糸球体腎炎、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、硬皮症、慢性甲状腺炎、グレーブス病、自己免疫性胃炎、糖尿病、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性好

10

20

30

40

50

中球減少症、血小板減少症、慢性活性肝炎、重症筋無力症、炎症性腸疾患、クローン病、乾癬、アトピー性皮膚炎、接触性皮膚炎、癬痕、移植片対宿主病、臓器移植拒絶、火傷後臓器アポトーシス、骨粗鬆症、白血病および関連障害、脊髄形成異常症候群、多発性骨髄腫関連骨疾患、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、転移性骨髄腫、カポジ肉腫、多発性骨髄腫、出血症性ショック、敗血症、敗血症性ショック、火傷、外傷、全身性炎症応答症候群、多臓器不全症候群、志賀赤痢、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン舞踏症、ケネディ病、プリオン病、脳虚血、癲癇、心筋虚血、急性および慢性心臓病、心筋梗塞、うっ血性心不全、アテローム性動脈硬化症、冠状動脈バイパス移植、脊髄筋萎縮症、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、H I V 関連脳炎、老化、脱毛症、脳卒中による神経障害、潰瘍性大腸炎、外傷性脳傷害、脊髄傷害、B 型肝炎、C 型肝炎、G 型肝炎、黄熱病、デング熱、日本脳炎、種々の形態の肝臓病、腎臓病、腎多嚢胞病、H . p y l o r i 菌関連胃潰瘍および十二指腸潰瘍、H I V 感染、結核および髄膜炎。

10

【0106】

上記化合物および組成物はまた、T N F 媒介疾患に関連した治療用途において、有用である。用語「T N F - 媒介疾患」とは、T N F - それ自体の過剰産生または放出により、または T N F - がその疾患を誘発または増悪する事象（例えば、他の病態生理学的な生化学剤またはサイトカインの産生または放出）を引き起こすことにより、いずれかにより、T N F - が一定の役割を果たす全ての疾患状態を意味する。好ましい 1 実施形態では、T N F - は、直接的な役割を果たす。

【0107】

このような T N F - 媒介疾患には、例えば、再狭窄、炎症疾患（例えば、中枢神経系の炎症疾患）、神経系の脱髄疾患、多発性硬化症、敗血症性関節炎、動脈瘤性大動脈疾患、外傷性関節傷害、歯周病、黄斑変性症、糖尿病性網膜炎、眼球炎症、円錐角膜、シェーグレン症候群、角膜移植片拒絶、悪液質および拒食症を挙げることができる。

20

【0108】

過剰な T N F - 組織レベルは、以下を含めた多数の疾患を媒介または悪化させることに関係している：関節リウマチ、リウマチ様脊椎炎、骨関節炎、痛風性関節炎および他の関節病；また、一般敗血症、グラム陰性敗血症、敗血症性ショック、内毒素ショック、毒素ショック症候群、成人呼吸窮迫症候群（A R D S）、脳性マラリア、慢性肺炎症疾患、ケイ肺症、アスベスト肺、肺サルコイドーシス、骨再吸収疾患、対宿主性移植片反応、異系移植片拒絶；また、細菌またはウイルス感染（例えば、インフルエンザ）が原因の発熱および筋肉痛；後天性免疫不全症候群（A I D S）の次の悪液質、ケロイド形成、癬痕組織形成、クローン病、潰瘍性大腸炎またはピレシス（p y r e s i s）；多数の「自己免疫疾患」（例えば、多発性硬化症、自己免疫糖尿病および全身性エリテマトーデス）。

30

【0109】

T N F - 阻害剤は、以下を含めた種々のアレルギー性、外傷性および他の傷害性疾患を治療する際に有用である：喘息、慢性気管支炎、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、好酸球性肉芽腫、潰瘍性大腸炎、クローン病、心筋および脳の再灌流傷害、慢性糸球体腎炎および成人呼吸窮迫症候群（A R D S）。

【0110】

本発明の化合物は、T N F - の放出を阻止でき、それゆえ、傷害部位または手術部位での T N F - のいくつかの病態生理学的な効果を抑制または阻止するのに有用であり得、従って、また、細胞からの他の病態生理学的な生化学産物（例えば、ヒスタミン、プロスタグランジン、ブラジキニンおよびペルオキシダーゼ）の放出を阻止できる。

40

【0111】

上述のように、T N F - 阻害剤は、細胞、組織または臓器の傷害または手術に続く障害を治療する際に、非常に有効であり得、また、これらの薬剤に共通した副作用なしに、コルチコステロイドまたは免疫抑制薬と同程度に有効であり得るか、それらよりも強力であり得る。

【0112】

50

本発明はまた、ヒトを含めた哺乳動物において、(1)細胞からのTNF- α の放出を阻止し、そして(2)過剰な組織レベルのTNF- α の有害、毒性または致命的な影響を妨げる治療方法に関する。この方法は、哺乳動物に、効果的なTNF- α 阻害有効量の1種以上の上記化合物を投与する工程を包含する。この方法はまた、TNF- α 媒介疾患またはそれに従って悪化する、特定の疾患の予防的治療または予防に使用できる。本発明は、治療が必要なヒトを含めた哺乳動物に有効量のこのような化合物を投与することにより、アレルギー性、外傷性、放射性、化学的、微生物的および他の傷害性の障害を治療する方法を提供する。

【0113】

これらの化合物は、TNF- α の放出を阻害または阻止するか、TNF- α のレベルおよび活性だけでなくこれらの各状況における過剰なレベルのTNF- α の病態生理学的な作用を低下させることにより、直接的に、組織または臓器の損傷の阻止または回復を促進し、また、正常な機能の修復を促進する。それと共に、これらの作用は、組織の外傷、または感染、アレルギー、免疫現象、火傷、放射線暴露、新生物病、毒性化学物質により引き起こされる他の傷害性の障害であって、心血管障害、神経傷害、腎障害、肝障害、膵臓障害だけでなく、腹水症、局所浮腫、皮膚障害および皮膚疱疹として顕れる障害を治療する際に、それらの新規な用途を関連づける。

10

【0114】

用語「TNF- α の放出を阻止する」とは、以下を意味する：a)哺乳動物(例えば、ヒト)におけるインビボTNF- α レベルの低下；またはb)インビトロまたはインビボでのTNF- α レベルの下方制御；またはc)TNF- α の直接合成または移植後事象の阻止による、TNF- α の活性の下方制御。

20

【0115】

これらの化合物は、単球、マクロファージ、神経細胞、内皮細胞、上皮細胞、間葉細胞(例えば、線維芽細胞、骨格筋細胞、平滑筋細胞、心筋細胞)および多くの他の種類の細胞によるTNF- α の放出を阻止する際に、有用であり得る。

【0116】

用語「状態」または「病態」とは、被験体において有害な生物学的結果を生じる任意の疾患、障害または効果を意味する。

【0117】

患者または細胞培養物(すなわち、細胞および/または細胞培地中)の血液または細胞中でのTNF- α タンパク質のレベルは、TNF- α への、または活性TNF- α の存在の結果として産生することが知られているタンパク質への免疫特異的な結合をアッセイすることにより、決定できる。このようなアッセイは、当該技術分野で公知である。例えば、使用できるイムノアッセイには、以下のような技術を使用する競合および非競合アッセイシステムが挙げられるが、これらに限定されない：ウエスタンブロット、ラジオイムノアッセイ、ELISA(酵素結合免疫吸着アッセイ)、「サンドイッチ」イムノアッセイ、免疫沈降アッセイ、沈降反応、ゲル拡散沈降反応、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体結合アッセイ、イムノラジオメトリックアッセイ、蛍光イムノアッセイ、FACS分析およびプロテインAイムノアッセイ。このようなアッセイは、当該技術分野で周知である(例えば、Ausubelら著、1994、Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New Yorkを参照；その内容は、本明細書中で参考として援用されている)。

30

40

【0118】

競合結合アッセイはまた、TNF- α のレベルを決定するのに使用できる。競合結合アッセイの一例には、未標識TNF- α の量を増加させつつ、TNF- α を発現する細胞由来の標識タンパク質(例えば、 ^3H または ^{125}I)をTNF- α 抗体と共にインキュベートする工程および標識TNF- α に結合したTNF- α 抗体を検出する工程を包含するラジオイムノアッセイがある。

50

【0119】

TNF- α のレベルはまた、当該技術分野で公知の活性アッセイにより、アッセイできる。例えば、処理した細胞培養物のサンプルまたは患者の血液由来のサンプルは、当該技術分野で公知のTNF- α 活性アッセイで使用できる（例えば、J. Immunol. Methods, 1995, 178, 71~76; Burns, 1994, 20(1), 40~44）。

【0120】

単独療法では、1日あたり約0.01mg/体重1kgと約100mg/体重1kgの間、好ましくは、1日あたり約0.5mg/体重1kgと約75mg/体重1kgの間、最も好ましくは、1日あたり約1mg/体重1kgと約50mg/体重1kgの間の投薬レベルの活性成分化合物が有用である。

10

【0121】

典型的には、本発明の薬学的組成物は、1日あたり、約1~5回、あるいは、連続注入として、投与される。このような投与は、長期療法または短期療法として、使用できる。単一投薬形態を生じるためにキャリア物質と混ぜ合わされ得る活性成分の量は、治療するホストおよび特定の投与様式に依存して、変わる。典型的な調製物は、約5重量%~約95重量%の活性化合物を含有する。好ましくは、このような調製物は、約20重量%~約80重量%の活性化合物を含有する。

【0122】

本発明の組成物が式Iの化合物および1種以上の追加治療剤の組合せを含有するとき、この化合物および追加治療剤の両方は、単独療法レジメン (regime) で通常投与される投薬量の約10%~80%の間の投薬量レベルで、存在するべきである。

20

【0123】

患者の状態の改善の際に、必要であれば、本発明の化合物、組成物、またはその組合せの維持用量が投与され得る。続いて、投与の投薬量もしくは頻度、またはその両方は、症候が所望のレベルに軽減され、処置を止めるべき場合に、改善された状態が保持されるレベルまで、症候の関数として低減され得る。しかし、患者は、いずれの再発または疾患症候の長期基礎に対する断続的処置を必要とし得る。

【0124】

あらゆる特定の患者のための特定の投薬量および処置レジメンは、種々の因子（使用される特定の化合物の活性、年齢、体重、一般的な健康状態、性別、食事制限、投与時間、排泄率、薬物の組合せ、および処置する医師の判断、ならびに処置されるべき特定の疾患の重篤度を含む）に依存することもまた理解されるべきである。活性成分の量もまた、その組成物中の特定の化合物および他の治療剤（もし存在するなら）に依存する。

30

【0125】

本発明の1つの実施形態は、被験体におけるIL-1媒介疾患またはアポトーシス媒介疾患を治療または予防する方法を提供し、該方法は、該被験体に、本明細書中で記載された任意の化合物、薬学的組成物または組合せを投与する工程を包含する。

【0126】

本発明の別の実施形態は、被験体におけるカスパーゼ媒介機能を阻止する方法を提供し、該方法は、該被験体に、記載された任意の化合物、薬学的組成物または組合せを投与する工程を包含する。

40

【0127】

本発明の別の実施形態は、被験体におけるIGIFまたはTNF- α の産生を減らす方法を提供し、該方法は、該被験体に、記載された任意の化合物、薬学的組成物または組合せを投与する工程を包含する。

【0128】

本発明の別の実施形態は、被験体における冠状動脈バイパス移植に付随した合併症を治療する方法を提供し、該方法は、該被験体に、本明細書中で記載された任意の化合物、薬学的組成物または組合せを投与する工程を包含する。

50

【0129】

本発明の別の実施形態は、細胞を保存する方法を提供し、該方法は、本明細書中で記載された任意の化合物の溶液に、該細胞を浸す工程を包含する。カスパーゼ阻害剤を使用するこのような方法は、報告されている [Schierlerら、Nature Medicine, 5, p. 97 (1999); および Natoriら、Transplantation, 68, pp. 89~96 (1999)]。必要なカスパーゼ阻害剤の量は、所定細胞型に対するその阻害剤の有効性およびアポトーシス細胞死から細胞を保護するのに必要な時間に依存している。

【0130】

本発明の別の実施形態は、本明細書中で記載された任意の化合物、薬学的組成物または組合せを使用して、臓器移植または血液産物保存に必要な細胞を保存する方法を提供する。Liら、Transfusion, 40, pp. 1320~1329 (2000)。

【0131】

本発明の別の実施形態は、被験体における種々の形態の癌を治療する方法を提供し、該方法は、該被験体に、免疫療法の1要素として、本明細書中で記載された任意の化合物、薬学的組成物または組合せを投与する工程を包含する。Droinら、Oncogene, 16, pp. 2885~2894 (1998); Boudardら、Leukemia, 14, pp. 2045~2051 (2000); Faderlら、Clinical Cancer Research, 5, pp. 4041~4047 (1999); Ozorenら、Cancer Research, 60, pp. 6259~6265 (2000); Sasakiら、British Journal of Urology, 81, pp. 852~855 (1998); および Hedlundら、Prostate, 36, pp. 92~101 (1998)。

【0132】

好ましい実施形態では、本発明は、前記疾患の1つに罹った哺乳動物を治療する方法を提供し、該方法は、該哺乳動物に、上記薬学的に受容可能な組成物を投与する工程を包含する。この実施形態では、もし、患者がまた、別の治療剤またはカスパーゼ阻害剤を投与される場合、それは、単一投薬形態でまたは別々の投薬形態として、本発明の化合物と共に送達され得る。別々の投薬形態として投与するとき、他のカスパーゼ阻害剤または薬剤は、本発明の化合物を含有する薬学的に受容可能な組成物を投与する前、投与と同時に、または投与に続いて、投与され得る。

【0133】

本発明に従うキットは、本発明の化合物またはその薬学的に受容可能な誘導體または薬学的組成物と、インビトロまたはインビボでTNF- α のレベルおよび/または活性を測定する器具とを含む。このキットは、さらに、その内容物の使用説明書を含む。本発明のTNF- α のレベルを測定する器具は、TNF遺伝子産物(すなわち、RNAまたはタンパク質)または活性を測定するために使用され得る物質を意味する。このような方法は、例えば、上記されている。従って、本発明に従う器具は、例えば、抗-TNF抗体、TNF-DNAプローブまたは遺伝子工学によって合成した細胞系(これは、上記TNF- α レベルに応答性である)を含み得る。

【0134】

本発明に従うTNF- α の活性および/またはレベルを低下させる化合物または組成物を同定する方法には、複数の化合物または組成物がTNF- α の活性および/またはレベルを低下させる性能について、これらの化合物または組成物をスクリーニングする方法が挙げられる。例えば、高い処理能力のスクリーニングは、本発明の望ましい実施形態である。本発明の1実施形態によれば、高い処理能力のスクリーニングは、培養物中の細胞をマイクロタイプレート中の複数のウェルに入れることにより、各ウェルに異なる化合物または組成物を加えることにより、そして各細胞培養物中のTNF- α のレベルおよび/または活性を、コントロールウェルの細胞培養物中に存在しているTNF- α のレベルまたは活性と比較することにより、達成できる。本発明による比較工程に有用なコントロー

10

20

30

40

50

ルとしては、化合物または組成物で処理していない細胞または被験体、および TNF - のレベルまたは活性に効果がないことが知られている化合物または組成物で処理した細胞または被験体が挙げられる。本発明の 1 実施形態によれば、この高い処理能力のスクリーニングは、その化合物または組成物の添加後、データ収集および分析まで、そのプレートに細胞を加えることを含む工程が機械で行われるように、自動化される。本発明の比較工程で有用な用具（例えば、標識した対象（例えば、放射標識した対象、蛍光対象または着色した対象）またはそれ自体検出可能な対象を検出できる用具）は、市販されているか、および/または当該技術分野で公知である。従って、TNF - のレベルおよび/または活性を低下させるのに有用な本発明の化合物および組成物は、迅速かつ効率的にスクリーニングできる。

10

【0135】

本発明をさらに十分に理解するために、以下の調製実施例および試験実施例を示す。これらの実施例は、例示の目的だけのものであり、いずれの様式でも、本発明の範囲を限定するものとして解釈すべきではない。

【実施例】

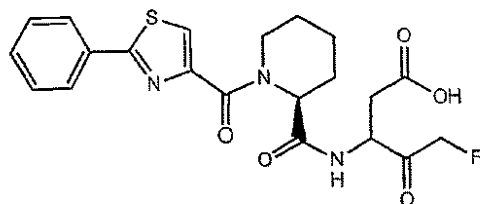
【0136】

（実施例 1：[3S/R(2S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - (2 - フェニル - トリアゾール - 4 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸（化合物 1））

【0137】

20

【化 18】

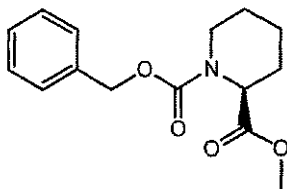


（方法 A：(S) - 1 - (ベンジルオキシカルボニル) - 2 - ピペリジンカルボン酸メチルエステル）

30

【0138】

【化 19】



(S) - ピペリジンカルボン酸メチルエステル塩酸塩 (2.00 g、11.13 mmol) の無水 THF (40 ml) 攪拌懸濁液を、室温で、トリエチルアミン (3.41 ml、24.50 mmol) で処理した。その反応混合物を、室温で、30 分間攪拌した後、N - (ベンジルオキシカルボニルオキシ) スクシンイミド (3.05 g、12.23 mmol) を加えた。得られた混合物を 2 時間攪拌した後、酢酸エチル (20 ml) で希釈し、2N HCl、飽和 NaHCO₃ 水溶液、飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、乾燥し (Na₂SO₄)、濾過し、そして濃縮した。その残留物をフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン中の 20% 酢酸エチル) で精製すると、無色オイル (2.0085 g、65%) として、副題化合物が得られた：

40

【0139】

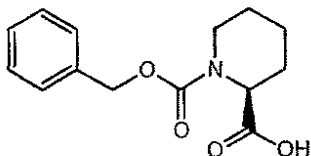
【化 20】

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ 1.19-1.1.54 (2H, m), 1.58-1.80 (4H, m), 2.18-2.33 (1H, m), 2.90-3.15 (1H, m), 3.66-3.81 (3H, m), 4.03-4.21 (1H, m), 4.81-5.25 (3H, m), 7.28-7.45 (5H, m)

。(方法 B : (S) - 1 - (ベンジルオキシカルボニル) - 2 - ピペリジンカルボン酸)
【0140】
【化21】

10



(S) - 1 - (ベンジルオキシカルボニル) - 2 - ピペリジンカルボン酸メチルエステル (2.00 g、7.21 mmol) の THF (20 ml) 攪拌溶液を、室温で、水 (10 ml) で処理した。水酸化リチウム (190 mg、7.93 mmol) を加え、得られた混合物を、室温で、3時間攪拌した。追加量の水酸化リチウム (40 mg、1.67 mmol) を加え、得られた混合物を2時間攪拌した後、その有機溶媒を除去した。得られた溶液をジエチルエーテルで洗浄し、残留している水層を 2N HCl で酸性にした後、酢酸エチルによる第二抽出工程を行った。次いで、その有機層を回収し、乾燥し (Na_2SO_4)、濾過し、そして濃縮すると、無色オイル (1.9927 g、105%) が現れ、これを放置すると、結晶化した：

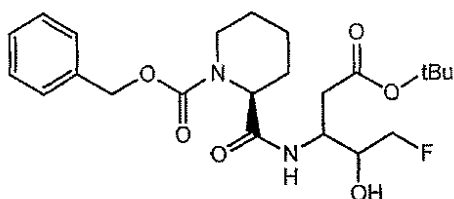
20

【0141】
【化22】

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1.30-1.88 (5H, m), 2.22-2.41 (1H, m), 3.00-3.21 (1H, m), 4.08-4.25 (1H, m), 4.91-5.30 (3H, m), 7.27-7.48 (5H, m)

30

。(方法 C : [3S/R, 4S/R, (2S)] - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 3 - [1 - (ベンジルオキシカルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 tert - ブチルエステル)
【0142】
【化23】



40

(S) - 1 - (ベンジルオキシカルボニル) - 2 - ピペリジンカルボン酸 (4.82 g、18.31 mmol)、3 - アミノ - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - ペンタン酸 tert - ブチルエステル (3.99 g、19.25 mmol)、HOBt (2.72 g、20.13 mmol)、DMAP (2.57 g、21.04 mmol) および無水 THF (60 ml) の攪拌混合物を、0 まで冷却した後、EDC (3.86 g、20.13 mmol)

50

1) を加えた。その混合物を、16 時間にわたって、室温まで暖めた後、減圧下にて、濃縮した。その残留物をフラッシュクロマトグラフィー（ヘキサン中の60%酢酸エチル）で精製すると、白色発泡体（7.3754 g、72%）として、副題化合物が得られた：
【0143】

【化24】

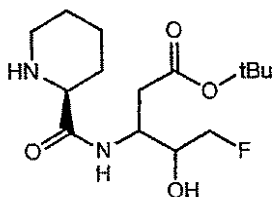
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1.31-1.80 (14H, m), 2.20-2.38 (1H, m), 2.49-3.07 (3H, m), 3.11-3.70 (1H, m), 3.80-4.58 (4H, m), 4.70-5.28 (1H, m), 6.58-7.05 (1H, m), 7.23-7.48 (5H, m)

10

。 (方法D: [3S/R, 4S/R, (2S)] - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 3 - [2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 tert - ブチルエステル)

【0144】

【化25】



20

[3S/R, 4S/R, (2S)] - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 3 - [1 - (ベンジルオキシカルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 tert - ブチルエステル (7.37 g、16.29 mmol) の酢酸エチル (150 ml) 攪拌溶液を、10% Pd/C (830 mg) で処理した。次いで、その反応混合物を完全に脱気し、そして水素バルーン下に置いた。得られた混合物を、室温で、3 時間攪拌し、その後、セライトで濾過し、そして濃縮して、無色ゴム状物 (5.17 g、100%) として、副題化合物を得た：

30

【0145】

【化26】

$^1\text{H NMR}$ (400

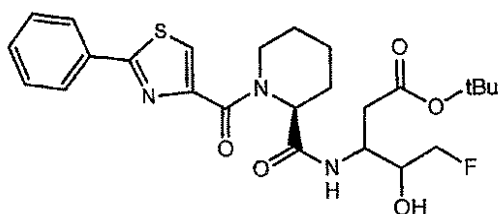
MHz, CDCl_3) δ 1.16-2.00 (15H, m), 2.51-2.78 (3H, m), 2.99-3.09 (1H, m), 3.18-3.28 (1H, m), 3.93-4.56 (4H, m), 7.39-7.58 (1H, m); ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) δ -229.34 (t), -229.42 (t), -229.87 (t), 230.02 (t)

40

。 (方法E: [3S/R, 4S/R, (2S)] - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 3 - [1 - (2 - フェニル - チアゾール - 4 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 tert - ブチルエステル)

【0146】

【化27】



[3 S / R , 4 S / R , (2 S)] - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 3 - [2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 tert - ブチルエステル (5 2 0 m g , 1 . 6 3 m m o l) の DMF (9 . 7 m l) 攪拌溶液を、室温で、DIPEA (3 1 1 μ l , 1 . 8 0 m m o l) で処理した。得られた混合物を 3 0 分間攪拌させた後、2 - フェニル - チアゾール - 4 - カルボン酸 (3 3 5 m g , 1 . 6 3 m m o l) および TBTU (5 2 4 m g , 1 . 6 3 m m o l) で処理した。この混合物を、室温で、1 6 時間攪拌し、次いで、酢酸エチルで希釈した。得られた溶液を 2 N H C l 、飽和 N a H C O ₃ 水溶液、飽和 N a C l 水溶液で洗浄し、乾燥し (N a ₂ S O ₄) 、濾過し、そして濃縮すると、オイルが現れた。その残留物をフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン中の 6 0 % 酢酸エチル) で精製すると、無色オイル (4 6 3 m g , 5 6 %) として、副題化合物が得られた：

【 0 1 4 7 】

【 化 2 8 】

¹H NMR (4 0 0

20

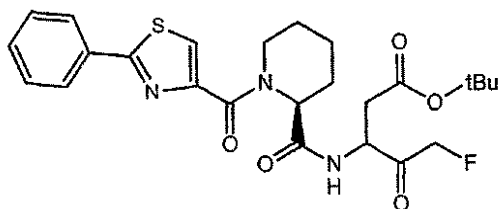
MHz, CDCl₃) δ 1.10-1.85 (15H, m), 2.22-2.89 (3H, m),
3.09-4.78 (6H, m), 5.20-5.43 (1H, m), 7.40-7.56 (3H, m),
7.81-8.11 (3H, m)

。(方法 F : [3 S / R , (2 S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - (2 - フェニル - チアゾール - 4 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 tert - ブチルエステル)

【 0 1 4 8 】

30

【 化 2 9 】



[3 S / R , 4 S / R , (2 S)] - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 3 - [1 - (2 - フェニル - チアゾール - 4 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 tert - ブチルエステル (4 6 2 m g , 0 . 9 1 m m o l) の無水 D C M (2 5 m l) 攪拌溶液を、0 で、1 , 1 , 1 - トリアセトキシ - 1 , 1 - ジヒドロ - 1 , 2 - ベンズヨードキソール - 3 (1 H) - オン (4 2 6 m g , 1 . 0 0 m m o l) で処理した。得られた混合物を、0 で、2 時間保ち、DCMで希釈し、そして飽和 N a ₂ S ₂ O ₃ · 5 H ₂ O 水溶液、飽和 N a H C O ₃ 水溶液、飽和 N a C l 水溶液で洗浄し、乾燥し (N a ₂ S O ₄) 、そして濃縮した。その残留物をフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン中の 3 3 % 酢酸エチル) で精製すると、白色固体 (3 7 6 m g , 8 2 %) として、副題化合物が得られた：

【 0 1 4 9 】

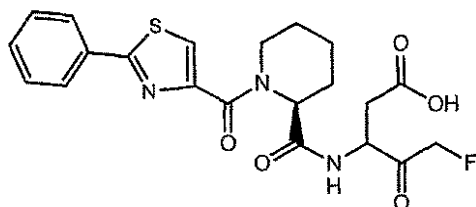
【 化 3 0 】

50

IR (固体) 1731, 1619, 1506, 1460, 1363, 1260, 1158
 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.16-1.81 (14H, m), 2.25-
 2.42 (1H, m), 2.69-3.25 (3H, m), 4.48-5.46 (5H, m),
 7.36-8.32 (7H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 21.08,
 21.29, 21.33, 25.24, 25.72, 27.23, 28.14, 36.60, 41.33,
 41.52, 46.10, 46.27, 52.06, 52.77, 52.84, 82.25, 82.40,
 82.66, 83.81, 85.68, 125.09, 125.49, 126.50, 126.69,
 127.02, 127.10, 129.46, 129.55, 131.00, 131.18, 132.85,
 133.04, 133.29, 150.75, 150.92, 163.50, 163.65, 165.17,
 168.07, 168.14, 170.07, 170.23, 171.37, 202.87, 203.02;
 ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) δ -231.36, -231.69, -231.86,
 -232.28; MS (LR, ES) $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{FN}_3\text{O}_5\text{S}$ について計算値 :
 503.5974

10

。
 (方法 G : [3 S / R , (2 S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - (2 - フェ
 ニル - チアゾール - 4 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸)
 【 0 1 5 0 】
 【 化 3 1 】



30

[3 S / R , (2 S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - (2 - フェニル - チア
 ゾール - 4 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 tert - ブ
 チルエステル (3 7 0 m g 、 0 . 7 3 m m o l) の無水 D C M (2 0 m l) 攪拌溶液を、
 - 1 0 で、1 M の四塩化チタン D C M 溶液 (3 . 6 7 m l 、 3 . 6 7 m m o l) で処理
 した。得られた混合物を 0 まで暖め、この温度で、1 時間保った。次いで、得られた混
 合物を D C M で希釈し、そして 2 N H C l 、飽和 N a C l 水溶液で洗浄し、乾燥し (N
 a ₂ S O ₄) 、そして濃縮した。その残留物を逆相 H P L C (アセトニトリル / 水) で精
 製すると、白色発泡体 (1 0 2 m g 、 3 1 %) として、表題化合物が得られた :

【 0 1 5 1 】

【 化 3 2 】

40

IR

(固体) 1798, 1736, 1674, 1617, 1517, 1479, 1470, 1265;
 ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 1.18-1.79 (4H, m), 2.08-
 2.28 (1H, m), 2.42-3.50 (5H, m), 4.08-5.40 (4H, m),
 7.45-8.28 (6H, m), 8.41-8.67 (1H, m); ^{13}C NMR (100 MHz,
 d_6 -DMSO+TFA) δ 19.07, 19.24, 23.29, 23.69, 25.63, 25.72,
 26.42, 26.49, 31.54, 33.23, 43.65, 46.14, 50.81, 50.91,
 51.56, 51.64, 56.26, 56.34, 80.07, 81.87, 81.97, 83.66,
 83.75, 102.43, 102.47, 102.63, 102.66, 125.17, 125.24,
 128.19, 129.52, 131.40, 149.51, 162.07, 162.61, 162.67,
 165.34, 165.55, 169.71, 169.86, 170.64, 170.72, 171.75,
 201.84, 201.20, 201.34; ^{19}F (376 MHz, d_6 -DMSO) δ
 -226.74, -226.82, -226.84, -227.00, -230.37, -230.60,
 -230.83, -232.41, -232.55, -232.62, -232.7; MS (LR, ES)
 $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{FN}_3\text{O}_5\text{S}$ について計算値 : 447.4890, ES- 446.408, ES+
 448.184

10

20

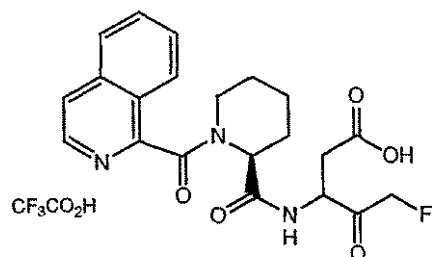
。

【 0 1 5 2 】

(実施例 2 : [3 S / R (2 S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - (イソキノ
 リン - 1 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸、トリフルオロ
 酢酸塩 (化合物 2))

【 0 1 5 3 】

【 化 3 3 】

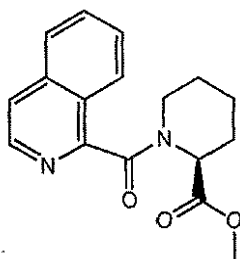


30

(方法 H : (S) - 1 - (イソキノリン - 1 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボン酸
 メチルエステル)

【 0 1 5 4 】

【 化 3 4 】



40

(S) - 1 - ピペリジン - カルボン酸メチルエステル塩酸塩 (1 . 0 0 g 、 5 . 5 7 m m
 o l) の DMF (2 0 m l) 攪拌溶液を、室温で、DIPEA (2 . 1 2 m l 、 1 2 . 2 50

5 mmol) で処理した。得られた混合物を 30 分間攪拌させた後、1-イソキノリンカルボン酸 (964 mg、5.57 mmol) および TBTU (1.79 g、5.57 mmol) で処理した。その混合物を、室温で、4 時間攪拌し、酢酸エチルで希釈し、飽和 NaHCO₃ 水溶液、飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、乾燥し (Na₂SO₄)、濾過し、そして濃縮した。その残留物をフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン中の 67% 酢酸エチル) で精製すると、無色ゴム状物 (1.05 g、63%) として、副題化合物が得られた:

【0155】

【化35】

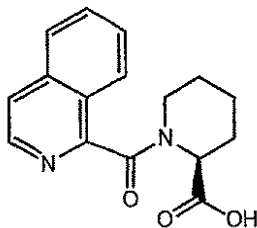
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.00-2.51 (6H, m), 3.05-3.38 (2H, m), 3.60-3.95 (3H, m), 4.35-4.95 (1H, m), 5.70-5.80 (1H, m), 7.55-7.95 (3H, m), 8.13-8.29 (1H, m), 8.48-8.61 (1H, m)

10

。(方法 I : (S) - 1 - (イソキノリン - 1 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボン酸)

【0156】

【化36】



20

(S) - 1 - (イソキノリン - 1 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボン酸メチルエステル (1.05 g、3.52 mmol) の THF (20 ml) 攪拌溶液を、室温で、水 (10 ml) で処理した。次いで、水酸化リチウム (84 mg、3.51 mmol) を加え、得られた混合物を、室温で、16 時間攪拌した。得られた混合物を濃縮して、有機溶媒を除去した。次いで、得られた溶液をジエチルエーテルで洗浄し、残留している水層を、2N HCl で酸性にした。得られた溶液を酢酸エチルで抽出し、その有機層を分離し、乾燥し (Na₂SO₄)、濾過し、そして濃縮すると、白色固体 (902 mg、90%) が現れた:

30

【0157】

【化37】

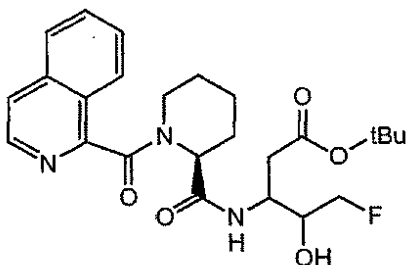
¹H NMR (400 MHz, d₄-MeOH) δ 1.20-2.52 (6H, m), 3.10-3.39 (2H, m), 4.10-4.90 (1H, m), 7.68-8.55 (5H, m)

40

。(方法 J : [3S/R, 4S/R, (2S)] - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 3 - [1 - (イソキノリン - 1 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 tert - ブチルエステル)

【0158】

【化37A】



(S) - 1 - (イソキノリン - 1 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボン酸 (278 mg、0.98 mmol)、3 - アミノ - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - ペンタン酸 tert - ブチルエステル (213 mg、1.03 mmol)、HOBt (145 mg、1.07 mmol)、DMAPI (137 mg、1.12 mmol) および無水THF (25 ml) の攪拌混合物を、0 まで冷却した後、EDC (206 mg、1.07 mmol) を加えた。その混合物、16 時間にわたって、室温まで暖め、次いで、減圧下にて、濃縮した。その残留物をフラッシュクロマトグラフィー (DCM中の5%メタノール) で精製すると、白色発泡体 (425 mg、92%) として、表題化合物が得られた：

【0159】

【化38】

^1H NMR (400 MHz,

CDCl_3) δ 1.20-3.30 (17H, m), 3.95-4.18 (2H, m), 4.29-

4.64 (4H, m), 4.86-5.01 (1H, m), 7.65-8.00 (4H, m),

8.10-9.00 (3H, m); ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) δ -229.39,

-229.41, -229.57, -229.60, -229.64, -229.69, -230.41,

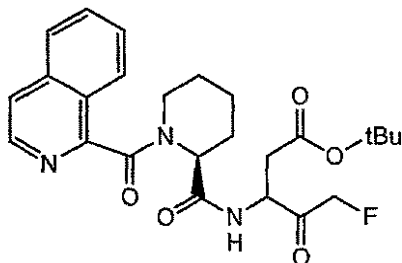
-231.08

。

([3S/R, (2S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - (イソキノリン - 1 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 tert - ブチルエステル)

【0160】

【化38A】



この副題化合物を、方法Fで記述した手順と類似の手順を使用して調製し、白色発泡体 (268 mg、63%) を得た：

【0161】

【化39】

10

20

30

40

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ

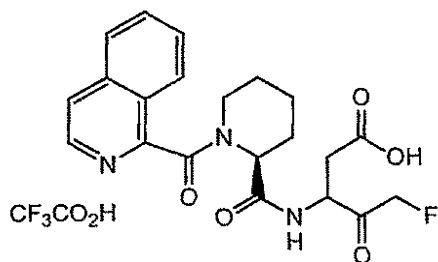
1.20-2.60 (15H, m), 2.69-4.30 (4H, m), 4.83-5.78 (4H, m), 7.23-7.35 (1H, m), 7.57-8.00 (1H, m), 8.13-8.30 (1H, m), 8.45-8.72 (1H, m), 9.08-9.73 (1H, m); ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) δ -231.53, -231.69, -231.70, -232.13; MS (LR, ES) $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{FN}_3\text{O}_5$ について計算値 : 471.5334, ES- 470.327, ES+ 472.270

10

。 (方法 K : [3 S / R , (2 S)] - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 3 - [1 - (イソキノリン - 1 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸トリフルオロ酢酸塩)

【 0 1 6 2 】

【 化 4 0 】



20

トリフルオロ酢酸 (5 ml) の無水 DCM (5 ml) 氷冷溶液を、 [3 S / R , (2 S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - (イソキノリン - 1 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 tert - ブチルエステル (240 mg、 0.51 mmol) の無水 DCM (15 ml) 攪拌氷冷溶液に加えた。その混合物を、 0 で、 2 時間、そして 4 で、 40 時間攪拌した。この混合物を減圧下にて濃縮し、その残留物を無水 DCM に溶解した。過剰のトリフルオロ酢酸を除去するために、この工程を 4 回繰り返した。そのゴム状物をジエチルエーテルで粉砕すると、灰白色固体 (126 mg、 53%) として、表題化合物が得られた。

30

【 0 1 6 3 】

【 化 4 1 】

IR (固体) 1794, 1736, 1646, 1441, 1250,

1198, 1150, 1055 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ

1.18-2.36 (6H, m), 2.59-3.45 (4H, m), 4.10-5.51 (4H, m), 7.60-8.78 (7H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO +TFA);

 ^{19}F (376 MHz, d_6 -DMSO) δ -226.75, -226.81, -227.00,

40

-232.62, -232.66, -233.09; MS (LR, ES) $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{FN}_3\text{O}_5$ について

計算値 : 415.42, ES- 414.269, ES+ 416.198

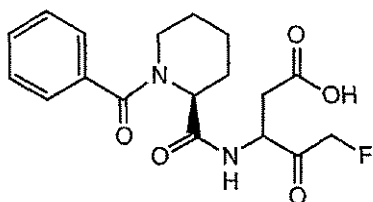
。 【 0 1 6 4 】

(実施例 3 : [3 S / R , (2 S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - ベンジル - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 (化合物 3))

【 0 1 6 5 】

【 化 4 2 】

50

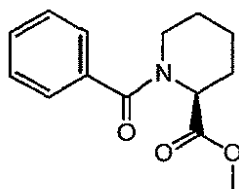


(方法L : (S) - 1 - ベンゾイル - 2 - ピペリジンカルボン酸メチルエステル)

【0166】

【化43】

10



(S) - ピペリジンカルボン酸メチルエステル塩酸塩 (1.009 g、5.65 mmol) の無水DCM (7 ml) 攪拌懸濁液を、0 で、ジイソプロピルアミン (3 ml、17.34 mmol) で処理し、次いで、塩化ベンゾイル (0.72 ml、6.21 mmol) で処理した。次いで、得られた混合物を、0 で、4時間攪拌した後、DCMで希釈した。得られた溶液を、1N HCl、飽和NaHCO₃水溶液、飽和NaCl水溶液で洗浄し、乾燥し(MgSO₄)、濾過し、そして濃縮すると、オイルが現れた。その残留物をフラッシュクロマトグラフィー(ヘキサン中の20%酢酸エチル)で精製すると、無色オイル(1.221 g、87%)として、表題化合物が得られた：

20

【0167】

【化44】

¹H NMR (400

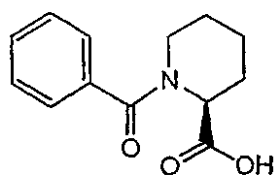
MHz, CDCl₃) δ 1.25-1.80 (5H, m), 2.10-2.39 (1H, m), 2.75-3.27 (1H, m), 3.55-3.68 (0.66H, m), 3.70-3.79 (3H, m), 5.41-5.54 (0.66H, m), 5.41-5.53 (0.66H, m), 7.26-7.46 (5H, m).

30

(方法M : (S) - 1 - ベンゾイル - 2 - ピペリジンカルボン酸)

【0168】

【化45】



40

水(5 ml)中のメタノール(5 ml)の溶液中の(S) - 1 - ベンゾイル - 2 - ピペリジンカルボン酸メチルエステル(1.221 g、4.94 mmol)の攪拌溶液を、0 で、水酸化カリウム(305 mg、5.43 mmol)で処理した。得られた混合物を、0 で、2時間攪拌した。次いで、追加量の水酸化カリウム(111 mg、1.97 mmol)を加え、得られた混合物を1.5時間攪拌し、次いで、濃縮した。次いで、得られ

50

た水溶液をDCMで洗浄し、残留している水層を1N HClで酸性にした。得られた溶液を酢酸エチルで抽出し、その有機物を分離し、乾燥し(MgSO₄)、濾過し、そして濃縮すると、結晶性固形物(870mg、76%)が現れた：

【0169】

【化46】

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 1.21-1.78 (5H, m), 1.98-2.27 (1H, m), 2.71-3.20 (1H, m), 3.28-3.38 (3H, m), 3.41-3.53 (0.5H, m), 4.21-4.47 (1H, m), 5.11-5.25 (0.5H, m), 7.27-7.39 (2H, m), 7.40-7.50 (3H, m).

10

次いで、(S)-1-ベンゾイル-2-ピペリジんカルボン酸を、方法J、FおよびKで記述した手順と類似の手順にかけることにより、この表題化合物を調製した。その生成物を、RP-HPLC(MeCN/H₂O)後、白色発泡体(25mg、最終工程で10%)として、単離した。

【0170】

【化47】

IR (固形物)

20

3318, 2944, 1787, 1736, 1675, 1611 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 1.37-1.63 (5H, m), 2.05-2.18 (1H, m), 2.60-2.94 (2H, m), 3.25-3.46 (2H, m), 4.34-4.77 (2H, m), 5.12-5.29 (2H, m), 7.34-7.90 (5H, m), 8.12-8.58 (1H, m); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 20.54, 24.64, 25.11, 26.87, 27.80, 34.65, 45.82, 52.42, 58.46, 83.42, 126.37, 127.20, 128.74, 129.75, 129.86, 136.37, 171.38, 172.22, 173.33, 202.70, 202.82; ¹⁹F (376 MHz, d₆-DMSO) δ -226.52, -226.71, -226.84, -226.91, -230.13, -232.28, -232.39, -232.62, -232.66; MS (FAB +ve, HR) C₁₈H₂₁FN₂O₅ についての計算値 (MH⁺) 365.1513, 実測値 365.1519.

30

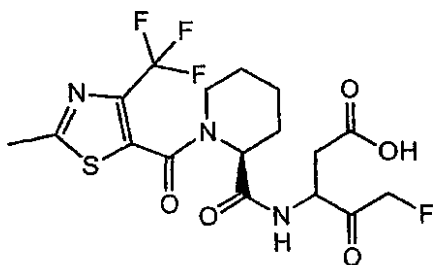
【0171】

(実施例4: [3S/R, (2S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - (2 - メチル - 4 - トリフルオロ - チアゾール - 5 - カルボニル) - 2 - ピペリジんカルボキサミド] - ペンタン酸 (化合物4))

40

【0172】

【化48】



方法 A ~ G で記述した手順と類似の手順を使用して、表題化合物を調製した。その生成物を、白色発泡体 (27.1 mg、最後の工程で 8%) として、単離した：

10

【 0 1 7 3 】

【 化 4 9 】

IR (固形物) 1794, 1736, 1632, 1436, 1355,
 1203, 1165, 1126 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ
 1.14-1.74 (6H, m), 2.01-2.23 (1H, m), 2.42-3.55 (7H,
 m), 4.06-4.80 (2H, m), 5.00-5.39 (2H, m), 8.02-8.71
 (1H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 18.87, 19.07,
 23.25, 23.85, 25.88, 31.47, 33.03, 33.20, 33.40, 44.18,
 46.05, 46.16, 50.78, 50.82, 50.94, 51.02, 51.14, 51.26,
 51.42, 56.58, 56.94, 80.08, 81.84, 81.93, 82.05, 83.73,
 83.82, 102.44, 102.63, 116.52, 116.68, 116.90, 120.79,
 122.31, 124.80, 125.55, 125.65, 129.02, 129.24, 129.32,
 133.75, 135.65, 160.84, 161.00, 168.93, 169.18, 169.39,
 170.64, 171.78, 172.64, 200.93, 201.26, 201.40; ^{19}F (376
 MHz, d_6 -DMSO) δ -61.54, -226.61, -226.76, -226.86,
 -227.02, -228.01, -229.32, -229.86, -230.48, -231.39,
 -232.37, -232.55, -232.59, -232.69; MS (LR, ES)
 $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{F}_4\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ についての計算値 : 453.4157, ES- 452.327, ES+
 454.141.

20

30

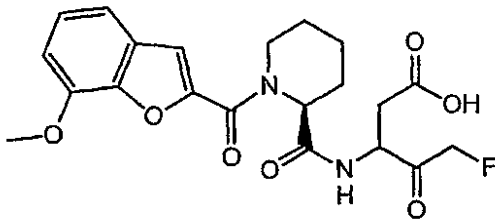
【 0 1 7 4 】

(実施例 5 : [3 S / R , (2 S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - (7 - メ
 トキシベンゾフラン - 2 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸
 (化合物 5))

40

【 0 1 7 5 】

【 化 5 0 】



方法 A ~ G で記述した手順と類似の手順を使用して、表題化合物を調製した。その生成物を、白色発泡体 (24.0 mg、最後の工程で 12%) として、単離した：

10

【0176】

【化51】

IR (固形物) 1794, 1736, 1627, 1589, 1427, 1269, 1203 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 1.20-1.80 (4H, m), 2.10-2.29 (1H, m), 2.52-3.66 (5H, m), 4.05-5.42 (4H, m), 6.92-7.49 (4H, m), 8.29-8.90 (1H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO +TFA) δ 20.52, 20.7524.64, 25.21, 27.00, 32.91, 34.61, 44.97 (CH_2), 47.73, 52.41, 52.66, 52.91, 53.25, 57.77 (CH , CH_3), 83.44, 85.21 (CH_2), 103.94, 104.13 (C), 108.71, 113.92, 124.78 (CH), 128.60, 143.56, 145.57, 148.54, 158.17, 158.55, 158.93, 159.32, 160.59, 160.78, 170.91, 172.21, 173.28, 202.66, 202.80; ^{19}F (376 MHz, d_6 -DMSO) δ -75.65, -226.85, -226.94, -228.09, -230.52, -230.83, -232.64, -232.74, -232.96.; MS (LR, ES) $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{FN}_2\text{O}_7$ についての計算値 : 434.4251, ES- 433.386, ES+ 435.171.

20

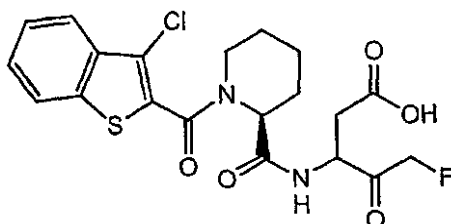
30

【0177】

(実施例 6 : [3S/R, (2S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - (3 - クロロ - ベンゾ [b] チオフェン - 2 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 (化合物 6))

【0178】

【化52】



40

方法 A ~ G で記述した手順と類似の手順を使用して、表題化合物を調製した。その生成物を、白色発泡体 (163 mg、最後の工程で 38%) として、単離した：

50

【 0 1 7 9 】

【 化 5 3 】

IR (固形物) 1803, 1736, 1674, 1622, 1527, 1417, 1269 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 1.20-1.80 (6H, m), 2.00-2.30 (1H, m), 2.39-3.60 (3H, m), 4.20-4.82 (2H, m), 4.98-5.40 (2H, m), 7.42-7.69 (2H, m), 7.72-7.94 (1H, m), 7.99-8.20 (1H, m), 8.23-8.70 (1H m); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 18.87, 19.07, 23.25, 23.85, 25.88, 31.47, 33.03, 33.20, 33.40, 44.18 (CH_2), 46.05, 46.16, 50.78, 50.82, 50.94, 51.02, 51.14, 51.26, 51.42, 56.58, 56.94 (CH), 80.08, 81.84, 81.93, 82.05, 83.73, 83.82 (CH_2), 102.44, 102.63, 116.52, 116.68, 116.90 (C), 120.79, 122.31, 124.80, 125.55, 125.65 (CH), 129.02, 129.24, 129.32, 133.75, 135.65, 160.84, 161.00, 168.93, 169.18, 169.39, 170.64, 171.78, 172.64, 200.93, 201.26, 201.40; ^{19}F (376 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ -226.55, -226.79, -226.87, -226.97, -229.76, -229.88, -230.67, -231.15, -232.35, -232.50, -232.56, -232.61; MS (LR, ES) $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{ClFN}_2\text{O}_5\text{S}$ についての計算値 : 454.9082, ES- 453.296, ES+ 455.12.

10

20

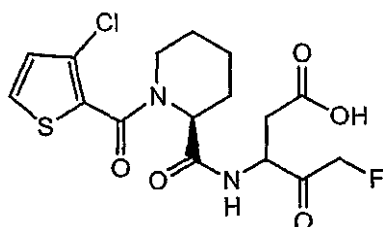
30

【 0 1 8 0 】

(実施例 7 : [3 S / R , (2 S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - (3 - クロロチオフェン - 2 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 (化合物 7))

【 0 1 8 1 】

【 化 5 4 】



40

方法 H ~ J、F および K で記述した手順と類似の手順を使用して、表題化合物を調製した。その生成物を、白色発泡体として、単離した :

【 0 1 8 2 】

【 化 5 5 】

: IR

(固形物) 1784, 1736, 1670, 1612, 1522, 1450, 1269 cm^{-1} ;
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.13-1.80 (5H, m), 2.01-3.60
 (5H, m), 4.11-5.36 (4H, m), 7.02-7.17 (1H, m), 7.70-
 7.90 (1H, m), 8.40-8.61 (1H, m); ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) δ
 -226.90 (t), -232.65 (m); Low Res. MS (ES) $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClFN}_2\text{O}_5\text{S}$
 についての計算値 : 404.8477, ES-403.23, ES+ 405.062.

10

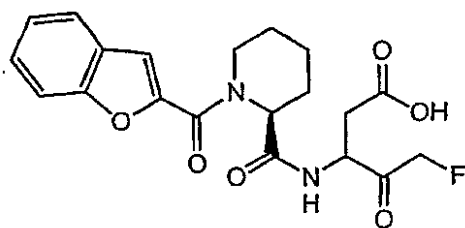
。

【0183】

(実施例 8 : [3S/R, (2S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - (ベンゾ
 フラン - 2 - カルボニル) - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 (化合物 8)
)

【0184】

【化56】



20

方法 A ~ G で記述した手順と類似の手順を使用して、表題化合物を調製した。その生成物
 を、白色発泡体 (3.7 mg、最後の工程で 6%) として、単離した:

【0185】

【化57】

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}+\text{TFA}$) δ 0.70-1.80 (5H,
 m), 2.10-3.60 (5H, m), 4.03-5.40 (4H, m), 7.20-7.83
 (5H, m), 8.35-8.80 (1H, m); ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) δ
 -226.75, -226.89, -232.71; Low Res. MS (ES) $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{CFN}_2\text{O}_6$
 についての計算値 : 404.3986, ES- 403.359, ES+ 405.165.

30

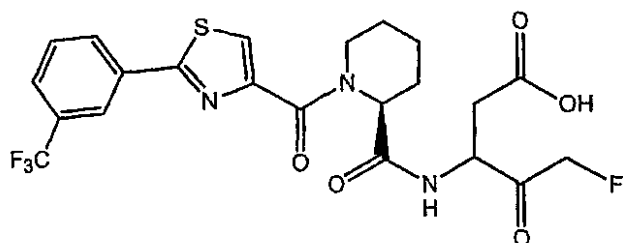
。

【0186】

(実施例 9 : [3S/R, (2S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - [2 - (40
 3 - トリフルオロメチル - フェニル) - チアゾール - 4 - カルボニル] - 2 - ピペリジン
 カルボキサミド] - ペンタン酸 (化合物 9))

【0187】

【化58】



方法 A ~ G で記述した手順と類似の手順を使用して、表題化合物を調製した。その生成物を、白色発泡体 (31 mg、最後の工程で 11%) として、単離した： 10

【0188】

【化59】

: IR (固形物) 1789, 1741, 1617, 1512, 1441, 1417, 1327, 1231, 1169, 1122 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 1.19-1.81 (5H, m), 2.04-3.55 (5H, m, Asp), 4.04-5.39 (4H, m), 7.64-8.36 (5H, m), 8.42-8.62 (1H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 20.54, 24.71, 25.13, 27.12, 27.88, 33.06, 34.54, 34.67, 45.29, 47.62, 52.28, 52.42, 53.09, 57.78, 83.22, 83.44, 85.22, 103.92, 104.11, 122.90, 125.50, 125.85, 127.35, 128.21, 129.95, 130.26, 130.58, 130.78, 131.07, 133.77, 151.09, 163.56, 163.97, 165.03, 171.12, 171.28, 172.10, 172.17, 202.81; ^{19}F (376 MHz, d_6 -DMSO) δ -61.76, -226.75, -226.85, -226.96, -227.04, -230.23, -230.35, -230.85, -232.49, -232.6, -232.64, -232.83; MS (LR, ES) 20

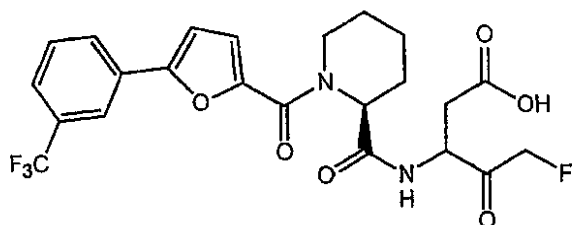
$\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{F}_4\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ についての計算値 : 515.4874, ES- 514.361, ES+ 516.167. 30

。【0189】

(実施例 10 : [3S/R, (2S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - [1 - [2 - (3 - トリフルオロメチル - フェニル) - フラン - 4 - カルボニル] - 2 - ピペリジンカルボキサミド] - ペンタン酸 (化合物 10)) 40

【0190】

【化60】



方法 A ~ G で記述した手順と類似の手順を使用して、表題化合物を調製した。その生成物を、白色発泡体 (8 2 m g 、最後の工程で 1 8 %) として、単離した :

【 0 1 9 1 】

【 化 6 1 】

IR (固形物) 1794, 1736, 1670, 1603, 1522, 1431, 1331, 1255, 1165 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO +TFA) δ 1.25-3.58 (10H, m), 4.18-5.34 (4H, m), 6.98-7.41 (2H, m), 7.62-7.78 (2H, m), 7.91-8.13 (2H, m), 8.10-8.80 (1H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO +TFA) δ 19.18, 19.42, 31.48, 33.13, 33.32, 50.87, 50.96, 81.95, 81.98, 83.73, 83.76, 102.49, 102.54, 102.69, 107.73, 116.84, 118.78, 119.28, 121.49, 123.66, 124.20, 126.62, 126.91, 128.68, 129.00, 129.16, 129.21, 129.31, 145.80, 145.87, 151.28, 151.39, 157.83, 158.40, 169.27, 169.64, 170.60, 170.70, 171.80, 201.16, 201.30, 201.43; ^{19}F (376 MHz, d_6 -DMSO +TFA) δ -61.63, -226.79, -232.56; MS (LR, ES) $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{F}_4\text{N}_2\text{O}_6$ についての計算値 : 498.4352, ES- 497.313, ES+ 499.233.

10

20

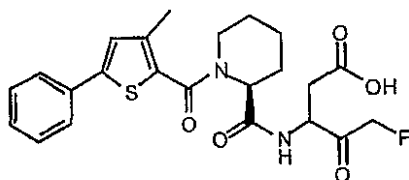
【 0 1 9 2 】

(実施例 11 : [3 S / R , (2 S)] - 5 - フルオロ - 3 - { [1 - (3 - メチル - 5 - フェニル - チオフェン - 2 - カルボニル) ピペリジン - 2 - カルボニル] - アミノ } - 4 - オキソ - ペンタン酸 (化合物 11))

30

【 0 1 9 3 】

【 化 6 2 】



40

方法 N : 5 - ブロモ - 3 - メチル - チオフェン - 2 - カルボアルデヒド

3 - メチルチオフェン - 2 - カルボアルデヒド (1 0 g 、 0 . 0 7 9 m o l) のジクロロメタン (1 0 m l) 溶液を、室温で、臭素 (4 . 0 8 m l 、 0 . 0 7 9 m o l) のジクロロメタン (1 5 m l) 攪拌溶液に滴下した。得られた混合物を、3時間にわたって、還流温度まで加熱した後、室温まで冷却し、水 (3 × 5 0 m l) 、飽和 NaHCO_3 溶液 (2 × 2 5 m l) で洗浄し、乾燥し (MgSO_4) 、そして減圧下にて溶媒を除去して、褐色固形物 (1 4 . 7 g 、収率 6 6 %) として、副題化合物を得た :

【 0 1 9 4 】

【 化 6 3 】

: ^1H

NMR (400MHz, CDCl_3) δ_{H} 2.60 (3H, s), 6.97 (1H, s) 9.20 (1H, s).

。方法O: 3-メチル-5-フェニル-チオフェン-2-カルボアルデヒド 5-ブロモ-3-メチル-チオフェン-2-カルボアルデヒド (1.00 g、4.88 mmol) のエチレングリコールジメチルエーテル (9 ml) 溶液に、フェニルボロン酸 (0.773 g、6.34 mmol)、2 M Na_2CO_3 溶液 (6.3 ml) および $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.282 g、0.24 mmol) を加えた。その混合物を18時間加熱し、冷却し、減圧下で溶媒を除去すると、褐色残留物が残り、これを、水 (15 ml) とジクロロメタン (20 ml) との間で分割した。その有機物を分離し、水 (2 × 5 ml)、ブライン (10 ml) で洗浄し、乾燥し (MgSO_4)、そして減圧下で溶媒を除去して、褐色オイルを得た。フラッシュカラムクロマトグラフィー (6:1 のペトロール40~60 / 酢酸エチル) で精製すると、黄色オイル (0.90 g、収率91%) として、副題が得られた:

【0195】

【化64】

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ_{H} 2.75 (3H, s), 7.25 (1H, s) 7.35-7.75 (5H, s), 10.05 (1H, s)

。方法P: 3-メチル-5-フェニル-チオフェン-2-カルボン酸 3-メチル-5-フェニルチオフェン-2-カルボアルデヒド (0.200 g、0.99 mmol) および 2-メチル-2-ブテン (2.77 g、0.040 mol) のジメチルホルムアミド (4 ml) 攪拌溶液に、0 で、水 (5 ml) 中の NaClO_2 (0.894 g、9.89 mmol) および NaH_2PO_4 (1.09 g、7.91 mmol) を加えた。その溶液を室温まで暖め、そして18時間攪拌した。減圧下で溶媒を除去し、その残留物を、ジクロロメタン (10 ml) と 1 N HCl 溶液 (10 ml) との間で分割した。その有機物を分離し、その水層をジクロロメタン (2 × 5 ml) で抽出した。合わせた有機層を乾燥し (MgSO_4)、減圧下にて溶媒を除去して、黄色オイルを得た。フラッシュクロマトグラフィー (50% 酢酸エチル / ペトロール40~60) で精製すると、白色固形物 (0.14 g、収率69%) として、副題化合物が得られた:

【0196】

【化65】

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ_{H} 2.65 (3H, s), 7.25 (1H, s) 7.35-7.80 (5H, s)

。方法Q: [3S/R, (2S)] - 5-フルオロ-3-{[1-(3-メチル-5-フェニル-チオフェン-2-カルボニル)-2-ピペリジン-2-カルボニル]-アミノ}-4-オキソ-ペンタン酸

方法F、H~Kで記述した手順と類似の手順を使用して、3-メチル-5-フェニル-チオフェン-2-カルボン酸から、表題化合物を調製した。その生成物を、白色発泡体 (0.066 g、収率81%) として、単離した:

【0197】

【化 6 6】

IR (薄膜) 1781.5, 1715.3, 1668.0, 1597.1, 1441.0, 1190.3 cm^{-1} ; ^1H NMR (400MHz, DMSO) δ_{H} 1.00-1.80 (6H, m), 1.90-2.30 (4H, m), 2.70-3.90 (4H, m), 4.10-5.50 (4H, 2 x m), 7.30-8.60 (6H, 4 x m); ^{19}F NMR (376MHz, DMSO) -61.7, -224.3, -226.7, -226.8, -227.5, -232.7, -233.4; MS (FAB +ve, HR) $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{FN}_2\text{O}_5\text{S}$ についての計算値 (MH-) 459.52, 実測値 459.40.

10

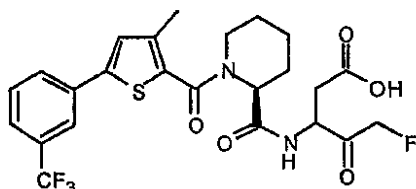
【0 1 9 8】

(実施例 12 : [3 S / R , (2 S)] - 5 - フルオロ - 3 - ({ 1 - [3 - メチル - 5 - (3 - トリフルオロメチル - フェニル) - チオフェン - 2 - カルボニル] - ピペリジン - 2 - カルボニル } - アミノ) - 4 - オキソ - ペンタン酸 (化合物 12))

【0 1 9 9】

【化 6 7】

20



方法 F、H ~ K、N ~ P で記述した手順と類似の手順を使用して、3 - メチルチオフェン - 2 - カルボアルデヒドから、表題化合物を調製した。その生成物を、淡桃色固形物 (0 . 1 6 g、9 4 %) として、単離した :

【0 2 0 0】

【化 6 8】

IR

(薄膜) 1784.0, 1726.9, 1664.9, 1588.7, 1436.2, 1326.6, 1164.6 cm^{-1} ; ^1H NMR (400MHz, DMSO) δ_{H} 1.00-1.80 (6H, m), 1.90-2.30 (4H, m), 2.70-4.05 (4H, m), 4.10-5.40 (4H, m), 7.00-9.00 (6H, m); ^{19}F NMR (376MHz, DMSO) -62.0, -224.3, -226.7, -226.9, -227.5, -232.6, -232.7, -233.4; MS (FAB +ve, HR) $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{F}_4\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ についての計算値 (MH-) 527.41, 実測値 527.52.

40

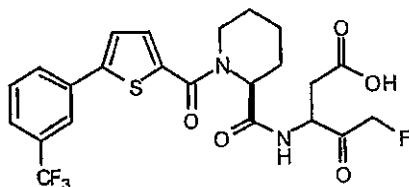
【0 2 0 1】

(実施例 13 : [3 S / R , (2 S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - ({ 1 - [5 - (3 - トリフルオロメチル - フェニル) - チオフェン - 2 - カルボニル] - ピペリジン - 2 S - カルボニル } - アミノ) - ペンタン酸 (化合物 13))

【0 2 0 2】

【化 6 9】

50



方法 F、H ~ K、N ~ P で記述した手順と類似の手順を使用して、チオフェン - 2 - カルボアルデヒドから、表題化合物を調製した。その生成物を、淡黄色固形物 (0.23 g、93%) として、単離した：

10

【0203】

【化70】

IR

(film) 1784.0, 1722.1, 1664.9, 1588.7, 1531.5, 1321.8, 1164.6 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ_H 0.90-1.85 (6H, m), 2.00-2.40 (1H, m), 2.45-3.50 (3H, m), 3.90-5.55 (4H, m), 7.00-9.05 (7H, m); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO) -61.7, -224.3, -226.7, -226.8, -227.5, -227.6, -232.7, -233.4;

MS (FAB +ve, HR) C₂₃H₂₃F₄N₂O₅S についての計算値 (MH⁺)
515.51, 実測値 515.35.

20

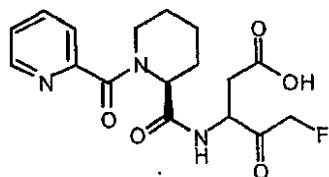
。

【0204】

(実施例 14 : [3S/R, (2S)] - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - 3 - { [1 - (ピリジン - 2 - カルボニル) - ピペリジン - 2 - カルボニル] - アミノ } - ペンタン酸 (化合物 14))

【0205】

【化71】



方法 F、H ~ K で記述した手順と類似の手順を使用して、ピリジン - 2 - カルボン酸から、表題化合物を調製した。その生成物を、白色固形物 (0.10 g、93%) として、単離した：

40

【0206】

【化72】

IR (薄膜)

2945.4, 1650.5, 1446.6, 1186.5, 1139.9 cm^{-1} ; ^1H NMR

(400MHz, CDCl_3) δ_{H} 1.40-1.80 (6H, m), 2.20-2.50 (1H, m),

2.69-3.12 (2H, m), 3.29-3.35 (1H, m), 3.48-3.51 (1H,

m), 4.47-5.29 (3H, m), 7.37-9.11 (6H, m); ^{19}F NMR

(376MHz, CDCl_3) -231.69, -231.56, -231.44; MS (FAB +ve,

HR) $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{FN}_3\text{O}_5$ についての計算値 (MH+) 366.36, 実測値 366.4.

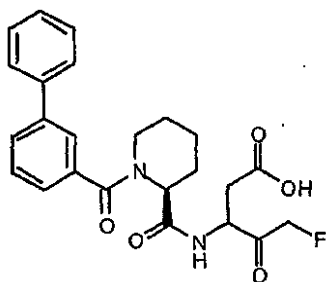
10

【 0 2 0 7 】

(実施例 15 : [3 S / R , (2 S)] - 3 - { [1 - (ビフェニル - 3 - カルボニル)
ピペリジン - 2 - カルボニル] - アミノ } - 5 - フルオロ - 4 - オキソ - ペンタン酸 (化
合物 15))

【 0 2 0 8 】

【 化 7 3 】



20

方法 F、H ~ K で記述した手順と類似の手順を使用して、3 - ビフェニルカルボン酸から
、表題化合物を調製した。その生成物を、白色固形物 (0 . 1 3 g、9 7 %) として、単
離した :

30

【 0 2 0 9 】

【 化 7 4 】

IR (薄膜)

2930.9, 1782.2, 1723.7, 1668.6, 1596.1, 1444.2, 1174.7

cm^{-1} ; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ_{H} 1.40-1.90 (6H, m), 2.19-

2.41 (1H, m), 2.70-3.30 (3H, m), 3.70-3.85 (1H, m),

4.30-5.50 (3H, m), 7.35-7.70 (11H, m); ^{19}F NMR (376MHz,

CDCl_3) -229.60, -229.88; MS (FAB +ve, HR) $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{FN}_2\text{O}_5$

についての計算値 (MH+) 441.46, 実測値 441.4.

40

【 0 2 1 0 】

(生物学的方法)

(実施例 16 : 酵素アッセイ)

カスパーゼ阻害についてのアッセイは、精製した組換え型ヒトカスパーゼ - 1、- 3、-
7 または - 8 による蛍光原性基質に基づいている。これらのアッセイは、W O 0 1 / 4 2
2 1 6 で報告された様式と実質的に同じ様式で、実行する。

50

【0211】

実施例1～15の化合物は、カスパーゼ-1、-3および-8に対して、 $5,000\text{ M}^{-1}\text{ s}^{-1}$ より大きい K_{inact} 値を有する。

【0212】

(実施例17：末梢血単核細胞(PBMC)の混合集団からのIL-1分泌の阻害)
カスパーゼ-1のプレIL-1のプロセッシングは、種々の細胞源を使用して、細胞培養物で測定できる。健康なドナーから得たヒトPBMCは、リンパ球細胞および単核細胞の混合集団を提供し、これらは、多くの種類の生理学的刺激装置に反応して、一連のインターロイキンおよびサイトカインを産生する。末梢血単核細胞の混合集団からのIL-1分泌の阻害に使用されるアッセイ条件は、W001/42216で見出だされる。

10

【0213】

上記化合物の阻害効力は、 IC_{50} 値で表わすことができ、これは、正対照と比較して、その上澄み液中で成熟IL-1の50%が検出される阻害剤濃度である。本発明の化合物10は、上記方法で決定したように、末梢血単核細胞からのIL-1分泌の阻害について、 $0.5\text{ }\mu\text{M}$ 未満の IC_{50} を示した。

【0214】

(実施例18：抗-Fas誘発アポトーシスアッセイ)
細胞アポトーシスは、Fas配位子(FasL)をそのレセプタであるCD95(Fas)に結合することにより、誘発できる。カスパーゼ-8-媒介アポトーシス経路の阻害に対する化合物の効果測定のためのアッセイ条件は、W001/42216に見出だされる。

20

【0215】

本発明の化合物3は、このFAS誘発アポトーシスアッセイにおいて、 $0.05\text{ }\mu\text{M}$ 未満の IC_{50} を示した。

【0216】

(実施例19：全血からのTNF放出の阻害)
ヒト血液を健康なドナーから新たに引き出し、そして真空容器で収集した。血液を、無菌容器にて、PBS(組織培養物、発熱物質なし)中で、1:2で希釈し、そして反転してよく混合した。血液混合物の 0.5 ml アリコート、96ウェルフォーマットで、クラスタチューブに分配した。

30

【0217】

これらの化合物の 100 mM DMSOストックを取り出し、エッペンドルフにて、RPMI媒体中で、1:10に希釈して、 10 mM ストックを得ることにより、これらの試験化合物の希釈物を調製した。これらのストック溶液から、1:5の連続希釈物を調製した。

【0218】

LPSを、PBS中にて、凍結ストック(-20°C)で保ち、次いで、RPMI媒体で、1:10まで希釈し、最終的に、この媒体中にて、再度、1:350に希釈した。これらの血液試料に、各試験化合物(第一濃度は、 $100\text{ }\mu\text{M}$ であった) $50\text{ }\mu\text{l}$ を加え、次いで、 $10\text{ }\mu\text{l}$ LPS(そのウェル中の最終濃度は、 5 ng/ml であった)で刺激した。
それらの内容物を、8ウェルマルチチャンネルピペットを使用して穏やかに混合し、そして37 $^{\circ}\text{C}$ で、一晚インキュベートした。このインキュベーション時間の終わりに、内容物を穏やかに混合し、次いで、 $1000\times g$ で、5分間にわたって、20 $^{\circ}\text{C}$ で、遠心沈殿した。その血清上澄み液を、そのRBCsを乱すことなく、新しいプレートに移し、そして希釈剤RD6Cで1:2に希釈した。

40

【0219】

R+DシステムELISAキットを使用し、R+Dシステムプロトコルを使用して、上澄み液のTNF- α レベルをアッセイした。試料を、 450 nm で読み取った。本発明の最も好ましい化合物は、全血中にて、LPS-誘発TNF- α アッセイで、 $6\text{ }\mu\text{M}$ 未満の IC_{50} を示した。

50

【 0 2 2 0 】

本発明の化合物 1 0 は、全血中にて、L P S - 誘発 T N F - アッセイで、6 μ M (5 0 4 4 n M) 未満の I C _{5 0} を示した。

【 0 2 2 1 】

本発明者は、本発明の多数の実施形態を記述しているものの、本発明者の基本的な例は、他の実施形態（これらは、本発明の化合物および方法を利用する）を提供するように変更できることが明らかである。従って、本発明の範囲は、特定の実施形態（これらは、一例として、表わされている）よりもむしろ、添付の請求の範囲で規定され得ることが理解できるはずである。

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
31 October 2002 (31.10.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/085899 A1

- (51) International Patent Classification: C07D 417/06, 401/06, 211/60, 405/06, 409/06, A61K 31/445, A61P 29/00
- (52) International Application Number: PCT/US02/12538
- (22) International Filing Date: 19 April 2002 (19.04.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 60/285,051 19 April 2001 (19.04.2001) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED [US/US]; 130 Waverly Street, Cambridge, MA 02139-4242 (US).
- (72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants (for US only): DIU-HERCEND, Anita [FR/FR]; 39, rue Gabrielle, F-94220 Charenton-le-Pont (FR). GOLEC, Julian [GB/GB]; 8 Manor Farm, Chapel Road, Ashbury, Swindon, Wiltshire SN6 8LS (GB). HERCEND, Thierry [FR/FR]; 39, rue Gabrielle, F-94220 Charenton-le-Pont (FR). KNEGTEL, Ronald [NL/GB]; 92, Androsy Way, Abingdon, Oxfordshire OX14 5NW (GB). LANG, Paul [FR/FR]; Buequingny, F-74250 Vizoz-Sallaz (FR). MILLER, Andrew [GB/GB]; Cherry Cottage, Chilton Road, Upton, Didcot, Oxfordshire OX11 9IC (GB). MILLER, Karen [GB/GB]; Tanglewood, West Ilsley, Newbury, Berkshire RG20 7AL (GB). MORTIMORE, Michael [GB/GB];
- Walrus House, 156 The Hill, Burford, Oxfordshire OX18 4QY (GB). WEBER, Peter [DE/GB]; 76 West St. Helens Street, Abingdon, Oxfordshire OX14 5BP (GB).
- (74) Agents: HALEY, James, F. Fish & Neave, 1251 Avenue of the Americas, New York, NY 10020 et al. (US).
- (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EG, ES, FI, GB, GD, GI, GR, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, VU, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BI, CI, CG, CL, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).
- Published:
— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/085899 A1

(54) Title: HETEROCYCLYLIC CARBAMIDES AS CASPASE INHIBITORS

(57) Abstract: The present invention relates to novel classes of compounds of formula (I) which are caspase and TNF- α inhibitors. This invention also relates to pharmaceutical compositions comprising these compounds. The compounds and pharmaceutical compositions of this invention are particularly well suited for inhibiting caspase and TNF- α activity and consequently, can be advantageously used as agents against caspase-, interleukin-1- ("IL-1"), apoptosis-, interferon- γ inducing factor-, (GITF), interferon- γ ("IFN- γ "), or TNF- α mediated diseases, including inflammatory diseases, autoimmune diseases, destructive bone disorders, proliferative disorders, infectious diseases, and degenerative diseases. This invention also relates to processes for preparing the compounds of this invention. This invention also relates to methods for inhibiting caspase and TNF- α activity and decreasing (GITF) production and IFN- γ production and methods for treating caspase-, interleukin-1-, apoptosis-, and interferon- γ -, and TNF- α mediated diseases using the compounds and compositions of this invention.

WO 02/085899

PCT/US02/12638

HETEROCYCLYLIDICARBAMIDES AS CASPASE INHIBITORS

Field of the Invention

This invention is in the field of medicinal
5 chemistry and relates to novel compounds, and
pharmaceutical compositions thereof, that inhibit
caspases and/or TNF-alpha that mediate cell apoptosis
and inflammation and inhibit pathophysiologic effects
of excessive amounts of TNF-alpha in a mammal. The
10 invention also relates to processes for preparing and
methods of using the compounds and pharmaceutical
compositions of this invention to treat diseases where
caspase and/or TNF-alpha activity is implicated.

Background of the Invention

15 Apoptosis, or programmed cell death, is a
principal mechanism by which organisms eliminate
unwanted cells. The deregulation of apoptosis, either
excessive apoptosis or the failure to undergo it, has
been implicated in a number of diseases such as cancer,
20 acute inflammatory and autoimmune disorders, ischemic
diseases and certain neurodegenerative disorders (see
generally *Science*, 1998, 281, 1283-1312; and Ellis et
al., *Ann. Rev. Cell. Biol.*, 1991, 7, 663).

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 2 -

Caspases are a family of cysteine protease enzymes that are key mediators in the signaling pathways for apoptosis and cell disassembly (Thornberry, *Chem. Biol.*, 1998, 5, R97-R103). These signaling pathways vary depending on cell type and stimulus, but all apoptosis pathways appear to converge at a common effector pathway leading to proteolysis of key proteins. Caspases are involved in both the effector phase of the signaling pathway and further upstream at its initiation. The upstream caspases involved in initiation events become activated and in turn activate other caspases that are involved in the later phases of apoptosis.

Caspase-1, the first identified caspase, is also known as interleukin converting enzyme or "ICE." Caspase-1 converts precursor interleukin-1 β ("pIL-1 β ") to the pro-inflammatory active form by specific cleavage of pIL-1 β between Asp-116 and Ala-117. Besides caspase-1 there are also eleven other known human caspases, all of which cleave specifically at aspartyl residues. They are also observed to have stringent requirements for at least four amino acid residues on the N-terminal side of the cleavage site.

The caspases have been classified into three groups depending on the amino acid sequence that is preferred or primarily recognized. The group of caspases, which includes caspases 1, 4, and 5, has been shown to prefer hydrophobic aromatic amino acids at position 4 on the N-terminal side of the cleavage site. Another group which includes caspases 2, 3 and 7, recognizes aspartyl residues at both positions 1 and 4 on the N-terminal side of the cleavage site, and preferably a sequence of Asp-Glu-X-Asp. A third group,

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 3 -

which includes caspases 6, 8, 9 and 10, tolerates many amino acids in the primary recognition sequence, but seems to prefer residues with branched, aliphatic side chains such as valine and leucine at position 4.

5 The caspases have also been grouped according to their perceived function. The first subfamily consists of caspases-1 (ICE), 4, and 5. These caspases have been shown to be involved in pro-inflammatory cytokine processing and therefore play an important
10 role in inflammation. Caspase-1, the most studied enzyme of this class, activates the IL-1 β precursor by proteolytic cleavage. This enzyme therefore plays a key role in the inflammatory response. Caspase-1 is
15 also involved in the processing of interferon gamma inducing factor (IGIF or IL-18) which stimulates the production of interferon gamma, a key immunoregulator that modulates antigen presentation, T-cell activation and cell adhesion.

 The remaining caspases make up the second and
20 third subfamilies. These enzymes are of central importance in the intracellular signaling pathways leading to apoptosis. One subfamily consists of the enzymes involved in initiating events in the apoptotic pathway, including transduction of signals from the
25 plasma membrane. Members of this subfamily include caspases-2, 8, 9 and 10. The other subfamily, consisting of the effector caspases 3, 6 and 7, is involved in the final downstream cleavage events that result in the systematic breakdown and death of the
30 cell by apoptosis. Caspases involved in the upstream signal transduction activate the downstream caspases, which then disable DNA repair mechanisms, fragment DNA,

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 4 -

dismantle the cell cytoskeleton and finally fragment the cell.

Knowledge of the four amino acid sequence primarily recognized by the caspases has been used to design caspase inhibitors. Reversible tetrapeptide inhibitors have been prepared having the structure $\text{CH}_3\text{CO}-[\text{P}_4]-[\text{P}_3]-[\text{P}_2]-\text{CH}(\text{R})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ where P2 to P4 represent an optimal amino acid recognition sequence and R is an aldehyde, nitrile or ketone capable of binding to the caspase cysteine sulfhydryl. Rano and Thornberry, *Chem. Biol.* **4**, 149-155 (1997); Mjalli, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **3**, 2689-2692 (1993); and Nicholson et al., *Nature* **376**, 37-43 (1995). Irreversible inhibitors based on the analogous tetrapeptide recognition sequence have been prepared where R is an acyloxymethylketone ($-\text{COCH}_2\text{OCOR}'$), wherein R' is exemplified by an optionally substituted phenyl such as 2,6-dichlorobenzoyloxy, and where R is COCH_2X wherein X is a leaving group such as F and Cl. Thornberry et al., *Biochemistry* **33**, 3934 (1994); and Dolle et al., *J Med. Chem.* **37**, 563-564 (1994).

The utility of caspase inhibitors to treat a variety of mammalian disease states associated with an increase in cellular apoptosis has been demonstrated using peptidic caspase inhibitors. For example, in rodent models, caspase inhibitors have been shown to reduce infarct size and inhibit cardiomyocyte apoptosis after myocardial infarction, to reduce lesion volume and neurological deficit resulting from stroke, to reduce post-traumatic apoptosis and neurological deficit in traumatic brain injury, to effectively treat fulminant liver destruction, and to improve survival after endotoxic shock. Yaoita et al., *Circulation*, **97**,

WO 02/085899

PCT/US02/12638

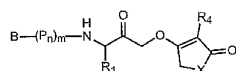
- 5 -

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

In general, the peptidic inhibitors described above are very potent against some of the caspase enzymes. However, this potency has not always been reflected in cellular models of apoptosis. In addition peptide inhibitors are typically characterized by undesirable pharmacological properties such as poor oral absorption, poor stability and rapid metabolism. Plattner and Norbeck, in *Drug Discovery Technologies*, Clark and Moos, Eds. (Ellis Horwood, Chichester, England, 1990).

Recognizing the need to improve the pharmacological properties of the peptidic caspase inhibitors, peptidomimetic and non-natural amino acid peptide inhibitors have been reported.

WO 96/40647 discloses ICE inhibitors of the formula:



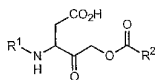
25 wherein B is H or an N-terminal blocking group; R₁ is the amino acid side chain of the P₁ amino acid residue wherein the P₁ amino acid is Asp; P_n is an amino acid residue or a heterocyclic replacement of the amino acid wherein the heterocycle is defined in the application;

30 R₄ is hydroxyl, alkoxy, acyl, hydrogen, alkyl or

WO 02/085899

PCT/US02/12638

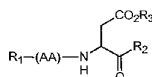
- 7 -



wherein R^1 is, *inter alia*, $R^5N(R^6)CHR^6CO-$; R^2 is certain groups; R^6 is H, C_{1-6} alkyl, $-(CH_2)_n$ aryl, $-(CH_2)_nCO_2R^a$, hydroxyl substituted C_{1-6} alkyl, or imidazole
 5 substituted C_{1-6} alkyl; each R^a is independently hydrogen, C_{1-6} alkyl or $(CH_2)_n$ aryl; and R^5 is, *inter alia*, $CONR^aR^a$.

WO 99/18781 discloses dipeptide apoptosis inhibitors having the formula:

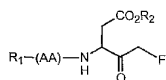
10



where R_1 is an N-terminal protecting group; AA is a residue of any natural α -amino acid, or β -amino acid; R_2
 15 is H or CH_2R_4 where R_4 is an electronegative LG such as F, Cl, TsO-, MeO-, ArO-, ArCOO-, ArN- and ArS-; and R_3 is alkyl or H.

WO 99/047154 discloses dipeptide apoptosis inhibitors having the formula:

20



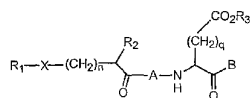
where R_1 is an N-terminal protecting group; AA is any non-natural amino acid or amino acid residue; and R_2 is an optionally substituted alkyl or H as defined in the application.

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 8 -

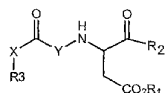
WO 00/023421 discloses (substituted) acyl dipeptide apoptosis inhibitors having the formula:



5

where n is 0, 1, or 2; q is 1 or 2; A is a residue of any natural or non-natural amino acid; B is a hydrogen atom, a deuterium atom, C1-10 straight chain or branched alkyl, cycloalkyl, phenyl, substituted phenyl, naphthyl, substituted naphthyl, 2-benzoxazolyl, substituted 2-oxazolyl, (CH₂)_mcycloalkyl, (CH₂)_mphenyl, (CH₂)_m(substituted phenyl), (CH₂)_m(1- or 2-naphthyl), (CH₂)_mheteroaryl, halomethyl, CO₂R₁₃, CONR₁₄R₁₅, CH₂ZR₁₆, CH₂OCOaryl, CH₂OCO(substituted aryl), CH₂OCO(heteroaryl), CH₂OCO(substituted heteroaryl), or CH₂OPC(R₁₇)R₁₈, where R₁₃, R₁₄, R₁₅, R₁₆, R₁₇, R₁₈ and m are as defined in the application; R₂ is selected from a group consisting of hydrogen, alkyl, cycloalkyl, phenyl, substituted phenyl, and (CH₂)_nNH₂; R₃ is hydrogen, alkyl, cycloalkyl, (cycloalkyl)alkyl, phenylalkyl, or substituted phenylalkyl; X is CH₂, C=O, O, S, NH, C(=O)NH or CH₂OCONH; and Z is an oxygen or a sulfur atom.

WO 00/061542 discloses dipeptide apoptosis inhibitors having the formula:



WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 9 -

where R_1 is an optionally substituted alkyl or hydrogen group; R_2 is hydrogen or optionally substituted alkyl; Y is a residue of a natural or non-natural amino acid; R_3 is an alkyl, saturated carbocyclic, partially saturated
5 carbocyclic, aryl, saturated heterocyclic, partially saturated heterocyclic or heteroaryl group, wherein said group is optionally substituted; and X is O , S , NR_4 , or $(CR_4R_5)_n$ where R_4 and R_5 are, at each occurrence, independently selected from the group consisting of
10 hydrogen, alkyl and cycloalkyl, and n is 0, 1, 2, or 3; or X is NR_4 , and R_3 and R_4 are taken together with the nitrogen atom to which they are attached to form a saturated heterocyclic, partially saturated
heterocyclic or heteroaryl group, wherein said group is
15 optionally substituted; or X is CR_4R_5 , and R_3 and R_4 are taken together with the carbon atom to which they are attached to form a saturated carbocyclic, partially saturated carbocyclic, aryl, saturated heterocyclic, partially saturated heterocyclic or oxygen-containing
20 heteroaryl group, wherein said group is optionally substituted; and provided that when X is O , then R_3 is not unsubstituted benzyl or *t*-butyl; and when X is CH_2 , then R_3 is not H .

Generally, the term tumor necrosis factor
25 (TNF) refers to two closely related cytokines (encoded by separate genes) known as tumor necrosis factor- α (TNF, cachectin) and tumor necrosis factor- β (lymphotoxin, TNF- β). Both cytokines interact with the same cell membrane receptors, and both have been
30 implicated as pathogenic mediators of human illness.

TNF- α participates in the signaling pathways that regulate cell apoptosis and inflammation. TNF- α is also known as TNFSF2, TNFA and DIF. TNF-

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 10 -

alpha is a pro-inflammatory mammalian protein capable of inducing cellular effects by virtue of its interaction with specific cellular receptors. It is produced primarily by activated monocytes and
5 macrophages. Lipopoly-sacccharide (LPS, also called endotoxin), derived from the cell wall of gram negative bacteria, is a potent stimulator of TNF-alpha synthesis.

Due to the deleterious effects which can
10 result from an over-production or an unregulated production of TNF-alpha, considerable efforts have been made to regulate the serum level of TNF-alpha. The pathology of a number of diseases are affected by TNF-alpha, including, restinosis, inflammatory diseases of
15 the central nervous system, demyelinating diseases of the nervous system, multiple sclerosis, septic arthritis, aneurysmal aortic disease, traumatic joint injury, peridental disease, macular degeneration, diabetic retinopathy, ocular inflammation,
20 keratoconus, Sjogren's syndrome, corneal graft rejection, cachexia, and anorexia.

While a number of caspase and TNF-alpha inhibitors have been reported, it is not clear whether they possess the appropriate pharmacological properties
25 to be therapeutically useful. Therefore, there is a continued need for small molecule caspase and TNF-alpha inhibitors that are potent, stable, and have good penetration through membranes to provide effective inhibition of apoptosis *in vivo*. Such compounds would
30 be extremely useful in treating the aforementioned disease states where caspase enzymes and/or TNF-alpha cytokines play a role.

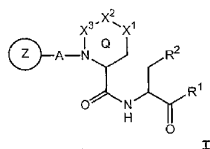
WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 11 -

Summary of the Invention

It has now been found that compounds of this invention and pharmaceutical compositions thereof are particularly effective as inhibitors of caspases, regulators of TNF-alpha levels or activity and inhibitors of cellular apoptosis and inflammatory responses. These compounds have the general formula I:



10

wherein:

R¹ is hydrogen, CN, CHN₂, R, or -CH₂Y;

R is an aliphatic group, a substituted aliphatic group, an aryl group, a substituted aryl group, an aralkyl group, a substituted aralkyl group, a non-aromatic heterocyclic group, or a substituted non-aromatic heterocyclic group;

Y is an electronegative leaving group, -OR, -SR, -OC=O(R), or -OPO(R³)(R⁴);

R³ and R⁴ are independently R or OR;

R² is CO₂H, CH₂CO₂H, or optionally substituted esters, amides or isosteres thereof;

A is C=O or SO₂;

X¹ is oxygen, sulfur, -NH, or -CH₂, wherein -NH is optionally substituted by an alkyl group, a cycloalkyl group, a (cycloalkyl)alkyl group, an amino acid N-terminal protecting group, or COR and -CH₂ is optionally substituted by fluorine, an alkyl group, a

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 12 -

cycloalkyl group, a (cycloalkyl)alkyl group, an aralkyl group, an aryl group, an alkyloxy group, an alkylthioxy group, an aryloxy group, an arylthioxy group, an oxo group (i.e., =O), or a NHCOR group;

5 X² is oxygen, sulfur, -NH, or -CH₂, wherein -NH is optionally substituted by an alkyl group, or an amino acid N-terminal protecting group and -CH₂ is optionally substituted by an alkyl group, an aryl group, an alkyloxy group, an alkylthioxy group, an aryloxy group, an arylthioxy group, or an oxo (i.e., =O) group, a NHCOR group; X¹ and X² optionally form part of a phenyl ring that is fused to the adjoining ring Q;

10 X³ is CH₂ or X² and X³ optionally form part of a phenyl ring that is fused to the adjoining ring Q, provided that when X² forms a ring with X³, then X² does not form a ring with X¹;

any two hydrogens attached to adjacent positions in ring Q are optionally replaced by a double bond; and

20 Z is an optionally substituted ring selected from the group consisting of a carbocyclic, an aryl, a saturated heterocycle, a partially saturated heterocycle, and a heteroaryl wherein the ring is connected to A at a ring carbon.

25 The compounds of this invention are potent inhibitors of caspase and TNF activity. They have inhibiting activity across a range of caspase targets with good efficacy in cellular models of apoptosis and inflammation. In addition, these compounds are expected to have improved cell penetration and pharmacokinetic properties and, as a consequence of their potency, have improved efficacy against diseases where caspases and/or TNF-alpha are implicated.

30

WO 02/085899

PCT/US02/12638

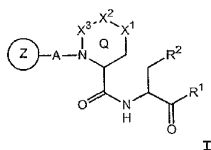
- 13 -

The invention also relates to methods for inhibiting the release of TNF-alpha from various cells or decreasing TNF-alpha levels or activity using the compounds and compositions of this invention. The invention also relates to methods for identifying agents useful for decreasing TNF-alpha levels or activity and treating TNF-alpha mediated diseases. The invention additionally relates to kits comprising a compound or composition of this invention and a tool for measuring TNF-alpha levels or activity.

Detailed Description of the Invention

This invention provides novel compounds and pharmaceutically acceptable derivatives thereof that are particularly effective as caspase inhibitors and/or regulators of TNF-alpha levels or activity. The invention also provides methods for using the compounds to treat caspase and/or TNF-alpha mediated disease states in mammals. The compounds have the general formula I:

20



wherein:

R¹ is hydrogen, CN, CHN₂, R, or -CH₂Y;

25 R is an aliphatic group, a substituted aliphatic group, an aryl group, a substituted aryl group, an aralkyl group, a substituted aralkyl group, a non-aromatic

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 14 -

heterocyclic group, or a substituted non-aromatic heterocyclic group;

Y is an electronegative leaving group, -OR, -SR, -OC=O(R), or -OPO(R³)(R⁴);

5 R³ and R⁴ are independently R or OR;

R² is CO₂H, CH₂CO₂H, or optionally substituted esters, amides or isosteres thereof;

A is C=O or SO₂;

X¹ is oxygen, sulfur, -NH, or -CH₂, wherein -NH is
10 optionally substituted by an alkyl group, a cycloalkyl group, a (cycloalkyl)alkyl group, an amino acid N-terminal protecting group, or COR and -CH₂ is optionally substituted by fluorine, an alkyl group, a cycloalkyl group, a (cycloalkyl)alkyl group, an
15 aralkyl group, an aryl group, an alkyloxy group, an alkylthioxy group, an aryloxy group, an arylthioxy group, an oxo group (i.e., =O), or a NHCOR group;

X² is oxygen, sulfur, -NH, or -CH₂, wherein -NH is
20 optionally substituted by an alkyl group or an amino acid N-terminal protecting group and -CH₂ is optionally substituted by an alkyl group, an aryl group, an alkyloxy group, an alkylthioxy group, an aryloxy group, an arylthioxy group, or an oxo (i.e., =O) group, a NHCOR group; X¹ and X² optionally form
25 part of a phenyl ring that is fused to the adjoining ring Q;

X³ is CH₂ or X² and X³ optionally form part of a phenyl ring that is fused to the adjoining ring Q, provided that when X² forms a ring with X³, then X² does not
30 form a ring with X¹;

any two hydrogens attached to adjacent positions in ring Q are optionally replaced by a double bond; and

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 15 -

Z is an optionally substituted ring selected from the group consisting of a carbocyclic, an aryl, a saturated heterocycle, a partially saturated heterocycle, and a heteroaryl wherein the ring is connected to A at a ring carbon.

As used herein, the following definitions shall apply unless otherwise indicated. The term "condition" or "state" refers to any disease, disorder or effect that produces deleterious biological consequences in a subject.

According to this invention, "TNF" or "TNF alpha" refers to TNF-alpha.

The term "subject" refers to an animal, or to one or more cells derived from an animal. Preferably, the animal is a mammal, most preferably a human. The cells can be in any form, including but not limited to cells retained in tissue, cell clusters, immortalized cells, transfected or transformed cells, and cells derived from an animal that have been physically or phenotypically altered.

The term "interferon gamma inducing factor" or "IGIF" refers to a factor which is capable of stimulating the endogenous production of IFN- γ .

The term "aliphatic" means straight chain, branched or cyclic C₁-C₁₂ hydrocarbons which are completely saturated or contain one or more units of unsaturation. For example, suitable aliphatic groups include substituted or unsubstituted linear, branched or cyclic alkyl, alkenyl, or alkynyl groups and hybrids thereof such as (cycloalkyl)alkyl, (cycloalkenyl)alkyl and (cycloalkyl)alkenyl. The term "alkyl" used alone or as part of a group or larger moiety refers to both

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 16 -

straight and branched chains containing one to twelve carbon atoms.

The term "halogen" means F, Cl, Br, or I.

The term "heteroatom" means nitrogen, oxygen or sulfur

5 and shall include any oxidized form of nitrogen and sulfur, such as N(O), S(O), and S(O)₂ and the quaternized form of nitrogen. It is stood that the compounds of the present invention are limited to those existing in nature or chemically stable.

10 A combination of substituents or variables is permissible only if such a combination results in a stable or chemically feasible compound. A stable compound or chemically feasible compound is one that is not substantially altered when kept at a temperature of
15 40°C or less, in the absence of moisture or other chemically reactive conditions, for at least a week.

The term "aryl", used alone or as part of a group or larger moiety, refers to monocyclic or polycyclic aromatic carbon ring systems, and monocyclic
20 or polycyclic heteroaromatic ring systems containing one or more heteroatoms, having five to fourteen atoms. Such groups include, but are not limited to, phenyl, naphthyl, anthryl, furanyl, thienyl, pyrrolyl, oxazolyl, thiazolyl, imidazolyl, pyrazolyl, isoxazolyl,
25 isothiazolyl, oxadiazolyl, triazolyl, thiadiazolyl, pyridinyl, pyridazinyl, pyrimidinyl, pyrazinyl, triazinyl, indolizinyll, indolyl, isoindolyl, indolinyl, benzofuranyl, benzothiophenyl, indazolyl, benzimidazolyl, benzthiazolyl, purinyl, quinolizinyll,
30 quinolinyl, isoquinolinyl, cinnolinyl, phthalazinyl, quinazolinyll, quinoxalinyll, 1,8-naphthyridinyll, pteridinyll, carbazolyl, acridinyll, phenazinyl,

phenothiazinyl, phenoxazinyl, tetrahydrofuranyl,
phthalimidinyl, tetrazolyl, and chromanyl.

The term "aralkyl" refers to an alkyl
substituted by an aryl group. The term "heteroaryl"
5 refers to an aryl group containing one or more
heteroatoms. The term "heteroaralkyl" refers to an
aralkyl group containing one or more heteroatoms.

The term "heterocyclic group" or
"heterocycle" refers to saturated and unsaturated
10 monocyclic or polycyclic ring systems containing one or
more heteroatoms and with a ring size of three to
eight. Such groups include, but are not restricted to,
aziranyl, oxiranyl, azetidiny, tetrahydrofuranyl,
pyrrolinyl, pyrrolidinyl, dioxolanyl, imidazoliny, 15
imidazolidinyl, pyrazolinyl, pyrazolidinyl, pyranyl,
piperidinyl, dioxanyl, morpholinyl, dithianyl,
thiomorpholinyl, piperazinyl, trithianyl,
quinuclidinyl, oxepanyl, and thiepanyl. The term
"heterocyclic ring", whether saturated or unsaturated,
20 also refers to rings that are optionally substituted.
The term "heterocyclalalkyl" refers to an alkyl group
substituted by a heterocyclic ring.

The term "carbocyclic group" or "carbocyclyl"
refers to saturated or unsaturated non-aromatic
25 monocyclic or polycyclic carbon ring systems which can
be fused to aryl or heterocyclic groups. Examples
could include cyclohexyl, cyclopentyl, cyclobutyl,
cyclopropyl, indanyl, tetrahydronaphthyl and the like.
The term "carbocyclalalkyl" refers to an alkyl
30 substituted by a carbocyclic group.

An aryl group (including a heteroaryl) or an
aralkyl (including a heteroaralkyl) group, such as
benzyl or phenethyl, can contain one or more

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 18 -

substituents. Examples of suitable substituents of an aryl or aralkyl group include halogen, CF_3 , $-\text{R}^5$, $-\text{OR}^5$, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{SR}^5$, protected OH such as acyloxy and those described in Wuts and Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Edition John Wiley & Sons, 1999), $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}^5$, $-\text{N}(\text{R}^5)_2$, $-\text{NHCOR}^5$, $-\text{NHCONHR}^5$, $-\text{NHCON}(\text{R}^5)_2$, $-\text{NR}^5\text{COR}^5$, $-\text{NHCO}_2\text{R}^5$, $-\text{CO}_2\text{R}^5$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{COR}^5$, $-\text{CONHR}^5$, $-\text{CON}(\text{R}^5)_2$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^5$, $-\text{SONH}_2$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}^5$, $-\text{SO}_2\text{NHR}^5$, or $-\text{NHS}(\text{O})_2\text{R}^5$, where R^5 is an aliphatic or a substituted aliphatic group, preferably having one to three carbons, or an aryl or a substituted aryl group, with the proviso that when R^5 is a substituted aryl group, said aryl can not be substituted by a substituted aryl.

An aliphatic group or a non-aromatic heterocyclic ring can contain one or more substituents. Examples of suitable substituents of an aliphatic group or a non-aromatic heterocyclic ring include those listed above for an aryl or aralkyl group as well as the following: $=\text{O}$, $=\text{S}$, $=\text{NNHR}^6$, $=\text{NN}(\text{R}^6)_2$, $=\text{N-OR}^6$, $=\text{NNHCOR}^6$, $=\text{NNHCO}_2\text{R}^6$, $=\text{NNHSO}_2\text{R}^6$, and $=\text{NR}^6$, wherein R^6 is an aliphatic group or a substituted aliphatic group.

A substitutable nitrogen on an aromatic or non-aromatic heterocyclic ring can be optionally substituted. Suitable substituents on the nitrogen include R^6 , COR^6 , $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^6$, and CO_2R^6 .

The term "electronegative leaving group" has the definition known to those skilled in the art (see March, Advanced Organic Chemistry, 4th Edition, John Wiley & Sons, 1992). Examples of electronegative leaving groups include halogens such as F, Cl, Br, and I, aryl- and alkyl- sulfonyloxy groups, trifluoromethanesulfonyloxy, OR^7 , SR^7 , $-\text{OC}=\text{O}(\text{R}^7)$, $-\text{OPO}(\text{R}^8)(\text{R}^8)$,

WO 02/085899

PCT/US02/12638

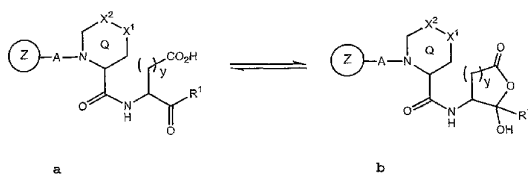
- 19 -

where R⁷ is an aliphatic group, an aryl group, an aralkyl group, a carbocyclic group, a carbocyclalkyl group, a heterocyclic group, or a heterocyclalkyl group; and R⁸ and R⁹ are independently R⁷ or OR⁷.

5 The term "amino acid N-terminal protecting group" has the definition known to those skilled in the art. Examples of amino acid N-terminal protecting groups include those described in Wuts and Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Edition John Wiley & Sons, 1999).

10 Isosteres or bioisosteres of carboxylic acids and esters result from the exchange of an atom or a group of atoms to create a new compound with similar biological properties to the parent carboxylic acid or ester. The bioisosteric replacement can be physicochemically or topologically based. An example of an isosteric replacement for a carboxylic acid is CONHSO₂J where J is an alkyl group such as methyl, ethyl, propyl, butyl, and the like.

20 Compounds of this invention where R² is CO₂H or CH₂CO₂H, γ-ketoacids or δ-ketoacids respectively, can exist in solution as either the open form (a) or the cyclized hemiketal form (b) (y=1 for γ-ketoacids, y=2 for δ-ketoacids). The representation herein of either isomeric form is meant to include the other.



WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 20 -

Likewise it will be apparent to one skilled in the art that certain compounds of this invention can exist in tautomeric forms or hydrated forms, all such forms being within the scope of the invention. Unless otherwise stated, structures depicted herein are also meant to include all stereochemical forms of the structures; i.e., the R and S configurations for each asymmetric center. Therefore, single stereochemical isomers as well as enantiomeric and diastereomeric mixtures of the present compounds are within the scope of the invention. Unless otherwise stated, structures depicted herein are also meant to include compounds that differ only in the presence of one or more isotopically enriched atoms. For example, compounds having the present structures except for the replacement of a hydrogen by a deuterium or tritium, or the replacement of a carbon by a ¹³C- or ¹⁴C-enriched carbon are within the scope of the application.

20 A preferred R¹ group is CH₂Y where Y is an electronegative leaving group, OR, SR, or -OC(=O)(R) and most preferably Y is F.

[0046] Preferably R² is CO₂H, esters, amides or isosteres thereof.

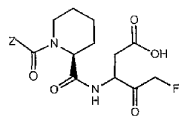
25 X¹ is preferably CH₂; X² is preferably CH₂; or X¹ and X² combine to form part of an optionally substituted phenyl ring fused to ring Q. More preferably X¹ and X² are both CH₂.

A is preferably CO.

30 Z is preferably an optionally substituted aryl which is connected to A at a ring carbon.

[0050] Representative examples of compounds of the present invention are shown below in Table 1.

Table 1. Representative Compounds

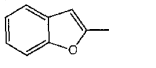
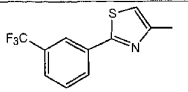
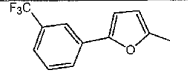
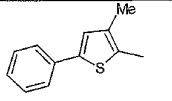
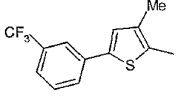
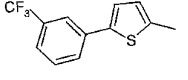

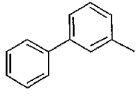
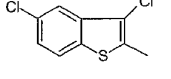


No.	Z
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	

WO 02/085899

PCT/US02/12638

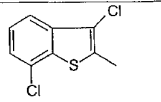
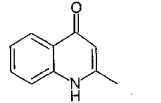
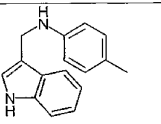
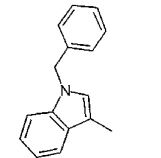
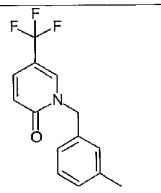
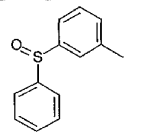
- 22 -

8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	

WO 02/085899

PCT/US02/12638

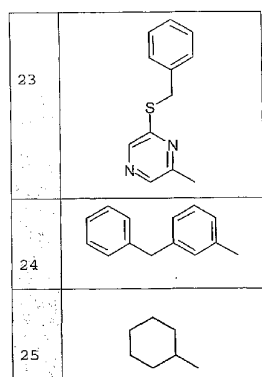
- 23 -

17	
18	
19	
20	
21	
22	

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 24 -



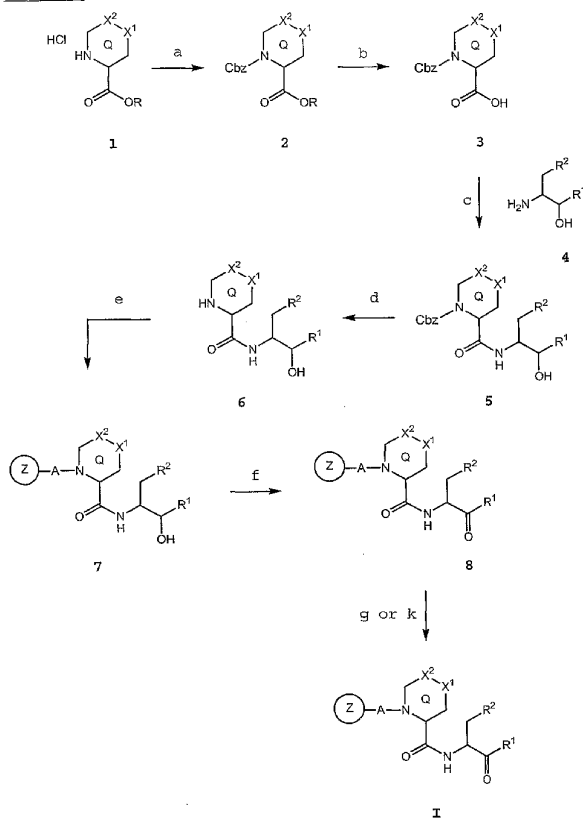
The compounds of this invention can be prepared in general by methods known to those skilled in the art for analogous compounds, as illustrated by the general Schemes I and II below and by the preparative examples that follow.

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 25 -

Scheme I

Reagents: (a) CbzOSuc/THF/TEA; (b) LiOH/THF/ H_2O ; (c)5 EDC/DMAP/HOBt; (d) $H_2/10\%Pd$ on $C/EtOAc$; (e)

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 26 -

TBTU/DIPEA/DMF; (f) Dess-Martin periodinane; (g) TiCl_4 /DCM; and (k) TFA/DCM.

Scheme I shows a general approach for making the present compounds. The starting ester hydrochloride **1** is first protected as a carbamate using a known amino acid N-protecting protocol, for example Cbz-OSuc (benzyloxycarbonyl-O-succinimidyl) in THF (tetrahydrofuran) in the presence of base, such as TEA (triethylamine, step a). The ester **2** is then hydrolyzed using base or, when the ester is a t-butyl group, using trifluoroacetic acid (TFA). The acid **3** is then coupled with the amino alcohol **4**, using for example, EDC (1-(3-dimethyl-aminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride), DMAP (4-dimethylaminopyridine) and HOBT (1-hydroxybenzotriazole), to provide **5**. Depending on the nature of R^1 and R^2 , an amino ketone can be used in place of **4**, which avoids the subsequent oxidation step. In the case of fluoromethyl ketones where R^1 is CH_2F , the amino alcohol **4** can be obtained according to the method of Revesz et al., *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 9693. The carbamate **5** is then deprotected using catalytic hydrogenation, for example, H_2 with Pd on C in EtOAc (ethyl acetate), or acidolysis. The amine **6** is then N-substituted with the desired acylating or sulfonylating agent using standard methods as shown, for example, by step e, TBTU (2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium tetrafluoroborate) in DMF (dimethylformamide) in the presence of DIPEA (diisopropylethylamine). The hydroxyl group in compound **7** is then oxidized by standard methods as shown, for example, by step f. Finally, compound **8** is treated appropriately according to the nature of R^2 to generate **I**, using TiCl_4 in DCM

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 27 -

(dichloromethane) or TFA in DCM. For example, if **1** requires R² to be a carboxylic acid, then R² in **4** is preferably an ester and the final step in the scheme is hydrolysis.

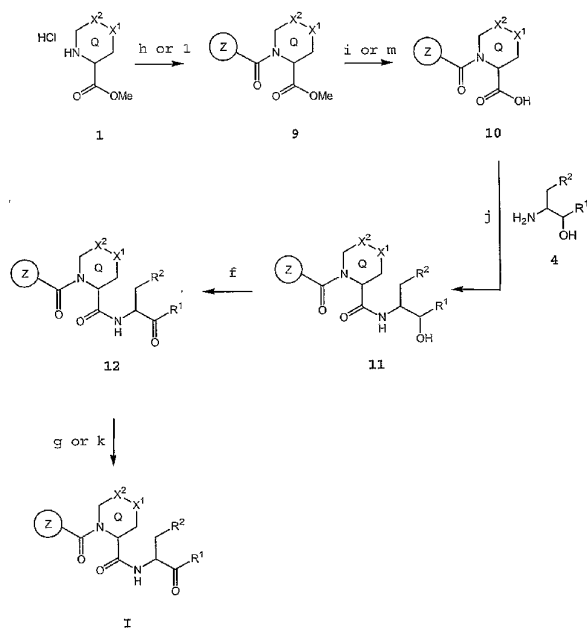
5

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 28 -

Scheme II



5 Reagents: (h) DIPEA/DMF/TBTU/ Z -CO₂H; (l) DIPEA/DCM/ Z -COCl; (i) LiOH/THF/H₂O; (m) KOH/MeOH/H₂O; (j) EDC/DMAP/HOBT; (f) Dess-Martin periodinane; (g) TiCl₄/DCM; and (k) TFA/DCM.

[0053] Scheme II represents an alternative approach for making the present compounds. The starting ester

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 29 -

hydrochloride 1 is first reacted with either a carboxylic acid or an acid chloride using known amide bond forming reactions. The amide 9 is then hydrolyzed using base. The acid 10 is then coupled with the amino alcohol 4 to provide 11. Depending on the nature of R¹ and R², an amino ketone can be used in place of 4, which avoids the subsequent oxidation step. In the case of fluoromethyl ketones where R¹ is CH₂F, the amino alcohol 4 can be obtained according to the method of Revesz et al., *Tetrahedron Lett.*, 1994, 35, 9693. The hydroxyl group in compound 11 is then oxidized by standard methods as shown, for example, by step f. Finally compound 12 is treated appropriately according to the nature of R² to generate I. For example, if I requires R² to be a carboxylic acid, then R² in 4 is preferably an ester and the final step in the scheme is hydrolysis.

Certain compounds of this invention can be obtained as follows. The parent heterocyclic esters 1 or their acids or derivatives used in scheme I are either commercially available or can be prepared using standard methods. For example, the parent heterocyclic ester 1 where X¹⁻² are each CH₂ is commercially available (H-homoproline-OMe). The parent heterocyclic ester 1, where X¹ is CH₂; and X² is oxygen, can be prepared by standard methods (Wolfe et al., *Tetrahedron Lett.*, 1979, 3913). The parent heterocyclic ester 1, where X¹ is CH₂ and X² is sulfur, can be prepared by standard methods (Miyazaki et al., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1993, 66, 536). The parent heterocyclic ester 1, where X² is CH₂; and X¹ is oxygen, can be prepared by standard methods (Kogami et al., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1987, 60, 2963; Asher et al., *Tetrahedron Lett.*, 1981, 141;

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 30 -

and Brown et al., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1985, 2577). The Fmoc N-protected amino acid is also commercially available. The parent heterocyclic ester 1, where X² is CH₂; and X₁ is sulfur, can be prepared by standard methods (Kogami et al., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1987, 60, 2963; and Sakai et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 1981, 29, 1554). The corresponding free amino acid is also commercially available. The parent heterocyclic esters 1, where X¹⁻² is CH₂ and have various substituents can be prepared by standard methods (Shuman et al., *J. Org. Chem.*, 1990, 55, 738; Agami et al., *Synlett*, 1997, 799; and Nazih et al., *Synlett*, 1998, 1337).

The compounds of this invention are designed, *inter alia*, to inhibit caspase activity and/or decrease TNF-alpha levels or activity. These compounds can be assayed, for example, for their ability to inhibit apoptosis, inhibit the release of IL-1 β , inhibit caspase activity, and/or decrease TNF-alpha levels or activity. Assays for each of the activities are known in the art and are described below in detail in the Examples. Accordingly, these compounds are capable of targeting and inhibiting events in caspase- (for example, IL-1-), apoptosis-, IGIF-, IFN- γ -, and TNF- α -mediated diseases, and the ultimate activity of the relevant protein in inflammatory diseases, autoimmune diseases, destructive bone, proliferative disorders, infectious diseases, and degenerative diseases.

Compounds of this invention also inhibit conversion of pro-IGIF into active, mature IGIF by inhibiting ICE. The term "interferon gamma inducing factor" or "IGIF" refers to a factor which is capable of stimulating the endogenous production of IFN- γ .

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 31 -

Because ICE is essential for the production of mature IGIF (IL-18), inhibition of ICE effectively blocks initiation of IGIF-mediated physiological effects and symptoms, by inhibiting production of mature IGIF. IGIF is in turn essential for the production of IFN- γ . ICE therefore effectively blocks initiation of IFN- γ - mediated physiological effects and symptoms, by inhibiting production of mature IGIF and thus production of IFN- γ .

Compounds of this invention also inhibit the release of TNF-alpha from activated cells.

The pharmaceutical compositions and methods of this invention, therefore, will be useful for controlling caspase and TNF-alpha activity in vivo. The compositions and methods of this invention will thus be useful for controlling caspase, IL-1, IGIF, IFN- γ , or TNF-alpha levels in vivo and for treating or reducing the advancement, severity or effects of caspase, IL-1-, apoptosis-, IGIF-, IFN- γ -, or TNF-alpha mediated conditions, including diseases, disorders or effects.

According to another embodiment, the invention provides a composition comprising a compound of this invention or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, as described above, and a pharmaceutically acceptable carrier.

According to another embodiment, the compositions of this invention can further comprise another therapeutic agent. Such agents include, but are not limited to, a thrombolytic agent such as tissue plasminogen activator and streptokinase, an anti-inflammatory agent, a matrix metalloprotease inhibitor,

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 32 -

a lipoxigenase inhibitor, a cytokine antagonist, an immunosuppressant, an anti-cancer agent, an anti-viral agent, a cytokine, a growth factor, an immunomodulator (e.g., bropirimine, anti-human alpha interferon antibody, IL-2, GM-CSF, methionine enkephalin, interferon alpha, diethyldithiocarbamate, tumor necrosis factor, naltrexone and rEPO), a prostaglandin, or an anti-vascular hyperproliferation compound.

The term "pharmaceutically acceptable carrier" refers to a non-toxic carrier that can be administered to a patient, together with a compound of this invention, and which does not destroy the pharmacological activity thereof.

Pharmaceutically acceptable carriers that can be used in these compositions include, but are not limited to, ion exchangers, alumina, aluminum stearate, lecithin, serum proteins, such as human serum albumin, buffer substances such as phosphates, glycine, sorbic acid, potassium sorbate, partial glyceride mixtures of saturated vegetable fatty acids, water, salts or electrolytes, such as protamine sulfate, disodium hydrogen phosphate, potassium hydrogen phosphate, sodium chloride, zinc salts, colloidal silica, magnesium trisilicate, polyvinyl pyrrolidone, cellulose-based substances, polyethylene glycol, sodium carboxymethylcellulose, polyacrylates, waxes, polyethylene-polyoxypropylene-block polymers, polyethylene glycol and wool fat.

A "pharmaceutically acceptable derivative" means any pharmaceutically acceptable salt, ester, salt of an ester or other derivative of a compound of this invention which, upon administration to a recipient, is capable of providing, either directly or indirectly, a

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 33 -

compound of this invention or an inhibitorily active metabolite or residue thereof. The methods for preparing salts or esters of a compound of this invention are known to one of skill in the art.

5 Pharmaceutically acceptable derivatives of the compounds of this invention include, without limitation, esters, amino acid esters, phosphate esters, metal salts and sulfonate esters.

In pharmaceutical compositions comprising
10 only a compound of formula I as the active component, methods for administering these compositions can additionally comprise the step of administering to the subject an additional agent. Such agents include, but are not limited to, a thrombolytic agent such as tissue
15 plasminogen activator and streptokinase, an anti-inflammatory agent, a matrix metalloprotease inhibitor, a lipoxigenase inhibitor, a cytokine antagonist, an immunosuppressant, an anti-cancer agent, an anti-viral agent, a cytokine, a growth factor, an immunomodulator
20 (e.g., bropirimine, anti-human alpha interferon antibody, IL-2, GM-CSF, methionine enkephalin, interferon alpha, diethyldithiocarbamate, tumor necrosis factor, naltrexone and rEPO), a prostaglandin, or an anti-vascular hyperproliferation compound. When
25 a second agent is used, the second agent can be administered either as a separate dosage form or as part of a single dosage form with the compounds or compositions of this invention.

The amount of compound present in the above-
30 described compositions should be sufficient to cause a detectable decrease in the severity of the disease, in caspase activity and/or cell apoptosis, or in TNF-alpha

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 34 -

activity and/or cell apoptosis as measured by any of the assays described in the Examples.

The compounds of this invention can be employed in a conventional manner for controlling IGIF
5 and IFN- γ levels in vivo and for treating diseases or reducing the advancement or severity of effects which are mediated by a caspase, IL-1, apoptosis, IGIF, IFN- γ or TNF-alpha. Such methods of treatment, their dosage levels and requirements can be selected by those of
10 ordinary skill in the art from available methods and techniques.

If pharmaceutically acceptable salts of the compounds of this invention are utilized in these compositions, those salts are preferably derived from
15 inorganic or organic acids and bases. Included among such acid salts are the following: acetate, adipate, alginate, aspartate, benzoate, benzene sulfonate, bisulfate, butyrate, citrate, camphorate, camphor sulfonate, cyclopentanepropionate, digluconate,
20 dodecylsulfate, ethanesulfonate, fumarate, glucuheptanoate, glycerophosphate, hemisulfate, heptanoate, hexanoate, hydrochloride, hydrobromide, hydroiodide, 2-hydroxyethanesulfonate, lactate, maleate, methanesulfonate, 2-naphthalenesulfonate,
25 nicotinate, oxalate, pamoate, pectinate, persulfate, 3-phenyl-propionate, picrate, pivalate, propionate, succinate, tartrate, thiocyanate, tosylate and undecanoate. Base salts include ammonium salts, alkali
30 metal salts, such as sodium and potassium salts, alkaline earth metal salts, such as calcium and magnesium salts, salts with organic bases, such as dicyclohexylamine salts, N-methyl-D-glucamine, and

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 35 -

salts with amino acids such as arginine, lysine, and so forth.

Also, the basic nitrogen-containing groups can be quaternized with such agents as lower alkyl halides, such as methyl, ethyl, propyl, and butyl chloride, bromides and iodides; dialkyl sulfates, such as dimethyl, diethyl, dibutyl and diamyl sulfates, long chain halides such as decyl, lauryl, myristyl and stearyl chlorides, bromides and iodides, aralkyl halides, such as benzyl and phenethyl bromides and others. Water or oil-soluble or dispersible products are thereby obtained.

The compounds utilized in the compositions and methods of this invention can also be modified by appending appropriate functionalities to enhance selective biological properties. Such modifications are known in the art and include those which increase biological penetration into a given biological system (e.g., blood, lymphatic system, central nervous system), increase oral availability, increase solubility to allow administration by injection, alter metabolism and alter rate of excretion.

According to a preferred embodiment, the compositions of this invention are formulated for pharmaceutical administration to a mammal, preferably a human being.

Such pharmaceutical compositions of the present invention can be administered orally, parenterally, by inhalation spray, topically, rectally, nasally, buccally, vaginally or via an implanted reservoir. The term "parenteral" as used herein includes subcutaneous, intravenous, intramuscular, intra-articular, intra-synovial, intrasternal,

intrathecal, intrahepatic, intralesional and intracranial injection and infusion techniques. Preferably, the compositions are administered orally or intravenously.

- 5 Sterile injectable forms of the compositions of this invention can be aqueous or oleaginous suspension. These suspensions can be formulated according to techniques known in the art using suitable dispersing or wetting agents and suspending agents.
- 10 The sterile injectable preparation can also be a sterile injectable solution or suspension in a non-toxic parenterally acceptable diluent or solvent, for example as a solution in 1,3-butanediol. Among the acceptable vehicles and solvents that can be employed
- 15 are water, Ringer's solution and isotonic sodium chloride solution. In addition, sterile, fixed oils are conventionally employed as a solvent or suspending medium. For this purpose, any bland fixed oil can be employed including synthetic mono- or di-glycerides.
- 20 Fatty acids, such as oleic acid and its glyceride derivatives are useful in the preparation of injectables, as are natural pharmaceutically-acceptable oils, such as olive oil and castor oil, especially in their polyoxyethylated versions. These oil solutions
- 25 or suspensions can also contain a long-chain alcohol diluent or dispersant, such as carboxymethyl cellulose or similar dispersing agents which are commonly used in the formulation of pharmaceutically acceptable dosage forms including emulsions and suspensions. Other
- 30 commonly used surfactants, such as Tweens, Spans and other emulsifying agents or bioavailability enhancers which are commonly used in the manufacture of pharmaceutically acceptable solid, liquid, or other

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 37 -

dosage forms can also be used for the purposes of formulation.

If a solid carrier is used, the preparation can be tableted, placed in a hard gelating capsule in powder or pellet form, or in the form of a troche or lozenge. The amount of solid carrier will vary, e.g., from about 25 mg to 400 mg. When a liquid carrier is used, the preparation can be, e.g., in the form of a syrup, emulsion, soft gelatin capsule, sterile injectable liquid such as an ampule or nonaqueous liquid suspension. Where the composition is in the form of a capsule, any routine encapsulation is suitable, for example, using the aforementioned carriers in a hard gelatin capsule shell.

A syrup formulation can consist of a suspension or solution of the compound in a liquid carrier for example, ethanol, glycerine, or water with a flavoring or coloring agent. An aerosol preparation can consist of a solution or suspension of the compound in a liquid carrier such as water, ethanol or glycerine; whereas in a powder dry aerosol, the preparation can include e.g., a wetting agent.

Formulations of the present invention comprise an active ingredient together with one or more acceptable carrier(s) thereof and optionally any other therapeutic ingredient(s). The carrier(s) should be "acceptable" in the sense of being compatible with the other ingredients of the formulation and not deleterious to the recipient thereof.

The pharmaceutical compositions of this invention can be orally administered in any orally acceptable dosage form including, but not limited to, capsules, tablets, and aqueous suspensions or

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 38 -

solutions. In the case of tablets for oral use, carriers that are commonly used include lactose and corn starch. Lubricating agents, such as magnesium stearate, are also typically added. For oral administration in a capsule form, useful diluents include lactose and dried cornstarch. When aqueous suspensions are required for oral use, the active ingredient is combined with emulsifying and suspending agents. If desired, certain sweetening, flavoring or coloring agents can also be added.

Alternatively, the pharmaceutical compositions of this invention can be administered in the form of suppositories for rectal administration. These can be prepared by mixing the agent with a suitable non-irritating excipient which is solid at room temperature but liquid at rectal temperature and therefore will melt in the rectum to release the drug. Such materials include cocoa butter, beeswax and polyethylene glycols.

The pharmaceutical compositions of this invention can also be administered topically, especially when the target of treatment includes areas or organs readily accessible by topical application, including diseases of the eye, the skin, or the lower intestinal tract. Suitable topical formulations are readily prepared for each of these areas or organs.

Topical application for the lower intestinal tract can be effected in a rectal suppository formulation (see above) or in a suitable enema formulation. Topically-transdermal patches can also be used.

For topical applications, the pharmaceutical compositions can be formulated in a suitable ointment

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 39 -

containing the active component suspended or dissolved
in one or more carriers. Carriers for topical
administration of the compounds of this invention
include, but are not limited to, mineral oil, liquid
5 petrolatum, white petrolatum, propylene glycol,
polyoxyethylene, polyoxypropylene compound, emulsifying
wax and water. Alternatively, the pharmaceutical
compositions can be formulated in a suitable lotion or
cream containing the active components suspended or
10 dissolved in one or more pharmaceutically acceptable
carriers. Suitable carriers include, but are not
limited to, mineral oil, sorbitan monostearate,
polysorbate 60, cetyl esters wax, cetearyl alcohol, 2-
octyldodecanol, benzyl alcohol and water.

15 For ophthalmic use, the pharmaceutical
compositions can be formulated as micronized
suspensions in isotonic, pH adjusted sterile saline,
or, preferably, as solutions in isotonic, pH adjusted
sterile saline, either with or without a preservative
20 such as benzylalkonium chloride. Alternatively, for
ophthalmic uses, the pharmaceutical compositions can be
formulated in an ointment such as petrolatum.

The pharmaceutical compositions of this
invention can also be administered by nasal aerosol or
25 inhalation. Such compositions are prepared according
to techniques well known in the art of pharmaceutical
formulation and can be prepared as solutions in saline,
employing benzyl alcohol or other suitable
preservatives, absorption promoters to enhance
30 bioavailability, fluorocarbons, and/or other
conventional solubilizing or dispersing agents known in
the art.

It will be recognized by one of skill in the art that the form and character of the pharmaceutically acceptable carrier or diluent is dictated by the amount of active ingredient with which it is to be combined, the route of administration, and other well-known variables.

The above-described compounds and compositions are particularly useful in therapeutic applications relating to an IL-1 mediated disease, an apoptosis mediated disease, an inflammatory disease, an autoimmune disease, a destructive bone disorder, a proliferative disorder, an infectious disease, a degenerative disease, a skin disease, a disease associated with cell death, an excess dietary alcohol intake disease, a viral mediated disease, retinal disorders, uveitis, inflammatory peritonitis, osteoarthritis, pancreatitis, asthma, adult respiratory distress syndrome, glomerulonephritis, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, scleroderma, chronic thyroiditis, Grave's disease, autoimmune gastritis, diabetes, autoimmune hemolytic anemia, autoimmune neutropenia, thrombocytopenia, chronic active hepatitis, myasthenia gravis, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, psoriasis, atopic dermatitis, contact dermatitis, scarring, graft vs host disease, organ transplant rejection, organ apoptosis after burn injury, osteoporosis, leukemias and related disorders, myelodysplastic syndrome, multiple myeloma-related bone disorder, acute myelogenous leukemia, chronic myelogenous leukemia, metastatic melanoma, Kaposi's sarcoma, multiple myeloma, haemorrhagic shock, sepsis, septic shock, burns, trauma, systemic inflammatory response syndrome, multiple organ

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 41 -

dysfunction syndrome, Shigellosis, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease, Kennedy's disease, prion disease, cerebral ischemia, epilepsy, myocardial ischemia, acute and chronic heart disease, 5 myocardial infarction, congestive heart failure, atherosclerosis, coronary artery bypass graft, spinal muscular atrophy, amyotrophic lateral sclerosis, multiple sclerosis, HIV-related encephalitis, aging, alopecia, neurological damage due to stroke, ulcerative 10 colitis, traumatic brain injury, spinal chord injury, hepatitis-B, hepatitis-C, hepatitis-G, yellow fever, dengue fever, Japanese encephalitis, various forms of liver disease, renal disease, polycystic kidney disease, H. pylori-associated gastric and duodenal 15 ulcer disease, HIV infection, tuberculosis, and meningitis.

The above-described compounds and compositions are also useful in therapeutic applications relating to a TNF mediated disease. The 20 phrase "TNF-alpha mediated disease" means, all diseases states in which TNF-alpha plays a role, either by excessive production or release of TNF-alpha, itself, or by TNF-alpha causing an event that triggers or exacerbates the disease, such as production or release 25 of another pathophysiological biochemical agent, or cytokine. In one preferred embodiment, TNF-alpha plays a direct role.

Such TNF-alpha mediated diseases can include, e.g., restinosis, inflammatory diseases such as 30 inflammatory diseases of the central nervous system, demyelinating diseases of the nervous system, multiple sclerosis, septic arthritis, aneurysmal aortic disease, traumatic joint injury, periodontal disease, macular

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 42 -

degeneration, diabetic retinopathy, ocular inflammation, keratoconus, Sjogren's syndrome, corneal graft rejection, cachexia, and anorexia.

Excessive TNF-alpha tissue levels have been
5 implicated in mediating or exacerbating a number of diseases including: rheumatoid arthritis, rheumatoid spondylitis, osteoarthritis, gouty arthritis and other arthritic conditions; also general sepsis, gram-negative sepsis, septic shock, endotoxic shock, toxic
10 shock syndrome, adult respiratory distress syndrome (ARDS), cerebral malaria, chronic pulmonary inflammatory disease, silicosis, asbestosis, pulmonary sarcoidosis, bone resorption diseases, graft vs. host reactions, allograft rejections; also fever and
15 myalgias due to bacterial or viral infections, such as influenza; cachexia secondary to acquired immune deficiency syndrome (AIDS), keloid formation, scar tissue formation, Crohns disease, ulcerative colitis, or pyresis; a number of "autoimmune diseases" such as
20 multiple sclerosis, autoimmune diabetes, and systemic lupus erythematosus.

TNF-alpha inhibitors are useful in the treatment of a variety of allergic, traumatic and other injurious disorders including: asthma, chronic
25 bronchitis, atopic dermatitis, urticaria, allergic rhinitis, allergic conjunctivitis, eosinophilic granuloma, ulcerative colitis, Crohn's disease, reperfusion injury of the myocardium and brain, chronic glomerulonephritis, and adult respiratory distress
30 syndrome (ARDS).

The compounds of this invention can inhibit the release of TNF-alpha and thus can be useful for inhibiting or blocking several pathophysiological

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 43 -

effects of TNF-alpha at injury or surgery sites and thus also inhibit the release of other pathophysiological biochemical products from cells such as histamines, prostaglandins, bradykinins, and
5 peroxidases.

As discussed above, TNF-alpha inhibitors can be very effective in the treatment of disorders which follow cellular, tissue or organ injury or surgery, and can be as effective, or even more potent, than
10 corticosteroids or immunosuppressants without producing the side effects common to these agents.

This invention also relates to a therapeutic method of (1) inhibiting TNF-alpha release from cells and (2) preventing the untoward, toxic or lethal
15 effects of excessively high tissue levels of TNF-alpha in a mammal, including a human. This method comprises administering to a mammal an effective TNF-alpha inhibiting quantity of one or more of the above compounds. This method also can be used for the
20 prophylactic treatment or prevention of certain TNF-alpha mediated or exacerbated diseases amenable thereto. The invention provides a method for the treatment of allergic, traumatic, radiation, chemical, microbial and other injurious disorders by
25 administering to a mammal, including a human, in need thereof an effective amount of such compounds.

The compounds, by inhibiting or blocking the release of TNF-alpha or decreasing TNF-alpha levels and activity, as well as the pathophysiologic actions
30 of excessive levels of TNF-alpha in each of these circumstances, directly facilitate the arrest or resolution of the tissue or organ damage, and facilitates the restoration of normal function.

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 44 -

Together, these actions relate their novel use in treating tissue trauma, or other injury disorders caused by infection, allergy, immunologic phenomena, burns, radiation exposure, neoplastic disease, toxic chemicals and expressed as cardiovascular damage, neurologic injury, renal damage, liver damage, pancreatic damage, as well as ascites, localized edema, dermal damage and dermal blister.

The term "inhibiting the release of TNF- α " means:

- a) decrease of in vivo TNF-alpha levels in a mammal such as a human; or
- b) a down regulation of TNF-alpha levels in vitro or in vivo; or
- c) a down regulation of TNF-alpha activity, by inhibition of the direct synthesis of TNF-alpha or a post-translation event.

The compounds can be useful in inhibiting the release of TNF-alpha by monocytes, macrophages, neuronal cells, endothelial cells, epidermal cells, mesenchymal cells (for example: fibroblasts, skeletal myocytes, smooth muscle myocytes, cardiac myocytes) and many other types of cells.

The term "condition" or "state" refers to any disease, disorder or effect that produces deleterious biological consequences in a subject.

The level of TNF-alpha protein in the blood or cell of a patient or a cell culture (i.e., in the cells and/or in the culture media) can be determined by assaying for immunospecific binding to TNF-alpha or to proteins that are known to be produced as a result of the presence of active TNF-alpha. Such assays are known in the art. For example, the immunoassays which

can be used include, but are not limited, to competitive and non-competitive assay systems using techniques such as western blots, radioimmunoassays, ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), "sandwich" immunoassays, immunoprecipitation assays, precipitin reactions, gel diffusion precipitin reactions, immunodiffusion assays, agglutination assays, complement-fixation assays, immunoradiometric assays, fluorescent immunoassays, FACS analysis and protein A immunoassays. Such assays are well known in the art (see, e.g., Ausubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York, which is incorporated by reference herein in its entirety).

Competitive binding assays can also be used to determine the level of TNF-alpha. One example of a competitive binding assay is a radioimmunoassay comprising the incubation of labeled proteins from cells expressing TNF-alpha (e.g., ^3H or ^{125}I) with a TNF-alpha antibody in the presence of increasing amounts of unlabeled TNF-alpha, and the detection of the TNF-alpha antibody bound to the labeled TNF-alpha.

TNF-alpha levels can also be assayed by activity assays known in the art. For example, samples of treated cell cultures or from blood from patients can be used in TNF-alpha activity assays known in the art, e.g., *J. Immunol. Methods*, 1995, **178**, 71-76; *Burns*, 1994, **20**(1), 40-44.

Dosage levels of between about 0.01 and about 100 mg/kg body weight per day, preferably between 0.5 and about 75 mg/kg body weight per day and most preferably between about 1 and 50 mg/kg body weight per

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 46 -

day of the active ingredient compound are useful in a monotherapy.

Typically, the pharmaceutical compositions of this invention will be administered from about 1 to 5
5 times per day or alternatively, as a continuous infusion. Such administration can be used as a chronic or acute therapy. The amount of active ingredient that can be combined with the carrier materials to produce a single dosage form will vary depending upon the host
10 treated and the particular mode of administration. A typical preparation will contain from about 5% to about 95% active compound (w/w). Preferably, such preparations contain from about 20% to about 80% active compound.

15 When the compositions of this invention comprise a combination of a compound of formula I and one or more additional therapeutic agents, both the compound and the additional agent should be present at dosage levels of between about 10% to 80% of the dosage
20 normally administered in a monotherapy regime.

Upon improvement of a patient's condition, a maintenance dose of a compound, composition or combination of this invention can be administered, if necessary. Subsequently, the dosage or frequency of
25 administration, or both, can be reduced, as a function of the symptoms, to a level at which the improved condition is retained when the symptoms have been alleviated to the desired level, treatment should cease. Patients can, however, require intermittent
30 treatment on a long-term basis upon any recurrence or disease symptoms.

It should also be understood that a specific dosage and treatment regimen for any particular patient

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 47 -

will depend upon a variety of factors, including the activity of the specific compound employed, the age, body weight, general health, sex, diet, time of administration, rate of excretion, drug combination, and the judgment of the treating physician and the severity of the particular disease being treated. The amount of active ingredients will also depend upon the particular compound and other therapeutic agent, if present, in the composition.

10 One embodiment of this invention provides a method for treating or preventing an IL-1- mediated disease or an apoptosis-mediated disease in a subject comprising the step of administering to the subject any compound, pharmaceutical composition, or combination
15 described herein.

Another embodiment of this invention provides a method for inhibiting a caspase-mediated function in a subject comprising the step of administering to the subject any compound, pharmaceutical composition, or
20 combination described.

Another embodiment of this invention provides a method for decreasing IGIF or IFN- γ production in a subject comprising the step of administering to the subject any compound, pharmaceutical composition, or
25 combination described.

Another embodiment of this invention provides a method for treating complications associated with coronary artery bypass grafts in a subject comprising the step of administering to the subject any compound,
30 pharmaceutical composition, or combination described herein.

Another embodiment of this invention provides a method for preserving cells comprising the step of

bathing the cells in a solution of any compound described herein. Such method using caspase inhibitors has been reported [Schierle et al., *Nature Medicine*, 5, p. 97 (1999); and Natori et al., *Transplantation*, 68, 5 pp. 89-96 (1999)]. The amount of caspase inhibitor needed will depend on the effectiveness of the inhibitor for a given cell type and the length of time required to preserve cells from apoptotic cell death.

Another embodiment of this invention provides 10 a method for preserving cells needed for an organ transplant or for preserving blood products, using any compound, pharmaceutical composition, or combination described herein. Li et al., *Transfusion*, 40, pp. 1320-1329 (2000).

15 Another embodiment of this invention provides a method for treating various forms of cancer in a subject comprising the step of administering to the subject any compound, pharmaceutical composition, or combination described herein as a component of 20 immunotherapy. Droin et al., *Oncogene*, 16, pp. 2885-2894 (1998); Boudard et al., *Leukemia*, 14, pp. 2045-2051 (2000); Faderl et al., *Clinical Cancer Research*, 5, pp. 4041-4047 (1999); Ozoren et al., *Cancer Research*, 60, pp. 6259-6265 (2000); Sasaki et al., 25 *British Journal of Urology*, 81, pp. 852-855 (1998); and Hedlund et al., *Prostate*, 36, pp. 92-101 (1998).

In a preferred embodiment, the invention provides a method of treating a mammal, having one of the aforementioned diseases, comprising the step of 30 administering to said mammal a pharmaceutically acceptable composition described above. In this embodiment, if the patient is also administered another therapeutic agent or caspase inhibitor, it can be

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 49 -

delivered together with the compound of this invention in a single dosage form, or, as a separate dosage form. When administered as a separate dosage form, the other caspase inhibitor or agent can be administered prior
5 to, at the same time as, or following administration of a pharmaceutically acceptable composition comprising a compound of this invention.

A kit according to this invention comprises a compound or a pharmaceutically acceptable derivative
10 thereof or pharmaceutical composition of this invention and a tool for measuring TNF alpha levels and/or activity in vitro or in vivo. The kit can further comprise instructions for using the contents of the kit. A tool for measuring TNF-alpha levels of this
15 invention refer to materials that can be used to measure the TNF gene product (i.e., RNA or protein) or activity. Such methods are described for example above. Thus, a tool according to this invention can include e.g., an anti-TNF antibody, a TNF-alpha DNA probe or a
20 genetically engineered cell line responsive to TNF alpha levels described above.

The methods for identifying a compound or composition that decreases TNF-alpha activity and/or levels according to this invention include methods for
25 screening of a plurality of compounds or compositions for their ability to decrease TNF-alpha activity and/or levels. For example, high-throughput screening is a desired embodiment of this invention. According to one embodiment of this invention, high-throughput screening
30 can be achieved by having cells in culture in a plurality of wells in a microtiter plate, adding a different compound or composition to each well and comparing the TNF-alpha levels and/or activity in each

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 50 -

cell culture to the TNF-alpha levels or activity present in a cell culture in a control well. Controls that are useful for the comparison step according to this invention include cells or subjects that have not
5 been treated with a compound or composition and cells or subjects have been treated with a compound or composition that is known to have no effect on TNF-alpha levels or activity. According to one embodiment of this invention, the high throughput screening is
10 automated so that the steps including the addition of the cells to the plate up to the data collection and analysis after addition of the compound or composition are done by machine. Instruments that are useful in the comparison step of this invention, e.g.,
15 instruments that can detect labeled objects (e.g., radiolabelled, fluorescent or colored objects) or objects that are themselves detectable, are commercially available and/or known in the art. Accordingly, compounds and compositions according to
20 this invention that are useful for decreasing TNF-alpha levels and/or activity can be quickly and efficiently screened.

In order that this invention be more fully understood, the following preparative and testing
25 examples are set forth. These examples are for the purpose of illustration only and are not to be construed as limiting the scope of the invention in any way.

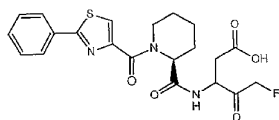
Examples

30 Example 1. [3S/R (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-[1-(2-phenyl-thiazole-4-carbonyl)-2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid (compound 1)

WO 02/085899

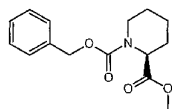
PCT/US02/12638

- 51 -



Method A: (S)-1-(Benzyloxycarbonyl) 2-piperidine-carboxylic acid methyl ester

5



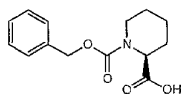
A stirred suspension of (S)-Piperidine-carboxylic acid methyl ester hydrochloride (2.00 g, 11.13 mmol) in anhydrous THF (40 ml) at room temperature was treated with triethylamine (3.41 ml, 24.50 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min before the addition of N-(benzyloxycarbonyloxy)succinimide (3.05 g, 12.23 mmol). The resulting mixture was stirred for 2 hr, before being diluted with ethyl acetate (20 ml), washed with 2 N HCl, saturated aq. NaHCO₃, saturated aq. NaCl, dried (Na₂SO₄), filtered and concentrated. The residue was purified by flash chromatography (20% ethyl acetate in hexane) to afford the sub-title compound as a colourless oil (2.0085 g, 65%): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.19-1.154 (2H, m), 1.58-1.80 (4H, m), 2.18-2.33 (1H, m), 2.90-3.15 (1H, m), 3.66-3.81 (3H, m), 4.03-4.21 (1H, m), 4.81-5.25 3H, m), 7.28-7.45 (5H, m).

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 52 -

Method B: (S)-1-(Benzyloxycarbonyl)-2-piperidine-carboxylic acid



5

A stirred solution of (S)-1-(benzyloxy-carbonyl)-2-piperidinecarboxylic acid methyl ester (2.00 g, 7.21 mmol) in THF (20 ml) at room temperature was treated with water (10 ml). Lithium hydroxide (190 mg, 7.93 mmol) was added and the resulting mixture stirred at room temperature for 3 hr. An additional quantity of lithium hydroxide (40 mg, 1.67 mmol) was added and the resulting mixture was stirred for 2 hr prior to the removal of the organic solvent. The resulting solution was washed with diethyl ether and the remaining aqueous layer was made acidic with 2 N HCl prior to a second extraction step with ethyl acetate. The organic layer was then recovered, dried (Na₂SO₄), filtered and concentrated to reveal a colorless oil (1.9927 g, 105%) which crystallized upon standing: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.30-1.88 (5H, m), 2.22-2.41 (1H, m), 3.00-3.21 (1H, m), 4.08-4.25 (1H, m), 4.91-5.30 (3H, m), 7.27-7.48 (5H, m).

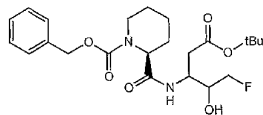
Method C: [3S/R, 4S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-hydroxy-3-[1-(benzyloxycarbonyl)-2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid tert-butyl ester

25

WO 02/085899

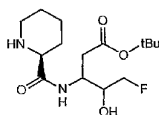
PCT/US02/12638

- 53 -



A stirred mixture of (S)-1-(benzyloxy carbonyl)-2-piperidinecarboxylic acid (4.82 g, 18.31 mmol), 3-amino-5-fluoro-4-hydroxy-pentanoic acid tert-butyl ester (3.99 g, 19.25 mmol), HOBt (2.72 g, 20.13 mmol), DMAP (2.57 g, 21.04 mmol) and anhydrous THF (60 ml) was cooled to 0°C before EDC (3.86 g, 20.13 mmol) was added. The mixture was allowed to warm to room temperature over 16 hrs before being concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (60% ethyl acetate in hexane) to afford the sub-title compound as a white foam (7.3754 g, 72%):
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.31-1.80 (14H, m), 2.20-2.38 (1H, m), 2.49-3.07 (3H, m), 3.11-3.70 (1H, m), 3.80-4.58 (4H, m), 4.70-5.28 (1H, m), 6.58-7.05 (1H, m), 7.23-7.48 (5H, m).

Method D: [3S/R, 4S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-hydroxy-3-[2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid tert-butyl ester



A stirred solution of [3S/R, 4S/R, (2S)]-5-fluoro-4-hydroxy-3-[1-(benzyloxycarbonyl)-2-

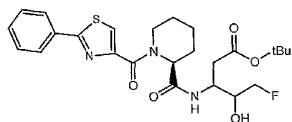
WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 54 -

piperidinecarboxamido]-pentanoic acid tert-butyl ester (7.37 g, 16.29 mmol) in ethyl acetate (150 ml) was treated with 10% Pd/C (830 mg). The reaction mixture was then thoroughly degassed and placed under a hydrogen balloon. The resulting mixture was stirred at room temperature for 3 hrs after which it was filtered through celite and concentrated to the sub-title compound as a colorless gum (5.17 g, 100%): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.16-2.00 (15H, m), 2.51-2.78 (3H, m), 2.99-3.09 (1H, m), 3.18-3.28 (1H, m), 3.93-4.56 (4H, m), 7.39-7.58 (1H, m); ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃) δ -229.34 (t), -229.42 (t), -229.87 (t), 230.02 (t).

Method E: [3S/R, 4S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-hydroxy-3-[1-(2-phenyl-thiazole-4-carbonyl)-2-piperidine-carboxamido]-pentanoic acid tert-butyl ester



A stirred solution of [3S/R, 4S/R, (2S)]-5-fluoro-4-hydroxy-3-[2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid tert-butyl ester (520 mg, 1.63 mmol), in DMF (9.7 ml) at room temperature was treated with DIPEA (311 μl, 1.80 mmol). The resulting mixture was allowed to stir for 30 min before being treated with 2-phenyl-thiazole-4-carboxylic acid (335 mg, 1.63 mmol) and TBTU (524 mg, 1.63 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 16 hr and then diluted with ethyl acetate. The resulting solution was washed with 2 N

WO 02/085899

PCT/US02/12638

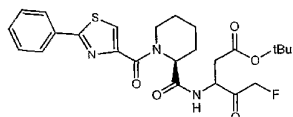
- 55 -

HCl, saturated aq. NaHCO₃, saturated aq. NaCl, dried (Na₂SO₄), filtered and concentrated to reveal an oil.

The residue was purified by flash chromatography (60% ethyl acetate in hexane) to afford the sub-title

5 compound as a colorless oil (463 mg, 56%): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.10-1.85 (15H, m), 2.22-2.89 (3H, m), 3.09-4.78 (6H, m), 5.20-5.43 (1H, m), 7.40-7.56 (3H, m), 7.81-8.11 (3H, m).

10 **Method F:** [3S/R, (2S)]-5-fluoro-4-oxo-3-[1-(2-phenyl-thiazole-4-carbonyl)-2-piperidinecarboxamidol]-pentanoic acid tert-butyl ester



15 A stirred solution of [3S/R, 4S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-hydroxy-3-[1-(2-phenyl-thiazole-4-carbonyl)-2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid tert-butyl ester (462 mg, 0.91 mmol) in anhydrous DCM (25 ml) was treated with 1,1,1-triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-

20 benziodoxol-3(1H)-one (426 mg, 1.00 mmol) at 0°C. The resulting mixture was kept at 0°C for 2 hr, diluted with DCM, and washed with saturated aq. Na₂S₂O₃·5H₂O, saturated aq. NaHCO₃, saturated aq. NaCl, dried (Na₂SO₄) and concentrated. The residue was purified by flash

25 chromatography (33% ethyl acetate in hexane) to afford the sub-title compound as a white solid (376 mg, 82%): IR (solid) 1731, 1619, 1506, 1460, 1363, 1260, 1158 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.16-1.81 (14H, m), 2.25-

WO 02/085899

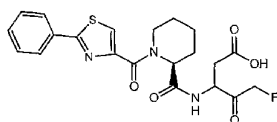
PCT/US02/12638

- 56 -

2.42 (1H, m), 2.69-3.25 (3H, m), 4.48-5.46 (5H, m),
 7.36-8.32 (7H, m); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 21.08,
 21.29, 21.33, 25.24, 25.72, 27.23, 28.14, 36.60, 41.33,
 41.52, 46.10, 46.27, 52.06, 52.77, 52.84, 82.25, 82.40,
 5 82.66, 83.81, 85.68, 125.09, 125.49, 126.50, 126.69,
 127.02, 127.10, 129.46, 129.55, 131.00, 131.18, 132.85,
 133.04, 133.29, 150.75, 150.92, 163.50, 163.65, 165.17,
 168.07, 168.14, 170.07, 170.23, 171.37, 202.87, 203.02;
¹⁹F (376 MHz, CDCl₃) δ -231.36, -231.69, -231.86,
 10 -232.28; MS (LR, ES) Calculated for C₂₅H₃₀FN₃O₅S:
 503.5974.

Method G: [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-[1-(2-phenyl-
 thiazole-4-carbonyl)-2-piperidinecarboxamido]-pentanoic
 acid

15



A stirred solution of [3S/R, (2S)]-5-fluoro-
 4-oxo-3-[1-(2-phenyl-thiazole-4-carbonyl)-2-
 20 piperidinecarboxamido]-pentanoic acid tert-butyl ester
 (370 mg, 0.73 mmol) in anhydrous DCM (20 ml) was
 treated with a 1 M solution of titanium tetrachloride
 in DCM (3.67 ml, 3.67 mmol) at -10°C. The resulting
 mixture was warmed to 0°C and kept at this temperature
 25 for 1 hr. The reaction mixture was then diluted with
 DCM, and washed with 2 N HCl, saturated aq. NaCl, dried
 (Na₂SO₄) and concentrated. The residue was purified by
 reverse phase HPLC (acetonitrile/water) to afford the

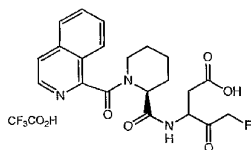
WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 57 -

title compound as a white foam (102 mg, 31%): IR
 (solid) 1798, 1736, 1674, 1617, 1517, 1479, 1470, 1265;
¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO+TFA) δ 1.18-1.79 (4H, m), 2.08-
 2.28 (1H, m), 2.42-3.50 (5H, m), 4.08-5.40 (4H, m),
 5 7.45-8.28 (6H, m), 8.41-8.67 (1H, m); ¹³C NMR (100 MHz,
 d₆-DMSO+TFA) δ 19.07, 19.24, 23.29, 23.69, 25.63, 25.72,
 26.42, 26.49, 31.54, 33.23, 43.65, 46.14, 50.81, 50.91,
 51.56, 51.64, 56.26, 56.34, 80.07, 81.87, 81.97, 83.66,
 83.75, 102.43, 102.47, 102.63, 102.66, 125.17, 125.24,
 10 128.19, 129.52, 131.40, 149.51, 162.07, 162.61, 162.67,
 165.34, 165.55, 169.71, 169.86, 170.64, 170.72, 171.75,
 201.84, 201.20, 201.34; ¹⁹F (376 MHz, d₆-DMSO) δ
 -226.74, -226.82, -226.84, -227.00, -230.37, -230.60,
 -230.83, -232.41, -232.55, -232.62, -232.7; MS (LR, ES)
 15 calculated for C₂₁H₂₂FN₃O₅S: 447.4890, ES- 446.408, ES+
 448.184.

Example 2. [3S/R (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-[1-
 (isoquinoline-1-carbonyl)-2-piperidinecarboxamido]-
 20 pentanoic acid, trifluoroacetic acid salt (compound 2)

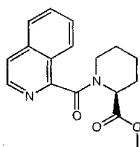


Method H: (S)-1-(Isoquinoline-1-carbonyl)-2-
 25 piperidinecarboxylic acid methyl ester

WO 02/085899

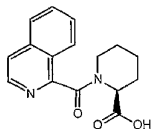
PCT/US02/12638

- 58 -



A stirred solution of (S)-1-Piperidine-carboxylic acid methyl ester hydrochloride (1.00 g, 5.57 mmol), in DMF (20 ml) at room temperature was treated with DIPEA (2.12 ml, 12.25 mmol). The resulting mixture was allowed to stir for 30 min before being treated with 1-isoquinolinecarboxylic acid (964 mg, 5.57 mmol) and TBTU (1.79 g, 5.57 mmol). The mixture stirred at room temperature for 4 hr, diluted with ethyl acetate, washed with saturated aq. NaHCO₃, saturated aq. NaCl, dried (Na₂SO₄), filtered and concentrated. The residue was purified by flash chromatography (67% ethyl acetate in hexane) to afford the sub-title compound as a colourless gum (1.05 g, 63%): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.00-2.51 (6H, m), 3.05-3.38 (2H, m), 3.60-3.95 (3H, m), 4.35-4.95 (1H, m), 5.70-5.80 (1H, m), 7.55-7.95 (3H, m), 8.13-8.29 (1H, m), 8.48-8.61 (1H, m).

20 Method I: (S)-1-(Isoquinoline-1-carbonyl)-2-piperidinecarboxylic acid



WO 02/085899

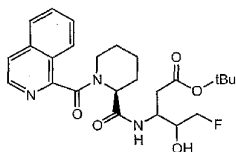
PCT/US02/12638

- 59 -

A stirred solution of (S)-1-(isoquinoline-1-carbonyl)-2-piperidinecarboxylic acid methyl ester (1.05 g, 3.52 mmol) in THF (20 ml) at room temperature was treated with water (10 ml). Lithium hydroxide (84 mg, 3.51 mmol) was then added and the resulting mixture was stirred at room temperature for 16 hrs. The resulting mixture was concentrated to remove the organic solvent. The resulting solution was then washed with diethyl ether and the remaining aqueous layer was made acid with 2 N HCl. The resulting solution was extracted with ethyl acetate and the organic layer was separated, dried (Na₂SO₄), filtered and concentrated to reveal a white solid (902 mg, 90%):
¹H NMR (400 MHz, d₄-MeOH) δ 1.20-2.52 (6H, m), 3.10-3.39 (2H, m), 4.10-4.90 (1H, m), 7.68-8.55 (5H, m).

Method J: [3S/R, 4S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-hydroxy-3-[1-(isoquinoline-1-carbonyl)-2-piperidinecarboxamidol]-pentanoic acid tert-butyl ester

20



A stirred mixture of (S)-1-(isoquinoline-1-carbonyl)-2-piperidinecarboxylic acid (278 mg, 0.98 mmol), 3-amino-5-fluoro-4-hydroxy-pentanoic acid tert-butyl ester (213 mg, 1.03 mmol), HOBT (145 mg, 1.07 mmol), DMAP (137 mg, 1.12 mmol) and anhydrous THF (25

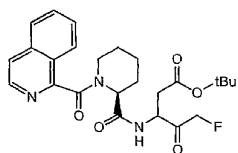
WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 60 -

ml) was cooled to 0°C then EDC (206 mg, 1.07 mmol) was added. The mixture was allowed to warm to room temperature during 16 hrs then concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (5% methanol in DCM) to afford the title compound as a white foam (425 mg, 92%): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.20-3.30 (17H, m), 3.95-4.18 (2H, m), 4.29-4.64 (4H, m), 4.86-5.01 (1H, m), 7.65-8.00 (4H, m), 8.10-9.00 (3H, m); ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃) δ -229.39, -229.41, -229.57, -229.60, -229.64, -229.69, -230.41, -231.08.

[3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-[1-(isoquinoline-1-carbonyl)-2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid tert-butyl ester



15

This sub-title compound was prepared using procedures similar to those described in method F as a white foam (268 mg, 63%): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.20-2.60 (15H, m), 2.69-4.30 (4H, m), 4.83-5.78 (4H, m), 7.23-7.35 (1H, m), 7.57-8.00 (1H, m), 8.13-8.30 (1H, m), 8.45-8.72 (1H, m), 9.08-9.73 (1H, m); ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃) δ -231.53, -231.69, -231.70, -232.13; MS (LR, ES) calculated for C₂₅H₃₀FN₃O₅: 471.5334, ES- 470.327, ES+ 472.270.

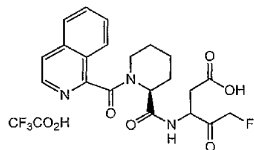
25

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 61 -

Method K: [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-hydroxy-3-[1-(isoquinoline-1-carbonyl)-2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid trifluoroacetic acid salt



5

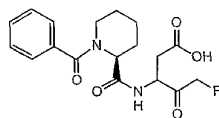
An ice cooled solution of trifluoroacetic acid (5 ml) in anhydrous DCM (5 ml) was added to a stirred ice cold solution of [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-[1-(isoquinoline-1-carbonyl)-2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid tert-butyl ester (240 mg, 0.51 mmol) in anhydrous DCM (15 ml). The mixture was stirred at 0°C for 2 hr and 4°C for 40 hr. The mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was dissolved in dry DCM. This process was repeated four times in order to remove excess trifluoroacetic acid. The gum was triturated with diethyl ether to afford the title compound as an off white solid (126 mg, 53%): IR (solid) 1794, 1736, 1646, 1441, 1250, 1198, 1150, 1055 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO+TFA) δ 1.18-2.36 (6H, m), 2.59-3.45 (4H, m), 4.10-5.51 (4H, m), 7.60-8.78 (7H, m); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO +TFA); ¹⁹F (376 MHz, d₆-DMSO) δ -226.75, -226.81, -227.00, -232.62, -232.66, -233.09; MS (LR, ES) calculated for C₂₁H₂₂FN₃O₅: 415.42, ES- 414.269, ES+ 416.198.

Example 3. [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-[1-benzoyl-2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid (compound 3)

WO 02/085899

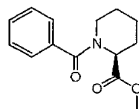
PCT/US02/12638

- 62 -



Method L: (S)-1-Benzoyl-2-piperidinecarboxylic acid methyl ester

5



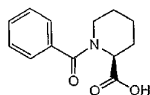
A stirred suspension of (S)-Piperidine-carboxylic acid methyl ester hydrochloride (1.009 g, 5.65 mmol) in anhydrous DCM (7 ml) at 0°C was treated with diisopropylamine (3 ml, 17.34 mmol) and then benzoyl chloride (0.72 ml, 6.21 mmol). The resulting mixture was then stirred at 0°C for 4 hr, before being diluted with DCM. The resulting solution was washed with 1 N HCl, saturated aq. NaHCO₃, saturated aq. NaCl, dried (MgSO₄), filtered and concentrated to reveal an oil. The residue was purified by flash chromatography (20% ethyl acetate in hexane) to afford the title compound as a colourless oil (1.221 g, 87%): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.25-1.80 (5H, m), 2.10-2.39 (1H, m), 2.75-3.27 (1H, m), 3.55-3.68 (0.66H, m), 3.70-3.79 (3H, m), 5.41-5.54 (0.66H, m), 5.41-5.53 (0.66H, m), 7.26-7.46 (5H, m).

Method M: (S)-1-Benzoyl-2-piperidinecarboxylic acid

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 63 -



A stirred solution of (S)-1-benzoyl-2-piperidinecarboxylic acid methyl ester (1.221 g, 4.94 mmol) in a solution of methanol (5 ml) in water (5 ml) at 0°C was treated with potassium hydroxide (305 mg, 5.43 mmol). The resulting mixture was stirred at 0°C for 2 hr. A further quantity of potassium hydroxide (111 mg, 1.97 mmol) was then added and the resulting mixture was stirred for 1.5 hr, then concentrated. The resulting aqueous solution was then washed with DCM and the remaining aqueous layer was made acid with 1 N HCl. The resulting solution was extracted with ethyl acetate and the organics were separated, dried (MgSO₄), filtered and concentrated to reveal a crystalline solid (870 mg, 76%): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 1.21-1.78 (5H, m), 1.98-2.27 (1H, m), 2.71-3.20 (1H, m), 3.28-3.38 (3H, m), 3.41-3.53 (0.5H, m), 4.21-4.47 (1H, m), 5.11-5.25 (0.5H, m), 7.27-7.39 (2H, m), 7.40-7.50 (3H, m).

[00131] The title compound was then prepared by subjecting (S)-1-Benzoyl-2-piperidinecarboxylic acid to procedures similar to those described in methods J, F and K. The product was isolated after RP-HPLC (MeCN/H₂O) as a white foam (25 mg, 10% last step): IR (solid) 3318, 2944, 1787, 1736, 1675, 1611 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 1.37-1.63 (5H, m), 2.05-2.18 (1H, m), 2.60-2.94 (2H, m), 3.25-3.46 (2H, m), 4.34-4.77 (2H, m), 5.12-5.29 (2H, m), 7.34-7.90 (5H, m), 8.12-8.58 (1H, m); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 20.54, 24.64, 25.11, 26.87, 27.80, 34.65, 45.82, 52.42, 58.46, 83.42,

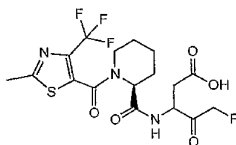
WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 64 -

126.37, 127.20, 128.74, 129.75, 129.86, 136.37, 171.38, 172.22, 173.33, 202.70, 202.82; ¹⁹F (376 MHz, d₆-DMSO) δ -226.52, -226.71, -226.84, -226.91, -230.13, -232.28, -232.39, -232.62, -232.66; MS (FAB +ve, HR) calculated for C₁₈H₂₁FN₂O₅ (MH⁺) 365.1513, found 365.1519.

Example 4. [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-[1-(2-methyl-4-trifluoromethyl-thiazole-5-carbonyl)-2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid (compound 4)



10

The title compound was prepared using procedures similar to those described in methods A-G. The product was isolated as a white foam (27.1 mg, 8% last step): IR (solid) 1794, 1736, 1632, 1436, 1355, 1203, 1165, 1126 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO+TFA) δ 1.14-1.74 (6H, m), 2.01-2.23 (1H, m), 2.42-3.55 (7H, m), 4.06-4.80 (2H, m), 5.00-5.39 (2H, m), 8.02-8.71 (1H, m); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO+TFA) δ 18.87, 19.07, 23.25, 23.85, 25.88, 31.47, 33.03, 33.20, 33.40, 44.18, 46.05, 46.16, 50.78, 50.82, 50.94, 51.02, 51.14, 51.26, 51.42, 56.58, 56.94, 80.08, 81.84, 81.93, 82.05, 83.73, 83.82, 102.44, 102.63, 116.52, 116.68, 116.90, 120.79, 122.31, 124.80, 125.55, 125.65, 129.02, 129.24, 129.32, 133.75, 135.65, 160.84, 161.00, 168.93, 169.18, 169.39, 170.64, 171.78, 172.64, 200.93, 201.26, 201.40; ¹⁹F (376 MHz, d₆-DMSO) δ -61.54, -226.61, -226.76, -226.86,

15

20

25

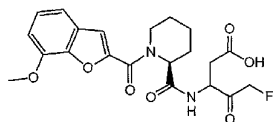
WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 65 -

-227.02, -228.01, -229.32, -229.86, -230.48, -231.39,
 -232.37, -232.55, -232.59, -232.69; MS (LR, ES)
 calculated for $C_{17}H_{19}F_4N_3O_5S$: 453.4157, ES- 452.327, ES+
 454.141.

- 5 Example 5. [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-[1-(7-methoxy-benzofuran-2-carbonyl)-2-piperidine-carboxamido]-pentanoic acid (compound 5)



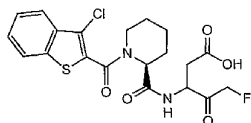
- 10 The title compound was prepared using
 procedures similar to those described in methods A-G.
 The product was isolated as a white foam (24.0 mg, 12%
 last step): IR (solid) 1794, 1736, 1627, 1589, 1427,
 1269, 1203 cm^{-1} ; 1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 1.20-
 15 1.80 (4H, m), 2.10-2.29 (1H, m), 2.52-3.66 (5H, m),
 4.05-5.42 (4H, m), 6.92-7.49 (4H, m), 8.29-8.90 (1H,
 m); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO +TFA) δ 20.52, 20.7524.64,
 25.21, 27.00, 32.91, 34.61, 44.97 (CH_2), 47.73, 52.41,
 52.66, 52.91, 53.25, 57.77 (CH , CH_3), 83.44, 85.21
 20 (CH_2), 103.94, 104.13 (C), 108.71, 113.92, 124.78 (CH),
 128.60, 143.56, 145.57, 148.54, 158.17, 158.55, 158.93,
 159.32, 160.59, 160.78, 170.91, 172.21, 173.28, 202.66,
 202.80; ^{19}F (376 MHz, d_6 -DMSO) δ -75.65, -226.85,
 -226.94, -228.09, -230.52, -230.83, -232.64, -232.74,
 25 -232.96.; MS (LR, ES) calculated for $C_{21}H_{23}FN_2O_7$:
 434.4251, ES- 433.386, ES+ 435.171.

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 66 -

Example 6. [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-[1-(3-chloro-benzo[b]thiophene-2-carbonyl)-2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid (compound 6)



5

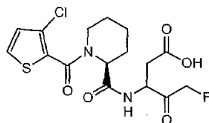
The title compound was prepared using procedures similar to those described in methods A-G. The product was isolated as a white foam (163 mg, 38% last step): IR (solid) 1803, 1736, 1674, 1622, 1527, 1417, 1269 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 1.20-1.80 (6H, m), 2.00-2.30 (1H, m), 2.39-3.60 (3H, m), 4.20-4.82 (2H, m), 4.98-5.40 (2H, m), 7.42-7.69 (2H, m), 7.72-7.94 (1H, m), 7.99-8.20 (1H, m), 8.23-8.70 (1H m); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 18.87, 19.07, 23.25, 23.85, 25.88, 31.47, 33.03, 33.20, 33.40, 44.18 (CH_2), 46.05, 46.16, 50.78, 50.82, 50.94, 51.02, 51.14, 51.26, 51.42, 56.58, 56.94 (CH), 80.08, 81.84, 81.93, 82.05, 83.73, 83.82 (CH_2), 102.44, 102.63, 116.52, 116.68, 116.90 (C), 120.79, 122.31, 124.80, 125.55, 125.65 (CH), 129.02, 129.24, 129.32, 133.75, 135.65, 160.84, 161.00, 168.93, 169.18, 169.39, 170.64, 171.78, 172.64, 200.93, 201.26, 201.40; ^{19}F (376 MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ -226.55, -226.79, -226.87, -226.97, -229.76, -229.88, -230.67, -231.15, -232.35, -232.50, -232.56, -232.61; MS (LR, ES) calculated for $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{ClFN}_2\text{O}_5\text{S}$: 454.9082, ES- 453.296, ES+ 455.12.

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 67 -

Example 7. [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-[1-(3-chlorothiophene-2-carbonyl)-2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid (compound 7)

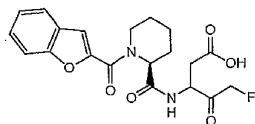


5

The title compound was prepared using procedures similar to those described in methods H-J, F and K. The product was isolated as a white foam: IR (solid) 1784, 1736, 1670, 1612, 1522, 1450, 1269 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.13-1.80 (5H, m), 2.01-3.60 (5H, m), 4.11-5.36 (4H, m), 7.02-7.17 (1H, m), 7.70-7.90 (1H, m), 8.40-8.61 (1H, m); ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) δ -226.90 (t), -232.65 (m); Low Res. MS (ES) calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClFN}_2\text{O}_5$: 404.8477, ES-403.23, ES+ 405.062.

15

Example 8. [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-[1-(benzofuran-2-carbonyl)-2-piperidinecarboxamido]pentanoic acid (compound 8)



20

The title compound was prepared using procedures similar to those described in methods A-G. The product was isolated as a white foam (3.7 mg, 6%

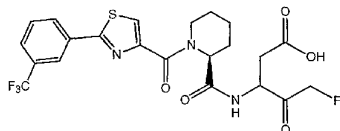
WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 68 -

last step): ^1H NMR (400 MHz, DMSO+TFA) δ 0.70-1.80 (5H, m), 2.10-3.60 (5H, m), 4.03-5.40 (4H, m), 7.20-7.83 (5H, m), 8.35-8.80 (1H, m); ^{19}F (376 MHz, CDCl₃) δ -226.75, -226.89, -232.71; Low Res. MS (ES) calculated for C₂₀H₂₁CFN₂O₆: 404.3986, ES- 403.359, ES+ 405.165.

Example 9. [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-[1-[2-(3-trifluoromethyl-phenyl)-thiazole-4-carbonyl]-2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid (compound 9)



10

The title compound was prepared using procedures similar to those described in methods A-G. The product was isolated as a white foam (31 mg, 11%
 15 last step): IR (solid) 1789, 1741, 1617, 1512, 1441, 1417, 1327, 1231, 1169, 1122 cm⁻¹; ^1H NMR (400 MHz, d₆-DMSO+TFA) δ 1.19-1.81 (5H, m), 2.04-3.55 (5H, m, Asp), 4.04-5.39 (4H, m), 7.64-8.36 (5H, m), 8.42-8.62 (1H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, d₆-DMSO+TFA) δ 20.54, 24.71,
 20 25.13, 27.12, 27.88, 33.06, 34.54, 34.67, 45.29, 47.62, 52.28, 52.42, 53.09, 57.78, 83.22, 83.44, 85.22, 103.92, 104.11, 122.90, 125.50, 125.85, 127.35, 128.21, 129.95, 130.26, 130.58, 130.78, 131.07, 133.77, 151.09, 163.56, 163.97, 165.03, 171.12, 171.28, 172.10, 172.17,
 25 202.81; ^{19}F (376 MHz, d₆-DMSO) δ -61.76, -226.75, -226.85, -226.96, -227.04, -230.23, -230.35, -230.85, -232.49, -232.6, -232.64, -232.83; MS (LR, ES)

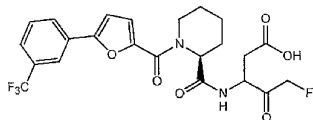
WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 69 -

calculated for $C_{22}H_{21}F_4N_3O_5S$: 515.4874, ES- 514.361, ES+ 516.167.

Example 10. [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-[1-[2-(3-trifluoromethyl-phenyl)-furan-4-carbonyl]-2-piperidinecarboxamido]-pentanoic acid (compound 10)



The title compound was prepared using
 10 procedures similar to those described in methods A-G.
 The product was isolated as a white foam (82mg, 18%
 last step): IR (solid) 1794, 1736, 1670, 1603, 1522,
 1431, 1331, 1255, 1165 cm^{-1} ; 1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO
 +TFA) δ 1.25-3.58 (10H, m), 4.18-5.34 (4H, m), 6.98-
 15 7.41 (2H, m), 7.62-7.78 (2H, m), 7.91-8.13 (2H, m),
 8.10-8.80 (1H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO +TFA) δ
 19.18, 19.42, 31.48, 33.13, 33.32, 50.87, 50.96, 81.95,
 81.98, 83.73, 83.76, 102.49, 102.54, 102.69, 107.73,
 116.84, 118.78, 119.28, 121.49, 123.66, 124.20, 126.62,
 20 126.91, 128.68, 129.00, 129.16, 129.21, 129.31, 145.80,
 145.87, 151.28, 151.39, 157.83, 158.40, 169.27, 169.64,
 170.60, 170.70, 171.80, 201.16, 201.30, 201.43; ^{19}F (376
 MHz, d_6 -DMSO +TFA) δ -61.63, -226.79, -232.56; MS (LR,
 ES) calculated for $C_{23}H_{22}F_4N_2O_6$: 498.4352, ES- 497.313,
 25 ES+ 499.233.

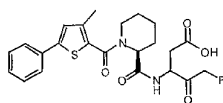
Example 11. [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-3-{[1-(3-methyl-5-phenyl-thiophene-2-carbonyl) piperidine-2-carbonyl]-

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 70 -

amino}-4-oxo-pentanoic acid (compound 11)



5

Method N: 5-Bromo-3-methyl-thiophene-2-carbaldehyde

A solution of 3-methylthiophene-2-carbaldehyde (10g, 0.079mol) in dichloromethane (10ml) was added dropwise to a stirred solution of bromine (4.08ml, 0.079mol) in dichloromethane (15ml) at room temperature. The resulting mixture was heated to reflux temperature for 3 hours before cooling to room temperature, washed with water (3 x 50ml), saturated NaHCO₃ solution (2 x 25ml), dried (MgSO₄) and the solvent removed at reduced pressure to give the subtitle compound as a brown solid (14.7g, 66% yield): ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ_H 2.60 (3H, s), 6.97 (1H, s) 9.20 (1H, s).

20 Method O: 3-Methyl-5-phenyl-thiophene-2-carbaldehyde

To a solution of 5-bromo-3-methyl-thiophene-2-carbaldehyde (1.00g, 4.88mmol) in ethylene glycol dimethyl ether (9ml) was added phenylboronic acid (0.773g, 6.34mmol), 2M Na₂CO₃ solution (6.3ml) and Pd(PPh₃)₄ [0.282g, 0.24mmol]. The mixture was heated for 18 hours, cooled and the solvent removed at reduced pressure to leave a brown residue which was partitioned between water (15ml) and dichloromethane (20ml). The organic was separated, washed with water (2 x 5ml), brine (10ml), dried (MgSO₄) and the solvent removed at

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 71 -

reduced pressure to give a brown oil. Purification by flash column chromatography (6:1 petrol 40-60°C / ethyl acetate) gave the sub-title compound as a yellow oil (0.90g, 91% yield): $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ_{H} 2.75 (3H, s), 7.25 (1H, s) 7.35-7.75 (5H, s), 10.05 (1H, s).

Method F: 3-Methyl-5-phenyl-thiophene-2-carboxylic acid

To a stirred solution of 3-methyl-5-phenyl-thiophene-2-carbaldehyde (0.200g, 0.99mmol) and 2-methyl-2-butene (2.77g, 0.040mol) in dimethylformamide (4ml) at 0°C was added NaClO_2 (0.894g, 9.89mmol) and NaH_2PO_4 (1.09g, 7.91mmol) in water (5ml). The solution was allowed to warm to room temperature and stirred for 18 hours. The solvent was removed at reduced pressure and the residue partitioned between dichloromethane (10ml) and 1N HCl solution (10ml). The organic was separated, the aqueous layer extracted with dichloromethane (2 x 5ml). The combined organic layers were dried (MgSO_4) and the solvent removed at reduced pressure to give a yellow oil. Purification by flash column chromatography 50% ethyl acetate / petrol 40-60°C gave the sub-title compound as a white solid (0.14g, 69% yield): $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ_{H} 2.65 (3H, s), 7.25 (1H, s) 7.35-7.80 (5H, s).

25

Method Q: [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-3-([1-(3-methyl-5-phenyl-thiophene-2-carbonyl) piperidine-2-carbonyl]-amino)-4-oxo-pentanoic acid

The title compound was prepared from 3-methyl-5-phenyl-thiophene-2-carboxylic acid using procedures similar to those described in Methods F, H-K. The product was isolated as a white foam (0.066g,

30

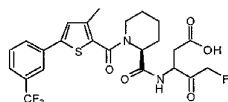
WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 72 -

81% yield): IR (film) 1781.5, 1715.3, 1668.0, 1597.1, 1441.0, 1190.3cm⁻¹; ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ_H 1.00-1.80 (6H, m), 1.90-2.30 (4H, m), 2.70-3.90 (4H, m), 4.10-5.50 (4H, 2 x m), 7.30-8.60 (6H, 4 x m); ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO) -61.7, -224.3, -226.7, -226.8, -227.5, -232.7, -233.4; MS (FAB +ve, HR) Calculated for C₂₃H₂₄FN₂O₅S (MH⁻) 459.52, found 459.40.

Example 12. [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-3-({1-[3-methyl-5-(3-trifluoromethyl-phenyl)-thiophene-2-carbonyl]-piperidine-2-carbonyl}-amino)-4-oxo-pentanoic acid (compound 12)



15

The title compound was prepared from 3-methylthiophene-2-carbaldehyde using procedures similar to those described in Methods F, H-K, N-P. The product was isolated as a pale pink solid (0.16g, 94%): IR (film) 1784.0, 1726.9, 1664.9, 1588.7, 1436.2, 1326.6, 1164.6cm⁻¹; ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ_H 1.00-1.80 (6H, m), 1.90-2.30 (4H, m), 2.70-4.05 (4H, m), 4.10-5.40 (4H, m), 7.00-9.00 (6H, m); ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO) -62.0, -224.3, -226.7, -226.9, -227.5, -232.6, -232.7, -233.4; MS (FAB +ve, HR) Calculated for C₂₄H₂₃F₄N₂O₅S (MH⁻) 527.41, found 527.52.

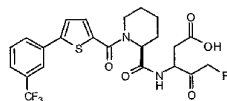
Example 13. [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-({1-[5-(3-trifluoromethyl-phenyl)-thiophene-2-carbonyl]-

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 73 -

piperidine-2S-carbonyl)-amino)-pentanoic acid (compound 13)

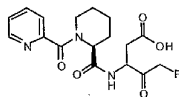


5

The title compound was prepared from thiophene-2-carbaldehyde using procedures similar to those described in Methods F, H-K, N-P. The product was isolated as a pale yellow solid (0.23g, 93%): IR (film) 1784.0, 1722.1, 1664.9, 1588.7, 1531.5, 1321.8, 1164.6cm⁻¹; ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ_H 0.90-1.85 (6H, m), 2.00-2.40 (1H, m), 2.45-3.50 (3H, m), 3.90-5.55 (4H, m), 7.00-9.05 (7H, m); ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO) -61.7, -224.3, -226.7, -226.8, -227.5, -227.6, -232.7, -233.4; MS (FAB +ve, HR) Calculated for C₂₃H₂₃F₄N₂O₅S (MH⁺) 515.51, found 515.35.

Example 14. [3S/R, (2S)]-5-Fluoro-4-oxo-3-{[1-(pyridine-2-carbonyl)-piperidine-2-carbonyl]-amino}-pentanoic acid (compound 14)

20



The title compound was prepared from pyridine-2-carboxylic acid using procedures similar to those described in Methods F, H-K. The product was isolated as a white solid (0.10g, 93%): IR (film)

25

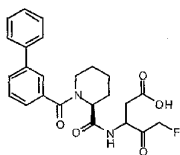
WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 74 -

2945.4, 1650.5, 1446.6, 1186.5, 1139.9 cm^{-1} ; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ_{H} 1.40-1.80 (6H, m), 2.20-2.50 (1H, m), 2.69-3.12 (2H, m), 3.29-3.35 (1H, m), 3.48-3.51 (1H, m), 4.47-5.29 (3H, m), 7.37-9.11 (6H, m); ^{19}F NMR (376MHz, CDCl_3) -231.69, -231.56, -231.44; MS (FAB +ve, HR) Calculated for $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_5$ (MH+) 366.36, found 366.4.

Example 15. [3S/R, (2S)]-3-([1-(Biphenyl-3-carbonyl)-piperidine-2-carbonyl]-amino)-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid (compound 15)



The title compound was prepared from 3-biphenylcarboxylic acid using procedures similar to those described in Methods F, H-K. The product was isolated as a white solid (0.13g, 97%): IR (film) 2930.9, 1782.2, 1723.7, 1668.6, 1596.1, 1444.2, 1174.7 cm^{-1} ; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ_{H} 1.40-1.90 (6H, m), 2.19-2.41 (1H, m), 2.70-3.30 (3H, m), 3.70-3.85 (1H, m), 4.30-5.50 (3H, m), 7.35-7.70 (11H, m); ^{19}F NMR (376MHz, CDCl_3) -229.60, -229.88; MS (FAB +ve, HR) Calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{FN}_2\text{O}_5$ (MH+) 441.46, found 441.4.

Biological Methods

Example 16: Enzyme Assays

The assays for caspase inhibition are based on the cleavage of a fluorogenic substrate by

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 75 -

recombinant, purified human Caspases-1, -3, -7 or -8.
The assays are run in essentially the same way as those reported in WO01/42216.

The compounds of examples 1-15 possess K_{inact}
5 values $> 5,000 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ against caspases-1, -3 and -8.

Example 17: Inhibition of IL-1 β secretion from Mixed Population of Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC)

Processing of pre-IL-1 β by caspase-1 can be
10 measured in cell culture using a variety of cell sources. Human PBMC obtained from healthy donors provides a mixed population of lymphocyte and mononuclear cells that produce a spectrum of
15 interleukins and cytokines in response to many classes of physiological stimulators. The assay conditions used for inhibition of IL-1 β secretion from mixed population of peripheral blood mononuclear cells can be found in WO01/42216.

The inhibitory potency of the compounds can
20 be represented by an IC_{50} value, which is the concentration of inhibitor at which 50% of the mature IL-1 β is detected in the supernatant as compared to the positive controls. Compound 10 of this invention showed an IC_{50} of less than $0.5 \mu\text{M}$ in inhibition of IL-
25 1 β secretion from peripheral blood mononuclear cells as determined by the above methods.

Example 18: Anti-Fas Induced Apoptosis Assay

Cellular apoptosis can be induced by the
30 binding of Fas ligand (FasL) to its receptor, CD95 (Fas). Conditions for an assay to measure the effect of

compounds on the inhibition of the caspase-8-mediated apoptotic pathway can be found in WO01/42216.

Compound 3 of this invention showed an IC_{50} of less than 0.05 μ M in the FAS induced apoptosis assay.

5

Example 19: Inhibition of TNF release from whole blood

Human blood was freshly drawn from healthy donors and collected in vacutainers. Blood was diluted 1:2 in PBS (tissue culture, pyrogen free) in a sterile bottle and inverted to mix well. Aliquots of 0.5 ml of blood mixture were dispensed into cluster tubes in 96 well format.

Dilutions of the test compounds were prepared in RPMI by taking 100mM DMSO stocks of the compounds and diluting 1:10 in RPMI medium in eppendorfs, to give a 10mM stock. 1:5 serial dilutions were prepared from the stock solutions.

LPS was kept at a frozen stock (-20 degrees C) at 1mg/ml in PBS and then diluted to 1:10 with RPMI medium and finally diluted in the medium again 1:350. 50 μ l of each test compound (first concentration was 100 μ M) were added to the blood samples and then stimulated with 10 μ l LPS (final concentration in the well is 5ng/ml). The contents were gently mixed using an 8 well multi-channel pipette and incubated at 37°C over night. At the end of the incubation time, contents were gently mixed, then spun down at 1000 x g for 5 mins at 20°C. The serum supernatants were transferred to a fresh plate without disturbing the RBCs and diluted 1:2 with the diluent RD6C.

TNF-alpha levels of supernatants were assayed using the R+D systems ELISA kit, using R+D systems

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 77 -

protocol. Samples were read at 450nm. Most preferred compounds of this invention showed IC_{50} of less than 6 μ M in the LPS-induced TNF-alpha assay in whole blood.

Compound 10 of this invention showed an IC_{50} of less than 6 μ M (5044 nM) in the LPS induced TNF-alpha assay in whole blood.

While we have described a number of embodiments of this invention, it is apparent that our basic examples can be altered to provide other embodiments, which utilize the compounds and methods of this invention. Therefore, it will be appreciated that the scope of this invention is to be defined by the appended claims rather than by the specific embodiments, which have been represented by way of example.

WO 02/085899

PCT/US02/12638

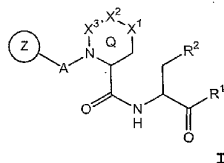
- 78 -

CLAIMS

We claim:

1. A compound of the formula I:

5



wherein:

R¹ is hydrogen, CN, CHN₂, R, or -CH₂Y;

R is an aliphatic group, a substituted aliphatic group,
 10 an aryl group, a substituted aryl group, an aralkyl
 group, a substituted aralkyl group, a non-aromatic
 heterocyclic group, or a substituted non-aromatic
 heterocyclic group;

Y is an electronegative leaving group, -OR, -SR,

15 -OC=O(R), or -OPO(R³)(R⁴);R³ and R⁴ are independently R or OR;R² is CO₂H, CH₂CO₂H, or optionally substituted
 esters, amides or isosteres thereof;A is C=O or SO₂;

20 X¹ is oxygen, sulfur, -NH, or -CH₂, wherein -NH is
 optionally substituted by an alkyl group, a
 cycloalkyl group, a (cycloalkyl)alkyl group, a
 amino acid N-terminal protecting group, or COR and -CH₂ is
 optionally substituted by fluorine, an alkyl group, a
 25 cycloalkyl group, a (cycloalkyl)alkyl group, an
 aralkyl group, an aryl group, an alkyloxy group, an

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 79 -

alkylthioxy group, an aryloxy group, an arylthioxy group, an oxo group (i.e., =O), or a NHCOR group; X² is oxygen, sulfur, -NH, or -CH₂, wherein -NH is optionally substituted by an alkyl group, or an amino acid N-terminal protecting group and -CH₂ is optionally substituted by an alkyl group, an aryl group, an alkyloxy group, an alkylthioxy group, an aryloxy group, an arylthioxy group, or an oxo (i.e., =O) group, a NHCOR group; X¹ and X² optionally form part of a phenyl ring that is fused to the adjoining ring Q; X³ is CH₂ or X² and X³ optionally form part of a phenyl ring that is fused to the adjoining ring Q, provided that when X² forms a ring with X³, then X² does not form a ring with X¹; any two hydrogens attached to adjacent positions in ring Q are optionally replaced by a double bond; and Z is an optionally substituted ring selected from the group consisting of a carbocyclic, an aryl, a saturated heterocycle, a partially saturated heterocycle, and a heteroaryl wherein the ring is connected to A at a ring carbon; or a pharmaceutically acceptable derivative thereof.

25 2. The compound of claim 1 wherein R¹ is CH₂Y and Y is F, OR, SR, or -OC(=O)(R).

 3. The compound of claim 2 wherein Y is F.

30 4. The compound of claim 2 wherein R² is CO₂H, an ester, amide, or carboxylic acid isostere.

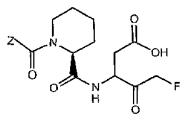
WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 80 -

5. The compound of claim 4 wherein R² is CO₂H.
6. The compound of claim 4 wherein X¹ and X² are each CH₂, or X¹ and X² combine to form part of an optionally substituted phenyl ring fused to ring Q.
7. The compound of claim 6 wherein X¹ and X² are each CH₂.
8. The compound of claim 7 wherein A is CO.
9. The compound of claim 8 wherein Z is an optionally substituted aryl which is connected to A at a ring carbon.
10. The compound of claim 1 selected from Table 1 below:

Table 1. Representative Compounds



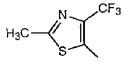
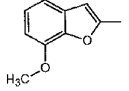
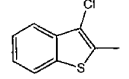

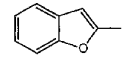
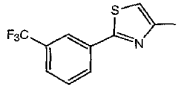
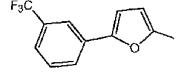


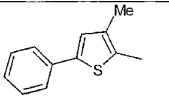
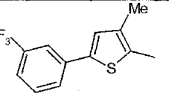
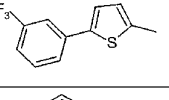
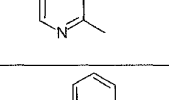
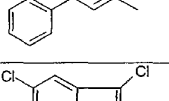
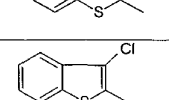
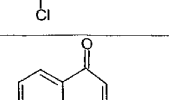
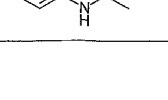
No.	Z
1.	

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 81 -

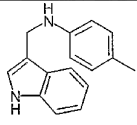
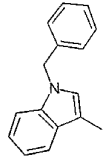
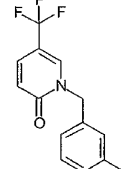
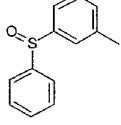
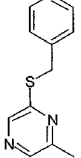
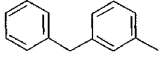
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

11	 <chem>Cc1sc(Cc2ccccc2)c1</chem>
12	 <chem>Cc1sc(Cc2ccc(C(F)(F)F)cc2)c1</chem>
13	 <chem>Cc1sc(Cc2cccc(C(F)(F)F)c2)c1</chem>
14	 <chem>Cc1ccncc1</chem>
15	 <chem>Cc1cc(Cc2ccccc2)nc(=O)n1</chem>
16	 <chem>Cc1c(Cl)c(Cl)sc2c1ccccn2</chem>
17	 <chem>Cc1c(Cl)c(Cl)sc2c1ccccn2</chem>
18	 <chem>Cc1c[nH]c(=O)c2ccccc12</chem>

WO 02/085899

PCT/US02/12638

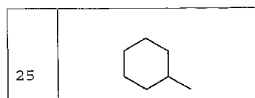
- 83 -

19	
20	
21	
22	
23	
24	

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 84 -



11. A pharmaceutical composition comprising:
- a) a compound or a pharmaceutically acceptable derivative thereof according to any one of claims 1-10;
 - and b) a pharmaceutically acceptable carrier, adjuvant or vehicle.
12. A method for treating or preventing a disease selected from a group consisting of an IL-1 mediated disease, an apoptosis mediated disease, a TNF-alpha mediated disease, an inflammatory disease, an autoimmune disease, a destructive bone disorder, a proliferative disorder, an infectious disease, a degenerative disease, a skin disease, a disease associated with cell death, an excess dietary alcohol intake disease, a viral mediated disease, retinal disorder, uveitis, inflammatory peritonitis, osteoarthritis, pancreatitis, asthma, adult respiratory distress syndrome, glomerulonephritis, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, scleroderma, chronic thyroiditis, Grave's disease, autoimmune gastritis, diabetes, autoimmune hemolytic anemia, autoimmune neutropenia, thrombocytopenia, chronic active hepatitis, myasthenia gravis, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, psoriasis, atopic dermatitis, contact dermatitis, scarring, graft vs host disease, organ transplant rejection, organ apoptosis after burn injury, osteoporosis, leukemias and related disorders, myelodysplastic syndrome, multiple myeloma-related bone

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 85 -

disorder, acute myelogenous leukemia, chronic
myelogenous leukemia, metastatic melanoma, Kaposi's
sarcoma, multiple myeloma, haemorrhagic shock, sepsis,
septic shock, burns, trauma, systemic inflammatory
5 response syndrome, multiple organ dysfunction syndrome,
Shigellosis, Alzheimer's disease, Parkinson's disease,
Huntington's disease, Kennedy's disease, prion disease,
cerebral ischemia, epilepsy, myocardial ischemia, acute
and chronic heart disease, myocardial infarction,
10 congestive heart failure, atherosclerosis, coronary
artery bypass graft, spinal muscular atrophy,
amyotrophic lateral sclerosis, multiple sclerosis, HIV-
related encephalitis, aging, alopecia, neurological
damage due to stroke, ulcerative colitis, traumatic
15 brain injury, spinal chord injury, hepatitis-B,
hepatitis-C, hepatitis-G, yellow fever, dengue fever,
Japanese encephalitis, various forms of liver disease,
renal disease, polycystic kidney disease, H. pylori-
associated gastric and duodenal ulcer disease, HIV
20 infection, tuberculosis, and meningitis in a subject
comprising the step of administering to said subject a
compound or a pharmaceutically acceptable derivative
thereof according to any one of claims 1-10 or a
pharmaceutical composition according to claim 11.

25

13. The method according to claim 12,
wherein the disease is an apoptosis mediated disease,
an inflammatory disease, an autoimmune disease, a
destructive bone disorder, a proliferative disorder, an
30 infectious disease, a degenerative disease, a disease
associated with cell death, an excess dietary alcohol
intake disease, a viral mediated disease, inflammatory
peritonitis, glomerulonephritis, diabetes, autoimmune

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 86 -

hemolytic anemia, autoimmune neutropenia,
thrombocytopenia, chronic active hepatitis, scarring,
graft vs host disease, organ transplant rejection,
osteoporosis, leukemias and related disorders,
5 myelodysplastic syndrome, metastatic melanoma,
haemorrhagic shock, sepsis, septic shock, burns,
trauma, systemic inflammatory response syndrome,
multiple organ dysfunction syndrome, Shigellosis,
Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's
10 disease, Kennedy's disease, prion disease, cerebral
ischemia, epilepsy, myocardial ischemia, acute and
chronic heart disease, myocardial infarction,
congestive heart failure, atherosclerosis, coronary
artery bypass graft, spinal muscular atrophy,
15 amyotrophic lateral sclerosis, multiple sclerosis, HIV-
related encephalitis, aging, alopecia, neurological
damage due to stroke, traumatic brain injury, spinal
chord injury, hepatitis-B, hepatitis-C, hepatitis-G,
various forms of liver disease, renal disease,
20 polycystic kidney disease, H. pylori-associated gastric
and duodenal ulcer disease, HIV infection,
tuberculosis, or meningitis.

14. A method for inhibiting a caspase-
25 mediated function in a subject comprising the step of
administering to said subject a compound or a
pharmaceutically acceptable derivative thereof
according to any one of claims 1-10 or a pharmaceutical
composition according to claim 11.

30

15. A method for decreasing TNF-alpha levels
or activity in a subject comprising the step of
administering to said subject a compound or a

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 87 -

pharmaceutically acceptable derivative thereof
according to any one of claims 1-10 or a pharmaceutical
composition according to claim 11.

5 16. A method for decreasing IGIF- or IFN- γ
production in a subject comprising the step of
administering to said subject a compound or a
pharmaceutically acceptable derivative thereof
according to any one of claims 1-10 or a pharmaceutical
10 composition according to claim 11.

 17. A method for treating complications
associated with coronary artery bypass grafts
comprising the step of administering to said subject a
15 compound or a pharmaceutically acceptable derivative
thereof according to any one of claims 1-10 or a
pharmaceutical composition according to claim 11.

 18. A method for preserving cells comprising
20 the step of bathing the cells in a solution of a
compound or a pharmaceutically acceptable derivative
thereof according to any one of claims 1-10.

 19. A method according to claim 18, wherein
25 said compound or pharmaceutically acceptable derivative
thereof is used for an organ transplant or for
preserving blood products.

 20. A method of treating cancer comprising
30 the step of administering a compound or a
pharmaceutically acceptable derivative thereof
according to any one of claims 1-10 or a pharmaceutical

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 88 -

composition according to claim 11 wherein said compound or composition is used as a component of immunotherapy.

21. The method according to any one of
5 claims 12-19 wherein said compound, derivative or composition is administered with an additional therapeutic agent.

22. The method of claim 21 wherein said
10 additional therapeutic agent is selected from a group consisting of a thrombolytic agent, an anti-inflammatory agent, a matrix metalloprotease inhibitor, a lipoxigenase inhibitor, a cytokine antagonist, an immunosuppressant, an anti-cancer agent, an anti-viral
15 agent, a cytokine, a growth factor, an immunomodulator, a prostaglandin, and an anti-vascular hyperproliferation compound.

23. A method for inhibiting TNF-mediated
20 conditions in a subject comprising the step of administering to said subject a compound or a pharmaceutically acceptable derivative thereof according to any one of claims 1-10 or a pharmaceutical
composition according to claim 11.

25

24. The method according to claim 23, wherein
said TNF-mediated conditions are selected from a group consisting of restinosis, inflammatory diseases of the
central nervous system, demyelinating diseases of the
30 nervous system, multiple sclerosis, septic arthritis, aneurysmal aortic disease, traumatic joint injury, periodontal disease, macular degeneration, diabetic retinopathy, ocular inflammation, keratoconus,

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 89 -

Sjogren's syndrome, corneal graft rejection, cachexia, and anorexia.

25. A method for identifying a compound that
5 decreases TNF-alpha levels in a cell culture comprising
the steps of administering a compound or a
pharmaceutically acceptable derivative thereof
according to any one of claims 1-10 or a pharmaceutical
composition according to claim 11 to the cell culture
10 and comparing the amount of TNF-alpha present to the
amount of TNF-alpha present in a cell culture that has
not been treated with the compound.

26. A method for identifying a compound that
decreases TNF-alpha activity in a cell culture
15 comprising the steps of administering a compound or a
pharmaceutically acceptable derivative thereof
according to any one of claims 1-10 or a pharmaceutical
composition according to claim 11 to the cell culture
and comparing the amount of TNF-alpha present to the
20 amount of TNF-alpha present in a cell culture that has
not been treated with the compound.

27. A method for decreasing TNF-alpha levels
or activity in a cell culture comprising the step of
administering to the cell culture a compound or a
25 pharmaceutically acceptable derivative thereof
according to any one of claims 1-10 or a pharmaceutical
composition according to claim 11.

28. A kit comprising a caspase inhibitor and
a tool for measuring TNF-alpha levels or activity.

30 29. A method for identifying a compound for
decreasing TNF-alpha levels in a subject comprising

WO 02/085899

PCT/US02/12638

- 90 -

administering a compound or a pharmaceutically
acceptable derivative thereof according to any one of
claims 1 to 10 or a pharmaceutical composition
comprising the compound and comparing the TNF-alpha
5 levels present in the subject before and after
treatment with the compound.

30. A method for identifying a compound for
decreasing TNF-alpha activity in a subject comprising
administering a compound or a pharmaceutically
10 acceptable derivative thereof according to any one of
claims 1 to 10 or a pharmaceutical composition
comprising the compound and comparing the TNF-alpha
activity present in the subject before and after
treatment with the compound.

15

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US 02/12638
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07D417/06 C07D401/06 C07D211/60 C07D405/06 C07D409/06 A61K31/445 A61P29/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07D A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	WO 02 22611 A (VERTEX PHARMACEUTICALS INC.) 21 March 2002 (2002-03-21) claims 1-14; table 1 ---	1-30
P,Y	WO 01 44214 A (ONO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 21 June 2001 (2001-06-21) claims 1-22 ---	1-30
Y	WO 98 16502 A (WARNER-LAMBERT CO.) 23 April 1998 (1998-04-23) claims 1-43 --- -/-	1-30
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *C* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *S* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 August 2002		Date of mailing of the international search report 11/09/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Herz, C

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US 02/12638
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	S. VENDEVILLE ET AL.: "Identification of Inhibitors of an 80 kDa Protease from Trypanosoma cruzi through the Screening of a Combinatorial Peptide Library" CHEM. PHARM. BULL., vol. 47, no. 2, 1999, pages 194-198, XP001095931 table 1	1-30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				International Application No. PCT/US 02/12638	
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date		
WO 0222611	A	21-03-2002	AU 9079501 A	26-03-2002	
			WO 0222611 A2	21-03-2002	
			US 2002058630 A1	16-05-2002	
WO 0144214	A	21-06-2001	AU 1650401 A	25-06-2001	
			WO 0144214 A1	21-06-2001	
WO 9816502	A	23-04-1998	AU 738341 B2	13-09-2001	
			AU 4902397 A	11-05-1998	
			BR 9712530 A	19-10-1999	
			EP 0932598 A1	04-08-1999	
			JP 2001506974 T	29-05-2001	
			NO 991677 A	09-06-1999	
			WO 9816502 A1	23-04-1998	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

F I

テーマコード(参考)

A 6 1 K 31/4545	A 6 1 K 31/4545
A 6 1 K 31/4725	A 6 1 K 31/4725
A 6 1 P 1/02	A 6 1 P 1/02
A 6 1 P 1/04	A 6 1 P 1/04
A 6 1 P 1/16	A 6 1 P 1/16
A 6 1 P 1/18	A 6 1 P 1/18
A 6 1 P 3/10	A 6 1 P 3/10
A 6 1 P 5/14	A 6 1 P 5/14
A 6 1 P 7/00	A 6 1 P 7/00
A 6 1 P 7/06	A 6 1 P 7/06
A 6 1 P 9/00	A 6 1 P 9/00
A 6 1 P 9/10	A 6 1 P 9/10
A 6 1 P 11/00	A 6 1 P 11/00
A 6 1 P 11/02	A 6 1 P 11/02
A 6 1 P 11/06	A 6 1 P 11/06
A 6 1 P 13/12	A 6 1 P 13/12
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 17/00
A 6 1 P 17/02	A 6 1 P 17/02
A 6 1 P 17/04	A 6 1 P 17/04
A 6 1 P 17/06	A 6 1 P 17/06
A 6 1 P 17/14	A 6 1 P 17/14
A 6 1 P 19/00	A 6 1 P 19/00
A 6 1 P 19/02	A 6 1 P 19/02
A 6 1 P 19/06	A 6 1 P 19/06
A 6 1 P 19/10	A 6 1 P 19/10
A 6 1 P 21/00	A 6 1 P 21/00
A 6 1 P 21/04	A 6 1 P 21/04
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 25/00
A 6 1 P 25/08	A 6 1 P 25/08
A 6 1 P 25/14	A 6 1 P 25/14
A 6 1 P 25/16	A 6 1 P 25/16
A 6 1 P 25/28	A 6 1 P 25/28
A 6 1 P 25/32	A 6 1 P 25/32
A 6 1 P 27/02	A 6 1 P 27/02
A 6 1 P 27/14	A 6 1 P 27/14
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 29/00
A 6 1 P 31/00	A 6 1 P 29/00
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 31/00
A 6 1 P 31/06	A 6 1 P 31/04
A 6 1 P 31/12	A 6 1 P 31/06
A 6 1 P 31/14	A 6 1 P 31/12
A 6 1 P 31/18	A 6 1 P 31/14
A 6 1 P 31/20	A 6 1 P 31/18
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 31/20
A 6 1 P 35/02	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 37/00	A 6 1 P 35/02
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 37/00

1 0 1

A 6 1 P 37/06	A 6 1 P 37/02
A 6 1 P 37/08	A 6 1 P 37/06
A 6 1 P 39/02	A 6 1 P 37/08
A 6 1 P 41/00	A 6 1 P 39/02
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 41/00
C 0 7 D 401/06	A 6 1 P 43/00 1 0 1
C 0 7 D 405/06	A 6 1 P 43/00 1 0 5
C 0 7 D 409/06	A 6 1 P 43/00 1 1 1
C 0 7 D 417/06	A 6 1 P 43/00 1 2 1
// C 0 7 M 7:00	C 0 7 D 401/06
	C 0 7 D 405/06
	C 0 7 D 409/06
	C 0 7 D 417/06
	C 0 7 M 7:00

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN, TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE, GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,P L,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ディウ - ハーセンド, アニータ
フランス国 エフ - 9 4 2 2 0 チャーレントン - ル - ポント, ル ガブリエル, 3 9

(72)発明者 ゴレック, ジュリアン
イギリス国 ウィルトシャー エスエヌ 6 8 エルエス, スウィンドン, アシュバリー, チャペル ロード, マナー ファーム 8

(72)発明者 ハーセンド, シエリー
フランス国 エフ - 9 4 2 2 0 チャーレントン - ル - ポント, ル ガブリエル, 3 9

(72)発明者 クニグテル, ロナルド
イギリス国 オックスフォードシア オーエックス 1 4 5 エヌダブリュー, アビンドン, アンダーセイ ウェイ 9 2

(72)発明者 ラン, ポウル
フランス国 エフ - 7 4 2 5 0 ブウズ - エン - サラズ, バキングニー

(72)発明者 ミラー, アンドリュウ
イギリス国 オックスフォードシア オーエックス 1 1 9 ジェイシー, デイドコット, アップトン, チルトン ロード, チェリー コテイジ

(72)発明者 ミラー, カレン
イギリス国 バークシア アールジー 2 0 7 エイエル, ニューバリー, ウェスト イルスレイ, タングルウッド

(72)発明者 マーティモア, マイケル
イギリス国 オックスフォードシア オーエックス 1 8 4 キューワイ, パーフォード, 1 5 6 ザ ヒル, ワルラス ハウス

(72)発明者 ウェバー, ピーター
イギリス国 オックスフォードシア オーエックス 1 4 5 ビーピー, アビンドン, ウェスト ストリート ヘレンズ ストリート 7 6

Fターム(参考) 4C054 AA02 CC04 DD38 EE01 FF01
4C063 AA01 BB04 CC12 CC15 CC62 CC75 CC76 CC92 CC94 DD10
EE01
4C086 AA01 AA02 AA03 BC21 BC30 BC82 GA02 GA04 GA07 GA08
GA10 GA16 MA01 MA02 MA03 MA04 MA05 NA14 ZA02 ZA06

ZA08	ZA15	ZA16	ZA22	ZA33	ZA34	ZA36	ZA45	ZA51	ZA55
ZA59	ZA66	ZA67	ZA68	ZA75	ZA81	ZA89	ZA92	ZA94	ZA96
ZA97	ZB02	ZB05	ZB08	ZB11	ZB13	ZB15	ZB21	ZB26	ZB27
ZB31	ZB32	ZB33	ZB35	ZB38	ZC06	ZC20	ZC31	ZC35	ZC37
ZC39	ZC41	ZC52	ZC55	ZC75					