



EESTI VABARIIK

PATENDIAMET

(11) **EE-EP 1 745 064 B1**

(51) Int. Cl.
C07K 5/087 (2006.01)
C07K 5/08 (2006.01)
A61K 38/06 (2006.01)

(12) **EESTIS KEHTIVA EUROOPA PATENDI
 PATENDIKIRJELDUSE TÕLGE**

(10) Registreeringu number:	E005328	(73) Patendiomanik:	
(11) Patendikirjelduse tõlke number:	EE-EP 1 745 064	Proteolix, Inc.	230 East Grand Avenue, Suite A, South San Francisco, CA 94080, US
(30) Prioriteediandmed:	15.04.2004 US 562340 P	(72) Leiutise autorid:	
	07.05.2004 US 569096 P	SMYTH, Mark S.	860 Pollux Court, Foster City, CA 94404, US
	06.08.2004 US 599401 P	L Aidig, Guy J.	329 Waverley Street, Menlo Park, CA 94025, US
	14.09.2004 US 610001 P	BORCHARDT, Ronald T.	3100 Campfire Drive, Lawrence, KS 66049, US
	14.09.2004 US 610002 P	BUNIN, Barry A.	4171 George Ave No. 4, San Mateo, CA 94403, US
	14.09.2004 US 610159 P	CREWS, Craig M.	286 Livingston Street, New Haven, CT 06511, US
(96) Euroopa patenditaotluse esitamise kuupäev:	14.04.2005	MUSSER, John H.	23 Michael Court, San Carlos, CA 94070, US
(96) Euroopa patendi- taotluse number:	05735686.7	CHABALA, John Clifford	602 Sherwood Parkway, Mountainside, NJ 07092, US
(97) Euroopa patendi väljaand- misest teatamise kuupäev:	05.01.2011	(74) Patendivolinik:	
(97) Euroopa patendi number:	EP 1 745 064	Leevi Markus	Patendibüroo Käosaar & Co OÜ Tähe 94, 50107 Tartu, EE
Patendikirjelduse tõlke esitamise kuupäev:	10.03.2011		
Patendikirjelduse tõlke avalikustamise kuupäev:	15.06.2011		

(54) Ühendid proteasoomi ensüümi inhibeerimiseks

Ühendid proteasoomi ensüümi inhibeerimiseks

TEHNIKAVALDKOND

Antud leiutis käsitleb ühendeid ja meetodeid ensüümi inhibeerimiseks. Täpsemalt käsitleb leiutis ensüümi inhibeerimisel põhinevaid ravimeetodeid.

5 TEHNIKA TASE

- Eukarüootides vahendatakse valkude degradatsiooni peamiselt ubikvitiini raja kaudu, milles lõhustumiseks määratud valgud ligeeritakse 76 aminohappe polüpeptiidi ubikvitiinile. Määramise järel toimivad ubikvitineeritud valgud siis substraadina 26S proteasoomile, mis on multikatalüütiline proteaas ja lõhustab
- 10 valke lühikesteks peptiidideks oma kolme peamise proteolüütilise tegevuse kaudu. Lisaks üldfunktsioonile rakusisese valgu ringluses mängib proteasoomi-vahendatud degradatsioon olulist rolli ka mitmetes protsessides nagu suur koosobivuskompleks MHC (*major histocompatibility complex*) klassi I olemasolu, apoptoos, rakkude jagunemine ning NF- κ B aktiveerimine.
- 15 20S proteasoom on 700kDa-line silindrikujuline multikatalüütiline proteaasikompleks, mis sisaldab neljaks ringiks jaotatud 28 allüksust ning mängib olulist rolli raku kasvu regulatsioonis, suure koosobivuskompleksi klassi I olemasolus, apoptoosis, antigeenide töötlemises, NF- κ B aktiveerimises ning proinflammatoorsete signaalide transduktsioonis. Pärmis ja teistes karüootides 7
- 20 eri α -allüksust moodustavad välisringid ning 7 eri β -allüksust sisaldavad siseringe. α -allüksused toimivad nii sidumiskohtadena 19S (PA700) ja 11S (PA28) reguleerivate komplekside jaoks kui ka füüsilise barjäärina kahe β -allüksuse ringi poolt moodustatud sisemise proteolüütilise kambri jaoks. Seetõttu arvatakse, et *in vivo* proteasoom esineb 26S osakesena („26S proteasoom“). *In vivo*
- 25 eksperimentid on näidanud, et proteasoomi vormi 20S inhibeerimist saab lihtsalt korreleerida 26S proteasoomi inhibeerimisega. β -allüksuste amino-terminaalsete eeljärjestuste lõhustumine osakeste moodustamise käigus toob välja amino-terminaalse teooriini jäägid, mis toimivad katalüütiliste nukleofiilidena. Järelikult on katalüütilise tegevuse eest vastutavatel allüksustel amino-terminaalne nukleofiilne
- 30 jääk ning need allüksused kuuluvad N-terminaalse nukleofiili (Ntn) hüdrolaaside

perekonda (kus nukleofiilne N-terminaalne jääk on näiteks Cys, Ser, Thr ja muud nukleofiilsed osad). Siia perekonda kuuluvad näiteks penitsilliin PGA (*penicillin C acylase*), penitsilliin PVA (*penicillin V acylase*), glutamiini PRPP amiidtransferaas (GAT) ning bakteriaalne glükosüülasparaginaas. Lisaks igakülgset ekspressseeritud β -allüksustele on ka kõrgematel selgroogsetel kolm γ -interferooni-stimuleerivat β -allüksust (LMP7, LMP2 ja MECL1), mis asendavad nende normaalseid analooge vastavalt X, Y ja Z, muutes seega proteasoomi katalüütilisi toiminguid. Eri peptiidi substraatide kasutamise kaudu on eukarüoodi 20S proteasoomile määratud kolm peamist proteolüütilist toimet: kümotrüpsiini-sarnane toime (CT-L), mis lõhustab suurte hüdrofoobsete jääkide järel; trüpsiini-sarnane toime (T-L), mis lõhustab aluselisi jääke; ning peptiidglutamüüli peptiidi hüdrolyüsiv toime (PGPH), mis lõhestub happeliste jääkide järel. Proteasoomile on omistatud ka kahte vähem iseloomustatud lisatoimet: BrAAP toime, mis lõhustab hargnenud ahela aminohapete järel, ning SNAAP toime, mis lõhustab väikeste neutraalsete aminohapete järel. Proteasoomi peamisi proteolüütilisi toimeid soodustavad ilmselt eri katalüütilised kohad, sest inhibiitorid, punktmutatsioon β -allüksustes ja γ -interferooni-stimuleerivate β -allüksuste vahetumine muudab neid toimeid eri tasemetel.

Leidub mitmeid näiteid väikestest molekulidest, mida on kasutatud proteasoomi toime inhibeerimiseks; ent nendel ühenditel puudub tavaliselt spetsiifilisus, stabiilsus või võimekus, mis on vajalikud proteasoomi osatähtsuse avastamiseks ning kasutamiseks raku ja molekuli tasandil. Järelikult on vaja suurema spetsiifilisuse, parema stabiilsuse ja lahustuvuse ning suurema potentsiaaliga väikese molekuli inhibiitori(te) sünteesi, et võimaldada proteasoomi osatähtsuse avastamist ning kasutamist raku ja molekuli tasandil.

Näiteks on peptiidid nagu proteasoomi inhibiitorid toodud patendis WO01/28579, Myung, J. *et al* poolt artiklis „Lack of Proteasome Active Site Allosterity as Revealed by Subunit-Specific Inhibitors“, *Molecular Cell*, veebruar 2001, 7. köide, nr 2, veebruar 2001 (2001-02), lk 411-420, ning Kim, K.P. *et al* poolt artiklis „Proteasome Inhibition by the Natural Products Epoxomicin and Dihydroeponemycin: Insights into Specificity and Potency“, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 9. köide, 1999, lk 3335-3340.

LEIUTISE KOKKUVÕTE

Leiutis käsitleb peptiidi α',β' -epoksiididena tuntud molekulide klassi analooge ja eelravimeid. Baasmolekulid teatavasti seonduvad tõhusalt, pöördumatult ja selektiivselt N-terminaalse nukleofiili (Ntn) hüdrolaasidele ning suudavad spetsiifiliselt pärssida mitme katalüütilise toimega ensüümide konkreetset toimet.

Kui varasemalt arvati, et proteasoom vabaneb denatureeritud ja valesti volditud valkudest, siis nüüd peetakse seda proteolüütilise mehhanismi moodustajaks, mis reguleerib mitmesuguste rakusiseste valkude tasemeid nende degradeerimise kaudu signaalsõltuval moel. Järelikult eksisteerib tõusev huvi leida reagentid, mis suudavad spetsiifiliselt häirida proteasoomi ja teiste Ntn hüdrolaaside toimet ning mida järelikult saab kasutada proovidenäena nende ensüümide rolli uurimiseks bioloogilistes protsessides. Käesolevalt on kirjeldatud, sünteesitud ja uuritud analooge ja eelravimeid, mis sihivad Ntn hüdrolaase. Proteasoomi toimeid mõjuvalt, selektiivselt ja pöördumatult pärssida suutvad peptiidi epoksiidid on esitatud ja taotletud vastavalt allpool olevas valemis II määratletule.

Vastupidiselt mitmetele teistele peptiidi-põhistele inhibiitoritele ei eeldata käesolevalt kirjeldatud peptiidi epoksiididest, et need oluliselt pärssiks mitte-proteasseid proteaase nagu trüpsiin, kümotrüpsiin, katepsiin B, papaiin ja kalpaiin kontsentratsioonidega kuni $50\mu\text{M}$. Kõrgemad kontsentratsioonid võivad inhibeerimist esile kutsuda, aga need on eeldatavasti konkureerivad ja pöördumatud, kui inhibiitor substraadiga vaid konkureerib. Uued peptiidi epoksiidid samuti eeldatavasti inhibeerivad NF- κ B aktiveerimist ning stabiliseerivad p53 tasemeid rakukultuuris. Veelgi enam, nendel ühenditel peaks olema põletikuvastane toime. Järelikult võivad need ühendid olla unikaalsed molekulaarsed antikehad, mis tänu mitmekülgsele avastavad Ntn ensüümi funktsiooni normaalsetes bioloogilistes ja patoloogilistes protsessides.

Teatud aspektist pakub leiutis inhibiitori analooge ja eelravimeid, milles on heteroatomit sisaldav kolmeliikmeline ring, nagu on esitatud valemis II allpool. Need inhibiitorid suudavad pärssida N-terminaalse nukleofiili hüdrolaasi ensüümide (näiteks 20S proteasoom või 26S proteasoom) katalüütilist toimet, kui nimetatud inhibiitor esineb kontsentratsiooniga allapoole umbes $50\mu\text{M}$. Seoses

20S proteasoomiga pärsivad konkreetsed hüdrolaasi inhibiitorid 20S proteasoomi kumotrüpsiini-sarnast toimet, kui inhibiitor esineb kontsentratsiooniga allapoole umbes 5µM, ning ei pärsi trüpsiini-sarnast toimet või 20S proteasoomi PGPH toimet, kui nimetatud inhibiitor esineb kontsentratsiooniga allapoole umbes 5µM.

- 5 Hüdrolaasi inhibiitor on peptiidi α',β' -epoksü-ketoon ning peptiid võib olla tetrapeptiid. Tetrapeptiidil võivad olla hargnenud või hargnemata kõrvalahelad nagu vesinik, C₁₋₆alküül, C₁₋₆hüdrosüalküül, C₁₋₆alkoksüalküül, arüül, C₁₋₆aralküül, C₁₋₆alküülamiid, C₁₋₆alküülamiin, C₁₋₆karboksüülhape, C₁₋₆karboksüüester, C₁₋₆alküültiool või C₁₋₆alküültioeeter, näiteks isobutüül, 1-naftüül, fenüülmetüül ja 2-fenüületüül. α',β' -epoksü-ketooni α' -süsinik on kiraalne süsiniku aatom, nagu (R) või β konfigureeritud süsinik, nagu nad on käesolevalt määratletud.

- Teisest aspektist pakub leiutis farmatseutilisi ühendeid, milles on farmatseutiliselt sobiv kandur ja farmatseutiliselt efektiivses koguses hüdrolaasi inhibiitori analoogi või eelravimit, mis leevendab muuhulgas neurodegeneratiivsete haiguste (nagu Alzheimeri tõbi), muskulaarse düstroofia, vähi, krooniliste nakkushaiguste, palaviku, lihaste atroofia, denervatsiooni, närvikahjustuse, paastumise ja immuunsusega seotud seisundite mõjusid.

Järgmisest aspektist pakub leiutis põletikuvastaseid ühendeid.

- 20 Lisaaspektist pakub leiutis ühendeid järgnevas kasutuseks: pärssida või taandada patsiendil HIV-nakkust, mõjutada patsiendil viirusliku geeni ekspressiooni; muuta organismis proteasoomi põhjustatud mitmeid antigeeni peptiide; tuvastada, kas rakulist, arengulist või füsioloogilist protsessi või teket organismis reguleerib konkreetse Ntn hüdrolaasi proteolüütiline toime; ravida patsiendil Alzheimeri tõbe; alandada lihasvalgu degradeerimise kiirust rakus; vähendada rakusisese valgu degradeerimise kiirust rakus; vähendada p53 valgu degradeerimise kiirust rakus; pärssida p53-seotud vähkide arengut patsiendil; pärssida antigeeni esinemist rakus; takistada patsiendi immuunsüsteemi; pärssida I κ B- α degradeerimist organismis; vähendada NF- κ B sisaldust rakus, lihases, organis või patsiendil; mõjutada tsükliin-sõltuvate eukarüootide rakutsükleid; ravida patsiendil proliferatiivset haigust; mõjutata onkovalkude proteasoom-sõltuvat regulatsiooni rakus; ravida vähi arengut patsiendil; ravida patsiendil p53-

seotud apoptoosi; ning uurida rakus N-terminaalse nukleofiili hüdrolaaside toodetud valke. Kõik need kasutused hõlmavad tõhusas koguses käesolevalt esitatud hüdrolaasi inhibiitoreid sisaldava ühendi manustamist patsiendile, rakule, koele, organile või organismile või kokkupuudet sellega.

- 5 Leiutise teised omadused ja eelised tulevad ilmsiks järgnevast üksikasjalikumast kirjeldusest ning patendinõudlusest.

LEIUTISE ÜKSIKASJALIK KIRJELDUS

Leiutis hõlmab ühendeid, mis on kasulikud ensüümi inhibiitoritena. Need ühendid on üldiselt kasulikud N-otsas nukleofiilset rühma omavate ensüümide
10 inhibeerimiseks. Näiteks võib külgahelates N-terminaalseid aminohappeid omavate nukleofiilidega nagu teoriin, seriin või tsüsteiin ensüümide või ensüümide allüksuste toimeid edukalt pärssida käesolevalt kirjeldatud ensüümi inhibiitoritega. Oma N-otsas aminohappe nukleofiilseid rühmi, näiteks kaitserühmi või süsivesikuid, mitte omavate ensüümide või ensüümide allüksuste toimeid saab
15 samuti edukalt pärssida käesolevalt kirjeldatud ensüümi inhibiitoritega.

Ilma mingi konkreetse toimingu teooria kohustusega usutakse, et taolised Ntn N-terminaalsed nukleofiilid moodustavad kovalentseid adukte käesolevalt kirjeldatud ensüümi inhibiitorite epoksiidi funktsionaalrühmaga. Näiteks usutakse, et 20S proteasoomi β 5/Pre2 allüksuses N-terminaalne teoriin moodustab pöördumatult
20 morfoliin- või piperasiinadukti reageerimisel peptiidi epoksiidiga nagu allpool kirjeldatud. Taoline adukti moodustamine hõlmaks epoksiidi tsükli avamise lõhustamist.

α' -süsinikele seotud taolisi rühmi sisaldavates variantides võib α' -süsiniku stereokeemia (epoksiidi tsükli osa moodustav süsinik) olla (R) või (S). Leiutise
25 kontekstis α' -süsiniku stereokeemia on (R), st X aatom on β või molekuli tasandi kohal.

Stereokeemiaga seoses järgitakse absoluutse stereokeemia määramiseks mõeldud Cahn-Ingold-Prelogi süsteemi. Antud süsteem on toodud näiteks raamatus *Organic Chemistry*, Fox ja Whitesell; Jones ja Bartlett kirjastused,
30 Boston, MA (1994); 5.-6. peatükk, lk 177-178. Peptiididel võib olla korduv

peaahela struktuur, millel on peaahela osadest välja ulatuvad kõrvalahelad. Üldiselt on igal peaahela osal sellega seotud kõrvalahel, kuigi mõnel juhul kõrvalahel on vesiniku aatom.

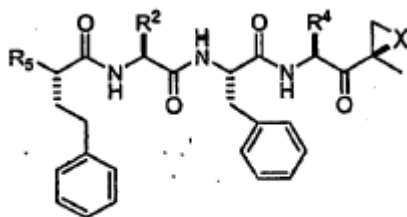
5 Peaahela osadest välja ulatuvatel kõrvalahelatel võivad olla naturaalsed alifaatilised või aromaatsed aminohappe kõrvalahelad nagu metüül (alaniin), isopropüül (valiin), *sec*-butüül (isoleutsiin), isobutüül (leutsiin) ja fenüülmetüül (fenüülalaniin). Kõrvalahelad võivad olla ka teisiti hargnenud või hargnemata alifaatilised või aromaatsed rühmad nagu etüül, *n*-propüül, *n*-butüül, *t*-butüül ja arüüliga asendatud derivaadid nagu 1-fenüületüül, 2-fenüületüül, (1-
10 naftüül)metüül, (2-naftüül)metüül, 1-(1-naftüül)etüül, 1-(2-naftüül)etüül, 2-(1-naftüül)etüül, 2-(2-naftüül)etüül ja sarnased ühendid.

Mõnes variandis võib peptiidi epoksiidide puhul kasutada polaarseid või laetud jääke. Näiteks võib kasutada nii looduslikult esinevaid aminohappeid nagu hüdroksüt-sisaldavad (Thr, Tyr, Ser) või väävlit sisaldavad (Met, Cys) kui ka
15 teisejärgulisi aminohappeid nagu tauriin, karnitiin, tsitrulliin, tsüstiin, ornitiin, norleutsiin ja teised. Kaasata võib ka looduslikult mitte esinevaid polaarsete või laetud osadega kõrvalahela asendajaid nagu näiteks C₁₋₆alküülahelad või ühe või mitme hüdroksü-, lühikese ahela, alkoksü-, sulfiidi, tio-, karboksüüli, estri, amiid- või aminorühmaga C₆₋₁₂arüülrühmad või asendajaid, mida asendatakse ühe või
20 mitme halogeeni aatomiga. Mõnes eelistatud variandis on peptiidi osa kõrvalahelas olemas vähemalt üks arüülrühm.

Mõnes variandis peaahela osad on amiidiosad [-NH-CHR-C(=O)-], milles R on kõrvalahel.

25 Teistes variantides peaahela osad on N-alküleeritud amiidi osad (näiteks N-metüül ja muud sarnased). Ent lisavariantides aminohappe α-süsinikku modifitseeritakse α-alküüli asendusega, näiteks aminoisobutüürhappega. Kuid täiendavas variandis võib kasutada aminohappe rühmade, D-aminohapete rakendamist.

Vastavalt leiutisele on inhibiitoril valemi II struktuur või selle farmatseutiliselt sobiv sool,



(II)

kus

L puudub või valitakse C=O, C=S ja SO₂ seast, soovitatavalt L puudub või on C=O;

5 Q puudub või valitakse O, NH ja N-C₁₋₆alküüli seast, soovitatavalt Q puudub, on O või NH, kõige soovitatavamalt Q puudub või on O;

X on O;

R² ja R⁴ valitakse kumbki iseseisvana C₁₋₆alküüli, C₁₋₆hüdroksüalküüli, C₁₋₆alkoksüalküüli, arüüli ja C₁₋₆aralküüli seast, millest ükskõik milline asendatakse soovi korral ühe või mitme amiidi, amiini, karboksüülhappe (või selle soolaga), estri (sealhulgas C₁₋₅alküülester ja arüülester), tiooli või tioestri asendajatega;

10

R⁵ on N(R⁶)LQLQR⁷;

R⁶ valitakse vesiniku, OH ja C₁₋₆alküüli, eelistatavalt C₁₋₆alküüli hulgast;

15

R⁷ valitakse (R⁸O)(R⁹O)P(=O)O-C₁₋₈alküül-, (R¹⁰)₂N-C₁₋₁₂alküüli-, (R¹⁰)₃N⁺-C₁₋₁₂alküüli-, heterotsükluüli- seast;

R⁸ ja R⁹ valitakse iseseisvana vesiniku, metalli katiooni, C₁₋₆alküüli, C₁₋₆alkenüüli, C₁₋₆alkünüüli, arüüli, heteroarüüli, C₁₋₆aralküüli ja C₁₋₆heteroaralküüli, soovitatavalt vesiniku, metalli katiooni ja C₁₋₆alküüli hulgast, või R⁸ ja R⁹ koos on C₁₋₆alküül, moodustades seega ringi;

20

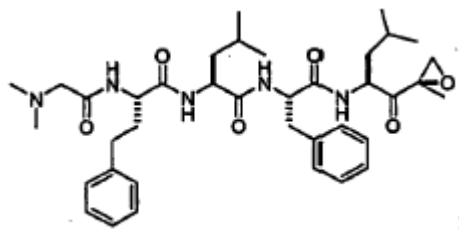
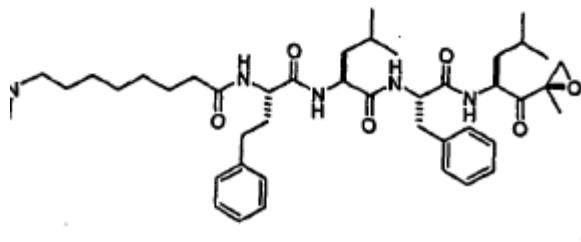
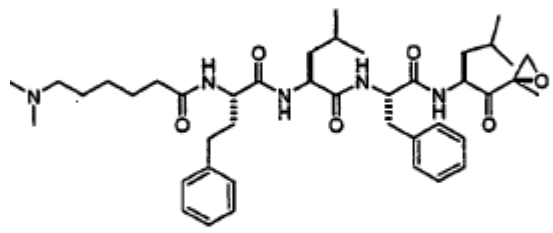
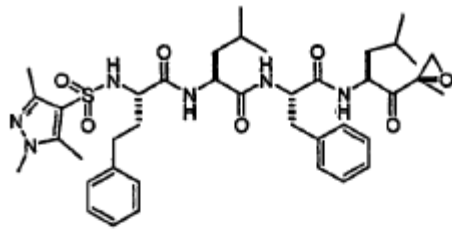
iga R¹⁰ valitakse iseseisvana vesiniku ja C₁₋₆alküüli, soovitatavalt C₁₋₆alküüli seast;

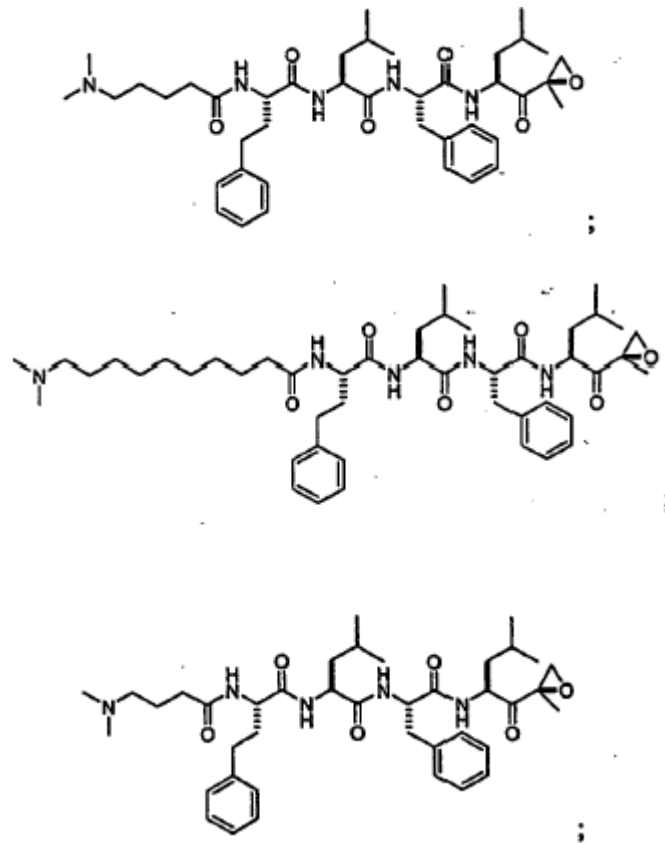
tingimusel, et kui R⁶ on H või CH₃ ja Q puudub, LR⁷ ei ole vesinik, asendamata C₁₋₆alküülC=O, aminohapete lisaahel, t-butoksükarbonüül (Boc), bensoüül (Bz),
 25 fluoreen-9-üülmetoksükarbonüül (Fmoc), trifenüülmetüül(tritüül), bensüüloksükarbonüül (Cbz), trikloroetoksükarbonüül (Troc) ega asendatud või asendamata arüül või heteroarüül.

Teatud variantides L on C=O, Q puudub, R⁶ on H ning R² ja R⁴ valitakse C₁₋₆alküüli ja C₁₋₆aralküüli seast. Taolistes eelistatud variantides R² ja R⁴ on C₁₋₆alküül. Kõige eelistatumates taolistes variantides R² ja R⁴ on isobutüül.

Mõnes variandis L on C=O, Q puudub, R⁶ on H, R² ja R⁴ on isobutüül ning R⁷ on heterotsükluül-, kus heterotsükkel on lämmastikku sisaldav heterotsükkel nagu piperasiin (sealhulgas N-(madalam alküül) piperasiin), morfoliin ja piperidiin.

Teatud variantides valemi II ühend valitakse järgmiste seast:





Teatud variantides spetsiaalselt välja jäetud ühendid on esitatud patendis US 6,831,099.

- 5 Leiutise teatud aspekt käsitleb meditsiinivahendit, mis sisaldab käesolevalt esitatud ühendit, millel on valemi II struktuuriga inhibiitor. Ühes variandis ühend lisatakse meditsiinivahendile. Teatud variantides meditsiinivahend on geel, mis sisaldab polümeerset põhiainet või keraamilist põhiainet ja inhibiitorit. Nimetatud polümeer võib olla kas looduslikult esinev või sünteetiline. Teises variandis
- 10 nimetatud geel toimib ravimi depoo, adhesiivi, haavaniidi, barjääri või tihendina.

- Leiutise järgmine aspekt käsitleb meditsiinivahendit, mis sisaldab substraati, mille pinnale kantakse valemi II struktuuriga inhibiitorit. Ühes variandis kantakse inhibiitorit otse meditsiinivahendile. Teises variandis kantakse polümeerset põhiainet või keraamilist põhiainet sisaldav kiht nii, et sellesse on pihustatud või
- 15 lahustatud valemi II struktuuri inhibiitorit.

Teatud variandis on meditsiinivahend koronaarne, vaskulaarne, perifeerne või biliaarne stent. Täpsemalt, käesoleva leiutise stent on laiendatav stent. Valemi II

struktuuriga inhibiitorit sisaldava põhiainega katmisel põhiaine venib taolise laiendatava stendi kokkusurutud ja laiendatud kujude mahutamiseks. Antud leituse järgmises variandis stendil on vähemalt üks portsjon, mis on patsiendi kehasse sisestatav või paigutatav, kusjuures portsjonil on pind, mis kohandatakse 5 kehakudedega kokkupuuteks ning vähemalt osa pinnast on kaetud valemi II struktuuriga inhibiitoriga või kattega, mis sisaldab põhiainet, kuhu on pihustatud või lahustatud valemi II struktuuriga inhibiitorit. Näide sobivast stendist on esitatud patendis US 4,733,665, mis on käesolevalt kaasatud viitava tervikuna.

Täiendavas variandis käesoleva leiutise meditsiinivahend on kirurgiline vahend 10 nagu vaskulaarne implantaat, intraluminaalne vahend, kirurgiline tihend või vasukaarne tugi. Täpsemalt on käesoleva leiutise meditsiinivahend kateeter, siirdatav vaskulaarse juurdepääsu ava, tsentraalveeni kateeter, arteriaalne kateeter, veresoone transplantaadid, aordisisene balloompump, haavaniit, ventrikulaarne abistamispump, ravimit elueeriv barjäär, adhesiiv, vaskulaarne 15 mähis, ekstra-/perivaskulaarne tugi, verefilter või veresoones kasutamiseks kohandatud filter, mis on kaetud valemi II struktuuriga inhibiitoriga kas otse või põhiainega, mis sisaldab valemi II struktuuriga inhibiitorit.

Teatud variantides intraluminaalne meditsiinivahend on kaetud valemi II struktuuriga inhibiitoriga või kattega, mis sisaldab bioloogiliselt talutavat põhiainet ja polümeeri sisse pihustatud valemi II struktuuriga inhibiitorit, nimetatud vahendil 20 on sisepind ja välispind ning katet on kasutatud vähemalt osaliselt sisepinnal, välispinnal või mõlemal.

Mõnes variandis võib meditsiinivahend olla tõhus angioplastika-järgse restenoosi ennetamisel. Meditsiinivahend võib olla ka tõhus eri haiguste ja seisundite 25 ravimisel, võimaldades valemi II struktuuriga inhibiitori lokaalset manustamist. Taoliste haiguste ja seisundite hulgas on restenoos, põletik, reumatoidartriit, põletikust põhjustatud koekahjustus, hüperproliferatiivsed haigused, tõsine või psoriaatiline artriit, muskulaarne düstroofia, kroonilised nakkushaigused, ebanormaalne immuunvastus, haavatavaid naastusid kaasavad seisundid, 30 isheemiliste seisunditega seostatavad kahjustused ning viirusnakkused ja proliferatsioon. Käesoleva leiutise ravimiga kaetud meditsiinivahenditega ravile allutatavate haiguste ja seisundite näidete seas on ateroskleroos, äge

koronaasündroom, Alzheimeri tõbi, vähk, palavik, lihaste kärbumine (atroopia), denervatsioon, veresoone sulgused, rabandus, HIV-nakkus, närvikahjustus, atsidoosiga seotud neerupuudulikkus ning maksapuudulikkus. Vaata nt Goldberg, patenti US 5,340,736.

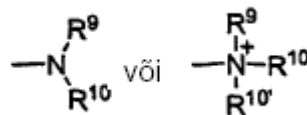
- 5 Termin „C_{x-y}alküül“ tähistab küllastunud süsivesiku rühmi, sealhulgas sirge ahelaga alküül- ja hargnenud ahelaga alküülrühmi, mis sisaldab ahelas x kuni y süsinikku, sealhulgas haloalküülrühma nagu trifluorometüül ja 2,2,2-tirfluoroetüül jne. C₀alküül näitab vesinikku, kus rühm on lõpus, ja sidet, kui see on keskel. Terminid „C_{2-y}alkenüül“ ja „C_{2-y}alkünüül“ tähistavad küllastumata alifaatilisi rühmi, mis on pikkuselt ja eespool kirjeldatud alküülide võimaliku asendaja poolest analoogsed, aga sisaldavad vähemalt ühte vastavalt kaksik- või kolmiksidet.

- Termin „alkoksü-“ tähistab alküülrühm, mille külge on kinnitunud hapnik. Esindatavate alkoksürühmade seas on metoksü-, etoksü-, propoksü-, tert-butoksü- ja muud sarnased. „Eeter“ on hapniku poolt seotud kaks süsivesinikku. Alküüli asendaja, mis alküülile eetri annab, on vastavalt alkoksü- või sarnaneb sellega.

Termin „C₁₋₆alkoksüalküül“ tähistab alkoksü-rühmaga asendatud C₁₋₆alküülrühma, moodustades seeläbi eetri.

Käesolevalt kasutatud termin „C₁₋₆aralküül“ tähistab arüülrühmaga asendatud C₁₋₆alküülrühma.

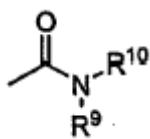
- 20 Terminid „amiin“ ja „amino“ on valdkonnas teadaolevad ning mõlemad viitavad asendamata ja asendatud amiinidele ja nende sooladele, nt osale, mida saab esitada üldvalemitega:



- kus R⁹, R¹⁰ ja R^{10'} igaüks iseseisvalt on vesinik, alküül, alkenüül, -(CH₂)_m-R⁸, või R⁹ ja R¹⁰ võetuna koos N aatomiga, millele need on kinnitunud, moodustavad 4 kuni 8 aatomiga heterotsükli; R⁸ on arüül, tsükloalküül, tsükloalkenüül, heterotsükliül või polütsükliül; ning m on null või täisarv vahemikus 1 kuni 8.

Eelistatud variantides ainult üks R^9 või R^{10} seast saab olla karbonüül, nt R^9 , R^{10} ja lämmastik ei moodusta koos imiidi. Veelgi eelistatud variantides R^9 ja R^{10} (ja soovi korral R^{10}) on igaüks iseseisvalt vesinik, alküül, alkenüül või $-(CH_2)_m-R^8$. Teatud variantides aminorühm on aluseline, see tähendab, et sellel on $pK_a \geq 7,00$. Nende funktsionaalrühmade protonsetel kujudel pK_a s on üle 7,00.

Terminid „amiid“ ja „amido“ on valdkonnas tuntud kui amino-asendatud karbonüül ning sisaldab osa, mida saab esitada üldvalemiga:

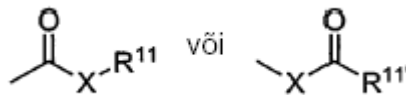


kus R^9 , R^{10} on eespool määratletud. Amiidi eelistatud variandid ei sisalda imiide, mis võivad ebastabiilsed olla.

Käesolevalt kasutatud termin „arüül“ hõlmab 5-, 6- ja 7-liikmelisi üheringilisi aromaatsaid rühmi, milles ringi iga aatom on süsinik. Termin „arüül“ hõlmab ka polütsükklilisi ringisüsteeme, millel on kaks või enam tsüklist ringi, milles kaks või enam süsinikku on kahel kõrvalasetseval ringil ühised, kus vähemalt üks ring on aromaatsed, nt teised tsükklilised ringid võivad olla tsükloalküülid, tsükloalkenüülid, tsükloalkünüülid, arüülid, heteroarüülid ja/või heterotsükklüülid. Arüülrühmade hulka kuuluvad benseen, naftaleen, fenantreen ja muud sarnased.

Käesolevalt kasutatud terminid „süsivesiniku tsükkel“ ja „süsivesiniktsükklüül“ tähistavad mitte-aromaatsed asendatud või asendamata ringi, milles ringi iga aatom on süsinik. Terminid „süsivesiniktsükkel“ ja „süsivesiniktsükklüül“ hõlmavad ka polütsükklilisi ringisüsteeme, millel on kaks või rohkem tsüklist ringi, milles kaks või enam süsinikku on kahel kõrvalasetseval ringil ühised, kus vähemalt üks ring on süsivesiniku tsükkel, nt teised tsükklilised ringid võivad olla tsükloalküülid, tsükloalkenüülid, tsükloalkünüülid, arüülid, heteroarüülid ja/või heterotsükklüülid.

Termin „karbonüül“ on valdkonnas teadaolev ning hõlmab selliseid osi, mida saab esitada üldvalemiga:



kus X on side või esindab hapnikku või väävlit ning R^{11} on vesinik, alküül, alkenüül, $-(CH_2)_m-R^8$ farmatseutiliselt sobiv sool, R^{11} , on vesinik, alküül, alkenüül või $-(CH_2)_m-R^8$, kus m ja R^8 on esitatud eespool. Kus X on hapnik ja R^{11} või R^{11} , ei ole vesinik, valem tähistab „estrit“. Kus X on hapnik ning R^{11} on vesinik, valem tähistab „karboksüülhapet“.

Käesolevalt kasutatud „ensüüm“ võib olla osaliselt või täielikult proteiinne molekul, mis sooritab keemilise reaktsiooni katalüütilisel moel. Taolised ensüümid võivad olla looduslikud ensüümid, sulandensüümid, proensüümid, apoensüümid, denatureeritud ensüümid, farnesüülitud ensüümid, ubikvitineeritud ensüümid, atsüülitud rasv-ensüümid, geran-geranüülitud (*gerangeranylated*) ensüümid, GPI-seotud ensüümid, lipiid-seotud ensüümid, prenüülitud ensüümid, looduslikult esinevad või kunstlikult toodetud mutantensüümid, kõrvalahela või peaaahela modifikatsioonidega ensüümid, juhtjärjestusega ensüümid ning mitte-proteiinse materjaliga kompleksitud ensüümid nagu proteoglükaanid, proteoliposoomid. Ensüüme võib luua mis tahes moel, sealhulgas looduslik ekspressioon, ergastatud ekspressioon, kloonimine, mitmesugused lahusepõhised ja tahkisepõhised peptiidi sünteesid ning sarnased antud valdkonnas pädevatele isikutele teadaolevad meetodid.

Käesolevalt kasutatud termin „ C_{1-6} heteroaralküül“ tähistab heteroarüülrühmaga asendatud C_{1-6} alküülrühma.

Termin „heteroarüül“ hõlmab asendatud või asendamata aromaatsid 5- kuni 7-liikmelisi ringstruktuure, veel soovitatavamalt 5- kuni 6-liikmelisi ringe, mille ringstruktuurid sisaldavad ühte kuni nelja heteroaatomit. Termin „heteroarüül“ hõlmab ka polütsükklilisi ringisüsteeme, millel on kaks või rohkem tsükklilist ringi, milles kaks või enam süsinikku on kahel kõrvalasetseval ringil ühised, kus vähemalt üks ring on heteroaromaatne, nt teised tsükklilised ringid võivad olla tsükloalküülid, tsükloalkenüülid, tsükloalkünüülid, arüülid, heteroarüülid ja/või heterotsükloülid. Heteroarüülrühmade seas on näiteks pürrool, furaan, tiofeen,

imidasool, oksasool, tiasool, triasool, pürasool, püridiin, pürasiin, püridasiin ja pürimidiin ja muud sarnased.

Käesolevalt kasutatud termin „heteroaatom“ tähendab mis tahes süsinikust või vesinikust erinevat elementi. Eelistatud heteroaatomid on lämmastik, hapnik, fosfor ja väävel.

Terminid „heterotsükliid“ või „heterotsükliidne rühm“ tähistavad asendatud või asendamata mitte-aromaatseid 3- kuni 10-liikmelisi ringstruktuure, veel soovitavamalt 3- kuni 7-liikmelisi ringe, mille ringstruktuurid sisaldavad ühte kuni nelja heteroaatomit. Terminid „heterotsükliid“ või „heterotsükliidne rühm“ hõlmavad ka polütsükliidse ringisüsteemi, millel on kaks või rohkem tsükliidset ringi, milles kaks või enam süsinikku on kahel kõrvalasetseval ringil ühised, kus vähemalt üks ring on heterotsükliidne, nt teised tsükliidset ringid võivad olla tsükloalkaaniidid, tsükloalkaenüürid, tsükloalkaenüürid, arüürid, heteroarüürid ja/või heterotsükliidid. Heterotsükliidrühmade hulka kuuluvad näiteks piperidiin, piperasiin, pürrolidiin, morfoliin, laktoonid, laktaamid ja muud sarnased.

Termin „C₁₋₆-hüdroksüalkaaniid“ tähistab hüdroksü-rühmaga asendatud C₁₋₆alkaaniidrühma.

Käesolevalt kasutatud termin „inhibiitor“ on mõeldud kirjeldama ühendit, mis blokeerib või vähendab ensüümi toimet (nt peptiidi standardsete fluorogeensete substraatide nagu suc-LLVYAMC, Box-LLR-AMC ja Z-LLE-AMC proteolüütilise lõhestumise inhibeerimine, 20S proteasoomi mitmesuguse katalüütilise toime inhibeerimine). Inhibiitor võib toimida konkurentse, mittekonkurentse või ebakonkurentse inhibeerimisena. Inhibiitor võib seonduda reversseeritavalt või pöördumatult ning seega hõlmab termin ühendeid, mis on ensüümi pöördumatu inhibiitor. Inhibiitor võib modifitseerida ühe või mitut kohta ensüümi aktiivse koha peal või lähedal või see võib põhjustada konformatsioonilisi muutusi ensüümi muudes kohtades.

Käesolevalt kasutatud termin „peptiid“ hõlmab lisaks standardsele amiidiseosele koos standardsete α -asendajatega ka üldiselt kasutatavaid peptiid-mimeetikume,

teisi modifitseeritud sidemeid, looduslikult mitte esinevaid kõrvalahelaid ning kõrvalahela modifikatsioonid, nagu on allpool täpsustatud.

Terminid „polütsükluül“ või „polütsükliiline“ tähistab kahte või mitut ringi (nt tsükloalküülid, tsükloalkenüülid, tsükloalkünüülid, arüülid, heteroarüülid ja/või heterotsükluülid), milles kaks või enam süsinikku on ühised kahele kõrvaltasetsevale ringile, nt ringid on „sulandringid“. Polütsükli iga ring võib olla asendatud või asendamata.

Termin „ennetav“ on valdkonnas teadaolev ning kasutusel seoses seisundiga nagu lokaalne retsidiiv (nt valu), haigusega nagu vähk, sündroomikompleksiga nagu südamepuudulikkus või mis tahes muu meditsiiniline seisund on antud valdkonnas mõistetav ning hõlmab ühendi manustamist, mis vähendab patsiendil meditsiinilise seisundi sümptomite sagedust või lükkab edasi nende algust, ühendit mitte saava patsiendiga võrreldes. Järelikult hõlmab vähi ennetamine näiteks tuvastatavate vähikasvajate arvu vähendamist patsientide rühmal, kes saab profülaktilist ravi, võrrelduna ravimata kontrollrühmaga ja/või tuvastatavate vähikasvajate tekke edasilükkamist ravitavas rühmas, võrreldes ravimata kontrollrühmaga, nt statistiliselt ja/või kliiniliselt oluliste kogustega. Nakkuse ennetamine hõlmab näiteks ravitaval rühmal nakkuse diagnooside arvu vähendamist, võrreldes ravimata kontrollrühmaga ja/või ravitaval rühmal nakkuse sümptomite alguse edasilükkamist, võrreldes ravimata kontrollrühmaga. Valu ennetamine hõlmab näiteks valu kogevatel patsientidel selle tugevuse vähendamist või edasilükkamist, võrreldes ravirühmas ravimata rühmaga.

Termin „eelravim“ hõlmab ühendeid, mis füsioloogilistel tingimustel konverteeritakse terapeutiliselt toimivateks aineteks. Eelravimi valmistamise tavapärane meetod on kaasata füsioloogilistel tingimustel hüdrofüüsitud selekteeritud osad, et soovitud molekul esile tuua. Teistes variantides eelravim konverteeritakse peremeeslooma ensümaatilisel tegevusel.

Termin „profülaktiline või terapeutiline“ ravi on valdkonnas teadaolev ning hõlmab vastuvõtjale ühe või mitme vaadeldava ühendi manustamist. Kui seda manustatakse enne soovimatu seisundi kliinilist avaldumist (nt peremeeslooma haigus või muu soovimatu seisund), siis on ravi profülaktiline (st see kaitseb

vastuvõtjat soovimatu seisundi tekkimise eest), samas kui seda manustatakse pärast soovimatu seisundi avaldumist, on ravi terapeutiline (st olemasolevat soovimatut seisundit või selle kõrvalmõjusid kavatakse vähendada, leevendada või stabiliseerida).

- 5 Käesolevalt kasutatav termin „proteasoom“ on mõeldud kaasama immuun- ja konstitutiivseid proteasome.

Termin „asendatud“ tähistab osi, millel on peaaegu ühel või mitmel süsinikul vesinikku asendavad asendajad. On mõistetav, et „asendus“ või „asendatud (millegagi)“ hõlmab endastmõistetavat sätet, et taoline asendus vastab asendatud

10 aatomi lubatud valentsile ning asenduse tulemuseks on stabiilne ühend, nt mis ei alusta spontaanset muundumist nagu ümberpaigutus, tsükliatsioon, elimineerimine jne. Käesolevalt kasutatud termin „asendatud“ on mõeldud kaasama orgaaniliste ühendite kõiki lubatavaid asendajaid. Laias laastus on lubatavate asendajate seas orgaaniliste ühendite atsükliilised ja tsükliilised,

15 hargnenud ja hargnemata, süsivesiniku tsükliga ja heterotsükliilised, aromaatsed ja mitte-aromaatsed asendajad. Lubatavaid asendajaid võib olla üks või mitu ning samad või erinevad sobivate orgaaniliste ühendite jaoks. Antud leiutise eesmärgil võivad heteroaatomitel nagu lämmastik olla vesiniku asendajad ja/või käesolevalt kirjeldatud orgaaniliste ühendite mis tahes lubatavad asendajad, mis vastavad

20 heteroaatomite valentsile. Asendajate seas on näiteks halogeen, hüdroksüül, karbonüül (nagu karboksüül), alkoksükarboksüül, formüül või atsüül), tiokarbonüül (nagu tioester, tioatsetaat või tioformaad), alkoksüül, fosforüül, fosfaat, fosfonaat, fosfinaat, amiin, amiid, amidiin, imiin, tsüano, nitro, asiid, sulfhüdrüül, alküültio, sulfaat, sulfonaat, sulfamoüül, sulfonamiid, sulfonüül, heterotsükliül, aralküül või

25 aromaadne või heteroaromaadne osa. Antud valdkonnas pädevatele isikutele on mõistetav, et süsivesiniku ahelal asendatud osad võivad ise sobivusel asendatud olla.

Raviga seoses ühendi „terapeutiliselt tõhus kogus“ viitab preparaadis ühendi(te) kogus(te)le, mis soovitud annuse režiimina manustatuna (imetajale, soovitatavalt

30 inimesele) leevendab sümptomit, parandab seisundit või aeglustab haigusolude algust vastavalt ravitava häire või seisundi jaoks või kosmeetilisel eesmärgil

mõeldud kliiniliselt sobivatele standarditele, nt mis tahes meditsiinilisele ravile kehtival mõistlikul tulemuse/riski suhtel.

Termin „tioeeter“ tähistab eespool määratletud alküülrühma, mille külge on kinnitunud väävliosa. Eelistatud variantides -S-alküül esindab „tioeetri“.

5 Esindavate tioeetri rühmade seas on metüültio, etüültio ja muud sarnased.

Käesolevalt kasutatud termin „ravimine“ või „ravi“ hõlmab seisundi sümptomite, kliiniliste tunnuste ja põhipatoloogia tagasipööramist, vähendamist või peatamist sedasi, et patsiendi seisundit parandada või stabiliseerida.

20S proteasoomi selektiivsus

10 Käesolevalt esitatud ensüümi inhibiitori analoogid ja eelravimid on kasulikud osaliselt seetõttu, et need pärsivad 20S proteasoomi toimet. Lisaks, erinevalt 20S proteasoomi inhibiitoritest on käesolevalt esitatud ühendid ülimalt selektiivsed 20S proteasoomi suhtes seoses teiste proteaasi ensüümidega. See tähendab, et praegused ühendid on selektiivsed 20S proteasoomi suhtes rohkem kui teiste

15 proteaaside puhul nagu katepsiinid, kalpapiinid, papaiinid, kumotrüpsiin, trüpsiin, tripeptidüül pepsidaas II. Ensüümi inhibiitorite selektiivsused 20S proteasoomi jaoks on taolised, et kontsentratsioonidega alla umbes 50µM on ensüümi inhibiitorid inhibeerivad 20S proteasoomi katalüütilist toimet, samas puudub inhibeerimine teiste proteaaside nagu katepsiinid, kalpapiinid, papaiinid,

20 kumotrüpsiin, trüpsiin, tripeptidüül pepsidaas II katalüütilise toime osas. Eelistatud variantides ensüümi inhibiitorid inhibeerivad 20S proteasoomi katalüütilist toimet kontsentratsioonidel alla umbes 10µM, samas puudub taolistel kontsentratsioonidel teiste proteaaside katalüütilise toime inhibeerimine. Veelgi eelistatumates variantides ensüümi inhibiitorid inhibeerivad 20S proteasoomi

25 katalüütilist toimet kontsentratsioonidel alla umbes 1µM, samas puudub taolistel kontsentratsioonidel teiste proteaaside katalüütilise toime inhibeerimine. Ensüümi kineetilised katsed on esitatud US patenditaotluses 09/569748, näide 2 ning Stein, R.L. *et al*, *Biochemistry*, (1996), 35, 3899-3908.

Kümotrüpsiini-sarnase toime selektiivsus

Käesolevalt esitatud ensüümi inhibiitori analoogide ja eelravimite konkreetsed variandid on lisaks veel kasulikud seetõttu, et need suudavad efektiivselt ja selektiivselt pärssida 20S proteasoomi kümotrüpsiini-sarnast toimet, võrreldes 5 trüpsiini-sarnase ja PGPH toimega. 20S proteasoom kümotrüpsiini-sarnast toimet iseloomustab peptiidide lõhustumine suurte hüdrofoobsete jääkide lähiümbruses. Täpsemalt, Ntn hüdrolaaside kümotrüpsiini-sarnast toimet saab tuvastada standardsubstraatide lõhustamisega. Taoliste substraatide näiteid tuntakse antud valdkonnas. Näiteks võib kasutada leutsüül-leutsüül-valinüül-türosiini 10 (*leucylleucylvalinyltyrosine*). Ensüümi kineetilised katsed on esitatud US patenditaotluses 09/569748, näide 2 ning Stein, R.L. *et al*, *Biochemistry*, (1996), 35, 3899-3908.

Ensüümi inhibiitorite kasutamine

Proteasoomi inhibeerimise bioloogilisi tagajärgi on palju. Rakutasandil 15 polüubikvitineeritud valkude kuhjumist, raku morfoloogilisi muutusi ning apoptoosi on täheldatud rakkude ravimisel mitmesuguste proteasoom inhibiitoritega. Proteasoomi inhibeerimist on soovitatud ka võimaliku kasvajakavastase terapeutilise strateegiana. Fakt, et epoksomitsiini leiti algselt kasvajakavastaste ühendite uuringus, kinnitab proteasoomi kasvajakavastase kemoterapeutilise sihtmärgina. 20 Vastavalt on need ühendid kasulikud vähi ravimiseks. Proteasoomi inhibeerimist on seostatud ka NF- κ B aktiveerimise inhibeerimisega ja p53 tasemete stabiliseerimisega. Järelikult võib leiutise ühendeid kasutada NF- κ B aktiveerimise inhibeerimiseks ning p53 tasemete stabiliseerimiseks rakukultuuris. Kuna NF- κ B on põletiku põhiregulaator, on see huvipakkuv sihtmärk põletikuvastase 25 terapeutilise leiutisele. Järelikult võivad leiutise ühendid olla kasulikud kroonilise põletikuga seotud haiguste, muuhulgas COPD, psoriaasi, bronhiidi, emfüseemi ja tsüstilise fibroosi ravimisel.

Esitatud ühendeid võib kasutada, et ravida proteasoomi proteolüütilise funktsiooni poolt otse põhjustatud seisundeid nagu muskulaarne düstroofia või kaudselt 30 proteasoomi nagu NF- κ B poolt töödeldud proteiinide põhjustatud haiguseid.

Proteasoom osaleb rakuregulatsioonis (nt rakutsükkel, geeni transkriptsioon ja metaboolsed rajad), rakusiseses suhtluses ning immuunvastuses (nt antigeeni esinemine) osalevate proteiiniide kiires elimineerimises ja posttranslatoorses töötuses. Allpool käsitletud konkreetsete näidete seas on β -amüloidvalk ja
5 regulatoorvalgud nagu tsükliinid ja transkriptsiooni faktor NF- κ B.

Leiutise järgmine variant käsitleb käesolevalt kirjeldatud ühendeid neurodegeneratiivsete haiguste ja seisundite, muuhulgas rabanduse, närvisüsteemi isheemilise kahjustuse, närvitrauma (nt perkussiivne ajukahjustus, selgroo kahjustus ja närvisüsteemi traumaatilised kahjustused), multiskleroosi ja
10 teiste immuunsusest põhjustatud neuropaatiate (nt Guillain-Barre' sündroom ja selle variandid, äge motoorne aksonaalne neuropaatia, äge põletikuline demüeliniseeriv polüneuropaatia ja Fisheri sündroom), HIV/AIDS-i dementsuse kompleksi, aksonoomia, diabeetilise neuropaatia, Parkinsoni tõve, Huntingtoni tõve, multiskleroosi, bakteriaalse, parasiitliku, fungaalse ja viirusliku meningiidi, entsefaliidi, vaskulaarse dementsuse, multiinfarktse dementsuse, Lewy kehadega
15 dementsuse, laubasagara dementsuse nagu Picki tõbi, subkortiaalsete dementsuste (nagu Huntington või progressiivne supranukleaarne paralüüs), fokaalse kortikaalse atroopia sündroomide (nagu primaarne afaasia), metabool-toksiliste dementsuste (nagu krooniline hüpotüroidism ehk B12 puudulikkus) ning
20 nakkustest põhjustatud dementsuste (nagu süüfilis või krooniline meningiit) ravis kasutamiseks.

Alzheimeri tõvele on iseloomulik β -amüloidvalgu (β -AP) rakuvälised lademed seniilsetes naastudes ja tserebraalsetes veresoontes. β -AP on 39 kuni 42 aminohappega amüloid-prekursor valgust APP (*amyloid protein precursor*)
25 tuletatud peptiidi fragment. Teada on vähemalt kolm APP isovormi (695, 751 ja 770 aminohapped). mRNA alternatiivne ühendamine toodab isovorme; normaalne töötlemine mõjutab β -AP järjestuse hulka, ennetades seeläbi β -AP tootmist. Arvatakse, et ebanormaalne valgu töötlemine proteasoomi poolt aitab kaasa β -AP rohkusele Alzheimeri haige ajus. APP-töötlev ensüüm rottides sisaldab umbes
30 kümmet eri allüksust (22kDa-32kDa). 25kDa allüksusel on X-Gln-Asn-Pro-Met-X-Thr-Gly-Thr-Ser N-terminaalne järjestus, mis on identne inimese teatud geeni *macropain* β -allüksusega (Kojima, S. *et al*, *Federation of European Biochemical*

Societies, (1992) 304:57-60). APP-töötlev ensüüm lõhestab Gln15-Lys16 sideme juures; kaltsiumiooni juuresolekul ensüüm lõhestab samuti Met-1-Asp¹ sideme ning Asp¹-Ala² sidemete juures, et β -AP rakuvälist domeeni vabastada.

Järelikult käsitleb üks variant ühendeid Alzheimeri tõve ravis kasutamiseks, 5 hõlmates patsiendile tõhusas koguses käesolevalt esitatud ühendi (nt farmatseutilise ühendi) manustamist. Taoline ravi hõlmab β -AP töötlemise kiiruse alandamist, β -AP naastu moodustamise kiiruse alandamist, β -AP loomise kiiruse vähendamist ning Alzheimeri tõve kliiniliste tunnuste vähendamist.

Leiutise teised variandid käsitlevad kahheksiat ja muskulaarset düstroofiat. 10 Proteasoom degradeerib küpsevates retikulotsüütides ja kasvavates fibroblastides palju valke. Insuliini või seerumi puudusega rakkudes proteolüüsi kiirus peaaegu kahekordistub. Proteasoomi inhibeerimine alandab proteolüüsi, vähendades seeläbi nii lihasvalgu kadu kui ka lämmastiku hulka neerudele või maksale. Leiutise inhibiitorid on kasulikud seisundite nagu vähk, kroonilised 15 nakkushaigused, palavik, lihaste kärbumine (atroopia) ja denervatsioon, närvikahjustus, paastumine, atsidoosiga seotud neerupuudulikkus maksapuudulikkus ravimisel. Vaata nt Goldberg, A.L., patenti US 5,340,736. Seega hõlmavad leiutise variandid ühendeid, et kasutada neid lihasvalgu degradeerimise kiiruse vähendamiseks rakus, rakusisese valgu degradeerimise 20 kiiruse alandamiseks, p53 valgu degradeerimise kiiruse vähendamiseks ning p53-seotud vähkide kasvu pärssimiseks. Iga kasutuse hulka kuulub raku (*in vivo* või *in vitro*, nt patsiendi lihas) kokkupuude käesolevalt esitatud ühendi (nt farmatseutiline ühend) tõhusa kogusega.

Järgmine proteasoomi poolt töödeldav valk on NF- κ B, Rel valgu perekonna liige. 25 Transkriptsionaalsete aktivaator-valkude Rel perekonna võib jagada kahte rühma. Esimene vajab proteolüütilist töötlemist ning hõlmab p50 (NF- κ B1, 105kDa) ja p52 (NF- κ 2, 100kDa). Teine ei vaja proteolüütilist töötlemist ning hõlmab p65 (RelA, Rel (c-Rel) ja RelB). Mõlemaid homo- ja heterodimeere saavad moodustada Rel perekonnaliikmed; näiteks NF- κ B on p50-p65 heterodimeer. Pärast I κ B ja p105 30 fosforüülimist ja ubikvitineerimist need kaks valku degradeeritakse ja töödeldakse vastavalt, et toota aktiivset NF- κ B, mis muudab asukohta tsütoplasmist tuuma. Ubikvitineeritud p105 töödeldakse samuti puhastatud proteasoomide poolt

(Palombella, V.J. *et al*, *Cell* (1994) 78:773-785). Aktiivne NF- κ B moodustab stereospetsiifilise tugevdaja kompleksi teiste transkriptsionaalsete aktivaatoritega, nt HMG I(Y)-ga, sealhulgas konkreetse geeni selektiivne ekspressioon.

5 NF- κ B reguleerib immuun- ja põletikulisse vastusesse kaasatud geene ning mitotoilisi ilminguid. Näiteks on geene NF- κ B vaja immunoglobuliini kerge ahela κ -geeni, IL-2 retseptori κ -ahela geeni, suure koسوبivus kompleksi geeni I klassi ning mitmete tsütokineesi geeni kodeerimise, nt IL-2, IL-6, granülotsüüdi kolooniat stimuleeriva faktori ning IFN- β (Palombella, V.J. *et al*, *Cell* (1994) 78:773-785) ekspressiooniks. Leiutise mõned variandid hõlmavad ühendeid, et neid kasutada
10 IL-2, MHC-I, IL-6, TNF α , IFN- β või mis tahes muu eelnevalt mainitud valguga ekspressiooni taseme mõjutamiseks, iga kasutamise seas on patsiendile käesolevalt esitatud ühendi efektiivses koguses ühendi manustamine. p50 sisaldavad kompleksid on ägeda põletikulise ning immuunvastuse kiired vahendajad (Thanos, D. ja Maniatis, T., *Cell* (1995) 80:529-532).

15 NF- κ B osaleb ka E-selektiini, P-selektiini, ICAM-i ja VCAM-1 kodeerivate raku adhesiooni geenide ekspressioonis (Collins, T., *Laboratory Investigation*, (1993) 68:499-508). Leiutise teatud variant on meetod raku adhesiooni inhibeerimiseks (nt E-selektiini, P-selektiini, ICAM-i või VCAM-1 poolt tekitatud raku adhesiooni), sealhulgas raku kokkupuude (või patsiendile manustamine) tõhusas koguses
20 käesolevalt esitatud ühendiga (või farmatseutilise ühendiga).

NF- κ B seondub samuti konkreetset HIV-intensiivistajale/soodustajale. Võrreldes mac239 Nef-ga, HIV-i reguleeriv pbj14 valk Nef erineb kahe aminohappe võrra piirkonnas, mis kontrollib valgukinaasi seondumist. Usutakse, et valgukinaas annab I κ B fosforüülimise signaali, käivitades I κ B degradeerimise ubikvitiin-
25 proteasoomi tee kaudu. Pärast degradeerimist NF- κ B vabastatakse tuuma, parandades seeläbi HIV-i transkriptsiooni (Cohen, J., *Science*, (1995) 267:960). Leiutise kaks varianti käsitlevad ühendeid patsiendil HIV-nakkuse inhibeerimisel või vähendamisel kasutamiseks ning meetodid, et alandada viirusliku geeni ekspressiooni tasemeid, iga meetod hõlmab patsiendile käesolevalt esitatud
30 ühendi efektiivses koguses manustamist.

- Lipopolüsahhariidi (LPS) esilekutsutud tsütokineesi nagu TFF α ületootmist peetakse septilise šokiga seotud protsessis peamiseks. Lisaks arvatakse üldiselt, et esimene etapp LPS-i poolt rakkude aktiveerimises on LPS-i sidumine konkreetsetele membraanireseptoritele. 20S proteasoomi kompleksi α - ja β -allüksuseid peetakse LPS-i siduvateks valkudeks viidates, et LPS-i poolt esile kutsutud signaalülekanne võib olla oluline terapeutiline sihtmärk sepsise ennetamise ravis (Qureshi, N. *et al*, *The Journal of Immunology*, (2003) 171: 1515-1525). Järelikult võib teatud variantides leiutise ühendeid kasutada TNF α inhibeerimiseks, et septilist šokki ennetada ja/või ravida.
- 10 Rakusisene proteolüüs toodab väikseid peptiide T-lümfotsüütide esinemiseks, et MHC I klassi põhjustatud immuunvastust esile kutsuda. Immuunsüsteem uurib autoloogseid rakke, mis on viirusega nakatunud või läbinud onkogeenilise muutuse. Üks variant käsitleb ühendeid rakus antigeeni esinemise inhibeerimises kasutamiseks, hõlmates rakul käesolevalt esitatud ühendi kasutamist. Leiutise
- 15 ühendit võib kasutada imuunsusega seotud seisundite nagu allergia, astma organi/koe äratõuge (transplantaat-peremehe vastureaktsioon) ja autoimmuunsushaigus, muuhulgas luupus, reumatoidartriit, psoriaas, multiskleroos ja põletikulised soolehaigused (nagu haavandiline koliit ja Crohni tõbi) raviks. Järelikult on täiendav variant ühend patsiendi immuunsüsteemi
- 20 pärssimisel kasutamiseks (nt siirdeelundi äratõuke, allergiate ja astma inhibeerimiseks), sealhulgas tõhusas koguses käesolevalt esitatud ühendi manustamine.
- Leiutise järgmine variant on ühend proteasoomi või muu multikatalüütilise toimega Ntn tekitatud antigeeniliste peptiidide hulga muutmises kasutamiseks. Näiteks kui
- 25 20S proteasoomi PGPH toimet inhibeeritakse selektiivselt, proteasoomi poolt toodetakse ja MHC molekulides rakkude pinnal esineb erinevam komplekt antigeenilisi peptiide kui toodetakse ja esitatakse kas ilma mis tahes ensüümi inhibeerimiseta või näiteks proteasoomi kümotrüpsiini-sarnase toime selektiivse inhibeerimisega.
- 30 Teatud proteasoomi inhibiitorid takistavad nii ubiquitineeritud NF- κ B degradeerimist kui ka töötlemist *in vitro* ja *in vivo*. Proteasoomi inhibiitorid takistavad ka I κ B- α degradeerimist ja NF- κ B aktiveerimist (Palombella, *et al*, *Cell*

(1994) 78:773-785; ning Traenckner, *et al*, *The EMBO Journal*, (1994) 13:5433-5441). Leiutise üks variant on ühend I κ B- α degradeerimise inhibeerimiseks kasutamiseks, hõlmates rakul käesolevalt esitatud ühendi kasutamist. Järgmine variant on ühend NF- κ B rakulise sisu vähendamist rakus, lihases organis või patsiendi, hõlmates rakul, lihasel organil või patsiendil käesolevalt kirjeldatud ühendi kasutamist.

Proteolüütilist töötlemist vajavad teised eukarüootsed transkriptsiooni faktorid sisaldavad üldist transkriptsioonifaktorit TFIIA, *herpes simplex* viiruse VP16 lisavalku (peremeesraku faktor), viirusest tingitud IFN reguleeriva faktori 2 valku ning membraansidemega sterooli reguleeriv elemendiseoseline valk (*sterol regulatory element-binding protein*) 1.

Leiutise teised variandid on ühendid tsükliin-sõltuvate eukarüootsete rakutsükliite mõjutamiseks kasutamiseks, hõlmates rakul (*in vitro* või *in vivo*) käesolevalt kirjeldatud ühendi kasutamist. Tsükliinid on raku tsükli kontrollis osalevad valgud. Proteasoom osaleb tsükliinide degradeerimises. Tsükliinide näidete seas on mitootilised tsükliinid, G1 tsükliinid ning tsükliin B. Tsükliinide degradeerimine võimaldab rakul ühest rakutsüklist väljuda (nt mitoos) ja siseneda järgmisse (nt jagunemine). Usutakse, et kõik tsükliinid on seotud p34.sup.cdc2 valgukinaasiga või seotud kinaasid. Protolüüsi sihtiv signaal lokaliseeritakse aminohapetele 42-RAALGNISEN-50 (lagundamisjärjestus). On tõendeid, et tsükliin konverteeritakse ubikvitiini ligaasi suhtes tundlikule kujule või tsükliinispetsiifiline ligaas aktiveeritakse mitoosi käigus (Ciechanover, A., *Cell*, (1994) 79:13-21). Proteasoomi inhibeerimine pärsib tsükliini degradeerimist ning seega pärsib raku proliferatsiooni näiteks tsükliiniga seotud vähkides (Kumatori *et al*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, USA (1990) 87:7071-7075). Leiutise teatud variant on ühend patsiendil proliferatiivse haiguse ravis kasutamiseks (nt vähk, psoriaas või restenoos), sealhulgas patsiendile tõhusas koguses käesolevalt esitatud ühendi manustamine. Leiutis hõlmab ka ühendit patsiendil tsükliiniga seotud põletiku ravis kasutamiseks, sealhulgas patsiendile tõhusas koguses käesolevalt kirjeldatud ühendi manustamine.

Lisavariandid on ühendid, et kasutada neid onkovalkude proteasoom-sõltuva regulatsiooni mõjutamiseks ja meetodid vähi kasvu ravimiseks või pärssimiseks,

- kus iga kasutus hõlmab rakul (*in vivo*, nt patsiendil, või *in vitro*) käesoleval esitatud ühendi kasutamist. HPV-16 ja HPV-18-tuletatud E6 valgud stimuleerivad ATP-ja ubikvitiin-sõltuvat p53 konjugeerimist ja degradeerimist ebaküpsetes retikulotsüüdi lüsaatides. Tõestatud kuhjub retsessiivne onkogeen p53 mitte-permissiivsel temperatuuril muteerunud termolabiilsusega EI rakuliinis. p53 kõrgendatud tasemed võivad põhjustada apoptoosi. Ubikvitiini süsteemi poolt degradeeritud proto-onkovalkude näidete seas on c-Mos, c-Fos ja c-Jun. Teatud variant on ühend p53-ga seotud apoptoosi ravis kasutamiseks, sealhulgas patsiendile tõhusas koguses käesolevalt kirjeldatud ühendi manustamine.
- 10 Täiendavas variandis on esitatud ühendid kasulikud parasiitliku nakkuse nagu algloomadest parasiitide põhjustatud nakkuse ravimiseks. Nende parasiitide proteasoomi peetakse peamiselt raku diferentseerimises ja replikatsiooni tegevuses osalevaks (Paugam *et al*, *Trends in Parasitology*. 2003, 19(2): 55-59). Lisaks kaotavad algloomade *entamoeba* liigid tsüstiks muutumise võimet, kui neil kasutada proteasoomi inhibiitoreid (Gonzales, *et al*, *Archives of Medical Research*, 1997, 28, erinr. 139-140). Teatud taolistes variantides esitatud ühendid on kasulikud inimestel *Plasmodiumi* liigi (sealhulgas *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* ja *P. ovale*, mis põhjustavad malaariat), *Trypanosoma* liigi (sealhulgas *T. cruzi*, mis põhjustab Chagas' haigust, ja *T. brucei*, mis põhjustab aafrika trüpanosomiaasi), *Leishmania* liigi (sealhulgas *L. amazonensis*, *L. donovani*, *L. infantum*, *L. mexicana* jne), pneumotsüstilise pneumoonia (tuntud kui AIDS-i ja teistel immunosupressiooniga patsientidel pneumooniat põhjustavad algloomad), *Toxoplasma gondii*, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba invadens* ja *Giardia lamblia* seast valitud algloomade parasiitide tekitatud parasiitlike nakkuste ravimiseks. Teatud variantides esitatud ühendid on kasulikud loomadel ja karjadel *Plasmodium hermani*, *Cryptosporidiumi* liigi, *Echinococcus granulosuse*, *Eimeria tenella*, *Sarcocystis neurona* ja *Neurospora crassa* hulgast valitud algloomadest põhjustatud parasiitlike nakkuste ravimisel. Parasiitlike haiguste ravimisel tõhusate proteasoomi inhibiitori teisi ühendeid on kirjeldatud patendis WO 98/10779, mis on käesolevalt kaasatud tervikuna.

Teatud variantides esitatud ühendid inhibeerivad proteasoomi toimet parasiidis pöördumatult. Taoline pöördumatu inhibeerimine kutsub esile ensüümi tegevuse

lõpetamist ilma taastumiseta vere ja valgelibledes. Taolistes variantides teatud vererakkude pikk poolestusaeg võib pakkuda pikendatud kaitset seoses raviga parasiitidega korduval kokkupuutel. Teatud taolistes variantides vererakkude pikk poolestusaeg võib pakkuda pikendatud kaitset seoses kemoprofülaktilikaga tulevaste nakkuste vastu.

Samuti on näidatud, et 20S proteasoomile seonduvad inhibiitorid stimuleerivad luu moodustumist luuorgani kultuurides. Lisaks, kui taolisi inhibiitoreid manustada hiirtele süsteemselt, tõstsid teatud proteasoomi inhibiitorid luu kogust ja luu moodustumise kiirust üle 70% (Garrett, I. R. *et al*, *The Journal of Clinical Investigation*, (2003) 111:1771-1782), viidates seega, et ubikvitiin-proteasoomi mehhanism reguleerib osteoblasti diferentseerimist ja luu moodustumist. Järelikult võivad esitatud ühendid olla kasulikud luu kaoga nagu osteoporoos seotud haiguste ravimiseks ja/või ennetamiseks.

Luukude on suurepärane allikas faktoritele, mis suudavad luurakke stimuleerida. Järelikult sisaldavad veise luukoe tükid lisaks struktuurasetele valkudele, mis vastutavad luu struktuurse terviklikkuse hoidmise eest, ka bioloogiliselt aktiivseid luukasvu faktoreid, mis võivad luurakke stimuleerida prolifereerima. Antud viimaste faktorite seas on hiljuti kirjeldatud valkude perekond nimega luu morfogeneesi valgud BMP-d (*bone morphogenetic proteins*). Kõik need kasvufaktorid mõjutavad teisi rakutüüpe ning luurakke, muuhulgas Hardy, M. H., *et al* (*Trans Genet* (1992) 8:55-61) kirjeldavad tõendeid, et luu morfogeneesi valgud BMP-d on arengu käigus juuste folliikulites erinevalt ekspresseeritud. Harris, S. E., *et al* (*Journal of Bone and Mineral Research* (1994) 9:855-863) kirjeldavad TGF β toimet BMP- 2 ja luurakkudes olevate teiste ainete ekspressioonile. BMP-2 ekspressioon küpsetes folliikulites esineb ka küpsemise ajal ja pärast rakuproliferatsiooni perioodi (Hardy, *et al*, (1992, eespool)). Järelikult võivad leiutise ühendid olla kasulikud juuste folliikulite kasvu stimuleerimises.

Lõpetuseks on esitatud ühendid ka kasulikud diagnostiliste ainetena (nt diagnostilistes komplektides või kliinilistes laboratooriumides kasutamiseks) Ntn hüdrolaaside, kaasa arvatud proteasoomi poolt toodetud valkude uurimiseks (nt ensüümid, transkriptsioonifaktorid). Esitatud ühendid on tõhusad ka uurimisainetena, et X/MB1 allüksust või α -ahelat spetsiifiliselt siduda ja sellega

seonduvaid proteolüütilisi toimeid inhibeerida. Näiteks võib tuvastada proteasoomi teiste allüksuste toimet (ja spetsiifilisi inhibiitoreid).

Enamus rakulisi valke alluvad proteolüütilisele töötlemisele küpsemise või aktiveerimise käigus. Käesolevalt esitatud ensüümi inhibiitoreid võib kasutada

5 tuvastamiseks, kas rakulist, arengulist või füsioloogilist protsessi või väljundit reguleerib konkreetse Ntn hüdrolaasi proteolüütiline toime. Teiste taoliste meetodite seas on organismi, puutumata raku preparaadi või raku lõigu saamine; organismil, raku preparaadil või raku lõigul käesolevalt esitatud ühendi kasutamine; ühendiga kasutatud organismil, raku preparaadil või raku lõigul

10 signaali kasutamine ning protsessi või väljundi jälgimine. Käesolevalt esitatud ühendite kõrge selektiivsus võimaldab kiiret ja täpset Ntn (näiteks 20S proteasoom) elimineerimist või kaasamist antud rakulises, arengulises või füsioloogilises protsessis.

Manustamine

15 Vastavalt käesolevalt kirjeldatule valmistatud ühendeid võib manustada eri kujudel, sõltuvalt ravitavast häirest, patsiendi vanusest, seisundist ning kaalust, nagu on antud valdkonnas teada. Näiteks kui ühendeid manustatakse oralselt, võivad need olla tablettide, kapslite, graanulite, pulbrite või siirupite kujul; parenteraalseks manustamiseks võivad need olla süstide (intravenoosne,

20 intramuskulaarne või subkutaanne), tilkinfusiooni preparaate või suposiidide kujul. Silma limaskestast kaudu kasutamiseks võivad need olla silmatilkade või silmasalvide kujul. Antud koostisi võib valmistada tavapärastel meetoditel ning soovi korral võib toimeainet segada mis tahes tavapärase lisandi või ekstsipiendiga nagu sideaine, lagundav aine, määrdeaine, korrigent, lahustumist

25 soodustav aine, suspensiooni soodustaja, emulgaator, katteaine, tsüklodekstriin ja/või puhver. Kuigi annused varieeruvad sõltuvalt patsiendi sümptomitest, vanusest ja kaalust, ravitava või ennetatava häire iseloomust ja tõsidusest, manustamise viisist ja ravimi vormist, on üldiselt soovitatav päevane doos vahemikus 0,01 kuni 2000mg ühendit täiskasvanud patsiendile ning seda võib

30 manustada üksiku annuse või jaotatud annustena. Toimeaine, mida võib kombineerida kandematerjaliga üksiku annuse moodustamiseks, kogus on üldjuhul ühendi kogus, mis tekitab terapeutilise toime.

- Manustamise täpne aeg ja/või ühendi kogus, mis annab kõige efektiivsema tulemuse antud patsiendi ravi tõhususe seisukohast, sõltub konkreetse ühendi toimest, farmakokineetikast ja biokättesaadavusest, patsiendi füsioloogilisest seisundist (kaasa arvatud vanus, sugu, haiguse tüüp ja staadium, üldine füüsiline
- 5 seisund, tundlikkus antud annuse suhtes ning ravimi liik), manustamise viisist jne. Ent ülaltoodud juhiseid võib rakendada ravi täiustamise alusena, nt manustamise optimaalse aja ja/või koguse määramine, mis ei vaja muud kui rutiinset katsetamist, hõlmates vaatlusaluse jälgimist ning annuse ja/või ajastuse kohandamist.
- 10 Fraasi „farmatseutiliselt sobiv“ kasutatakse käesolevalt nendele ligandidele, materjalidele, koostistele ja/või annusevormidele viitamiseks, mis mõistuspärase meditsiinilise hinnangu raames sobivad kasutamiseks inimeste ja loomade kudedega kokkupuuteks ilma liigse mürgilisuse, ärrituse, allergilise reaktsiooni või teiste probleemide või komplikatsioonideta, vastates mõistlikule tulu/riski suhtele.
- 15 Käesolevalt kasutatud fraas „farmatseutiliselt sobiv kandja“ tähendab materjali, koostist või kandurit nagu vedelik või tahke täiteaine, diluent, ekstsipient, lahusti või kapseldusmaterjal. Iga kandja peab olema „sobiv“ selles mõttes, et see ühtib ühendi teiste koostisosadega ning pole kahjulik patsiendile. Materjalide näited farmatseutiliselt sobivate kandjate seas võivad olla: (1) suhkrud, nagu laktoos,
- 20 glükoos ja sukroos; (2) tärklised, nagu maisitärklis, kartulitärklis ning asendatud või asendamata β -tsüklodekstriin; (3) tselluloos ja selle derivaadid, nagu naatrium karboksümetüültselluloos ja tselluloosatsetaat; (4) pulbriline tragakant; (5) linnased; (6) želatiin; (7) talk; (8) ekstsipiendid, nagu kakaovõi ja suposiidi vahad; (9) õlid, nagu maapähkliõli, safflooriõli, seesamiõli, oliiviõli ja sojaoaõli; (10)
- 25 glükoolid, nagu propüleenglükool; (11) polüoolid, nagu glütseriin, sorbitool, mannitool ja polüetüleenglükool; (12) estrid, nagu etüüloleaat ja etüüllauraat; (13) agarik; (14) puhverained, nagu magneesiumhüdrokksiid ja alumiiniumhüdrokksiid; (15) algiinhape; (16) pürogeenivaba vesi; (17) isotooniline soolalahus; (18) Ringeri lahus; (19) etüülalkohol; (20) fosfaatpuhvri lahused; ning (21) teised mürgitud
- 30 sobivad ained, mida farmatseutilistes koostistes kasutatakse. Teatud variantides on käesoleva leiutise farmatseutilised ühendid mittepürrogeensed, st ei kutsu esile olulisi temperatuuri kerkimisi patsiendile manustamisel.

Termin „farmatseutiliselt sobiv sool“ tähendab inhibiitori(te) üsna mürgituid, anorgaanilisi ja orgaanilisi happe liitsoolasid. Neid soolasid võib valmistada *in situ* inhibiitori(te) lõpliku eraldamise ja puhastamise käigus või pannes puhastatud inhibiitori(d) oma aluselisel kujul eraldi reageerima sobiva orgaanilise või

5 anorgaanilise happega ning eraldades sedasi moodustunud soola. Vastavate soolade seas vesinikbromiid-, vesinikkloriid-, sulfaat-, bisulfaat-, fosfaat-, nitraat-, atsetaat-, valeraat-, oleaat-, palmitaat-, stearaat-, lauraat-, bensoaat-, laktaat-, fosfaat-, tosülaat-, tsitraat-, maleaat-, fumaraat-, suktsinaat-, tartraat-, naftülaat-, mesülaat-, glükoheptonaat-, laktobionaat-, laurüülsulfonaat-soolad ning

10 aminohappe soolad ja muud sarnased. (vaata näiteks Berge, S.M. *et al*, (1977) „Pharmaceutical Salts“, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 66: 1-19).

Teistel juhtudel on käesoleva leiutise meetodites kasulike inhibiitorite seas üks või mitu happelist funktsionaalrühma ning järelikult suudavad need moodustada farmatseutiliselt sobivaid soolasid farmatseutiliselt sobivate alustega. Termin

15 „farmatseutiliselt sobivad soolad“ tähendab antud juhtudel inhibiitori(te) üsna mürgituid anorgaanilisi ja orgaanilisi aluse liitsoolasid. Neid soolasid võib samamoodi valmistada *in situ* inhibiitori(te) lõpliku eraldamise ja puhastamise käigus või pannes puhastatud inhibiitori(d) oma happelisel kujul eraldi reageerima sobiva orgaanilise või anorgaanilise alusega nagu farmatseutiliselt sobiva metalli

20 katiooni hüdroksiid, karbonaat või bikarbonaat ammoniaagiga või farmatseutiliselt sobiva orgaanilise primaarse, sekundaarse või tertsiaarse amiinga. Vastavate leelis- või leelismuldmetalli soolad seas on liitium-, naatrium-, kaalium-, kaltsium-, magneesium- ning alumiiniumsoolad ja muud sarnased. Aluse liitsoolade moodustamiseks tõhusate vastavate orgaaniliste amiinide seas on etüülamiin,

25 dietüülamiin, etüleendiamiin, etanoolamiin, dietanoolamiin, piperasiin ja muud sarnased (vaata näiteks Berge, S.M. *et al*, eespool).

Märgavad ained, emulgaatorid ja määrdeained nagu naatriumlaurüülsulfaat ja magneesiumstearaat ning värvained, eraldusained, katteained, magus-, maitse- ja lõhnaained, konservandid ja antioksidandid võivad samuti koostises esineda.

30 Farmatseutiliselt sobivate antioksidantide seas on: (1) vees lahustuvad antioksidandid, nagu askorbiinhape, tsüsteiinvesinikkloriid, naatriummetabisulfiit, naatriumsulfiit ja muud sarnased; (2) õlis lahustuvad antioksidandid, nagu

askorbüülpalmitaat, butüülhüdroksüanisool (BHA), butüülhüdroksütolueen (BHT), letsitiin, propüülgallaat, alfa-tokoferool ja muud sarnased; ning (3) metalli kelaativad ained, nagu sidrunhape, etüleendiamiin tetraäädikhape (EDTA), sorbitool, viinhape, fosforhape ja muud sarnased.

- 5 Oraalseks manustamiseks sobivad koostised võivad olla kapslite, oblaatide, pillide, tablettide, ravikomplekkide (kasutades maitsestatud põhja, tavaliselt sukroosi ja akaatsiat või tragakanti), pulbrite, graanulite kujul või lahuse või suspensioonina veepõhises või mitte-veepõhises vedelikus õli-vees või vesi-õlis vedela emulsioonina või eliksiiri või siirupina või pastillidena (kasutades inertset
- 10 põhiainet, nagu želatiini ja glütseriini või sukroosi ja akaatsiat) ja/või suuloputusvee ja muu sarnasena, millest igaüks sisaldab toimeainena ettemääratud koguses inhibiitorit(eid). Ühendit võib manustada ka booluse, püdelaks tehtud preparaadina (*electuary*) või pastana.

- Oraalseks manustamiseks mõeldud tahketes annusevormides (kapslid, tabletid,
- 15 pillid, dražeed, pulbrid, graanulid ja muud sarnased) toimeaine segatakse kokku ühe või mitme farmatseutiliselt sobivate kandjatega nagu naatriumsitraat või dikaltsiumfosfaat ja/või ühega järgnevatest: (1) täiteained või täidised, nagu tärklised, tsüklodekstriinid, laktoos, sukroos, glükoos, mannitool ja/või ränihape; (2) sideained, nagu näiteks karboksümetüülselluloos, alginaadid, želatiin,
- 20 polüvinüülpürrolidoon, sukroos ja/või akaatsia; (3) humektandid, nagu glütserool; (4) lagundavad ained, nagu agarik, kaltsiumkarbonaat, kartuli- või tapiokitärklis, teatud silikaadid ja naatriumkarbonaat; (5) lahustumist aeglustavad ained, nagu parafiin; (6) imendumise kiirendajad, nagu kvaternaarsed ammooniumiühendid; (7) määrdavad ained, nagu näiteks atsetüülalkohol ja glütseroolmonostearaat; (8)
- 25 absorbendid, nagu kaoliin ja betoniitsavi; (9) määrdeained, nagu talk, kaltsiumstearaat, magneesiumstearaat, tahked polüetüleenglükoolid, naatriumlaurüülsulfaat ja nende segud; ning (10) värvained. Kapslite, tablettide ja pillide puhul võivad farmatseutilised ühendid sisaldada ka puhveraineid. Sama liiki tahkeid ühendeid võib samuti kasutada täiteainetena pehme ja kõva täidisega
- 30 želatiinkapslites, kasutades nii ekstsipiente nagu laktoos või piimasuhkrud kui ka kõrge molekulmassiga polüetüleenglükooli ja muid sarnaseid.

Tableti võib valmistada pressimise või vormimisega, soovi korral ühe või mitme lisaainega. Pressitud tablette võib valmistada sideainet (näiteks želatiin või hüdroksüpropüülmetüülselluloos), määrdeainet, inertset diluenti, konservanti, disintegranti (näiteks naatriumtärklisglükolaat või ristseotud naatriumkarboksümetüülselluloos), pindaktiivseid aineid või dispergaatoreid kasutades. Vormitud tablette võib valmistada pulbriks tehtud ja inertse vedela diluendiga niisutatud inhibiitori(te) segu sobivas masinas vormimisel.

Tabletid ning teised tahked annusevormid nagu dražeed, kapslid, pillid ja graanulid võib soovi korral jaotuskriipsuga varustada või valmistada katteainete ja ümbristega nagu enterokatted ning teised ravimi valmistamise valdkonnas teadaolevad katematerjalid. Neid võib valmistada ka sedasi, et need võimaldaks sisalduva toimeaine aeglast või reguleeritud vabanemist, kasutades näiteks hüdroksüpropüülmetüülselluloosi eri kogustes, et soovitud vabanemisprofiili saada, teisi polümeeraineid, liposoomi ja/või mikrosfääre. Neid võib stabiliseerida näiteks läbi baktereid takistava filtri filtreerimisel või sisestades steriliseerivaid aineid steriilsete tahkete ühendite kujul, mida saab lahustada steriilses vees või mõnes muu steriilses süstitavas vahendis vahetult enne kasutamist. Need ühendid võivas soovi korral sisaldada ka matistavaid aineid ning olla sellise koostisega, et need vabastavad ainult toimeainet(id) või eeskätt seedetrakti teatud osas soovi korral viivitatud moel. Kasutatavate manustatavate ühendite näideteks on polümeersed ained ja vahad. Toimeaine võib olla ka mikrokapsli kujul sobivusel ühe või mitme eespool nimetatud ekstsipiendiga.

Oraalseks manustamiseks mõeldud vedelate annusevormide seas on farmatseutiliselt sobivad emulsioonid, mikroemulsioonid, lahused, suspensioonid, siirupid ja eliksiirid. Lisaks toimeainele võivad vedelad annusevormid sisaldada antud valdkonnast tavapäraselt kasutatavaid inertseid diluente nagu näiteks vesi või teised lahustid, lahustumist soodustavad ained ning emulgaatorid nagu etüülalkohol, isopropüül alkohol, etüülkarbonaat, etüülatsetaat, bensüülalkohol, bensüülbensoaat, propüleenglükool, 1,3-butüleenglükool, õlid (täpsemalt puuvillaseemne-, maapähkli-, maisi-, idu-, oliivi-, kastor- ja seesamiõlid), glütserool, tetrahüdrofurüülalkohol, polüetüleenglükoolid ning sorbitaani rasvhappeestrid ja nende segud.

Lisaks inertsetele diluentidele võivad oraalised ühendid sisaldada ka adjuvante nagu määrgavad ained, emulgaatoreid ja suspendeerivaid aineid, magusaineid, maitse-, värvi-, lõhna- ja säilitusaineid.

5 Suspensioonid võivad lisaks toimeinhibiitori(te)le sisaldada suspendeerivaid aineid nagu näiteks isostearüülalkoholid, polüoksüetüüleensorbitool ja sorbitaanestrid, mikrokristalliline tselluloos, alumiiniummetahüdroksiid, bentoniit, agarik ja tragakant ning nende segud.

10 Rektaalseks või vaginaalseks manustamiseks mõeldud koostised võivad olla suposiidi kujul, mida võib valmistada ühe või mitme inhibiitori(te) segamisel ühe või mitme sobiva mitteärritava ekstsipiendi või kandjaga, sisaldades näiteks kakaovõid, polüetüleenglükool, suposiidi vaha või salitsülaati, mis toatemperatuuril on tahke, aga kehatemperatuuril vedel ning järelkult sulab rektumis või tupeõõnes ja vabastab toimeainet.

15 Vaginaalseks manustamiseks sobivate koostiste seas võivad ka olla pessaarid, tampoonid, kreemid, geelid, pastad, vahud või pihustatavad koostised, mis sisaldavad antud valdkonnas sobivaks peetavaid kandjaid.

20 Inhibiitori(te) paikseks või transdermaalseks manustamiseks mõeldud annusevormide seas on pulbrid, pihustid, salvid, pastad, kreemid, losjoonid, geelid, lahused, plaastrid ja inhalaatorid. Toimeaine võib segada steriilsetes tingimustes farmatseutiliselt sobiva kanduriga ning mis tahes vajalike konservantide, puhvrite või propellantidega.

25 Salvid, pastad, kreemid ja geelid võivad lisaks inhibiitori(te)le sisaldada ekstsipiente nagu loomsed ja taimerased, õlid, vahad, parafiinid, tärklis, tragakant, tseluloosi derivaadid, polüetüleenglükoolid, silikoonid, bentoniidid, ränihape, talk ja tsinkoksiid või nende segud.

30 Pulbrid ja pihustid võivad lisaks inhibiitori(te)le sisaldada ekstsipiente nagu laktoos, talk, ränihape, alumiiniumhüdroksiid, kaltsiumsilikaadid ja polüamiidpulber või nende ainete segud. Pihustid võivad veel sisaldada tavapäraseid propellante nagu klorofluorosüsivesinikud ja lenduvaid asendamata süsivesinikke nagu butaan ja propaan.

Inhibiitorit(eid) võib teisel juhul manustada aerosooliga. See saavutatakse veepõhise aerosooli, liposomaalse preparaadi või ühendit sisaldavate tahkete osakeste valmistamisega. Kasutada võib mitte-veepõhist suspensiooni (nt fluorosüsinikpropellant). Nebulisaatorid on eelistatud, sest need teevad aine
5 deformeerumise minimaalseks, mille tagajärjeks võib olla ühendi degradeerumine.

Tavaliselt valmistatakse veepõhine aerosool, moodustades aine veepõhise lahuse või suspensiooni koos teiste tavapäraste farmatseutiliselt sobivate kandjate ja stabilisaatoritega. Kandjad ja stabilisaatorid varieeruvad konkreetse ühendi nõuete ulatuses, kuid üldjuhul hõlmavad mitteioonilisi surfaktante (*Tweenid*, *Pluronicud*,
10 sorbitaanestrid, letsitiin, *Cremophorid*), farmatseutiliselt sobivaid kaaslahusteid nagu polüetüleenglükool, ohutuid valke nagu seerumialbumiin, oleiinhape, aminohappeid nagu glütsiin, puhvreid, soolasid, suhkruid või suhkrualkohole. Aerosoole valmistatakse üldjuhul isotoonilistest lahustest.

Transdermaalsete plaastrite lisaeeliseks on inhibiitori(te) kontrollitud
15 kohaletimetamine kehasse. Taolisi annusevorme saab valmistada ühendi lahustamisel või pihustamisel sobivas vahendis. Absorptsiooni parandajaid võib samuti kasutada inhibiitori(te) nahal sulamise tõstmiseks. Taolise sulamise kiirust saab reguleerida kas kiirust reguleeriva membraani võimaldamisega või pihustades inhibiitorit(eid) polümeeraines või geelis.

20 Parenteraalseks manustamiseks sobivad antud leiutise farmatseutilised ühendid sisaldavad ühte või mitut inhibiitorit koos ühe või mitme farmatseutiliselt sobiva steriilse veepõhise või mitteveepõhise lahuse, dispergaatori, suspensiooni või emulsiooniga või steriilsete pulbritega, mille võib vahetult enne kasutamist uuesti moodustada steriilseteks süstitavateks lahusteks või dispergaatoriteks ning võivad
25 sisaldada antioksidante, puhvreid, bakteriostaate, lahustatud aineid, mis muudavad koostise plaanitava vastuvõtja verrega või suspendeeritavate või paksendusainetega isotooniliseks.

Sobivate veepõhiste ja mitte-veepõhiste kandjate, mida võib kasutada leiutise farmatseutilistes ühendites, näidete seas on vesi, etanool, polüoolid (nagu
30 glütserool, propüleenglükool, polüetüleenglükool ja muud sarnased) ning nende sobivad segud, taimeõlid, nagu oliiviõli, ning süstitavad orgaanilised estrid, nagu

etüüloleaat. Sobivat voolavust saab säilitada näiteks kattematerjalidega nagu letsitiin, dispersgaatorite puhul nõutava osakese suuruse hoidmisega ning surfaktantide kasutamisega.

5 Need ühendid võivad sisaldada ka adjuvante nagu konservandid, mürgavad ained, emulgaatorid ja dispersgaatorid. Mikroorganismide tegevuse ennetamise tagamiseks võib kaasata eri antibakteriaalseid ja seenevastaseid aineid, näiteks parabeeni, klorobutanooli, fenoolsorbiinhapet ja muid sarnaseid. Samuti soovitatakse ühenditesse võib-olla kaasata toonust kohandavaid aineid nagu suhkrud, naatriumkloriid ja muud sarnased. Lisaks võib süstitava farmatseutilise vormi pikendatud imendumist esile kutsuda absorptsiooni viivitavate ainetega
10 nagu alumiiniummonostearaat ja želatiin.

Mõnel juhul soovitakse ravimi toime pikendamiseks aeglustada ravimi imendumist subkutaanse või intramuskulaarse süsti järel. Näiteks parenteraalselt manustatud ravimivormi viivitatud imendumine saavutatakse ravimi lahustamisel või
15 suspendeerimisel õlikanduris.

Süstitavaid depooravimeid valmistatakse inhibiitori(te) mikrokapseldatud põhiainete moodustamisega biolagundavates polümeerides nagu polüaktiid-polüglükoliid. Sõltuvalt ravimi ja polümeeri suhtest ning konkreetse kasutatava polümeeri iseloomust võib ravimi vabanemise kiirust kontrollida. Teiste
20 biolagundatavate polümeeride näidete seas on polü(ortoestrid) ja polü(anhüdriidid). Süstitavad depookoostised valmistatakse samuti ravimi paigutamiseks liposoomidesse või mikroemulsioonidesse, mis sobivad kehakoega.

Ainete preparaate võib anda oralselt, parenteraalselt, paikset või rektaalselt.
25 Mõistagi antakse neid igale manustamismoodusele sobival kujul. Näiteks manustatakse neid tablettide või kapslite kujul, süstina, silmalosjoonina, salvina, suposiidina, leotisena; paikset losjoni või salvina; ning rektaalselt suposiididega. Eelistatakse oraalset manustamist

Käeolevalt kasutatud fraasid „parenteraalne manustamine“ ja „manustatakse parenteraalselt“ tähendavad enteraalsest ja paiksest manustamisest erinevaid manustamise viise tavaliselt süstimise teel ning hõlmab piiramatult intravenooset,

5 intramuskulaarset, intraarteriaalset, intratekaalset, intrakapsulaarset, intraorbitaalset, intrakardiaalset, intradermaalset, intraperitoneaalset, transtrahheaalset, subkutaanset, subkutikulaarset, intraartikulaarset, subkapsulaarset, subarahnoidset, intraspinaalset ja intrasternaalset süsti ning infusiooni.

Käeolevalt kasutatud fraasid „süsteemne manustamine“, „manustatakse süsteemselt“, „perifeerne manustamine“ ja „manustatakse perifeerselt“ 10 tähendavad ligandi, ravimi või teise aine manustamist teisiti kui otse kesknärvisüsteemi nii, et see siseneb patsiendi süsteemi ning seega allub seede- ja teistele sarnastele protsessidele, näiteks subkutaanne manustamine.

Taolisi inhibiitoreid võib inimestele ja teistele loomadele manustada ravi jaoks mis 15 tahes sobival manustamisviisil, sealhulgas oralselt, nasaalselt, näiteks pihustiga, rektaalselt, intravaginaalselt, parenteraalselt, intratsisternaalselt ning paiksel näiteks nagu pulbrid, salvid või tilgad, sealhulgas bukaalselt ja sublingvaalselt.

Valitud manustamisviisist sõltumata võib inhibiitorit(eid) kasutada sobival hüdratiseeritud kujul ja/või käesoleva leiutise farmatseutilised ühendid 20 moodustatakse farmatseutiliselt sobivatesse annustamiskujudeks antud valdkonnas pädevatele isikutele teadaolevate meetoditega.

Toimeainete tegelikud annusetasemed käesoleva leiutise farmatseutilistes ühendites võivad varieeruda, et saavutada toimeaine kogus, mis on tõhus soovitud 25 terapeutilise reaktsiooni saavutamiseks patsiendi, ühendi ning manustamise viisi jaoks ilma patsiendile mürgine olemata.

Esitatud ühendi kontsentratsioon farmatseutiliselt sobivas segus varieerub mitmest faktorist sõltuvalt, sealhulgas manustatava ühendi annus, kasutatava(te) ühendi(te) farmakokineetilised omadused ning manustamise viis. Üldiselt võib antud leiutise ühendeid pakkuda veepõhises lahuses, mis sisaldab 30 parenteraalseks manustamiseks teiste ainete hulgas umbes 0,1-10% w/v

käesolevalt esitatud ühendit. Tavalised annused varieeruvad vahemikus umbes 0,01 kuni umbes 50mg/kg kaalu kohta päevas 1-4 annuseks jaotatuna. Iga jaotatud annus võib sisaldada leiutise sama või eri ühendeid. Annus on tõhus kogus sõltuvalt mitmest faktorist, sealhulgas patsiendi üleüldine tervis ning valitud ühendi(te) manustamise koostis ja viis.

Leiutise lisaaspekt pakub ühendeid kasutamiseks ühises teraapias, kus ühte või mitut terapeutilist ainet manustatakse proteaasi inhibiitoriga. Taolist ühist ravi võib saavutada ravi individuaalsete ühendite üheaegse, järgse või eraldi annustamisel.

Antud variantides manustatakse leiutise ühendit ühiselt kemoterapeutilise ainega.

10 Sobivate kemoterapeutiliste ainete seas võivad olla looduslikud tooted nagu vinkaalaloidid (st vinblastiin, vinkristiin ja vinorelbiin), paklitakseel, epidipodofüllotoksiinid (st etoposiid, teniposiid), antibiootikumid (daktinomütsiin (aktinomütsiin D) daunorubitsiin, doksorubitsiin idarubitsiin), antratsükliinid, mitoksantroon, bleomütsiinid, plikamütsiin (mitramütsiin) mitomütsiin, ensüümid (L-asparaginaas, mis süsteemselt seedib L-asparagiini ja kaotab rakke, millel puudub

15 võime enda aspargiini sünteesida); trombotsüüdivastased ained; antiproliferatiivsed/antimitootilised alküleerivad ained nagu lämmastiku sinepid (kloormetiin, tsüklofosfamiid ja analoogid, melfalaan, klorambutsiil) etüleeniimiinid ja metüülmelamiinid (heksametüülmelamiin ja tiotepa), alküülsulfonaadid

20 (busulfaan), nitrosouuread (karmustiin (BCNU) ja analoogid, streptosotsiin), traseenid (*drazenes*) – dakarbasiin (DTIC); antiproliferatiivsed/antimitootilised antimetaboliitikumid nagu foolhappe analoogid (metotreksaat) pürimidiini analoogid (fluoratsiil, floksuridiin ja tsütarabiin), puriini analoogid ja seotud inhibiitorid (merkaptopuriin, tioguaaniin, pentostatiin ja 2-klorodeoksüadenosiin);

25 aromataasi inhibiitorid (anastrosool, eksemestaan ja letrosool); ning platiinat sisaldavad kompleksid (tsisplatiin, karboplatiin), prokarbasiin, hüdroksüuurea, mitotaan, aminogluteetimiid; hormoonid (st östrogeen) ja hormooni agonistid nagu luteiniseerivat hormooni vabastav hormooni (*luteinizing hormone releasing hormone* LHRH) agonistid (gosereliin, leuproliid ja triptoreliin). Teiste

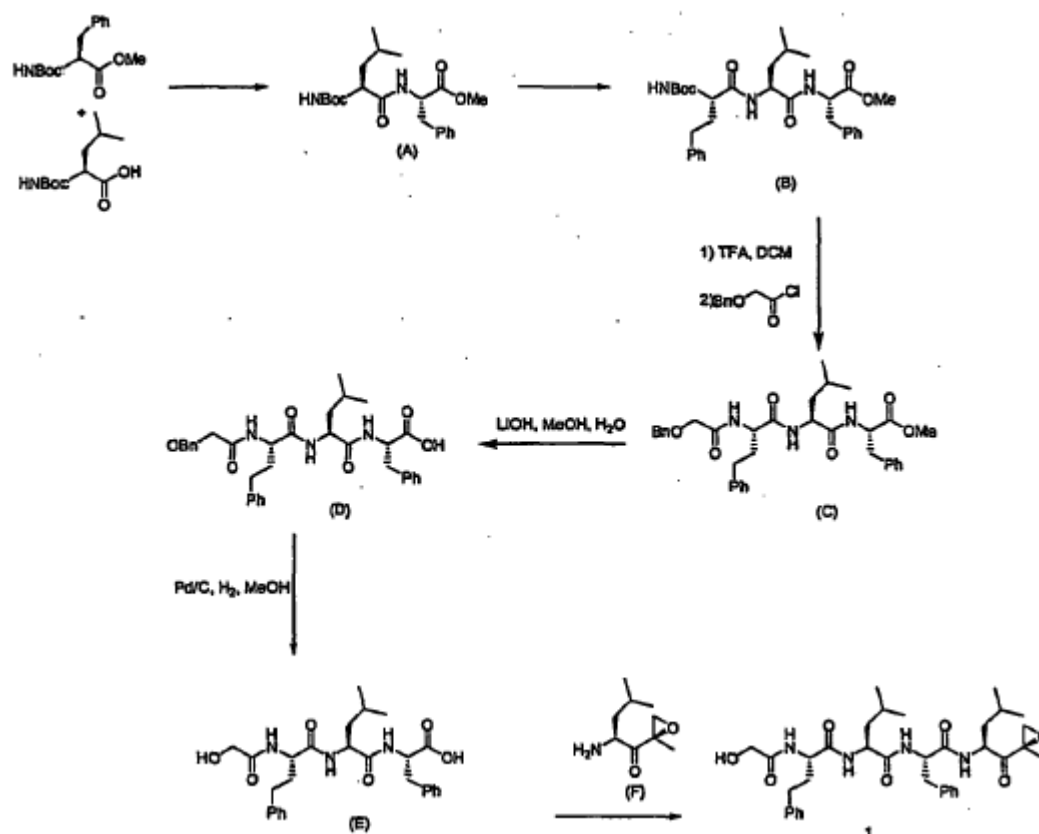
30 kemoterapeutiliste ainete seas võivad olla kloormetiin, kamptotetsiin (*camptothecin*), ifosfamiid, tamoksifeen, raloksifeen, gemtsitabiin, navelbiin (*navelbine*) või mis tahes eelesitatu analoog või derivaat.

Leiutise ühendit manustatakse ühiselt steroidiga. Sobivate steroidide seas võivad olla muuhulgas 21-atsetoksü-pregnenoloon, alklometasoon, algestoon, amtsinoniid, beklometasoon, betametason, budesoniid, kloroprednisoon, klobetasool, klokortoloon, kloprednool, kortikosteron, kortisoon, kortivasool, 5 deflasakort, desoniid, desoksümetasoon, deksametasoon, diflorasoon, diflukortoloon, difuprednaat, enoksoloon, fluasakort, fluotsinoloonatsetoniid (*flucloronide*), flumetasoon, flunisoliid, fluokinoloon atsetoniid, fluotsinoniid, fluokortiin butüül, fluokortoloon, fluorometoloon, fluperoloon atsetaat, fluprednideen atsetaat, fluprednisoloon, flurandrenoliid, flutikasoon propionaat, 10 formokortaal, halkinoniid (*halcinonide*), halobetasool propionaat, halometasoon, hüdrokortisoon, loteprednool etabonaat, masipredoon, medrüsoon, meprednisoon, metüülprednisoloon, mometasoonfuroaat, parametasoon, prednikarbaat, prednisoloon, prednisoloon 25-dietüülaminoatsetaat, prednisoloon naatriumfosfaat, prednisoon, predinvaal (*prednival*), prednülideen, rimeksoloon, 15 tiksokortol, triamtsinoloon, triamtsinoloon atsetoniid, triamtsinoloon benetoniid, triamtsinoloon heksatsetoniid ning nende soolad ja/või derivaadid.

Leiutise ühendit manustatakse ühiselt immunoterapeutilise ainega. Sobivate immunoterapeutiliste ainete seas võivad olla muuhulgas tsüklosporiin, talidomiid ja monoklonaalsed antikehad. Monoklonaalsed antikehad võivad olla kas katteta või 20 konjugeeritud nagu rituksimaab, alemtusumaab, epratusumaab, ibritumomaab tiuksetaan, gemtusumaab osogamitsiin, bevatsisumaab, tsetuksimaab, erlotiniib ja trastusumaab.

NÄIDISED

Skeem 1: näite 1 süntees (viide)

*(B) süntees*

- 5 NBoc leutsiini (50,0mmol, 11,56g) ja fenüülalaniin metüülestri (50,0mmol, 10,78g) lahusele 500mL-s DMF-s lisati HOBT-d (10,81g, 80,0mmol) DIEA-d (200,0mmol, 25,85g, 35mL). Segu jahutati jää- ja veevannis temperatuurile 0 °C ning viie minuti jooksul lisati mitu portsjonit lisati BOP-d (80,0mmol, 35,38g). Reaktsioon asetati argooni keskkonda ja seda segati öö jooksul. Reaktsiooni lahjendati soolveega
- 10 (1000mL) ja ekstraktiti EtOAc-ga (5x200mL). Orgaanilised kihid ühendati ning neid pesti vee (10x100mL) ja soolveega (2x150mL) ning kuivatati MgSO₄-ga. MgSO₄ eemaldati filtreerimisega ja lenduvad osad alandatud survele, et anda (A) (18,17g). Temperatuurile 0 °C jahutatud 50mL-le 80%-lisele TFA/DCM lahusele lisati BocNHLeuPheOMe-d (45,86mmol, 18,0g). Lahust segati ja sellel lasti 2 h jooksul
- 15 toatemperatuurile soojeneda. Lenduvad osad eemaldati alandatud survele, et anda õli. Sellele õlile lisati BocNHhPhe-d (45,86mmol, 12,81g), DMF-i (500mL), HOBT-d

(73,37mmol, 9,91g) ja DIEA-d (183,44mmol, 23,70g, 32,0mL). Segu jahutati jää- ja veevannis temperatuurile 0 °C ning viie minuti jooksul lisati mitu portsjonit BOP-d (73,37mmol, 32,45g). Reaktsioon pandi argooni keskkonda ja sellel lasti öö jooksul toatemperatuurile soojeneda. Reaktsiooni lahjendati H₂O-ga (1500mL) ja ekstraktiti DCM-ga (5x300mL). Orgaanilised kihid ühendati ning pesti H₂O-ga (6x300mL) ja soolveega (1x300mL) ja kuivatati MgSO₄-ga. MgSO₄ eemaldati filtreerimisega ja lenduvad osad alandatud survele, et anda kollane tahkis. Tahkisele lisati 200mL 95%-list EtOH-d ja segu kuumutati temperatuurile 65 °C, et kõik tahkised lahustada. Lahusele lisati seejärel 1000mL jahutatud H₂O-d ning saadud sete koguti, et anda (B) (21,59g).

(C) süntees

Ühend (B) (1,47mmol, 0,81g) segati TFA/DCM-ga (80%) ja segati toatemperatuuril 1 h, mille jooksul segu kontsentreeriti ja asetati 2 tunniks kõrgvaakumisse, et anda tri-peptiid amiini (Q) TFA sool. Temperatuuril 0 °C TFA soola lahusele (1,47mmol) DMF-is (10mL) lisati DIEA-d (4,4mmol, 0,77mL), millele järgnes bensüülloksüatsetüülkloriid (2,21mmol, 0,343mL). Reaktsioonil lasti 2 tunni jooksul lämmastiku keskkonnas segades toatemperatuurile soojeneda. Segu lahjendati soolveega (15mL) ja ekstraktiti EtOAc-ga (3x15mL). Orgaanilised kihid ühendati, neid pesti H₂O-ga (2x15mL), soolalahusega (1x15mL) ja kuivatati Na₂SO₄-ga. Na₂SO₄ eemaldati filtreerimisega ja lenduvad osad eemaldati alandatud rõhul. Toormaterjal puhastati kiirkromatograafiaga, et anda (C) (0,83g).

(D) süntees

(C) suspensioonile (1,38mmol, 0,830g) 28mL-s 3:1-lises MeOH/H₂O-s temperatuuril 0 °C lisati LiOH-d (13,8mmol, 0,331g). Pärast 18 tundi temperatuuril 5 °C karastati reaktsiooni 20mL küllastunud NH₄Cl-ga ja lahjendati veel 150mL H₂O-ga. Reaktsioonimikstuuri pH viidi 1N HCl-ga tasemele 2 ning tahkised koguti filtreerimisega, et anda (D) (0,900g).

(E) süntees

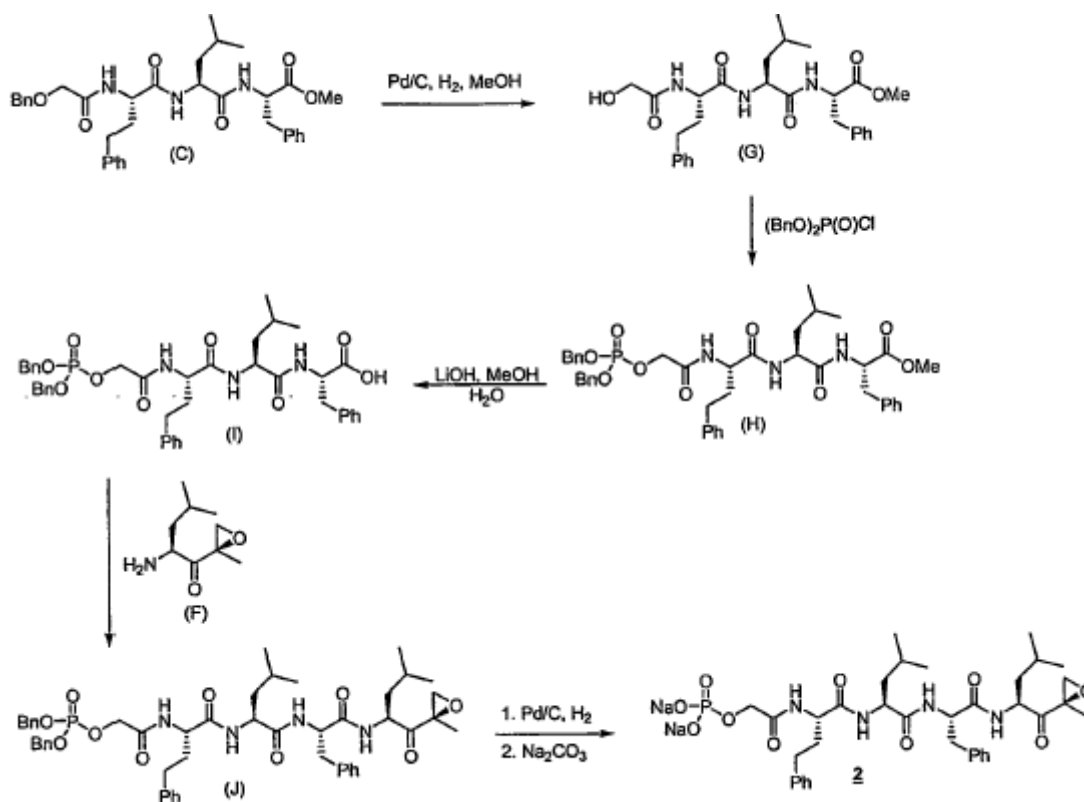
Ühend (D) (0,17mmol, 0,10g) lahustati MeOH-s (10mL) ja lisati Pd-C-d (5%, 0,08g) ning reaktsioonimikstuuri segati 2 h H₂ 1-s atmosfääris toatemperatuuril.

Segu puhastati seejärel argooniga, filtreeriti läbi tseliidi ning kontsentreeriti, et anda (E).

Ühendi 1 süntees

(F) segatud lahusele [vaata: *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1999, 9, 2283-88] (0,164mmol) DMF-is (2mL) lisati (E) (0,17mmol), DIEA-d (0,652mmol, 0,114mL) ja HOBT-d (0,266mmol, 0,036g). Segu jahutati jäävannis temperatuurile 0 °C ning lisati mitu portsjonit BOP-d (0,262mmol, 0,116g). Mikstuuri segati öö jooksul temperatuuril 5 °C argooni keskkonnas. Reaktsiooni lahjendati soolveega (15mL) ja ekstraktiti EtOAc-ga. Orgaanilist kihti pesti vee, küllastunud NaHCO₃-ga ja soolveega ning kuivatati anhüdroossel MgSO₄-l. MgSO₄ eemaldati filtreerimisega ja lenduvad osad eemaldati alandatud rõhul. Toormaterjal puhastati preparatiivse HPLC-ga, et anda ühend 1 (IC₅₀ 20S CT-L <50nM, IC₅₀ rakupõhine CT-L <100nM).

Skeem 2: näite 2 süntees (viide)



(G) süntees

Ühend (C) (1,0mmol, 0,601g) lahustati MeOH-s (25mL), lisati Pd-C-d (10%, 600mg) ning reaktsioonimikstuuri segati 48 h H₂ 1-s atmosfääris toatemperatuuril. Segu puhastati seejärel argooniga, filtreeriti läbi tseliidi ja kontsentreeriti, et anda

5 (G) (600mg).

(H) süntees

Temperatuuril 0 °C (G) lahusele (1,0mmol, 0,511g) DCM-is (40mL) lisati DIEA-d (2,0mmol, 0,348mL) ja dibensüülfosforüülkloriidi (2,0mmol, 0,593g) ning segul lasti öö jooksul lämmastiku keskkonnas toatemperatuuril seguneda. Seejärel

10 reaktsioon kontsentreeriti vaakumis ja toormaterjal puhastati kiir-kromatograafiaga, et anda (H) (0,181g).

(I) süntees

Temperatuurile 0 °C jahutatud (H) suspensioonile (0,11mmol, 0,090g) 4mL-s 3:1-lises MeOH/H₂O-s lisati LiOH-d (1,6mmol, 0,4mL, 4M vesi). 45 minuti pärast

15 temperatuuril 5 °C karastati reaktsiooni 10mL küllastunud NH₄Cl-ga. Reaktsioonimikstuuri pH viidi 1N HCl-ga tasemele 2 ja ekstraktiti EtOAc-ga. Orgaanilist kihti pesti vee ja soolveega ning kuivatati anhüdroosse MgSO₄-ga. MgSO₄ eemaldati filtreerimisega ja lenduvad osad alandatud survele, et anda (I).

(J) süntees

(F) segatud lahusele [vaata: *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1999, 9, 2283-88] (0,082mmol) DMF-is (2mL) lisati (I) (0,082mmol, 0,062g), DIEA-d (0,328mmol, 0,057mL) ja HOBT-d (0,133mmol, 0,018g). Segu jahutati jäävannis

20 temperatuurile 0 °C ning lisati mitu portsjonit BOP-d (0,131mmol, 0,058g). Mikstuuri segati seejärel öö jooksul argooni keskkonnas temperatuuril 5 °C.

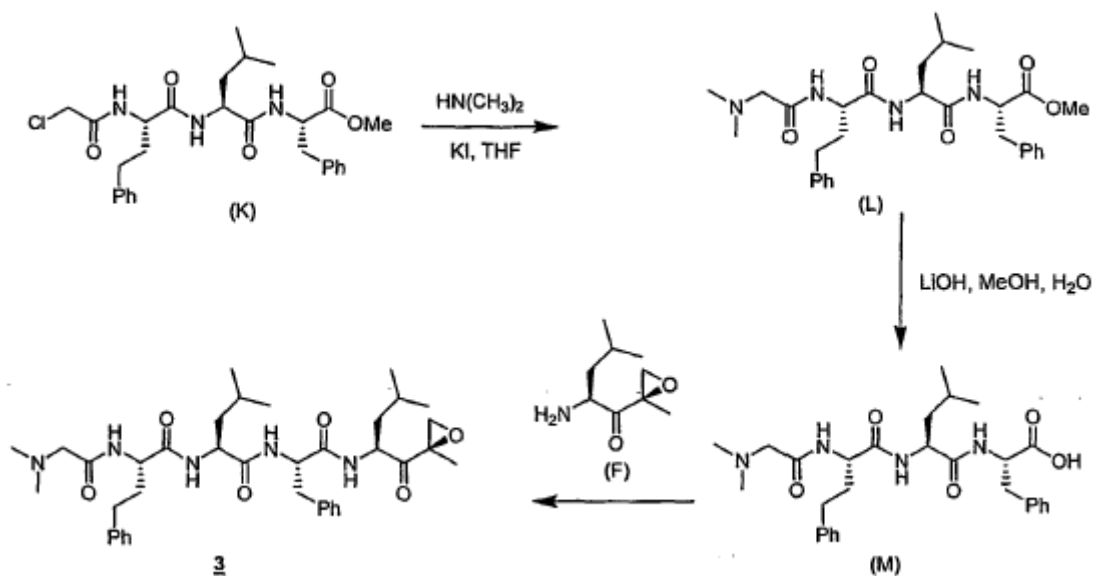
25 Reaktsiooni lahjendati H₂O-ga (15mL) ning (J) koguti filtreerimisega (0,081g).

Ühendi 2 süntees

(J) lahusele (0,005mmol, 0,005g) THF-s (1mL) lisati 4 tilka H₂O-d ja 10%-list Pd/C-d (5mg). Segu segati 1 h H₂ keskkonnas toatemperatuuril, filtreeriti läbi tseliidi ja

filtraati töödeldi Na_2CO_3 -ga (0,263g 3mL-s H_2O -s). Tahkised koguti filtreerimisega ja asetati kõrgvaakumisse, et anda ühend **2** (0,004g).

Skeem 3: näite 3 süntees (viide)



5 (L) süntees

(K) lahusele (0,19mmol, 0,10g) THF-s (20mL) lisati KI-d (0,038mmol, 0,0063g), dimetüülamiini (0,456mmol, 0,228mL, 2M THF-s) ning mikstuuri segati öö jooksul lämmastiku keskkonnas. Lenduvad osad eemaldati alandatud rõhul ning toormaterjali kõrgendati EtOAc-s (15mL), pesti H_2O -ga (2x10mL) ja soolveega (2x10mL), ning kuivatati MgSO_4 -ga. MgSO_4 eemaldati filtreerimisega ja lenduvad osad alandatud survele, et anda (L) (0,100g).

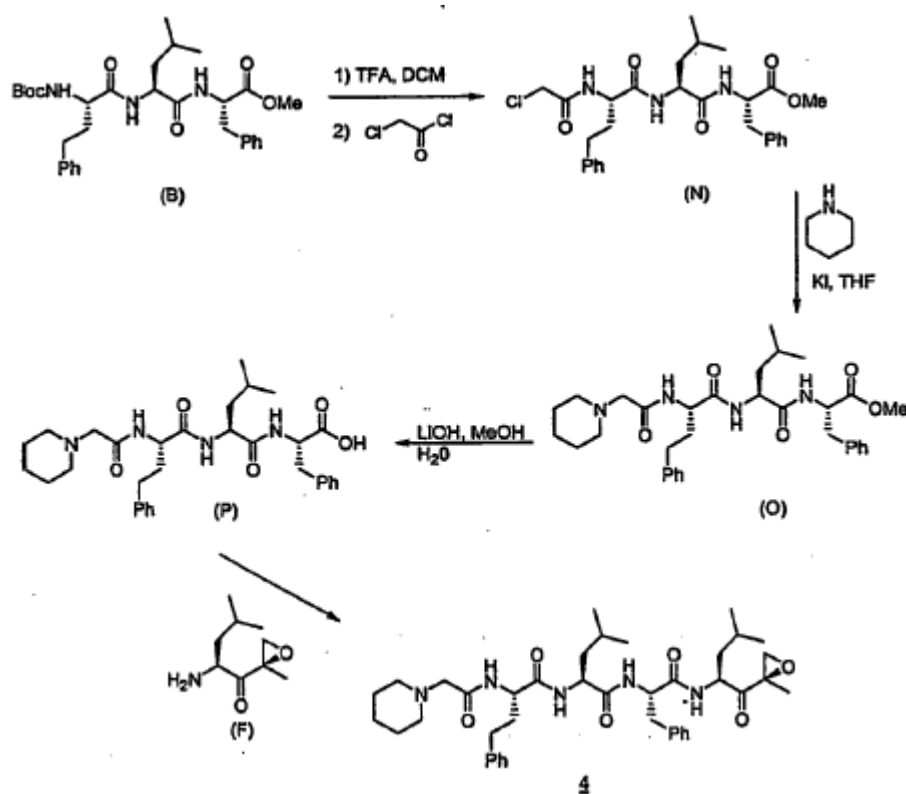
(M) süntees

Temperatuurile $0\text{ }^\circ\text{C}$ jahutatud (L) suspensioonile (0,186mmol, 0,100g) 4mL-s 3:1-lises $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ -s lisati LiOH -d (1,86mmol, 0,045g). 12 h pärast temperatuuril $5\text{ }^\circ\text{C}$ karastati reaktsiooni 20mL küllastunud NH_4Cl -ga ja lahjendati veel 10mL H_2O -ga. Reaktsioonimikstuuri pH viidi 1N HCl -ga tasemele **3**, ekstraktiti CHCl_3 -ga (3x15mL) ja kuivatati MgSO_4 -ga. MgSO_4 eemaldati filtreerimisega ning lenduvad osad eemaldati alandatud survele, et anda (M).

Ühend 3 süntees

(F) segatud lahusele [vaata: *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1999, 9,2283-88] (0,082mmol) DMF-is (1mL) lisati (M) (0,021mmol), DIEA-d (0,28mmol, 0,05mL) ja HOBT-d (0,133mmol, 0,018g). Segu jahutati jäävannis temperatuurile 0 °C ja lisati mitu portsjonit BOP-d (0,131mmol, 0,058g). Mikstuuri segati öö jooksul argooni keskkonnas temperatuuril 5 °C. Reaktsiooni lahjendati seejärel soolveega (15mL) ja ekstraktiti EtOAc-ga. Orgaanilist kihti pesti veega, küllastunud NaHCO₃-ga ja soolveega ning kuivatati anhidroosse MgSO₄-ga. MgSO₄ eemaldati filtreerimisega ja lenduvad osad eemaldati alandatud rõhul, et anda ühend **3** (IC₅₀ 20S CT-L<100nM; rakupõhine CT-L<100nM).

Skeem 4: näite 4 süntees (viide)



(N) süntees

Ühend (B) (1,80mmol, 1,0g) segati TFA/DCM-ga (80%) ning segati 1 h toatemperatuuril, mille jooksul segu kontsentreeriti ja asetati 2 tunniks kõrgvaakumisse, andes tripeptiid amiini TFA soola. Temperatuuril 0 °C TFA soola lahusele (1,80mmol) DMF-is (10mL) lisati DIEA-d (3,6mmol, 0,7mL) ja seejärel

kloroatsetüülkloriidi (2,7mmol, 0,215mL). Reaktsioonil lasti toatemperatuurile soojeneda, segades seda öö jooksul lämmastiku keskkonnas. Segu lahjendati seejärel soolveega (15mL) ja ekstraktiti EtOAc-ga (3x15mL). Orgaanilised kihid ühendati, neid pesti H₂O-ga (2x15mL) ja soolveega (2x15mL) ja kuivatati Na₂SO₄-ga. Na₂SO₄ eemaldati filtreerimisega ja lenduvad osad eemaldati alandatud rõhul. Toormaterjali suspendeeriti EtOAc-s ja filtreeriti, et anda (N) (0,640g).

(O) süntees

(N) lahusele (0,094mmol, 0,050g) THF-s (10mL) lisati KI-d (0,019mmol, 0,0032g) ja piperidiini (0,113mmol, 0,0096g) ning mikstuuri segati öö jooksul lämmastiku keskkonnas. Lenduvad osad eemaldati alandatud rõhul ning toormaterjali kõrgendati EtOAc-s (15mL), pesti H₂O-ga (2x10mL) ja soolveega (2x10mL) ning kuivatati MgSO₄-ga. MgSO₄ eemaldati filtreerimisega ja lenduvad osad alandatud survele, et anda (O).

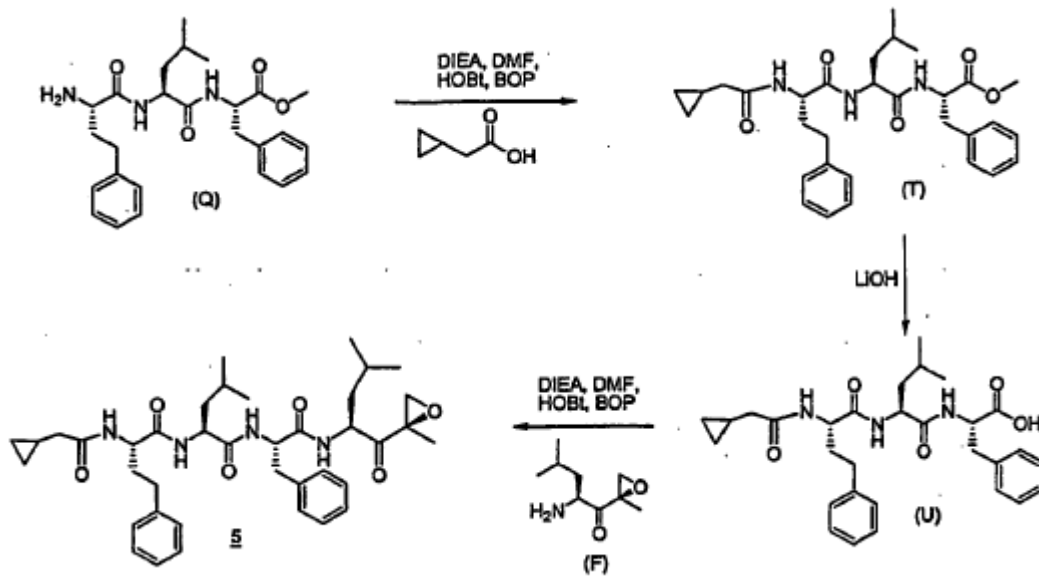
(P) süntees

Temperatuurile 0 °C jahutatud (O) suspensioonile (0,094mmol) 4mL-s 3:1-lises MeOH/H₂O-s lisati LiOH-d (0,94mmol, 0,023g). Pärast 12 h temperatuuril 5 °C karastati reaktsioon 20mL küllastunud NH₄Cl-ga ning lahjendati veel 10mL H₂O-ga. Reaktsioonimikstuuri pH viidi 1N HCl-ga tasemele 3, ekstraktiti DCM-ga (3x15mL) ja kuivatati MgSO₄-ga. MgSO₄ eemaldati filtreerimisega ja lenduvad osad eemaldati alandatud survele, et anda (P).

Ühendi 4 süntees

(F) segatud lahusele [vaata: *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1999, 9, 2283-88] (0,082mmol) DMF-is (2mL) lisati (P) (0,082mmol, 0,046g), DIEA-d (0,328mmol, 0,057mL) ja HOBT-d (0,133mmol, 0,018g). Segu jahutati jäävannis temperatuurile 0 °C ning lisati mitu portsjonit BOP-d (0,131mmol, 0,058g). Mikstuuri segati öö jooksul temperatuuril 5 °C argooni keskkonnas. Reaktsiooni lahjendati seejärel H₂O-ga (15mL) ja ekstraktiti EtOAc-ga. Orgaanilist kihti pesti veega, küllastunud NaHCO₃-ga ja soolveega ning kuivatati anhüdroosse MgSO₄-ga. MgSO₄ eemaldati filtreerimisega ja lenduvad osad alandatud survele, et anda ühend **4** (0,034g) (IC₅₀ 20S CTL<100nM; IC₅₀ rakupõhine CT-L<100nM).

Skeem 5: näite 5 süntees (viide)

*(T) süntees*

Ühend (T) saadakse, järgides peamiselt (E) konverteerimise protseduuri 1-ks, aga 5 pannes (Q) (F) asemele ja tsüklopropüülhappe (E) asemele.

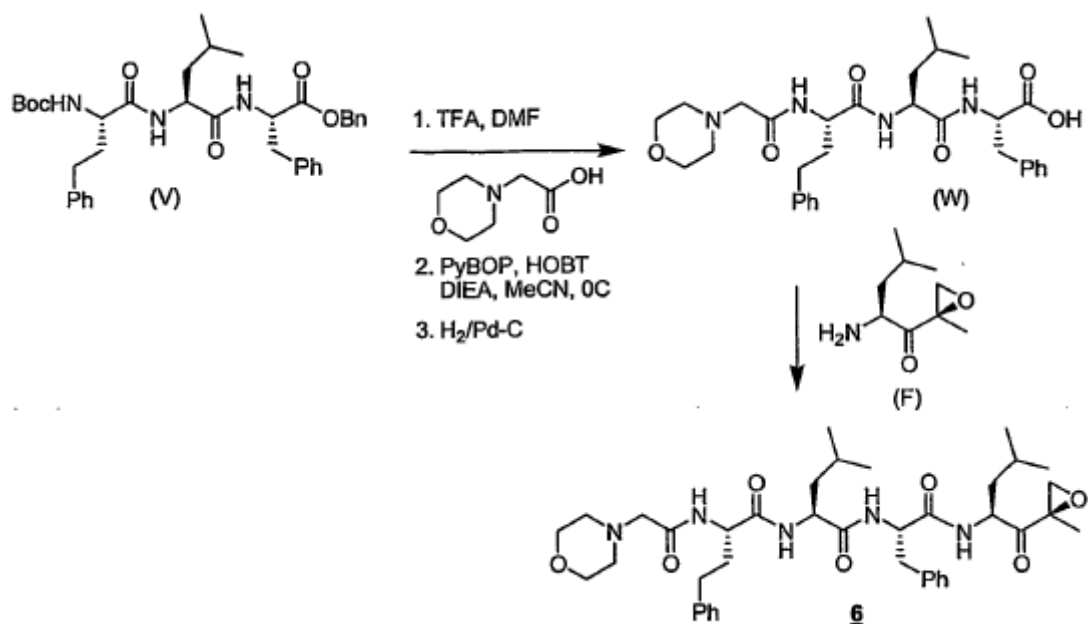
(U) süntees

Ühend (U) saadakse, järgides peamiselt (C) konverteerimise protseduuri (D)-ks, aga pannes (T) asemele (C).

Ühendi 5 süntees

10 Ühend 5 saadakse, järgides peamiselt (E) konverteerimise protseduuri 1-ks, aga pannes (U) asemele (E).

Skeem 6: näite 6 süntees (viide)

*(W) süntees*

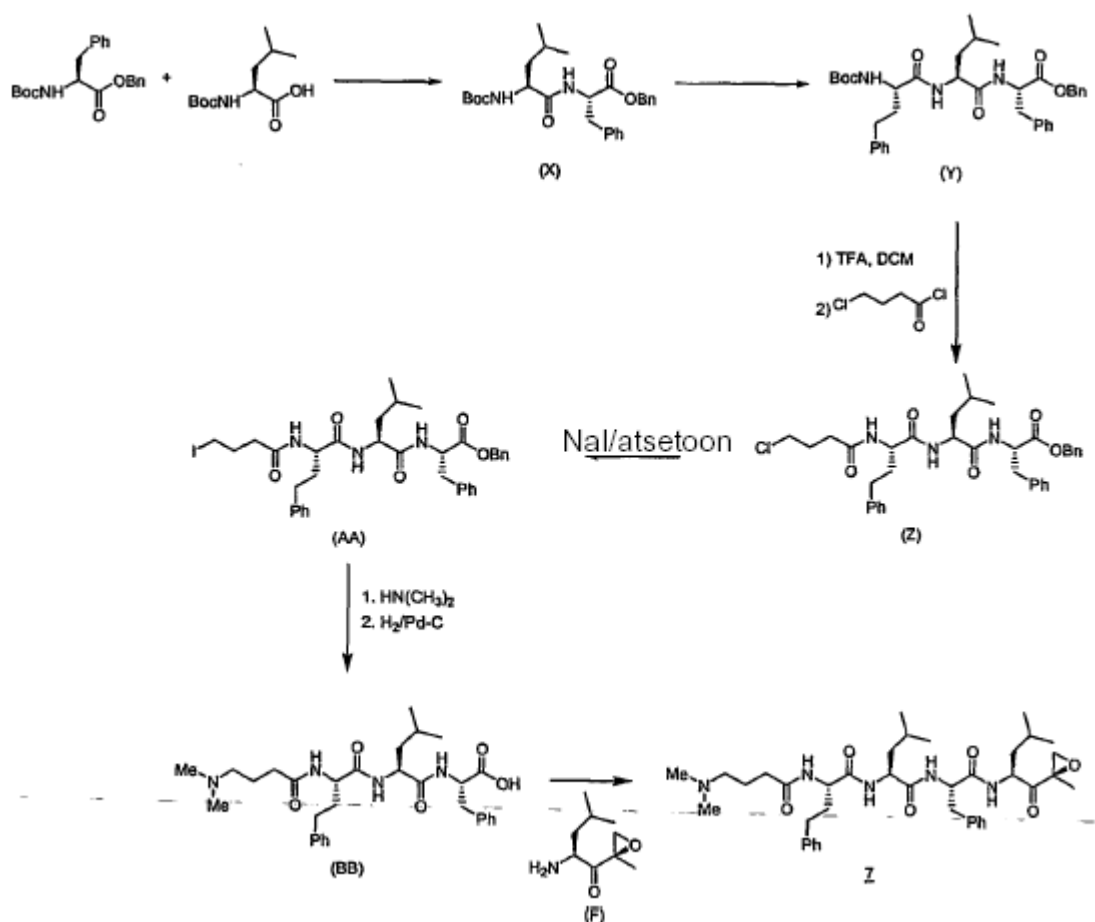
- Ühend (V) (0,25g, 0,39mmol) segati kokku 12mL TFA/DCM-ga (80%) ning segati
- 5 1 h toatemperatuuril, mille jooksul segu kontsentreeriti ja asetati 2 tunniks kõrgvaakumisse, andes, andes tri-peptiid amiini TFA soola. Toores amiinisool lahustati 6mL-s DMF-s ning lisati 2-morfoliinäädikhapet (0,074g, 0,507mmol) ja seejärel DIEA-d (0,504g, 0,68mL, 3,90mmol). Segu jahutati jäävannis
- 10 temperatuurile 0 °C ning lisati PyBOP-d (0,32g, 0,62mmol) ja segati argooni keskkonnas, soojendades selle öö jooksul toatemperatuurile. Segu lahjendati soolveega (50mL) ja ekstraktiti EtOAc-ga (5x20mL). Orgaanilised kihid ühendati, pesti küllastunud NaHCO₃-ga (5x15mL) ja soolveega (1x25mL) ning kuivatati MgSO₄-ga. MgSO₄ eemaldati filtreerimisega ja lenduvad osad alandatud survel, et anda vahesaadusena ester (0,195g). Vahesaaduse estrile (0,150g, 0,23mmol)
- 15 lisati 10%-list Pd/C-d (0,05g) ja seejärel 5mL 1:1-list MeOH ja EtOAc segu. Mikstuur asetati vesiniku keskkonda. 2 tunni pärast filtreeriti ained läbi tseliidipadja ja kontsentreeriti vaakumis, et anda (W) (0,12g).

Ühendi 6 süntees

(F) segatud lahusele [vaata: *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1999, 9, 2283-88] (1,3 ekviv., 0,27mmol, 0,083mg) MeCN-is (5mL) lisati (W) (1 ekviv., 0,17mmol, 0,10g), DIEA-d (10 ekviv., 1,73mmol, 0,30mL) ja HOBT-d (1,6 ekviv., 0,27mmol, 0,037mg). Segu jahutati jäävannis temperatuurile 0 °C ning lisati mitu portsjonit PyBOP-d (1,6 ekviv., 0,27mmol, 0,14g). Mikstuuri segati öö jooksul temperatuuril 5 °C argooni keskkonnas, mille järel reaktsiooni lahjendati küllastunud NaCl-ga ja ekstraktiti EtOAc-ga. Orgaanilist kihti pesti vee ja soolveega ning kuivatati anhidroosse MgSO₄-ga ja kontsentreeriti pastaks.

10 Toormaterjal lahustati MeOH minimaalses koguses ning aeglaselt lisati kiirelt segatud ja temperatuurile 0 °C jahutatud vette (100mL). Seejärel ühend 6 eemaldati filtreerimisega (0,080g).

Skeem 7: näite 7 süntees (viide)



(X) süntees

NBoc leutsiini (19,81g, 85,67mmol, 1,0 ekviv.) ja fenüülalaniinbensüülestri (25,0g, 85,67mmol, 1,0 ekviv.) lahusele 900mL-s MeCN-s lisati DIEA-d (44,29g, 60mL, 342,68mmol, 4,0 ekviv.) ning segu jahutati jäävannis temperatuurile 0 °C. Antud

5 mikstuurile lisati HOBT-d (18,52g, 137,08mmol, 1,6 ekviv.) ja seejärel viie minuti jooksul lisati mitu portsjonit PyBOP-d (71,33g, 137,08mmol, 1,6 ekviv.). Reaktsioon asetati argooni keskkonda ja seda segati öö jooksul. Lenduvad osad eemaldati alandatud rõhul ning allesjäävat materjali kõrgendati 500mL-s EtOAc-s ja pesti küllastunud NaHCO₃-ga, H₂O ja soolveega ning kuivatati MgSO₄-ga.

10 MgSO₄ eemaldati filtreerimisega ja lenduvad osad alandatud survele, et anda (X).

(Y) süntees

Temperatuurile 0 °C jahutatud 70%-lisele TFA/DCM lahusele (150mL) lisati (X) (25,0g, 53,35mmol, 1,0 ekviv.). Lahust segati ja sellel lasti 2 h jooksul toatemperatuurile soojeneda, mille käigus segu kontsentreeriti ja pandi 2 tunniks

15 kõrgvaakumisse, andes dipeptiid amiini TFA soola. Saadud õlile lisati BocNHhPhe-d (14,68g, 53,35mmol, 1,0 ekviv.), 550mL MeCN-i ja DIEA-d (27,58g, 37,2mL, 213,4mmol, 4,0 ekviv.) ning segu jahutati jäävannis temperatuurile 0 °C. Jahutatud segule lisati HOBT-d (11,53g, 85,36mmol, 1,6 ekviv.) ning seejärel viie minuti jooksul lisati mitu portsjonit PyBOP-d (44,42g, 85,36mmol, 1,6 ekviv.).

20 Reaktsioon pandi argooni keskkonda ja lasti öö jooksul toatemperatuurile soojeneda, mille käigus moodustus sete. Reaktsioonimikstuur jahutati ja tahkised koguti filtreerimisega ning seejärel pesti külma MeCN-ga, et anda (Y) (24,86g).

(Z) süntees

Ühend (Y) (0,023mol, 14,5g) segati TFA/DCM-ga (80%) ja segati 1 h

25 toatemperatuuril, mille jooksul segu kontsentreeriti ja pandi 2 tunniks kõrgvaakumisse, andes tripeptiid amiini TFA soola. TFA soola lahusele (0,023mol, 1 ekviv.) MeCN-is (120mL) lisati 4-klorobutürüülkloriidi (1,2 ekviv., 0,028mol, 0,32mL) ja DIEA-d (4 ekviv., 0,092mol, 16mL). Mikstuuri segati 2 h toatemperatuuril ning siis see kontsentreeriti ja puhastati kiir-kromatograafiaga, et

30 anda (Z) (8g).

(AA) süntees

(Z) lahusele (1 ekviv., 0,095mmol, 60mg) kuivas atsetoonis (8mL) lisati NaI-d (5 ekviv., 0,47mmol, 70,5mg). Mikstuuri segati öö jooksul lämmastiku keskkonnas tagasikeemise temperatuuril. Seejärel reaktsioonisegu kontsentreeriti kuivaks ja setet kõrgendati DCM-is. Orgaanilist kihti pesti vee ja soolveega, see kuivatati 5 anhidroosel MgSO₄-l ning kontsentreeriti, et anda (AA) kollase tahkisena (50mg).

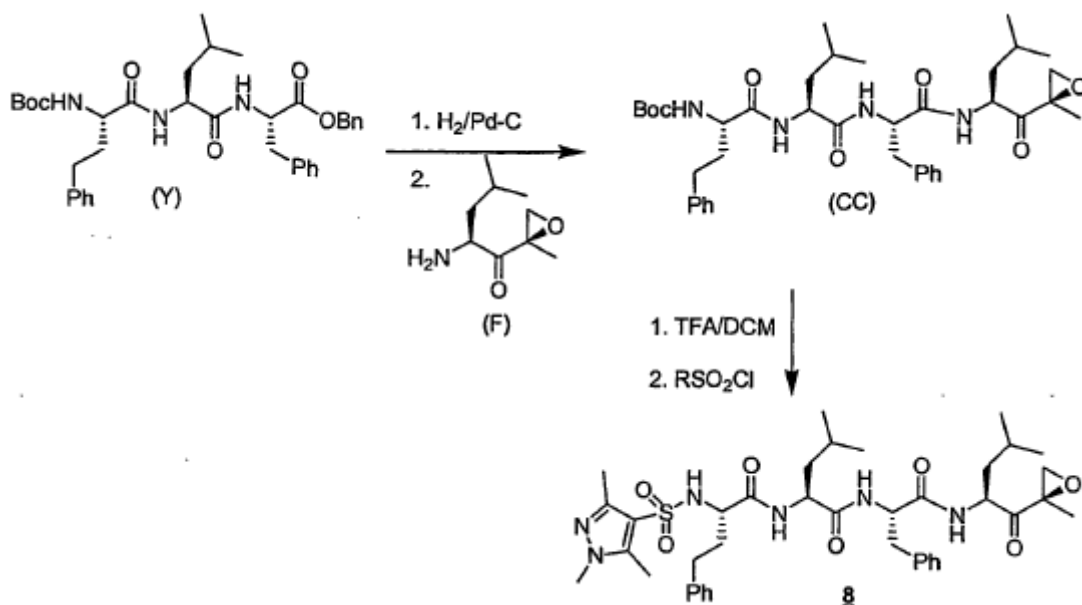
(BB) süntees

(AA) lahusele (30 mg, 0,041mmol) THF-s (2mL) lisati dimetüülamiini (1,2 ekviv., 0,05mmol, 2M THF-s, 25µL) ja DIEA-d (1 ekviv., 0,041mmol, 7,2µL). Mikstuuri segati öö jooksul toatemperatuuril ja kontsentreeriti kuivaks. Setet kõrgendati 10 etüülatsetaadis ning seda pesti veega ja soolveega, see kuivatati anhidroosel MgSO₄-l ning kontsentreeriti, et anda õlisaadus. Toores ester lahustati MeOH-s/EtOAc-s (1:1, 10mL) ja sellele lisati Pd-C-d (5%, 20mg) ning reaktsioonimikstuuri segati 2 h H₂ 1-s atmosfääris toatemperatuuril. Segu puhastati seejärel argooniga, 15 filtreeriti läbi tseliidi ning kontsentreeriti, et anda (BB) (21mg).

Ühendi 7 süntees

(F) segatud lahusele [vaata: *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1999, 9, 2283-88] (1,2 ekviv., 0,054mmol) DMF-is (3mL) lisati (BB) (1 ekviv., 0,045mmol, 21mg), DIEA-d (4 ekviv., 0,18mmol, 31µL) ja HOBT-d (1,6 ekviv., 0,072mmol, 10mg). Segu jahutati jäävannis temperatuurile 0 °C ning lisati mitu portsjonit PyBOP-d (1,6 ekviv., 0,072mmol, 37mg). Mikstuuri segati seejärel öö jooksul temperatuuril 5 °C lämmastiku keskkonnas. Reaktsiooni lahjendati seejärel küllastunud NaCl-ga ja ekstraktiti EtOAc-ga. Orgaanilist kihti pesti vee ja soolveega ning kuivatati anhidroosse MgSO₄-ga ja kontsentreeriti õliks, mis 25 puhastati kiirkromatograafiaga, et anda ühend **7** (16,7mg) (IC₅₀ 20S CT-L <50nM, rakupõhine CT-L <150 nM).

Skeem 8: näite 8 süntees (viide)

*(CC) süntees*

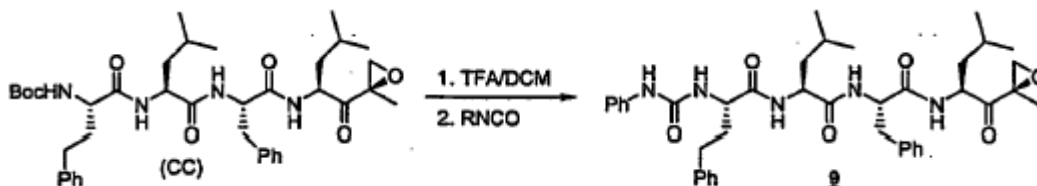
Ühend (Y) (1,55g, 0,0023mol) lahustati MeOH-s/EtOAc-s (1:1,40mL) ja lisati Pd-C-
 5 d (5%, 500mg). Mikstuuri segati 2 h toatemperatuuril vesiniku keskkonnas ning
 seejärel filtreeriti see läbi tseliidi ja kontsentreeriti, et saada karboksüülhappe
 vaheosaadus. (F) segatud lahusele [vaata: *Bioorganic & Medicinal Chemistry
 Letters*, 1999, 9, 2283-88] (1,2 ekviv., 2,55mmol, 436mg) DMF-is (50mL) lisati
 karboksüülhappe vaheosaadust (1 ekviv., 2,12mmol, 1,24g), DIEA-d (4 ekviv.,
 10 8,48mmol, 1,5mL) ja HOBT-d (1,6 ekviv., 3,39mmol, 458mg). Segu jahutati
 jäävannis temperatuurile 0 °C ning lisati mitu portsjonit PyBOP-d (1,6 ekviv.,
 3,39mmol, 1,76g). Mikstuuri segati öö jooksul temperatuuril 5 °C lämmastiku
 keskkonnas. Reaktsiooni lahjendati küllastunud NaCl-ga ja ekstraktiti EtOAc-ga.
 Orgaanilist kihti pesti vee ja soolveega ning kuivatati anhüdroosse MgSO_4 -ga ja
 15 kontsentreeriti õliks, mis puhastati kiirkromatograafiaga, et anda (CC) (356mg).

Ühendi 8 süntees

Ühend (CC) (23,6 mg, 0,034mmol) segati TFA/DCM-ga (80%) ning segati 1 h
 toatemperatuuril, mille jooksul segu kontsentreeriti ja pandi 2 tunniks
 kõrgvaakumisse, andes tetra-peptiidamiini TFA soola. TFA soola DCM lahusele
 20 lisati 1,3,5-trimetüül-1-H-pürasool-4-sulfonüülkloriidi (1,2 ekviv., 0,041mmol,

8,5mg) ja TEA-d (4 ekviv., 0,136mmol, 26 μ L) ja mikstuuri segati öö jooksul toatemperatuuril. Toores segu kontsentreeriti kuivaks ja setet kõrgendati EtOAc-s. Orgaanilist kihti pesti vee ja soolveega, kuivatati anhüdroosel MgSO₄-l ja kontsentreeriti õliks, mis puhastati kiirkromatograafiaga, et anda ühend **8** (2mg) (IC₅₀ 20S CT-L <100nM, rakupõhine CT-L <100nM).

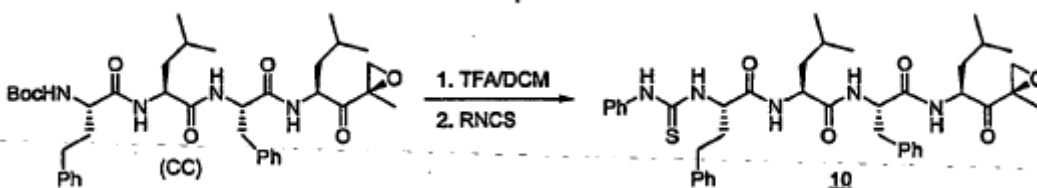
Skeem 9: näite 9 süntees (viide)



Ühendi **9** süntees

Ühend (CC) (63,7 mg, 0,092mmol) segati TFA/DCM-ga (80%) ning segati 1 h toatemperatuuril, mille jooksul segu kontsentreeriti ja pandi 2 tunniks kõrgvaakumisse, andes tetra-peptiidamiini TFA soola. TFA soola DCM lahusele lisati fenüül isotsüanaati (1,5 ekviv., 0,14mmol, 15 μ L) ja DIEA-d (3 ekviv., 0,276mmol, 50 μ L) ning mikstuuri segati öö jooksul toatemperatuuril. Toores segu kontsentreeriti kuivaks ja setet kõrgendati EtOAc-s. Orgaanilist kihti pesti vee ja soolveega, kuivatati anhüdroosel MgSO₄-l ja kontsentreeriti õliks, mis puhastati kiirkromatograafiaga, et anda ühend **9** (2,8mg).

Skeem 10: näite 10 süntees (viide)



Ühendi **10** süntees

Ühend (CC) (48,5 mg, 0,07mmol) segati TFA/DCM-ga (80%) ning segati 1 h toatemperatuuril, mille jooksul segu kontsentreeriti ja pandi 2 tunniks kõrgvaakumisse, andes tetra-peptiidamiini TFA soola. TFA soola DCM lahusele lisati fenüül isotsüanaati (1,5 ekviv., 0,105mmol, 20 μ L) ja DIEA-d (3 ekviv., 0,21mmol, 40 μ L) ning mikstuuri segati öö jooksul toatemperatuuril. Toores segu

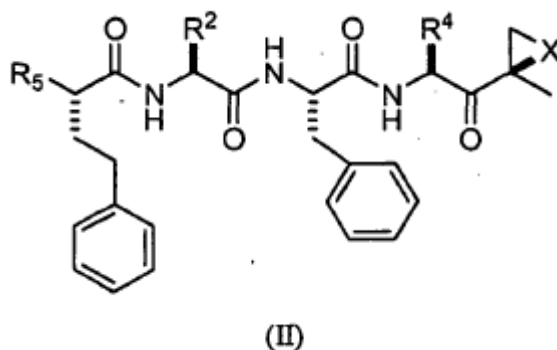
kontsentreeriti kuivaks ja setet kõrgendati EtOAc-s. Orgaanilist kihti pesti vee ja soolveega, kuivatati anhüdroosel $MgSO_4$ -l ja kontsentreeriti õliks, mis puhastati kiirkromatograafiaga, et anda ühend **10** (1mg).

Ekvivalendid

- 5 Antud valdkonnas pädevad isikud mõistavad või suudavad mitte muud kui tavaeksperimente kasutades tuvastada käesolevalt kirjeldatud kasutusmooduste mitmeid ekvivalente ühenditele ja meetoditele. Taolisi ekvivalente peetakse antud leituse raamesse kuuluvaks nii palju, kui on järgnevas patendinõudluses välja toodud.

Patendinõudlus

1. Ühend, millel on struktuur valemiga II või selle farmatseutiliselt sobiv sool,



kus

- 5 L puudub või valitakse C=O, C=S ja SO₂ seast, soovitatavalt L puudub või on C=O;
- Q puudub või valitakse O, NH ja N-C₁₋₆alküüli seast, soovitatavalt Q puudub, on O või NH, kõige soovitatavamalt Q puudub või on O;
- X on O;
- 10 R² ja R⁴ valitakse kumbki iseseisvana C₁₋₆alküüli, C₁₋₆hüdroksüalküüli, C₁₋₆alkoksüalküüli, arüüli ja C₁₋₆aralküüli seast, millest ükskõik milline asendatakse soovi korral ühe või mitme amiidi, amiini, karboksüülhappe (või selle soolaga), estri (sealhulgas C₁₋₅alküülester ja arüülester), tioli või tioestri asendajatega;
- 15 R⁵ on N(R⁶)LQLQR⁷;
- R⁶ valitakse vesiniku, OH ja C₁₋₆alküüli, eelistatavalt C₁₋₆alküüli hulgast;
- R⁷ valitakse (R⁸O)(R⁹O)P(=O)O-C₁₋₈alküül-, (R¹⁰)₂N-C₁₋₁₂alküüli-, (R¹⁰)₃N⁺-C₁₋₁₂alküüli-, heterotsükluüli- seast;
- 20 R⁸ ja R⁹ valitakse iseseisvana vesiniku, metalli katiooni, C₁₋₆alküüli, C₁₋₆alkenüüli, C₁₋₆alkünüüli, arüüli, heteroarüüli, C₁₋₆aralküüli ja C₁₋₆heteroaralküüli, soovitatavalt vesiniku, metalli katiooni ja C₁₋₆alküüli hulgast, või R⁸ ja R⁹ koos on C₁₋₆alküül, moodustades seega ringi;
- iga R¹⁰ valitakse iseseisvana vesiniku ja C₁₋₆alküüli, soovitatavalt C₁₋₆alküüli seast;

- kus termin „C_{x-y}alküül“ tähistab küllastunud süsivesiku rühmi, sealhulgas sirge ahelaga alküül- ja hargnenud ahelaga alküülrühmi, mis sisaldavad ahelas x kuni y süsinikku, sealhulgas haloalküülrühma, terminid „C_{2-y}alkenüül“ ja „C_{2-y}alkünüül“ tähistavad küllastumata alifaatilisi rühmi, mis sisaldavad ahelas 2 kuni y süsinikku,
- 5 sealhulgas halogeenitud rühmad, ja sisaldavad vähemalt ühte vastavalt kaksik- või kolmiksidet; termin „C₁₋₆aralküül“ tähistab arüülrühmaga asendatud C₁₋₆alküülrühma ning termin „arüül“ hõlmab polütsükilisi ringsüsteeme, millel on kaks või enam tsükli, kus kaks või mitu süsinikku on kahe kõrvuti asetseval ringil ühesugused ning vähemalt üks ringidest on aromaadne;
- 10 tingimusel, et kui R⁶ on H või CH₃ ja Q puudub, LR⁷ ei ole vesinik, asendamata C₁₋₆alküülC=O, aminohapete lisaahel, t-butoksükarbonüül (Boc), bensoüül (Bz), fluoreen-9-üülmetoksükarbonüül (Fmoc), trifenüülmetüül(tritüül), bensüüloksükarbonüül (Cbz), trikloroetoksükarbonüül (Troc); või asendatud või asendamata arüül või heteroarüül.
- 15 2. Ravimkoostis, mis **sisaldab** ühendit vastavalt punktile 1 ja farmatseutiliselt sobivat kandurit.
3. Ühend vastavalt punktile 1 kasutamiseks N-terminaalse nukleofiili hüdrolaasi inhibeerimises.
4. Ühend vastavalt punktile 1 kasutamiseks põletiku ravis.
- 20 5. Ühend vastavalt punktile 1 kasutamiseks HIV-nakkuse inhibeerimisel või vähendamisel.
6. Ühend vastavalt punktile 1 kasutamiseks neurodegeneratiivsete haiguste ravis.
7. Ühend vastavalt punktile 1 kasutamiseks muskulaarse düstroofia ravis.
8. Ühend vastavalt punktile 1 kasutamiseks vähi ravis.
- 25 9. Ühend vastavalt punktile 1 kasutamiseks krooniliste nakkushaiguste ravis.
10. Ühend vastavalt punktile 1 kasutamiseks palaviku ravis.

- 11.** Ühend vastavalt punktile 1 kasutamiseks immuunsusega seotud seisundite ravis.
- 12.** Ühend vastavalt punktile 1 kasutamiseks denervatsiooni või närvikahjustuse ravis.
- 5 **13.** Ühend vastavalt punktile 1 kasutamiseks patsiendil viirusliku geeni ekspressiooni mõjutamises.
- 14.** Ühend vastavalt punktile 1 kasutamiseks proteasoomi poolt tekitatud mitmete antigeeni peptiidide muutmisel organismis.