



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102099035 A

(43) 申请公布日 2011.06.15

(21) 申请号 200980127687.2

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009.05.14

A61K 31/437(2006.01)

(30) 优先权数据

61/053,947 2008.05.16 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011.01.14

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/043874 2009.05.14

(87) PCT申请的公布数据

W02009/140447 EN 2009.11.19

(71) 申请人 诺瓦提斯公司

地址 瑞士巴塞尔

申请人 达那-法伯癌症研究所

(72) 发明人 L·扎维尔 M·道甘 G·德拉诺夫

B·G·菲里斯通 C·S·斯特劳布

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 陈文平

权利要求书 6 页 说明书 31 页 附图 15 页

(54) 发明名称

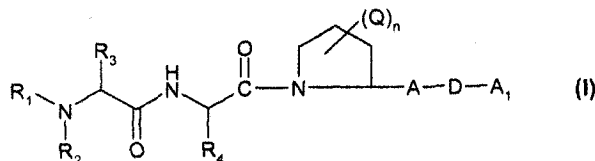
IAP 抑制剂的免疫调节

(57) 摘要

本发明涉及包含 IAP 抑制剂的免疫佐剂,包括 Smac 模拟物。本发明进一步提供包含 IAP 抑制剂和抗原的药物组合物和疫苗。还提供了通过施用 IAP 抑制剂增强免疫应答的方法,治疗或预防癌症的方法,治疗或预防感染的方法,治疗自身免疫疾病的方法和加强细胞因子和抗体生成的方法。

1. 一种免疫佐剂,其包含能够调节免疫活性的 IAP 抑制剂。

2. 根据权利要求 1 所述的免疫佐剂,其中所述 IAP 抑制剂是式 I 的化合物及其药学上可接受的盐、对映体、立体异构体、旋转异构体、互变异构体、非对映体或外消旋体:



其中  $R_1$  是 H、 $C_1-C_4$  烷基、 $C_2-C_4$  烯基、 $C_2-C_4$  炔基或  $C_3-C_{10}$  环烷基,其中  $R_1$  可以是未取代的或取代的;

$R_2$  是 H、 $C_1-C_4$  烷基、 $C_2-C_4$  烯基、 $C_2-C_4$  炔基或  $C_3-C_{10}$  环烷基,其中  $R_2$  可以是未取代的或取代的;

$R_3$  是 H、 $CF_3$ 、 $C_2F_5$ 、 $C_1-C_4$  烷基、 $C_2-C_4$  烯基、 $C_2-C_4$  炔基、 $CH_2-Z$ , 或

$R_2$  和  $R_3$  与它们所连接的氮原子共同形成杂环,

其中烷基、烯基、炔基或 het 环可以是未取代的或取代的;

Z 是 H、OH、F、Cl、 $CH_3$ 、 $CH_2Cl$ 、 $CH_2F$  或  $CH_2OH$ ;

$R_4$  是  $C_{1-10}$  烷基、 $C_{1-10}$  烯基、 $C_{1-10}$  炔基、 $C_3-C_{10}$  环烷基,其中所述  $C_{1-10}$  烷基或环烷基是未取代的或取代的;

A 是 het,其可以是取代的或未取代的;

D 是  $C_1-C_7$  亚烷基或  $C_2-C_9$  亚烯基、 $C(O)$ 、O、 $NR_7$ 、 $S(O)_r$ 、 $C(O)-C_1-C_{10}$  烷基、 $O-C_1-C_{10}$  烷基、 $S(O)_r-C_1-C_{10}$  烷基、 $C(O)C_0-C_{10}$  芳烷基、 $OC_0-C_{10}$  芳烷基或  $S(O)_rC_0-C_{10}$  芳烷基,

其中烷基和芳基可以是未取代的或取代的;

r 是 0、1 或 2;

$A_1$  是取代的或未取代的芳基或未取代的或取代的 het,其中芳基和 het 上的取代基是卤素、烷基、低级烷氧基、 $NR_5R_6$ 、CN、 $NO_2$  或  $SR_5$ ;

各 Q 独立地是 H、 $C_1-C_{10}$  烷基、 $C_1-C_{10}$  烷氧基、芳基  $C_1-C_{10}$  烷氧基、OH、 $O-C_1-C_{10}$  烷基、 $(CH_2)_{0-6}-C_3-C_7$  环烷基、芳基、芳基  $C_1-C_{10}$  烷基、 $O-(CH_2)_{0-6}$  芳基、 $(CH_2)_{1-6}$ het、het、 $O-(CH_2)_{1-6}$ het、 $-OR_{11}$ 、 $C(O)R_{11}$ 、 $-C(O)N(R_{11})(R_{12})$ 、 $N(R_{11})(R_{12})$ 、 $SR_{11}$ 、 $S(O)R_{11}$ 、 $S(O)_2R_{11}$ 、 $S(O)_2-N(R_{11})(R_{12})$  或  $NR_{11}-S(O)_2-(R_{12})$ ,其中烷基、环烷基和芳基是未取代的或取代的;

n 是 0、1、2 或 3、4、5、6 或 7;

$R_{11}$  和  $R_{12}$  独立地是 H、 $C_1-C_{10}$  烷基、 $(CH_2)_{0-6}-C_3-C_7$  环烷基、 $(CH_2)_{0-6}(CH)_{0-1}$ (芳基) $_{1-2}$ 、 $C(O)-C_1-C_{10}$  烷基、 $-C(O)-(CH_2)_{1-6}-C_3-C_7$  环烷基、 $-C(O)-O-(CH_2)_{0-6}$  芳基、 $-C(O)-(CH_2)_{0-6}-O-$  苄基、 $C(O)-NH-(CH_2)_{0-6}$  芳基、 $C(O)-(CH_2)_{0-6}$  芳基、 $C(O)-(CH_2)_{1-6}$ -het、 $-C(S)-C_1-C_{10}$  烷基、 $-C(S)-(CH_2)_{1-6}-C_3-C_7$  环烷基、 $-C(S)-O-(CH_2)_{0-6}$  芳基、 $-C(S)-(CH_2)_{0-6}-O-$  苄基、 $C(S)-NH-(CH_2)_{0-6}$  芳基、 $-C(S)-(CH_2)_{0-6}$  芳基或  $C(S)-(CH_2)_{1-6}$ -het、 $C(O)R_{15}$ 、 $C(O)NR_{15}R_{16}$ 、 $C(O)OR_{15}$ 、 $S(O)_mR_{15}$ 、 $S(O)_mNR_{15}R_{16}$ 、 $m = 1$  或  $2$ 、 $C(S)R_{15}$ 、 $C(S)NR_{15}R_{16}$ 、 $C(S)OR_{15}$ ,其中烷基、环烷基和芳基是未取代的或取代的;或  $R_{11}$  和  $R_{12}$  是促进分子跨细胞膜转运的取代基,或

$R_{11}$  和  $R_{12}$  与氮原子一起形成 het,

其中

$R_{11}$  和  $R_{12}$  的烷基取代基可以是未取代的或被选自以下的一个或多个取代基取代： $C_1$ - $C_{10}$  烷基、卤素、OH、 $O-C_1-C_6$  烷基、 $-S-C_1-C_6$  烷基、 $CF_3$  或  $NR_{15}R_{16}$ ；

$R_{11}$  和  $R_{12}$  的取代的环烷基取代基被选自以下的一个或多个取代基取代： $C_2$ - $C_{10}$  烯基； $C_1$ - $C_6$  烷基；卤素；OH； $O-C_1-C_6$  烷基； $S-C_1-C_6$  烷基； $CF_3$ ；或  $NR_{15}R_{16}$ ，并且

$R_{11}$  和  $R_{12}$  的取代的 het 或取代的芳基被一个或多个选自以下的取代基取代：卤素、羟基、 $C_1$ - $C_4$  烷基、 $C_1$ - $C_4$  烷氧基、硝基、 $CNO-C(O)-C_1-C_4$  烷基和  $C(O)-O-C_1-C_4$  烷基；

$R_5$ 、 $R_6$  和  $R_7$  独立地是氢、低级烷基、芳基、芳基低级烷基、环烷基、或环烷基低级烷基、 $C(O)R_{15}$ 、 $S(O)R_{15}$ 、 $C(O)OR_{15}$ 、 $C(O)NR_{15}R_{16}$ ；并且

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $Q$  和  $A$  和  $A_1$  基团上的取代基独立地是卤素、羟基、低级烷基、低级烯基、低级炔基、低级烷酰基、低级烷氧基、芳基、芳基低级烷基、氨基、氨基低级烷基、二低级烷基氨基、低级烷酰基、氨基低级烷氧基、硝基、氰基、氰基低级烷基、羧基、低级烷氧羰基、低级烷酰基、芳酰基、低级芳基烷酰基、氨基甲酰基、 $N$ -单-低级烷基氨基甲酰基或  $N$ 、 $N$ -二低级烷基氨基甲酰基、低级烷基氨基甲酸酯、脒基、胍基、脲基、硫基、磺基、低级烷硫基、磺氨基、磺酰胺、苯磺酰胺、磺酸酯、硫烷基低级烷基、芳基磺酰胺、卤素取代的芳基磺酸酯、低级烷基亚磺酰基、芳基亚磺酰基、芳基-低级烷基亚磺酰基、低级烷基芳基亚磺酰基、低级烷基磺酰基、芳基磺酰基、芳基-低级烷基磺酰基、低级芳基烷基低级烷基芳基磺酰基、卤代-低级烷基硫基、卤代-低级烷基磺酰基、膦酰基 ( $-P(=O)(OH)_2$ )、羟基-低级烷氧基磷酰基或二-低级烷氧基磷酰基、 $(R_9)NC(O)-NR_{10}R_{13}$ 、低级烷基氨基甲酸酯或氨基甲酸酯或  $-NR_8R_{14}$ ，

其中

$R_8$  和  $R_{14}$  可以是相同的或不同的并且独立地是 H 或低级烷基，或

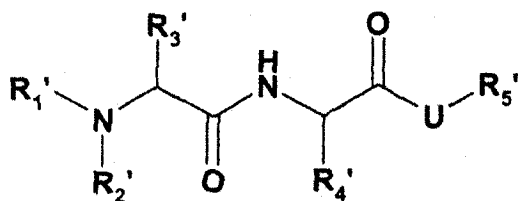
$R_8$  和  $R_{14}$  与 N 原子一起形成包含氮杂环原子的 3 至 8-元杂环，并且可以任选地包含选自氮、氧和硫的一个或两个其它杂环原子，其中杂环可以是未取代的或用低级烷基、卤素、低级烯基、低级炔基、羟基、低级烷氧基、硝基、氨基、低级烷基、氨基、二低级烷基氨基、氰基、羧基、低级烷氧羰基、甲酰基、低级烷酰基、氧代、氨基甲酰基、 $N$ -低级烷基氨基甲酰基或  $N$ 、 $N$ -二低级烷基氨基甲酰基、硫基或低级烷硫基取代的；

$R_9$ 、 $R_{10}$  和  $R_{13}$  独立地是氢、低级烷基、卤素取代的低级烷基、芳基、芳基低级烷基、卤素取代的芳基、卤素取代的芳基低级烷基；

其中  $R_{15}$  和  $R_{16}$  独立地是氢、低级烷基、芳基、芳基低级烷基、环烷基或环烷基低级烷基；并且

het 是包含选自 N、O 和 S 的 1-4 个杂环原子的 5 至 7-元单环杂环，或者是包括包含选自 N、O 和 S 的 1、2 或 3 个杂环原子的一个 5 至 7-元单环杂环的 8 至 12-元稠环系统，其中 het 是未取代的或取代的。

3. 根据权利要求 1 所述的免疫佐剂，其中所述 IAP 抑制剂是式 II 的化合物及其药学上可接受的盐、对映体、立体异构体、旋转异构体、互变异构体、非对映体或外消旋体：



(II)

其中

$R_1'$  是 H;

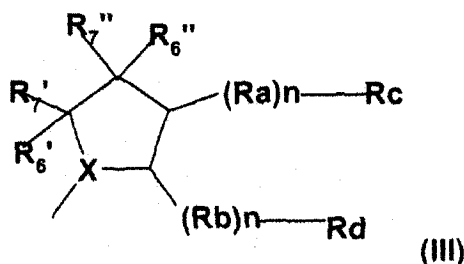
$R_2'$  是  $C_1-C_4$  烷基;其可以是未取代的或取代的;

$R_3'$  是  $C_1-C_4$  烷基;

$R_4'$  是  $-C_3-C_{10}$  环烷基;其可以是未取代的或取代的;

$R_5'$  是 H; $C_1-C_{10}$ -烷基;芳基;苯基; $C_3-C_7$  环烷基; $-(CH_2)_{1-6}-C_3-C_7$  环烷基; $-C_1-C_{10}$  烷基-芳基; $-(CH_2)_{0-6}-C_3-C_7$  环烷基- $-(CH_2)_{0-6}$ -苯基; $-(CH_2)_{0-4}CH-((CH_2)_{1-4}$ -苯基) $_2$ ; $-(CH_2)_{0-6}-CH$ (苯基) $_2$ ;-茛满基; $-C(O)-C_1-C_{10}$  烷基; $-C(O)-(CH_2)_{1-6}-C_3-C_7$ -环烷基; $-C(O)-(CH_2)_{0-6}$ -苯基; $-(CH_2)_{0-6}-C(O)$ -苯基; $-(CH_2)_{0-6}$ -het; $-C(O)-(CH_2)_{1-6}$ -het;或  $R_5'$  是氨基酸残基,其中烷基、环烷基、苯基和芳基取代基是未取代的或取代的;

U 如结构 III 所示:



其中

$R_5'$  被连接到 Rc 或 Rd;

各 n 独立地是 0-5;

X 是 C 或 N;

Ra 和 Rb 独立地是 O、S 或 N 原子或  $C_{0-8}$  烷基,其中烷基链中的一个或多个碳原子可以被选自 O、S 或 N 的杂原子取代,并且其中所述烷基可以是未取代的或取代的;

Rd 选自:

(a)  $-Re-Q-(Rf)_p(Rg)_q$ ;或

(b)  $Ar_1-D-Ar_2$ ;

Rc 是 H,或 Rc 和 Rd 可以一起形成环烷基或 het;其中如果 Rd 和 Rc 形成环烷基或 het, $R_5'$  通过 C 或 N 原子连接到所述形成的环;

p 和 q 独立地是 0 或 1;

Re 是  $C_{1-8}$  烷基或亚烷基,并且 Re 可以是未取代的或取代的;

Q 是 N、O、S、S(O) 或 S(O) $_2$ ;

$Ar_1$  和  $Ar_2$  是取代的或未取代的芳基或 het;

$Rf$  和  $Rg$  各自独立地是 H; $-C_1-C_{10}$  烷基; $C_1-C_{10}$  烷基芳基; $-OH$ ; $-O-C_1-C_{10}$  烷基; $-(CH_2)_{0-6}-C_3-C_7$  环烷基; $-O-(CH_2)_{0-6}$ -芳基;苯基;芳基;苯基-苯基; $-(CH_2)_{1-6}$ -het; $-O-(CH_2)_{1-6}$ -het; $-OR_{11}$ ; $-C(O)-R_{11}$ ; $-C(O)-N(R_{11})(R_{12})$ ; $-N(R_{11})(R_{12})$ ; $-S-R_{11}$ ; $-S(O)-R_{11}$ ; $-S(O)_2-R_{11}$ ; $-S(O)_2-NR_{11}R_{12}$ ; $-NR_{11}-S(O)_2-R_{12}$ ; $S-C_1-C_{10}$  烷基;芳基- $C_1-C_4$  烷基;het- $C_1-C_4$ -烷基,其中烷基、环烷基、het 和芳基是未取代的或取代的; $-SO_2-C_1-C_2$  烷基; $-SO_2-C_1-C_2$  烷基苯基; $-O-C_1-C_4$  烷基;或  $R_g$  和  $R_f$  形成选自 het 或芳基的环;

D 是  $-CO-$ ; $-C(O)-C_{1-7}$  亚烷基或亚芳基; $-CF_2$ ; $-O-$ ; $-S(O)_r$  其中 r 是 0-2;1,3-二氧

戊环；或  $C_{1-7}$  烷基 -OH；其中烷基、亚烷基或亚芳基可以是未取代的或用一个或多个卤素、OH、 $-O-C_1-C_6$  烷基、 $-S-C_1-C_6$  烷基或  $-CF_3$  取代的；或 D 是  $-N(R_x)-$  其中  $R_x$  是 H； $C_{1-7}$  烷基（未取代的或取代的）；芳基； $-O(C_{1-7}$  环烷基）（未取代的或取代的）； $C(O)-C_1-C_{10}$  烷基； $C(O)-C_0-C_{10}$  烷基 - 芳基； $C-O-C_1-C_{10}$  烷基； $C-O-C_0-C_{10}$  烷基 - 芳基或  $SO_2-C_1-C_{10}-$  烷基； $SO_2-(C_0-C_{10}-$  烷基芳基)；

$R_6''$ 、 $R_7''$ 、 $R_6'$  和  $R_7'$  各自独立地是 H； $-C_1-C_{10}$  烷基； $-C_1-C_{10}$  烷氧基；芳基  $-C_1-C_{10}$  烷氧基； $-OH$ ； $-O-C_1-C_{10}$  烷基； $-(CH_2)_{0-6}-C_3-C_7$  环烷基； $-O-(CH_2)_{0-6}-$  芳基；苯基； $-(CH_2)_{1-6}-het$ ； $-O-(CH_2)_{1-6}-het$ ； $-OR_{11}'$ ； $-C(O)-R_{11}'$ ； $-C(O)-N(R_{11}') (R_{12}')$ ； $-N(R_{11}') (R_{12}')$ ； $-S-R_{11}'$ ； $-S(O)-R_{11}'$ ； $-S(O)_2-R_{11}'$ ； $-S(O)_2-NR_{11}' R_{12}'$ ； $-NR_{11}' -S(O)_2-R_{12}'$ ；其中烷基、环烷基和芳基是未取代的或取代的；并且  $R_6''$ 、 $R_7''$ 、 $R_6'$  和  $R_7'$  可以联合形成环系统；

$R_{11}'$  和  $R_{12}'$  独立地是 H； $C_1-C_{10}$  烷基； $-(CH_2)_{0-6}-C_3-C_7$  环烷基； $-(CH_2)_{0-6}-(CH)_{0-1}$ （芳基） $_{1-2}$ ； $-C(O)-C_1-C_{10}$  烷基； $-C(O)-(CH_2)_{1-6}-C_3-C_7$  环烷基； $-C(O)-O-(CH_2)_{0-6}-$  芳基； $-C(O)-(CH_2)_{0-6}-O-$  苄基； $-C(O)-NH-(CH_2)_{0-6}-$  芳基； $-C(O)-(CH_2)_{0-6}-$  芳基； $-C(O)-(CH_2)_{1-6}-het$ ； $-C(S)-C_1-C_{10}$  烷基； $-C(S)-(CH_2)_{1-6}-C_3-C_7$  环烷基； $-C(S)-O-(CH_2)_{0-6}-$  芳基； $-C(S)-(CH_2)_{0-6}-O-$  苄基； $-C(S)-NH-(CH_2)_{0-6}-$  芳基； $-C(S)-(CH_2)_{0-6}-$  芳基； $-C(S)-(CH_2)_{1-6}-het$ ；其中烷基、环烷基和芳基是未取代的或取代的；或  $R_{11}'$  和  $R_{12}'$  是促进分子跨细胞膜转运的取代基；或  $R_{11}'$  和  $R_{12}'$  与氮原子一起形成 het；其中  $R_{11}'$  和  $R_{12}'$  的烷基取代基可以是未取代的或被选自  $C_1-C_{10}$  烷基、卤素、OH、 $-O-C_1-C_6$  烷基、 $-S-C_1-C_6$  烷基或  $-CF_3$  的一个或多个取代基取代；

$R_{11}'$  和  $R_{12}'$  的取代的环烷基取代基被一个或多个选自以下的取代基取代： $C_1-C_{10}$  烯基； $C_1-C_6$  烷基；卤素；OH； $-O-C_1-C_6$  烷基； $-S-C_1-C_6$  烷基或  $-CF_3$ ；

$R_{11}'$  和  $R_{12}'$  的取代的苯基或芳基被一个或多个选自以下的取代基取代：卤素；羟基； $C_1-C_4$  烷基； $C_1-C_4$  烷氧基；硝基； $-CN$ ； $-O-C(O)-C_1-C_4$  烷基和  $-C(O)-O-C_1-C_4-$  芳基；并且其中

het 是包含选自 N、O 和 S 的 1-4 个杂原子的 5-7 元杂环，或是包括包含选自 N、O 和 S 的 1、2 或 3 个杂原子的至少一个 5-7 元杂环的 8-12 元稠环系统，其中杂环或稠环系统在碳或氮原子上是未取代的或取代的。

4. 根据权利要求 1 所述的免疫佐剂，其中所述 IAP 抑制剂是 N-[1-环己基-2-氧代-2-(6-苯乙基-八氢-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺。

5. 一种药物组合物，其包括致免疫的量的抗原和包含 IAP 抑制剂的佐剂。

6. 根据权利要求 5 所述的药物组合物，其中所述 IAP 抑制剂是式 I 的化合物。

7. 根据权利要求 5 所述的药物组合物，其中所述 IAP 抑制剂是式 II 的化合物。

8. 根据权利要求 5 所述的药物组合物，其中所述 IAP 抑制剂是 N-[1-环己基-2-氧代-2-(6-苯乙基-八氢-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺。

9. 一种疫苗，其包括致免疫的量的抗原和包含 IAP 抑制剂的佐剂。

10. 根据权利要求 9 所述的疫苗，其中所述 IAP 抑制剂是式 I 的化合物。

11. 根据权利要求 9 所述的疫苗，其中所述 IAP 抑制剂是式 II 的化合物。

12. 根据权利要求 9 所述的疫苗，其中所述 IAP 抑制剂是 N-[1-环己基-2-氧代-2-(6-苯乙基-八氢-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺。

13. 一种增强受试者的免疫应答的方法，所述方法包括向所述受试者施用免疫增强量

的 IAP 抑制剂。

14. 根据权利要求 13 所述的方法,其中所述免疫应答是由选自以下的一种或多种免疫细胞类型介导的:树突细胞、B 细胞、T 细胞、NK 细胞、NKT 细胞、巨噬细胞、CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞。

15. 一种增强受试者对抗原的免疫应答的方法,其包括以下步骤:(a) 向所述受试者施用致免疫的量的抗原;和 (b) 施用免疫增强量的 IAP 抑制剂。

16. 根据权利要求 15 所述的方法,其中所述免疫应答是由选自以下的一种或多种免疫细胞类型介导的:树突细胞、B 细胞、T 细胞、NK 细胞、NKT 细胞、巨噬细胞、CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞。

17. 根据权利要求 15 所述的方法,其中顺序地施用所述抗原和所述 IAP 抑制剂。

18. 根据权利要求 15 所述的方法,其中同时施用所述抗原和所述 IAP 抑制剂。

19. 根据权利要求 15 所述的方法,其中所述抗原和所述 IAP 抑制剂作为单一组合物施用。

20. 根据权利要求 15 所述的方法,其中所述抗原是肿瘤抗原。

21. 根据权利要求 15 所述的方法,其中所述抗原包括病原体、减弱的病原体、或它们的部分。

22. 一种治疗受试者中的癌症的方法,其包括向需要其的受试者施用治疗有效量的 IAP 抑制剂和致免疫的量的抗原,其中所述 IAP 抑制剂和所述抗原的施用增强所述受试者对所述癌症的免疫应答。

23. 根据权利要求 22 所述的方法,其中所述癌症是实体瘤。

24. 根据权利要求 22 所述的方法,其中所述癌症是血液恶性肿瘤。

25. 根据权利要求 22 所述的方法,其中所述抗原包括癌细胞。

26. 根据权利要求 25 所述的方法,其中所述癌细胞获自所述受试者。

27. 根据权利要求 25 所述的方法,其中所述癌细胞是无增殖能力的。

28. 根据权利要求 22 所述的方法,其中顺序地施用所述抗原和所述 IAP 抑制剂。

29. 根据权利要求 22 所述的方法,其中同时施用所述抗原和所述 IAP 抑制剂。

30. 根据权利要求 22 所述的方法,其中所述抗原和所述 IAP 抑制剂作为单一组合物施用。

31. 一种治疗由感染原引起的感染的方法,其包括向需要其的受试者施用治疗有效量的 IAP 抑制剂和致免疫的量的抗原,其中所述 IAP 抑制剂和所述抗原的施用增强所述受试者对所述感染原的免疫应答。

32. 根据权利要求 31 所述的方法,其中所述感染原选自细菌、病毒、原生动物、真菌和寄生虫。

33. 根据权利要求 31 所述的方法,其中顺序地施用所述抗原和所述 IAP 抑制剂。

34. 根据权利要求 31 所述的方法,其中同时施用所述抗原和所述 IAP 抑制剂。

35. 根据权利要求 31 所述的方法,其中所述抗原和所述 IAP 抑制剂作为单一组合物施用。

36. 一种治疗受试者中的自身免疫疾病的方法,其包括向所述受试者施用包含 IAP 抑制剂的组合物,以治疗所述自身免疫疾病。

37. 一种增强激活的免疫细胞的免疫活性的方法,所述方法包括使激活的免疫细胞与 IAP 抑制剂接触。

38. 根据权利要求 37 所述的方法,其中所述免疫活性包括加强增殖。

39. 根据权利要求 38 所述的方法,其中所述激活的免疫细胞选自:树突细胞、B 细胞、T 细胞、NK 细胞、NKT 细胞、巨噬细胞、CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞。

40. 根据权利要求 37 所述的方法,其中所述免疫活性包括加强细胞因子的产生。

41. 根据权利要求 40 所述的方法,其中所述激活的免疫细胞选自:树突细胞、B 细胞、T 细胞、NK 细胞、NKT 细胞、巨噬细胞、CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞。

42. 根据权利要求 37 所述的方法,其中所述免疫活性包括加强抗体的产生。

43. 根据权利要求 42 所述的方法,其中所述激活的免疫细胞选自:B-细胞、浆细胞和杂交瘤细胞。

44. 根据权利要求 37-43 的任一项所述的方法,其中所述接触包括向受试者施用所述化合物。

45. 根据权利要求 13-44 的任一项所述的方法,其中所述 IAP 抑制剂是式 I 的化合物。

46. 根据权利要求 13-44 的任一项所述的方法,其中所述 IAP 抑制剂是式 II 的化合物。

47. 根据权利要求 45 所述的方法,其中所述 IAP 抑制剂是 N-[1-环己基-2-氧代-2-(6-苯乙基-八氢-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺。

48. 一种试剂盒,其包括:

(a) 包含 IAP 抑制剂和药学上可接受的载体的药物组合物;

(b) 包装所述药物组合物的包装材料;和

(c) 用于增强受试者的免疫应答的所述药物组合物的使用说明。

49. 根据权利要求 48 所述的试剂盒,其中所述使用说明显示将所述药物组合物与抗原一起向所述受试者施用。

50. 根据权利要求 49 所述的试剂盒,所述试剂盒还包含抗原。

51. 根据权利要求 48 所述的试剂盒,其中所述试剂盒包含用于在需要其的受试者的癌症治疗中使用所述药物组合物的使用说明。

52. 根据权利要求 48-51 之一所述的试剂盒,其中所述 IAP 抑制剂是式 I 的化合物。

53. 根据权利要求 48-51 之一所述的试剂盒,其中所述 IAP 抑制剂是式 II 的化合物。

54. 根据权利要求 52 所述的试剂盒,其中所述 IAP 抑制剂是 N-[1-环己基-2-氧代-2-(6-苯乙基-八氢-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺。

## IAP 抑制剂的免疫调节

[0001] 发明背景

[0002] 免疫是通过施用抗原物质（例如，疫苗）以产生免疫应答或人工增强免疫应答的过程。一个经常遇到的问题是：用于免疫的许多抗原的免疫原性不足以产生足够提供对抗未来攻击的保护的抗体效价。在诱导细胞介导的免疫中，弱抗原也可能是不足的。

[0003] 为了加强针对抗原的体液和 / 或细胞免疫应答，通常与佐剂一起联合施用抗原。佐剂是增强针对抗原的免疫应答的物质。佐剂与抗原的共同施用可以使个体对当不存在佐剂时不会对其应答的抗原产生应答。常用的佐剂包括弗氏佐剂、钥孔血蓝蛋白 (Keyhole Limpet Hemocyanin, KLH) 和粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)。尽管已知的佐剂具有免疫增强性质，这些佐剂仍然不足以在受试者中诱导针对许多临床上重要的抗原（例如，肿瘤相关抗原）的免疫应答。

[0004] 因而，需要新的佐剂组合物。

[0005] 发明概述

[0006] 本发明涉及具有提高的致免疫的性质的佐剂。这些免疫佐剂能够广泛地增强免疫细胞的激活。在至少一种实施方式中，本发明涉及意料不到的发现：IAP（凋亡抑制剂）蛋白家族的抑制剂作为能够在不同的免疫细胞系中增强与生理学有关的激活信号的强效免疫佐剂而起作用。因而，在第一方面，本发明的特征是包含能够调节免疫活性的 IAP 抑制剂的免疫佐剂。在一种实施方式中，IAP 抑制剂是式 I 的化合物。在另一实施方式中，IAP 抑制剂是式 II 的化合物。在示例性实施方式中，IAP 抑制剂是 (N-[1- 环己基 -2- 氧代 -2-(6- 苯乙基 - 八氢 - 吡咯并 [2,3-c] 吡啶 -1- 基) - 乙基] -2- 甲基氨基 - 丙酰胺)。

[0007] 在另一方面，本发明的特征是包含致免疫的量的抗原和佐剂的药物组合物，其中佐剂包含 IAP 抑制剂。在相关的方面，本发明的特征是包含致免疫的量的抗原和佐剂的疫苗，其中佐剂包含 IAP 抑制剂。在这些方面的一种实施方式中，IAP 抑制剂是式 I 的化合物。在这些方面的另一实施方式中，IAP 抑制剂是式 II 的化合物。在示例性实施方式中，IAP 抑制剂是 N-[1- 环己基 -2- 氧代 -2-(6- 苯乙基 - 八氢 - 吡咯并 [2,3-c] 吡啶 -1- 基) - 乙基] -2- 甲基氨基 - 丙酰胺。

[0008] 本发明另外的特征是通过向受试者施用免疫增强量的 IAP 抑制剂来增强受试者的免疫应答的方法。在优选的实施方式中，IAP 抑制剂的免疫增强量是治疗有效量。在一种实施方式中，免疫应答是由选自以下的一种或多种免疫细胞类型介导的：树突细胞、B 细胞、T 细胞（例如，CD4+T 细胞、CD8+T 细胞、NKT 细胞等）、NK 细胞和巨噬细胞。在另一方面，本文提供了 IAP 抑制剂用于制备增强受试者中的免疫应答的药物中的用途。

[0009] 在相关的方面，本发明的特征是增强受试者对抗原的免疫应答的方法，包括以下步骤：(a) 向受试者施用致免疫的量的抗原；和 (b) 施用免疫增强量的 IAP 抑制剂。在一种实施方式中，免疫应答是由选自以下的一种或多种免疫细胞类型介导的：树突细胞、B 细胞、T 细胞（例如，CD4+T 细胞、CD8+T 细胞和 NKT 细胞）、NK 细胞和巨噬细胞。在这一方面的另一实施方式中，顺序地施用抗原和 IAP 抑制剂。在可选的实施方式中，同时施用抗原和 IAP 抑制剂。抗原和 IAP 抑制剂可以作为单一组合物或作为分别的组合物被施用。在另一

实施方式中,抗原是肿瘤源性抗原或肿瘤抗原。在另一实施方式中,抗原包括病原体、减弱的病原体或其部分。在另一实施方式中,抗原包括哺乳动物抗原、植物抗原、病毒抗原、细菌抗原或真菌抗原。在一种实施方式中,抗原是多肽分子。在一种实施方式中,抗原是核酸分子。在又一方面,本文提供了 IAP 抑制剂用于制备增强受试者对抗原的免疫应答的药物中的用途。

[0010] 本发明另外的特征是治疗受试者中的癌症的方法,该方法包括向需要其的受试者施用治疗有效量的 IAP 抑制剂和致免疫的量的抗原,其中 IAP 抑制剂和抗原的施用增强受试者对癌症的免疫应答。在一种实施方式中,癌症是实体瘤。在另一实施方式中,癌症是血液恶性肿瘤。在一种实施方式中,抗原包括癌细胞。在示例性实施方式中,癌细胞获自受试者。在另一示例性实施方式中,癌细胞是无增殖能力的。在这一方面的一种实施方式中,顺序地施用抗原和 IAP 抑制剂。在可选的实施方式中,同时施用抗原和 IAP 抑制剂。抗原和 IAP 抑制剂可以作为单一组合物或作为分别的组合物被施用。在又一方面,本文提供了 IAP 抑制剂用于制备治疗受试者中的癌症的药物中的用途。

[0011] 在另一实施方式中,本发明的特征是治疗由感染原引起的感染的方法,该方法包括向需要其的受试者施用治疗有效量的 IAP 抑制剂和致免疫的量的抗原,其中所述 IAP 抑制剂和所述抗原的施用增强受试者对感染原的免疫应答。在一种实施方式中,感染原选自细菌、病毒、原生动物、真菌和寄生虫。在另一实施方式中,顺序地施用抗原和 IAP 抑制剂。在可选的实施方式中,同时施用抗原和 IAP 抑制剂。抗原和 IAP 抑制剂可以作为单一组合物或作为分别的组合物被施用。在又一方面,本文提供了 IAP 抑制剂用于制备治疗受试者中的感染的药物中的用途。

[0012] 本发明另外的特征是治疗受试者中的自身免疫疾病的方法,该方法包括向受试者施用包含 IAP 抑制剂的组合物,以治疗自身免疫疾病。在这一方面的一种实施方式中,自身免疫疾病是反应性关节炎或与 HIV 相关的自身免疫。在又一方面,本文提供了 IAP 抑制剂用于制备治疗受试者中的自身免疫疾病的药物中的用途。

[0013] 在另一方面,本发明的特征是增强激活的免疫细胞的免疫活性的方法,包括使激活的免疫细胞与 IAP 抑制剂接触。在一种实施方式中,免疫活性包括增强增殖。在另一种实施方式中,免疫活性包括增强细胞因子的产生。在这些实施方式的一个方面,激活的免疫细胞选自:树突细胞、B 细胞、T 细胞(例如,CD4+T 细胞、CD8+T 细胞和 NKT 细胞)、NK 细胞和巨噬细胞。在另一实施方式中,免疫活性包括增强抗体的产生。在这一实施方式的一个方面,激活的免疫细胞选自:B- 细胞、浆细胞和杂交瘤细胞。在一种实施方式中,使激活的免疫细胞与 IAP 抑制剂接触包括向受试者施用 IAP 抑制剂。在又一方面,本文提供了 IAP 抑制剂用于制备增强激活的免疫细胞的免疫活性的药物中的用途。

[0014] 在本发明各前述方面的一种实施方式中,IAP 抑制剂是式 I 或式 II 的化合物。在本发明各前述方面的另一实施方式中,IAP 抑制剂是式 II 的化合物。在示例性实施方式中,IAP 抑制剂是 N-[1-环己基-2-氧代-2-(6-苯乙基-八氢-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺。

[0015] 本发明还提供包含 IAP 抑制剂的试剂盒。在一方面,本发明的特征是包含以下组分的试剂盒:(a) 包含 IAP 抑制剂和药学上可接受的载体的药物组合物;(b) 包装所述药物组合物的包装材料;和(c) 用于增强受试者的免疫应答的所述药物组合物的使用说明。在

一种实施方式中,该使用说明显示将药物组合物与抗原一起向受试者施用。在另一实施方式中,试剂盒还包括抗原。在一种实施方式中,试剂盒包含在需要其的受试者的癌症治疗中使用所述药物组合物的使用说明。在这一方面的示例性实施方式中,IAP 抑制剂是式 I 或式 II 的化合物。在另一示例性实施方式中,IAP 抑制剂是 (N-[1-环己基-2-氧代-2-(6-苯乙基-八氢-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺)。

[0016] 附图简述

[0017] 图 1 描述了表明通过用 IAP 抑制剂的治疗来阻断在胚胎胸腺器官培养 (FTOC) 中 NKT 细胞发育的数据。

[0018] 图 2 描述了表明抑制 IAP 家族成员不致敏成熟的 CD4+T 细胞发生凋亡的数据。

[0019] 图 3 描述了表明抑制 IAP 家族成员增强了来自激活的 T 细胞的细胞因子的分泌的数据。

[0020] 图 4 描述了表明由 IAP 家族成员的抑制引起的来自激活的 T 细胞的增强的细胞因子的分泌是非 NKT 细胞依赖性的数据。

[0021] 图 5 描述了表明来自激活的 CD8+T 细胞的细胞因子的产生被 IAP 的抑制增大的数据。

[0022] 图 6 描述了表明人 CD4+T 细胞对 IAP 抑制剂应答的数据。

[0023] 图 7 描述了表明在 T 细胞激活过程中对 IAP 家族成员的抑制导致通过 JNK 和 NF- $\kappa$ B 途径的信号传导增强的数据。

[0024] 图 8 描述了表明 IAP 抑制剂广泛地增强免疫细胞激活的数据。

[0025] 图 9 描述了表明对 IAP 家族成员的抑制增强同种异体反应性 (allo-reactivity) 的数据。

[0026] 图 10 描述了表明 IAP 抑制在再受激的 (restimulated) 同种异体反应性 T 细胞中被快速逆转的数据。

[0027] 图 11 描述了表明刺激后在 CD4+T 细胞中 SMAC 结合蛋白 MLIAP 的过表达导致 IL-2 的产生减少的数据。

[0028] 图 12 描述了表明 XIAP 敲除 (knockout) (KO) 的 T 细胞是耐 SMAC 模拟物治疗的数据。

[0029] 图 13 描述了表明接种之后 IAP 抑制剂在体内增强免疫激活且提高保护性免疫的数据。

[0030] 发明详述

[0031] 本发明至少部分基于出人意料的发现: IAP 抑制剂作为能够增强不同的免疫细胞系中生理学相关的激活信号的强效免疫佐剂起作用。这些化合物不改变静息免疫细胞的功能,但在刺激的情况下确实增强免疫细胞的激活。这种激活被例如增加的扩增和细胞因子的产生所证实。IAP 抑制剂的这一性质使这些化合物成为用于促进免疫的理想试剂,具有大量的临床应用。

[0032] 在以下小节中更详细地描述本发明的各个方面。除非另外定义,否则本文使用的所有技术术语和科学术语具有本发明所属领域普通技术人员通常理解的含义。在矛盾的情况下,以本说明书,包括定义,为准。尽管类似于或等同于本文描述的那些方法和材料的方法和材料可用于实施本发明,下面描述了合适的方法和材料的实例。本文描述的材料、方法

和实例仅是说明性的并非意图限制本发明。本文中提到的所有出版物、专利申请、专利和其它参考文献通过引用方式结合在本文中。

### [0033] I. IAP 抑制剂

[0034] 凋亡（即程序性细胞死亡过程）是由一系列分子事件紧密配合。凋亡性细胞死亡的主要效应物是胱天蛋白酶（caspase），它是优先剪切与天冬氨酸残基邻接的靶肽的半胱氨酸蛋白酶家族。在非凋亡细胞中，胱天蛋白酶被保持在不活跃状态。促凋亡刺激物触发分级的胱天蛋白酶级联的激活，从而导致细胞必需蛋白质的蛋白水解剪切和最终的细胞死亡。

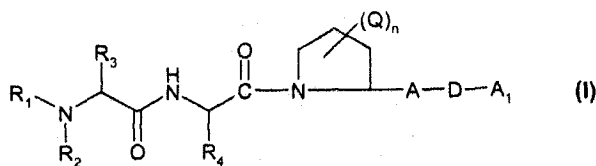
[0035] 胱天蛋白酶的激活由许多细胞因子严格控制。IAP（凋亡抑制剂）蛋白家族的成员直接结合胱天蛋白酶，并且这一结合抑制胱天蛋白酶的活性。与胱天蛋白酶的结合由 IAP BIR（杆状病毒 IAP 重复）结构域介导，该域对于 IAP 的抗凋亡活性是必需的。IAP 家族包含原型家族成员 XIAP、cIAP-1 和 cIAP-2，且还包括，例如，NAIP（神经元凋亡抑制蛋白）、ML-IAP（黑素瘤 IAP）、ILP-2（IAP-样蛋白 2）和 Op-IAP（杆状病毒 IAP）。

[0036] 已经鉴定了许多通过抑制 IAP 的活性进一步介导凋亡途径的因子。其中最突出的是 Smac（胱天蛋白酶的另一线粒体激活剂）和鼠 Smac 直系同源性 DIABLO（具有较低 pI 的 IAP 直接结合蛋白），其局限于线粒体中并且响应于凋亡刺激物被释放到胞质溶胶中。Smac/DIABLO 通过直接结合 IAP 并妨碍 IAP 与胱天蛋白酶的相互作用来抑制 IAP 蛋白的活性。IAP 家族成员在多种类型的癌症中被过量表达的发现致使研究者推测：IAP 抑制剂可以作为抗癌剂通过在癌细胞中促进促凋亡信号传导而具有临床意义。本发明至少部分基于料想不到的发现：IAP 抑制剂另外用作能够增强免疫应答的免疫佐剂。

[0037] 包括 Smac 模拟物在内的许多 IAP 抑制剂已经被开发，其同样与 IAP 相互作用并抑制它们的活性。因而，“IAP 抑制剂”是指抑制 IAP 家族成员活性的任何化合物。这样的化合物可以包括，例如，小分子、多肽（即，Smac 模拟肽）、靶向 IAP 蛋白的 RNA 干扰分子（例如，siRNA 或反义 RNA），以及抗-IAP 抗体。

[0038] 在具体实施方式中，本发明的 IAP 抑制剂是式 I 的化合物及其药学上可接受的盐、对映体、立体异构体、旋转异构体、互变异构体、非对映体或外消旋体：

[0039]



[0040] 其中

[0041]  $R_1$  是 H、 $C_1-C_4$  烷基、 $C_2-C_4$  烯基、 $C_2-C_4$  炔基或  $C_3-C_{10}$  环烷基，其中  $R_1$  可以是未取代的或取代的；

[0042]  $R_2$  是 H、 $C_1-C_4$  烷基、 $C_2-C_4$  烯基、 $C_2-C_4$  炔基、 $C_3-C_{10}$  环烷基，其中  $R_2$  可以是未取代的或取代的；

[0043]  $R_3$  是 H、 $CF_3$ 、 $C_2F_5$ 、 $C_1-C_4$  烷基、 $C_2-C_4$  烯基、 $C_2-C_4$  炔基、 $CH_2-Z$ ，或

[0044]  $R_2$  和  $R_3$  与它们所连接的氮原子共同形成杂环，

[0045] 其中烷基、烯基、炔基或 het 环可以是未取代的或取代的；

- [0046] Z 是 H、OH、F、Cl、CH<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>Cl、CH<sub>2</sub>F 或 CH<sub>2</sub>OH；
- [0047] R<sub>4</sub> 是 C<sub>1-10</sub> 烷基、C<sub>1-10</sub> 烯基、C<sub>1-10</sub> 炔基、C<sub>3-10</sub> 环烷基，其中 C<sub>1-10</sub> 烷基或环烷基是未取代的或取代的；
- [0048] A 是 het，其可以是取代的或未取代的；
- [0049] D 是 C<sub>1-7</sub> 亚烷基或 C<sub>2-9</sub> 亚烯基、C(O)、O、NR<sub>7</sub>、S(O)<sub>r</sub>、C(O)-C<sub>1-10</sub> 烷基、O-C<sub>1-10</sub> 烷基、S(O)<sub>r</sub>-C<sub>1-10</sub> 烷基、C(O)C<sub>0-10</sub> 芳烷基、OC<sub>0-10</sub> 芳烷基或 S(O)<sub>r</sub>C<sub>0-10</sub> 芳烷基，
- [0050] 其中烷基和芳基可以是未取代的或取代的；
- [0051] r 是 0、1 或 2；
- [0052] A<sub>1</sub> 是取代的或未取代的芳基或未取代的或取代的 het，其中芳基和 het 上的取代基是卤素、烷基、低级烷氧基、NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>、CN、NO<sub>2</sub> 或 SR<sub>5</sub>；
- [0053] 各 Q 独立地是 H、C<sub>1-10</sub> 烷基、C<sub>1-10</sub> 烷氧基、芳基 C<sub>1-10</sub> 烷氧基、OH、O-C<sub>1-10</sub> 烷基、(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-C<sub>3-7</sub> 环烷基、芳基、芳基 C<sub>1-10</sub> 烷基、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub> 芳基、(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>het、het、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>het、-OR<sub>11</sub>、C(O)R<sub>11</sub>、-C(O)N(R<sub>11</sub>)(R<sub>12</sub>)、N(R<sub>11</sub>)(R<sub>12</sub>)、SR<sub>11</sub>、S(O)R<sub>11</sub>、S(O)<sub>2</sub>R<sub>11</sub>、S(O)<sub>2</sub>-N(R<sub>11</sub>)(R<sub>12</sub>) 或 NR<sub>11</sub>-S(O)<sub>2</sub>-(R<sub>12</sub>)，其中烷基、环烷基和芳基是未取代的或取代的；
- [0054] n 是 0、1、2 或 3、4、5、6 或 7；
- [0055] R<sub>11</sub> 和 R<sub>12</sub> 独立地是 H、C<sub>1-10</sub> 烷基、(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-C<sub>3-7</sub> 环烷基、(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>(CH)<sub>0-1</sub>(芳基)<sub>1-2</sub>、C(O)-C<sub>1-10</sub> 烷基、-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-C<sub>3-7</sub> 环烷基、-C(O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub> 芳基、-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-O-苄基、C(O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub> 芳基、C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub> 芳基、C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-het、-C(S)-C<sub>1-10</sub> 烷基、-C(S)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-C<sub>3-7</sub> 环烷基、-C(S)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub> 芳基、-C(S)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-O-苄基、C(S)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub> 芳基、-C(S)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub> 芳基或 C(S)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-het、C(O)R<sub>15</sub>、C(O)NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>、C(O)OR<sub>15</sub>、S(O)<sub>m</sub>R<sub>15</sub>、S(O)<sub>m</sub>NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>、m = 1 或 2、C(S)R<sub>15</sub>、C(S)NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>、C(S)OR<sub>15</sub>，其中烷基、环烷基和芳基是未取代的或取代的；或 R<sub>11</sub> 和 R<sub>12</sub> 是促进分子跨细胞膜转运的取代基，或
- [0056] R<sub>11</sub> 和 R<sub>12</sub> 与氮原子一起形成 het，
- [0057] 其中
- [0058] R<sub>11</sub> 和 R<sub>12</sub> 的烷基取代基可以是未取代的或被选自以下的一个或多个取代基取代：C<sub>1-10</sub> 烷基、卤素、OH、O-C<sub>1-6</sub> 烷基、-S-C<sub>1-6</sub> 烷基、CF<sub>3</sub> 或 NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>；
- [0059] R<sub>11</sub> 和 R<sub>12</sub> 的取代的环烷基取代基被选自以下的一个或多个取代基取代：C<sub>2-10</sub> 烯基；C<sub>1-6</sub> 烷基；卤素；OH；O-C<sub>1-6</sub> 烷基；S-C<sub>1-6</sub> 烷基；CF<sub>3</sub>；或 NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub> 并且
- [0060] R<sub>11</sub> 和 R<sub>12</sub> 的取代的 het 或取代的芳基被一个或多个选自以下的取代基取代：卤素、羟基、C<sub>1-4</sub> 烷基、C<sub>1-4</sub> 烷氧基、硝基、CNO-C(O)-C<sub>1-4</sub> 烷基和 C(O)-O-C<sub>1-4</sub> 烷基；
- [0061] R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub> 和 R<sub>7</sub> 独立地是氢、低级烷基、芳基、芳基低级烷基、环烷基或环烷基低级烷基、C(O)R<sub>15</sub>、S(O)R<sub>15</sub>、C(O)OR<sub>15</sub>、C(O)NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>；并且
- [0062] R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、Q 和 A 和 A<sub>1</sub> 基团上的取代基独立地是卤素、羟基、低级烷基、低级烯基、低级炔基、低级烷酰基、低级烷氧基、芳基、芳基低级烷基、氨基、氨基低级烷基、二低级烷基氨基、低级烷酰基、氨基低级烷氧基、硝基、氰基、氰基低级烷基、羧基、低级烷氧羰基、低级烷酰基、芳酰基 (aryloyl)、低级芳基烷酰基、氨基甲酰基、N-单-低级烷基氨基甲酰基或 N、N-二低级烷基氨基甲酰基、低级烷基氨基甲酸酯、脒基、胍基、脲基、磺基、磺基、低级烷硫基、磺氨基、磺酰胺 (sulfonamide)、苯磺酰胺、磺酸酯、硫烷基 (sulfanyl) 低级烷基、芳基磺酰

胺、卤素取代的芳基磺酸酯、低级烷基亚磺酰基、芳基亚磺酰基、芳基-低级烷基亚磺酰基、低级烷基芳基亚磺酰基、低级烷基磺酰基、芳基磺酰基、芳基-低级烷基磺酰基、低级芳基烷基低级烷基芳基磺酰基、卤素-低级烷基巯基、卤素-低级烷基磺酰基、膦酰基(-P(=O)(OH)<sub>2</sub>)、羟基-低级烷氧基磷酰基或二-低级烷氧基磷酰基、(R<sub>9</sub>)NC(O)-NR<sub>10</sub>R<sub>13</sub>、低级烷基氨基甲酸酯或氨基甲酸酯或-NR<sub>8</sub>R<sub>14</sub>,

[0063] 其中

[0064] R<sub>8</sub> 和 R<sub>14</sub> 可以是相同的或不同的且独立地是 H 或低级烷基, 或

[0065] R<sub>8</sub> 和 R<sub>14</sub> 与 N 原子一起形成包含氮杂环原子的 3 至 8- 元杂环且可以任选地包含选自氮、氧和硫的一个或两个其它杂环原子, 其中杂环可以是未取代的或用低级烷基、卤素、低级烯基、低级炔基、羟基、低级烷氧基、硝基、氨基、低级烷基、氨基、二低级烷基氨基、氰基、羧基、低级烷氧羰基、甲酰基、低级烷酰基、氧代、氨基甲酰基(carbarmoyl)、N-低级烷基氨基甲酰基或 N, N-二低级烷基氨基甲酰基、巯基或低级烷硫基取代的;

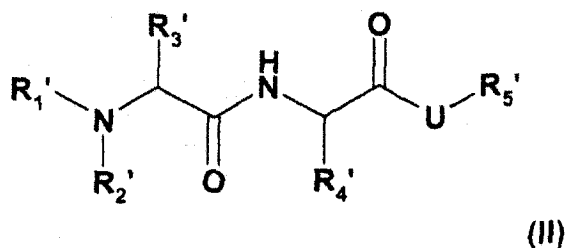
[0066] R<sub>9</sub>、R<sub>10</sub> 和 R<sub>13</sub> 独立地是氢、低级烷基、卤素取代的低级烷基、芳基、芳基低级烷基、卤素取代的芳基、卤素取代的芳基低级烷基,

[0067] R<sub>15</sub> 和 R<sub>16</sub> 独立地是氢、低级烷基、芳基、芳基低级烷基、环烷基或环烷基低级烷基, 并且

[0068] het 是包含选自 N、O 和 S 的 1-4 个杂环原子的 5 至 7- 元单环杂环, 或是包括包含选自 N、O 和 S 的 1、2 或 3 个杂环原子的一个 5 至 7- 元单环杂环的 8 至 12- 元稠环系统, 其中 het 是未取代的或取代的。

[0069] 在另一实施方式中, IAP 抑制剂是式 II 的化合物及其药学上可接受的盐、对映体、立体异构体、旋转异构体、互变异构体、非对映体或外消旋体:

[0070]



[0071] 其中 R<sub>1</sub>' 是 H;

[0072] R<sub>2</sub>' 是 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷基;其可以是未取代的或取代的;

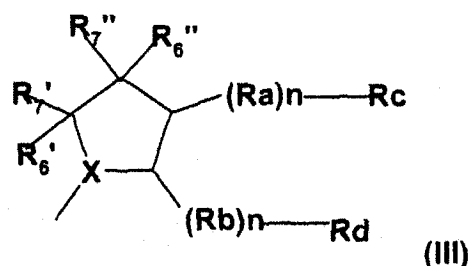
[0073] R<sub>3</sub>' 是 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷基;

[0074] R<sub>4</sub>' 是 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 环烷基;其可以是未取代的或取代的;

[0075] R<sub>5</sub>' 是 H;C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>- 烷基;芳基;苯基;C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub> 环烷基;-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub> 环烷基; -C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基-芳基;-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub> 环烷基-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-苯基;-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>CH-((CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-苯基)<sub>2</sub>;-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-CH(苯基)<sub>2</sub>; - 茛满基; -C(O)-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基; -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub> 环烷基; -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-苯基; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-C(O)-苯基; -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-het; -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-het; 或 R<sub>5</sub>' 是氨基酸残基, 其中烷基、环烷基、苯基和芳基取代基是未取代的或取代的;

[0076] U 如结构 III 所示:

[0077]



[0078] 其中

[0079]  $R_5'$  被连接到 Rc 或 Rd ;

[0080] 各 n 独立地是 0-5 ;

[0081] X 是 C 或 N ;

[0082] Ra 和 Rb 独立地是 O、S 或 N 原子或  $C_{0-8}$  烷基, 其中烷基链中的一个或多个碳原子可以用选自 O、S 或 N 的杂原子取代, 且其中烷基可以是未取代的或取代的 ;

[0083] Rd 选自 :

[0084] (a)  $-Re-Q-(Rf)_p(Rg)_q$  ; 或

[0085] (b)  $Ar_1-D-Ar_2$  ;

[0086] Rc 是 H, 或 Rc 和 Rd 可以一起形成环烷基或 het ; 其中如果 Rd 和 Rc 形成环烷基或 het,  $R_5'$  通过 C 或 N 原子连接到该形成的环 ;

[0087] p 和 q 独立地是 0 或 1 ;

[0088] Re 是  $C_{1-8}$  烷基或亚烷基 (alkylidene), 且 Re 可以是未取代的或取代的 ;

[0089] Q 是 N、O、S、S(O) 或  $S(O)_2$  ;

[0090]  $Ar_1$  和  $Ar_2$  是取代的或未取代的芳基或 het ;

[0091] Rf 和 Rg 各自独立地是 H ;  $-C_1-C_{10}$  烷基 ;  $C_1-C_{10}$  烷基芳基 ; -OH ;  $-O-C_1-C_{10}$  烷基 ;  $-(CH_2)_{0-6}-C_3-C_7$  环烷基 ;  $-O-(CH_2)_{0-6}$  芳基 ; 苯基 ; 芳基 ; 苯基-苯基 ;  $-(CH_2)_{1-6}$ -het ;  $-O-(CH_2)_{1-6}$ -het ;  $-OR_{11}$  ;  $-C(O)-R_{11}$  ;  $-C(O)-N(R_{11})(R_{12})$  ;  $-N(R_{11})(R_{12})$  ;  $-S-R_{11}$  ;  $-S(O)-R_{11}$  ;  $-S(O)_2-R_{11}$  ;  $-S(O)_2-NR_{11}R_{12}$  ;  $-NR_{11}-S(O)_2-R_{12}$  ;  $S-C_1-C_{10}$  烷基 ; 芳基- $C_1-C_4$  烷基 ; het- $C_1-C_4$ -烷基, 其中烷基、环烷基、het 和芳基是未取代的或取代的 ;  $-SO_2-C_1-C_2$  烷基 ;  $-SO_2-C_1-C_2$  烷基苯基 ;  $-O-C_1-C_4$  烷基 ; 或 Rg 和 Rf 形成选自 het 或芳基的环 ;

[0092] D 是  $-CO-$  ;  $-C(O)-C_{1-7}$  亚烷基或亚芳基 ;  $-CF_2$  ;  $-O-$  ;  $-S(O)_r$ , 其中 r 是 0-2 ; 1,3-二氧戊环 (1,3-dioxolane) ; 或  $C_{1-7}$  烷基 -OH ; 其中烷基、亚烷基或亚芳基可以是未取代的或用一个或多个卤素、OH、 $-O-C_1-C_6$  烷基、 $-S-C_1-C_6$  烷基或  $-CF_3$  取代的 ; 或 D 是  $-N(R_x)-$ , 其中  $R_x$  是 H ;  $C_{1-7}$  烷基 (未取代的或取代的) ; 芳基 ;  $-O(C_{1-7}$  环烷基) (未取代的或取代的) ;  $C(O)-C_1-C_{10}$  烷基 ;  $C(O)-C_0-C_{10}$  烷基-芳基 ;  $C-O-C_1-C_{10}$  烷基 ;  $C-O-C_0-C_{10}$  烷基-芳基或  $SO_2-C_1-C_{10}$ -烷基 ;  $SO_2-(C_0-C_{10}$ -烷基芳基) ;

[0093]  $R_6''$ 、 $R_7''$ 、 $R_6'$  和  $R_7'$  各自独立地是 H ;  $-C_1-C_{10}$  烷基 ;  $-C_1-C_{10}$  烷氧基 ; 芳基- $C_1-C_{10}$  烷氧基 ; -OH ;  $-O-C_1-C_{10}$  烷基 ;  $-(CH_2)_{0-6}-C_3-C_7$  环烷基 ;  $-O-(CH_2)_{0-6}$  芳基 ; 苯基 ;  $-(CH_2)_{1-6}$ -het ;  $-O-(CH_2)_{1-6}$ -het ;  $-OR_{11}'$  ;  $-C(O)-R_{11}'$  ;  $-C(O)-N(R_{11}') (R_{12}')$  ;  $-N(R_{11}') (R_{12}')$  ;  $-S-R_{11}'$  ;  $-S(O)-R_{11}'$  ;  $-S(O)_2-R_{11}'$  ;  $-S(O)_2-NR_{11}' R_{12}'$  ;  $-NR_{11}' -S(O)_2-R_{12}'$  ; 其中烷基、环烷基和芳基是未取代的或取代的 ; 且  $R_6''$ 、 $R_7''$ 、 $R_6'$  和  $R_7'$  可以联合形成环系统 ;

[0094]  $R_{11}'$  和  $R_{12}'$  独立地是 H ;  $C_1-C_{10}$  烷基 ;  $-(CH_2)_{0-6}-C_3-C_7$  环烷基 ;  $-(CH_2)_{0-6}$ - $(CH)_{0-1}$  (芳

基)<sub>1-2</sub>; -C(O)-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基; -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub> 环烷基; -C(O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-芳基; -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-O-苄基; -C(O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-芳基; -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-芳基; -C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-het; -C(S)-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基; -C(S)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub> 环烷基; -C(S)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-芳基; -C(S)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-O-苄基; -C(S)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-芳基; -C(S)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-芳基; -C(S)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-het; 其中烷基、环烷基和芳基是未取代的或取代的; 或 R<sub>11</sub>' 和 R<sub>12</sub>' 是促进分子跨细胞膜转运的取代基; 或 R<sub>11</sub>' 和 R<sub>12</sub>' 与氮原子一起形成 het; 其中 R<sub>11</sub>' 和 R<sub>12</sub>' 的烷基取代基可以是未取代的或被选自 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基、卤素、OH、-O-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、-S-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基或 -CF<sub>3</sub> 的一个或多个取代基取代的;

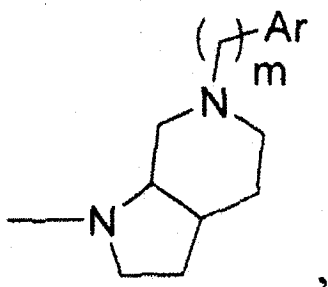
[0095] R<sub>11</sub>' 和 R<sub>12</sub>' 的取代的环烷基取代基被一个或多个选自以下的取代基取代: C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烯基; C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基; 卤素; OH; -O-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基; -S-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基或 -CF<sub>3</sub>;

[0096] R<sub>11</sub>' 和 R<sub>12</sub>' 的取代的苯基或芳基被一个或多个选自以下的取代基取代: 卤素; 羟基; C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷基; C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷氧基; 硝基; -CN; O-C(O)-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷基和 -C(O)-O-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-芳基; 并且其中

[0097] het 是包含选自 N、O 和 S 的 1-4 个杂原子的 5-7 元杂环, 或者是包括包含选自 N、O 和 S 的 1,2 或 3 个杂原子的至少一个 5-7 元杂环的 8-12 元稠环系统, 其中杂环或稠环系统在碳或氮原子上是未取代的或取代的。

[0098] 在式 II 的一种实施方式中, U-R<sub>5</sub> 是

[0099]



[0100] 其中 m 是 0、1、2 或 3, 且 Ar 是取代的或未取代的芳基或 het。在一种实施方式中, Ar 是苯基。

[0101] 在式 II 的另一实施方式中:

[0102] R<sub>1</sub>' 是 H;

[0103] R<sub>2</sub>' 是 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷基;

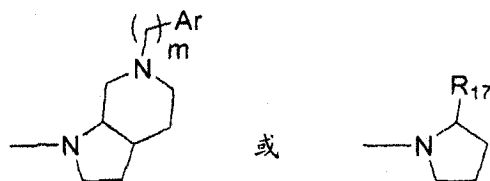
[0104] R<sub>3</sub>' 是 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷基;

[0105] R<sub>4</sub>' 是 -C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 环烷基;

[0106] R<sub>5</sub>' 是 H 或 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-烷基;

[0107] 且 U 是

[0108]



[0109] 其中 m 是 0、1、2 或 3, 且 Ar 是取代的或未取代的芳基或 het (例如, Ar 是取代的或

未取代的苯基或 het) ;且

[0110]  $R_{17}$  是  $Ar_1-D-Ar_2$  ;

[0111] 其中  $Ar_1$  和  $Ar_2$  是取代的或未取代的芳基或 het ;且

[0112] D 是  $-CO-$  ;或  $-O-$  ;或 D 是  $-N(Rx)-$ , 其中 Rx 是 H 或  $C_{1-7}$  烷基。

[0113] IAP 抑制剂和制备它们的方法公开在 WO 2005/097791 和 WO2008/016893 中,通过引用方式将其整体引入本文。

[0114] 如本文所用,术语“烷基”是指全饱和的支链的或无支链的烃部分。优选地烷基包括 1 至 20 个碳原子,更优选地 1 至 16 个碳原子,1 至 10 个碳原子,1 至 7 个碳原子或 1 至 4 个碳原子。烷基代表性的实例包括但不限于:甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、正己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基等。此外,表述“ $C_x-C_y$ -烷基”,其中 x 是 1-5 且 y 是 2-10 表明具有特定范围的碳的特定烷基(直链或支链)。例如,表述  $C_1-C_4$  烷基包括但不限于:甲基、乙基、丙基、丁基、异丙基、叔丁基和异丁基。

[0115] 单独或组合中的术语“烯基”是指包括至少一个烯键和指明的碳原子数的直链、环状或支链的烃残基。优选的烯基具有至多 8 个,优选地至多 6 个,特别优选地至多 4 个碳原子。烯基的实例是乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、异丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、异丁烯基、1-环己烯基、1-环戊烯基。

[0116] 术语“炔基”包括在长度上类似于上面描述的烷基的不饱和脂肪族基团,但其包含至少一个三键。例如,术语“炔基”包括直链炔基(例如,乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基、庚炔基、辛炔基、壬炔基、癸炔基等)、支链炔基,以及环烷基或环烯基取代的炔基。术语炔基还包括包含取代烃骨架的一个或多个碳的氧、氮、硫或磷原子的炔基。在某些实施方式中,直链或支链炔基在其骨架中具有 6 个或更少的碳原子(例如,对于直链  $C_2-C_6$ ,对于支链  $C_3-C_6$ )。术语  $C_2-C_6$  包括包含 2 个至 6 个碳原子的炔基基团。

[0117] 如本文所用,术语“环烷基”是指 3-12 个碳原子,优选地 3-9 个或 3-7 个碳原子的饱和或不饱和单环、双环或三环烃基。示例性单环烃基包括但不限于:环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基和环己烯基等。示例性双环烃基包括冰片基、吲哚基、六氢吲哚基、四氢萘基、十氢萘基、双环 [2.1.1] 己基、双环 [2.2.1] 庚基、双环 [2.2.1] 庚烯基、6,6-二甲基双环 [3.1.1] 庚基、2,6,6-三甲基双环 [3.1.1] 庚基、双环 [2.2.2] 辛基等。示例性三环烃基包括金刚烷基等。

[0118] 术语“环烯基”是指包含 1 至 3 个环且每环 4 至 8 个碳的部分不饱和环状烃基。示例性基团包括环丁烯基、环戊烯基和环己烯基。术语“环烯基”也包括其中至少一个环是部分不饱和含碳的环且第二个或第三个环可以是碳环或杂环的双环和三环基团,条件是连接点是在环烯基上。

[0119] “烷氧基”是指具有 1 至 10 个碳原子、经氧原子连接到分子的剩余部分的那些烷基。具有 1-8 个碳原子的烷氧基是优选的。烷氧基的烷基部分可以是直链的、环状的或支链的或其组合。烷氧基的实例包括甲氧基、乙氧基、异丙氧基、丁氧基、环戊氧基等。烷氧基也可以用下式表示:  $-OR^i$ , 其中  $R^i$  是烷氧基的“烷基部分”。

[0120] 除非另外声明,术语“杂烷基”本身或与其它术语组合表示稳定的直链或支链或其组合,其由规定数目的碳原子和选自 O、N、Si 和 S 的一至五个杂原子、更优选地一至三个杂

原子组成,且其中氮和硫原子可任选地被氧化且氮杂原子可以任选地被季铵化。杂烷基通过碳原子或杂原子连接到分子的剩余部分。

[0121] 术语“烷基羰基”是指具有式  $-C(O)-R^{ii}$  的基团,其中  $R^{ii}$  是上面定义的烷基且其中碳原子的总数是指烷基和羰基的组合部分。“烷基羰基”可以经烷基连接到分子的剩余部分(即, - 烷基  $-C(O)-R^{ii}$ )。

[0122] 术语“烷氧基羰基”是指具有式  $-C(O)O-R^{iii}$  的基团,其中  $R^{iii}$  是上面定义的烷基且其中碳原子的总数是指烷基和羰基的组合部分。“烷氧基羰基”可以经烷基被连接到分子的剩余部分(即, - 烷基  $-C(O)O-R^{iii}$ )。

[0123] 术语“杂烷基羰基”是指具有式  $-C(O)R^{iv}$  的基团,其中  $R^{iv}$  是上面定义的杂烷基且其中碳原子的总数是指烷基和羰基的组合部分。“杂烷基羰基”可以经烷基或杂烷基连接到分子的剩余部分(即, - 烷基  $-C(O)O-R^{iv}$  或 - 杂烷基  $-C(O)O-R^{iv}$ )。

[0124] 术语“芳基”包括仅由氢和碳组成的且包含六至十九个碳原子或六至十个碳原子的芳族单环或多环(例如,三环、双环)的烃环系统,其中环系统可以是部分饱和的。芳基包括但不限于基团如苯基、甲苯基、二甲苯基、蒽基、萘基和菲基。芳基也可以与不是芳族的杂环或脂环稠合或桥连以形成多环(例如,四氢萘)。

[0125] 如本文所用术语“杂芳基”,表示每个环中至多 7 个原子的稳定的单环或双环,其中至少一个环是芳族的且包含选自 O、N 和 S 的 1 至 4 个杂原子。这一定义范围内的杂芳基包括但不限于:吡啶基、咪唑基、噁唑基、噻唑基、吡唑基(pyrrazoly)、吡啶基、苯并三唑基、呋喃基、噻吩基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、噻吩基、异噻吩基、噁唑基、异噁唑基、咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、四氢喹啉。如下面杂环的定义,“杂芳基”也被理解成包括任何含氮杂芳基的 N-氧化物衍生物。在杂芳基取代基是双环且一个环是非芳族的或不包含杂原子的情况下,应当理解:连接是分别经芳族环或经含杂原子的环。

[0126] 术语“杂环”或“杂环基”是指包含至少一个杂原子如 O、S 或 N 的五元至十元的完全饱和或部分不饱和的非芳族杂环基团。最常见的实例是哌啶基、吗啉基、哌嗪基、吡咯烷基或吡嗪基(pirazinyl)。杂环基取代基的连接可以经碳原子或经杂原子而发生。

[0127] 此外,上面描述的烷基、烯基、环烷基、环烯基、烷氧基、芳基、杂芳基和杂环基可以是“未取代的”或“取代的”。术语“取代的”意欲描述具有取代基的部分,所述取代基取代了分子的一个或多个原子(例如 C、O 或 N)上的氢。这些取代基可以独立地包括,例如,一个或多个以下基团:直链或支链烷基(优选  $C_1-C_5$ )、环烷基(优选  $C_3-C_8$ )、烷氧基(优选  $C_1-C_6$ )、硫代烷基(thioalkyl)(优选  $C_1-C_6$ )、烯基(优选  $C_2-C_6$ )、炔基(优选  $C_2-C_6$ )、杂环、碳环、芳基(例如,苯基)、芳氧基(例如,苯氧基)、芳烷基(例如,苄基)、芳氧基烷基(例如,苯氧基烷基)、芳基乙酰氨基(arylacetyl)、烷基芳基、杂芳烷基、烷基羰基和芳基羰基或其它基团,诸如酰基、杂芳基羰基,或杂芳基、 $(CR'R'')_{0-3}NR'R''$ (例如,  $-NH_2$ )、 $(CR'R'')_{0-3}CN$ (例如,  $-CN$ )、 $-NO_2$ 、卤素(例如,  $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$  或  $-I$ )、 $(CR'R'')_{0-3}C$ (卤素)<sub>3</sub>(例如,  $-CF_3$ )、 $(CR'R'')_{0-3}CH$ (卤素)<sub>2</sub>、 $(CR'R'')_{0-3}CH_2$ (卤素)、 $(CR'R'')_{0-3}CONR'R''$ 、 $(CR'R'')_{0-3}(CNH)NR'R''$ 、 $(CR'R'')_{0-3}S(O)_{1-2}NR'R''$ 、 $(CR'R'')_{0-3}CHO$ 、 $(CR'R'')_{0-3}O(CR'R'')_{0-3}H$ 、 $(CR'R'')_{0-3}S(O)_{0-3}R'$ (例如,  $-SO_3H$ 、 $-OSO_3H$ )、 $(CR'R'')_{0-3}O(CR'R'')_{0-3}H$ (例如,  $-CH_2OCH_3$  和  $-OCH_3$ )、 $(CR'R'')_{0-3}S(CR'R'')_{0-3}H$ (例如,  $-SH$  和  $-SCH_3$ )、 $(CR'R'')_{0-3}OH$ (例如,  $-OH$ )、 $(CR'R'')_{0-3}COR'$ 、 $(CR'R'')_{0-3}$ (取代的或未取代的苯基)、 $(CR'R'')_{0-3}(C_3-C_8$  环烷基)、

$(\text{CR}'\text{R})_{0-3}\text{CO}_2\text{R}'$  (例如,  $-\text{CO}_2\text{H}$ )、或  $(\text{CR}'\text{R})_{0-3}\text{OR}'$  基团, 或任何天然存在的氨基酸的侧链; 其中  $\text{R}'$  和  $\text{R}$  各自独立地是氢、 $\text{C}_1-\text{C}_5$  烷基、 $\text{C}_2-\text{C}_5$  烯基、 $\text{C}_2-\text{C}_5$  炔基或芳基。

[0128] 术语“胺”或“氨基”应当被理解为广泛适用于分子或部分或官能团, 如本领域通常所理解那样, 并且可以是伯、仲或叔的。术语“胺”或“氨基”包括其中氮原子共价连接到至少一个碳、氢或杂原子的化合物。该术语包括, 例如, 但不限于: “烷基氨基”、“芳基氨基”、“二芳基氨基”、“烷基芳基氨基”、“烷基氨基芳基”、“芳基氨基烷基”、“烃氨基烷基 (alkaminoalkyl)”、“酰胺”、“酰氨基”和“氨基羰基”。术语“烷基氨基”包括其中氮被连接到至少一个其它烷基上的基团和化合物。术语“二烷基氨基”包括其中氮原子被连接到至少两个其它烷基上的基团。术语“芳基氨基”和“二芳基氨基”包括其中氮分别被连接到至少一个或两个芳基上的基团。术语“烷基芳基氨基”、“烷基氨基芳基”或“芳基氨基烷基”是指被连接到至少一个烷基和至少一个芳基上的氨基。术语“烃氨基烷基”是指连接到还与烷基相连的氮原子上的烷基、烯基或炔基。

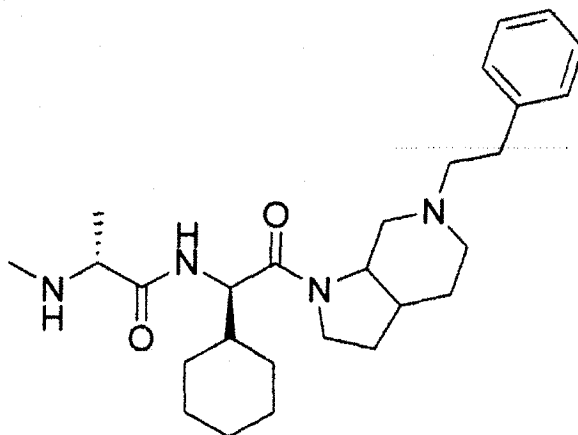
[0129] 术语“酰胺”、“酰氨基”或“氨基羰基”包括这样的化合物或部分: 它们包含连接到羰基或硫代羰基的碳的氮原子。该术语包括包含连接到与羰基连接的氨基的烷基、烯基、芳基或炔基的“烃氨基羰基”或“烷基氨基羰基”。该术语包括芳基氨基羰基和芳基羰基氨基基团, 它们包括连接到与羰基或硫代羰基的碳连接的氨基的芳基或杂芳基部分。术语“烷基氨基羰基”、“烯基氨基羰基”、“炔基氨基羰基”、“芳基氨基羰基”、“烷基羰基氨基”、“烯基羰基氨基”、“炔基羰基氨基”和“芳基羰基氨基”被包括在术语“酰胺”中。酰胺还包括脲基团 (氨基羰基氨基) 和氨基甲酸酯 (氧基羰基氨基)。

[0130] 在本发明的具体实施方式中, 术语“胺”或“氨基”是指式  $\text{N}(\text{R}^8)\text{R}^9$ 、 $\text{CH}_2\text{N}(\text{R}^8)\text{R}^9$  和  $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{N}(\text{R}^8)\text{R}^9$  的取代基, 其中  $\text{R}^8$  和  $\text{R}^9$  各自独立地选自 H 和  $(\text{C}_1-\text{C}_4-\text{烷基})_{0-1}\text{G}$ , 其中 G 选自:  $\text{COOH}$ 、H、 $\text{PO}_3\text{H}$ 、 $\text{SO}_3\text{H}$ 、Br、Cl、F、 $0-\text{C}_{1-4}-\text{烷基}$ 、 $\text{S}-\text{C}_{1-4}-\text{烷基}$ 、芳基、 $\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-6}-\text{烷基}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-4}-\text{烷基}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-4}-\text{烷基}$  和  $\text{C}(\text{O})-\text{芳基}$ 。

[0131] 应当注意本发明的一些化合物的结构包括不对称碳原子。因此应当理解由这种不对称产生的异构体 (例如所有的对映体和非对映体) 被包括在本发明的范围之内。这些异构体可通过经典的分离技术和通过立体化学控制的合成以基本上纯的形式获得。此外, 本申请中讨论的结构和其它化合物以及部分也包括其所有的互变异构体。本文描述的化合物可以通过本领域公认的合成策略获得。

[0132] 在优选的实施方式中, IAP 抑制剂是 LBW 242 (N-[1-环己基-2-氧代-2-(6-苯乙基-八氢-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)]-2-甲基氨基-丙酰胺):

[0133]



[0134] 以下表示可以在本申请中用作 IAP 抑制剂的化合物：

[0135]

实例 (Ex)	名称	+MS ESI (M+H) <sup>+</sup>
1	(S)-N-((S)-1-环己基-2-((S)-2-[4-(4-氟-苯甲酰基)-噻唑-2-基]-吡咯烷-1-基)-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	
2	(S)-N-[(S)-环己基-(乙基-((S)-1-[5-(4-氟-苯甲酰基)-吡啶-3-基]-丙基)-氨基甲酰基)-甲基]-2-甲基氨基-丙酰胺	
3	(S)-N-((S)-1-环己基-2-((S)-2-[5-(4-氟-苯氧基)-吡啶-3-基]-吡咯烷-1-基)-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	
4	(S)-N-((S)-1-环己基-2-((S)-2-[4-(4-氟-苯氧基)-吡啶-2-基]-吡咯烷-1-基)-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	
5	(S)-N-[(S)-环己基-2-((S)-2-((S)-2-[5-氟-2-[(4-氟-苯基)-甲基-氨基]-吡啶-4-基]-吡咯烷-1-基)-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	
6	(S)-N-((S)-1-环己基-2-((S)-2-[4-(4-氟-苯甲酰基)-5-甲基-噻唑-1,2-基]-吡咯烷-1-基)-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	515
7	(S)-N-((S)-2-((S)-2-[4-(4-氟-苯甲酰基)-5-甲基-噻唑-2-基]-吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	481
8	(S)-N-((S)-1-环己基-2-((S)-2-[4-(4-氟-苯甲酰基)-5-甲基-噻唑-2-基]-吡咯烷-1-基)-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	499
9	(S)-N-((S)-1-环己基-2-((S)-2-[4-(4-氟-苯甲酰基)-5-甲基-噻唑-2-基]-吡咯烷-1-基)-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	487

[0136]

10	(S)-N-{(S)-2-[(S)-2-(4-苯甲酰基-噁唑-2-基)-吡咯烷-1-基]-1-环己基-2-氧代-乙基}-2-甲基氨基-丙酰胺	485
11	(S)-N-((S)-1-环己基-2-[(S)-2-[4-(2,4-二氟-苯甲酰基)-噁唑-2-基]-吡咯烷-1-基]-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	519
12	(S)-N-((S)-1-环己基-2-[(S)-2-[4-(1H-吡啶-2-羰基)-噁唑-2-基]-吡咯烷-1-基]-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	522
13	(S)-N-((S)-1-环己基-2-[(S)-2-[2-(4-氟-苯氧基)-吡啶-4-基]-吡咯烷-1-基]-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	483.27
14	(S)-N-[(S)-1-((S)-2-{2-[(4-氟-苯基)-甲基-氨基]-吡啶-4-基}-吡咯烷-1-羰基)-2-甲基-丙基]-2-甲基氨基-丙酰胺	456.27
15	(S)-N-((S)-1-环己基-2-[(S)-2-[2-(4-氟-苯甲酰基)-吡啶-4-基]-吡咯烷-1-基]-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	495.27
16	(S)-N-((S)-1-环己基-2-[(S)-2-[2-(5-氟-吡啶-2-基氨基)-吡啶-4-基]-吡咯烷-1-基]-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	483.28
17	(S)-N-[(S)-1-环己基-2-((S)-2-{3-氟-2-[(4-氟-苯基)-甲基-氨基]-吡啶-4-基}-吡咯烷-1-基)-2-氧代-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺	514.29
18	(S)-N-((S)-1-环己基-2-[(S)-2{3-氟-2-(4-氟-苯甲酰基)-吡啶-4-基]-吡咯烷-1-基}-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	513.26
19	(S)-N-[(S)-2-((S)-2-{2-氨基-6-[N-(4-氟-苯基)-胍基]-吡啶-4-基}-吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺	512.31
20	(S)-N-{(S)-1-环己基-2-氧代-2-[(S)-2-(4-苯氧基-吡啶-2-基)-吡咯烷-1-基]-乙基}-2-甲基氨基-丙酰胺	465.3
21	(S)-N-((S)-1-环己基-2-[(S)-2-[6-(4-氟-苯氧基)-2-甲基-嘧啶-4-基]-吡咯烷-1-基]-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	498.3
22	(S)-N-((S)-1-环己基-2-[(S)-2-[4-(4-氟-苯甲酰基)-吡啶-2-基]-吡咯烷-1-基]-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	495.3
23	(S)-N-((S)-1-环己基-2-[(S)-2-[6-(4-氟-苯甲酰基)-2-甲基-嘧啶-4-基]-吡咯烷-1-基]-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	510.3

[0137]

24	(S)-N-[(S)-1-环己基-2-((S)-2-{5-[(4-氟-苯基)-甲基-氨基]-吡啶-3-基}-吡咯烷-1-基)-2-氧代-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺	496.3
25	(S)-N-[(S)-1-环己基-2-((S)-2-{4-[(4-氟-苯基)-甲基-氨基]-吡啶-2-基}-吡咯烷-1-基)-2-氧代-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺	496.3
26	(S)-N-[(S)-1-环己基-2-((S)-2-{6-[(4-氟-苯基)-甲基-氨基]-2-甲基-嘧啶-4-基}-吡咯烷-1-基)-2-氧代-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺	511.3
27	(S)-N-((S)-1-((S)-2-[6-(4-氟-苯甲酰基)-2-甲基-嘧啶-4-基]-吡咯烷-1-羰基}-2-甲基-丙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	458.2
28	(S)-N-((S)-1-((S)-2-[6-(4-氟-苯甲酰基)-2-甲基-嘧啶-4-基]-吡咯烷-1-羰基}-2-甲基-丙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	470.2
29	(S)-N-[(S)-1-((S)-2-{6-[(4-氟-苯基)-甲基-氨基]-2-甲基-嘧啶-4-基}-吡咯烷-1-羰基)-2-甲基-丙基]-2-甲基氨基-丙酰胺	471.3
30	(S)-N-((S)-1-环己基-2-((S)-2-[6-(4-氟-苯基氨基)-2-甲基-嘧啶-4-基]-吡咯烷-1-基)-2-氧代-乙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	497.3
31	(S)-N-((S)-1-((S)-2-[6-(4-氟-苯基氨基)-2-甲基-嘧啶-4-基]-吡咯烷-1-羰基}-2-甲基-丙基)-2-甲基氨基-丙酰胺	457.3

## [0138] II. IAP 抑制剂的免疫调节性质

[0139] 为了在受试者中引起免疫应答,通常与免疫佐剂联合施用免疫刺激物、免疫原或抗原。佐剂是增强对免疫刺激物、免疫原或抗原的免疫应答的物质。根据本申请,包括 Smac 模拟物在内的 IAP 抑制剂是强效免疫佐剂。IAP 抑制剂能够在不同的免疫细胞系中增强生理学相关的激活信号。IAP 抑制剂不改变静息免疫细胞的功能,但在刺激的情况下确实增强免疫细胞的激活。免疫细胞激活由例如增加的扩增、细胞因子的产生和细胞表面标志物的表达的改变所证实。对 IAP 抑制剂应答的细胞类型包括但不限于:树突细胞、B 细胞、T 细胞(例如,CD4+T 细胞、CD8+T 细胞和 NKT 细胞)、NK 细胞和巨噬细胞、浆细胞和杂交瘤细胞。

[0140] 如本文所用,术语“受试者”意欲包括能够患有诸如癌症的疾病或疾患或被诸如癌症的疾病或疾患折磨、或需要增强其免疫应答的动物。受试者的实例包括哺乳动物,例如,人、小鼠、兔、大鼠、狗、牛、马、猪、绵羊、山羊、猫、驴和转基因非人类动物。在某些实施方式中,受试者是人,例如,患有、具有患病风险或潜在能够患有诸如癌症的疾病或疾患的人或需要增强他或她的免疫应答的人。

[0141] 用 IAP 抑制剂增强的免疫信号的范围超过目前已知的佐剂所增强的范围。此外,IAP 抑制剂能够比目前已知的佐剂更广泛地刺激各种免疫细胞系。这些性质使 IAP 抑制剂成为用于促进免疫的理想试剂。通过放大弱的免疫信号,IAP 抑制剂可以用作疫苗佐剂,且还可以被用于增强对慢性感染或肿瘤的免疫性。IAP 抑制剂也用于某些其中免疫刺激加

速疾病消除的自身免疫疾病。在具体实施方式中，IAP 抑制剂是式 I 或式 II 的化合物，如 LBW 242(N-[1-环己基-2-氧代-2-(6-苯乙基-八氢-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺)。在下面更详细地描述 IAP 抑制剂的其它治疗应用。

[0142] III. 治疗组合物和方法

[0143] (A) 佐剂和疫苗

[0144] IAP 抑制剂的免疫调节性质使 IAP 抑制剂成为理想的佐剂。因而，本发明的特征是包含 IAP 抑制剂的免疫佐剂。可以将这些免疫佐剂单独施用或与抗原或免疫原联合施用到受试者。抗原或免疫原可以是疫苗或疫苗的组分。本发明另外的特征是包含抗原和 IAP 抑制剂的药物组合物。此外，本发明的特征是包含抗原和 IAP 抑制剂的疫苗。

[0145] 该药物组合物和 / 或疫苗中提供的或与抗原联合施用的 IAP 抑制剂的量通常是免疫增强的量。如本文所用 IAP 抑制剂的“免疫增强量”是指能够刺激或增强任何免疫应答指标的 IAP 抑制剂的任何量。在示例性实施方式中，IAP 抑制剂的免疫增强量在治疗或预防疾病中是治疗上有效的。如本文所用，免疫应答的增强是指相对于在不存在本发明的 IAP 抑制剂时发生的免疫应答水平的免疫应答的增强。

[0146] 该药物组合物和 / 或疫苗中提供的或与 IAP 抑制剂联合施用的抗原的量优选地是致免疫的量。抗原可以在单独施用是致免疫的，或可以只在与佐剂（例如 IAP 抑制剂）联合施用是致免疫的。抗原的量通常是在受试者中诱发免疫应答而不产生显著的副作用的量。当与本发明的免疫佐剂联合施用，或当作为本发明的药物组合物或疫苗的组分施用，可以降低单独施用致免疫的抗原的量。减少在受试者中刺激免疫应答所需的抗原的量是期望的，因为其降低了与目前使用中的一些抗原有关的不期望的副作用的可能性。

[0147] 如本文所用，术语“抗原”是指能够刺激或增强任何免疫应答指标的任何分子或组合物。免疫应答指标包括但不限于以下免疫活动的任何一种：细胞因子的产生、抗体的产生、免疫细胞的激活、免疫细胞扩增、免疫细胞的增殖、免疫细胞介导的细胞毒性和免疫细胞表面标志物的表达的改变。术语“抗原”与术语“免疫原”可互换使用。如本文所用抗原的“致免疫的量”是指能够刺激或增强任何免疫应答指标的抗原的任何量。

[0148] 可以使用本领域已知的任何合适的方法确定免疫应答的刺激或增强，包括但不限于检测以下方面的变化：细胞因子的产生、抗体的产生、免疫细胞的激活、免疫细胞的扩增、免疫细胞介导的细胞毒性和免疫细胞表面标志物的表达的改变。能够免疫应答的免疫细胞包括但不限于：树突细胞、B 细胞、T 细胞（例如，CD4+T 细胞、CD8+T 细胞和 NKT 细胞）、NK 细胞、巨噬细胞、浆细胞和杂交瘤细胞。

[0149] 如本文所用术语“疫苗”广义指用于诱导免疫的任何抗原材料制剂。

[0150] (B) 增强免疫应答的方法

[0151] 本发明提供了通过向受试者施用 IAP 抑制剂而在受试者中增强免疫应答的方法。这种免疫应答通常由一种或多种免疫细胞类型介导，包括但不限于：树突细胞、B 细胞、T 细胞（例如，CD4+T 细胞、CD8+T 细胞和 NKT 细胞）、NK 细胞、巨噬细胞、浆细胞和杂交瘤细胞。这一方法可包括选择需要增强免疫应答的受试者。为这种增强免疫应答的方法选择的受试者可以是对抗原（例如肿瘤抗原或病毒抗原）显示较低免疫应答水平的受试者。

[0152] 本发明还提供了通过向受试者联合施用抗原和 IAP 抑制剂而增强受试者对抗

原的免疫应答的方法。在具体实施方式中, IAP 抑制剂是式 I 或式 II 的化合物, 如 LBW 242(N-[1-环己基-2-氧代-2-(6-苯乙基-八氢-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺)。抗原可以在单独施用是致免疫的, 或可以仅在与佐剂(例如 IAP 抑制剂)联合施用是致免疫的。该免疫应答通常由一种或多种免疫细胞类型介导, 包括但不限于: 树突细胞、B 细胞、T 细胞(例如, CD4+T 细胞、CD8+T 细胞和 NKT 细胞)、NK 细胞、巨噬细胞、浆细胞和杂交瘤细胞。抗原和 IAP 抑制剂可在分别的组合中被施用或可以是单一组合物的组分。当抗原和 IAP 抑制剂作为分别的组合物被施用, 组合物可以被同时或顺序地施用。抗原和 / 或 IAP 抑制剂可以作为单一剂量或多个剂量施用。

[0153] 适合用于本发明的抗原包括但不限于哺乳动物抗原、植物抗原、肿瘤抗原、微生物抗原、病毒抗原和真菌抗原。这些抗原可以被分离或纯化, 或可以在其它化合物的混合物中存在。合适的抗原包括, 例如, 哺乳动物蛋白、植物蛋白、肿瘤蛋白、微生物蛋白、病毒蛋白和真菌蛋白。合适的抗原还包括活性的、减弱的或灭活的细胞或细胞片段, 细胞包括肿瘤细胞、微生物细胞、感染病毒的细胞和真菌细胞。其它合适的抗原包括能够诱发免疫应答的核酸分子(例如, DNA、RNA 等)。

#### [0154] (C) 治疗癌症的方法

[0155] 术语“治疗的 (treated)”、“治疗 (treating)”或“治疗 (treatment)”包括与治疗的病况有关的至少一种症状的减少或减轻。例如, 治疗可以是疾病的一种或几种症状的减少或疾病(如癌症)的完全消除。

[0156] 免疫系统对癌细胞和肿瘤抗原的应答通常较低, 使得在治疗癌症中接种是有问题的方法。由 IAP 抑制剂(例如, 式 I 或式 II 的化合物)所增强的免疫信号的效力和范围使得 IAP 抑制剂(和包括 IAP 抑制剂的佐剂、组合物和疫苗)可特别用于提高对癌症的免疫应答。因此包含 IAP 抑制剂或与 IAP 抑制剂共同施用的癌症疫苗在治疗和 / 或预防癌症中是有利的。因而, 本发明提供了通过向患有癌症的受试者施用治疗有效量的 IAP 抑制剂和抗原来治疗或减少受试者中癌症的症状的方法, 其中 IAP 抑制剂和抗原增强受试者对癌症的免疫应答以治疗癌症。本发明还提供在受试者中预防癌症的方法, 其通过向处于患癌症风险的受试者施用治疗有效量的 IAP 抑制剂和抗原以使得受试者对抗原的免疫应答被增强并使得受试者中癌症的生长被阻止。抗原可以在单独施用是致免疫的, 或可以仅在与佐剂(例如 IAP 抑制剂)联合施用是致免疫的。该免疫应答通常由一种或多种免疫细胞类型介导, 包括但不限于: 树突细胞、B 细胞、T 细胞(例如, CD4+T 细胞、CD8+T 细胞和 NKT 细胞)、NK 细胞、巨噬细胞、浆细胞和杂交瘤细胞。抗原和 IAP 抑制剂可以在分别的组合中被施用或可以是单一组合物的组分。当抗原和 IAP 抑制剂作为分别的组合物被施用, 组合物可以被同时或顺序地施用。抗原和 / 或 IAP 抑制剂可以作为单一剂量或多个剂量施用。

[0157] 适合在治疗或减少受试者中癌症症状的前述方法中使用的抗原包括与受试者的癌症有关的任何抗原。这些抗原可以存在于癌细胞中且不存在于非癌细胞中。可选地, 这种抗原可以以相对于非癌细胞的升高的水平存在于癌细胞中。可以使用本领域已知的任何合适的技术来识别差异表达的抗原, 其包括但不限于 Northern 印迹、Western 印迹、定量 RT-PCR、原位杂交、寡核苷酸微阵列分析、抗体阵列分析、差异显示、消减杂交法和基因表达系列分析(SAGE)。在示例性实施方式中, 抗原是细胞表面抗原。抗原可以是相对于非癌细

胞已知在癌细胞中差异表达的抗原。可选地,通过比较获自患有癌症的受试者的癌细胞或细胞样品与获自受试者的正常细胞或细胞样品,可以识别抗原。这些抗原可以被分离或纯化,或可以作为混合物的组分存在。

[0158] 合适的抗原还包括活性的、灭活的或减弱的癌细胞或癌细胞片段。癌细胞可以在用作抗原之前被辐照或以其他方式处理以致它们无增殖能力。细胞也可以在用作抗原之前被破坏、剪切、超声处理或溶解。在优选的实施方式中,用作抗原的癌细胞是获自将根据本文描述的方法向其施用抗原的受试者的自体细胞。在另一实施方式中,用作抗原的癌细胞是同种异体细胞。

[0159] 适合于在受试者中预防癌症的前述方法中使用的抗原包括已知通常存在于特定类型的癌细胞中但不存在于非癌细胞中的任何抗原,或已知相对于非癌细胞通常以升高的水平存在于癌细胞中的任何抗原。这些抗原包括但不限于粘蛋白-1 (MUC-1)、前列腺特异性抗原 (PSA)、癌胚抗原 (CEA)、前列腺酸性磷酸酶 (PAP) 和黑素瘤抗原基因家族 (MAGE) 的成员。已知被某些病毒感染增加受试者形成癌症的可能性。与这些病毒相关的抗原也适合于在预防癌症的前述方法中使用。这些抗原可以被分离或纯化,或可以包括活性的、灭活的或减弱的病毒颗粒的全部或部分。与增加受试者对癌症的易感性有关的病毒包括但不限于:人乳头瘤病毒 (HPV)、乙型肝炎、丙型肝炎、疱疹病毒、爱泼斯坦-巴尔病毒 (Epstein-Barr virus)、人类嗜 T 淋巴细胞病毒 (T-cell lymphotropic virus) 和 HIV-1。增强受试者对前述抗原的免疫应答使受试者能够抵抗包含该抗原的病毒或癌细胞的后续攻击,因而防止受试者形成癌症。

[0160] 适合评估增强免疫应答(包括对癌症的免疫应答)的方法是本领域已知的。这些方法包括但不限于:抗体滴度、细胞因子产生的测量、有限稀释测定法 (limiting dilution assay)、ELISA(以测量细胞因子的产生)、四聚体测定、使用例如 FastImmune™ 测定法 (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ) 的免疫表型分型和酶联免疫斑点 (enzyme-linked immunosorbent spot, ELISPOT) 测定。用于测定对癌症治疗的应答的临床终点同样也是本领域已知的且包括但不限于肿瘤体积的减小、总存活率、无病存活率和疾病进展的时间。

[0161] 因为本发明的 IAP 抑制剂广泛地增强免疫应答,前述方法可用于治疗广谱的肿瘤,包括所有实体瘤和血液恶性肿瘤。这些肿瘤的实例包括但不限于白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、癌、转移性癌、肉瘤、腺瘤、神经系统癌症和泌尿生殖癌 (genitourinary cancer)。在示例性实施方式中,前述方法用于治疗成人和儿科急性成淋巴细胞白血病、急性髓细胞样白血病、肾上腺皮质癌、AIDS 相关癌症、肛门癌、阑尾癌、星形细胞瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、骨肉瘤、纤维性组织细胞瘤、脑癌、脑干胶质瘤、小脑星形细胞瘤、恶性胶质瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤、幕上原始神经外胚层瘤 (supratentorial primitive neuroectodermal tumor)、下丘脑胶质瘤、乳腺癌、男性乳癌、支气管腺瘤、伯基特淋巴瘤、类癌瘤、原因不明的癌、中枢神经系统淋巴瘤、小脑星形细胞瘤、恶性胶质瘤、宫颈癌、儿童癌症、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性骨髓增生病、结肠直肠癌、皮肤 T-细胞淋巴瘤、子宫内膜癌、室管膜瘤、食管癌、尤文家族肿瘤 (Ewing family tumor)、颅外生殖细胞瘤、性腺外生殖细胞瘤、肝外胆管癌、眼内黑素瘤、视网膜母细胞瘤、胆囊癌、胃癌、胃肠道间质瘤、颅外生殖细胞瘤、性腺外生殖细胞瘤、卵巢生殖细胞瘤、妊娠性滋养层细胞

瘤、神经胶质瘤、毛细胞性白血病、头颈癌、肝细胞癌、霍奇金淋巴瘤 (Hodgkin lymphoma)、非霍奇金淋巴瘤、下咽癌、下丘脑和视通路胶质瘤、眼内黑素瘤、胰岛细胞瘤、卡波西肉瘤、肾癌、肾细胞癌、喉癌、唇和口腔癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、原发性中枢神经系统淋巴瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症 (Waldenstrom macroglobulinemia)、恶性纤维组织细胞瘤、成神经管细胞瘤、黑素瘤、Merkel 细胞癌、恶性间皮瘤、颈部鳞状细胞癌 (squamous neck cancer)、多发性内分泌肿瘤综合征、多发性骨髓瘤、蕈样真菌病、骨髓增生异常综合征、骨髓增生病、慢性骨髓增生病、鼻腔和鼻窦癌、鼻咽癌、成神经细胞瘤、口咽癌、卵巢癌、胰腺癌、甲状旁腺癌、阴茎癌、咽癌、嗜铬细胞瘤、松果体细胞瘤和幕上原始神经外胚层瘤、垂体瘤、浆细胞瘤、胸膜肺母细胞瘤、前列腺癌、直肠癌、横纹肌肉瘤、涎腺癌、软组织肉瘤、子宫肉瘤、赛扎里综合征 (Sezary syndrome)、非黑素瘤皮肤癌、小肠癌、鳞状细胞癌、颈部鳞癌、幕上原始神经外胚层瘤、睾丸癌、喉癌、胸腺瘤和胸腺癌、甲状腺癌、移行细胞癌、滋养层细胞瘤 (trophoblastic tumor)、尿道癌、子宫癌、子宫肉瘤、阴道癌、外阴癌和 Wilms 瘤。

[0162] 还提供离体治疗癌症的方法。根据这些方法,将免疫细胞群从患有癌症的受试者分离,并且用抗原和治疗有效量的 IAP 抑制剂刺激免疫细胞,以致激活免疫细胞对抗抗原。然后将免疫细胞返回受试者。然后这些免疫细胞增强受试者对抗受试者的癌症的免疫应答。适用如上面描述在受试者中治疗、预防或减少癌症症状的方法的抗原也适用离体治疗癌症的方法。本领域已知的几种实验治疗方案包括离体激活和扩增抗原特异性 T 细胞和这些细胞过继转移进入接受者以提供对抗接受者的肿瘤的抗原特异性 T 细胞(参见,例如,Greenberg, R. 和 Riddell, S. (1999) *Science* 285 :546-551)。这些方法也可以被用于激活 T 细胞对感染原的应答,该感染原包括如本文所述的增加受试者发展癌症的可能性的感染原。在本发明的 IAP 抑制剂的存在下离体激活可以增加过继转移的 T 细胞的频率和活性。还考虑在产生树突细胞疫苗的过程中使用 IAP 抑制剂来增强树突细胞的成熟。

#### [0163] (D) 治疗或预防感染性疾病的方法

[0164] 由 IAP 抑制剂(例如,式 I 或式 II 的化合物)增强的免疫信号的效力和范围使得 IAP 抑制剂(和包括 IAP 抑制剂的佐剂、组合物和疫苗)可特别用于增强受试者对感染原的免疫应答。IAP 抑制剂可以被加入疫苗或与疫苗联合施用,从而提高疫苗抗原的免疫原性。因此包含 IAP 抑制剂或与 IAP 抑制剂联合施用的疫苗被用于预防由感染原引起的感染,并且如果在感染发生后施用可进一步治疗这些感染。因而,本发明的特征是通过向受试者施用治疗有效量的 IAP 抑制剂和抗原来治疗由感染原引起的感染的方法,其中 IAP 抑制剂和抗原增强受试者对感染原的免疫应答,以治疗感染。本发明的类似特征还是通过向受试者施用治疗有效量的 IAP 抑制剂和抗原来预防由感染原引起的感染的方法,其中 IAP 抑制剂和抗原增强受试者对感染原的免疫应答,以预防感染。这种免疫应答通常由一种或多种免疫细胞类型介导,包括但不限于:树突细胞、B 细胞、T 细胞(例如,CD4+T 细胞、CD8+T 细胞和 NKT 细胞)、NK 细胞、巨噬细胞和浆细胞。抗原和 IAP 抑制剂可以在分别的组合物中施用或可以是单一组合物的组分。当抗原和 IAP 抑制剂作为分别的组合物被施用,组合物可以被同时或顺序地施用。抗原和/或 IAP 抑制剂可以作为单一剂量或多个剂量被施用。

[0165] 使用前述方法可以治疗或预防的感染性疾病包括,但不限于,由感染原如细菌、病毒、原生动物、真菌和寄生虫引起的感染性疾病。合适的抗原包括与感染原有关的任何抗原。这些抗原可以被分离或纯化,或可以作为混合物的组分存在。合适的抗原还包括整体

的、活性的、灭活的或减弱的感染原微粒，例如，细菌细胞、病毒、原生动物、真菌或寄生虫，或其片段。这些感染原可以在用作抗原之前被辐照或以其他方式处理以致它们是无增殖能力的、无复制能力的或另外不能产生活性感染。感染原也可以在用作抗原之前被破坏、剪切、超声处理或溶解。

[0166] 适合评估增强对抗原的免疫应答的方法是本领域已知的且包括，例如，抗体滴度、有限稀释测定法、ELISA（测定细胞因子的产生）、四聚体测定、使用例如 FastImmune™ 测定（BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ）的免疫表型分型和酶联斑点（ELISPOT）测定。用于测量对感染原的治疗的应答的临床终点也是本领域中已知的且包括但不限于细菌滴度的下降、病毒滴度的下降和与感染性疾病相关的症状的减轻。

#### [0167] (E) 增强免疫细胞增殖和 / 或细胞因子分泌的方法

[0168] 免疫激活诱发免疫细胞系的增殖和扩增。通过增强免疫细胞的激活，本发明的 IAP 抑制剂（例如，式 I 或式 II 的化合物）增加多种免疫细胞的增殖和扩增，该免疫细胞包括但不限于：树突细胞、B 细胞、T 细胞（例如，CD4+T 细胞、CD8+T 细胞和 NKT 细胞）、NK 细胞和巨噬细胞。因而，本发明的特征是通过将包括免疫细胞在内的细胞群与 IAP 抑制剂接触来增强免疫细胞的增殖的方法。在优选的实施方式中，将细胞与其它免疫激活刺激物和 IAP 抑制剂相接触以增强免疫细胞的增殖。在这一实施方式中，与在不存在 IAP 抑制剂的情况下接触免疫激活刺激物相比，与 IAP 抑制剂和其它免疫激活刺激物接触的细胞显示了更强的扩增。启动免疫激活的刺激物是本领域已知的且包括但不限于  $\alpha$ -半乳糖酰基鞘氨醇（ $\alpha$ -galcer）、抗 CD3、抗 CD28、抗 IgM 和抗 CD40。其它免疫刺激物被描述在，例如，Advanced Methods in Cellular Immunology（细胞免疫学中先进的方法），Fernandez-Botran 等人，CRC ;Spi 版（2000 年 5 月 26 日）中。

[0169] 免疫激活还包括在免疫细胞中细胞因子的表达和分泌。通过增强免疫细胞的激活，本发明的 IAP 抑制剂增加了免疫细胞中细胞因子的产生和分泌。这些细胞因子包括但不限于：IFN- $\gamma$ 、IFN- $\alpha$ 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、TNF  $\alpha$ 、TNF  $\beta$ 、TGF  $\beta$  和 GM-CSF。因而，本发明的特征是通过将包括免疫细胞在内的细胞群与 IAP 抑制剂接触来增强细胞因子的产生的方法。在优选的实施方式中，将细胞与其它免疫激活刺激物和 IAP 抑制剂相接触以增强细胞因子的产生。在这一实施方式中，与在不存在 IAP 抑制剂的情况下接触免疫激活刺激物相比，与 IAP 抑制剂和其它免疫激活刺激物接触的细胞显示了更强的细胞因子的产生。启动免疫激活的刺激物是本领域已知的且包括但不限于  $\alpha$ -半乳糖酰基鞘氨醇、抗 CD3、抗 CD28、抗 IgM 和抗 CD40。其它免疫刺激物被描述在，例如，Advanced Methods in Cellular Immunology（细胞免疫学中先进的方法），Fernandez-Botran 等人，CRC ;Spi 版（2000 年 5 月 26 日）中，如上面提到的。

#### [0170] (F) 提高抗体的产生的方法

[0171] 许多商业上重要的抗原具有较差的致免疫性，且获得识别这些抗原的抗体通常较难。本发明的 IAP 抑制剂用作强效免疫佐剂的能力使得 IAP 抑制剂特别适用于增强多克隆抗体和 / 或单克隆抗体的产生的效率。IAP 抑制剂尤其用于产生识别较差致免疫性的抗原的抗体。因而，本发明的特征是通过用抗原和 IAP 抑制剂免疫哺乳动物来增强抗体的产生的方法。本领域已知的在免疫后用于分离单克隆抗体和 / 或多克隆抗体的方法适合于实施本发明。与从仅用抗原免疫的动物分离的单克隆抗体相比，从用抗原和 IAP 抑制剂免疫的

动物中分离的单克隆抗体产生更多的识别抗原的杂交瘤。同样,与从仅用抗原免疫的动物的抗血清分离的单克隆抗体相比,从用抗原和 IAP 抑制剂免疫的动物的抗血清分离的多克隆抗体的反应性更高。因而,使用 IAP 抑制剂增强单克隆抗体和 / 或多克隆抗体的产生可以提高商业部门中生产抗体的效率。在分离产生目的抗体的杂交瘤后,可以通过使该杂交瘤与 IAP 抑制剂接触而提高抗体的产生。因而,IAP 抑制剂被用于提高来自杂交瘤的单克隆抗体的产生。在具体实施方式中,IAP 抑制剂是式 I 或式 II 的化合物,如 LBW 242(N-[1-环己基-2-氧代-2-(6-苯乙基-八氢-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺)。

#### [0172] (G) 施用药物组合物的制剂和方法

[0173] 本发明也提供药物组合物。这些组合物包括治疗(或预防)有效量的 IAP 抑制剂和药学上可接受的载体或赋形剂。合适的药学上可接受的载体包括但不限于:盐水、缓冲盐水、右旋糖、水、甘油、乙醇及其组合物。载体和组合物可以是无菌的。制剂应当适合施用方式。

[0174] 短语“药学上可接受的载体”是本领域公认的且包括适合向哺乳动物施用的本发明的化合物的药学上可接受的材料、组合物或媒介物。载体可以包括用于从身体的一个器官或部分携带或转运主题剂到身体的另一器官或部分的液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料。各载体必须是“可接受的”,意思是与制剂的其它成分相容且对于受试者是无害的。可以用作药学上可接受的载体的材料的一些实例包括:糖类,如乳糖、葡萄糖、右旋糖和蔗糖;淀粉,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素及其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素、甲基纤维素和醋酸纤维素;黄耆胶(tragacanth)粉末;麦芽;明胶;滑石;赋形剂,如可可脂和栓剂蜡;油类,如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油、蓖麻油、四甘醇和豆油;二醇,如丙二醇;多元醇,如甘油、山梨糖醇、甘露醇和聚乙二醇;酯类,如油酸乙酯、聚乙二醇酯和月桂酸乙酯;琼脂;缓冲剂,如氢氧化镁、氢氧化钠、氢氧化钾、碳酸盐、三乙醇胺(triethylanolamine)、乙酸盐、乳酸盐、柠檬酸钾和氢氧化铝;褐藻酸;无热源水;等渗盐水;林格溶液(Ringer's solution);乙醇;磷酸盐缓冲液;和药物制剂中使用的其它无毒的相容的物质。

[0175] 润湿剂、乳化剂和润滑剂(如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁)、以及着色剂、脱模剂、包衣剂、甜味剂、调味剂和芳香剂、防腐剂和抗氧化剂也可以存在于组合物中。

[0176] 药学上可接受的抗氧化剂的实例包括:水溶性抗氧化剂,如抗坏血酸、盐酸半胱氨酸、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠等;油溶性抗氧化剂,如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基化羟基茴香醚(BHA)、二丁基羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 $\alpha$ -生育酚及其衍生物如维生素 E 生育酚等;和金属螯合剂如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸、柠檬酸钠等。

[0177] 合适的药学上可接受的载体包括但不限于:水、盐溶液(例如,NaCl)、醇、阿拉伯胶、植物油、苯醇、聚乙二醇、明胶、碳水化合物(如乳糖、直链淀粉或淀粉)、环糊精、硬脂酸镁、滑石、硅酸、粘性石蜡、芳香油、脂肪酸酯、羟甲基纤维素、聚乙基吡咯烷酮等。药物制剂可以是灭菌的,并且如果需要,与辅剂混合,例如润滑剂、防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、影响渗透压的盐、缓冲剂、着色剂、调味剂和 / 或芳族物质以及不与活性化合物有害反应的物质。药学上可接受的载体也可以包括张力调节剂如右旋糖、甘油、甘露醇和氯化钠。

[0178] 如果需要,组合物也可以包含微量的润湿剂或乳化剂或 pH 缓冲剂。组合物可以是液体溶液、悬浮液、乳剂、片剂、丸剂、胶囊、缓释制剂或粉末。组合物可以与常规的粘合剂和载体(如甘油三酯)一起被配制成栓剂。口服制剂可以包括标准的载体,如药物级别的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。

[0179] 组合物可以根据常规方法被配制为适合向人体口服、皮下或静脉施用的药物组合物。通常,用于皮下或静脉施用的组合物是处于无菌等渗水缓冲溶液中。在需要之处,组合物还可以包括增溶剂和局部麻醉药以减轻注射位点的疼痛。通常,成分被单独地提供或以单位剂型被混合在一起,例如作为标明活性剂的量的熔封容器(如安瓿或囊)中的干燥的冻干粉末或无水浓缩液。在通过输注施用组合物的情况下,组合物可以用包含无菌药物等级的水、盐水或右旋糖/水的输注瓶分配。在通过注射施用组合物的情况下,可以提供一针剂的无菌注射用水或盐水以使成分在施用前可以被混合。

[0180] 本发明的制剂包括那些适合皮下、静脉、口服、经鼻、局部、粘膜、经皮、口含、舌下、直肠、阴道和/或肠胃外施用的制剂。制剂可以方便地以单位剂型存在且可以通过药物领域熟知的任何方法制备。可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量通常将是产生治疗效果的化合物的量。通常,以百分之百计算,活性成分的这一量值将在约百分之一至约百分之九十九的范围内,优选约百分之 5 至约百分之 70,更优选约百分之 10 至约百分之 30。

[0181] 制备这些制剂或组合物的方法包括使本发明的化合物与载体和任选地一种或多种辅助成分相结合的步骤。一般而言,通过均匀地且紧密地使本发明的化合物与液体载体或精细分割的固体载体或两者相结合且然后(如果需要)将产物成形,而制备制剂。

[0182] 适合口服施用的本发明的制剂可以处于胶囊、扁囊剂、丸剂、片剂、锭剂(使用调味基料,通常为蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶)、粉末剂、颗粒剂的形式或作为水性或非水性液体溶液或悬浮液,或作为水包油或油包水液体乳剂,或作为酞剂或糖浆,或作为锭剂(使用惰性基料如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶)和/或作为口腔洗液等,各包含预定的量的本发明的化合物作为活性成分。本发明的化合物也可以作为药丸剂、药糖剂或糊剂施用。

[0183] 在用于口服施用的本发明的固体剂型(胶囊、片剂、丸剂、糖锭剂、粉末剂、颗粒剂等)中,活性成分与一种或多种药学上可接受的载体混合,载体如柠檬酸钠或磷酸氢二钙和/或任何以下载体:填充剂或增量剂,如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和/或硅酸;粘合剂,如例如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和/或阿拉伯胶;湿润剂,如甘油;崩解剂,如琼脂-琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、褐藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠;溶液阻滞剂,如石蜡;吸收促进剂,如季铵化合物;润湿剂,如例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯;吸收剂,如高岭土和膨润土;润滑剂,如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠及其混合物;和着色剂。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,药物组合物还可以包括缓冲剂。相似类型的固体组合物也可以在软填充和硬填充的明胶胶囊中用作填充剂,软填充和硬填充的明胶胶囊使用如乳糖(lactose)或乳糖(milk sugar)的这些赋形剂以及高分子量聚乙二醇等。

[0184] 可以任选地与一种或多种辅助成分一起通过压制或模制制备片剂。可以使用粘合剂(例如,明胶或羟丙甲基纤维素)、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、崩解剂(例如,羧甲基淀粉钠或交联羧甲基纤维素钠)、表面活性剂或分散剂来制备压制片剂。可以通过在合适的机

器中模制用惰性液体稀释剂弄湿的粉末状化合物的混合物制备模制片剂。

[0185] 本发明的药物组合物的片剂和其它固体剂型如糖锭剂、胶囊、丸剂和颗粒剂，可以任选地用包衣和外壳（如药物配制领域熟知的肠溶包衣和其它包衣）刻痕或制备。它们也可以被配制以提供其中活性成分的缓慢释放或控制释放，这是使用例如提供期望的释放性质的不同比例的羟丙甲基纤维素、其它聚合物基质、脂质体和 / 或微球而实现的。它们可以通过例如经滤菌器过滤或通过加入无菌固体组合物形式的无菌剂而为无菌的，所述无菌固体组合物可以在使用前立即溶于无菌水或一些其它无菌可注射介质。这些组合物也可以任选地包含遮光剂并且可以是这样的组合物：它们仅在（或优选地在）胃肠道的某部分任选地以延迟的方式释放活性成分。可以使用的植入组合物的实例包括多聚物质和蜡。活性成分也可以处于微囊形式，如果合适，可以含有一种或多种上述赋形剂。

[0186] 用于本发明的化合物的口服施用的液体剂型包括药学上可接受的乳剂、微乳剂、溶液、悬浮剂、糖浆和酏剂。除了活性成分，液体剂型可以包含本领域常用的惰性稀释剂，如，例如，水或其它溶剂，增溶剂和乳化剂，如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苜醇、苯甲酸苜酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油类（特别是，棉籽、落花生、玉米、胚芽、橄榄、蓖麻和芝麻的油）、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和去水山梨糖醇脂肪酸酯，及其混合物。

[0187] 除了惰性稀释剂，口服组合物也可以包括佐剂如湿润剂、乳化剂和助悬剂、甜味剂、调味剂、着色剂、芳香剂和防腐剂。

[0188] 悬浮剂，除了包含活性化合物，可以包含悬浮剂 (suspending agents)，如例如，乙氧基异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝 (aluminum metahydroxide)、膨润土、琼脂 - 琼脂和黄蓍胶，及其混合物。

[0189] 用于直肠或阴道施用的本发明的药物组合物制剂可以作为栓剂存在，所述栓剂可以通过混合一种或多种本发明的化合物与一种或多种合适的无刺激性赋形剂或载体来制备，所述无刺激性赋形剂或载体包括例如，可可脂、聚乙二醇、栓剂蜡或水杨酸盐，并且栓剂在室温是固体，但在体温下是液体，并且因此将在直肠或阴道腔内融化并释放活性化合物。

[0190] 适合阴道施用的本发明的制剂还包括包含已知为本领域合适的那些载体的阴道栓剂、卫生塞、乳膏、凝胶剂、糊剂、泡沫剂或喷雾剂制剂。

[0191] 用于局部或经皮施用本发明化合物的剂型包括粉末剂、喷雾剂、软膏、糊剂、乳膏、洗剂、凝胶剂、溶液、贴剂和吸入剂。在无菌条件下将活性成分与药学上可接受的载体和可能需要的任何防腐剂、缓冲剂或推进剂混合。

[0192] 软膏、糊剂、乳膏和凝胶可以除了本发明的活性化合物外还包含赋形剂，如动物和植物脂肪、油、蜡、石蜡、淀粉、黄蓍胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅酮、膨润土、硅酸、滑石和氧化锌，或其混合物。

[0193] 粉末剂和喷雾剂除了本发明的化合物外还可以包含赋形剂，如乳糖、滑石、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙和聚酰胺粉末，或这些物质的混合物。喷雾剂可以另外包含惯用的推进剂（如氯氟烃）和挥发性未取代的烃（如丁烷和丙烷）。

[0194] 透皮贴剂具有向身体受控递送本发明的化合物的附加优势。可以通过将化合物溶解或分散在合适的介质中制备这些剂型。吸收促进剂也可以用于提高化合物跨过皮肤的通量。该通量的速率可以通过提供速率控制膜或将活性化合物分散在聚合物基质或凝胶中来控制。

[0195] 眼用制剂、眼膏、粉末、溶液等也被考虑在本发明的范围之内。

[0196] 适合肠胃外施用的本发明的药物组合物包括一种或多种本发明的化合物以及一种或多种药学上可接受的无菌等渗水性或非水性溶液、分散液、悬浮液或乳液，或可以在使用前被重新配制成无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末，其可以包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂、使得制剂与预定的接受者的血液等渗的溶质或助悬剂或增稠剂。

[0197] 可以用于本发明的药物组合物的合适的水性和非水性载体的实例包括水、乙醇、多元醇（如甘油、丙二醇、聚乙二醇等）及其合适的混合物，植物油（如橄榄油）和可注射有机酯（如油酸乙酯）。例如通过使用包衣材料诸如卵磷脂，通过在分散液的情况下维持需要的粒径和通过使用表面活性剂，可以维持合适的流动性。

[0198] 这些组合物也可以包含佐剂如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。可以通过包括各种抗菌剂和抗真菌剂来确保防止微生物的活动，例如对羟基苯甲酸酯（paraben）、氯丁醇、苯酚山梨酸等。也可以期望在组合物中包括等渗剂，如糖、氯化钠等。此外，通过包含延迟吸收剂（如单硬脂酸铝和明胶）可以引起可注射药物形式的延长的吸收。

[0199] 在一些情况下，为了延长药物的效果，期望减慢从皮下或肌肉注射的药物的吸收。这可以通过使用具有较差水溶性的晶体或非晶体物质的液体悬浮液完成。那么药物的吸收速率取决于其溶解速率，而其取决于晶体大小和晶体形式。可选地，肠胃外施用的药物形式的延迟吸收是通过将药物溶解或悬浮在油媒介物中完成的。

[0200] 通过在可生物降解的聚合物（如聚乳酸-聚乙醇酸交酯）中形成主题化合物的微囊基质来制备可注射的贮藏形式。取决于药物与聚合物的比例和使用的特定聚合物的性质，可以控制药物释放的速率。其它可生物降解的聚合物的实例包括聚（原酸酯）和聚（酐）类。通过在与身体组织相容的脂质体或微乳剂中包入药物，也可以制备可注射的贮藏制剂。

#### [0201] 试剂盒

[0202] 有利地，本发明也提供用于治疗或预防疾病的消费者使用的试剂盒。试剂盒包括 a) 包含 IAP 抑制剂（例如，式 I 或式 II 的化合物，例如，LBW 242）和药学上可接受的载体、媒介物或稀释剂的药物组合物；和任选的， b) 描述使用用于治疗或预防特定疾病的药物组合物的方法的使用说明。在示例性的实施方式中，这些使用说明描述了使用用于增强免疫应答的药物组合物的方法。在另一示例性的实施方式中，这些使用说明描述了使用用于治疗或预防癌症的药物组合物的方法。在另一示例性的实施方式中，这些使用说明描述了增强免疫细胞的免疫活性的方法。本发明的试剂盒可以进一步包含施用的抗原或与药物组合物联合使用的抗原。

[0203] 本申请中使用的“试剂盒”包括用于包含单独的单位剂型（如分开的小瓶或分开的箔包）的容器。该容器由药学上可接受的材料制成，可以处于本领域已知的任何常用的形状或形式，例如纸盒或纸板盒，玻璃或塑料的瓶或罐，可再密封的袋（例如以盛装用于放入不同容器中的“再填充”片剂）或用于根据治疗方案压出包装的含单个剂量的吸塑包装（blister pack）。使用的容器可以取决于所涉及的确切剂型，例如常规的纸板盒将一般不被用于盛液体悬浮液。可行的是可以在单包装中一起使用多于一个容器以售出单一剂型。例如，片剂可以被包含在瓶中，瓶进而被包含在盒中。

[0204] 该试剂盒的实例是所谓的吸塑包装。吸塑包装在包装业中是熟知的且被广泛地用

于包装药物的单位剂型（片剂、胶囊等）。吸塑包装通常由一片用优选透明的塑料材料的箔片覆盖的相对硬质的材料组成。在包装过程中，在塑料箔片中形成凹处。凹处具有待包装的单个片剂或胶囊的大小和形状，或可以具有容纳多个待包装的片剂和 / 或胶囊的大小和形状。接下来，将片剂或胶囊相应地置于凹处，并将相对硬质的材料片在与凹处形成相反的方向的箔片的面上对着塑料箔片密封。结果是，在塑料箔片和片之间的凹处，按需要，片剂或胶囊被单独密封或集体密封。优选地，片的强度是这样的：通过在凹处用手施加压力由此在凹处的地方在片中形成开口，可以从吸塑包装中取出片剂或胶囊。然后片剂和胶囊可以经所述开口取出。

[0205] 期望提供书面记忆辅助器 (memory aid)，其中书面记忆辅助器是这样的类型：包含医师、药剂师或受试者的信息和 / 或使用说明，例如以紧靠片剂或胶囊的数字形式（由此这些数字对应如此指定的片剂或胶囊应该被摄入的疗程天数）或以包含相同的信息类型的卡片形式。这种记忆辅助器的另一实例是印在卡片上的日历，例如，如下“第一周，周一、周二”……等……“第二周，周一、周二…”等。记忆辅助器的其它变型将是容易地明显的。“每日剂量”可以是在给定的一天服用的单个片剂或胶囊或几个片剂或胶囊。

[0206] 试剂盒的另一特定的实施方式是被设计成一次一个分配每日剂量的分配器。优选地，分配器安装有记忆辅助器，以进一步促进遵照疗程。这种记忆辅助器的实例是机械计数器，其显示已经被分配的每日剂量的数目。这种记忆辅助器的另一实例是与液晶读数器或可听提醒信号偶合的电池供电的微芯片存储器，其例如读出已服用的最后的每日剂量的日期和 / 或当服用下一剂量时提醒某人。

[0207] 通过以下实施例进一步说明本发明，这些实施例不应被解释为是限定性的。

## 实施例

[0208] 实施例 1：胚胎胸腺器官培养 (FTOC) 中的 NKT 细胞的发育被 IAP 抑制剂的治疗所阻断

[0209] 为了研究 IAP 家族成员在 NKT 细胞发育中的作用，获得内源性 IAP 抑制剂第二线粒体促凋亡激活因子 (second mitochondrial activator of apoptosis, SMAC) 的药理学模拟物。三种化学上不同的抑制剂被用于大多数实验。该抑制剂的一种 -LBW-242 是 IAP 家族成员的强效抑制剂，其以亚微摩尔浓度 ( $IC_{50} = 280nM$ ) 结合 XIAP BIR 结构域。LBW-242 被用于大多数实验性重复。

[0210] 使用胚胎胸腺器官培养 (FTOC) 研究 NKT 细胞发育。在三种不同的 IAP 抑制剂、对照化合物或媒介物 (PBS) 的存在下培养来自 C57BL/6 小鼠的胚胎期为第 16.5 天的胚胎。14 天之后，收集培养物并通过流式细胞术分析。如图 1 所示，胚胎胸腺器官培养 (FTOC) 中的 NKT 细胞的发育被 IAP 抑制剂的治疗阻断。图 1A 描述了用 IAP 抑制剂 (SMAC 模拟物) 处理 14 天的 FTOC 中的胸腺总量的定量。如图 1A 中所示，用 IAP 抑制剂处理 FTOC 导致 CD4+T 细胞适度地减少，对培养物大小或对 CD8+ 和双阳性 T 细胞不具有一致的作用。在多个实验中，在 FTOC 培养过程中对 IAP 家族成员的抑制完全以剂量依赖方式阻止 NKT 细胞发育，如图 1B-D 所示。图 1B 描述了为 LBW-242 浓度的函数的第 14 天单阳性胸腺细胞的发育。图 1C 呈现使用载有  $\alpha$ -半乳糖酰基鞘胺醇的 CD1d 四聚体和抗 -CD3 的 FTOC 第 14 天的流式细胞术分析。用于各培养物的处理在相应的作图上方写明。数据代表了四个独立实验。图 1D 表

示对来自使用 IAP 抑制剂的几个独立实验的 NKT 细胞发育的定量。图 1E 描述了为 LBW-242 剂量的函数的自第 14 天 FTOC 回收的 NKT 细胞的百分比。对 IAP 家族成员的抑制对 CD1d 的表达或对 FOXP3 阳性 T 细胞或  $\gamma$   $\delta$  T 细胞的发育不具有一致的作用。如图 1 中所用, SMAC 模拟物 3 是 LBW-242 ;SMAC 模拟物 1 和 2 是具有比 LBW-242 更高效力的其它 IAP 抑制剂化合物。使用的 LBW-242 和对照化合物为 500nM。使用的 SMAC 模拟物 1 和 2 为 100nM。在胚胎期第 16.5 天, C57BL/6 胚胎被用于所有的培养。

[0211] 实施例 2 :对 IAP 家族成员的抑制不致敏成熟的 CD4+T 细胞发生凋亡

[0212] 评估了 IAP 家族成员在成熟 NKT 细胞存活中的作用。将来自 BALB/c 小鼠的源自脾的 CD4+T 细胞用抗 -CD3 和抗 -CD28 激活 24 小时且然后通过流式细胞术分析。如图 2 所示, 对 IAP 家族成员的抑制不致敏 CD4+T 细胞发生凋亡。将  $2 \times 10^6$  个 BALB/c 脾 CD4+T 细胞用在 RPMI 中的抗 -CD3 和抗 -CD28 刺激。24 小时之后, 通过台盼蓝排除法定量有活力的细胞, 且将得到的细胞计数描述在图 2A 中。使用流式细胞术用锚定蛋白 V(annexin V) 和 7-AAD 在图 2A 的培养物中对凋亡细胞定量 (结果描述在图 2B 中)。使用的 LBW-242 和对照化合物为 500nM。用 IAP 抑制剂处理 CD4+T 细胞不改变 T 细胞总数, 也不促使凋亡, 如图 2A-B 所示。在图 2A 的培养物中使用抗 -CD3 和载有  $\alpha$  - 半乳糖酰基鞘胺醇的 CD1d 四聚体识别 NKT 细胞。在培养物中 NKT 细胞仍以正常频率可测, 如图 2C 所示。在不存在刺激的情况下, 对 IAP 家族成员的抑制也不会对凋亡具有可识别的影响。

[0213] 实施例 3 :对 IAP 家族成员的抑制增强来自激活的 T 细胞的细胞因子的分泌

[0214] 为了确定 IAP 抑制在 NKT 细胞中的功能性结果, 将来自 BALB/c 小鼠的脾细胞用 NKT 细胞特异性激动剂  $\alpha$  - 半乳糖酰基鞘胺醇 ( $\alpha$  - galcer) 刺激。令人惊奇地,  $\alpha$  - 半乳糖酰基鞘胺醇刺激的用 IAP 抑制剂处理的脾细胞显示 IFN- $\gamma$  (干扰素  $\gamma$ ) 和 IL-2 (白细胞介素 -2) 的分泌增加, 如图 3A-B 所示。将  $5 \times 10^5$  个 BALB/c 来自三只单独的小鼠的脾细胞在含  $\alpha$  - 半乳糖酰基鞘胺醇的 RPMI 中在 LBW-242 或对照化合物的存在下培养。48 小时之后, 通过 ELISA 在培养上清液中测量细胞因子水平, 且将结果描述在图 3A (IFN  $\gamma$ ) 和图 3B (IL-2) 中。在用抗 -CD3 和抗 -CD28 刺激的未分级 (unfractionated) 的 BALB/c 或 C57BL/6CD4+T 细胞中观察到对 IL-2 的产生的相似的剂量依赖性作用, 如图 3C-D 中显示。在存在 LBW-242 或对照化合物的情况下将来自 BALB/c 小鼠的  $10^5$  个脾 CD4+T 细胞在包含抗 -CD3 和抗 -CD28 或同种型对照的 RPMI 中培养 48 小时。在培养上清液中通过 ELISA 测定 IL-2 水平, 如图 3C 中所示。使用图 3C 中描述的条件对于 LBW-242 的剂量响应曲线被描述在图 3D 中。使用的 LBW-242 和对照化合物为 500nM。在不存在刺激的情况下没有观察到 IAP 抑制的作用。重要的是, 甚至在存在泛 - 胱天蛋白酶抑制剂 ZVAD-FMK 的情况下, CD4+T 细胞的 SMAC 模拟物处理也会导致增强的细胞因子的产生, 表明观察的作用不是胱天蛋白酶的抑制的释放的结果。

[0215] 因为在 T 细胞中观察到的 IAP 抑制的作用可能仍取决于 NKT 细胞功能的改变, 所以在 NKT 细胞缺陷的 CD1d 敲除的 C57BL/6 小鼠中评估了 IAP 抑制的结果。在 IAP 抑制剂的存在下用抗 -CD3 和抗 -CD28 刺激 CD1d 敲除的 CD4+T 细胞导致不能区别于 WT 动物的 IL-2 的产生, 表明由对 IAP 家族成员的抑制所引起的来自激活的 T 细胞的增强的细胞因子的分泌是非 NKT 细胞依赖的 (图 4)。在 LBW-242、M2 或对照化合物的存在下, 将来自野生型 (WT) 和 CD1d 敲除 (KO) 的 C57BL/6 小鼠的脾的 CD4+T 细胞在含抗 -CD3 和抗 -CD28 的 RPMI 中

培养 48 小时。通过 ELISA 在培养上清液中测定 IL-2 水平,如图 4 中所示。IAP 抑制的作用不限于 CD4+T 细胞,因为在 IAP 抑制剂的存在下刺激之后 CD8+T 细胞相似地产生过量的 IFN- $\gamma$  和 IL-2(图 5)。在 LBW-242 或对照化合物的存在下,将来自 C57BL/6 小鼠的 CD8+T 细胞在含抗 -CD3 和抗 -CD28 的 RPMI 中培养 48 小时。通过 ELISA 在培养上清液中测定细胞因子水平。如图 5 中所示,来自激活的 CD8+T 细胞的细胞因子的产生被 IAP 抑制扩大。

[0216] 实施例 4:人 CD4+T 细胞对 IAP 抑制剂应答

[0217] 大多数 IAP 家族的成员在人和小鼠之间是高度保守的,表明前述的在小鼠中的观察结果也可能适用于激活的人细胞。为了解决这一可能性,从几个健康的志愿者的外周血液中纯化 CD4+T 细胞,并在 IAP 抑制剂的存在下用抗 -CD3 和抗 -CD28 刺激。如小鼠中所观察的那样,对 IAP 家族成员的抑制导致来自激活的 CD4+T 细胞的 IL-2 的分泌呈剂量依赖性增加;也如在小鼠中所观察的, IAP 抑制对静息细胞没有明显的作用(图 6A-B)。从健康供者的外周血液中纯化  $10^5$  个 CD4+T 细胞,并在 IAP 抑制剂 (M2、M3 和 M4) 或对照化合物 (M1) 的存在下用抗 -CD3 和抗 -CD28 或同种型对照抗体刺激 48 小时。通过 ELISA 测定 IL-2,如图 6A 中所示。使用的 M1 和 M4 (LBW-242) 为 500nM。使用的 M2 和 M3 为 100nM。图 6B 显示使用来自不同供者的 CD4+T 细胞和图 6A 描述的方案的对于 LBW-242 的剂量响应曲线。

[0218] 用环孢霉素对神经钙蛋白的药理学阻断能够阻断与 IAP 抑制相关的增强的 IL-2 的产生。相反,用雷帕霉素抑制 Akt 途径能够降低总的 IL-2 的产生,但不能防止在 IAP 抑制过程中 IL-2 产生的增强(图 6C)。在 IAP 抑制剂或对照化合物的存在下用西莫罗斯(雷帕霉素)或环孢霉素刺激人 CD4+T 细胞,并且产生的 IL-2 水平显示在图 6C 中。

[0219] 实施例 5:在 T 细胞激活过程中对 IAP 家族成员的抑制导致通过 JNK 和 NF- $\kappa$  B 途径的信号传导增强

[0220] 为了研究连接 IAP 抑制与增强的激活依赖性细胞因子的产生的机理,通过 Western 印迹评估 IAP 抑制对受刺激的 CD4+T 细胞中 JNK 磷酸化和 I $\kappa$  B 降解的影响。JNK 和 NF- $\kappa$  B 途径在 IAP 抑制的 T 细胞中被更快地激活,如图 7 中所示。在 500nM LBW-242 或对照化合物 (LCV-843) 的存在下用抗 -CD3 和抗 -CD28 刺激  $2 \times 10^6$  个 CD4+T 细胞的重复培养物持续标明的时间段。合并重复培养物并对于标明的蛋白通过 Western 印迹分析细胞溶解产物。PDI 被用作内参照 (loading control)。虽然已经报道 cIAP2 是 bcl-10 的泛素连接酶, IAP 抑制不导致在激活的 T 细胞中 bcl-10 水平的可测的变化。在不存在刺激的情况下,在用 IAP 抑制剂处理的 T 细胞中未观察到 JNK 磷酸化和 I $\kappa$  B 降解的变化。

[0221] 实施例 6: IAP 抑制剂广泛地增强免疫细胞的激活

[0222] 因为 JNK 和 NF- $\kappa$  B 途径在广范围的免疫受体的信号传导下游中起重要作用,我们分析了 IAP 抑制剂在几个其它免疫群体中的作用。用抗 -IgM 和抗 -CD40 刺激的 IAP 抑制的 B 细胞与对照细胞相比产生的 IL-6 增加,如图 8A 所示。在 LBW-242 或对照化合物的存在下,将  $2 \times 10^6$  个 B 细胞与抗 -IgM 和抗 -CD40 一起培养 96 小时。通过 ELISA 在培养基上清液中测定 IL-6。此外,在 IAP 抑制之后部分激活的(即,通过簇破坏)源自骨髓的树突细胞 (DC) 产生 IL-12p40 的增加;也在用 LPS 或 CpG 刺激的 IAP 抑制的 DC 中观察到这种效应(图 8B)。在 LBW-242 或对照化合物的存在下,将  $4 \times 10^4$  个部分激活的源自骨髓的树突细胞与图 8B 中显示的刺激物一起培养 24 小时。在培养上清液中通过 ELISA 测定 p40。对于图 8 中描述的两个实验,使用 LBW-242 和对照化合物为 500nM。当与 IAP 抑制剂共同处理时,

也发现用 LPS 处理的腹膜巨噬细胞分泌的 IL-6 增加。

[0223] 实施例 7 :对 IAP 家族成员的抑制增加同种异体反应性

[0224] 考虑到 IAP 的抑制增强免疫细胞的激活的广泛的能力,检验了 IAP 抑制剂对异型应答的作用。在 LBW-242 或对照化合物 (LCV-843) 的存在下,将来自 BALB/c 小鼠的  $4 \times 10^5$  个脾细胞与  $8 \times 10^5$  个受辐照的 C57BL/6 脾细胞一起培养。六天后,收集培养物并分析细胞因子的产生和脾细胞的增殖。用 LBW-242 处理的培养物显示显著增强的 IFN- $\gamma$  分泌;然而,IL-2 水平被显著地降低,如图 9A 中所说明。通过 ELISA 在细胞上清液中测定细胞因子。使用 LBW-242 和对照化合物为 500nM。在图 9A 中描述的培养结束时,通过台盼蓝排除法计算有活力的细胞总数,且免疫细胞亚群使用图 9B 中显示的标志物通过流式细胞术鉴定。考虑到图 9A 中描述的培养物也显示显著的 CD4T 细胞增殖(图 9B),IL-2 的下降可能由于细胞因子的消耗。在 IAP 抑制的培养物中发生大量的 B 细胞增殖(图 9B)。

[0225] IAP 抑制的激活增强效应易被逆转;在同种异体反应性 T 细胞中,不考虑之前的培养条件,在不存在抑制剂的情况下,使用抗 -CD3 的二次刺激导致等同的应答(图 10)。回收在六天混合的淋巴细胞反应中刺激的细胞,并用抗 -CD3 再刺激 48 小时。在培养上清液中通过 ELISA 测定细胞因子。图 10 中标明的样品标签是指在初次刺激过程中使用的处理。

[0226] 实施例 8 :CD4+T 细胞中 SMAC 结合蛋白 MLIAP 的过表达导致刺激之后 IL-2 的产生减少

[0227] 还检验了 ML-IAP(内源性 SMAC 结合蛋白)的过表达是否能够改变 T 细胞对激活刺激物的应答。作为对抗 -CD3 和抗 -CD28 刺激的应答,ML-IAP 转基因 BALB/c T 细胞分泌降低水平的 IL-2,且这一效应可通过 IAP 抑制被调节,如图 11 中所示。在 LBW-242 或对照化合物的存在下,将来自 BALB/cWT 或 MLIAP 转基因(IAP)小鼠的  $10^5$  个 CD4+T 细胞在含抗 -CD3 和抗 -CD28 的 RPMI 中培养 48 小时。通过 ELISA 在培养上清液中测定 IL-2 水平。

[0228] 实施例 9 :XIAP 敲除(KO)的 T 细胞耐 SMAC- 模拟物处理

[0229] 为了确立对 T 细胞激活的 IAP- 依赖效应的特异性,将来自 XIAP 缺陷的小鼠的 T 细胞在 LBW-242 或对照化合物 LCV-843 的存在下激活。在基线处,XIAP 缺陷的 T 细胞分泌 IL-2 且水平与 WT 动物相当;然而,XIAP 缺陷的细胞耐 SMAC- 模拟物处理,在用 LBW-242 处理之后仅显示细胞因子分泌的较少增加(图 12)。如图 12A 所示,在 LBW-242 或对照化合物 LCV-843 的存在下,将来自 C57BL/6WT 或 XIAP KO 小鼠的  $10^5$  个 CD4+T 细胞在含抗 -CD3 和抗 -CD28 的 RPMI 中培养 48 小时。通过 ELISA 在培养上清液中测定 IL-2 水平。图 12B 描述了由在 LBW-242 存在下刺激的 CD4+T 细胞产生的 IL-2 与在 LCV-843 的存在下刺激的 CD4+T 细胞产生的 IL-2 的比率。这些结果表明 XIAP 在使 T 细胞对 SMAC 模拟物处理致敏中起重要作用。

[0230] 实施例 10 :在体内接种之后 IAP 抑制剂增强免疫激活并提高保护性免疫

[0231] 为了检测 IAP 抑制剂在体内对免疫激活的效应,在后续的攻击之前联合向小鼠施用 LBW-242 和疫苗。在单一口服剂量的 LBW-242 (150mg/kg) 的存在或不存在下,在第 14 天和第 7 天向小鼠施用受辐照的 B16 小鼠黑色素瘤细胞(疫苗)。在第 0 天将活的 B16 肿瘤细胞植入到小鼠中(攻击)。在活细胞植入后的第 7、10、13 和 16 天测定肿瘤体积。如图 13 所示,在用活的 B16 细胞攻击之后,与单独接受 LBW-242 或 B16 疫苗的小鼠相比,联合接受 IAP 抑制剂 LBW-242 与 B16 疫苗的小鼠具有减少的肿瘤负荷。这一数据表明:联合施用

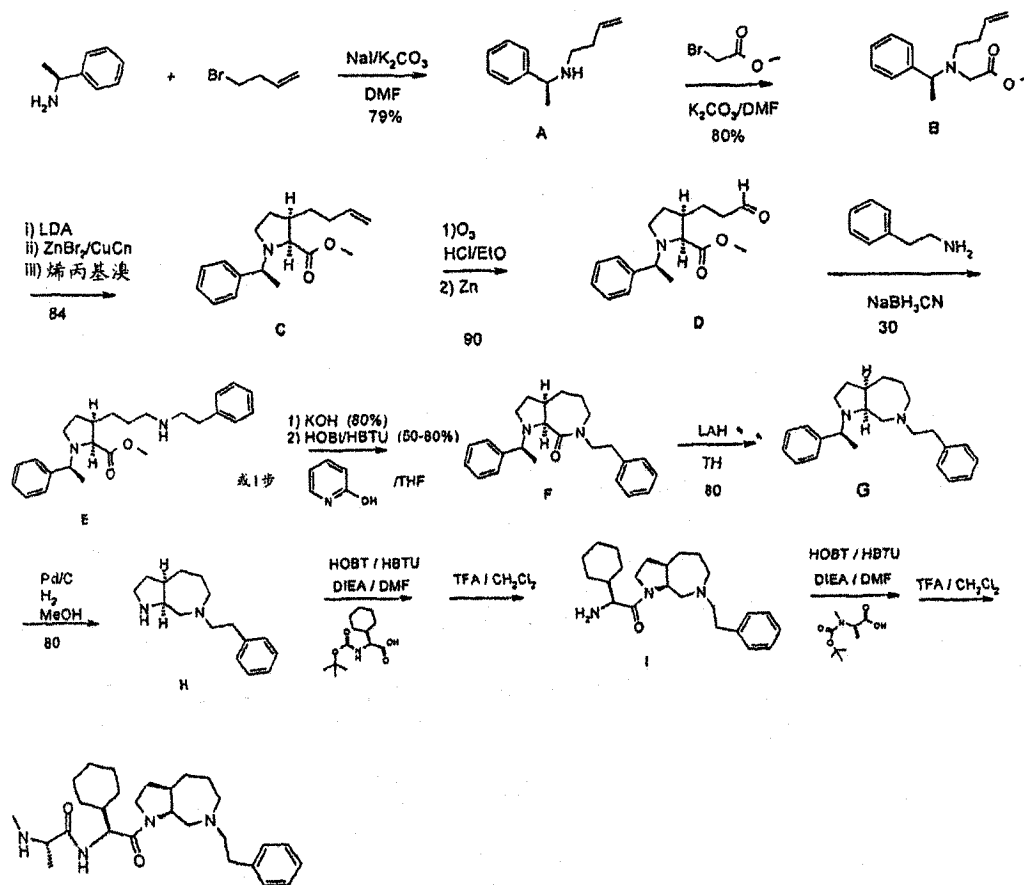
IAP 抑制剂与抗原提高免疫激活, 增强保护性免疫。

[0232] 实施例 11: 本发明的 IAP 抑制剂的合成

[0233] 下面描述的是 LBW 242 (N-[1-环己基-2-氧代-2-(6-苄乙基-八氢-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-乙基]-2-甲基氨基-丙酰胺) 的合成步骤。

[0234] 类似的合成过程可以被用于制备本发明的其它 IAP 抑制剂。

[0235]



[0236] 丁-3-烯基-((S)-1-苯基-乙基)-胺 (A): 在 0°C 以小份向 S-(−)-1-苯基乙胺 (15.75g, 130mmol) 在 150mL 的 DMF 中的溶液加入 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (53.9g, 390mmol)。在 0°C 搅拌 10min 之后, 滴加 4-溴丁烯 (13.5g, 100mmol) 并随后以小份加入 NaI (58.5g, 390mmol)。将反应混合物, 白色悬浮液, 加热至 95°C 并搅拌过夜 / 16 小时。将溶液冷却至室温并用 200mL 的乙醚稀释, 并用 3x100ml 的水洗涤。将有机层在 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上干燥并浓缩。通过蒸馏纯化粗产物 (高真空下 65-70°C) 以产生无色液体 (13.5g, 76.7%)。

[0237] [丁-3-烯基-((S)-1-苯基-乙基)-氨基]-乙酸乙酯 (B): 在 0°C 以小份向丁-3-烯基-((S)-1-苯基-乙基)-胺 (6.37g, 36.4mmol) 在 150mL 的 DMF 中的溶液加入 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10.0g, 72.8mmol)。在 0°C 搅拌 10min 之后, 缓慢加入溴乙酸乙酯 (8.35g, 54.6mmol)。将反应混合物, 白色悬浮液, 在室温搅拌过夜 / 16 小时。将溶液用 200mL 的乙醚稀释, 并用 3x100ml 的水洗涤。将粗产物通过色谱法纯化 (己烷/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:50/50) 以得到浅白色液体 (8.5g, 94.5%)。

[0238] (2S,3R)-3-丁-3-烯基-1-((S)-1-苯基-乙基)-吡咯烷-2-羧酸乙酯 (C): 在 -40°C 向二异丙胺 (3.6g, 35.7mmol) 在 THF (80mL) 中的溶液缓慢加入 BuLi (14.28mL,

35.7mmol, 己烷中 2.5M)。将溶液升温至 0℃并搅拌 30min 以形成 LDA 溶液。将 LDA 溶液冷却至 -70℃并在 -70℃缓慢加到 [丁-3-烯基-((S)-1-苯基-乙基)-氨基]-乙酸乙酯 (7.8g, 29.8mmol) 在 THF (80mL) 中的溶液中。将浅黄色的反应溶液在 -20℃搅拌 30min 以成为深黄色溶液, 且然后冷却至 -70℃。在 -70℃向该溶液滴加乙醚 (50mL) 中的 ZnBr<sub>2</sub> (16.76g, 74.5mmol)。在室温搅拌 1.5hr 之后, 将反应溶液冷却至 0℃并缓慢加入 CuCN (3.47g, 38.74mmol) 和 LiCl (3.29g, 77.48mmol) 在 THF (80mL) 中的溶液。在 0℃搅拌 10min 之后, 将烯丙基溴 (7.26g, 60mmol) 滴加到反应溶液中并非常缓慢地升温至室温。在室温搅拌过夜之后, 通过加入 60mL 的饱和 NH<sub>4</sub>Cl 将反应猝灭并用 3×150mL 的乙醚萃取。将合并的有机层浓缩。将粗产物通过色谱法纯化 (己烷/EtOAc:85/15) 以得到无色液体 (7.4g, 82.6%)。(使用前在 150℃在高度真空下干燥 ZnBr<sub>2</sub> 1 小时。)

[0239] (2S,3R)-1-((2E,4Z)-(S)-1,2-二甲基-己-2,4-二烯基)-3-(3-氧代-丙基)吡咯烷-2-羧酸乙酯 (D): 将 (2S,3R)-3-丁-3-烯基-1-((S)-1-苯基-乙基)-吡咯烷-2-羧酸乙酯 (1.0g, 3.32mmol) 溶解在含有 HCl (0.5mL, 37%) 的 EtOH (10mL) 中并冷却至 -70℃。将臭氧气体鼓泡通过溶液持续约 10min 或直到溶液变成非常浅的蓝色。将氮气鼓泡通过溶液约 15min 以除去溶液中过量的臭氧。向冷却的溶液中加入 Zn 粉 (0.43g, 6.6mmol) 和 HCl (0.5mL, 37%), 并在室温搅拌 20min。过滤之后将溶液用 50mL 的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 稀释并用饱和的 NaHCO<sub>3</sub> (10mL) 和 2x20mL 的水洗涤。干燥和浓缩之后, 获得无色液体 (1.0g), 不经进一步纯化用于下一步反应。

[0240] (2S,3R)-3-(3-苯乙基氨基-丙基)-1-((S)-1-苯基-乙基)-吡咯烷-2-羧酸乙酯 (E): 在室温向 (2S,3R)-1-((2E,4Z)-(S)-1,2-二甲基-己-2,4-二烯基)-3-(3-氧代-丙基)吡咯烷-2-羧酸乙酯 (1g, 粗品) 在 EtOH (10mL) 中的溶液加入苯乙胺 (0.44g, 3.65mmol)。在室温搅拌 30min 之后, 一次性加入 NaBH<sub>3</sub>CN (0.3g, 4.87mmol)。在室温搅拌 1.5 小时之后, 将反应溶液用 50mL 的乙醚稀释并用 20mL 的盐水洗涤。将醚层浓缩并将粗产物通过色谱法纯化 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH:97/3) 以得到浅色液体 (405mg, 30.0%)。

[0241] (3aS57aS)-6-苯乙基-1-((S)-1-苯基-乙基)-八氢-吡咯并 [2,3-c] 吡啶-7-酮 (F): 将 (2S,3R)-3-(3-苯乙基氨基-丙基)-1-((S)-1-苯基-乙基)-吡咯烷-2-羧酸乙酯 (340mg, 0.83mmol) 溶解在 20mL 的 MeOH/KOH/H<sub>2</sub>O (10mL/5g/5mL) 中。在 80℃搅拌 2 小时之后, 将溶液冷却至 0℃并通过加入 HCl (37%) 中和至 pH = 5。浓缩之后将粗产物溶解在 1mL 的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中并滤过短的硅胶塞并用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (93/7) 洗脱以得到为浅色玻璃状固体的酸 (250mg, 78.9%)。

[0242] 在室温下向 (0.05-0.1M) 的酸 (1 当量) 在 DMF 中的溶液中加入二异丙基乙胺 (5 当量)。在室温搅拌 20min 之后, 将 (0.05-0.1M) 的 HOBT (1.2 当量) 和 HBTU (1.2 当量) 在 DMF 中的溶液加到反应混合物中, 且继续搅拌 1.5h (或由 TLC 监测)。将反应溶液用乙醚稀释 (1×按溶液体积的 5-10 倍) 并用水洗涤 (2×按溶液体积的 3 倍)。将合并的有机溶液浓缩。将粗产物用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 稀释并在 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上干燥并通过色谱法纯化 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH:97/3) 以得到纯的产物 (70-95% 收率)。

[0243] 使用 2-羟基吡啶的化合物 F 的步骤: 将 (2S,3R)-3-(2-苯乙基氨基-乙基)-1-((S)-1-苯基-乙基)-吡咯烷-2-羧酸甲酯 (400mg, 1.05mmol) 和 2-羟基吡啶 (100mg, 1.05mmol) 在 THF (10mL) 中的溶液在 40℃搅拌 24 小时。将反应用 50mL 的乙醚稀

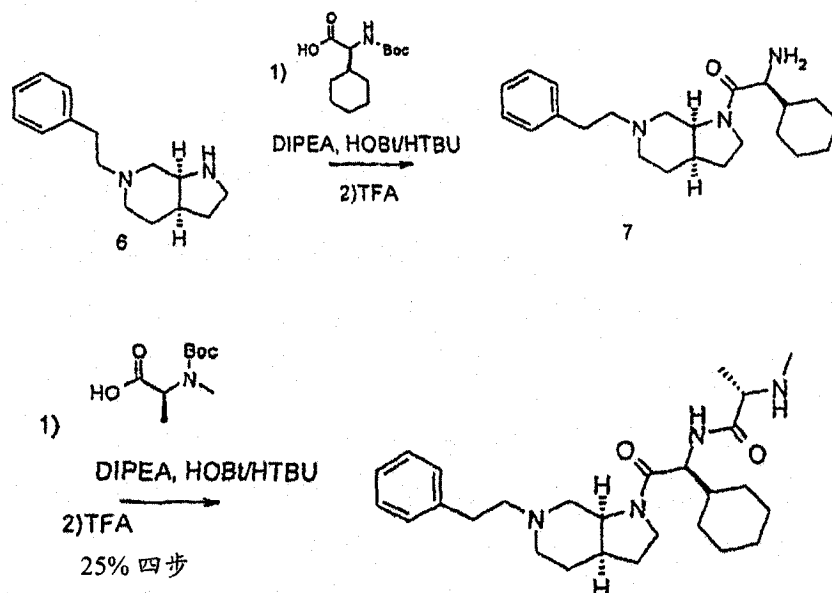
释,并用 2x120ml 的水洗涤。干燥和浓缩之后,获得浅色液体 (350mg),不经进一步纯化用于下一步反应。

[0244] (3aR,8aS)-7-苯乙基-1-((S)-1-苯基-乙基)-十氢-吡咯并[2,3-c]氮杂卓(G):在-20℃向内酰胺(1当量)在THF中的溶液(0.02M)缓慢加入LiAlH<sub>4</sub>(2当量)在THF中的溶液(0.02M)。在室温搅拌1.5小时之后,将溶液用乙醚稀释(1x按溶液体积的5倍)并用水洗涤(2×按溶液体积2倍),干燥并浓缩。将粗产物通过色谱法纯化(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH:97/3)以得到产物(收率70-90%)。

[0245] (3aR,8aS)-7-苯乙基-十氢-吡咯并[2,3-c]氮杂卓(H):在室温下,将1000ml圆底烧瓶中反应物(<1g)和10%Pd的钯碳(按重量计20%)在MeOH(10mL,含2滴乙酸)中的溶液/悬浮液在来自气球的氢气(大气压力)下剧烈搅拌4-8小时。通过放入真空脱气10min之后,将反应混合物过滤以除去催化剂并浓缩。将粗产物用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O(8/2,合理的量)稀释并用10%NH<sub>4</sub>OH中和至pH=7-8。干燥和浓缩之后,获得产物(80%的量的产率),不经纯化用于下一步反应。

[0246] LBW 242:使用下面描述的路线从化合物H制备:

[0247]



[0248] 化合物(7):向6在二氯甲烷(25mL)中的溶液顺序地加入二异丙基乙胺(4.17mL,24mmol)、t-Boc-L-环己基甘氨酸(1.54g,6mmol)和0.45M HOBt/HBTU在DMF(16mL,7.19mmol)中的溶液。将混合物在室温搅拌过夜,然后用EtOAc(200mL)稀释并用1M柠檬酸水溶液(50mL)、水(50mL)、饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(50mL)和盐水(2x50mL)顺序地洗涤。将有机层干燥并在真空下浓缩。通过快速色谱法纯化残余物(硅胶;己烷/EtOAc 1:9)以得到黄色的油。将黄色的油溶解在二氯甲烷(20mL)中并加入TFA(10mL)且将混合物在室温搅拌3h。将混合物浓缩并将残余物溶解在二氯甲烷(100mL)中并用饱和碳酸氢钠中和。用二氯甲烷(3x50mL)萃取溶液。将有机萃取物合并、干燥并在真空下浓缩以得到1.75g(79%两步)的标题化合物,其不经进一步纯化或表征被用于下一步骤。

[0249] LBW 242:向7(1.75g,4.74mmol)在二氯甲烷(25mL)中的溶液顺序地加入二异丙基乙胺(3.30mL,19mmol)、t-Boc-N-甲基-L-丙氨酸(0.97g,4.74mmol)和0.45M HOBt/

HBTU 在 DMF (13mL, 5.691mmol) 中的溶液。将混合物在室温下搅拌过夜。将混合物用 EtOAc (200mL) 稀释并用 1M 柠檬酸 (50mL)、水 (50mL)、饱和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (50mL) 和盐水 (2x50mL) 顺序地洗涤。将有机层干燥并在真空下浓缩。将残余物溶解在二氯甲烷 (20mL) 中并加入 TFA (10mL) 且将混合物在室温搅拌 3 小时。将混合物浓缩并将残余物溶解在二氯甲烷 (100mL) 中并用饱和碳酸氢钠中和。将溶液用二氯甲烷 (3x50mL) 萃取。将有机萃取物合并,干燥并在真空下浓缩。将残余物通过 HPLC 纯化 (C-18 硅胶, 在 0.5% TFA 中的 20% CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O) 以提供为 TFA 盐的标题化合物 g (36%两步)。

[0250] 等同物

[0251] 仅通过某些实施例和实施方式描述了本发明。未致力于穷尽地描述本发明所有可能的实施例和实施方式。事实上,本领域的技术人员将认识到:可以对上面描述的实施例和实施方式作出各种添加、删除、修改和其它改变,而不偏离下面权利要求中叙述的本发明的意图的精神和范围。意图将所有这些增加、删除、修改和其它改变包括在以下权利要求的范围之内。

[0252] 援引并入

[0253] 本文引用的所有专利、公开的专利申请、网站和其它文献的全部内容特此明确地通过引用方式结合在本文中。

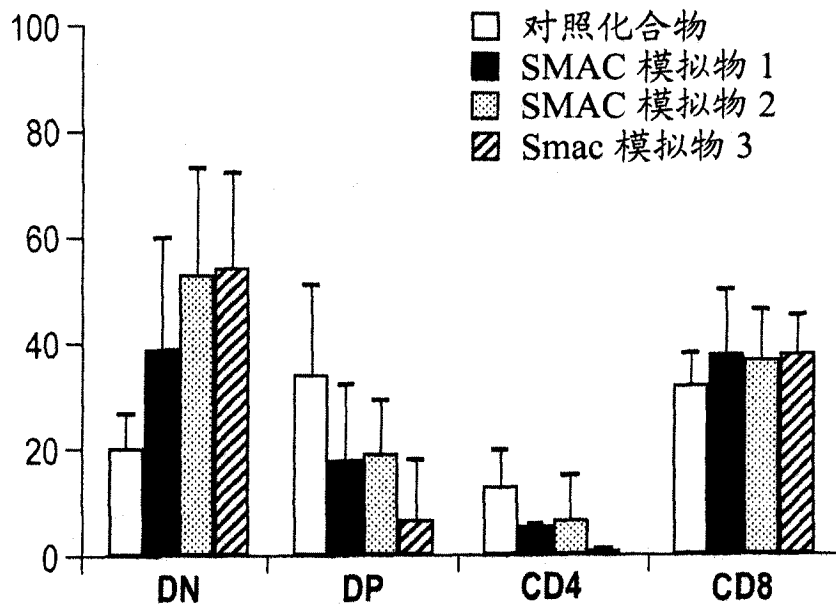


图 1A

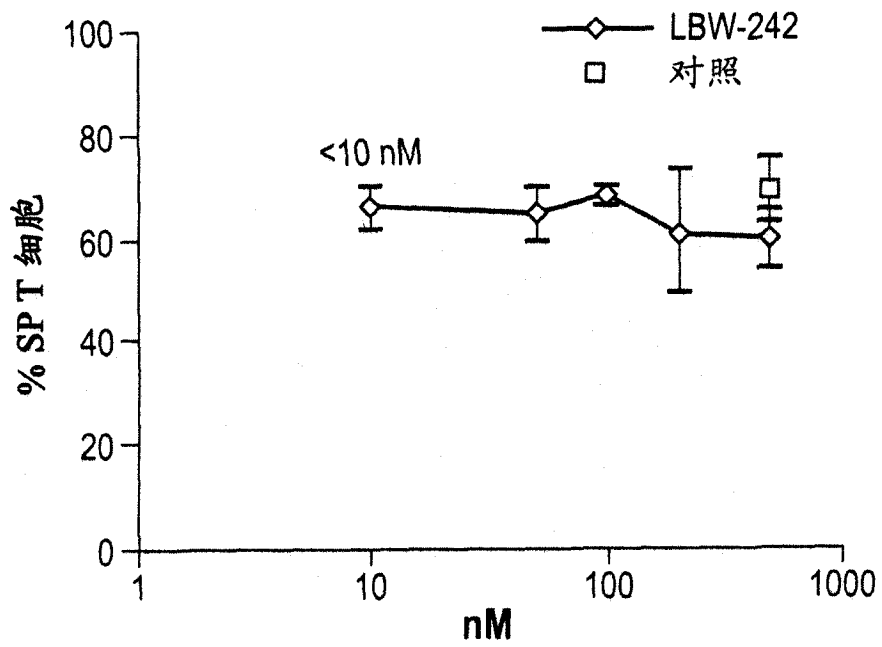


图 1B

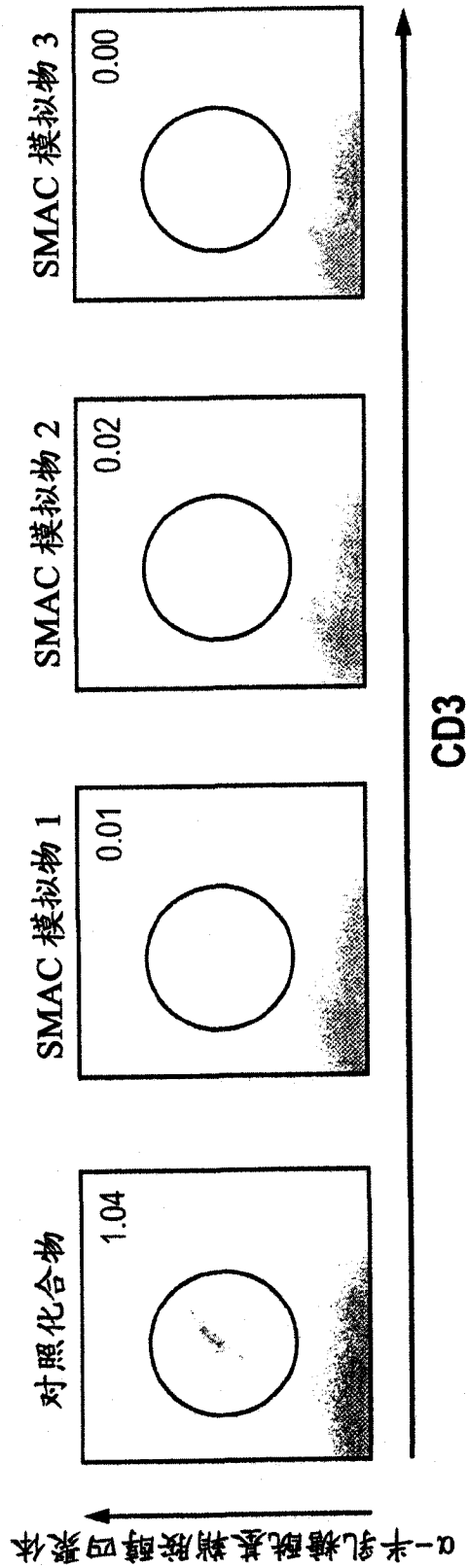


图 1C

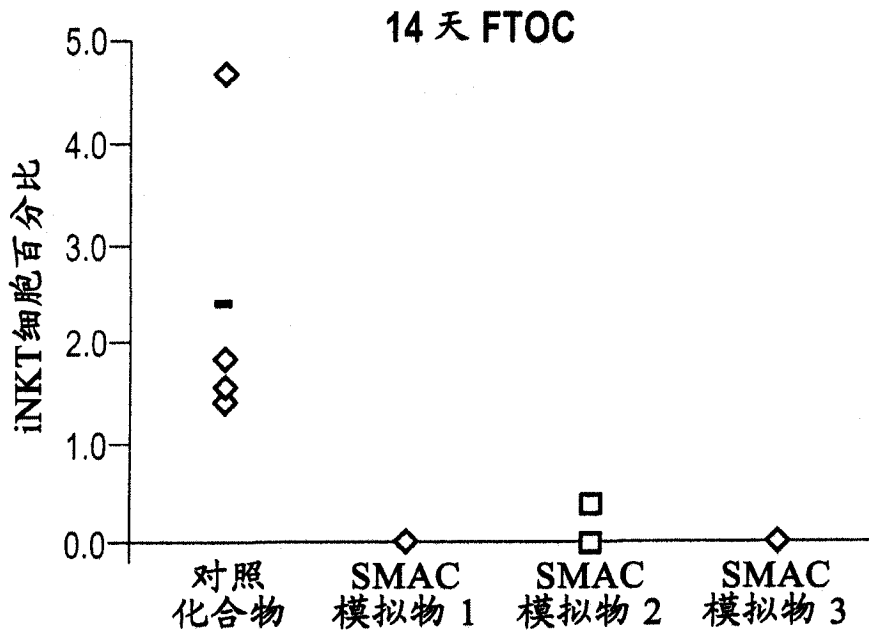


图 1D

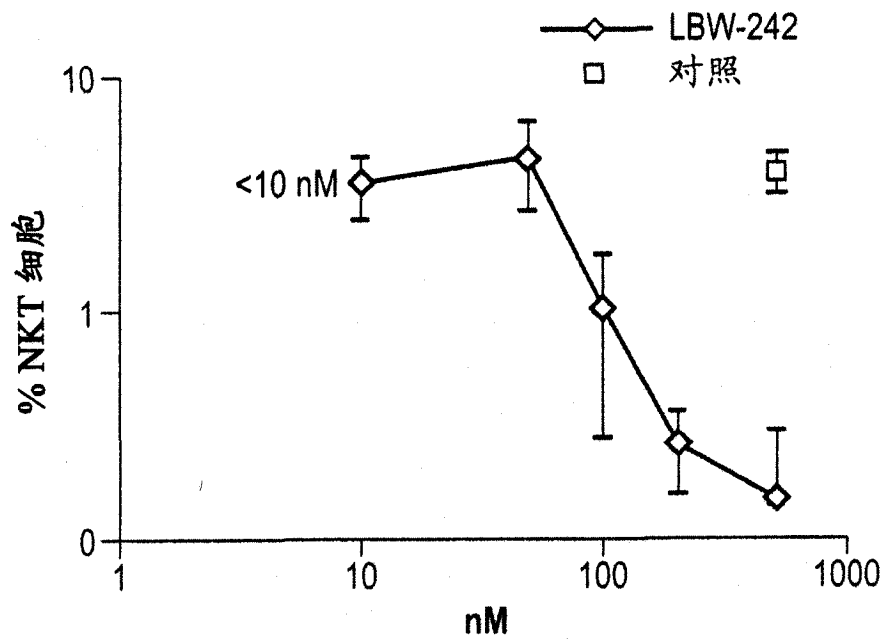


图 1E

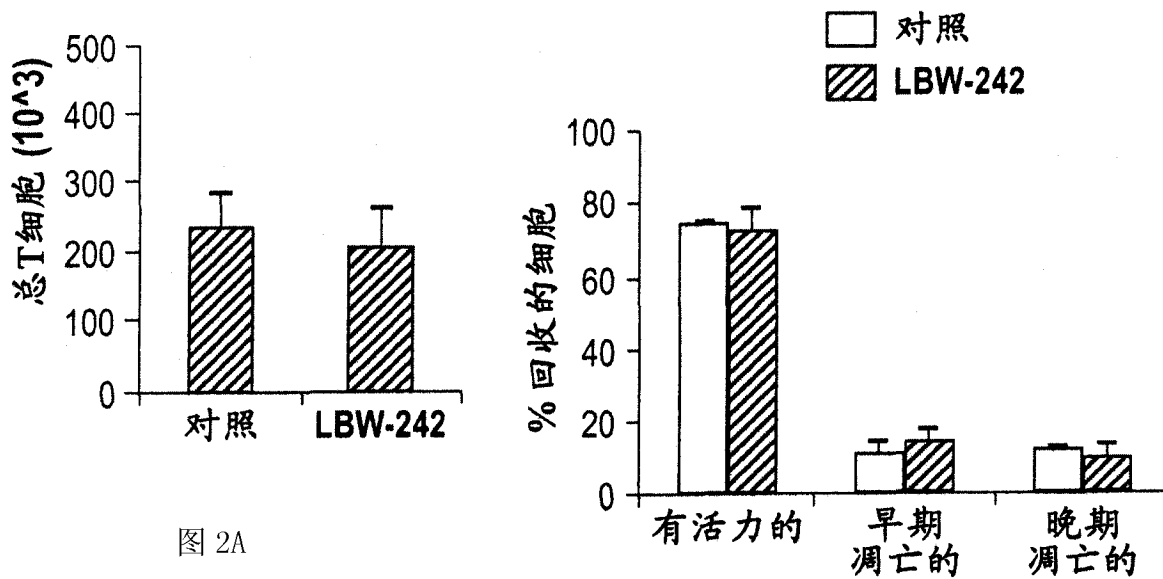


图 2A

图 2B

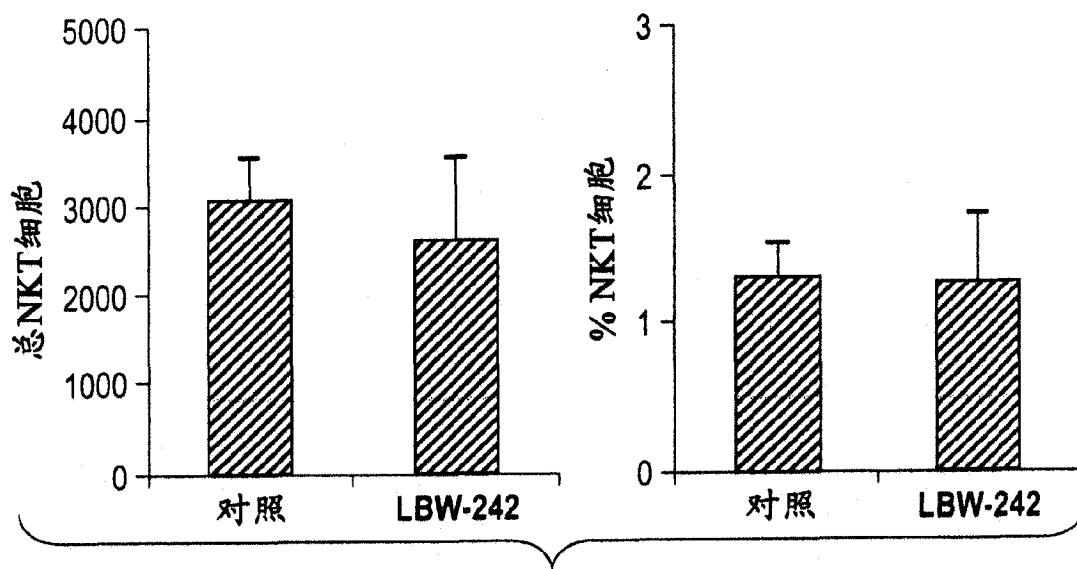


图 2C

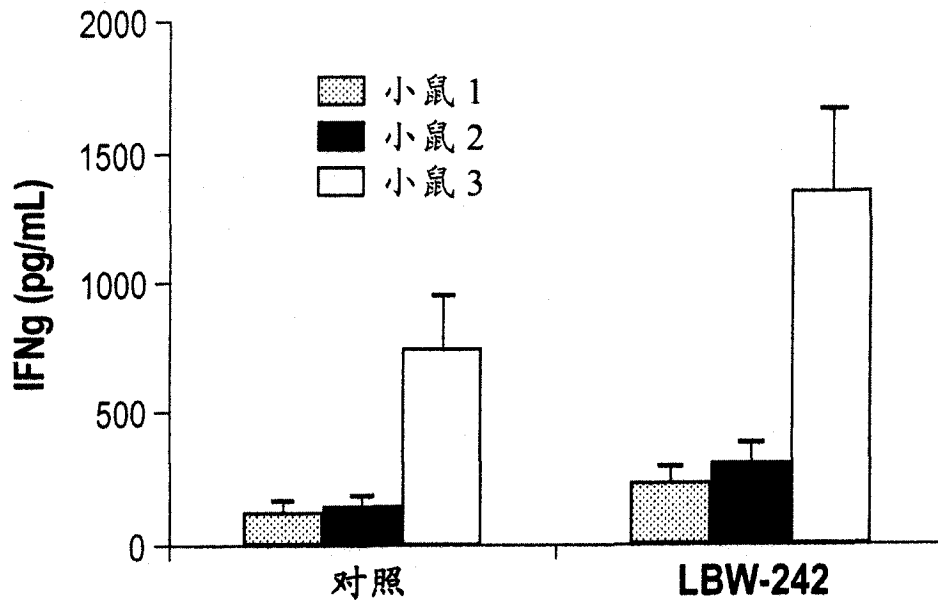


图 3A

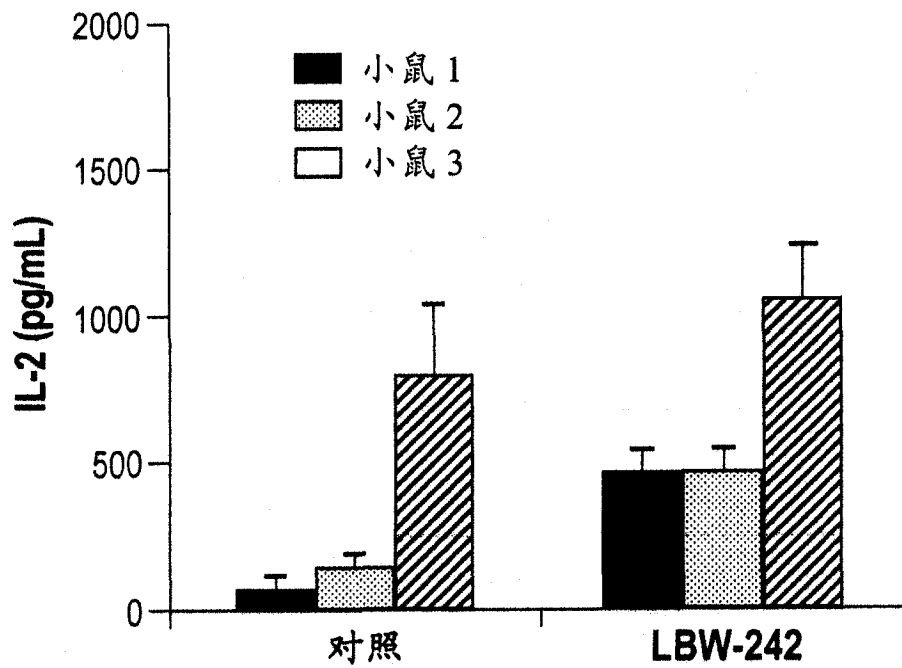


图 3B

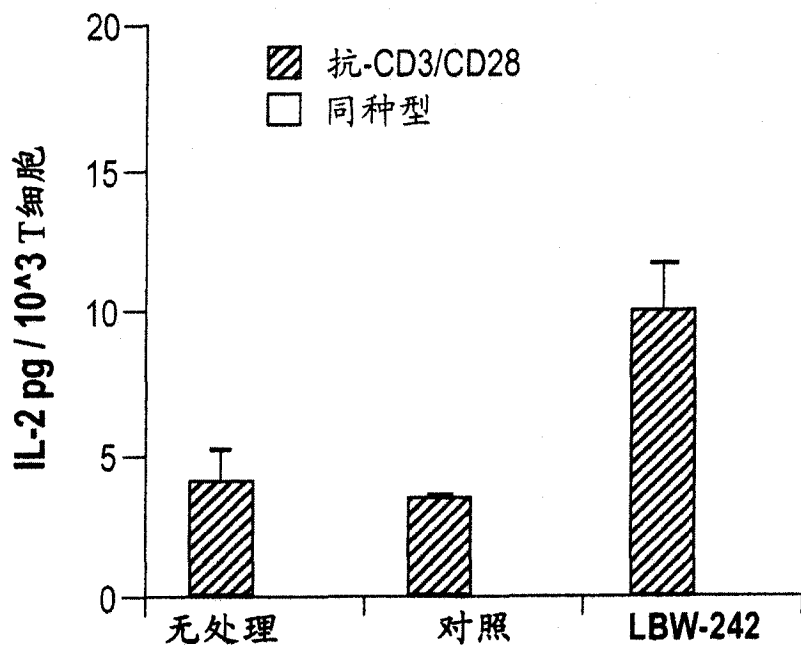


图 3C

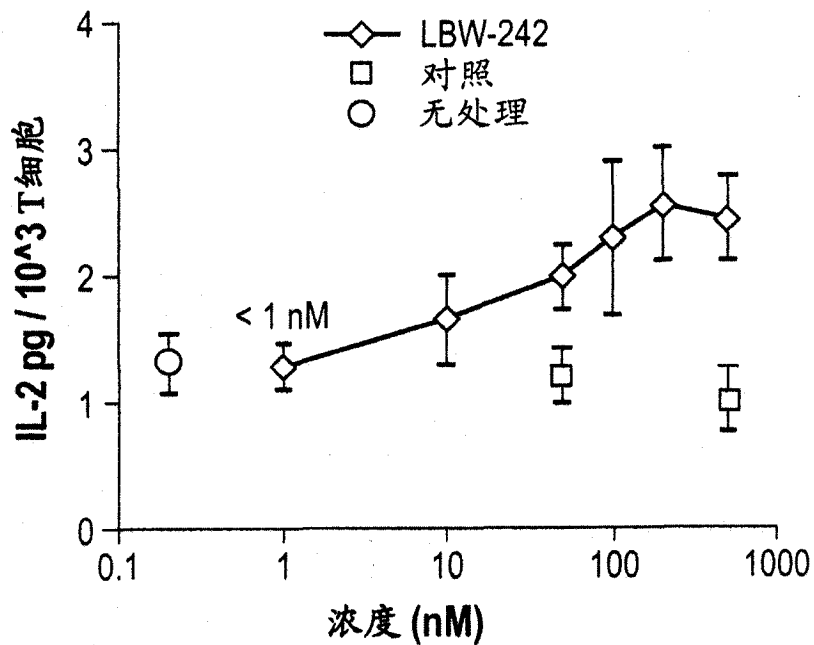


图 3D

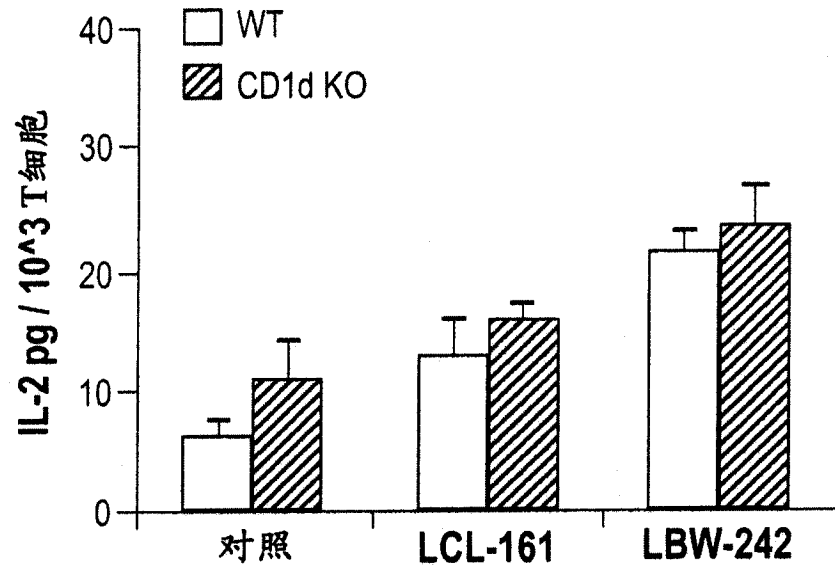


图 4

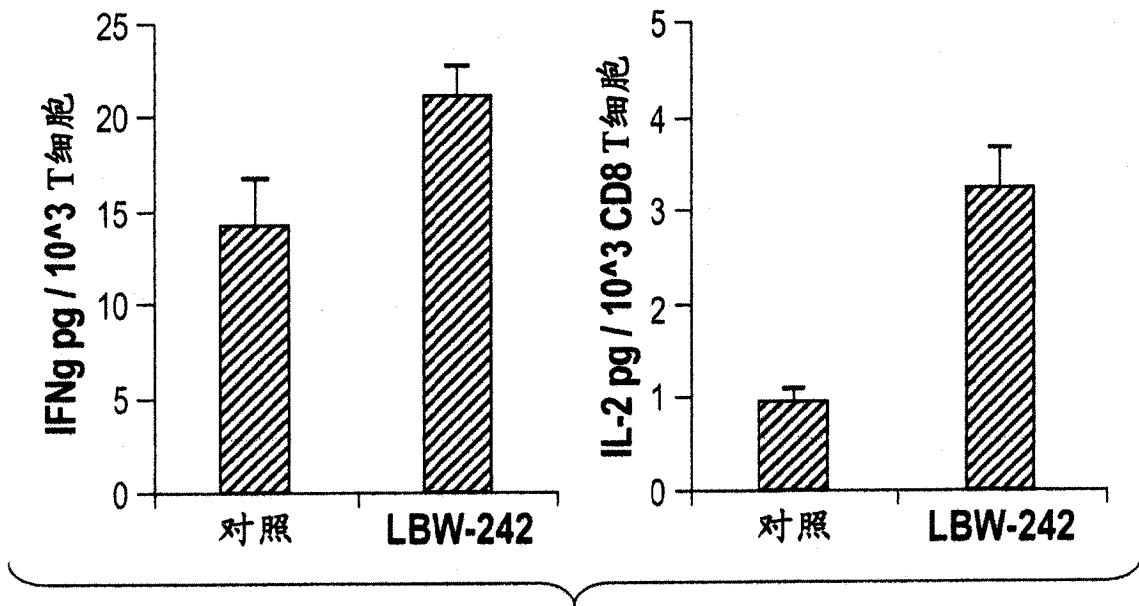


图 5

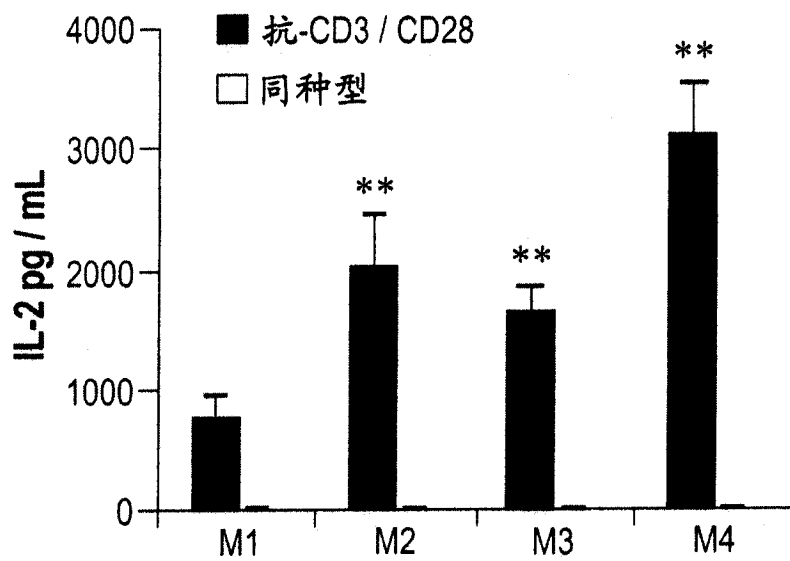


图 6A

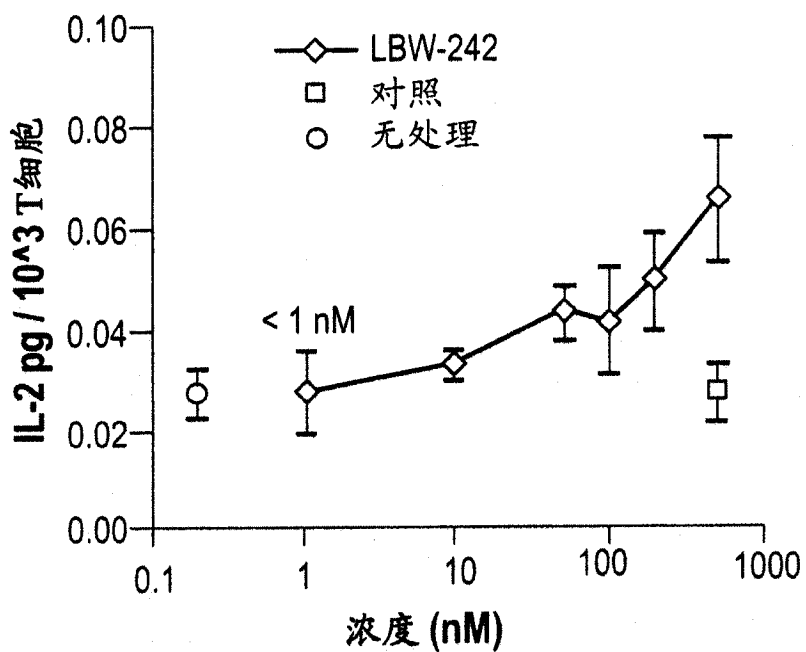


图 6B

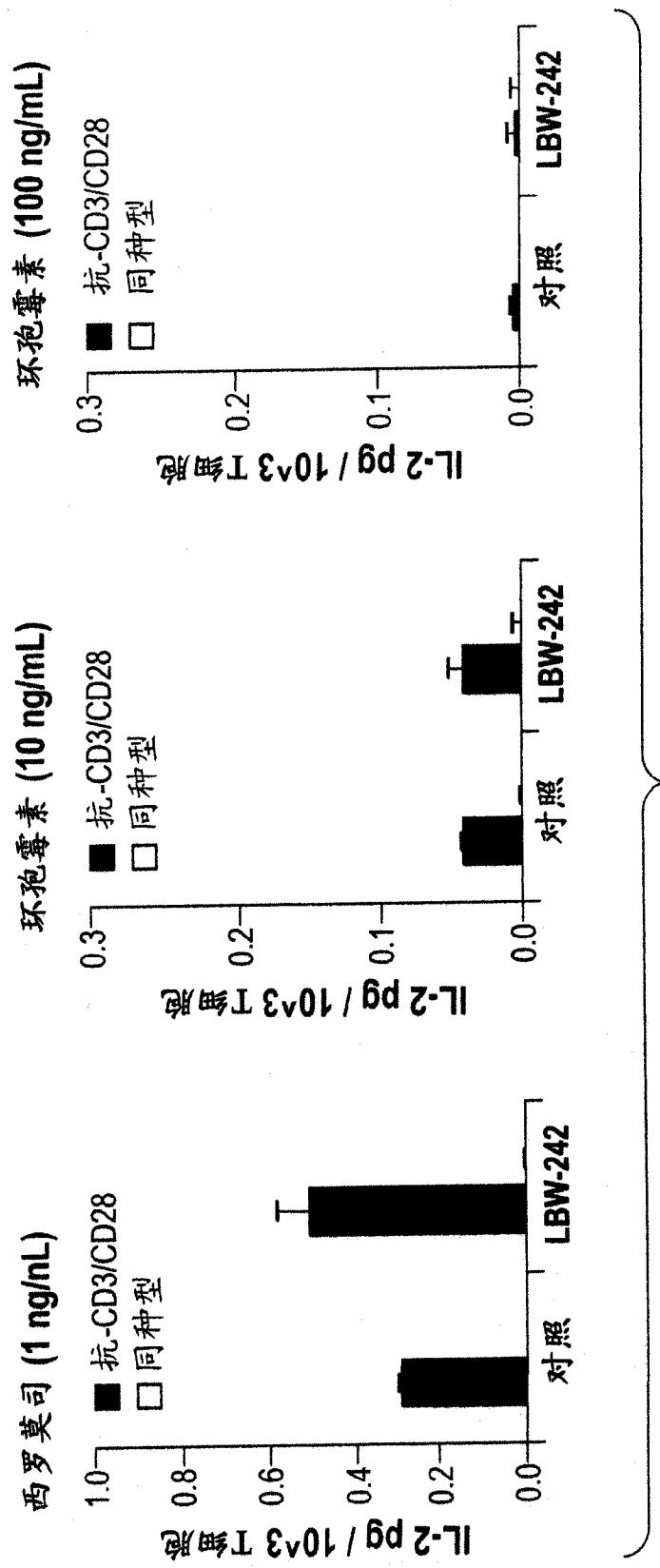


图 6C

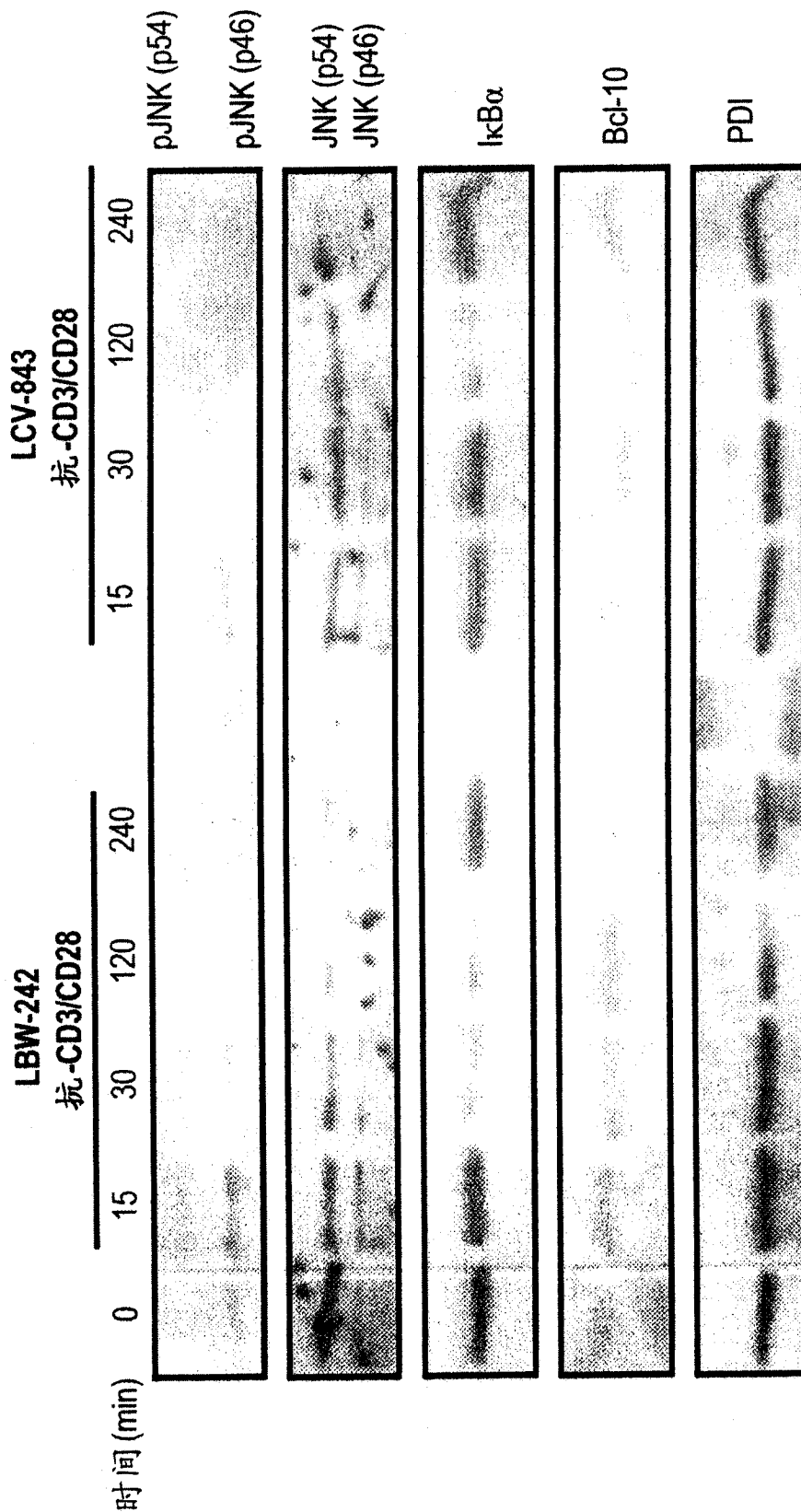


图 7

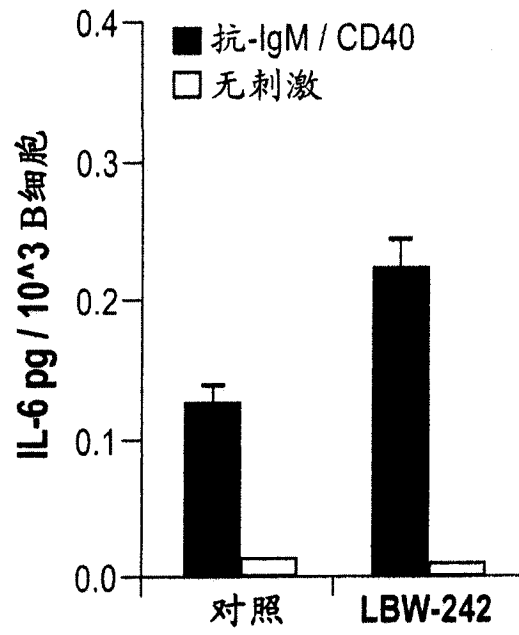


图 8A

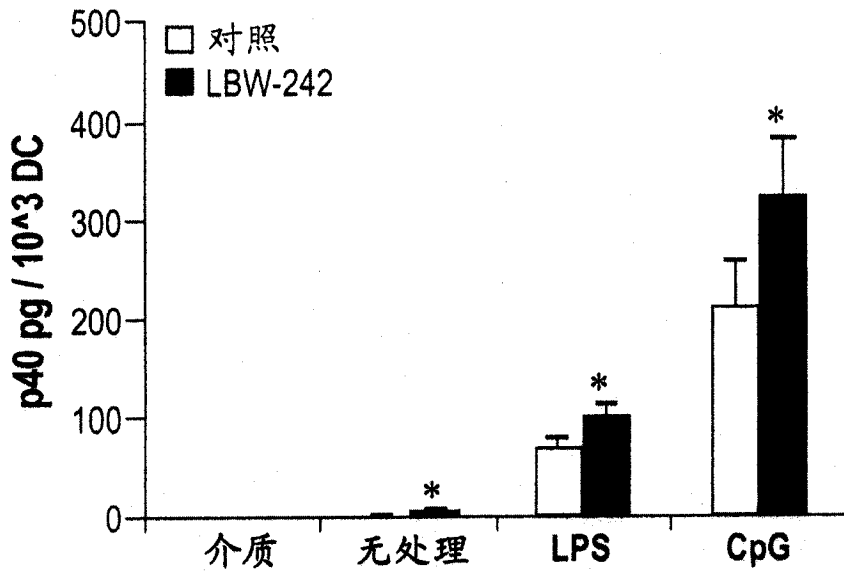


图 8B

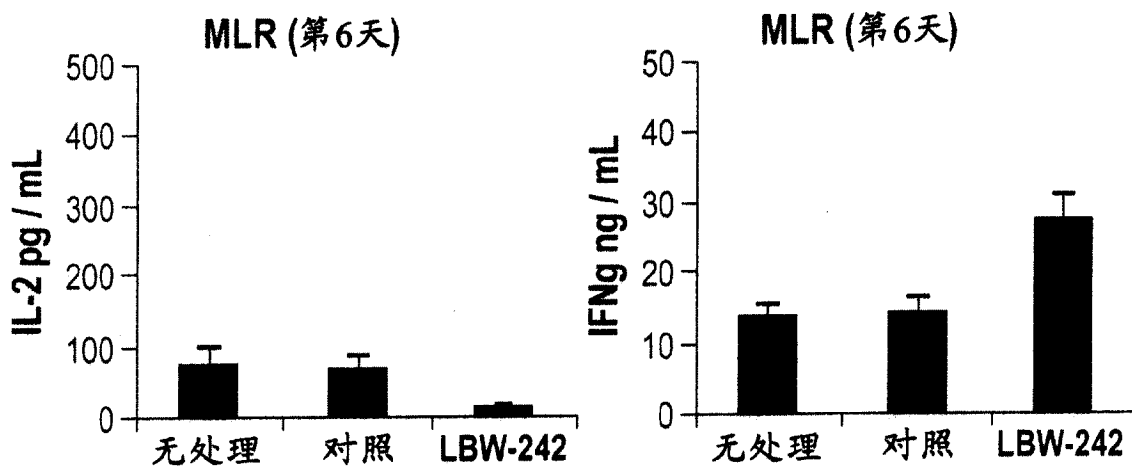


图 9A

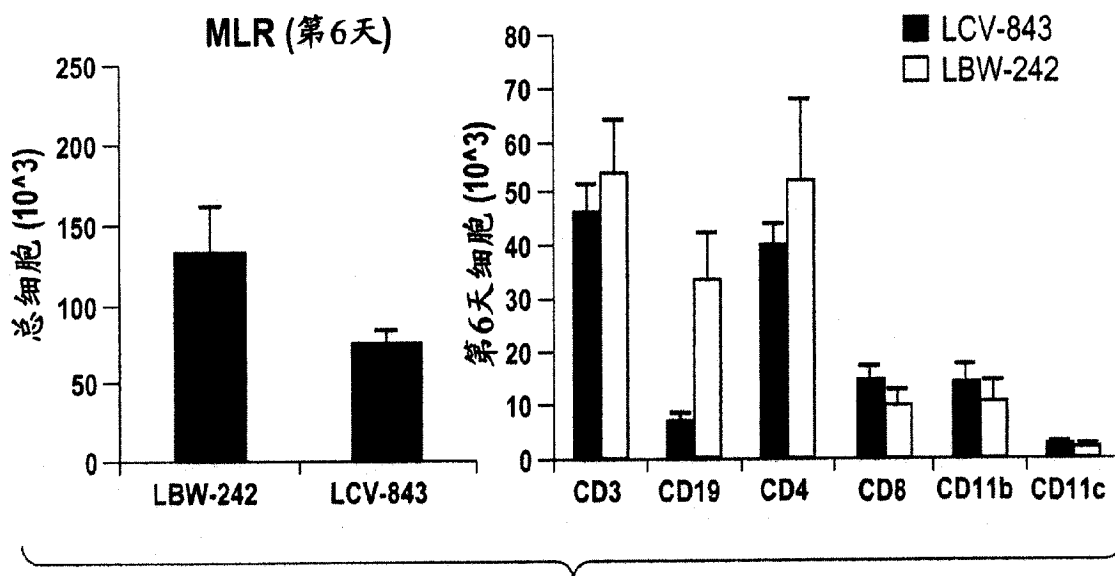


图 9B

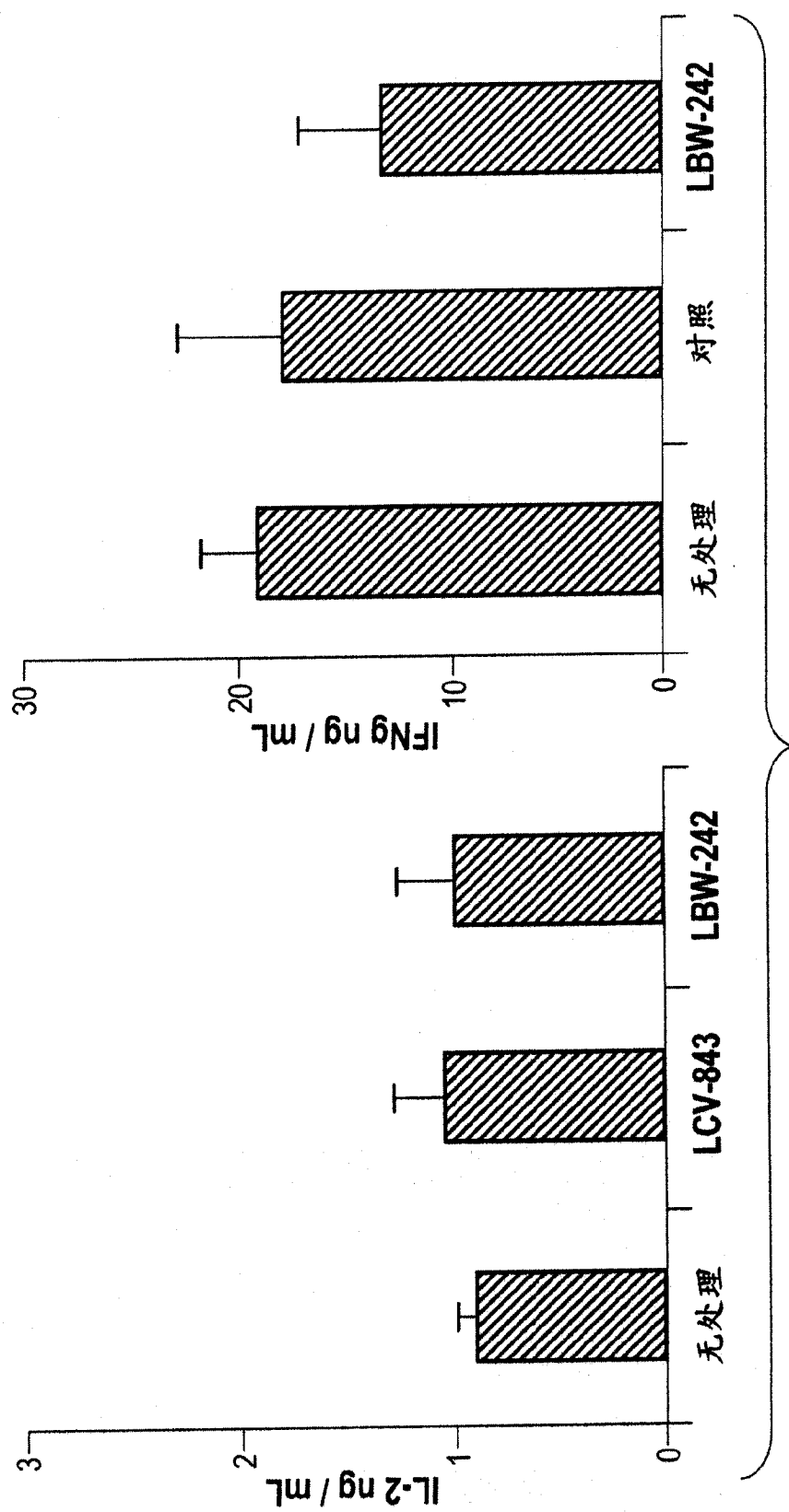


图 10

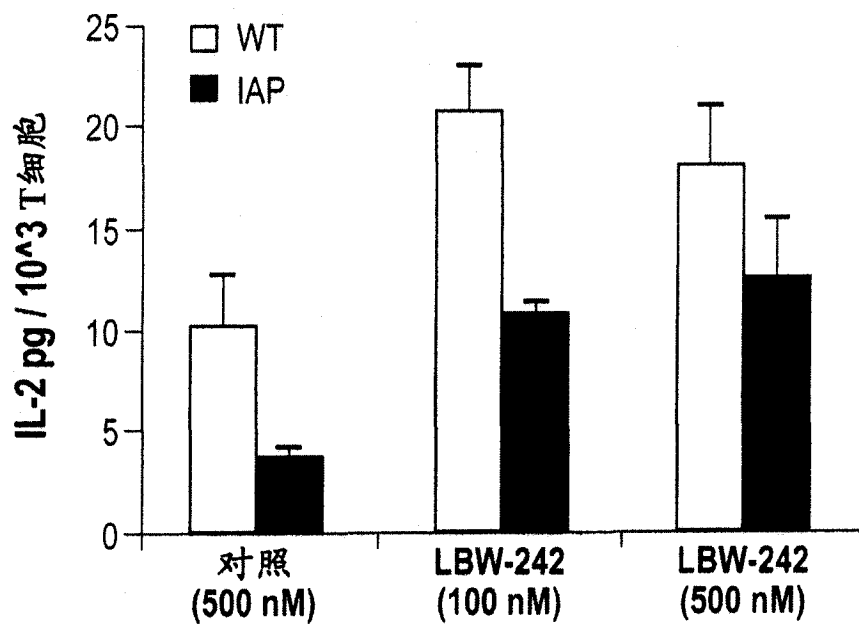


图 11

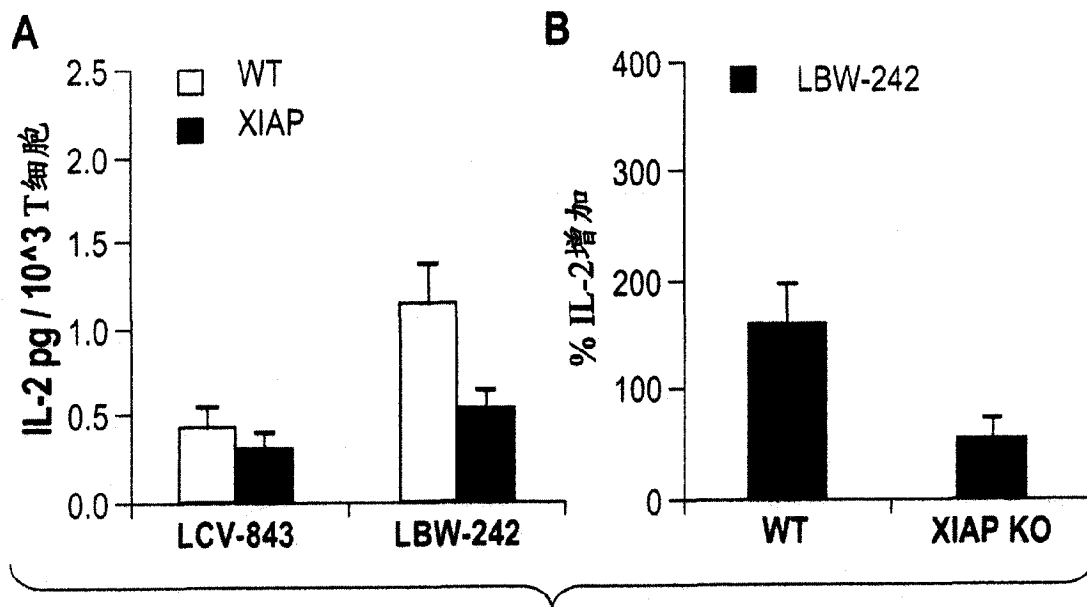
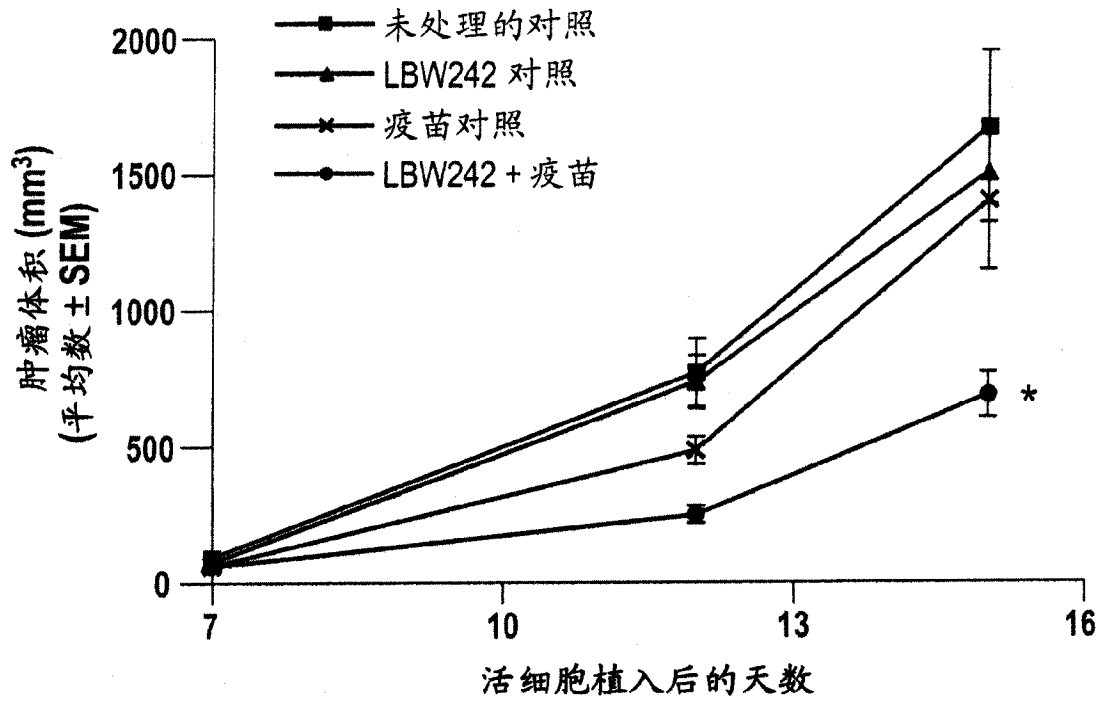


图 12

### B16 肿瘤生长



每组n = 8

\*与未处理的对照和LBW对照相比 $p < 0.05$ , 如通过Kruskal-Wallis单向ANOVA所测定

图 13