

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C07D 403/04 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680053008.8

[43] 公开日 2009 年 2 月 25 日

[11] 公开号 CN 101374829A

[22] 申请日 2006.12.19

[21] 申请号 200680053008.8

[30] 优先权

[32] 2005.12.19 [33] US [31] 60/751,801

[86] 国际申请 PCT/US2006/062335 2006.12.19

[87] 国际公布 WO2007/106192 英 2007.9.20

[85] 进入国家阶段日期 2008.8.19

[71] 申请人 健泰科生物技术公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 迈克尔·F·T·凯勒

刘易斯·J·加扎德 崔晓薇

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 吴培善 封新琴

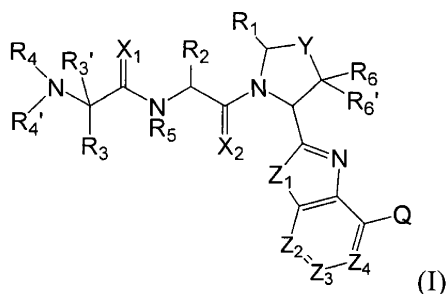
权利要求书 5 页 说明书 67 页

[54] 发明名称

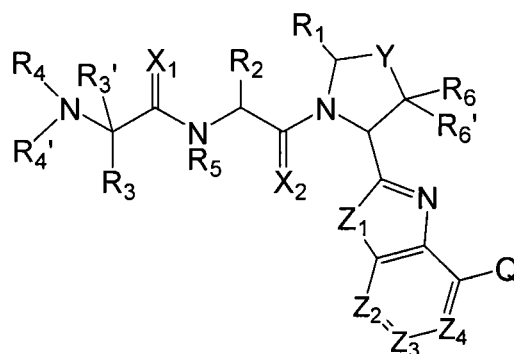
IAP 的抑制剂

[57] 摘要

本发明提供新颖的 IAP 抑制剂，它们可用作治疗剂治疗恶性肿瘤，其中这些化合物具有通式 I，其中 Q、X₁、X₂、Y、Z₁、Z₂、Z₃、Z₄、R₁、R₂、R₃、R₃'、R₄、R₄'、R₅、R₆、R₆' 和 n 是如本文所述的。



1. 式(I)的化合物



I

其中

X_1 和 X_2 各自独立地为 O 或 S;

Y 是直接键、 $(CR_7R_7)_n$ 、O 或 S;

Z_1 是 NR_8 、O、S、SO 或 SO_2 ;

Z_2 、 Z_3 和 Z_4 独立地为 CQ 或 N;

Q 是 H、卤素、羟基、羧基、氨基、硝基、氰基、烷基、碳环、杂环;
其中烷基的一个或多个 CH_2 或 CH 基团任选被以下基团代替: -O-、-S-、-S(O)-、 $S(O)_2$ 、- $N(R_8)$ -、-C(O)-、-C(O)- NR_8 -、- NR_8 -C(O)-、- SO_2 - NR_8 -、- NR_8 - SO_2 -、- NR_8 -C(O)- NR_8 -、- NR_8 -C(NH)- NR_8 -、- NR_8 -C(NH)-、-C(O)-O-或 -O-C(O)-;
和烷基、碳环和杂环是任选取代有一个或多个羟基、烷氧基、酰基、卤素、巯基、氧代、羧基、酰基、卤素取代的烷基、氨基、氰基、硝基、脒基、胍基、任选取代的碳环或任选取代的杂环;

R_1 是 H、OH 或烷基; 或 R_1 和 R_2 一起形成 5-8 元杂环;

R_2 是烷基、碳环、碳环烷基、杂环或杂环烷基, 所述烷基、碳环、碳环烷基、杂环或杂环烷基各自任选被以下基团取代: 卤素、羟基、氧代、硫酮、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、酰基、烷氧基、烷硫基、磺酰基、氨基和硝基, 其中所述烷基、酰基、烷氧基、烷硫基和磺酰基任选取代有以下取代基: 羟基、巯基、卤素、氨基、烷氧基、羟基烷氧基和烷氧基烷氧基;

R_3 是 H 或任选取代有卤素或羟基的烷基; 或 R_3 和 R_4 一起形成 3-6 元杂环;

R_3' 是 H、或 R_3 和 R_3' 一起形成 3-6 元碳环;

R_4 和 R_4' 独立地为 H、羟基、氨基、烷基、碳环、碳环烷基、碳环烷基氧基、碳环烷基氧基羰基、杂环、杂环烷基、杂环烷基氧基或杂环烷基氧基羰基；所述烷基、碳环烷基、碳环烷基氧基、碳环烷基氧基羰基、杂环、杂环烷基、杂环烷基氧基和杂环烷基氧基羰基各自任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、烷氧基、氨基、亚氨基和硝基；或 R_4 和 R_4' 一起形成杂环；

R_5 是 H 或烷基；

R_6 和 R_6' 各自独立地为 H、烷基、芳基或芳烷基；

R_7 是 H、氰基、羟基、巯基、卤素、硝基、羧基、脒基、胍基、烷基、碳环、杂环或 -U-V；其中 U 是 -O-、-S-、-S(O)-、S(O)₂-、-N(R₈)-、-C(O)-、-C(O)-NR₈-、-NR₈-C(O)-、-SO₂-NR₈-、-NR₈-SO₂-、-NR₈-C(O)-NR₈-、-NR₈-C(NH)-NR₈-、-NR₈-C(NH)-、-C(O)-O- 或 -O-C(O)-，和 V 是烷基、碳环或杂环；和其中烷基的一个或多个 CH₂ 或 CH 基团任选被以下基团代替：-O-、-S-、-S(O)-、S(O)₂-、-N(R₈)-、-C(O)-、-C(O)-NR₈-、-NR₈-C(O)-、-SO₂-NR₈-、-NR₈-SO₂-、-NR₈-C(O)-NR₈-、-C(O)-O- 或 -O-C(O)-；和烷基、碳环和杂环任选取代有羟基、烷氧基、酰基、卤素、巯基、氧代、羧基、酰基、卤素取代的烷基、氨基、氰基、硝基、脒基、胍基、任选取代的碳环或任选取代的杂环；

R_8 是 H、烷基、碳环或杂环，其中所述烷基的一个或多个 CH₂ 或 CH 基团任选被以下基团代替：-O-、-S-、-S(O)-、S(O)₂-、-N(R₈)-、或 -C(O)-；和所述烷基、碳环和杂环任选取代有羟基、烷氧基、酰基、卤素、巯基、氧代(=O)、羧基、酰基、卤素取代的烷基、氨基、氰基、硝基、脒基、胍基、任选取代的碳环或任选取代的杂环；和

n 是 0 - 4。

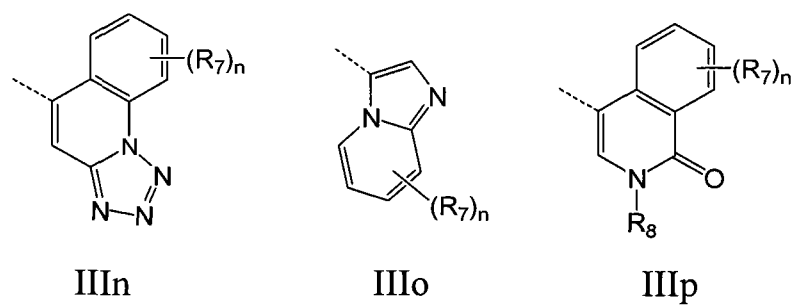
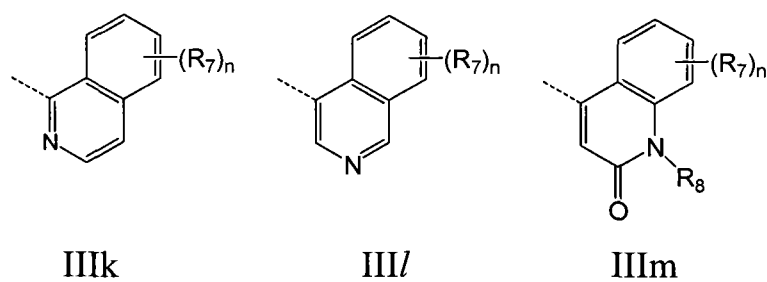
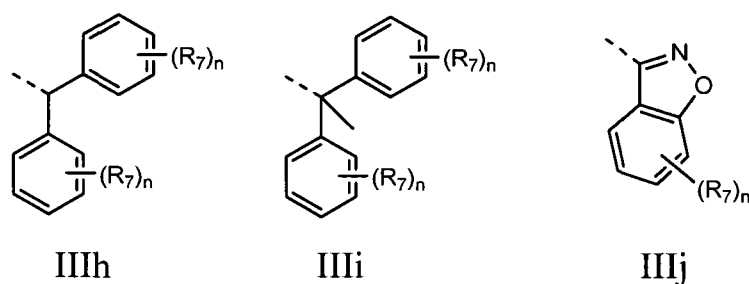
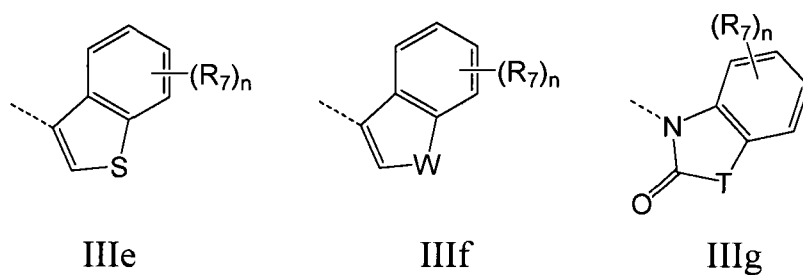
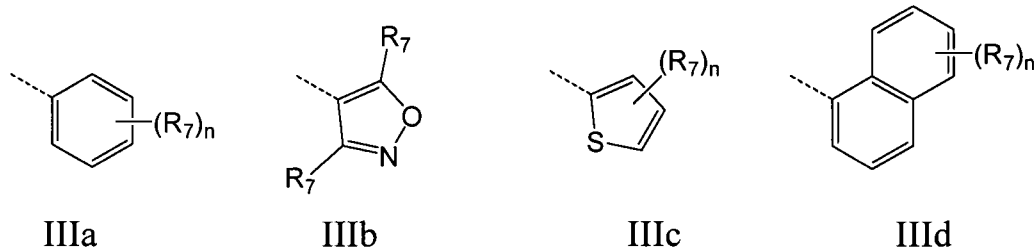
2. 权利要求 1 的化合物，其中 Z_1 是 S 和 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 是 CQ 或 N。

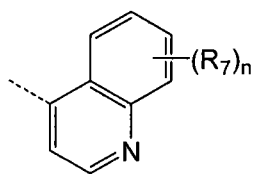
3. 权利要求 1 的化合物，其中 Z_1 是 S 和 Z_2 、 Z_3 和 Z_4 是 CH。

4. 权利要求 1 的化合物，其中 Q 是碳环或杂环，所述碳环或杂环任选取代有卤素、氨基、氧代、烷基、碳环或杂环；其中烷基的一个或多个 CH₂ 或 CH 基团任选被以下基团代替：-O-、-S-、-S(O)-、S(O)₂-、-N(R₈)-、-C(O)-、-C(O)-NR₈-、-NR₈-C(O)-、-SO₂-NR₈-、-NR₈-SO₂-、-NR₈-C(O)-NR₈-、-NR₈-C(NH)-NR₈-、-NR₈-C(NH)-、-C(O)-O- 或 -O-C(O)-；和其中所述烷基、碳环或杂环任选取代有卤素、氨基、羟基、巯基、羧基、烷氧基、烷氧基烷

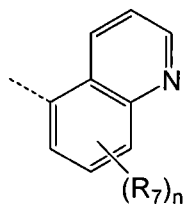
氧基、羟基烷氧基、烷硫基、酰基氧、酰基氧烷氧基、烷基磺酰基、烷基磺酰基烷基、烷基亚磺酰基和烷基亚磺酰基烷基。

5. 权利要求 1 的化合物, 其中 Q 是选自 IIIa – IIIs 的碳环或杂环:

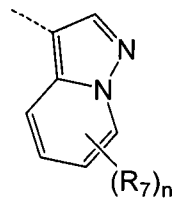




IIIq



IIIr



IIIs

其中 n 是 1-4; T 是 O 、 S 、 NR_8 或 CR_7R_7 ; 和 W 是 O 、 NR_8 或 CR_7R_7 。

6. 权利要求 1 的化合物, 其中 R_1 是 H 。

7. 权利要求 1 的化合物, 其中 R_2 是烷基、环烷基或杂环。

8. 权利要求 1 的化合物, 其中 R_2 选自叔丁基、异丙基、环己基、四氢吡喃-4-基、 N -甲基磺酰基哌啶-4-基、四氢噻喃-4-基、四氢噻喃-4-基(其中 S 是氧化形式 SO 或 SO_2)、环己烷-4-酮、4-羟基环己烷、4-羟基-4-甲基环己烷、1-甲基-四氢吡喃-4-基、2-羟基丙-2-基、丁-2-基、噻吩-3-基、哌啶-4-基、 N -乙酰基哌啶-4-基、 N -羟乙基哌啶-4-基、 N -(2-羟基乙酰基)哌啶-4-基、 N -(2-甲氧基乙酰基)哌啶-4-基、吡啶-3-基、苯基、四氢呋喃-2-基-羰基和 1-羟基乙-1-基。

9. 权利要求 1 的化合物, 其中 R_3 是甲基。

10. 权利要求 1 的化合物, 其中 R_4 是 H 或甲基和 R_4' 是 H 。

11. 权利要求 1 的化合物, 其中 R_5 是 H 或甲基。

12. 权利要求 1 的化合物, 其中 R_6 和 R_6' 都是 H 。

13. 权利要求 1 的化合物, 其中 X_1 和 X_2 都是 O 。

14. 权利要求 2 的化合物, 其中 R_1 是 H ; R_2 是异丙基、叔丁基、环己基或吡喃基; R_3 是甲基; R_4 是甲基、 R_4' 是 H ; R_5 是 H ; 和 X_1 和 X_2 都是 O 。

15. 在细胞中诱导细胞凋亡的方法, 包含向所述细胞引入权利要求 1 的化合物。

16. 使细胞敏感于细胞凋亡信号的方法, 包含向所述细胞引入权利要求 1 的化合物。

17. 权利要求 16 的方法, 其中所述细胞凋亡信号是通过使所述细胞与选自下列的化合物接触或者放射来诱导的: 阿糖胞苷、氟达拉滨、5-氟-2'-脱氧尿苷、吉西他滨、甲氨蝶呤、博来霉素、顺铂、环磷酰胺、阿德里亚霉素(阿霉素)、米托蒽醌、喜树碱、托泊替康、秋水仙胺、秋水仙碱、紫杉醇、长春花碱、长春新碱、他莫西芬、非那雄胺、泰索帝和丝裂霉素 C 。

18. 权利要求 16 的方法，其中所述细胞凋亡信号是通过使所述细胞与 Apo2L/TRAIL 接触来诱导的。

19. 抑制 IAP 蛋白与胱天蛋白酶蛋白结合的方法，包含使所述 IAP 蛋白与权利要求 1 的化合物。

20. 治疗哺乳动物与 IAP 过度表达有关的疾病或病症的方法，包含对所述哺乳动物给予有效量的权利要求 1 的化合物。

21. 治疗癌症的方法，包含对所述哺乳动物给予有效量的权利要求 1 的化合物。

IAP 的抑制剂

本申请要求2005年12月19日提交的美国专利申请60/751801的优先权，其全文引用在此作为参考。

发明领域

本发明涉及可用于哺乳动物疗法和/或预防的有机化合物，特别是可用于治疗癌症的 IAP 蛋白抑制剂。

发明背景

细胞凋亡(Apoptosis)或编程性细胞死亡是一种受遗传和生化调节的机理，它在无脊椎动物以及脊椎动物的发育和内环境稳定中扮演重要角色。引起过早细胞死亡的细胞凋亡异常已经与多种发育障碍有联系。导致细胞死亡缺乏的细胞凋亡缺陷已经与癌症和慢性病毒感染有联系(Thompson et al., (1995) Science 267, 1456-1462)。

细胞凋亡中关键的效应器分子之一是胱天蛋白酶(caspases)(含有天冬氨酸特异性蛋白酶的半胱氨酸)。胱天蛋白酶是强大的蛋白酶，在天冬氨酸残基之后裂解，并且一旦被活化，消化细胞内的生命细胞蛋白质。由于胱天蛋白酶是如此强大的蛋白酶，牢牢控制这种蛋白质家族是防止过早细胞死亡所必需的。一般而言，胱天蛋白酶是作为多半无活性的酶原而被合成的，它们需要蛋白酶解加工，目的是成为有活性的。这种蛋白酶解加工是调节胱天蛋白酶的唯一方式。第二机理是通过结合和抑制胱天蛋白酶的蛋白质家族。

抑制胱天蛋白酶的分子家族是细胞凋亡抑制剂(IAP) (Deveraux et al., J Clin Immunol (1999), 19:388-398)。IAP 最初是由于它们取代 P35 蛋白的功能能力而在杆状病毒中被发现的，P35 是一种抗细胞凋亡基因(Crook et al. (1993) J Virology 67, 2168-2174)。IAP 广泛分布在从果蝇到人类的生物体中。与它们的来源无关，在结构上，IAP 包含一至三个杆状病毒 IAP 重复(BIR)结构域，它们大多数也具备羧基-末端的 RING 指针基序。BIR 结构域本身是约 70 个残基的锌结合性结构域，包含 4 条 α -螺旋和 3 条 β 链，具有配位锌

离子的半胱氨酸和组氨酸残基(Hinds et al., (1999) Nat. Struct. Biol. 6, 648-651)。正是 BIR 结构域被相信通过抑制胱天蛋白酶、从而抑制细胞凋亡而导致抗细胞凋亡效应。举例而言, 人 X-染色体连接的 IAP (XIAP)抑制胱天蛋白酶 3、胱天蛋白酶 7 和 Apaf-1-细胞色素 C 介导的胱天蛋白酶 9 活化(Deveraux et al., (1998) EMBO J. 17, 2215-2223)。胱天蛋白酶 3 和 7 受到 XIAP 的 BIR2 结构域的抑制, 而 XIAP 的 BIR3 结构域负责胱天蛋白酶 9 活性的抑制。XIAP 普遍在大多数成人和胎儿组织中被表达(Liston et al, Nature, 1996, 379(6563):349), 在 NCI60 细胞系组的大量肿瘤细胞系中被过度表达(Fong et al, Genomics, 2000, 70:113; Tamm et al, Clin. Cancer Res. 2000, 6(5):1796)。XIAP 在肿瘤细胞中的过度表达已被证明赋予对抗多种促细胞凋亡性刺激的保护作用, 促进对化学疗法的抵抗性(LaCasse et al, Oncogene, 1998, 17(25):3247)。与此相一致, XIAP 蛋白水平与存活之间的密切相互关系已经在急性骨髓性白血病患者中得到证明(Tamm et al, supra)。反义寡核苷酸对 XIAP 表达的减量调节已经显示体外和体内使肿瘤细胞敏感于由广泛多种促细胞凋亡剂诱导的死亡(Sasaki et al, Cancer Res., 2000, 60(20):5659; Lin et al, Biochem J., 2001, 353:299; Hu et al, Clin. Cancer Res., 2003, 9(7): 2826)。Smac/DIABLO-衍生的肽已被证明使大量不同的肿瘤细胞系敏感于由多种促细胞凋亡药诱导的细胞凋亡(Arnt et al, J. Biol. Chem., 2002, 277(46):44236; Fulda et al, Nature Med., 2002, 8(8):808; Guo et al, Blood, 2002, 99(9):3419; Vucic et al, J. Biol. Chem., 2002, 277(14):12275; Yang et al, Cancer Res., 2003, 63(4):831)。

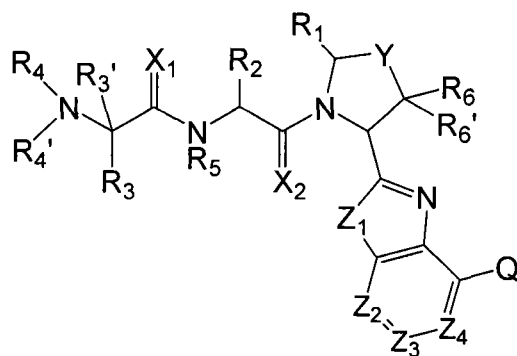
黑素瘤 IAP (ML-IAP)是在大多数正常成人组织中不可检测的 IAP, 但是在黑素瘤中被强烈地增量调节(Vucic et al., (2000) Current Bio 10:1359-1366)。蛋白质结构的测定证明了 ML-IAP BIR 和 RING 指针结构域(finger domain)与存在于人 XIAP、C-IAP1 和 C-IAP2 中的相应结构域之间显著的同源性。ML-IAP 的 BIR 结构域似乎对 XIAP 的 BIR2 与 BIR3、C-IAP1 和 C-IAP2 具有最多的相似性, 并且似乎负责细胞凋亡的抑制, 这是根据缺失分析所测定的。此外, Vucic 等证明, ML-IAP 可能抑制化学治疗剂诱导的细胞凋亡。在过度表达 ML-IAP 的黑素瘤细胞培养系统中测试了诸如阿霉素和 4-叔丁基苯酚(4-TBP)等药物, 在与正常黑素细胞对照相比较时, 这些化学治疗剂在杀死细胞上没有显著效果。ML-IAP 产生抗细胞凋亡活性的机

理在部分程度上借助胱天蛋白酶 3 和 9 的抑制。ML-IAP 没有有效地抑制胱天蛋白酶 1、2、6 或 8。

由于细胞凋亡是由多个作用因素的严格控制途径，调节 IAP 本身的发现并非非比寻常。在果蝇中，收割蛋白(rpr)、头部退化缺陷性(hid)和 GRIM 蛋白在物理上作用于和抑制果蝇家族 IAP 的抗细胞凋亡活性。在哺乳动物中，蛋白质 SMAC/DIABLO 起到阻滞 IAP 和允许细胞凋亡进行的作用。在正常的细胞凋亡期间，SMAC 被加工成活性形式，从线粒体中释放到细胞质中，在那里它在物理上与 IAP 结合，并且防止 IAP 与胱天蛋白酶结合。IAP 的这种抑制作用允许胱天蛋白酶保留活性，从而进行细胞凋亡。有趣地，IAP 抑制剂之间的序列同源性表明，在经过加工的活性蛋白质的 N-末端中存在四个氨基酸的基序。这种四肽似乎结合到 BIR 结构域的疏水性袋中，破坏 BIR 结构域与胱天蛋白酶结合(Chai et al., (2000) Nature 406:855-862, Liu et al., (2000) Nature 408:1004-1008, Wu et al., (2000) Nature 408 1008-1012)。

发明概述

本发明在一方面提供新颖的具有通式(I)的 IAP 蛋白抑制剂：



I

其中

X_1 和 X_2 各自独立地为 O 或 S;

Y 是直接键、 $(CR_7R_7)_n$ 、O 或 S;

Z_1 是 NR_8 、O、S、SO 或 SO_2 ;

Z_2 、 Z_3 和 Z_4 独立地为 CQ 或 N;

Q 是 H、卤素、羟基、羧基、氨基、硝基、氰基、烷基、碳环、杂环；其中烷基的一个或多个 CH_2 或 CH 基团任选被以下基团代替：-O-、-S-、-S(O)-、

$S(O)_2$ 、 $-N(R_8)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)-NR_8-$ 、 $-NR_8-C(O)-$ 、 $-SO_2-NR_8-$ 、 $-NR_8-SO_2-$ 、 $-NR_8-C(O)-NR_8-$ 、 $-NR_8-C(NH)-NR_8-$ 、 $-NR_8-C(NH)-$ 、 $-C(O)-O-$ 或 $-O-C(O)-$ ；和烷基、碳环和杂环任选取代有一个或多个羟基、烷氧基、酰基、卤素、巯基、氧代、羧基、酰基、卤素取代的烷基、氨基、氰基硝基、脒基、胍基、任选取代的碳环或任选取代的杂环；

R_1 是 H、OH 或烷基；或 R_1 和 R_2 一起形成 5-8 元杂环；

R_2 是烷基、碳环、碳环烷基、杂环或杂环烷基，各自任选被以下基团取代：卤素、羟基、氧代、硫酮、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、酰基、烷氧基、烷硫基、磺酰基、氨基和硝基，其中所述烷基、酰基、烷氧基、烷硫基和磺酰基任选取代有以下取代基：羟基、巯基、卤素、氨基、烷氧基、羧基、烷氧基和烷氧基烷氧基；

R_3 是 H 或任选取代有卤素或羟基的烷基；或 R_3 和 R_4 一起形成 3-6 元杂环；

R_3' 是 H、或 R_3 和 R_3' 一起形成 3-6 元碳环；

R_4 和 R_4' 独立地为 H、羟基、氨基、烷基、碳环、碳环烷基、碳环烷基氧基、碳环烷基氧基羰基、杂环、杂环烷基、杂环烷氧基或杂环烷氧基羰基；所述烷基、碳环烷基、碳环烷基氧基、碳环烷基氧基羰基、杂环、杂环烷基、杂环烷氧基和杂环烷氧基羰基各自任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、烷氧基、氨基、亚氨基和硝基；或 R_4 和 R_4' 一起形成杂环；

R_5 是 H 或烷基；

R_6 和 R_6' 各自独立地为 H、烷基、芳基或芳烷基；

R_7 是 H、氰基、羟基、巯基、卤素、硝基、羧基、脒基、胍基、烷基、碳环、杂环或 $-U-V$ ；其中 U 是 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $S(O)_2$ 、 $-N(R_8)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)-NR_8-$ 、 $-NR_8-C(O)-$ 、 $-SO_2-NR_8-$ 、 $-NR_8-SO_2-$ 、 $-NR_8-C(O)-NR_8-$ 、 $-NR_8-C(NH)-NR_8-$ 、 $-NR_8-C(NH)-$ 、 $-C(O)-O-$ 或 $-O-C(O)-$ 和 V 是烷基、碳环或杂环；和其中烷基的一个或多个 CH_2 或 CH 基团任选被以下基团代替： $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $S(O)_2$ 、 $-N(R_8)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)-NR_8-$ 、 $-NR_8-C(O)-$ 、 $-SO_2-NR_8-$ 、 $-NR_8-SO_2-$ 、 $-NR_8-C(O)-NR_8-$ 、 $-C(O)-O-$ 或 $-O-C(O)-$ ；和烷基、碳环和杂环任选取代有羟基、烷氧基、酰基、卤素、巯基、氧代、羧基、酰基、卤素取代的烷基、氨基、氰基硝基、脒基、胍基、任选取代的碳环或任选取代的杂环；

R_8 是 H、烷基、碳环或杂环，其中所述烷基的一个或多个 CH_2 或 CH 基团任选被以下基团代替：-O-、-S-、-S(O)-、 $S(O)_2$ 、-N(R_8)、或-C(O)-；和所述烷基、碳环和杂环任选取代有羟基、烷氧基、酰基、卤素、巯基、氧代(=O)、羧基、酰基、卤素取代的烷基、氨基、氰基硝基、脒基、胍基、任选取代的碳环或任选取代的杂环；和

n 是 0-4。

本发明在另一方面提供包含式 I 化合物和载体、稀释剂或赋形剂的组合物。

本发明在另一方面提供诱导细胞中的细胞凋亡的方法，包含向所述细胞引入式 I 化合物。

本发明在另一方面提供使细胞敏感于细胞凋亡信号(apoptotic signal)的方法，包含向所述细胞引入式 I 化合物。

本发明在另一方面提供抑制 IAP 蛋白与胱天蛋白酶蛋白结合的方法，包含使所述 IAP 蛋白与式 I 化合物接触。

本发明在另一方面提供治疗哺乳动物与 IAP 蛋白过度表达有关的疾病或病症的方法，包含对所述哺乳动物给予有效量的式 I 化合物。

优选实施方式的详细说明

“酰基”表示由式-C(O)-R 代表的含羰基取代基，其中 R 是 H、烷基、碳环、杂环、碳环-取代的烷基或杂环-取代的烷基，其中烷基、烷氧基、碳环和杂环是如本文所定义的。酰基包括烷酰基(例如乙酰基)、芳酰基(例如苯甲酰基)和杂芳酰基。

“烷基”表示分支或不分支的、饱和或不饱和的(即烯基、炔基)脂族烃基团，除非另有指定具有至多 12 个碳原子。当作为另一术语的一部分使用时，例如“烷基氨基”，该烷基部分优选地是饱和的烃链，不过也包括不饱和的烃碳链，例如“烯基氨基”和“炔基氨基”。具体的烷基的实例为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、2-甲基丁基、2,2-二甲基丙基、正己基、2-甲基戊基、2,2-二甲基丁基、正庚基、3-庚基、2-甲基己基等。术语“低级烷基”、“ C_1 - C_4 烷基”和“1 至 4 个碳原子的烷基”是同义的，可互换地用于表示甲基、乙基、1-丙基、异丙基、环丙基、1-丁基、仲丁基或叔丁基。除非另有指定，取代的烷基可以含有一个，例如两个、三

个或四个取代基，它们可以是相同或不同的。除非另外指定，取代基的实例为卤素、氨基、羧基、受保护的羧基、巯基、羧基、烷氧基、硝基、氰基、脒基、胍基、脲、磺酰基、亚磺酰基、氨基磺酰基、烷基磺酰基氨基、芳基磺酰基氨基、氨基羧基、酰基氨基、烷氧基、酰基、酰氧基、碳环、杂环。上述取代的烷基的实例包括但不限于氰基甲基、硝基甲基、羧甲基、三苯甲氧基甲基、丙酰氧基甲基、氨甲基、羧甲基、羧基乙基、羧基丙基、烷氧基羧基甲基、烯丙氧基碳酰氨基甲基、氨甲酰氧基甲基、甲氧基甲基、乙氧基甲基、叔丁氧基甲基、乙酰氧基甲基、氯甲基、溴甲基、碘甲基、三氟甲基、6-羧基己基、2,4-二氯(正丁基)、2-氨基(异丙基)、2-氨甲酰氧基乙基等。烷基也可以被碳环基团取代。实例包括环丙基甲基、环丁基甲基、环戊基甲基和环己基甲基，以及对应的-乙基、-丙基、-丁基、-戊基、-己基等。取代的烷基包括取代的甲基，例如被与“取代的 C_n-C_m 烷基”相同的取代基取代的甲基。取代的甲基的实例包括羧甲基、被保护的羧甲基(例如四氢吡喃氧基甲基)、乙酰氧基甲基、氨甲酰氧基甲基、三氟甲基、氯甲基、羧甲基、溴甲基和碘甲基。

“脒”表示基团 $-C(NH)-NHR$ ，其中 R 为 H、烷基、碳环、杂环、碳环取代的烷基或杂环取代的烷基，其中所述烷基、烷氧基、碳环和杂环如本文所定义。具体的脒是基团 $-NH-C(NH)-NH_2$ 。

“氨基”表示伯(即 NH_2)、仲(即 $-NRH$)和叔(即 $-NRR$)胺，其中 R 为 H、烷基、碳环、杂环、碳环取代的烷基或杂环取代的烷基，其中所述烷基、烷氧基、碳环和杂环如本文所定义。具体的仲和叔胺是烷基胺、二烷基胺、芳基胺、二芳基胺、芳烷基胺和二芳烷基胺，其中所述烷基如本文所定义且被任选取代。具体的二元和三元胺是甲胺、乙胺、丙胺、异丙胺、苯胺、苄胺、二甲胺、二乙胺、二丙胺和二异丙胺。

本文所用的“氨基-保护基团”表示普遍用于阻滞或保护氨基的基团衍生物，同时反应是在该化合物的其他官能团上进行的。这类保护基团的实例包括氨基甲酸酯、酰胺、烷基与芳基、亚胺以及很多 N-杂原子衍生物，它们可以被除去而生成所需的胺基团。具体的氨基保护基团是 Boc、Fmoc 和 Cbz。这些基团的进一步实例参见 T. W. Greene and P. G. M. Wuts, “Protective Groups in Organic Synthesis”, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, 1991, chapter 7; E. Haslam, “Protective Groups in Organic Chemistry”, J. G. W.

McOmie, Ed., Plenum Press, New York, NY, 1973, Chapter 5, 和 T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, New York, NY, 1981。术语“被保护的氨基”表示被上述氨基-保护基团之一取代的氨基。

“芳基”当单独或者作为另一术语的一部分使用时表示碳环芳族基团，无论稠合与否都具有有所指明的碳原子数，或者如果没有指明数量则具有至多 14 个碳原子。具体的芳基为苯基、萘基、联苯、菲基、并四苯基等(例如参见 *Lang's Handbook of Chemistry* (Dean, J. A., ed) 13th ed. Table 7-2 [1985])。具体的芳基是苯基。取代的苯基或取代的芳基表示被一个、两个、三个、四个或五个、例如 1-2、1-3 或 1-4 个取代基取代的苯基或芳基，除非另有指定，取代基选自卤素(F, Cl, Br, I)、羟基、被保护的羟基、氰基、硝基、烷基(优选 C₁-C₆ 烷基)、烷氧基(优选 C₁-C₆ 烷氧基)、苄氧基、羧基、被保护的羧基、羧甲基、被保护的羧甲基、羟甲基、被保护的羟甲基、氨基、被保护的氨基、三氟甲基、烷基磺酰氨基、烷基磺酰氨基烷基、芳基磺酰氨基、芳基磺酰氨基烷基、杂环基磺酰氨基、杂环基磺酰氨基烷基、杂环基、芳基或者其他所指定的基团。这些取代基中的一个或多个次甲基(CH)和/或亚甲基(CH₂)可以继而被与上述那些相似的基团取代。术语“取代的苯基”的实例包括但不限于单或二(卤代)苯基，例如 2-氯苯基、2-溴苯基、4-氯苯基、2,6-二氯苯基、2,5-二氯苯基、3,4-二氯苯基、3-氯苯基、3-溴苯基、4-溴苯基、3,4-二溴苯基、3-氯-4-氟苯基、2-氟苯基等；单或二(羟基)苯基，例如 4-羟基苯基、3-羟基苯基、2,4-二羟基苯基、其被保护的羟基衍生物等；硝基苯基，例如 3-或 4-硝基苯基；氰基苯基，例如 4-氰基苯基；单或二(低级烷基)苯基，例如 4-甲基苯基、2,4-二甲基苯基、2-甲基苯基、4-(异丙基)苯基、4-乙基苯基、3-(正丙基)苯基等；单或二(烷氧基)苯基，例如 3,4-二甲氧基苯基、3-甲氧基-4-苄氧基苯基、3-甲氧基-4-(1-氯甲基)苄氧基-苯基、3-乙氧基苯基、4-(异丙氧基)苯基、4-(叔丁氧基)苯基、3-乙氧基-4-甲氧基苯基等；3-或 4-三氟甲基苯基；单或二羧基苯基或者(被保护的羧基)苯基，例如 4-羧基苯基；单或二(羟甲基)苯基或者(被保护的羟甲基)苯基，例如 3-(被保护的羟甲基)苯基或 3,4-二(羟甲基)苯基；单或二(氨基)苯基或者(被保护的氨基)苯基，例如 2-(氨基)苯基或 2,4-(被保护的氨基)苯基；或者单或二(N-(甲基磺酰氨基))苯基，例如 3-(N-甲基磺酰氨基)苯基。而且，术语“取代的苯基”包括二取代的苯基，其中取代基是不同的，例如 3-甲基-4-羟基苯基、3-氯-4-羟基苯基、

2-甲氧基-4-溴苯基、4-乙基-2-羟基苯基、3-羟基-4-硝基苯基、2-羟基-4-氯苯基等，以及三取代的苯基，其中取代基是不同的，例如3-甲氧基-4-苄氧基-6-甲基磺酰氨基、3-甲氧基-4-苄氧基-6-苯基磺酰氨基，和四取代的苯基，其中取代基是不同的，例如3-甲氧基-4-苄氧基-5-甲基-6-苯基磺酰氨基。具体的取代的苯基包括2-氯苯基、2-氨基苯基、2-溴苯基、3-甲氧基苯基、3-乙氧基-苯基、4-苄氧基苯基、4-甲氧基苯基、3-乙氧基-4-苄氧基苯基、3,4-二乙氧基苯基、3-甲氧基-4-苄氧基苯基、3-甲氧基-4-(1-氯甲基)苄氧基-苯基、3-甲氧基-4-(1-氯甲基)苄氧基-6-甲基磺酰氨基苯基。稠合的芳基环也可以被任意的，例如1、2或3个本文以与取代的烷基相同的方式所指定的取代基取代。

“碳环基”、“碳环的”、“碳环”和“碳环并”单独和作为复杂基团中的片段使用时，例如碳环烷基，表示单、二或三环的脂族环，具有3至14个碳原子，优选3至7个碳原子，它可以是饱和或不饱和的、芳族或非芳族的。具体的饱和碳环基团为环丙基、环丁基、环戊基和环己基，具体的是环丙基。另一具体的饱和碳环是环己基。具体的不饱和碳环是芳族的，例如前文所定义的芳基，例如苯基。术语“取代的碳环基”、“碳环”和“碳环并”表示被与“取代的烷基”相同的取代基取代的这些基团。

本文所用的“羧基-保护基团”表示普遍用于阻滞或保护羧酸基团的羧酸酯衍生物之一，同时反应是在该化合物的其他官能团上进行的。这类羧酸保护基团的实例包括4-硝基苄基、4-甲氧基苄基、3,4-二甲氧基苄基、2,4-二甲氧基苄基、2,4,6-三甲氧基苄基、2,4,6-三甲基苄基、五甲基苄基、3,4-亚甲二氧基苄基、二苯甲基、4,4'-二甲氧基二苯甲基、2,2',4,4'-四甲氧基二苯甲基、烷基(例如叔丁基或叔戊基)、三苯甲基、4-甲氧基三苯甲基、4,4'-二甲氧基三苯甲基、4,4',4"-三甲氧基三苯甲基、2-苯基丙-2-基、三甲基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、苯甲酰甲基、2,2,2-三氯乙基、 β -(三甲基甲硅烷基)乙基、 β -(二(正丁基)甲基甲硅烷基)乙基、对-甲苯磺酰基乙基、4-硝基苄基磺酰基乙基、烯丙基、肉桂基、1-(三甲基甲硅烷基甲基)丙-1-烯-3-基等基团。所采用的羧基-保护基团的品种不是关键，只要所衍生的羧酸稳定于随后在该分子其他位置上的反应的条件，并且能够在适当的时间点除去而不破坏分子其余部分。特别重要的是不使羧基-保护的分子受到强亲核性碱的作用，例如氢氧化锂或NaOH，或者采用高度活化的金属氢化物的还原性条件的作

用,例如 LiAlH_4 (在除去氨基-保护基团和羟基-保护基团时,也要避免这类严格的除去条件,参见下文讨论)。具体的羧酸保护基团是烷基(例如甲基、乙基、叔丁基)、烯丙基、苄基和对-硝基苄基。用在头孢菌素、青霉素和肽领域中的相似羧基-保护基团也可以用于保护羧基取代基。这些基团的进一步实例参见 T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y., 1991, chapter 5; E. Haslam, "Protective Groups in Organic Chemistry", J. G. W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, N.Y., 1973, Chapter 5, 和 T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, New York, NY, 1981, Chapter 5。术语“被保护的羧基”表示被上述羧基-保护基团之一取代的羧基。

“胍”表示基团- NH-C(NH)-NHR , 其中 R 为 H、烷基、碳环、杂环、碳环取代的烷基或杂环取代的烷基, 其中所述烷基、烷氧基、碳环和杂环如本文所定义。具体的胍是基团- NH-C(NH)-NH_2 。

本文所用的“羟基-保护基团”表示普遍用于阻滞或保护羟基的羟基基团衍生物, 同时反应是在该化合物的其他官能团上进行的。这类保护基团的实例包括四氢吡喃氧基、苯甲酰基、乙酰氧基、氨甲酰氧基、苄基和甲硅烷基醚(例如 TBS、TBDPS)基团。这些基团的进一步实例参见 T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, 1991, chapters 2-3; E. Haslam, "Protective Groups in Organic Chemistry", J. G. W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, NY, 1973, Chapter 5, 和 T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, New York, NY, 1981。术语“被保护的羟基”表示被上述羟基-保护基团之一取代的羟基。

“杂环基团”、“杂环的”、“杂环”、“杂环基”或“杂环并”单独和当作为复杂基团中的片段使用时, 例如杂环烷基, 是可互换使用的, 表示任何单、二或三环的、饱和或不饱和的、芳族(杂芳基)或非芳族环, 具有所指明的原子数, 一般为 5 至约 14 个环原子, 其中这些环原子是碳和至少一个杂原子(氮、硫或氧), 例如 1 至 4 个杂原子。通常, 5-元环具有 0 至 2 条双键, 6-或 7-元环具有 0 至 3 条双键, 氮或硫杂原子可以任选地被氧化(例如 SO 、 SO_2), 任何氮杂原子可以任选地被季铵化。具体的非芳族杂环为吗啉基(吗啉代基)、吡咯烷基、环氧乙烷基、氧杂环丁烷基、四氢呋喃基、2,3-二氢呋喃基、2H-

吡喃基、四氢吡喃基、硫杂环丙烷基、硫杂环丁烷基、四氢硫杂环丁烷基、环乙亚氨基、氮杂环丁烷基、1-甲基-2-吡咯基、哌嗪基和哌啶基。“杂环烷基”是如上所定义的杂环基，共键合于如上所定义的烷基。具体的含有硫或氧原子和一至三个氮原子的 5-元杂环为噻唑基，特别是噻唑-2-基和噻唑-2-基 N-氧化物；噻二唑基，特别是 1,3,4-噻二唑-5-基和 1,2,4-噻二唑-5-基；噁唑基，例如噁唑-2-基；和噁二唑基，例如 1,3,4-噁二唑-5-基和 1,2,4-噁二唑-5-基。具体的含有 2 至 4 个氮原子的 5-元杂环包括咪唑基，例如咪唑-2-基；三唑基，例如 1,3,4-三唑-5-基、1,2,3-三唑-5-基、1,2,4-三唑-5-基；和四唑基，例如 1H-四唑-5-基。具体的苯并-稠合 5-元杂环是苯并噁唑-2-基、苯并噻唑-2-基和苯并咪唑-2-基。具体的 6-元杂环含有一至三个氮原子和任选的硫或氧原子，例如吡啶基，例如吡啶-2-基、吡啶-3-基和吡啶-4-基；嘧啶基，例如嘧啶-2-基和嘧啶-4-基；三嗪基，例如 1,3,4-三嗪-2-基和 1,3,5-三嗪-4-基；哒嗪基，特别是哒嗪-3-基；和吡嗪基。吡啶 N-氧化物与哒嗪 N-氧化物和吡啶基、嘧啶-2-基、嘧啶-4-基、哒嗪基和 1,3,4-三嗪-2-基是具体的基团。任选被取代的杂环的取代基和如上所讨论的 5-与 6-元环系的进一步实例可以参见 W. Druckheimer *et al.*，美国专利 No. 4,278,793。在具体的实施方式中，这些任选取代的杂环基团被羟基、烷基、烷氧基、酰基、卤素、巯基、氧代、羧基、酰基、卤素取代的烷基、氨基、氰基、硝基、脒基和胍基取代。

“杂芳基”单独和当作为复杂基团中的片段使用时，例如杂芳烷基，表示任何单、二或三环的芳族环系，具有所指明的原子数，其中至少一个环是 5-、6-或 7-元环，含有一至四个选自氮、氧和硫的杂原子，并且至少一个杂原子是氮(Lang's Handbook of Chemistry, *supra*)。在该定义中包括任何二环基团，其中任何上述杂芳基环与苯环稠合。其中氮或氧是杂原子的杂芳基是具体的。下列环系是由术语“杂芳基”所表示的杂芳基的实例(无论取代或未取代)：噻吩基、呋喃基、咪唑基、吡唑基、噻唑基、异噻唑基、噁唑基、异噁唑基、三唑基、噻二唑基、噁二唑基、四唑基、噻三唑基、噁三唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、噻嗪基、噁嗪基、三嗪基、噻二嗪基、噁二嗪基、二噻嗪基、二噁嗪基、噁噻嗪基、四嗪基、噻三嗪基、噁三嗪基、二噻二嗪基、咪唑啉基、二氢嘧啶基、四氢嘧啶基、四唑并[1,5-b]哒嗪基和嘌呤基，以及苯并-稠合的衍生物，例如苯并噁唑基、苯并呋喃基、苯并噻唑基、苯并噻二唑基、苯并三唑基、苯并咪唑基和吲哚基。特别的“杂芳基”包括：1,3-

噻唑-2-基、4-(羧基甲基)-5-甲基-1,3-噻唑-2-基、4-(羧基甲基)-5-甲基-1,3-噻唑-2-基钠盐、1,2,4-噻二唑-5-基、3-甲基-1,2,4-噻二唑-5-基、1,3,4-三唑-5-基、2-甲基-1,3,4-三唑-5-基、2-羟基-1,3,4-三唑-5-基、2-羧基-4-甲基-1,3,4-三唑-5-基钠盐、2-羧基-4-甲基-1,3,4-三唑-5-基、1,3-噁唑-2-基、1,3,4-噁二唑-5-基、2-甲基-1,3,4-噁二唑-5-基、2-(羟基甲基)-1,3,4-噁二唑-5-基、1,2,4-噁二唑-5-基、1,3,4-噻二唑-5-基、2-硫醇-1,3,4-噻二唑-5-基、2-(甲硫基)-1,3,4-噻二唑-5-基、2-氨基-1,3,4-噻二唑-5-基、1H-四唑-5-基、1-甲基-1H-四唑-5-基、1-(1-(二甲氨基)乙-2-基)-1H-四唑-5-基、1-(羧基甲基)-1H-四唑-5-基、1-(羧基甲基)-1H-四唑-5-基钠盐、1-(甲基磺酸)-1H-四唑-5-基、1-(甲基磺酸)-1H-四唑-5-基钠盐、2-甲基-1H-四唑-5-基、1,2,3-三唑-5-基、1-甲基-1,2,3-三唑-5-基、2-甲基-1,2,3-三唑-5-基、4-甲基-1,2,3-三唑-5-基、吡啶-2-基 N-氧化物、6-甲氧基-2-(n-氧化物)-哒嗪-3-基、6-羟基哒嗪-3-基、1-甲基吡啶-2-基、1-甲基吡啶-4-基、2-羟基嘧啶-4-基、1,4,5,6-四氢-5,6-二氧代-4-甲基-as-三嗪-3-基、1,4,5,6-四氢-4-(甲酰基甲基)-5,6-二氧代-as-三嗪-3-基、2,5-二氢-5-氧代-6-羟基-三嗪-3-基、2,5-二氢-5-氧代-6-羟基-as-三嗪-3-基钠盐、2,5-二氢-5-氧代-6-羟基-2-甲基-三嗪-3-基钠盐、2,5-二氢-5-氧代-6-羟基-2-甲基-as-三嗪-3-基、2,5-二氢-5-氧代-6-甲氧基-2-甲基-as-三嗪-3-基、2,5-二氢-5-氧代-as-三嗪-3-基、2,5-二氢-5-氧代-2-甲基-as-三嗪-3-基、2,5-二氢-5-氧代-2,6-二甲基-as-三嗪-3-基、四唑并[1,5-b]哒嗪-6-基和 8-氨基四唑并[1,5-b]哒嗪-6-基。“杂芳基”的替代选择包括：4-(羧基甲基)-5-甲基-1,3-噻唑-2-基、4-(羧基甲基)-5-甲基-1,3-噻唑-2-基钠盐、1,3,4-三唑-5-基、2-甲基-1,3,4-三唑-5-基、1H-四唑-5-基、1-甲基-1H-四唑-5-基、1-(1-(二甲氨基)乙-2-基)-1H-四唑-5-基、1-(羧基甲基)-1H-四唑-5-基、1-(羧基甲基)-1H-四唑-5-基钠盐、1-(甲基磺酸)-1H-四唑-5-基、1-(甲基磺酸)-1H-四唑-5-基钠盐、1,2,3-三唑-5-基、1,4,5,6-四氢-5,6-二氧代-4-甲基-as-三嗪-3-基、1,4,5,6-四氢-4-(2-甲酰基甲基)-5,6-二氧代-as-三嗪-3-基、2,5-二氢-5-氧代-6-羟基-2-甲基-as-三嗪-3-基钠盐、2,5-二氢-5-氧代-6-羟基-2-甲基-as-三嗪-3-基、四唑并[1,5-b]哒嗪-6-基和 8-氨基四唑并[1,5-b]哒嗪-6-基。

“抑制剂”表示减少或防止 IAP 蛋白与胱天蛋白酶蛋白结合或者减少或防止细胞凋亡被 IAP 蛋白抑制的化合物。作为替代选择，“抑制剂”表示防止 X-IAP 与胱天蛋白酶的结合性相互作用或者 ML-IAP 与 SMAC 的结合性相互作用的化合物。

除非另外说明,“任选取代的”表示基团可以是未取代的,或者被对所述基团所列举的一个或多个(例如 0、1、2、3 或 4)取代基所取代的基团,所述取代基可以是相同或不同的。在一种实施方式中,任选取代的基团具有 1 个取代基。在另一实施方式中,任选取代的基团具有 2 个取代基。在另一实施方式中,任选取代的基团具有 3 个取代基。

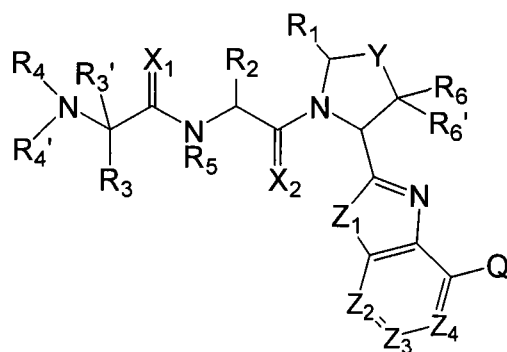
“可药用盐”包括酸和碱加成盐。“可药用酸加成盐”表示这样的盐,它们保留游离碱的生物有效性和性质,在生物学上或其他方面不是不可取的,是与如下酸生成的:无机酸,例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、碳酸、磷酸等;有机酸可以选自脂族、环脂族、芳族、芳脂族、杂环、羧酸和磺酸类的有机酸,例如甲酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、丙酮酸、草酸、苹果酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、天冬氨酸、抗坏血酸、谷氨酸、邻氨基苯甲酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、扑酸、苯基乙酸、甲磺酸、乙磺酸、对-甲苯磺酸、水杨酸等。

“可药用碱加成盐”包括从无机碱衍生的那些,例如钠、钾、锂、铵、钙、镁、铁、锌、铜、锰、铝盐等。具体的碱加成盐是铵、钾、钠、钙和镁盐。从可药用有机无毒碱衍生的盐包括如下碱的盐:一元、二元和三元胺;取代的胺,包括天然存在的取代的胺、环状胺和碱性离子交换树脂,例如异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、2-二乙氨基乙醇、三甲胺、二环己胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、海巴明、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡萄糖胺、甲基葡萄糖胺、可可碱、嘌呤、嘧啶、N-乙基嘧啶、聚胺树脂等。具体的有机无毒碱是异丙胺、二乙胺、乙醇胺、三甲胺、二环己胺、胆碱和咖啡因。

“磺酰基”表示-SO₂-R 基团,其中 R 为 H、烷基、碳环、杂环、碳环取代的烷基或杂环取代的烷基,其中所述烷基、烷氧基、碳环和杂环如本文所定义。确切的磺酰基是烷基磺酰基(即-SO₂-烷基),例如甲基磺酰基;芳基磺酰基,例如苯基磺酰基;芳烷基磺酰基,例如苄基磺酰基。

本文所用的措辞“和其盐和溶剂化物”意味着本发明化合物可以存在一种盐和溶剂化物形式或者混合物。例如,本发明化合物可以是基本上纯的一种特定的盐或溶剂化物形式,或者可以是两种或多种盐或溶剂化物形式的混合物。

本发明提供新颖的具有通式 I 的化合物:



I

其中 Q、 X_1 、 X_2 、Y、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 、 Z_4 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_3' 、 R_4 、 R_4' 、 R_5 、 R_6 、 R_6' 和 n 如上所定义。本发明的化合物包括其盐、溶剂化物和多晶型，除非另有规定。

X_1 和 X_2 各自独立地为 O 或 S。在具体的实施方式中， X_1 和 X_2 都是 O。在另一具体实施方式中， X_1 和 X_2 都是 S。另一具体实施方式中， X_1 是 S，而 X_2 是 O。在另一具体实施方式中， X_1 是 O，而 X_2 是 S。

Y 是直接键、 $(CR_7R_7)_n$ 、O 或 S。在实施方式中，Y 是直接键、 $(CR_7R_7)_n$ 、O 或 S；其中 n 是 1 或 2 和 R_7 是如本文所定义或者是 H、卤素、烷基、芳基、芳烷基、氨基、芳基氨基、烷基氨基、芳烷基氨基、烷氧基、芳氧基或芳烷氧基。具体的实施方式中，Y 是 $(CHR_7)_n$ 、O 或 S；其中 n 是 1 或 2 和 R_7 是 H、卤素、烷基、芳基、芳烷基、氨基、芳基氨基、烷基氨基、芳烷基氨基、烷氧基、芳氧基或芳烷氧基。在具体的实施方式中，Y 是 CH_2 。在具体实施方式中， n 是 1。在具体实施方式中，Y 是直接键。在具体实施方式中， n 是 1 和 Y 是 CHR_7 其中 R_7 是芳烷氧基例如苄氧基。在具体实施方式中， n 是 1 和 Y 是 CHR_7 ，其中 R_7 是 F。在具体实施方式中， n 是 1 和 Y 是 CHR_7 其中 R_7 是芳烷基氨基、例如苄基氨基。在另一具体实施方式中，Y 是 O。在另一具体实施方式中，Y 是 S。

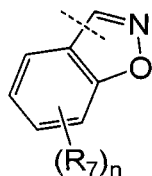
Z_1 是 NR_8 、O、S、SO 或 SO_2 ；其中 R_8 是如此处所定义。在实施方式中， Z_1 是 NR_8 、O 或 S。在实施方式中， Z_1 是 NR_8 其中 R_8 是 H、烷基、芳基或芳烷基。在具体的实施方式中， Z_1 是 NR_8 其中 R_8 是苄基。在具体的实施方式中， Z_1 是 NR_8 其中 R_8 是 Me。在具体的实施方式中， Z_1 是 NR_8 其中 R_8 是 H。在具体实施方式中， Z_1 是 O。在具体实施方式中， Z_1 是 S。

Z_2 、 Z_3 和 Z_4 独立地为 CQ 或 N。在具体的实施方式中， Z_2 是 N。在具体的实施方式中， Z_3 是 N。在具体的实施方式中， Z_4 是 N。在实施方式中，

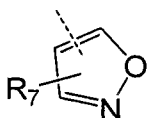
Z_2 、 Z_3 和 Z_4 是 CQ。在实施方式中, Z_2 是 N、 Z_3 是 CQ 和 Z_4 是 CQ。在实施方式中, Z_2 是 CQ、 Z_3 是 N 和 Z_4 是 CQ。在实施方式中, Z_2 是 CQ、 Z_3 是 CQ 和 Z_4 是 N。在实施方式中, Z_2 是 N、 Z_3 是 CQ 和 Z_4 是 N。

Q 是 H、卤素、羟基、羧基、氨基、硝基、氰基、烷基、碳环、杂环; 其中烷基的一个或多个 CH_2 或 CH 基团任选被以下基团代替: $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $\text{S}(\text{O})_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}_8)-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-\text{NR}_8-$ 、 $-\text{NR}_8-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{SO}_2-\text{NR}_8-$ 、 $-\text{NR}_8-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{NR}_8-\text{C}(\text{O})-\text{NR}_8-$ 、 $-\text{NR}_8-\text{C}(\text{NH})-\text{NR}_8-$ 、 $-\text{NR}_8-\text{C}(\text{NH})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$ 或 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-$; 和其中任何前述烷基、碳环和杂环任选取代有一个或多个羟基、烷氧基、酰基、卤素、巯基、氧代、羧基、酰基、卤素取代的烷基、氨基、氰基硝基、脒基、胍基、任选取代的碳环或任选取代的杂环。“任选取代的碳环”和“任选取代的杂环”的取代基如此处所定义。在具体实施方式中, 该碳环和杂环基团取代有羟基、烷基、烷氧基、酰基、卤素、巯基、氧代、羧基、酰基、卤素取代的烷基、氨基、氰基、硝基、脒基和胍基。在具体实施方式中, Q 是碳环或杂环, 任选取代有卤素、氨基、氧代、烷基、碳环或杂环; 其中烷基的一个或多个 CH_2 或 CH 基团任选被以下基团代替: $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $\text{S}(\text{O})_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}_8)-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-\text{NR}_8-$ 、 $-\text{NR}_8-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{SO}_2-\text{NR}_8-$ 、 $-\text{NR}_8-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{NR}_8-\text{C}(\text{O})-\text{NR}_8-$ 、 $-\text{NR}_8-\text{C}(\text{NH})-\text{NR}_8-$ 、 $-\text{NR}_8-\text{C}(\text{NH})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$ 或 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-$; 和其中所述烷基、碳环或杂环任选取代有卤素、氨基、羟基、巯基、羧基、烷氧基、烷氧基烷氧基、羟基烷氧基、烷硫基、酰基氧、酰基氧烷氧基、烷基磺酰基、烷基磺酰基烷基、烷基亚磺酰基和烷基亚磺酰基烷基。在具体实施方式中, 至少一种情况的 Q 是此处定义的碳环或杂环, 并任选如此处定义的取代, 同时在任何其它情况的 Q 独立地选自 H、卤素、羧基、氨基、硝基和氰基。在具体实施方式中, 一种情况的 Q 是芳基或杂芳基, 而任何其它情况的 Q 独立地选自 H、卤素、羧基、氨基、硝基和氰基。在具体实施方式中, 这些其它情况的 Q 是 H。在另一具体实施方式中, 这些其它情况的 Q 是 H、卤素或烷基。

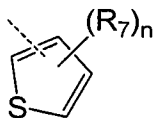
在具体的实施方式中, Q 是选自下面的 III-1 - III-16 的碳环或杂环



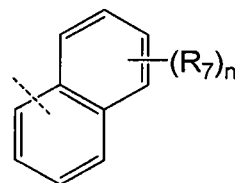
III-1



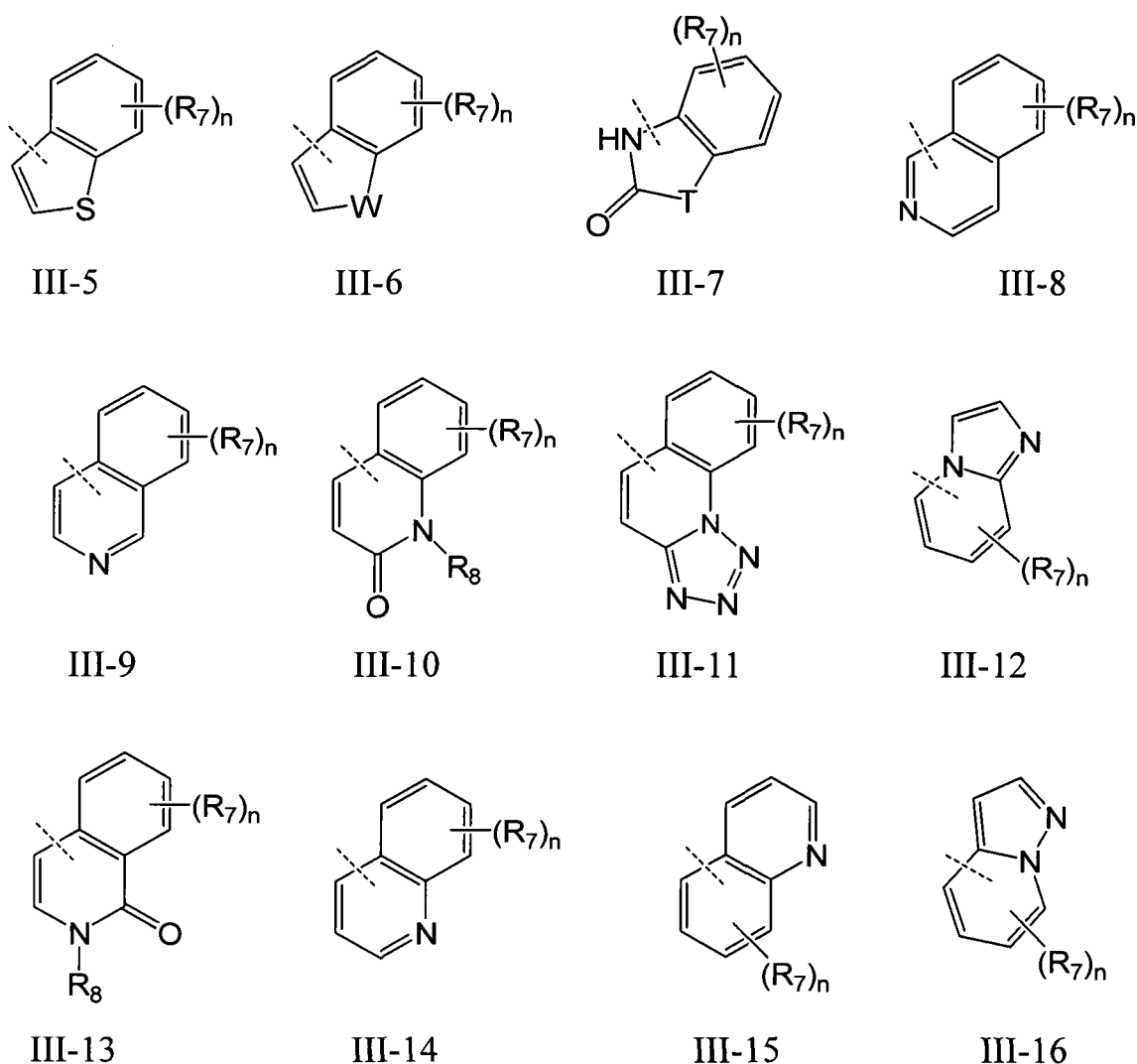
III-2



III-3

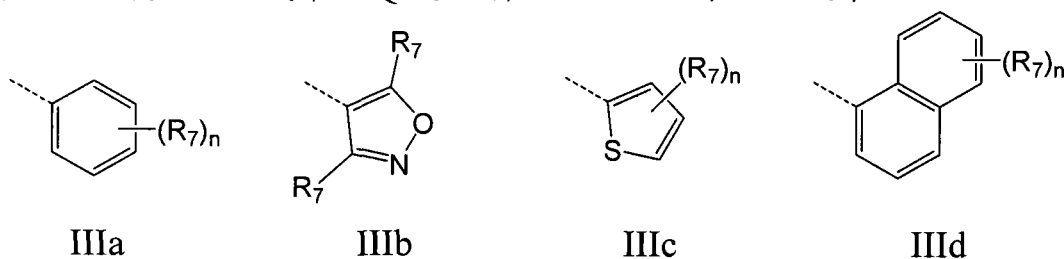


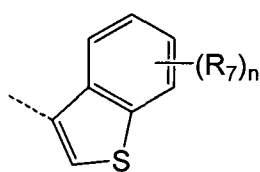
III-4



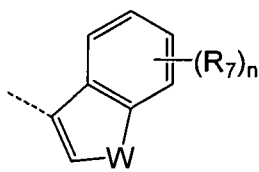
其中 n 是 1-4, 例如 1-3, 例如 1-2, 例如 1; T 是 O、S、 NR_8 或 CR_7R_7 ; W 是 O、 NR_8 或 CR_7R_7 ; 和 R_7 和 R_8 是如此处所定义。在实施方式中, 本发明的化合物包含一个具有式 III-1 - III-16 的 Q 基。在其它实施方式中, 本发明的化合物包含一个具有式 III-1 - III-16 的 Q 基, 而其它情况的 Q 独立地选自 H、卤素、羧基、氨基、硝基和氰基。在具体实施方式中, 这些其它的情况的 Q 是 H。在另一具体实施方式中, 这些其它情况的 Q 是 H、卤素或烷基。

在具体的实施方式中, Q 是选自 IIIa - IIIs 的碳环或杂环:

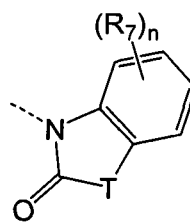




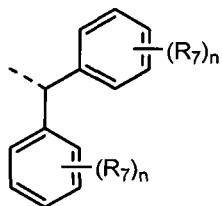
IIIe



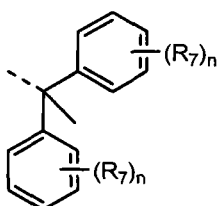
IIIf



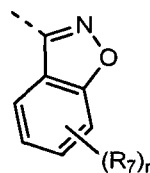
IIIg



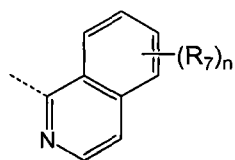
IIIh



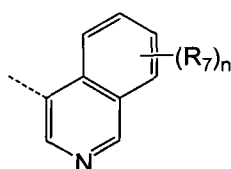
IIIi



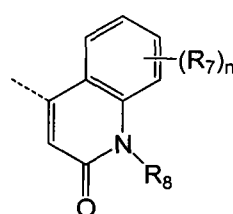
IIIj



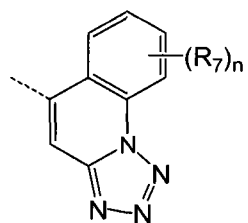
IIIk



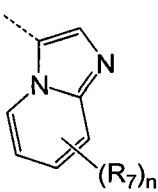
IIIl



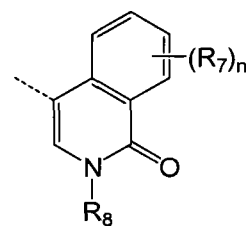
IIIm



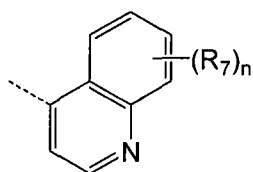
IIIn



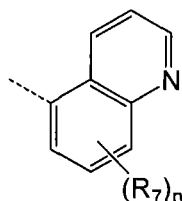
IIIo



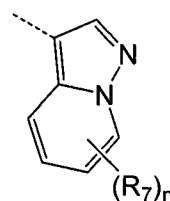
IIIp



IIIq



IIIr



IIIs

其中 n 是 1-4, 例如 1-3, 例如 1-2, 例如 1; T 是 O 、 S 、 NR_8 或 CR_7R_7 ; W 是 O 、 NR_8 或 CR_7R_7 ; 和 R_7 和 R_8 如此处所定义。在具体实施方式中, Q 是 IIIa – IIIi 的任一个, 其中 R_8 是 H 和 R_7 选自 H 、 F 、 Cl 、 Me 、甲氧基、羟基乙氧基、甲氧基乙氧基、乙酰氧乙氧基、甲基磺酰基、甲基磺酰基甲基、

苯基和吗啉-4-基。在另一具体实施方式中，Q 是 IIIId。在具体实施方式中，Q 是 IIIId，其在 4-位取代有 R_7 。在另一具体实施方式中，Q 是 IIIId，其在 5-位取代有 R_7 。在具体实施方式中，Q 是 F、Me、iPr、苯基，如下取代的苯基：2-Cl、3-Cl、4-Cl、2-F、3-F 或 4-F 取代的，苄基、吡啶-3-基或吡啶-4-基。在实施方式中，本发明的化合物包含一个具有通式 IIIa - IIIs 的 Q 基。在另一实施方式中，本发明的化合物包含一个具有通式 IIIa - IIIs 的 Q 基，而其它情况的 Q 独立地选自 H、卤素、羧基、氨基、硝基和氰基。在具体实施方式中，这些其它情况的 Q 是 H。在另一具体实施方式中，这些其它情况的 Q 是 H、卤素或烷基。

R_1 是 H、OH 或烷基；或 R_1 和 R_2 一起形成 5-8 元杂环。在具体的实施方式中， R_1 是 H。在具体的实施方式中， R_1 和 R_2 一起形成 6-元环。在具体的实施方式中， R_1 和 R_2 一起形成 7-元环。在另一具体实施方式中， R_1 和 R_2 一起形成 8-元环。在另一具体实施方式中， R_1 和 R_2 一起形成 7-元环，而 Y 是 S。在另一具体实施方式中， R_1 是 H、而 Y 是 CH_2 。在另一具体实施方式中， R_1 是 H、而 Y 是 S。在另一具体实施方式中， R_1 是 H、而 Y 是 O。

R_2 是烷基、碳环、碳环烷基、杂环或杂环烷基，各自任选被以下基团取代：卤素、羟基、氧代、硫酮、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、酰基、烷氧基、烷硫基、磺酰基、氨基和硝基，其中所述烷基、酰基、烷氧基、烷硫基和磺酰基任选取代有以下取代基：羟基、巯基、卤素、氨基、烷氧基、羟基烷氧基和烷氧基烷氧基。在实施方式中， R_2 是烷基、碳环、碳环烷基、杂环或杂环烷基，各自任选被以下基团取代：卤素、羟基、氧代、硫酮、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、烷氧基、烷硫基、磺酰基、氨基和硝基。在具体实施方式中， R_2 是烷基、碳环、碳环烷基、杂环或杂环烷基，各自任选被以下基团取代：卤素、羟基、氧代、巯基、硫酮、羧基、烷基、卤代烷基、烷氧基、酰基、烷硫基、酰基、羟基酰基、甲氧基酰基、磺酰基、氨基和硝基。在实施方式中， R_2 是烷基、碳环、碳环烷基、杂环或杂环烷基，各自任选被以下基团取代：卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、烷氧基、酰基、氨基和硝基。在具体实施方式中， R_2 是烷基、环烷基、环烷基烷基、芳基、芳烷基、杂环或杂环烷基。在具体实施方式中， R_2 是烷基、环烷基或杂环。在具体实施方式中， R_2 选自叔丁基、异丙基、环己基、四氢吡喃-4-基、N-甲基磺酰基哌啶-4-基、四氢噻喃-4-基、四氢噻喃-4-基（其中 S 是氧化形式 SO 或 SO_2 ）、

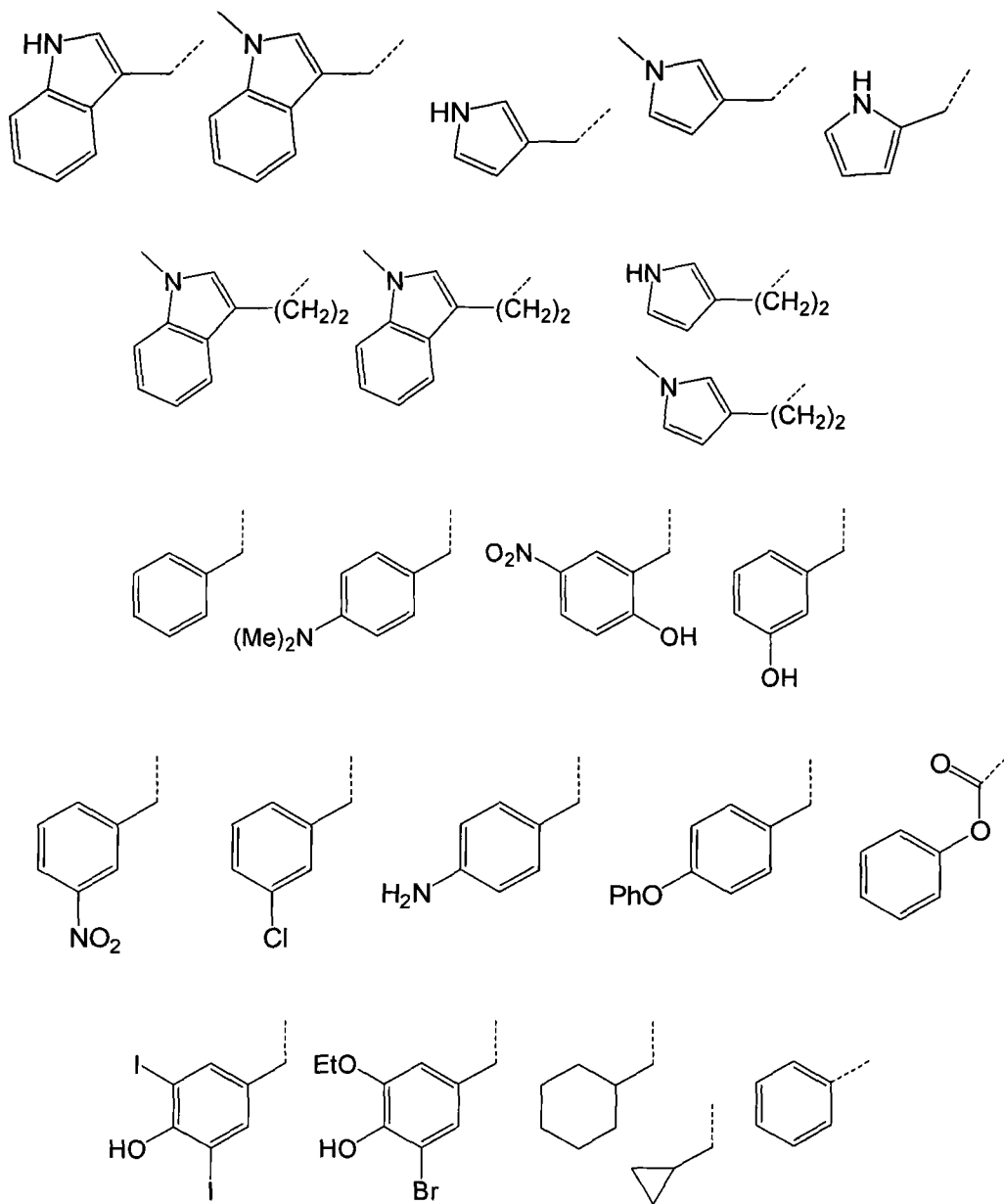
环己烷-4-酮、4-羟基环己烷、4-羟基-4-甲基环己烷、1-甲基-四氢吡喃-4-基、2-羟基丙-2-基、丁-2-基、噻吩-3-基、哌啶-4-基、N-乙酰基哌啶-4-基、N-羟基乙基哌啶-4-基、N-(2-羟基乙酰基)哌啶-4-基、N-(2-甲氧基乙酰基)哌啶-4-基、吡啶-3-基、苯基、四氢呋喃-2-基-羰基、甲氧基乙酮、2-甲氧基乙氧基乙酮和 1-羟基乙-1-基。在本发明实施方式中， R_2 是叔丁基、异丙基、环己基、环戊基、苯基或四氢吡喃-4-基。在具体的实施方式中， R_2 是苯基。在具体的实施方式中， R_2 是环己基。在另一实施方式中， R_2 是四氢吡喃-4-基。在另一具体实施方式中， R_2 是异丙基 (即，缬氨酸氨基酸侧链)。在另一具体实施方式中， R_2 是叔丁基。在具体实施方式中， R_2 是取向的，以使得其所包含的氨基酸、或氨基酸类似物是 L-构型。

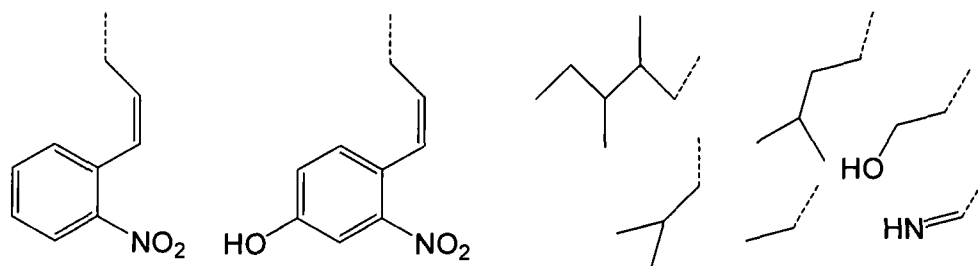
R_3 是 H 或任选取代有卤素或羟基的烷基；或 R_3 和 R_4 一起形成 3-6 元杂环。在实施方式中， R_3 是 H 或烷基；或 R_3 和 R_4 一起形成 3-6 元杂环。在实施方式中， R_3 是 H 或甲基、乙基、丙基或异丙基。在具体特定实施方式中， R_3 是 H 或甲基。在另一具体实施方式中， R_3 是甲基。在另一具体实施方式中， R_3 是氟甲基。在另一具体实施方式中， R_3 是乙基。另一具体实施方式中， R_3 是羟基乙基。具体实施方式中， R_3 是氟甲基。在具体实施方式中， R_3 是羟基乙基。在另一实施方式中， R_3 是取向的，以使其含有的氨基酸、或氨基酸类似物是 L-构型。在具体实施方式中， R_3 和 R_4 与它们所连接的原子一起形成 3-6 元杂环。在具体实施方式中， R_3 和 R_4 一起形成氮杂环丁烷环。在具体实施方式中， R_3 和 R_4 一起形成吡咯烷。

R_3' 是 H、或 R_3 和 R_3' 一起形成 3-6 元碳环。在实施方式中， R_3' 是 H。在另一实施方式中， R_3 和 R_3' 一起形成 3-6 元碳环、例如环丙基环。在具体实施方式中， R_3 和 R_3' 都是甲基。

R_4 和 R_4' 独立地为 H、羟基、氨基、烷基、碳环、碳环烷基、碳环烷基氧基、碳环烷基氧基羰基、杂环、杂环烷基、杂环烷氧基或杂环烷氧基羰基；所述烷基、碳环烷基、碳环烷基氧基、碳环烷基氧基羰基、杂环、杂环烷基、杂环烷氧基和杂环烷氧基羰基各自任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、烷氧基、氨基、亚氨基和硝基；或 R_4 和 R_4' 一起形成杂环。在实施方式中， R_4 和 R_4' 独立地为 H、羟基、氨基、烷基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂芳基、或杂芳基烷基，其中所述烷基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂芳基和杂芳基烷基各自任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、

烷基、烷氧基、氨基和硝基；或 R_4 和 R_4' 一起形成杂环。在具体实施方式中， R_4 和 R_4' 一起形成杂环、例如氮杂环丁烷环、或吡咯烷环。在具体实施方式中， R_4 和 R_4' 都是 H。在另一具体实施方式中， R_4 是甲基和 R_4' 是 H。在具体实施方式中， R_4 和 R_4' 中的一个羟基(OH)，而另一个是 H。在另一实施方式中， R_4 和 R_4' 中的一个氨基，例如 NH_2 、 $NHMe$ 和 $NHEt$ ，而另一个是 H。在具体的实施方式中， R_4' 是 H 和 R_4 是 H、烷基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。在具体实施方式中， R_4 是选自以下的基团：





R_5 是 H 或烷基。在具体的实施方式中, R_5 是 H 或甲基。在具体的实施方式中, R_5 是 H。在另一具体实施方式中, R_5 是甲基。

R_6 和 R_6' 各自独立地为 H、烷基、芳基或芳烷基。在具体的实施方式中, R_6 是烷基、例如甲基。在另一具体实施方式中, R_6 是芳基、例如苯基。在另一具体实施方式中, R_6 是芳烷基、例如苄基。在具体实施方式中, R_6 和 R_6' 相同, 例如都是烷基, 例如都是甲基。在另一具体实施方式中, R_6 是甲基和 R_6' 是 H。

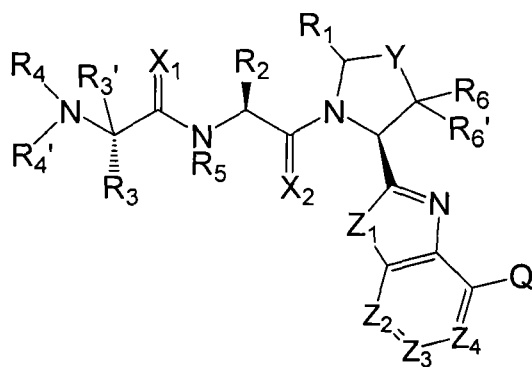
R_7 每次出现时独立地为 H、氰基、羟基、巯基、卤素、硝基、羧基、脒基、胍基、烷基、碳环、杂环或 -U-V; 其中 U 是 -O-、-S-、-S(O)-、S(O)₂-、-N(R_8)-、-C(O)-、-C(O)-N R_8 -、-N R_8 -C(O)-、-SO₂-N R_8 -、-N R_8 -SO₂-、-N R_8 -C(O)-N R_8 -、-N R_8 -C(NH)-N R_8 -、-N R_8 -C(NH)-、-C(O)-O-或-O-C(O)-和 V 是烷基、碳环或杂环; 和其中烷基的一个或多个 CH₂ 或 CH 基团任选被以下基团代替: -O-、-S-、-S(O)-、S(O)₂-、-N(R_8)-、-C(O)-、-C(O)-N R_8 -、-N R_8 -C(O)-、-SO₂-N R_8 -、-N R_8 -SO₂-、-N R_8 -C(O)-N R_8 -、-N R_8 -C(NH)-N R_8 -、-N R_8 -C(NH)-、-C(O)-O-或-O-C(O)-; 和烷基、碳环和杂环任选取代有羟基、烷氧基、酰基、卤素、巯基、氧代、羧基、酰基、卤素取代的烷基、氨基、氰基、硝基、脒基、胍基、任选取代的碳环或任选取代的杂环。“任选取代的碳环”和“任选取代的杂环”中的取代基如上所定义。在具体实施方式中, 这些碳环和杂环基团为以下基团取代: 羟基、烷基、烷氧基、酰基、卤素、巯基、氧代、羧基、酰基、卤素取代的烷基、氨基、氰基、硝基、脒基和胍基。在实施方式中, R_7 是 H、卤素、烷基、芳基、芳烷基、氨基、芳基氨基、烷基氨基、芳烷基氨基、烷氧基、芳氧基或芳烷基氧基。

R_8 是 H、烷基、碳环或杂环, 其中所述烷基的一个或多个 CH₂ 或 CH 基团任选被以下基团代替: -O-、-S-、-S(O)-、S(O)₂-、-N(R_8)-、或-C(O)-; 和所述烷基、碳环和杂环任选取代有羟基、烷氧基、酰基、卤素、巯基、氧代 (=O)、羧基、酰基、卤素取代的烷基、氨基、氰基、硝基、脒基、胍基、任选取代的碳环或任选取代的杂环。“任选取代的碳环”和“任选取代的杂环”中的取代基

如上所定义。在具体实施方式中, 这些碳环和杂环基团取代有: 羟基、烷基、烷氧基、酰基、卤素、巯基、氧代、羧基、酰基、卤素取代的烷基、氨基、氰基、硝基、脒基和胍基。在具体实施方式中, R_8 是 H、烷基、或酰基。在实施方式中, R_8 是甲基。在另一实施方式中, R_8 是乙酰基。在具体实施方式中, R_8 是 H。在实施方式中, R_7 是 H、卤素、氨基、羟基、羧基、烷基、卤代烷基或芳烷基。在具体实施方式中, R_7 是卤素、例如 Cl 或 F。在具体实施方式中, R_7 是 H。应该理解 R_7 和 R_8 所定义的取代基以及本文的其它可变基团都具有可允许的价格态。

n 是 0-4。在实施方式中, n 是 0。在实施方式中, n 是 1。在实施方式中, n 是 2。在实施方式中, n 是 3。在实施方式中, n 是 4。

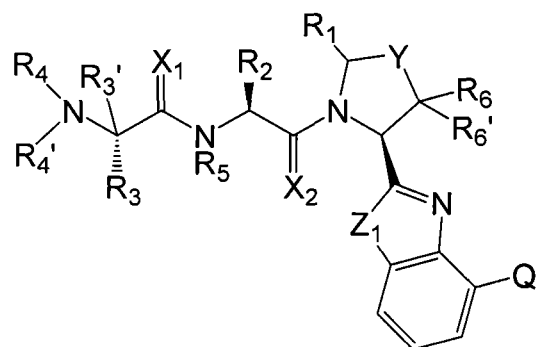
本发明化合物含有一个或多个不对称的碳原子。因此, 这些化合物可以以非对映体、对映体或其混合物形式存在。这些化合物的合成可以采用外消旋物、非对映体或对映体作为原料或者作为中间体。非对映体化合物可以借助色谱或结晶方法分离。与之相似, 对映体混合物可以利用同样的技术或者本领域已知的其他技术加以分离。每个不对称碳原子可以是 R 或 S 构型, 这些构型都在本发明的范围内。在具体的实施方式中, 本发明化合物具有下列式 I' 的立体化学构型



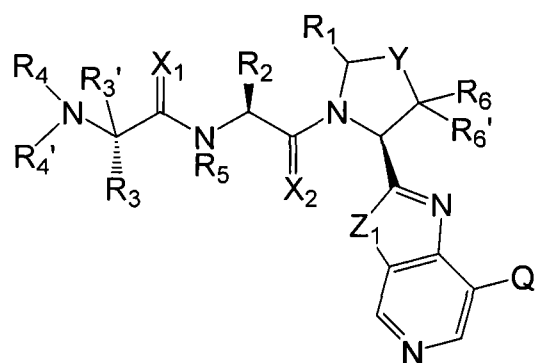
I'

其中 X_1 、 X_2 、 Y 、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 、 Q 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_4' 、 R_5 、 R_6 和 R_6' 如本文所定义。

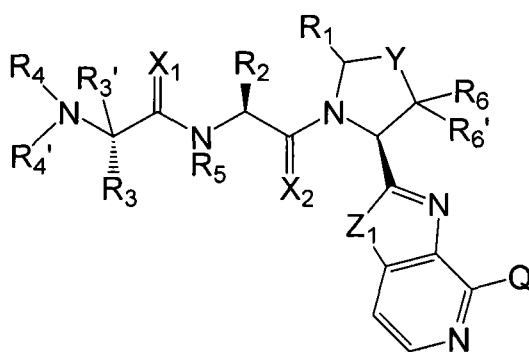
在具体实施方式中, 本发明的化合物具有通式 IIa-IIe:



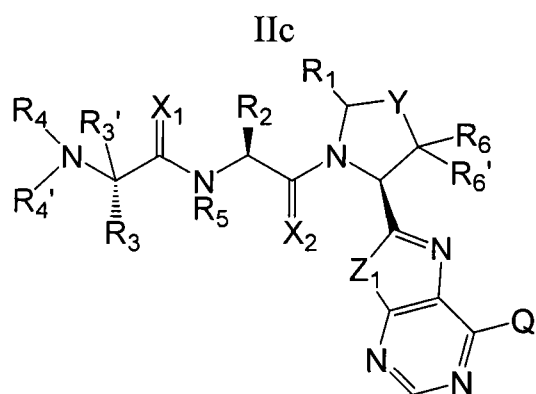
IIa



IIb



IIc



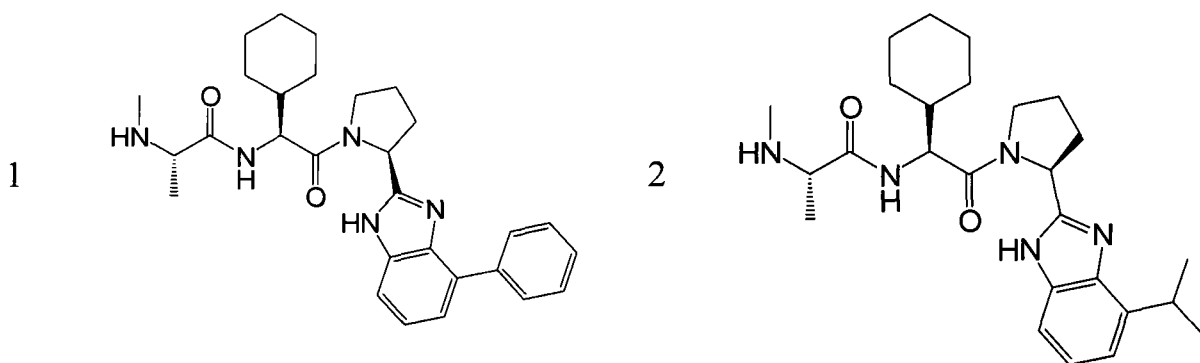
IIe

其中 X_1 、 X_2 、 Y 、 Z_1 、 Q 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_4' 、 R_5 、 R_6 和 R_6' 如本文所定义。

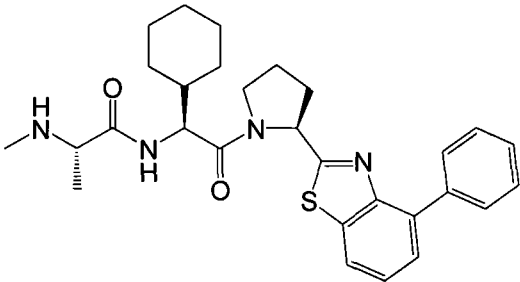
本发明也涵盖上述化合物的前体药物。酌情适合的前体药物包括已知的氨基-保护基团和羧基-保护基团，它们在生理条件下被释放，例如水解，得到母体化合物。具体的前体药物种类是这样的化合物，其中氨基、脒基、氨基亚烷基氨基、亚氨基亚烷基氨基或胍基中的氮原子被羟基(OH)、烷基羰基(-CO-R)、烷氧基羰基(-CO-OR)、酰氧基烷基-烷氧基羰基(-CO-O-R-O-CO-R)取代，其中 R 是如上所定义的一价或二价基团，或者具有式-C(O)-O-CP1P2-卤代烷基的基团，其中 P1 和 P2 是相同或不同的，是 H、低级烷基、低级烷氧基、氰基、卤代低级烷基或芳基。在具体实施方式中，该氮原子是本发明化合物的脒基的氮原子之一。这些前体药物化合物是如下制备的，使上述本

发明化合物与活化的酰基化合物反应，使本发明化合物中的氮原子键合于活化酰基化合物的羰基。适合的活化羰基化合物含有与羰基碳键合的良好离去基团，包括酰基卤、酰基胺、酰基吡啶鎓盐、酰基醇化物，特别是酰基酚盐，例如对-硝基苯氧基酰基、二硝基苯氧基酰基、氟苯氧基酰基和二氟苯氧基酰基。反应一般是放热的，在惰性溶剂中、在低温下进行，例如-78至50°C。反应通常也是在无机碱或有机碱的存在下进行的，前者例如碳酸钾或碳酸氢钠，后者例如胺，包括吡啶、三乙胺等。在1997年4月15日提交的USSN 08/843,369(相当于PCT公报WO9846576)中描述了一种制备前体药物的方式，其内容完整结合在此作为参考。

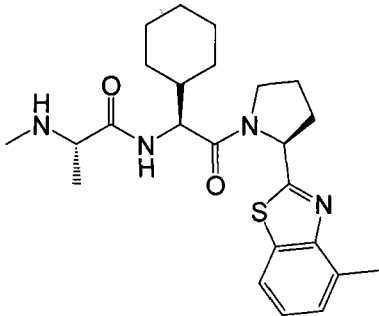
具体的式I化合物包括如下：



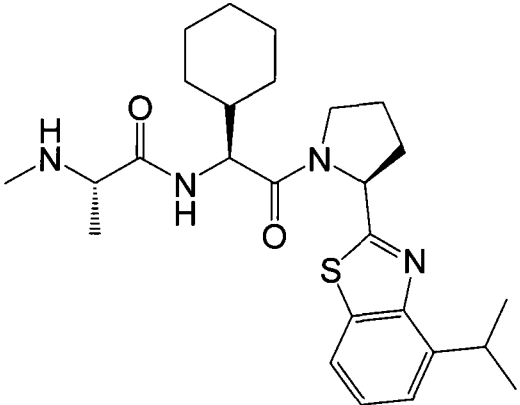
3



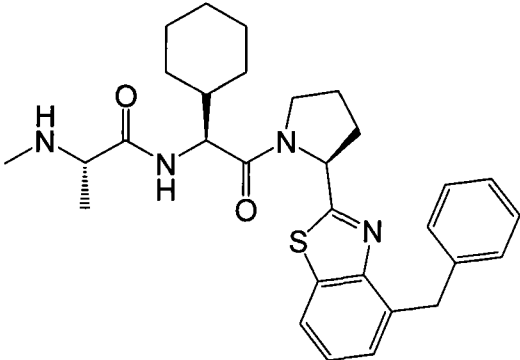
4



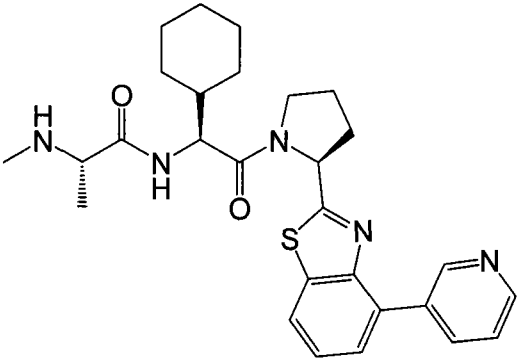
5



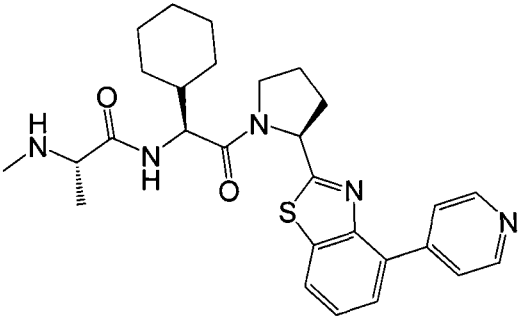
6



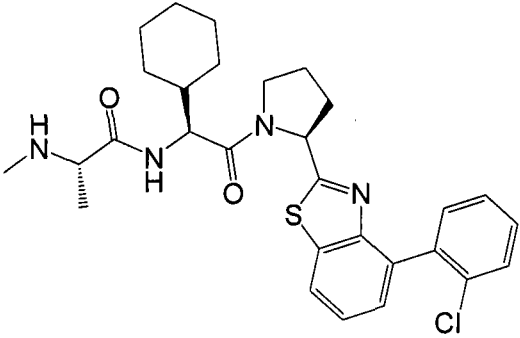
7



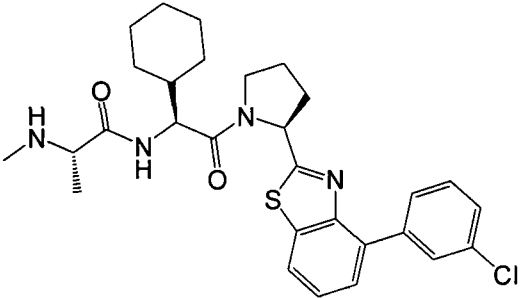
8

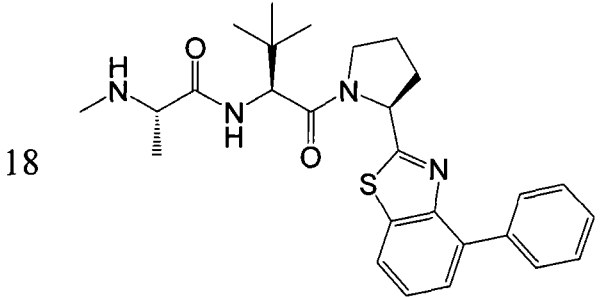
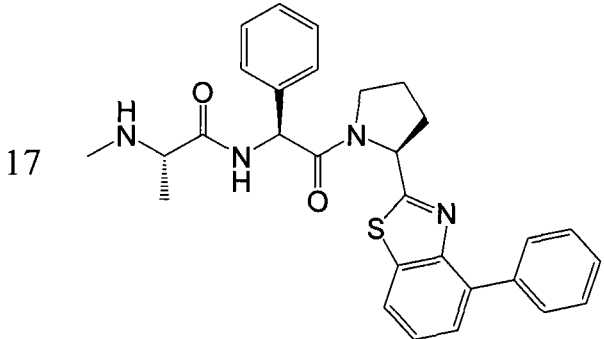
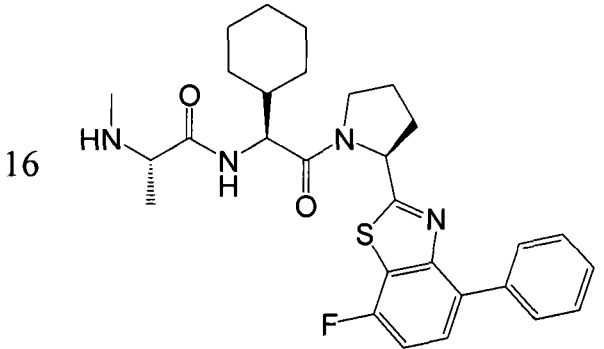
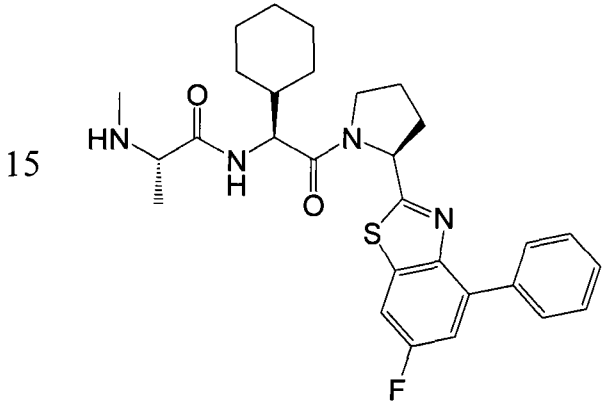
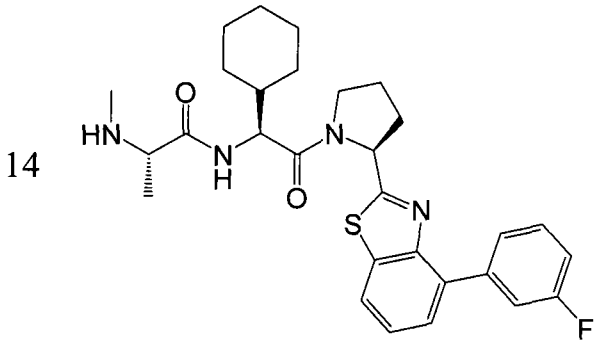
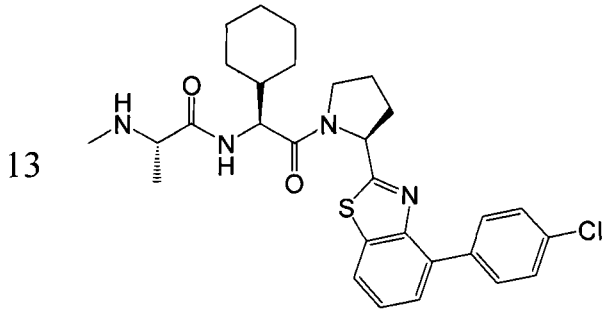
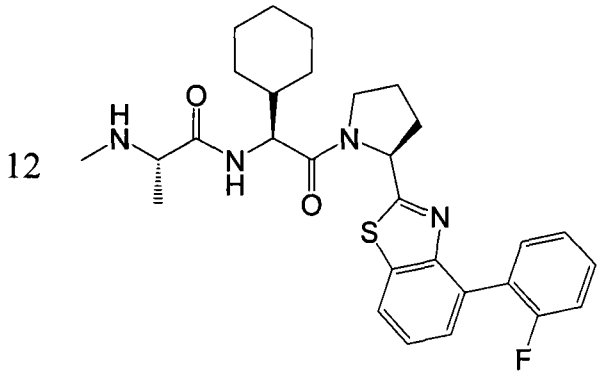
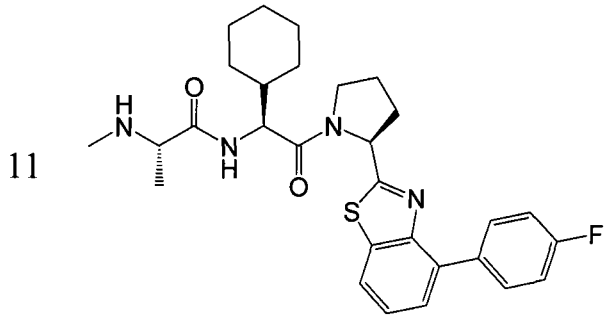


9

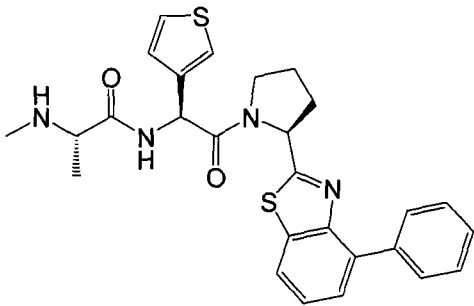


10

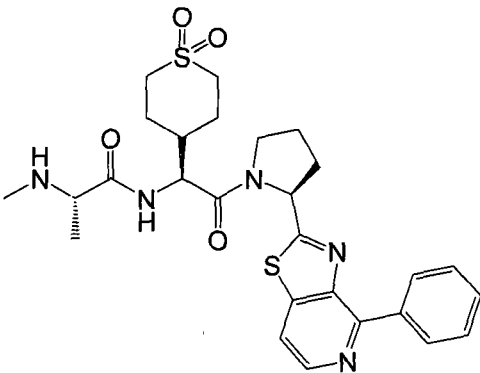




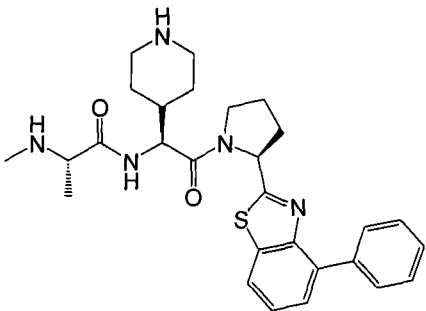
19



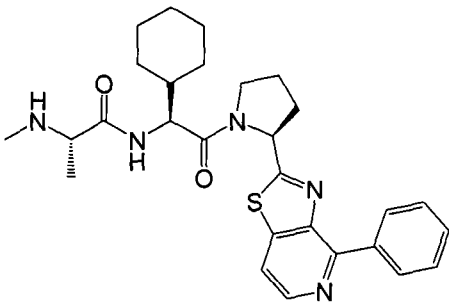
20



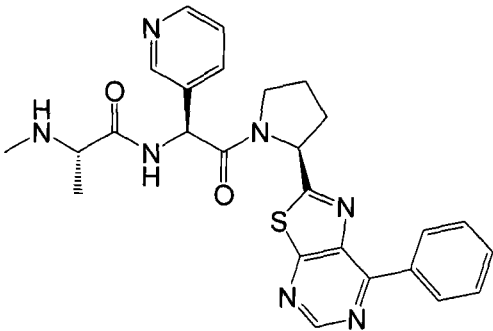
21



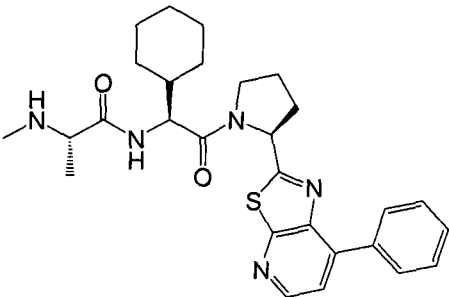
22



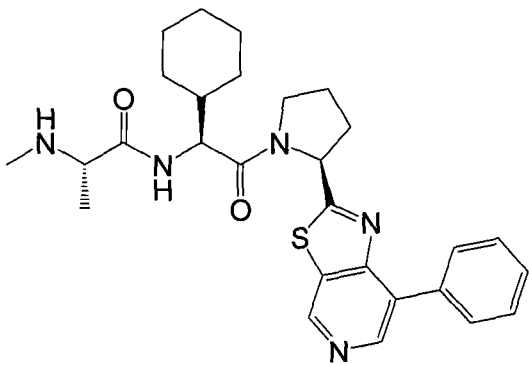
23



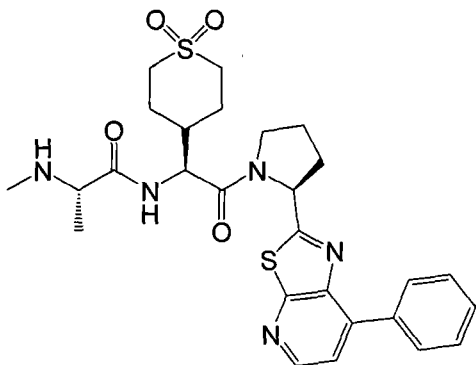
24

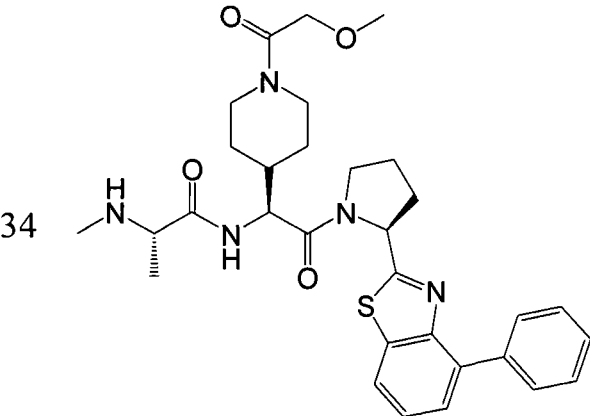
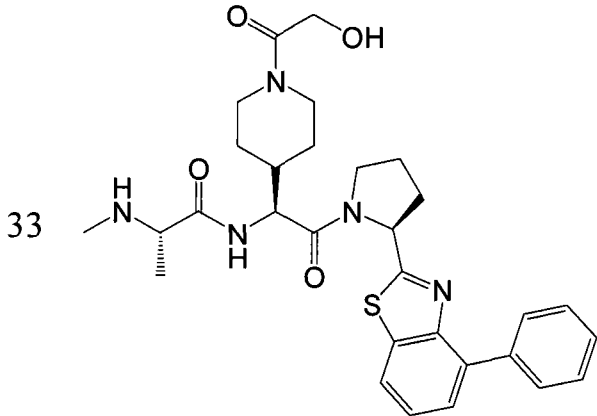
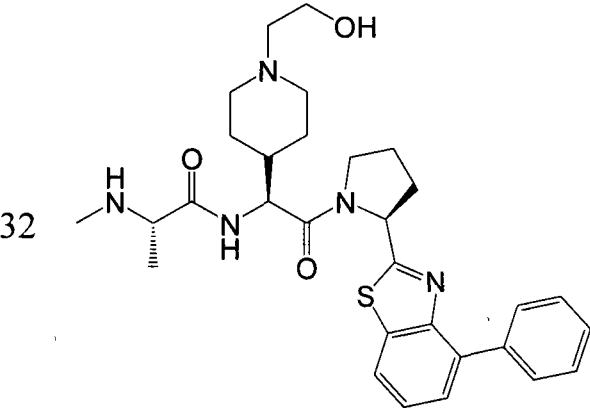
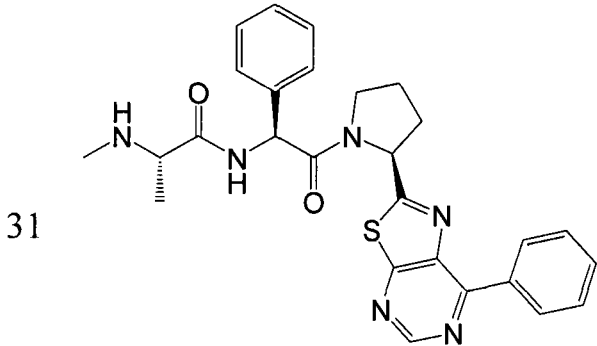
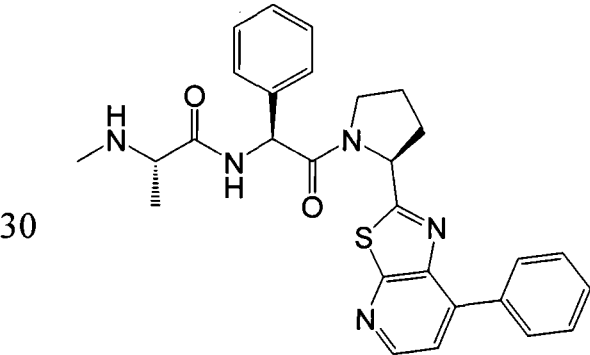
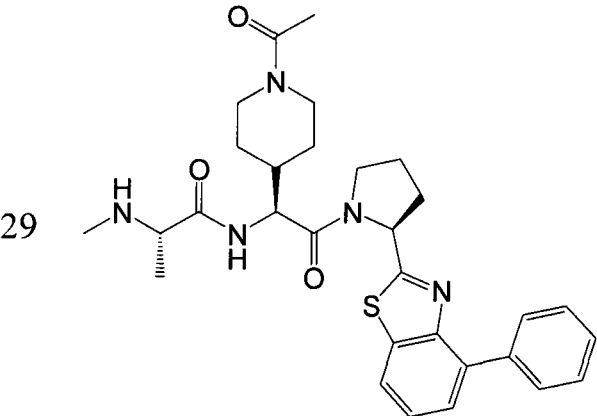
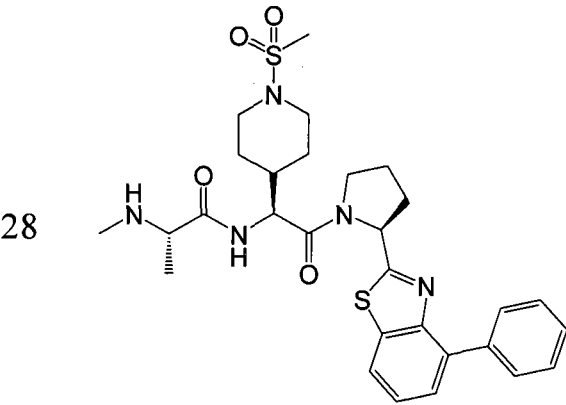
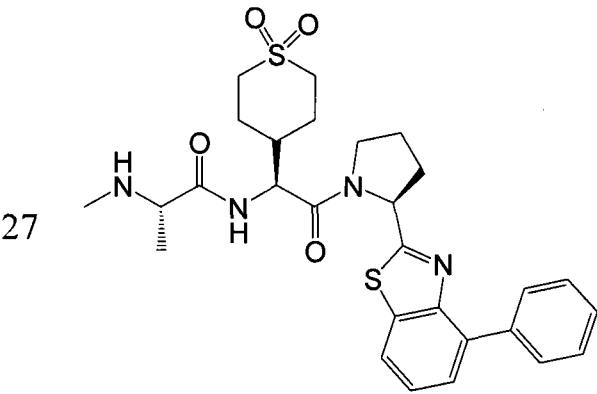


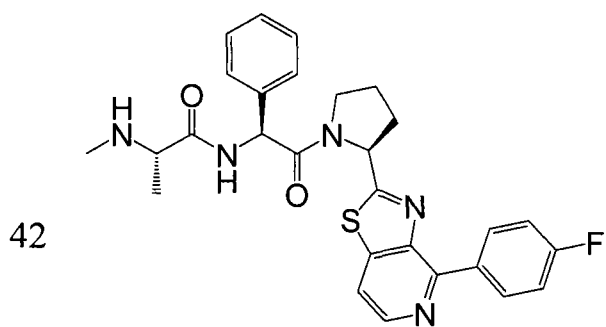
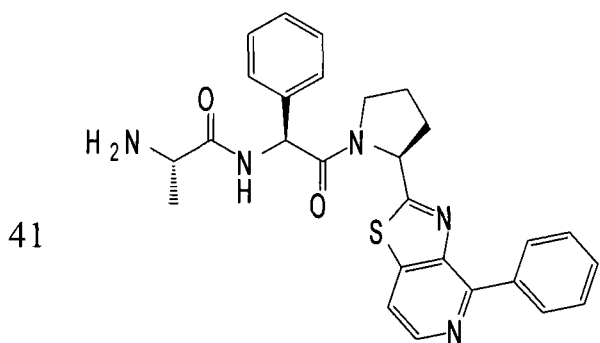
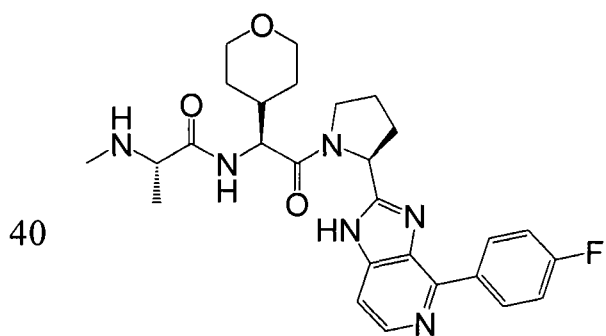
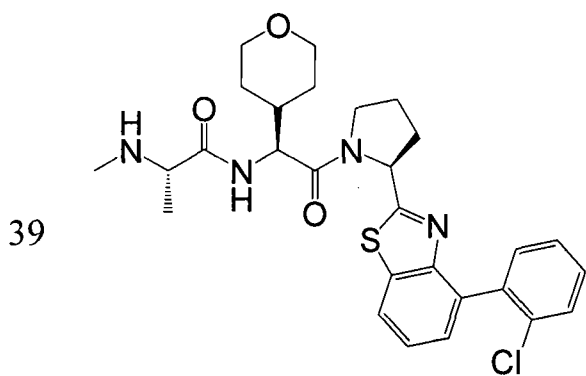
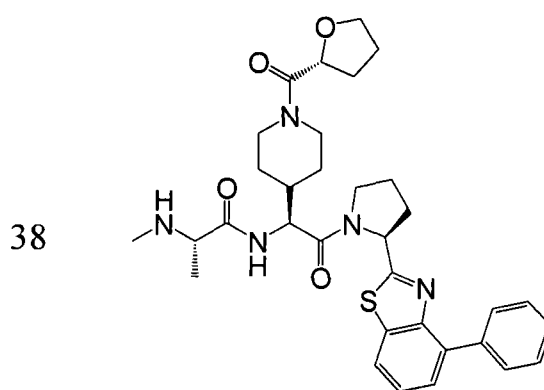
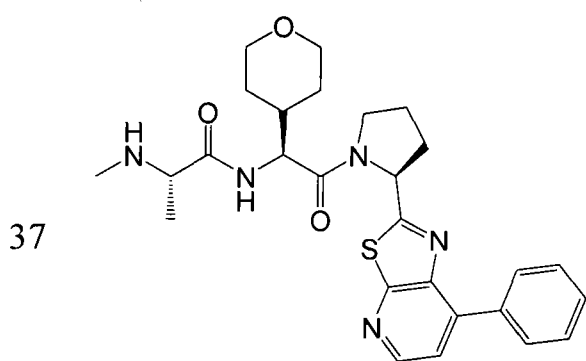
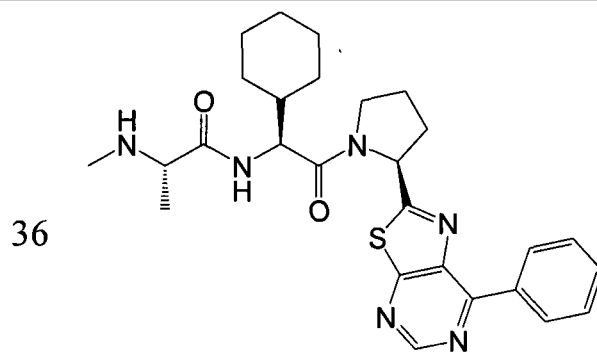
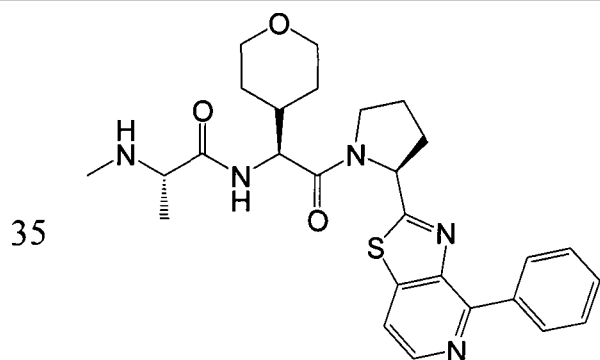
25

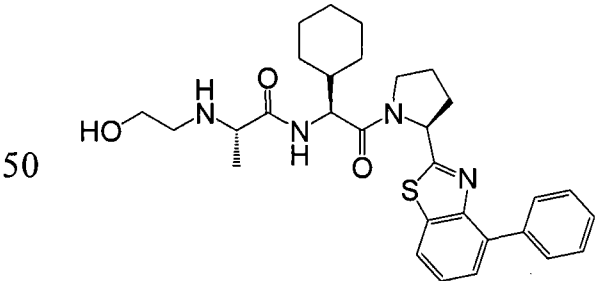
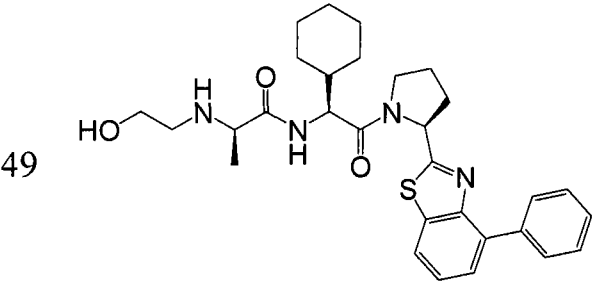
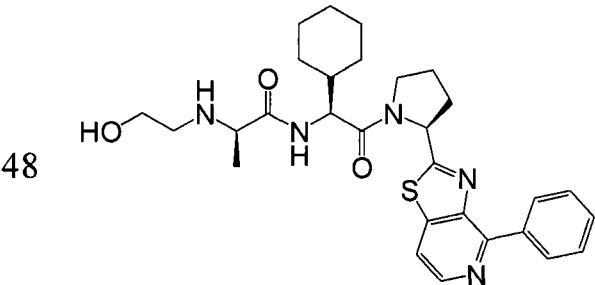
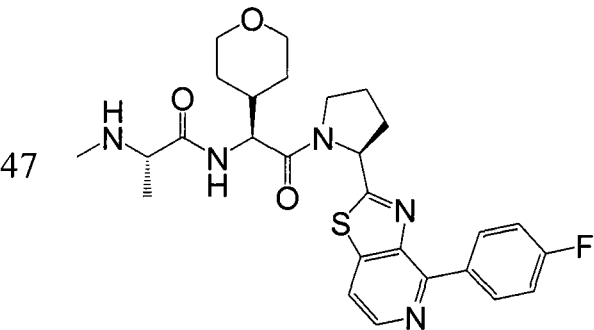
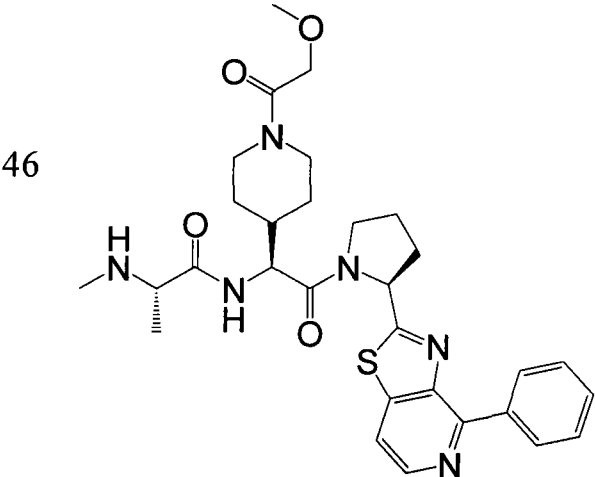
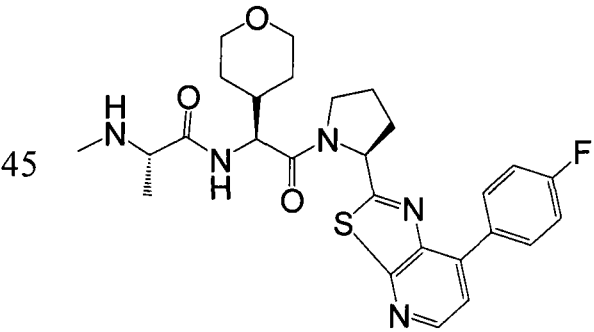
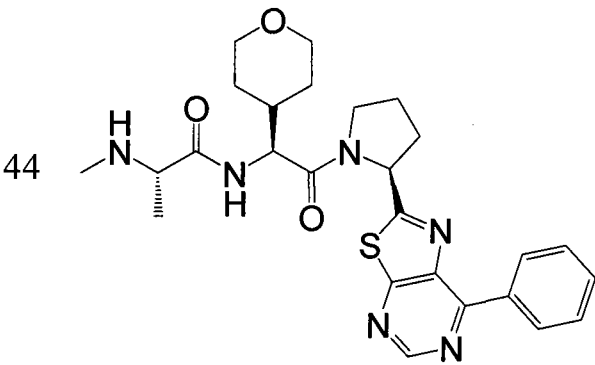
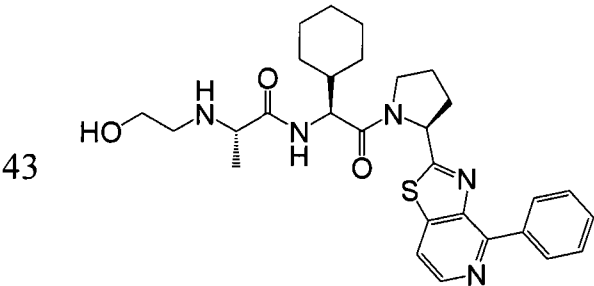


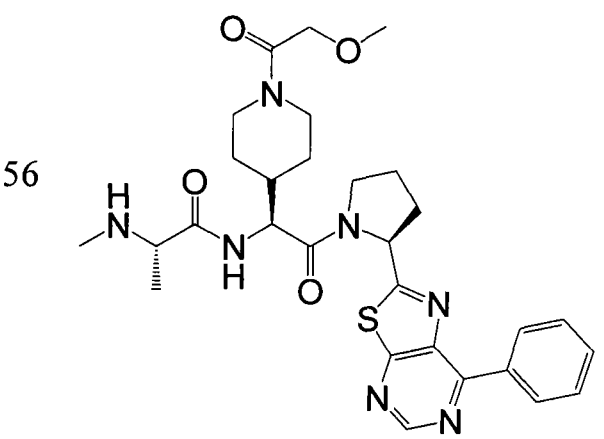
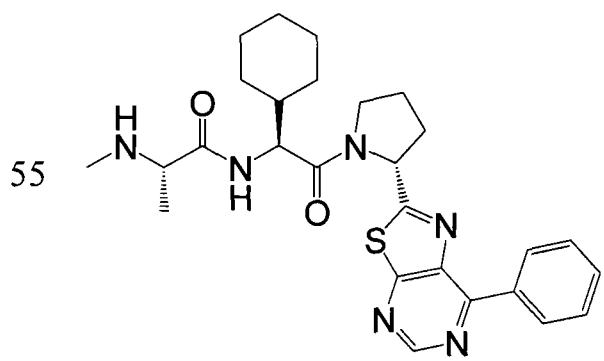
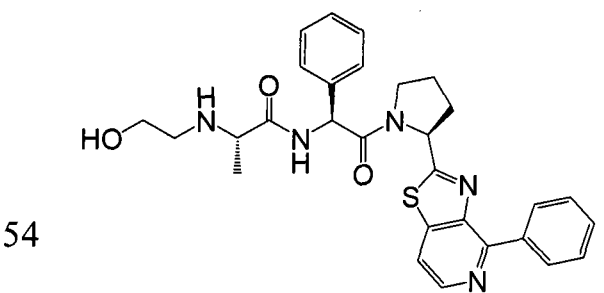
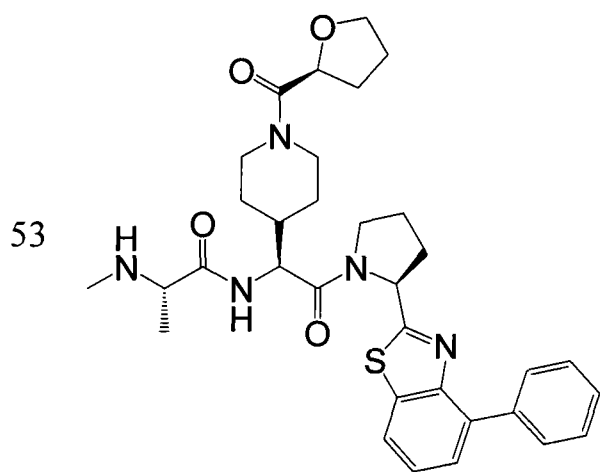
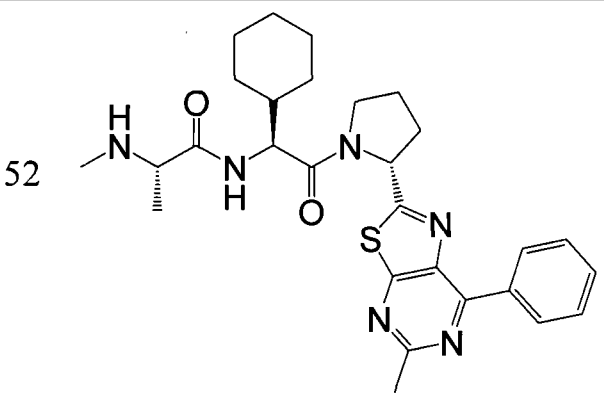
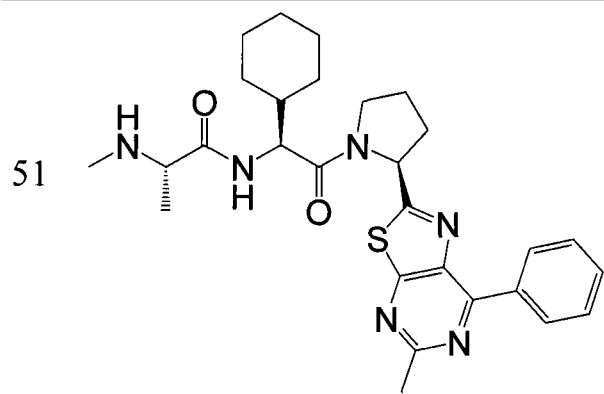
26

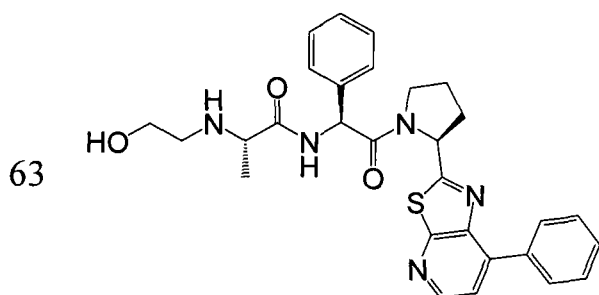
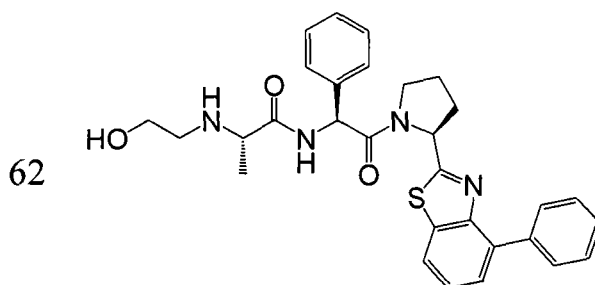
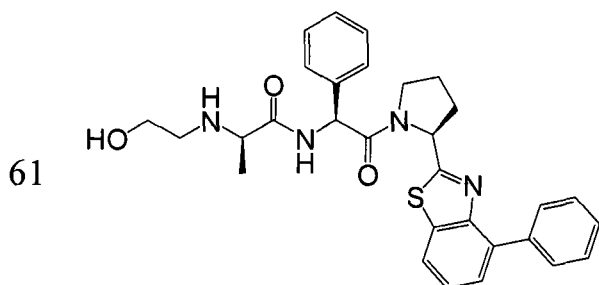
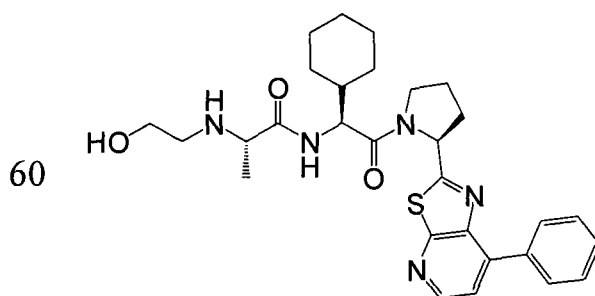
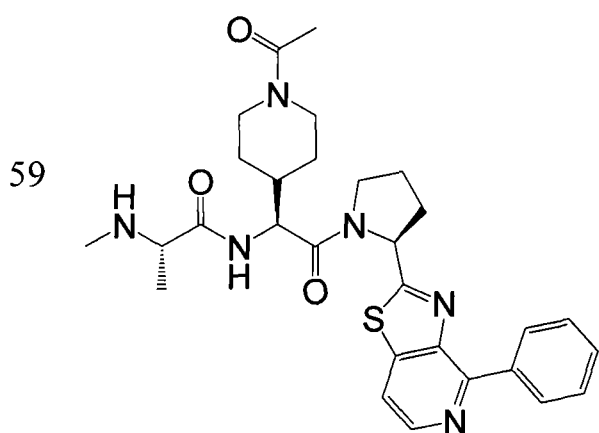
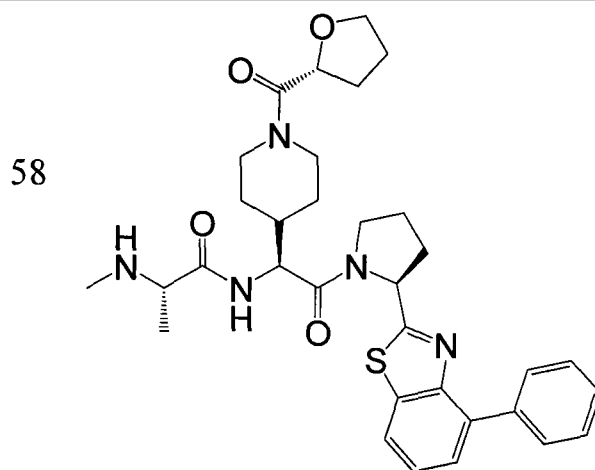
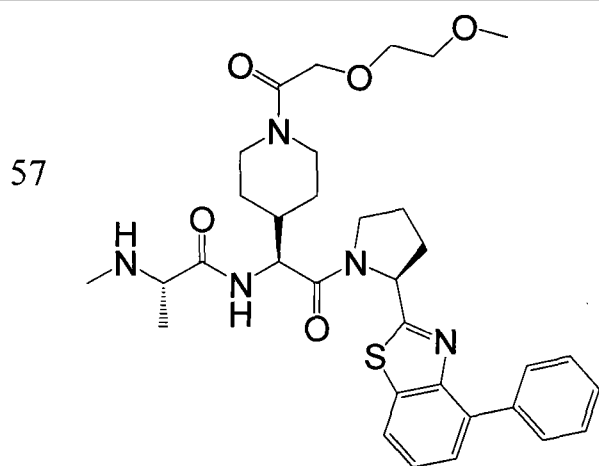










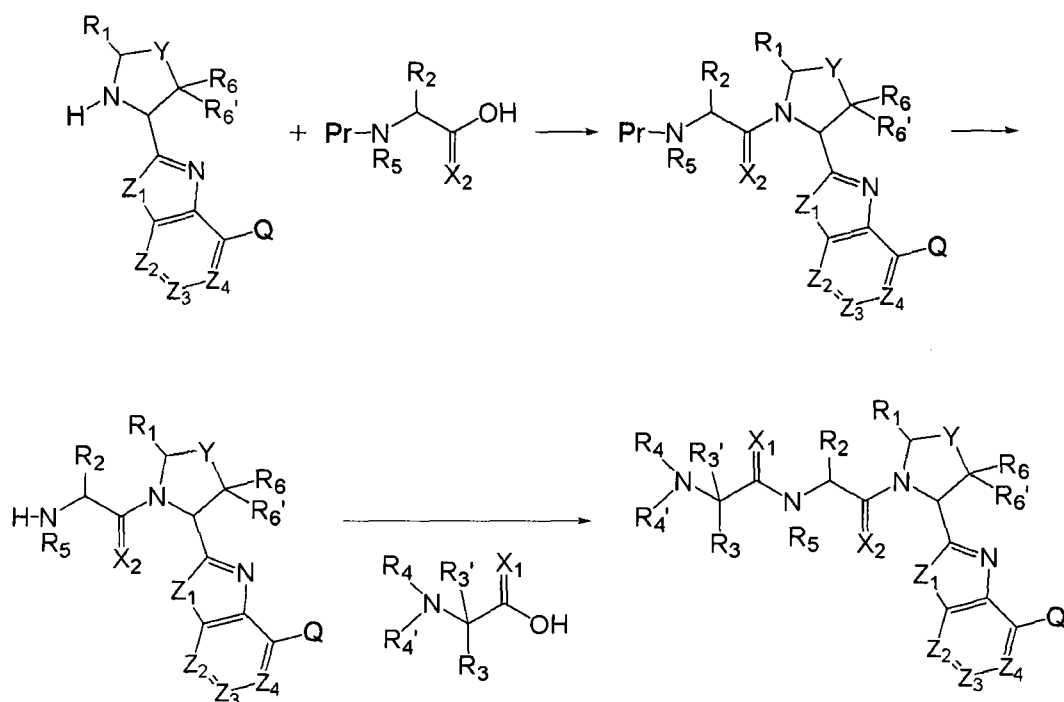


本发明的化合物可以以不同的共振形式存在，所有这些共振形式都在本发明的范围内。

合成

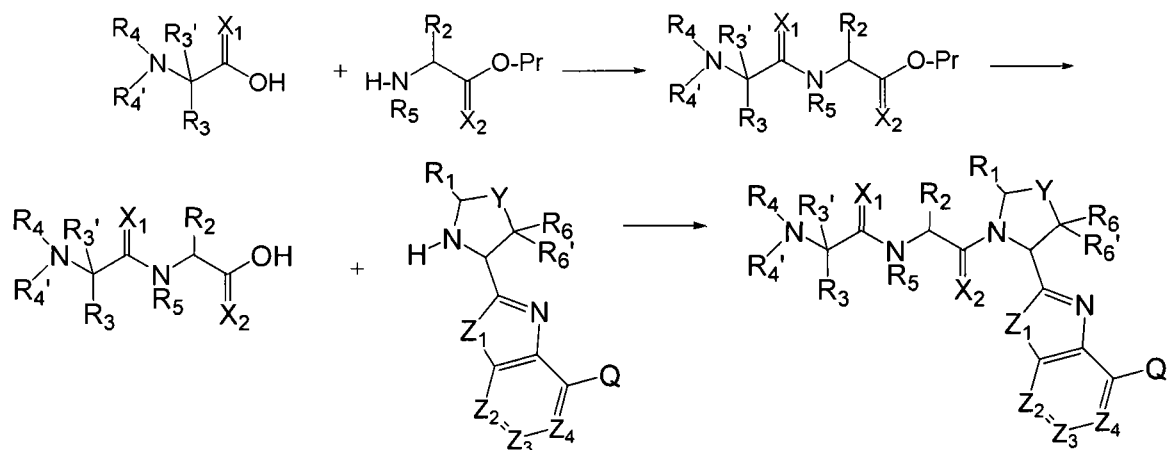
利用标准有机合成技术,从商业上可获得的原料和试剂制备本发明化合物。将被领会的是,在本发明化合物的制备中所采用的合成工艺将依赖于存在于化合物中的确切取代基,并且可能需要各种保护和去保护步骤,这是有机合成中的标准做法,但在下面的一般流程中没有解释。在特定一般合成流程中,本发明化合物可以如下制备,利用典型的酰胺偶联工艺偶联氨基酸残基类似物。在流程1中,其中Q、Y、Z₁、Z₂、Z₃、Z₄、R₁、R₆和R₆'如本文所定义和Pr是合适的保护基团,先后偶联和去保护胺-保护的氨基酸残基类似物,得到最终的化合物。

流程1



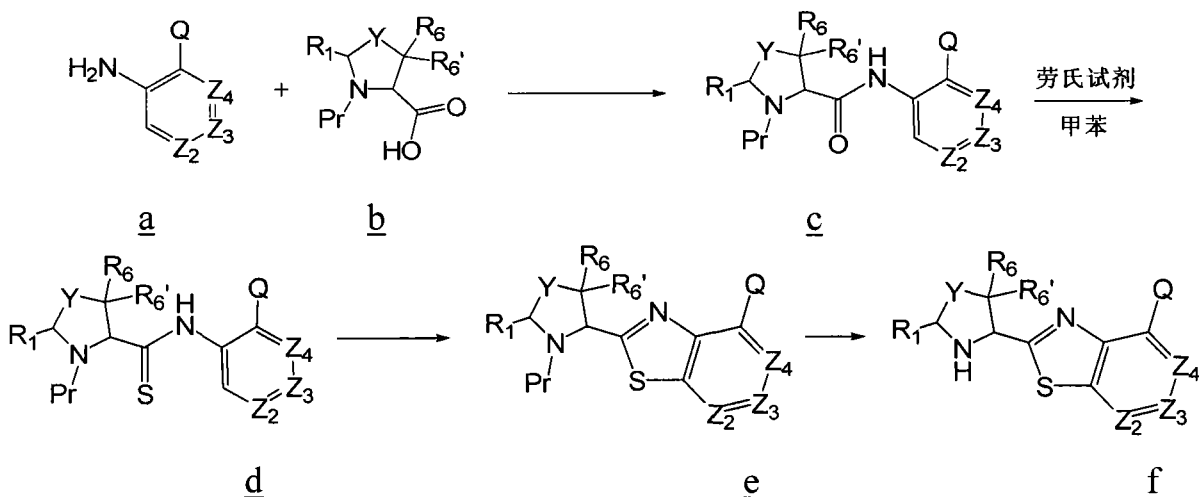
将被领会的是,可以以任意顺序偶联氨基酸类似物,并且可以使用本领域惯用的固相载体制备。例如,流程2阐述替代的氨基酸残基类似物偶联途径,其中R₄或R₄'是氨基-保护基团,或者本文定义的其它基团,该基团使得胺与羧基不反应。

流程 2



制备本发明的化合物(其中 Z₁ 是 S)的噻唑中间体可根据流程 3 来制备, 其中 Q、Y、Z₁、Z₂、Z₃、Z₄、R₁、R₆ 和 R₆' 如本文所定义, 和 Pr 是合适的保护基团。

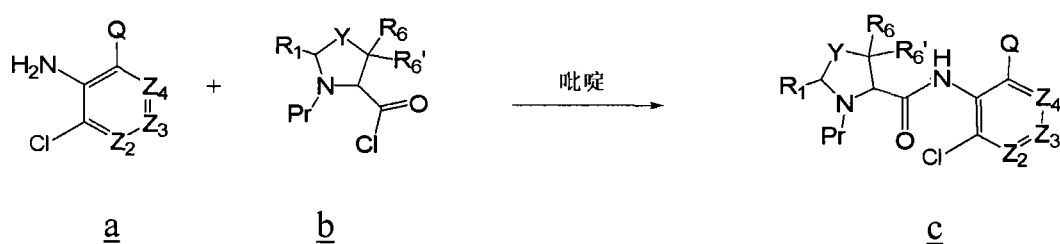
流程 3

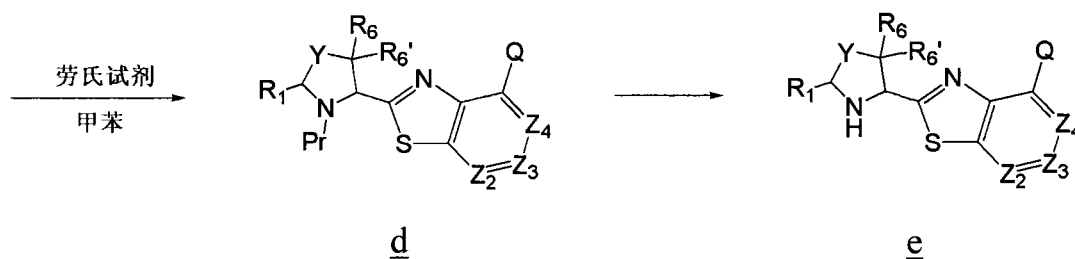


使用标准酰胺形成工艺, 将胺 a 与 b 偶合, 形成酰胺 c, 将其通过与劳氏试剂反应转化为相应的硫羰胺 d。硫羰胺 d 例如用 K₃Fe(CN)₆ 在 EtOH 中环化, 形成 e, 将其脱保护, 得到所需的噻唑 f, 用于制备本发明的化合物。

或者可以根据流程 4 制备用于制备本发明化合物(其中 Z₁ 是 S)的噻唑中间体。

流程 4

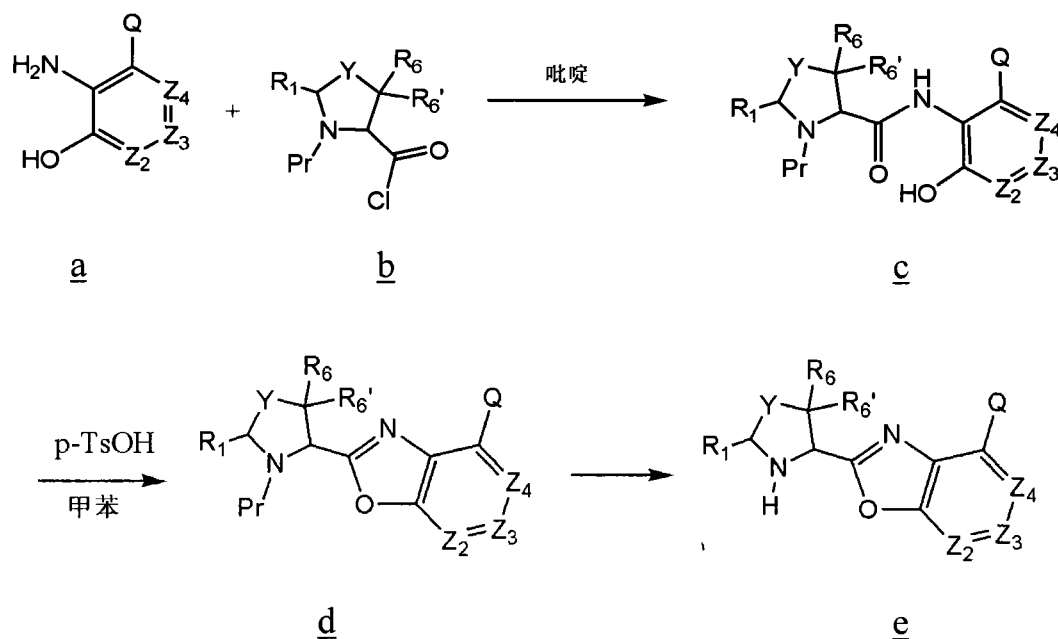




将氯取代的胺 a 与酰氯 b 偶合, 得到酰胺 c, 其与劳氏试剂反应并加热, 得到环化化合物 d。然后, 将化合物 d 去保护, 得到所需的噻唑中间体 e, 用于制备本发明的化合物。

可以按照王等人 (Bioorganic & Medicinal Chemistry (2004), 12(1):17-21) 所描述的工艺, 如流程 5 所示, 制备用于制备本发明化合物(其中 Z_1 是 O) 的噻唑中间体。

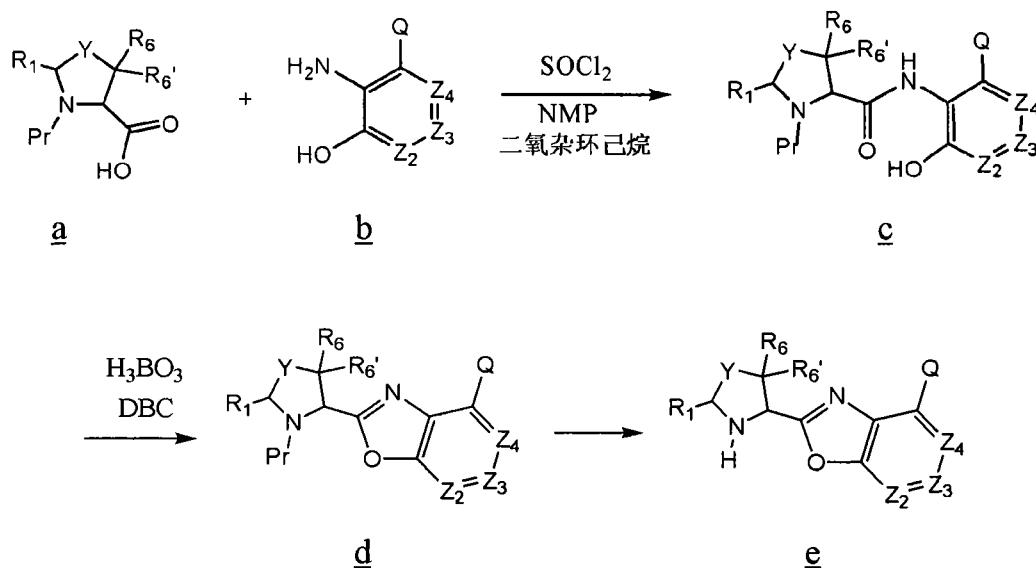
流程 5



类似于流程 3 和 4, 将酰氯 b 与胺 a 偶合, 得到酰胺 c。然而, 酰胺 c 在对甲苯磺酸的甲苯溶液中回流, 得到 d 和除去保护基团 Pr, 得到所需噻唑 e, 用于制备本发明的化合物。

或者, 可以根据 Kauffman 等人 (Journal of Heterocyclic Chemistry (2002), 39(5), 981-988) 所描述的工艺, 如流程 6 所述, 制备用于制备本发明化合物的噻唑中间体。

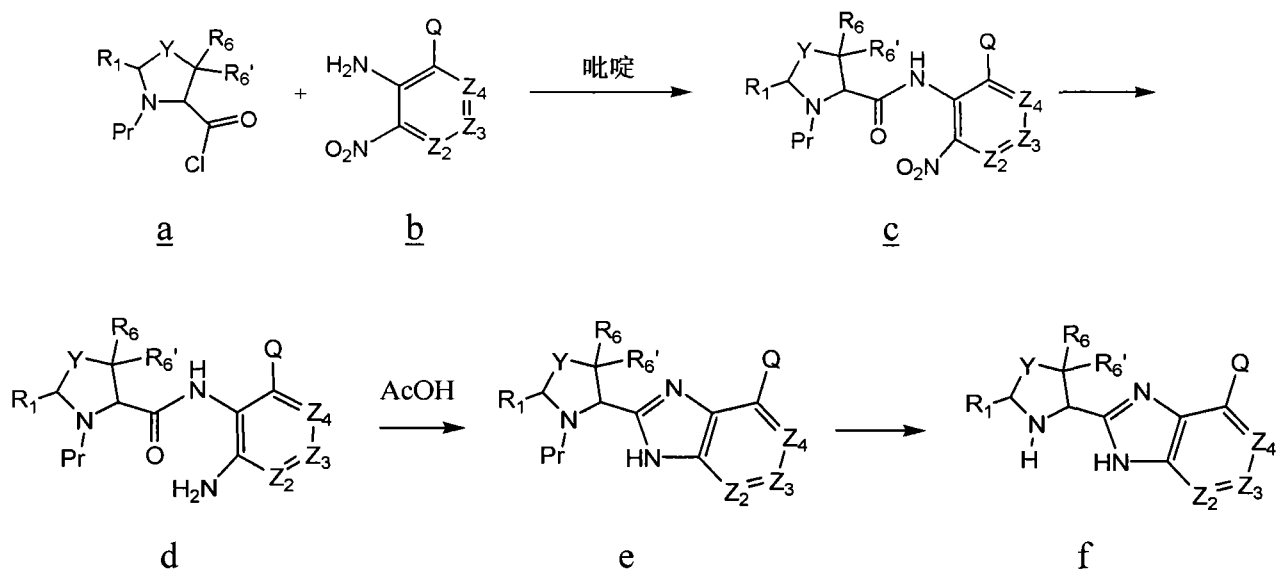
流程 6



酸 **a** 与二氧杂环己烷、亚硫酰氯和 N-甲基吡咯烷酮在惰性气体中回流，将所得酰氯与羟基/胺 **b** 偶合得到酰胺 **c**。然后，将其与硼酸在二丁基卡必醇溶液中加热，得到 **e**，除去保护基团 Pr，得到所需的咪唑中间体 **e**，其可以用于制备本发明化合物。

可以按照Kumar等人(Bioorganic & Medicinal Chemistry (2002)、10(12)、3997-4004)所述的工艺，如流程7所示，制备用于本发明的化合物(其中 Z_1 是 NH)的咪唑中间体。

流程 7

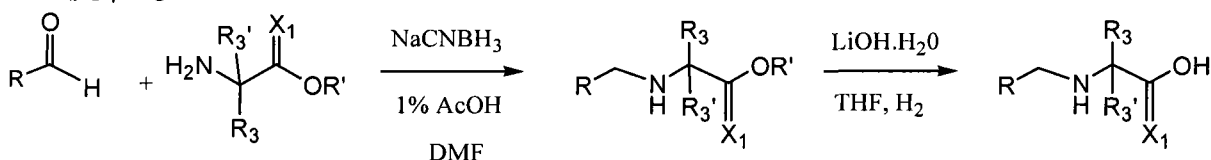


酰氯 **a** 与硝基/胺 **b** 偶合，得到酰胺 **c**。将酰胺 **c** 的硝基还原为相应的胺，例如用铁，然后通过加热用乙酸环化，得到 **d**。将 **d** 的保护基团 Pr 除去，得到所需咪唑中间体 **e**，其可以用于制备本发明的化合物。

可以根据标准有机化学技术，例如通过还原氨化，其中原料氨基酸残基

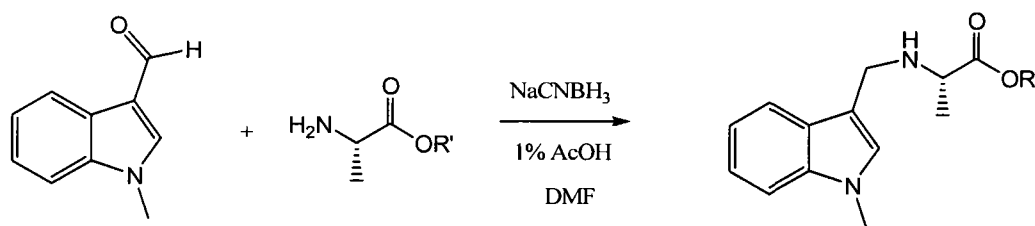
类似物如 $\text{NH}_2\text{-CH(R}_3\text{)-C(O)-OH}$ 与合适的醛或酮反应, 得到所需 R_4 和 R_4' 取代基, 制备本发明的化合物, 其中 R_4 或 R_4' 不是 H。参见流程 8。所得 R_4/R_4' 取代的氨基酸中间体可以然后使用标准肽偶合技术共轭到另一氨基酸中间体或者化合物的其它部分。

流程 8



在具体的实施方式中, 丙氨酸与 1-甲基吲哚-2-甲醛反应, 并用溶解在 1% HOAc/DMF 中的氰基硼氢化钠还原, 得到 N-取代的丙氨酸残基, 其可以用于制备本发明的化合物。参见流程 9。

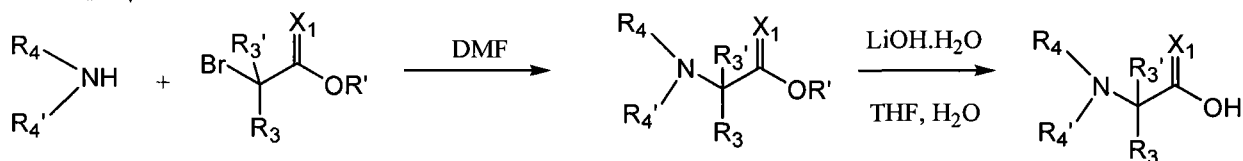
流程 9



或者, 引入 R_4/R_4' 取代基的还原氨化过程是化合物制备的最后步骤。

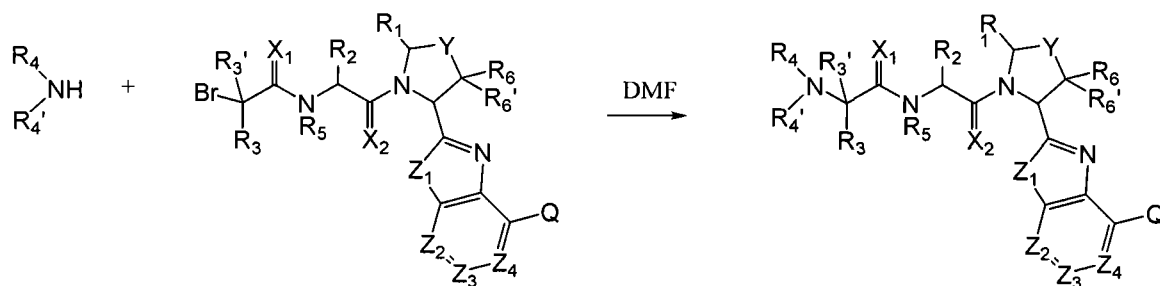
当本发明化合物带有除 H 以外的 R_4 或 R_4' 取代基时, 它们也可以如下制备, 用所需的胺取代带有离去基团的适合的酸中间体。例如, 按照流程 10, 用胺 $\text{R}_4\text{-NH}_2$ 或 $\text{R}_4\text{-NH-R}_4'$ 取代 $\text{Br-CH(R}_3\text{)-C(O)-OH}$ 。

流程 10

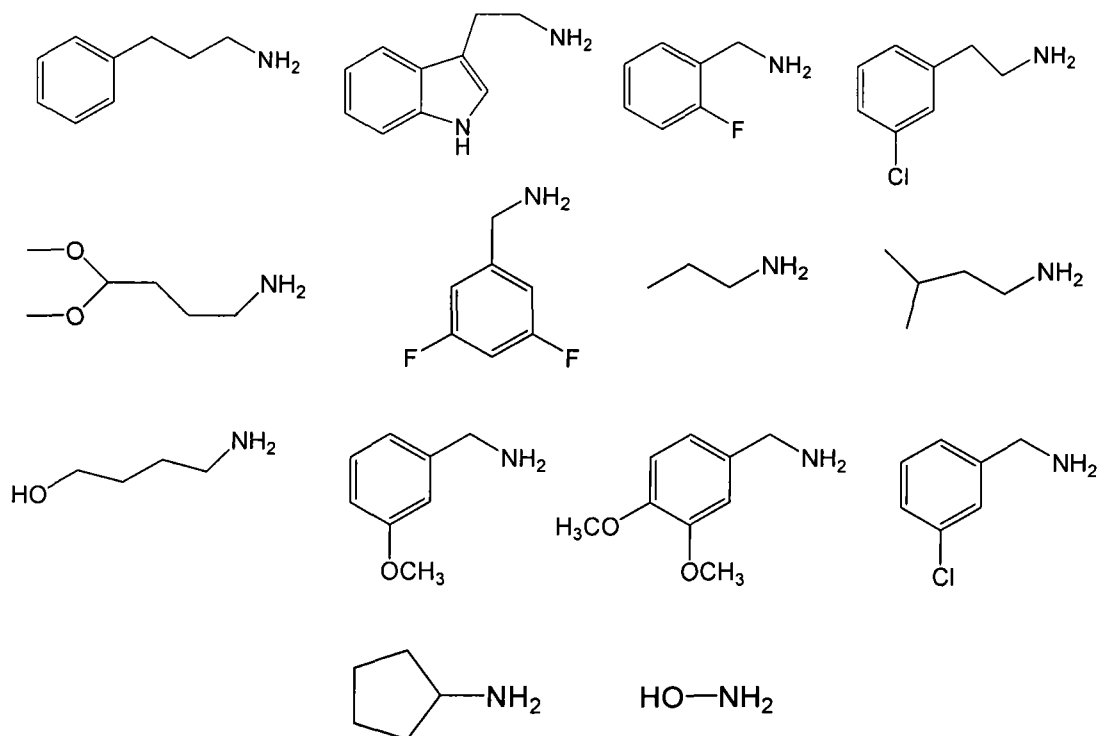


作为替代选择, 引入 R_4 或 R_4' 取代基的取代反应可以作为化合物制备中的最后一步进行, 如流程 11 所述。

流程 11

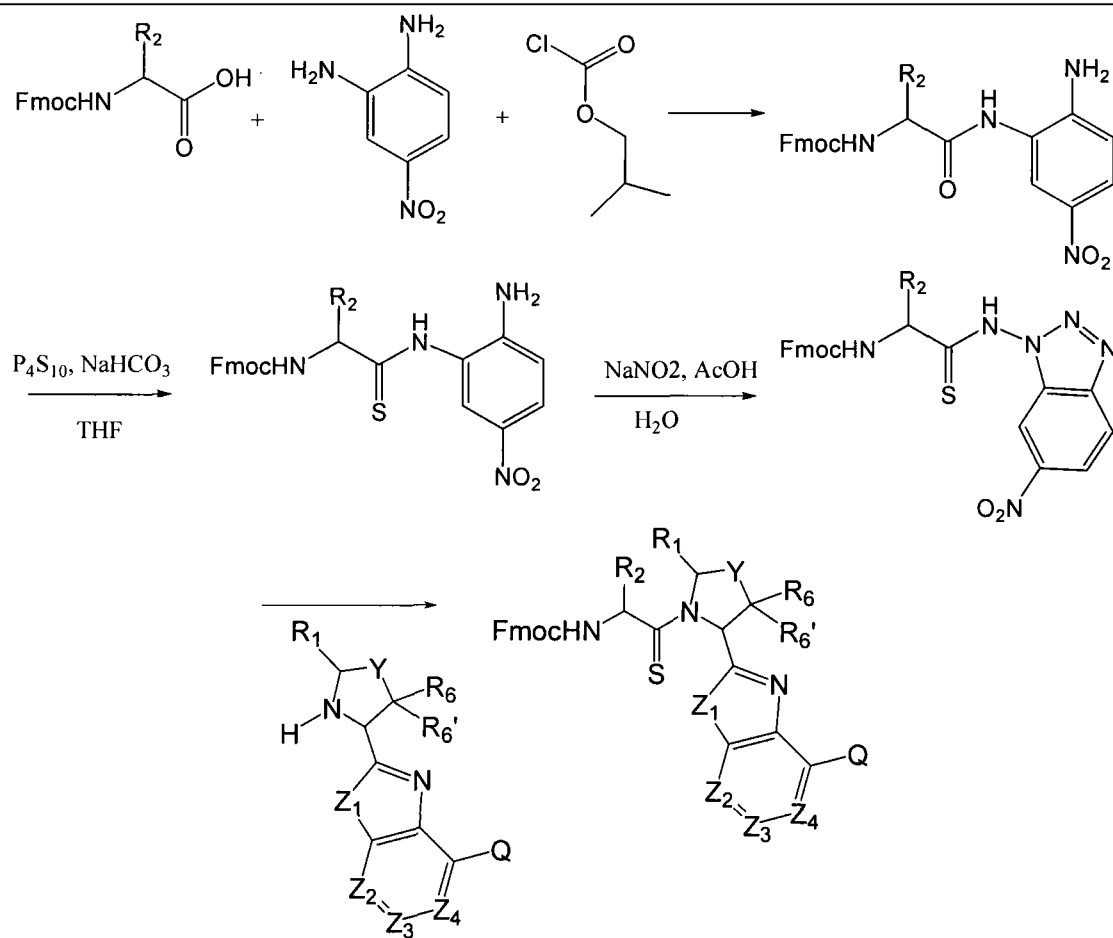


在具体的实施方式中,使 2-溴丙酸与下列胺的 DMF 溶液反应,鼓泡直至取代完全,生成 N-取代的丙氨酸残基:



其中 X_1 或 X_2 是硫的本发明化合物、也就是带有硫代酰胺的化合物可以按照既定的有机化学技术制备。例如,其中 X_2 是硫的化合物可以按照流程 12 制备,始于 Fmoc(苄基甲氧羰基)保护的氨基酸残基类似物 $\text{NH}_2\text{-CH(R}_2\text{)-COOH}$,将其溶于 THF,冷却至 -25°C ,加入 DIPEA,继之以加入氯甲酸异丁酯。10 分钟后,加入二胺,4-硝基苯-1,2-二胺,将反应混合物在 -25°C 下连续搅拌 2 小时,然后在室温下过夜。真空除去 THF,混合物然后受到急骤层析处理,使用 50% EtOAc/己烷洗脱,得到产物。将 Fmoc-丙氨酸衍生物、五硫化磷和碳酸钠混合在 THF 中,搅拌过夜。浓缩溶液,直接色谱处理,使用 80% EtOAc/己烷洗脱,得到活化的硫代丙氨酸。然后将活化硫代丙氨酸和亚硝酸钠混合在乙酸中,用 H_2O 稀释。过滤所得沉淀,干燥,得到产物。将硫代丙氨酸和 A 环取代的脯氨酸氨基酸残基类似物溶于 DMF,使二者偶联。然后将硫代酰胺产物用 20% PIP/DMA 去保护 15 分钟,用于与 $\text{R}_4/\text{R}_4'\text{-N-C(R}_3\text{)(R}_3')\text{-COOH}$ 缀合。作为替代选择,首先使 Fmoc-保护的硫代酰胺与 A 环取代的脯氨酸氨基酸残基类似物偶联,继之以 Fmoc 去保护,随后与 $\text{R}_4/\text{R}_4'\text{-R}_4/\text{R}_4'\text{-N-C(R}_3\text{)(R}_3')\text{-COOH}$ 氨基酸残基类似物偶联。

流程 12



实用性

本发明化合物抑制 IAP 蛋白与胱天蛋白酶结合,特别是 X-IAP 与胱天蛋白酶 3 和 7 的结合性相互作用。这些化合物也抑制 ML-IAP 与 Smac 蛋白结合。因此,本发明化合物可用于诱导细胞中的细胞凋亡或者使细胞敏感于细胞凋亡信号,特别是癌细胞。本发明化合物可用于诱导过度表达 IAP 蛋白的细胞中的细胞凋亡。作为替代选择,本发明化合物可用于诱导其中线粒体细胞凋亡途径被破坏、以致 Smac 从 ML-IAP 蛋白中释放被抑制的细胞中的细胞凋亡,例如借助 Bcl-2 的增量调节或者 Bax/Bak 的减量调节。更广泛地,本发明化合物能够用于治疗所有不能经历细胞凋亡的癌症类型。这类癌症类型的实例包括成神经母细胞瘤、肠癌(例如直肠癌、结肠癌、家族性腺瘤息肉癌(familial adenomatous polyposis carcinoma)和遗传性非息肉结肠直肠癌)、食道癌、唇癌、喉癌、咽下部癌(hypopharynx carcinoma)、舌癌(tong carcinoma)、唾液腺癌、胃癌、腺癌、髓样甲状腺癌、乳头状甲状腺癌(papillary thyroidea carcinoma)、肾癌、肾实质癌(kidney parenchym carcinoma)、卵巢癌、宫颈癌、子宫体癌、子宫内膜癌、绒膜癌、胰腺癌、前列腺癌、睾丸癌、乳腺癌、泌尿系癌(urinary carcinoma)、黑素瘤、脑肿瘤(例如成胶质细胞瘤、星

形细胞瘤、脑脊膜瘤、成神经管细胞瘤和外周神经外胚层肿瘤(peripheral neuroectodermal tumors))、何杰金氏淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤、Burkitt 淋巴瘤、急性淋巴性白血病(ALL)、慢性淋巴性白血病(CLL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性骨髓性白血病(CML)、成年 T-细胞白血病淋巴瘤(adult T-cell leukemia lymphoma)、肝细胞癌、胆囊癌、支气管癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、多发性骨髓瘤、基底细胞癌、畸胎瘤、成视网膜细胞瘤、脉络膜黑色素瘤(choroidea melanoma)、精原细胞瘤、横纹肌肉瘤(rhabdomyo sarcoma)、颅咽管瘤(craniopharyngeoma)、骨肉瘤、软骨肉瘤、肌肉瘤、脂肉瘤、纤维肉瘤、尤因氏肉瘤和浆细胞瘤。

本发明化合物可用于使细胞敏感于细胞凋亡信号。因此,这些化合物可以在给予放射疗法或者细胞抑制性或抗肿瘤性化学疗法之前、伴随或之后给药。适合的细胞抑制性化学疗法化合物包括但不限于(i)抗代谢产物,例如阿糖胞苷、氟达拉滨、5-氟-2'-脱氧尿苷、吉西他滨、羧基脲或甲氨蝶呤;(ii) DNA-片段化剂,例如博来霉素;(iii) DNA-交联剂,例如苯丁酸氮芥、顺铂、环磷酰胺或氮芥;(iv)插层剂(intercalating agents),例如阿德里亚霉素(阿霉素)或米托蒽醌;(v)蛋白质合成抑制剂,例如 L-天门冬酰胺酶、放线菌酮、嘌呤霉素或白喉毒素;(vi)拓扑异构体酶 I 毒素,例如喜树碱或托泊替替;(vii)拓扑异构体酶 II 毒素,例如依托泊苷(VP-16)或替尼泊苷;(viii)微管-指引剂,例如秋水仙胺(colcemid)、秋水仙碱、紫杉醇(paclitaxel)、长春花碱或长春新碱;(ix)激酶抑制剂,例如 flavopiridol、staurosporin、STI571 (CPG 57148B)或 UCN-01(7-羟基 staurosporine);(x)各种研究剂,例如硫铂、PS-341、丁酸苯基酯、ET-18-OCH₃或法呢基转移酶抑制剂(L-739749, L-744832);多元酚,例如槲皮素、白藜芦醇(resveratrol)、piceatannol、epigallocatechine gallate、茶黄素(theaflavins)、黄烷醇、原花青素、桦木酸及其衍生物;(xi)激素,例如糖皮质激素或芬维 A 胺(fenretinide);(xii)激素拮抗剂,例如他莫西芬、非那雄胺(finasteride)或 LHRH 拮抗剂。在具体的实施方式中,本发明化合物是与选自如下的细胞抑制性化合物共同给药的:顺铂、阿霉素、红豆杉醇(taxol)、泰索帝(taxotere)和丝裂霉素 C。在具体的实施方式中,细胞抑制性化合物是阿霉素。

另一类能够用在本发明中的活性化合物是通过与死亡受体结合能够敏感于或者诱导细胞凋亡的那些(“死亡受体激动剂”)。这类死亡受体激动剂包

括死亡受体配体,例如肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、肿瘤坏死因子 β (TNF- β , 淋巴毒素- α)、LT- β (淋巴毒素- β)、TRAIL (Apo2L, DR4 配体)、CD95 (Fas, APO-1) 配体、TRAMP (DR3, Apo-3)配体、DR6 配体以及任何所述配体的片段和衍生物。在实施方式中,死亡受体配体是 TNF- α 。在具体实施方式中,死亡受体配体是 Apo2L/TRAIL。此外,死亡受体激动剂包含死亡受体的激动性抗体,例如抗-CD95 抗体、抗-TRAIL-R1 (DR4)抗体、抗-TRAIL-R2 (DR5)抗体、抗-TRAIL-R3 抗体、抗-TRAIL-R4 抗体、抗-DR6 抗体、抗-TNF-R1 抗体和抗-TRAMP (DR3)抗体以及任何所述抗体的片段和衍生物。

出于使细胞敏感于细胞凋亡的目的,本发明化合物也能够与放射疗法联合使用。措辞“放射疗法”表示电磁或粒子放射在肿瘤形成治疗中的应用。放射疗法基于递送至靶区域的高剂量放射将导致肿瘤与正常组织中繁殖细胞死亡的原理。放射剂量制度一般按照放射吸收剂量(rad)、时间和分次加以限定,并且必须由肿瘤学家谨慎地限定。患者接受的放射量将依赖于各种考虑因素,但是两种最重要的考虑因素是肿瘤相对于机体其他关键结构或器官的位置和肿瘤蔓延的程度。放射治疗剂的实例提供在放射疗法中但不限于此,并且是本领域已知的(Hellman, Principles of Radiation Therapy, Cancer, in Principles I and Practice of Oncology, 24875 (Devita et al., 4th ed., vol 1, 1993)。最近在放射疗法上的进展包括三维保形外束放射、强度可调的放射疗法(IMRT)、趋实体性放射外科和近程治疗(组织内放射疗法),后者将放射源直接置于肿瘤内作为所植入的“种子”。这些新近的治疗形态递送较大剂量的放射至肿瘤,这就解释了它们与标准外束放射疗法相比增加有效性的原因。

具有 β -放射性放射性核素的离子化放射被认为对于放射治疗应用是最有用的,因为离子化粒子(电子)的线性能量转移(LET)适中及其范围居间(在组织中通常为若干毫米)。 γ 射线递送剂量的水平较低,不过距离大得多。 α 粒子代表另一种极端,它们递送非常高的 LET 剂量,但是具有极为有限的范围,因此必须与所要治疗的组织细胞紧密接触。另外, α 发射体一般是重金属,这限制了可能的化学过程,呈现过度的危害,放射性核素从所要治疗的区域泄漏。依赖于所要治疗的肿瘤,所有种类的发射体在本发明的范围内都是可想象的。

此外,本发明涵盖非离子化放射类型,例如紫外(UV)放射、高能可见光、微波放射(高温疗法)、红外(IR)放射和激光。在本发明的确切实施方式中,应用 UV 放射。

本发明也包括含有本发明化合物和治疗惰性载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物或药品,以及使用本发明化合物制备这类组合物和药品的方法。通常,如下将用在本发明方法中的式 I 化合物配制成盖仑给药形式(galenical administration form),在环境温度和适当的 pH 下,在所需的纯度下,与生理学上可接受的载体混合,也就是在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒的载体。制剂的 pH 主要依赖于化合物的特定用途和浓度,但是可以为从约 3 至约 8。在 pH 5 的乙酸盐缓冲液中的制剂是适合的实施方式。在一种实施方式中,用于本文的抑制性化合物是无菌的。化合物一般将被作为固体组合物贮存,不过冻干制剂或水溶液是可接受的。

本发明组合物将以符合良好医药实践的方式被配制、服用和给药。在这种上下文中的考虑因素包括所治疗的特定病症、所治疗的特定哺乳动物、个体患者的临床条件、病症的原因、药物的递送部位、给药的方法、给药的安排和医务人员已知的其他因素。所要给予的化合物的“有效量”将受这类考虑因素支配,是抑制 IAP 与胱天蛋白酶相互作用、诱导细胞凋亡或者使恶性细胞敏感于细胞凋亡信号所必需的最小量。这类量可以低于对正常细胞或哺乳动物整体有毒的量。

一般而言,每剂肠胃外给予本发明化合物的初始药学有效量将在约 0.01 - 100mg/kg 的范围内,例如约 0.1 至 20mg/kg 患者体重每天,所用化合物的典型初始范围为 0.3 至 15mg/kg/天。口服单元剂型、例如片剂和胶囊可含有约 25 至约 1000mg 本发明化合物。

本发明化合物可以借助任意适合的手段给药,包括口服、外用、透皮、肠胃外、皮下、腹膜内、肺内和鼻内,如果需要局部治疗的话还有伤口内给药。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下给药。适合的口服剂型的实例是片剂,含有约 25mg、50mg、100mg、250mg 或 500mg 本发明化合物,复合有约 90 - 30mg 无水乳糖、约 5 - 40mg 交联羧甲基纤维素钠、约 5 - 30mg 聚乙烯吡咯烷酮(PVP) K30 和约 1 - 10mg 硬脂酸镁。先将粉碎的成分混合在一起,然后与 PVP 溶液混合。可以将所得组合物干燥,造粒,与硬脂酸镁混合,利用常规设备压制成片。气雾剂可以如下制备,将例如 5

- 400mg 的本发明化合物溶于适合的缓冲溶液，例如磷酸盐缓冲液，如果需要的话加入张性剂，例如盐，例如氯化钠。通常过滤该溶液，例如利用 0.2 微米滤器，以除去杂质和污染物。

实施例

参照下列实施例将更加充分地理解发明。不过，它们不应被解释为限制发明的范围。从商业来源获得试剂和溶剂，原样使用。使用 Teledyne-Isco, Inc. Lincoln, Nebraska 的 CombiFlash Companion 系统预包装硅胶柱，进行色谱纯化，除非另有说明。借助 LCMS 和 ^1H NMR 分析检查所有化合物的特性和纯度。

本文所用的缩写如下：

AcOH: 乙酸；

ACN: 乙腈；

Chg: 环己基甘氨酸；

DCM: 二氯甲烷

DIPEA: 二异丙基乙基胺；

DMAP: 4- 二甲基氨基吡啶；

DME: 1,2-二甲氧基乙烷；

DMF: 二甲基甲酰胺；

DMSO: 二甲基亚砷

EDC: 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺；

EEDQ: 2-乙氧基-1-乙氧基羰基-1,2-二氢喹啉；

EtOAc: 乙酸乙酯

EtOH: 乙醇；

LCMS: 液相色谱—质谱联用仪；

HATU: O-(7-偶氮苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎓(uranium)六氟磷酸盐；

HOBt: N-羟基苯并三唑

HBTU: 2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基-脲鎓六氟磷酸盐；

HPLC: 高效液相色谱

MeOH: 甲醇；

NBS: N-溴丁二酰胺;

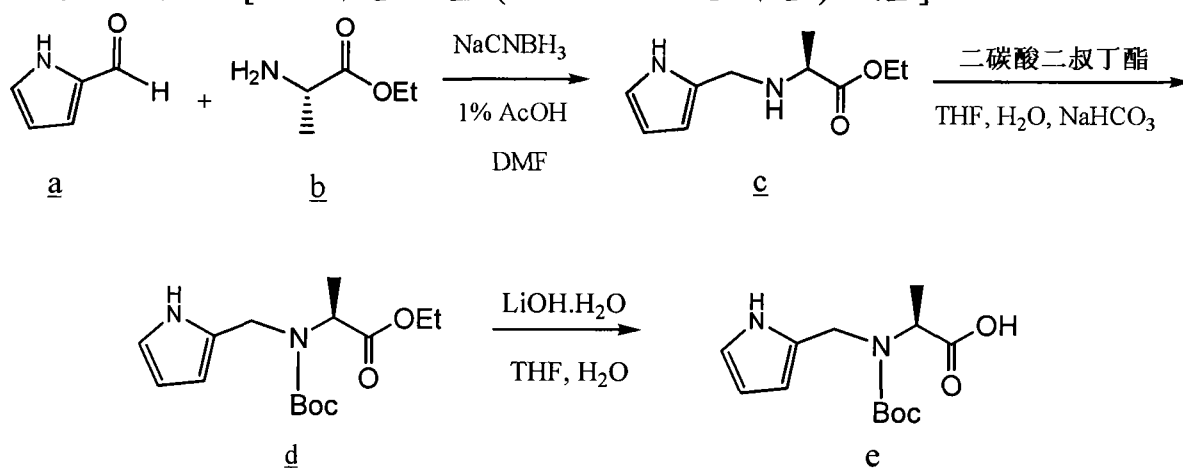
TASF: 三(二甲基氨基)硫二氟三甲基硅酸酯;

TEA: 三乙基胺;

TFA: 四氟乙酸;

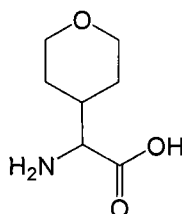
THF: 四氢呋喃;

实施例1 2-[叔丁氧羰基-(1H-吡咯-2-基甲基)-氨基]-丙酸



将丙氨酸乙酯 **b** (5g, 32.5mmol)、吡咯-2-甲醛 **a** (3.1g, 32.5mmol)、氰基硼氢化钠(2.04g, 32.5mmol)和 AcOH (1%)混合在 DMF 中, 搅拌过夜。用 H₂O 淬灭反应, 蒸发 DMF。将混合物用 EtOAc 稀释, 用 0.1N NaOH 洗涤, 干燥, 浓缩, 得到产物 **c** 2.5g。将所得酯 **c** (2.5g, 12.8mmol)、二碳酸二叔丁酯 (3.06g, 14mmol)混合在 THF、H₂O 与 NaHCO₃ 中, 搅拌过夜。蒸发 THF, 将混合物用 EtOAc 稀释, 用 1N NaOH、饱和 NH₄Cl 和盐水洗涤。干燥后, 浓缩混合物, 得到 Boc-保护的酯 **d** 3.3g。将 Boc-保护的酯 **d** (1.67g, 5.6mol)、氢氧化锂一水合物(284mg, 6.77mmol)混合在 0°C 的 THF 和 H₂O 中。真空除去 THF, 将溶液用稀 H₂SO₄ 酸化, 用 EtOAc 萃取两次。合并有机层, 干燥, 蒸发, 得到产物 2-[叔丁氧羰基-(1H-吡咯-2-基甲基)-氨基]-丙酸 **e**。

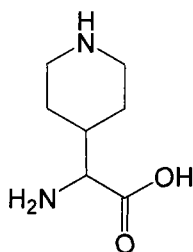
实施例2 四氢吡喃基甘氨酸



四氢吡喃基甘氨酸购自 from NovaBiochem, 或根据以下文献合成: Ghosh, A. K.; Thompson, W. J.; holloway, M. K.; McKee, S. P.; Duong, T. T.; Lee,

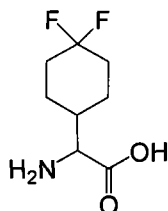
H. Y.; Munson, P. M.; Smith, A. M.; Wai, J. M.; Darke, P. L.; Zugay, J. A.; Emini, E. A.; Schleife, W. A.; Huff, J. R.; 和 erson, P. S. *J. Med. Chem.*, 1993, 36, 2300-2310.

实施例 3 哌啶基甘氨酸



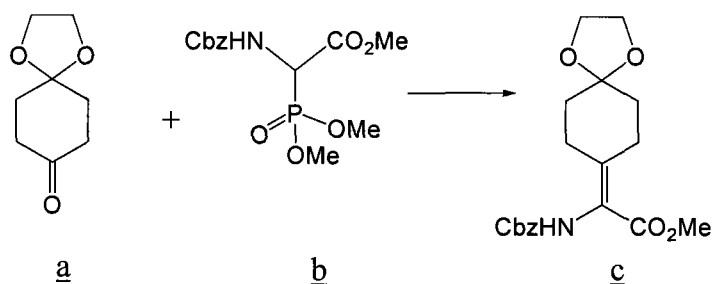
哌啶基甘氨酸根据 Shieh 等人 (*Tetrahedron: Asymmetry*, 2001, 12, 2421-2425)描述的合成。

实施例 4 4,4-二氟环己基甘氨酸

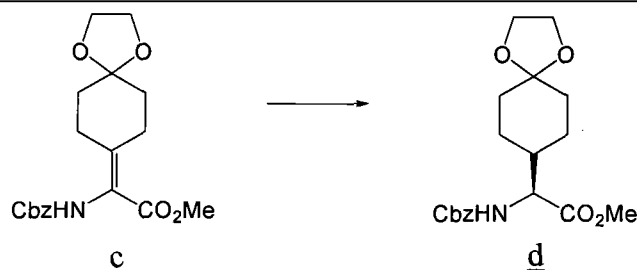


4,4-二氟环己基甘氨酸根据专利申请 US 20030216325 描述的过程制备。

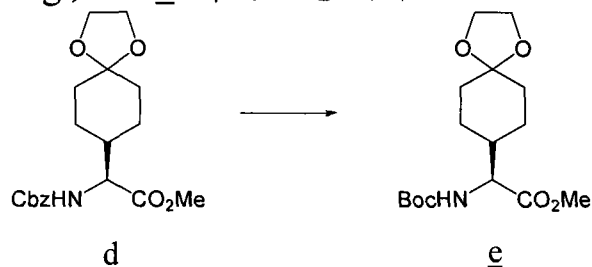
实施例 5 Boc (S)-2-氨基-2-(4-羟基环己基)乙酸



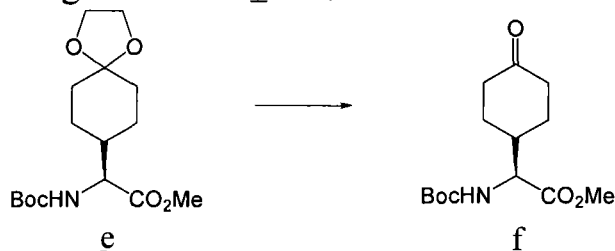
按照 Sheih 等人 (*Tetrahedron: Asymmetry*, 2001, 12, 2421-2425)描述的过程, 将酮 a (8.4 g)和 EtOAc (30 mL)的溶液加入到 *N*-Cbz-磷酸基甘氨酸甲基酯 b, TMG (4.5 mL)和 EtOAc (30 mL)的溶液中。将该溶液保持在室温 48h, 然后用 1N HCl (3x50 mL)、盐水 (1x50 mL)洗涤, 干燥(Na_2SO_4)过滤和浓缩。将残余物吸附到 C 盐上并通过色谱纯化, 然后进一步从 EtOAc/己烷重结晶纯化, 得到 5.2 g 产物 c。



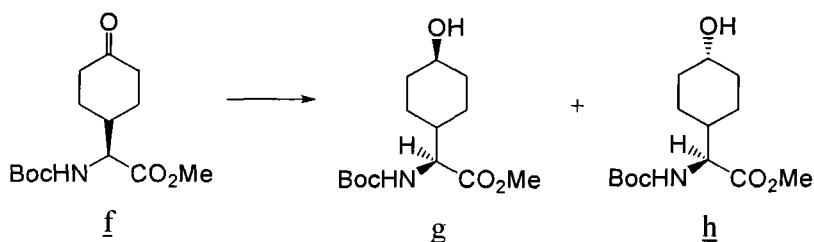
按照 Sheih, (*Tetrahedron: Asymmetry*, 2001, 12, 2421-2425)描述的过程, 将烯酰胺(eneamide) c (5.0 g), (S,S)-Me-BPE-Rh(I) (1.5g, Strem Chemicals, Newburyport, MA)和 MeOH (100 mL)的溶液在 70psi 的 H₂ 中剧烈搅拌 48h。减压除去溶剂。将残余物吸收在 EtOAc 中,通过 SiO₂ 用更多的 EtOAc 过滤。减压除去溶剂得到 4.0g 产物 d 作为无色固体。



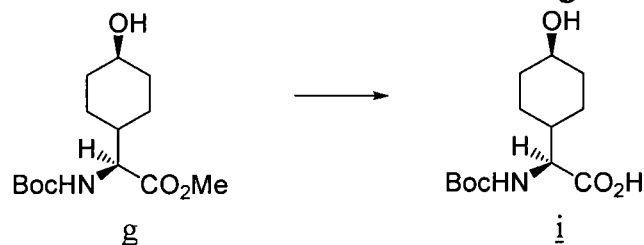
将 Cbz-氨基甲酸酯 d, (4.0g) Boc₂O(2.9g)、20% Pd(OH)₂•C (1.0g)和 MeOH (30 mL)的混合物保持在 H₂ 气氛中 6h。将混合物通过 C 盐用 MeOH 过滤。减压除去溶剂得到 4.5 g 的残余物 e, 将其直接提取。



将上述残余物 e 溶解在 H₂O (10 mL), AcOH (30 mL), THF (5 mL)和二氯乙酸 (3 mL)中并在室温维持过夜。加入水 (5 mL), 并将溶液保持直至水解完成, 通过 HPLC-MS 监测。小心加入固体 Na₂CO₃, 直至没有气体放出, 将混合物用 NaHCO₃ 水溶液稀释, 并用 10%EtOAc/DCM 萃取。将有机相合并, 并用盐水洗涤一次, 干燥 (Na₂SO₄)过滤和浓缩。将残余物用色谱纯化, 得到 2.9g 产物 f。

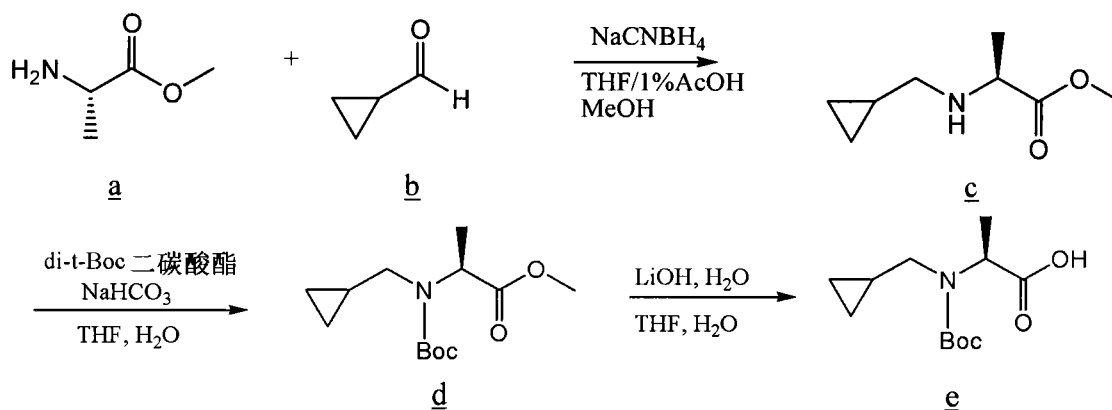


将酮 f (1.5g)和 MeOH (50 ml)的混合物用 NaBH₄ (290 mg)在 0 °C 处理 20 min。将混合物用 10%柠檬酸水溶液酸化到~pH1, 减压除去 MeOH。用水稀释残余物, 用 20%EtOAc/DCM 萃取。将有机相合并, 用盐水洗涤, 干燥 (Na₂SO₄)过滤和浓缩。通过色谱纯化残余物得到 1.17g 产物 g 和 0.23g 产物 h。



将酯 g (1.17g)、LiOH·H₂O (160mg)、THF (3 mL)和水(4.5 mL)的混合物在室温剧烈搅拌过夜。将混合物用盐水稀释, 并用 EtOAc 尽力萃取。将有机相合并, 用盐水洗涤一次, 干燥(Na₂SO₄)、过滤和浓缩得到酸 i (525mg)。

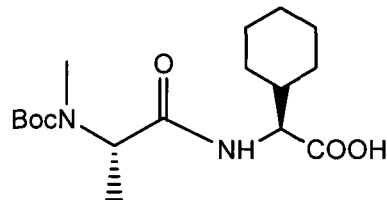
实施例 6 N-Boc-N-环丙基甲基-L-丙氨酸



L-丙氨酸甲基酯盐酸盐 a (5g, 35.8mmol)和环丙烷甲醛 b (2.67ml, 35.8mmol)悬浮在 50ml THF w/1% AcOH 中。加入 5ml 的 CH₃OH, 使得混浊溶液变得清澈。加入 NaCNBH₄ (2.25g, 35.8mmol), 将反应混合物搅拌过夜。通过加入 1N NaOH 水溶液使反应猝灭, 用 EtOAc 萃取两次, 有机层在 Na₂SO₄ 上干燥, 浓缩至干。将粗产物通过色谱, 使用 30% EtOAc/己烷(用茚三酮染色)纯化, 获得化合物 c (1g, 18%)。将化合物 c (1g, 6.37mmol)和 di-t-boc 二碳酸酯(2.1g, 9.55mmol)在 THF (20ml)和 H₂O (20ml)中稀释, 加入 NaHCO₃ (1.3g, 15.9mmol)。将反应混合物搅拌过夜, 完全反应。减压除去 THF, 用 EtOAc 萃取水层 3 次。将有机层合并, 用 1N NaOH、饱和 NH₄Cl 接着用盐水洗涤, 然后浓缩至干。将 Boc 保护的化合物 d (1.39g, 5.40mmol)与 LiOH·H₂O (1.14g, 27mmol)在 THF (20ml)和 H₂O (20ml)中在室温一起搅拌过夜。气提除去 THF, 通过加入 10% 柠檬酸将水层调至 pH=4, 然后用 EtOAc 萃取 3 次。合并有

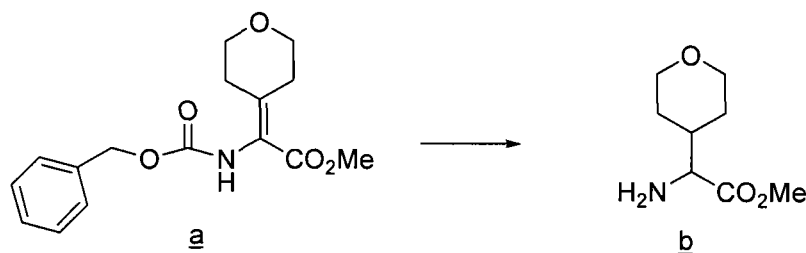
机层,用盐水洗涤然后浓缩。将粗产物用反相 C-18 柱纯化,通过 0%-50% 乙腈/H₂O 洗脱,得到纯化合物 e, 为白色固体(794mg)。

实施例 7 N-Boc-N-甲基-L-丙氨酸-L-环己基甘氨酸

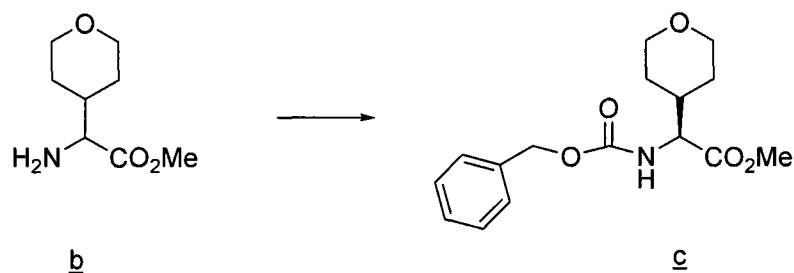


将 Fmoc-L-环己基甘氨酸 (3.6 g, 9.6 mmol) 溶解在 DCM (50 mL)和DIPEA (5.6 mL, 32 mmol)中的溶液加入2-氯三苯甲基氯树脂(5 g, 8 mmol)中, 在室温温和搅拌3小时。将树脂用 DCM 洗涤4次, DCM/MeOH/DIPEA (17:2:1)洗涤3次, DCM洗涤3次和二甲基乙酰胺(DMA)2次。通过用20% 哌啶/DMA (50 mL)处理树脂15分钟, 除去Fmoc基团。将树脂用DMA洗涤6次。将Boc-N-甲基丙氨酸 (3.3 g, 16 mmol)、HBTU (6.1 g, 16 mmol)和DIPEA (5.6 mL, 32 mmol)和DMA/DCM (1:1, 50 mL)的溶液加入树脂, 在室温温和搅拌2小时。将树脂用DMA洗涤5次, 用DCM 洗涤2次和减压干燥。通过用HOAc/TFE/DCM (1:1:3, 100 mL)在室温温和搅拌2小时, 从树脂上切下二肽。过滤除去树脂, 将溶液浓缩。通过用己烷(15倍体积)共沸除去残余AcOH。将固体残余物通过反相HPLC (C₁₈, MeCN-H₂O, 0.1%TFA)纯化, 和通过低压升华干燥法除去溶剂, 得到1.2 g (43%)二肽N-Boc-N-甲基-L-丙氨酸-L-环己基甘氨酸, 为白色粉末。

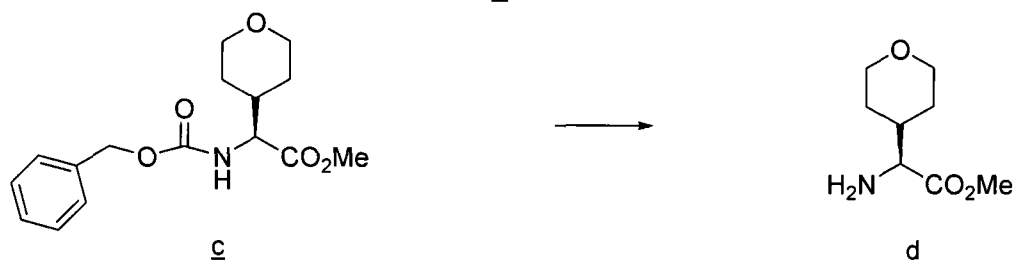
实施例8 N-Boc-N-甲基-L-丙氨酸-L-脱氢吡喃基甘氨酸



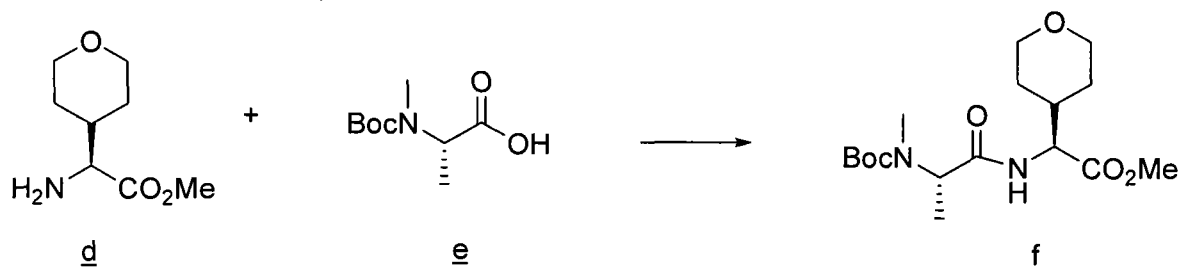
将 N-Cbz-脱氢吡喃基甘氨酸甲基酯a (Burk, M. J.; Gross, M. F.; Martinez, J. P. *J. Am Chem. Soc.* 1995, 117, 9375, 并在此参考) (5.2 g, 17 mmol), 5% Pd·C (500 mg)、MeOH (75 mL)和THF (25 mL)的混合物在H₂气氛下保持24 h。将混合物通过C盐过滤, C盐用MeOH洗涤, 减压浓缩, 定量获得胺b, 为无色油状物, 直接收集。



将上面制备的胺**b**与CH₂Cl₂ (40 mL)、饱和NaHCO₃水溶液(40 mL)合并,并冷却到0 °C。苄氧基羰基氯(3.0 mL)然后逐滴加入,将混合物剧烈搅拌过夜。将相分离,水相用CH₂Cl₂ (3 × 20 mL)萃取。合并有机相,用盐水洗涤(1 × 50 mL),干燥(Na₂SO₄),过滤,吸收到C盐上,色谱纯化(ISCO, 120 g 二氧化硅柱,梯度洗提5-55% EtOAc-己烷)得到4.15 g (80%) 外消旋Cbz-吡喃基甘氨酸甲基酯。在Chiracel OD柱上分离外消旋物,用10% EtOH-己烷洗脱。在这些条件下首先获得所需的*S*-对映体**c**洗提物。

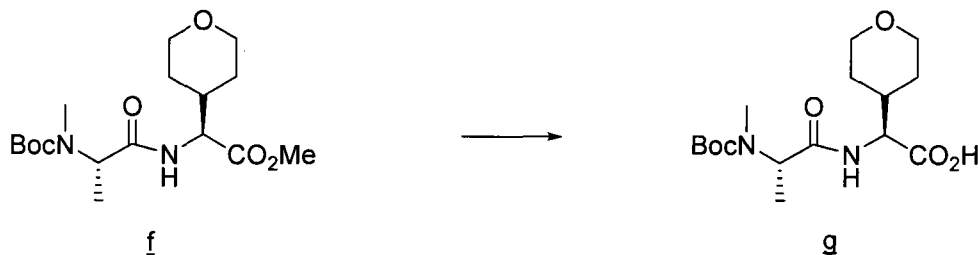


将(*S*)-*N*-Cbz-吡喃基甘氨酸 **c**甲基酯(2.4 g, 7.82 mmol)、10% Pd·C (700 mg)、MeOH (80 mL)的混合物在1大气压H₂保持24 h。将混合物通过C盐用MeOH过滤,减压浓缩,得到1.35 g (100%)胺**d**,为无色油状物。或者,可以按照Ghosh (Ghosh, A. K.; Thompson, W. J.; Holloway, M. K.; McKee, S. P.; Duong, T. T.; Lee, H. Y.; Munson, P. M.; Smith, A. M.; Wai, J. M.; Darke, P. L.; Zugay, J. A.; Imini, E. A.; Schleif, W. A.; Huff, J. R.; 和erson, P. S. *J. Med. Chem.*, 1993, 36, 2300)的工艺,以对映纯形式合成吡喃基甘氨酸。



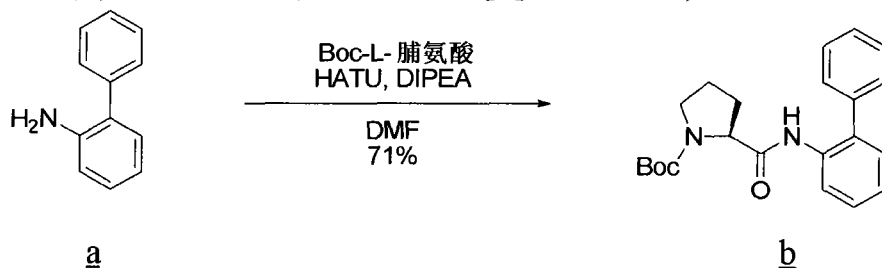
将胺**d** (1.35 g, 7.8 mmol)、*N*-Boc-*N*-甲基丙氨酸 **e** (1.74 g, 8.6 mmol), EDC (1.65 g 8.8 mmol)和MeCN (50 mL)的混合物在室温保持过夜。减压除去MeCN,用EtOAc稀释残余物,用0.5 N HCl (3 × 10 mL)和0.5 N NaOH (3 × 10

mL)洗涤,干燥 (MgSO_4),过滤并浓缩,得到2.1 g (75%)受保护的二肽f,为透明油状物。

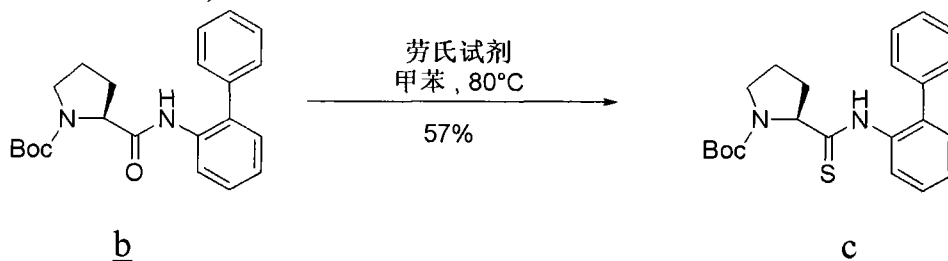


向0 °C的酯f (2.10 g, 5.86 mmol)和THF (50 mL)的溶液加入 $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1.23 g, 29.3 mmol)和水(2 mL)。将混合物保持在0 °C 2 h,然后除去冷却浴,混合物搅拌过夜。然后减压除去大部分THF,将残余物用 CH_2Cl_2 稀释,用0.5 N HCl洗涤,干燥(MgSO_4),过滤并浓缩得到1.53 g (78%)的二肽N-Boc-N-甲基-L-丙氨酸-L-脱氢吡喃基甘氨酸 g,为无色固体。

实施例 9(S)-叔丁基 2-(4-苯基苯并[d]噻唑-2-基)吡咯烷-1-羧酸酯

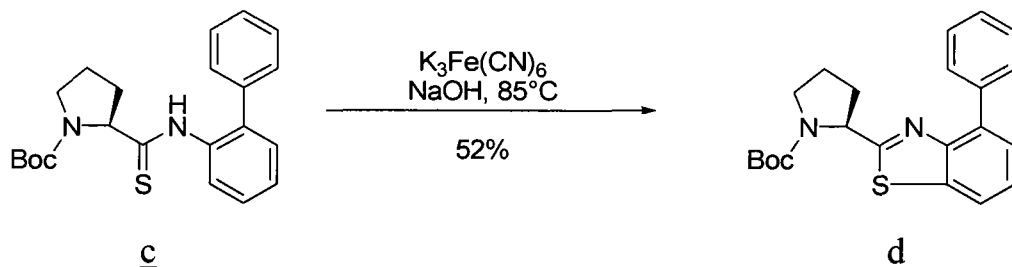


向 Boc-L-脯氨酸(1.0 g, 4.6 mmol) 于 50 ml 无水 DMF 的搅拌溶液加入 DIPEA (2.4 ml, 13.8 mmol),接着加入 HATU (1.75g, 4.6 mmol)。将所得溶液在室温搅拌 5 分钟。将 2-氨基-联苯 a (0.89g, 5.3 mmol)然后一次加入,在室温继续搅拌 2h。之后将溶液加热到 45°C,保持 5h,冷却到室温,保持 16h。然后将反应物倒入 250 ml 水,加入 50 ml 的盐水。用 50 ml EtOAc 萃取水相 3 次,合并有机相。然后用 100 ml 的 1 M HCl 和 100 ml 盐水洗涤有机相,用 MgSO_4 干燥,过滤和浓缩得到油状物。将油吸收到硅胶,和急骤层析纯化(40g SiO_2 , 0% - 40% EtOAc 的己烷溶液)得到所需酰胺 b,作为透明油状物 (1.2 g, 3.3 mmol, 71%)。



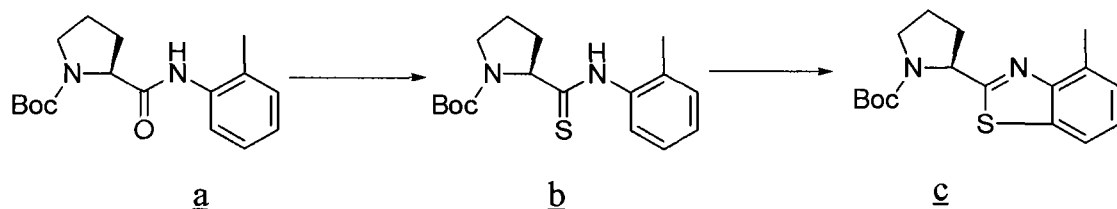
向 b (1.06g, 2.9 mmol)于 30 ml 甲苯中的搅拌溶液一次加入劳氏试剂

(0.69g, 1.7 mmol)。将反应物在油浴中温热到 80°C, 保持 3h, 然后冷却到室温, 保持 16h。将溶液吸收到硅胶上和急骤层析纯化(40g SiO₂, 0% - 40% EtOAc 的己烷溶液)得到所需硫代酰胺 c, 作为透明油状物(0.63g, 1.6 mmol, 57%)。



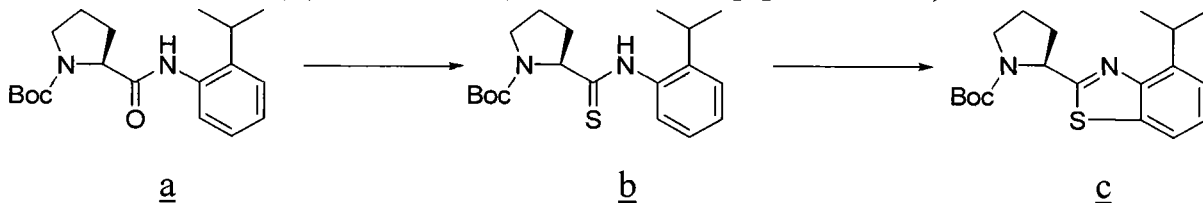
向 K₃Fe(CN)₆ (1.51g, 4.6 mmol)在 4 ml 水中的 85°C 搅拌溶液中缓慢加入 c 的悬浮体, 该悬浮体通过用几滴 EtOH 初始润湿 c (0.42g, 1.1 mmol)获得, 然后加入 30%NaOH 溶液(1.2 ml, 9.0 mmol)和剧烈移液处理几分钟。完全加入后, 将混合物在 85°C 搅拌 2 ½小时, 然后将反应物用 25 ml 水稀释并过滤。将过滤物溶解在二氯甲烷中, 吸收到硅胶上和急骤层析纯化(12g SiO₂, 0% - 25% EtOAc 的己烷溶液), 得到(S)-叔丁基 2-(4-苯基苯并[d]噻唑-2-基)吡咯烷-1-羧酸酯 d (0.22g, 0.58 mmol, 52%)。

实施例 10 (S)-叔丁基 2-(4-甲基苯并[d]噻唑-2-基)吡咯烷-1-羧酸酯



化合物 c 根据上述实施例 9 的过程制备。邻-甲苯胺(0.72 ml, 6.7 mmol)转化为化合物 a (1.49g, 4.9 mmol, 87%)。化合物 a (1.14g, 3.7 mmol)然后转化为化合物 b (0.27g, 0.84 mmol, 23%)。化合物 b (0.27g, 0.84 mmol)转化为化合物 c。

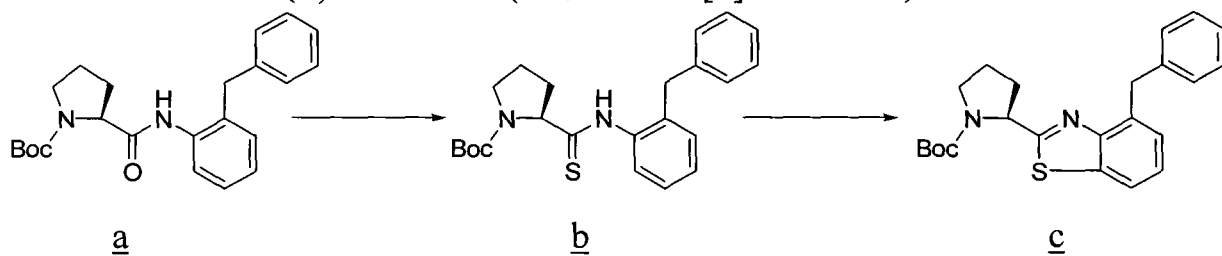
实施例 11 (S)-叔丁基 2-(4-异丙基苯并[d]噻唑-2-基)吡咯烷-1-羧酸酯



化合物 c 根据实施例 9 的过程制备。2-异丙基苯胺(0.9 ml, 5.2 mmol)转化为化合物 a (1.53g, 4.9 mmol, 87%)。化合物 a (1.53g, 4.9 mmol)然后转化为化合物 b (1.14g, 3.3 mmol, 67%)。化合物 b (1.14g, 3.3 mmol)转化为(S)-叔丁基

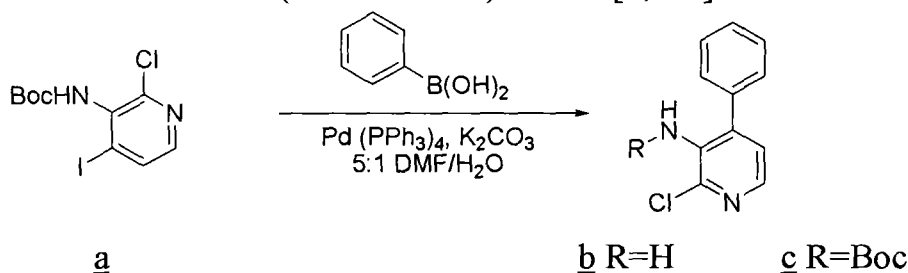
基 2-(4-异丙基苯并[d]噻唑-2-基)吡咯烷-1-羧酸酯 c (0.35g, 1.0 mmol, 31%)。

实施例 12 (S)-叔丁基 2-(4-苄基苯并[d]噻唑-2-基)吡咯烷-1-羧酸酯

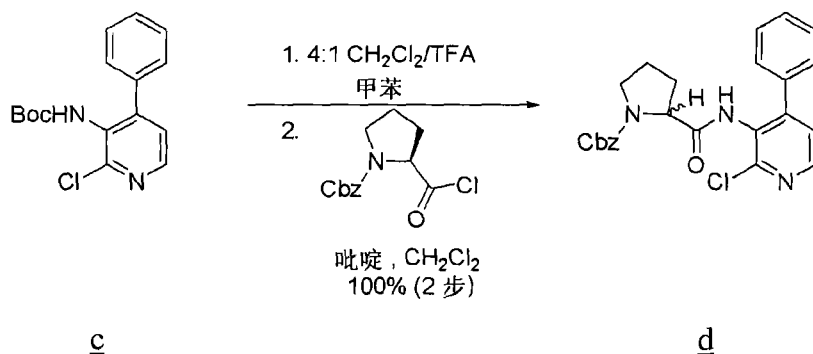


化合物 c 根据实施例 9 的过程制备。2-苄基苯胺(1.18g, 6.4 mmol)转化为化合物 a (1.43g, 3.8 mmol, 59%)。化合物 a (1.18g, 3.1 mmol) 然后转化为化合物 b (0.85g, 2.1 mmol, 69%)。化合物 b (0.85g, 2.1 mmol) 转化为(S)-叔丁基 2-(4-苄基苯并[d]噻唑-2-基)吡咯烷-1-羧酸酯 c (0.18g, 0.46 mmol, 22%)。

实施例 14 7-苯基-2-(吡咯烷-2-基)噻唑并[5,4-b]吡啶

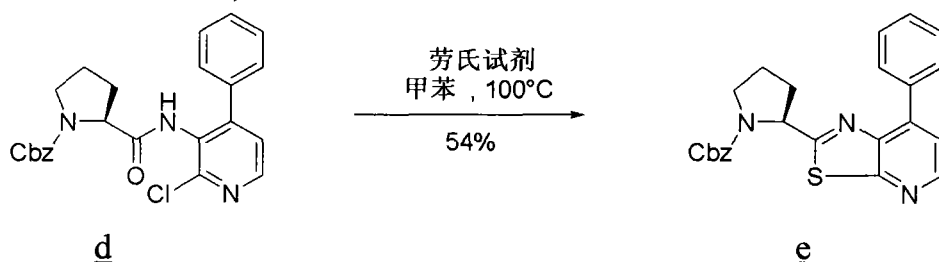


(2-氯-4-碘-吡啶-3-基)-氨基甲酸叔丁基酯 a (4.20g, 11.8 mmol)、苯基硼酸 (1.90g, 15.6 mmol)、碳酸钾(2.42g, 17.5 mmol)和四(三苯基膦)钯(0) (0.68g, 0.59 mmol) 称重, 放入 20 ml 微波瓶中。将该微波瓶排气, 然后用氮气吹扫 3 次。加入 16.7 ml 无水 DMF, 然后加入 3.3 ml 水, 它们都用氮气鼓泡整夜来脱气。然后给瓶盖上帽, 并在 130°C 通微波 40 分钟。将所得溶液倒入 250 ml 水中, 并用 EtOAc (3x50 ml) 萃取。将有机相合并, 用 MgSO₄ 干燥, 过滤并浓缩。将所得油状物吸收到硅胶上, 并通过急骤层析纯化 (150g SiO₂, 0% - 40% EtOAc 的己烷溶液), 得到 2-氯-3-氨基-4-苯基吡啶 b (0.84g, 4.1 mmol, 35%) 和 Boc-保护的 2-氯-3-氨基-4-苯基吡啶 c (1.74g, 5.7 mmol, 48%), 分别为黄色和白色固体。

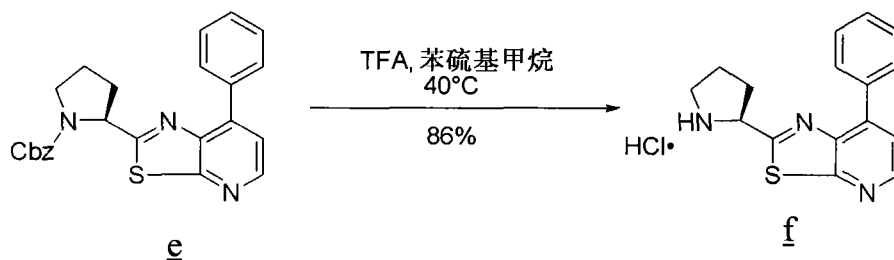


化合物 c (1.74g, 5.7 mmol)溶解在 50 ml 的 4:1 二氯甲烷/TFA, 加入 1 ml 甲苯。将所得溶液加热到 40°C, 保持 2h, 然后将反应混合物浓缩为微黄色固体。将该固体溶解在 50 ml 二氯甲烷中, 用 100 ml 的 1N NaOH 水溶液洗涤。分离层, 将水相再用 50 ml 二氯甲烷萃取两次。合并有机萃取物, 用 MgSO_4 干燥, 过滤和浓缩为黄色固体, 将其收集无需进一步纯化。

向 2-氯-3-氨基-4-苯基吡啶于无水二氯甲烷的搅拌溶液中加入吡啶(2.5 ml, 30.9 mmol)和然后加入实施例 15 制备的(S)-苄基 2-(氯羰基)吡咯烷-1-羧酸酯 (1.83g, 6.8 mmol), 将反应混合物在氮气气氛下搅拌 16h, 然后倒入 200 ml 的 1N HCl 中。将层分离, 水相用二氯甲烷 (3x50 ml)萃取。合并有机相, 用 MgSO_4 干燥, 过滤和浓缩。将所得油状物吸收到硅胶上, 和急骤层析纯化(40g SiO_2 , 0% - 60% EtOAc 的己烷溶液), 得到所需酰胺 d, 为泡沫状物 (2.51g, 5.8 mmol, 100%)。



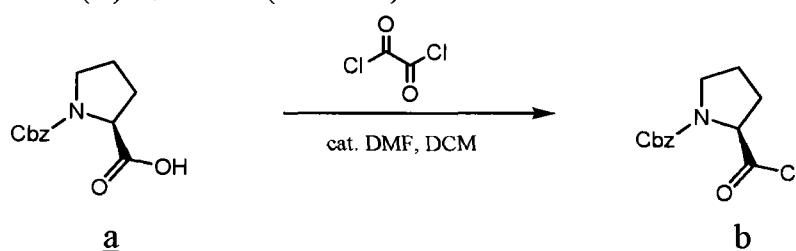
化合物 d (1.78g, 4.08 mmol)和劳氏试剂(1.05g, 2.60 mmol)溶解在 10 mL 的无水二甲氧基乙烷中, 加热到 40°C, 保持 24 h. 加入第二份劳氏试剂(0.56g, 1.38 mmol), 继续加热 48 h. 将反应通过加入 1 ml 二甲基甲酰胺而猝灭, 继续在 40°C 搅拌 1h. 将溶液冷却, 然后用 100 ml EtOAc 稀释。将其用 1% 的 NaClO (3x 50 ml)溶液洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤, 吸收到硅胶上和急骤层析纯化(40g SiO_2 , 0% - 60% EtOAc 的己烷溶液), 得到所需 7-氮杂苯并噻唑 e, 为白色泡沫状物 (1.06 g, 2.55 mmol, 62%)。



化合物 e (1.30g, 3.1 mmol)溶解在 30 ml TFA 中。加入苯硫基甲烷(2.9 ml, 24.7 mmol), 将溶液温热到 40°C, 保持 16 h. 然后真空除去挥发物, 将所得油状物溶解在二乙醚中(50 mL)。将溶液倒入 1 N NaOH (200 ml)和将层分离。

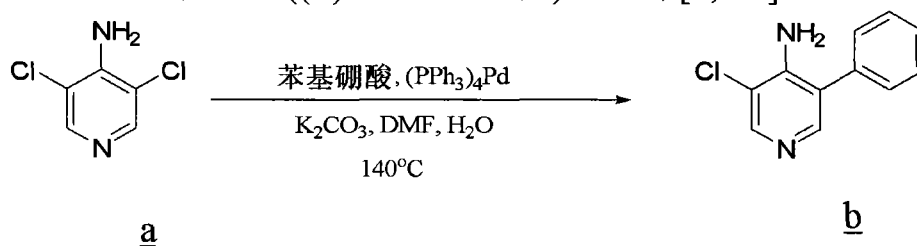
水相用二乙醚(2 x 50 ml)萃取, 合并有机相。有机相用 MgSO_4 干燥并过滤。加入 4 N HCl 在二氧杂环己烷中 (0.8 ml, 3.2 mmol) 的溶液, 沉淀白色固体。将其冷却到 4°C , 保持 4 h, 然后过滤, 用冷二乙醚(3 x 50 ml)洗涤, 得到 7-苯基-2-(吡咯烷-2-基)噻唑并[5,4-b]吡啶盐酸盐 f (0.852g, 2.7 mmol, 86%), 白色细晶体。产物含有 10-20% 的非所需脯氨酸异构体, 将其在该阶段, 使用手性 SFC 纯化除去。将等分物注入到 Mettler-Toledo SFC Semi-Prep 系统, 该系统配备有 Chiralpak OD 柱(21.2 x 250 mm)和使用 20% MeOH 在超临界 CO_2 中恒溶剂洗脱。

实施例 15 (S)-苄基 2-(氯羰基)吡咯烷-1-羧酸酯

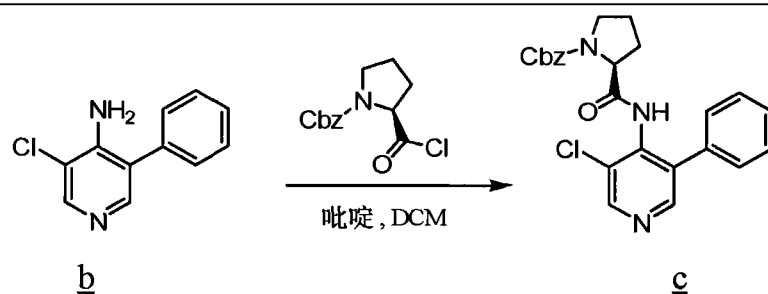


Cbz-Pro-OH a (2.0 g, 8.0 mmol) 溶解在 DCM (10 mL) 和加入草酰氯(6 ml 的 2M 溶液, 12.0 mmol)。加入 DMF (2 滴), 将混合物在室温搅拌 30min。将溶液浓缩得到 2.1 g (100%) 酰氯 (S)-苄基 2-(氯羰基)吡咯烷-1-羧酸酯 b, 为浅黄色油状物。

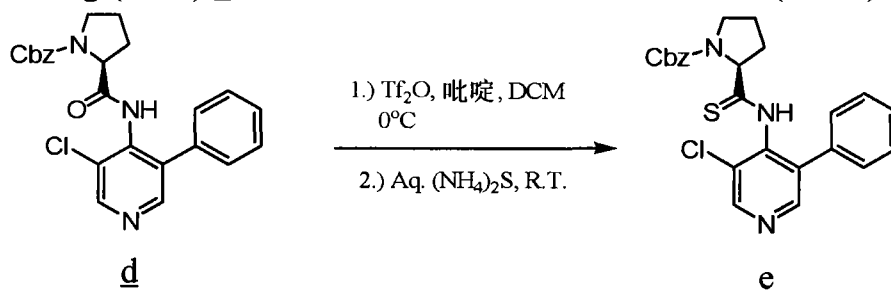
实施例 16 7-苯基-2-((S)-吡咯烷-2-基)噻唑并[5,4-c]吡啶



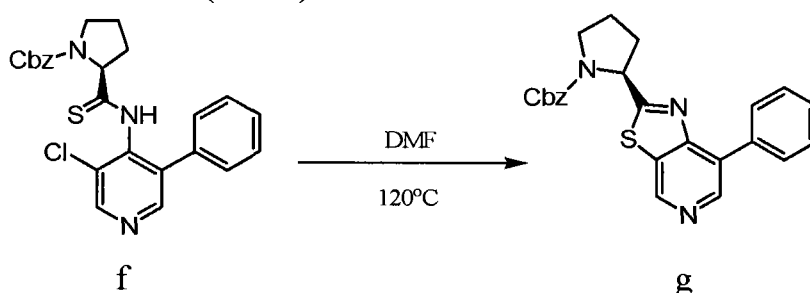
4-氨基-3,5-二氯吡啶 a (2.0 g, 12.3 mmol)、四(三苯基膦)钯 (696 mg, 0.6 mmol)、苯基硼酸 (1.9 g, 15.9 mmol) 和碳酸钾 (2.2 g, 15.9 mmol) 在氮气气氛下混合在 10 mL 微波瓶中。加入 DMF (6 mL) 和脱氧 H_2O (1.2 mL)。将氮气鼓泡通过该混合物 5min, 将混合物在 140°C 微波加热 20min。将混合物用水 (30 mL) 稀释, 和用 EtOAc (3x20 mL) 萃取。合并有机相, 用水 (50 mL) 和盐水 (50 mL) 洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并浓缩。将所得棕色油状物吸收到硅胶上和急骤层析纯化(SiO_2 , 0% - 70% 乙酸乙酯/己烷)得到 970 mg (37%) b, 为无色油状物。MS: $m/z = 205$ ($\text{M}+\text{H}$).



4-氨基-3-氯-5-苯基吡啶 **b** (650 mg, 3.16 mmol)溶解在 DCM (10 mL)。加入 Cbz-Pro-Cl (1.6 g, 6.3 mmol)溶于 DCM (5 mL)的溶液, 接着加入吡啶 (467 mg, 6.3 mmol), 将混合物在室温搅拌过夜。将反应用 0.5N HCl 猝灭, 相分离, 水相用 DCM (2x20 mL)萃取, 合并有机相, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并浓缩。将所得油状物吸收到硅胶上, 和急骤层析纯化(SiO_2 , 0% - 100% EtOAc/己烷)得到 1.12 g (80%) **c**, 为无色油状物。MS: $m/z = 436$ (M+H).

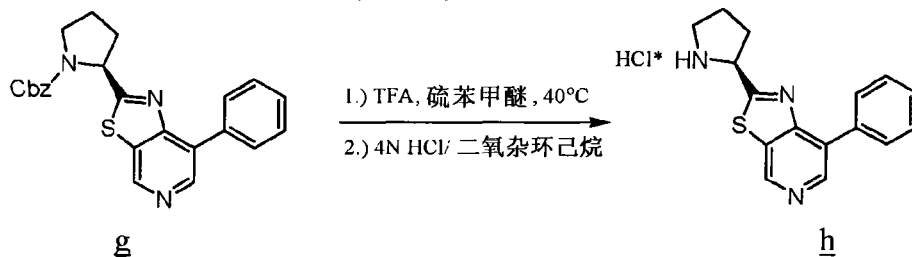


按照 Charette 的一般工艺 (Charette, A.B. et al, *J. Org. Chem.*, 2003, **68**, 5792-5794), 在 0°C 将化合物 **d** (1.7 g, 3.9 mmol)和吡啶 (0.89 mL, 4.7 mmol)在 DCM (20 mL)中混合在一起, 将溶液搅拌 5min。缓慢加入三氟甲烷磺酸酐 (1.3 g, 4.7 mmol)。将溶液搅拌 3h 和温热到室温。通过快速加入 20%硫化铵水溶液(2.0 mL, 5.8 mmol)猝灭反应, 在室温搅拌过夜。将混合物过滤通过硅胶垫, 并用 DCM (50 mL)洗涤。浓缩过滤物, 将所得油状物吸收到硅胶上, 和急骤层析纯化(SiO_2 , 0% - 70% 乙酸乙酯/己烷)得到 500 mg (28%)**e**, 为黄色固体。MS: $m/z = 452$ (M+H).



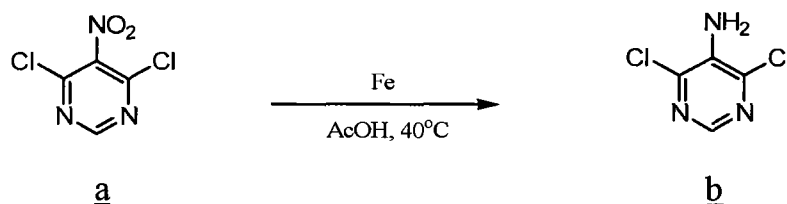
化合物 **f**溶解在 DMF (5 mL)和将溶液在 120°C 搅拌 3 天。将混合物冷却到室温, 用 20 mL 的 H_2O 稀释, 并用 EtOAc (3x25 mL)萃取。将有机相合并, 用水(50 mL)和盐水(50 mL)洗涤, MgSO_4 干燥, 过滤并浓缩。将所得油状物

吸收到硅胶上和急骤层析纯化(SiO_2 , 己烷-乙酸乙酯)得到 423 mg (98%) **g**, 为黄色油状物。MS: $m/z = 415$ ($M+H$)。

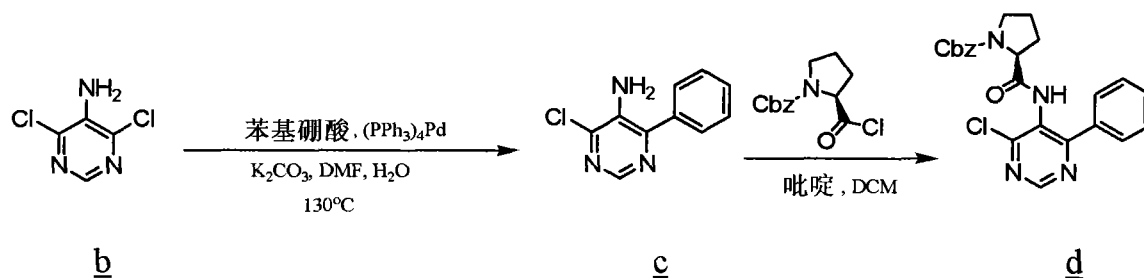


化合物 **g** (423 mg, 1.0 mmol) 和苯硫基甲烷 (993 mg, 8.0 mmol) 溶解在 TFA (40 mL)。将混合物在 40°C 搅拌过夜。将混合物冷却到室温并浓缩。将所得油状物溶解在醚中 (20 mL) 和用 1N NaOH (30 mL) 洗涤。用醚 (2x20 mL) 萃取水相。合并有机相, 用 MgSO_4 干燥并过滤。加入 4N HCl 在二氧杂环己烷中的溶液直至固体沉淀。过滤收集固体, 用醚洗涤并空气干燥得到 240 mg (76%) 7-苯基-2-((S)-吡咯烷-2-基)噻唑并[5,4-c]吡啶 **h**, 为浅黄色油状物。MS: $m/z = 282$ ($M+H$)。

实施例 17 7-苯基-2-((S)-吡咯烷-2-基)噻唑并[5,4-d]嘧啶

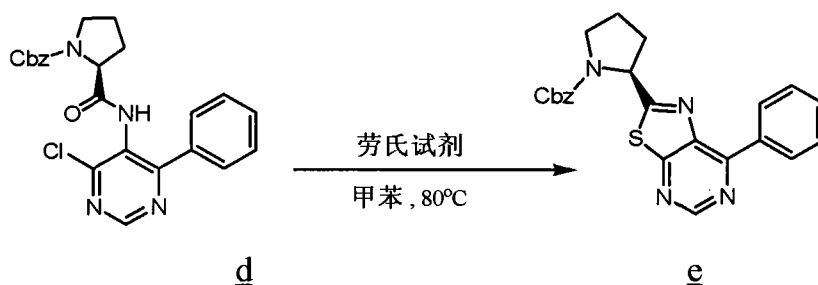


将铁粉 (12.5 g, 112 mmol) 加入到 4,6-二氯-5-硝基嘧啶 **a** (7.0 g, 36.1 mmol) 在乙酸 (70 mL) 中的悬浮体中。将混合物在 40°C 搅拌 45 min。将混合物倒入冰中, 加入固体碳酸氢钠中和。用 EtOAc (3x200 mL) 萃取水相。合并有机相, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并浓缩得到浅黄色固体。在热乙酸乙酯中重结晶, 得到 3.6 g (61%) 化合物 **b**, 为乳白色针状物。MS: $m/z = 165$ ($M+H$)。

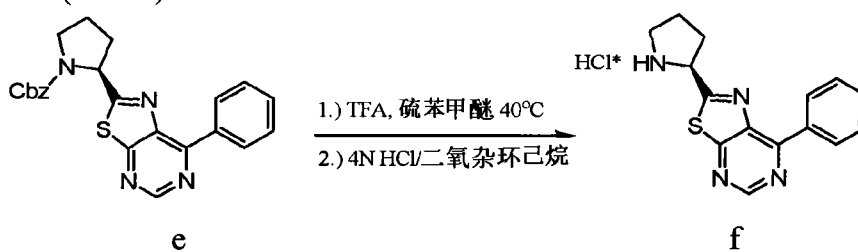


化合物 **c** 使用实施例 16 中制备化合物 **b** 的一般工艺, 从化合物 **b** (1.0 g, 6.1 mmol) 制备。该工艺得到 410 mg (28%) **c**, 为黄色固体。MS: $m/z = 206$ ($M+H$)。化合物 **d** 使用实施例 16 中制备化合物 **c** 的一般工艺, 从化合物 **c** (270 mg, 1.3 mmol) 制备。该工艺得到 565 mg (99%) **d**, 为无色油状物。MS: m/z

= 437 (M+H).

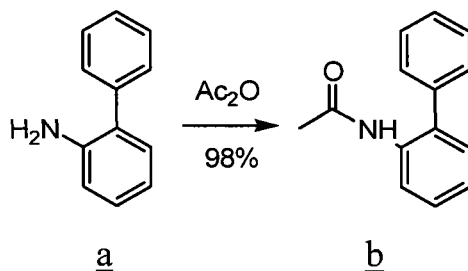


将化合物 **d** (550 mg, 1.26 mmol) 和劳氏试剂 (341 mg, 0.84 mmol) 在甲苯 (10 mL) 中的混合物在 80°C 搅拌过夜。将溶液浓缩，吸收到硅胶上，急骤层析纯化 (SiO₂, 0% - 60% 乙酸乙酯/己烷) 得到 514 mg (98%) **e**，为浅黄色固体。MS: $m/z = 417$ (M+H).

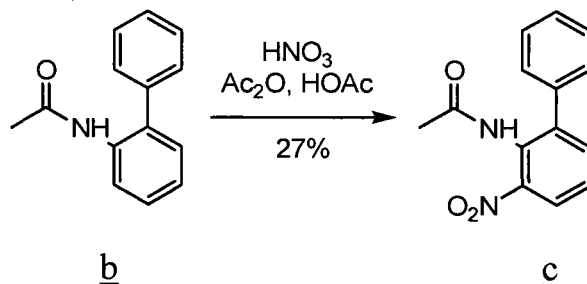


化合物 f 使用实施例 16 中制备化合物 h 的一般工艺, 从化合物 e (510 mg, 1.2 mmol) 制备。该工艺获得 378 mg (98%) 7-苯基-2-((S)-吡咯烷-2-基)噻唑并[5,4-d]嘧啶 f, 为灰白色固体。MS: $m/z = 283$ (M+H).

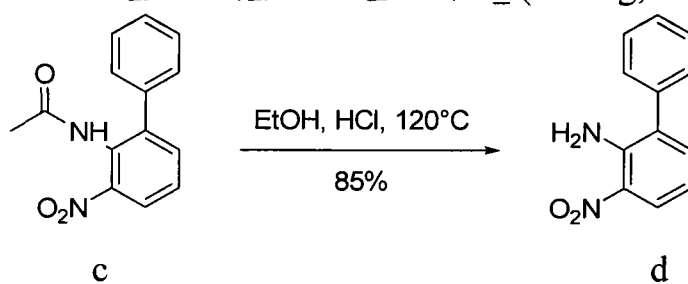
实施例 18 2,3-二氨基联苯



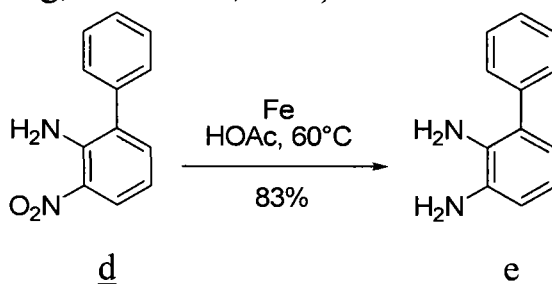
2-氨基联苯 a (21.9289g, 130mmol)溶解在 Ac_2O (30mL, 318mmol)和搅拌 10 min。然后加入额外的 Ac_2O (10mL, 106mmol), 再搅拌 10 min。将样品倒入冰中。所得固体真空过滤冰用 H_2O 洗涤, 得到 N-乙酰基-2-氨基联苯 b (26.955g, 128mmol, 98%)。



按照 Stepan (Stepan, A. H., et al, *J. Am. Chem. Soc.*, 1949, 71, 2438)的一般工艺, N-乙酰基-2-氨基联苯 b (7.198g, 34.1mmol)、HOAc (6mL)和 Ac₂O (5mL) 混合并在 120°C 加热几分钟,直至 N-乙酰基-2-氨基联苯 b 得到溶解。将样品冷却到室温。将 HOAc (1.5mL)缓慢加入到于冰浴中的 2.3mL 发烟 HNO₃ (2.3mL, 54.5mmol)。在温度保持到小于 26.5°C 的同时,快速加入 1.5mL 的这种 HNO₃ 混合物,然后将剩下的 HNO₃ 混合物滴加到 N-乙酰基-2-氨基联苯 b 中。将样品在室温搅拌 4 h,然后在 4°C 储存过夜。将反应混合物倒入冰中,用苯萃取一次。将苯层在 4°C 储存 1 h。将所得固体真空过滤,用冷苯洗涤,得到 N-乙酰基-2-氨基-3-硝基联苯 c (2.346g, 9.15mmol, 27%)。

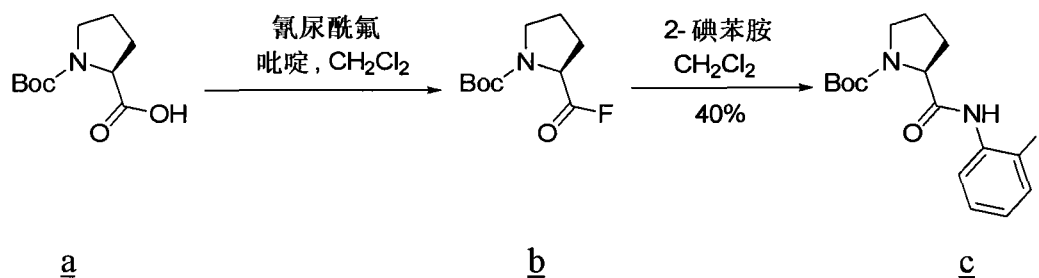


N-乙酰基-2-氨基-3-硝基联苯 c (1.008g, 3.93mmol)、EtOH (19mL, 325mmol)和浓 HCl (5mL, 50mmol)混合,并在 120°C 回流过夜。将样品吸收到硅胶上,和急骤层析纯化(12g SiO₂, 0-33% EtOAc 的己烷溶液),得到 2-氨基-3-硝基联苯 d (0.720g, 3.36mmol, 85%)。



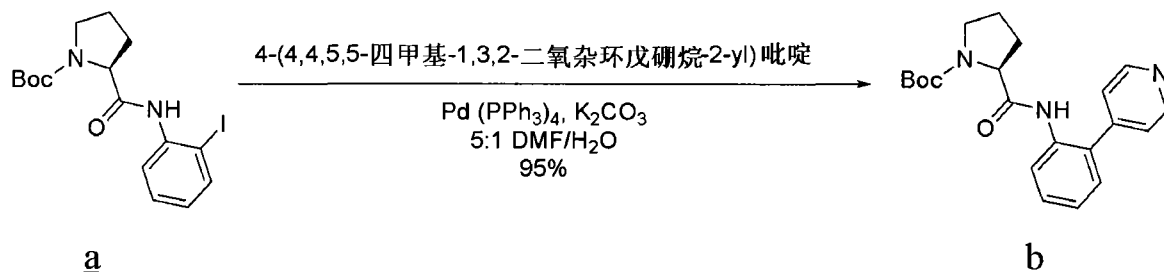
2-氨基-3-硝基联苯 d (0.613g, 2.86mmol) 在氮气下吹扫 30 min,然后加入 HOAc (5mL),接着加入铁粉(0.4895g, 8.76mmol)。将样品在 60°C 加热 30 min,然后加入 HOAc (5mL)。将样品在 60°C 搅拌 1 h,然后倒入冰中。将样品用 EtOAc (3 X 100 mL)萃取。将 EtOAc 萃取物用饱和 NaHCO₃ (3 X 100 mL)洗涤。将 EtOAc 层在 MgSO₄ 上干燥,过滤并浓缩,得到 2,3-二氨基联苯 e (0.439g, 2.38mmol, 83%)。

实施例 19 2(S)-[[[(2-碘苯基)氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸



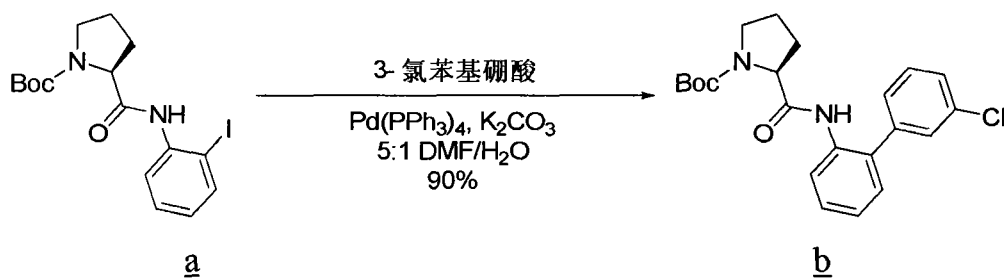
Boc-Pro-OH **a** (5.0030g, 23.2mmol)溶解在无水 CH_2Cl_2 (50mL)中, 然后冷却到 0°C 。加入无水吡啶 (3.8mL, 46.4mmol)。滴加氰尿酸氟(Cyanuric fluoride)(2.2mL, 25.5mmol)。将样品温热到室温, 搅拌 30 min。加入 H_2O (5mL) 以猝灭反应。用 H_2O 稀释反应混合物, 并用 CH_2Cl_2 萃取三次。 CH_2Cl_2 萃取物用饱和 NaCl 洗涤。 CH_2Cl_2 层在 MgSO_4 上干燥, 过滤并浓缩, 得到酰氟 **b**, 直接使用无需纯化。将酰氟 **b** 溶解在无水 CH_2Cl_2 (50mL)中。加入 2-碘苯胺 (4.9932g, 22.8mmol)。搅拌样品过夜。将反应混合物吸收到硅胶上, 急骤层析纯化(80g SiO_2 , 0-50% EtOAc 的己烷溶液), 得到 2(S)-[[(2-碘苯基)氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 **c** (3.845g, 9.24mmol, 40%)。

实施例 20 2(S)-[[(2-(4-吡啶基)苯基)氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸



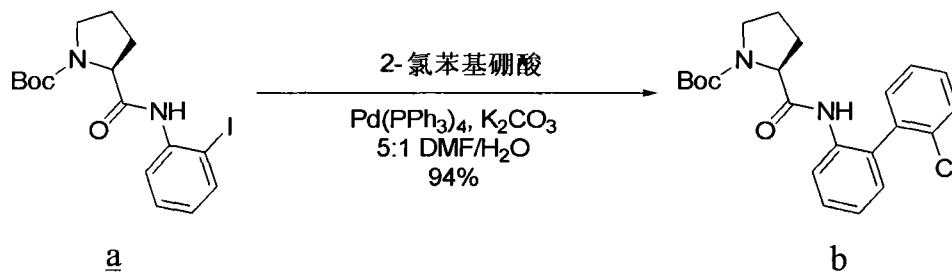
2(S)-[[(2-碘苯基)氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 **a** (0.4810g, 1.16mmol), 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)吡啶 (0.3240g, 1.58mmol), K_2CO_3 (0.2190g, 1.58mmol)和 $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.0702g, 0.0607mmol)合并并在 5 mL 微波瓶中。将样品排气, 并用氮气吹扫三次。加入无水 DMF (2mL)和脱氧 H_2O (0.4mL)。将样品 130°C 微波处理 10 分钟。用 H_2O 稀释反应混合物并用 EtOAc 萃取三次。将 EtOAc 萃取物在 MgSO_4 上干燥并过滤。将粗物质吸收到硅胶上和急骤层析纯化(4g SiO_2 , 0-100%EtOAc 的己烷溶液), 得到 2(S)-[[(2-(4-吡啶基)苯基)氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 **b** (0.404g, 1.10mmol, 95%)。

实施例 21 2(S)-[[(2-(3'-氯(1,1'-联苯))氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸



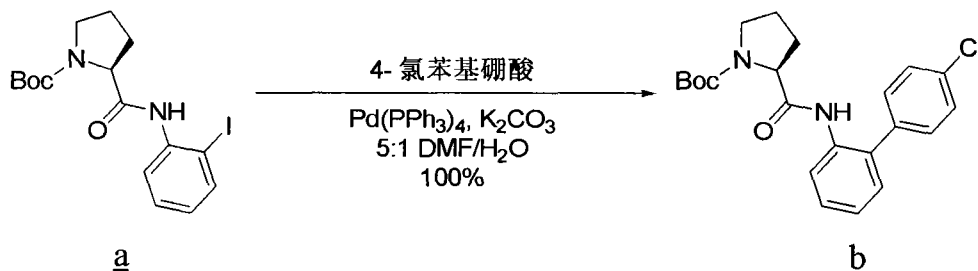
按照实施例 20 的过程, 2(S)-[[[2-碘苯基]氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 **a** (0.4576g, 1.10mmol), 3-氯苯基硼酸 (0.2520g, 1.61mmol), K_2CO_3 (0.2431g, 1.76mmol) 和 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.0725g, 0.0627mmol) 得到 2(S)-[[[2-(3'-氯(1,1'-联苯))氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 **b** (0.399g, 0.995mmol, 90%)。

实施例 22 2(S)-[[[2-(2'-氯(1,1'-联苯))氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸



按照实施例 20 的过程, 2(S)-[[[2-碘苯基]氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 **a** (0.4554g, 1.09mmol), 2-氯苯基硼酸 (0.2518g, 1.59mmol), K_2CO_3 (0.2592g, 1.88mmol) 和 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.0752g, 0.0651mmol) 得到 2(S)-[[[2-(2'-氯(1,1'-联苯))氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 **b** (0.414g, 1.03mmol, 94%)。

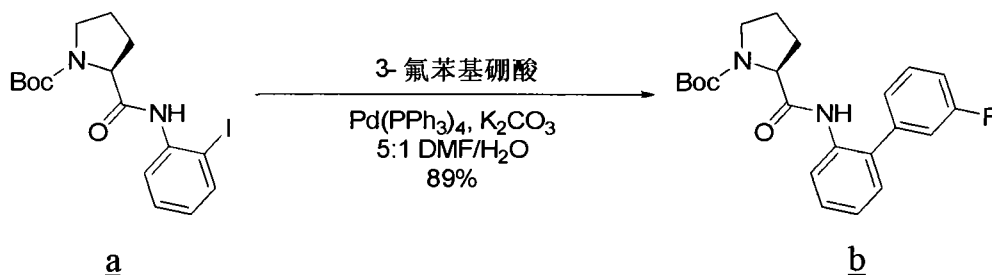
实施例 23 2(S)-[[[2-(4'-氯(1,1'-联苯))氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸



按照实施例 20 的过程, 2(S)-[[[2-碘苯基]氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 **a** (0.4494g, 1.08mmol), 4-氯苯基硼酸 (0.2561g, 1.62mmol), K_2CO_3 (0.2639g, 1.91mmol) 和 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.0732g, 0.0633mmol) 得到

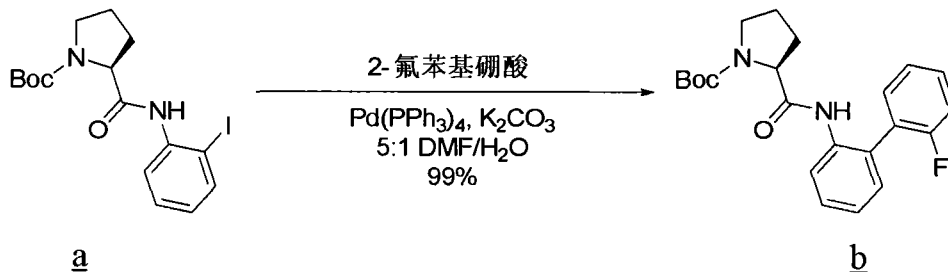
2(S)-[[[2-(4'-氯(1,1'-联苯))氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 **b** (0.411g, 1.08mmol, 100%)。

实施例 24 2(S)-[[[2-(3'-氟(1,1'-联苯))氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸



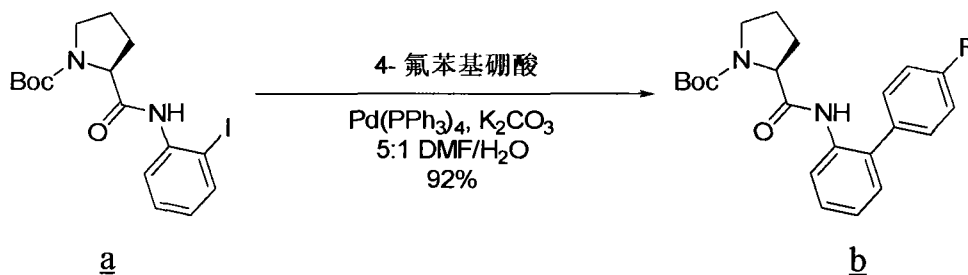
按照实施例 20 的过程, 2(S)-[[[2-碘苯基]氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 **a** (0.4507g, 1.08mmol), 3-氟苯基硼酸 (0.2158g, 1.54mmol), K_2CO_3 (0.2343g, 1.69mmol) 和 $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.0756g, 0.0654mmol) 得到 2(S)-[[[2-(3'-氟(1,1'-联苯))氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 **b** (0.387g, 1.01mmol, 89%)。

实施例 25 2(S)-[[[2-(2'-氟(1,1'-联苯))氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸



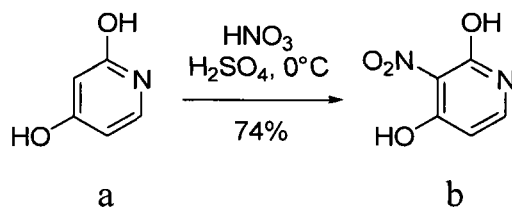
按照实施例 20 的过程, 2(S)-[[[2-碘苯基]氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 **a** (0.4487g, 1.08mmol), 2-氟苯基硼酸 (0.2154g, 1.54mmol), K_2CO_3 (0.2305g, 1.67mmol) 和 $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.0663g, 0.0574mmol) 得到 2(S)-[[[2-(2'-氟(1,1'-联苯))氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 **b** (0.410g, 1.07mmol, 99%)。

实施例 26 2(S)-[[2-(4'-氟(1,1'-联苯))氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸

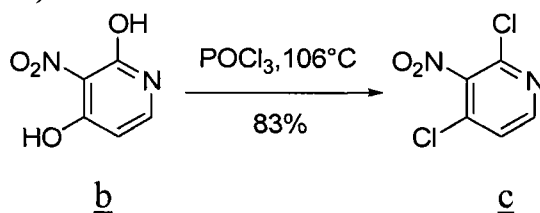


按照实施例 20 的过程, 2(S)-[[2-(2-碘苯基)氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 a (0.4467g, 1.07mmol), 4-氟苯基硼酸 (0.2230g, 1.59mmol), K_2CO_3 (0.2434g, 1.76mmol) 和 $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.0686g, 0.0594mmol) 得到 2(S)-[[2-(4'-氟(1,1'-联苯))氨基]羰基]-1-(1,1-二甲基乙基酯)-1-吡咯烷羧酸 a (0.382g, 0.994mmol, 92%)。

实施例 27 3-氨基-4-氯-2-苯基吡啶

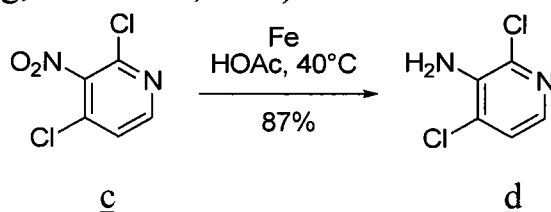


按照 Norman (Norman, M. H., et al, *J. Med. Chem.*, 2000, 43, 4288)的一般过程, 2,4-二羟基吡啶 (4.931g, 44.4mmol) 和 H_2SO_4 (20mL) 合并并冷却到 0°C 。滴加 HNO_3 (20mL, 444mmol)。将样品搅拌 30 分钟, 然后倾倒在冰上。将所得固体在 4°C 储存 1 小时, 然后真空过滤, 得到 2,4-二羟基-3-硝基吡啶 (5.143g, 32.9mmol, 74%)。

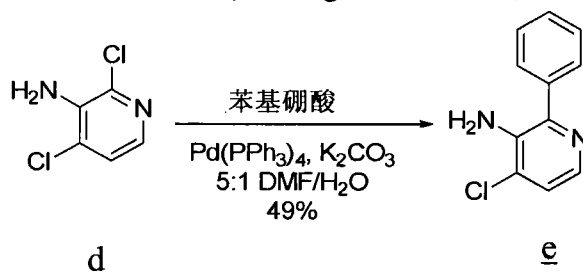


按照 Norman (Norman, M. H., et al, *J. Med. Chem.*, 2000, 43, 4288)的一般过程, 2,4-二羟基-3-硝基吡啶 b (2.0013g, 12.9mmol) 和 POCl_3 (25mL, 268mmol) 在氮气中合并。将混合物加热到 106°C 和搅拌过夜。将样品浓缩并倾倒在冰上。用 EtOAc (3 X 100 mL) 萃取反应混合物。EtOAc 萃取物用饱和 NaCl (1 X 100 mL) 洗涤。将 EtOAc 层在 MgSO_4 干燥并过滤。将粗物质吸收到硅胶上, 过滤通过硅胶塞 (50%EtOAc 的己烷溶液) 和浓缩, 得到 2,4-二氯

-3-硝基吡啶 c (2.058g, 10.7mmol, 83%)。

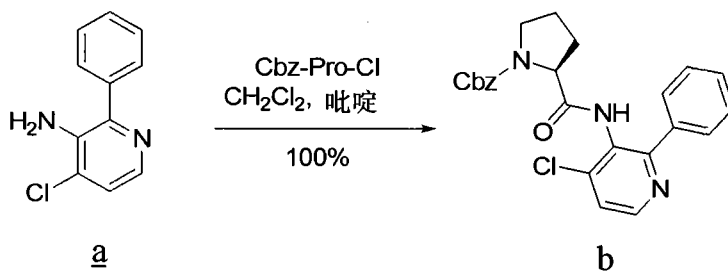


2,4-二氯-3-硝基吡啶 c (2.058g, 10.7mmol)在氮气下溶解在 HOAc (10mL) 中。加入铁粉 (1.9191g, 34.4mmol)。将样品在 40°C 加热 2 小时。将反应混合物倾倒在冰上, 加入 NaHCO₃, 得到中性溶液。样品用 EtOAc (3 X 100 mL) 萃取。EtOAc 萃取物用饱和 NaHCO₃ (1 X 100 mL) 洗涤。合并水相, 冰用 100 mL EtOAc 反萃取一次。合并 EtOAc 萃取物, 在 MgSO₄ 上干燥、过滤和浓缩, 得到 3-氨基-2,4-二氯吡啶 d (1.510g, 9.26mmol, 87%)。



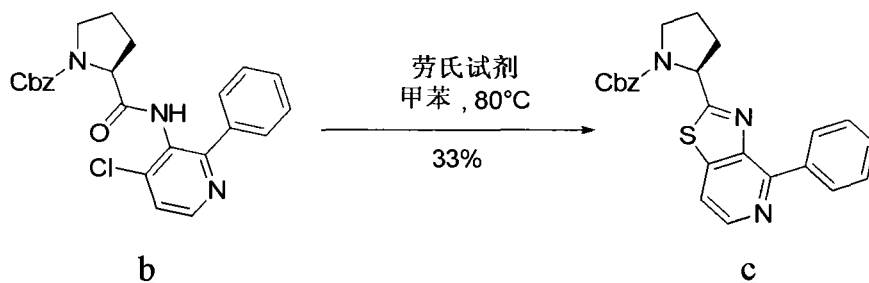
合并 3-氨基-2,4-二氯吡啶 d (0.7047g, 4.32mmol), 苯基硼酸 (0.5177g, 4.24mmol), K₂CO₃ (0.8023g, 5.80mmol) 和 Pd(PPh₃)₄ (0.0702g, 0.0607mmol)。将样品排气, 并用氮气吹扫三次。加入无水 DMF (2mL) 和脱氧 H₂O (0.4mL)。将样品在 130°C 微波处理 40 分钟。将反应混合物用 H₂O (50 mL) 稀释并用 EtOAc (3 X 50 mL) 萃取。EtOAc 萃取物在 MgSO₄ 上干燥, 过滤。将粗物质吸收到硅胶上和急骤层析纯化(40g SiO₂, 0-30%EtOAc 的己烷溶液), 得到 3-氨基-4-氯-2-苯基吡啶 e (0.435g, 2.12mmol, 49%)。

实施例 28 2(S)-[[4-苯基-2-噻唑并[4,5-c]吡啶基]-1-(9H-芴-9-基甲基)酯-1-吡咯烷羧酸



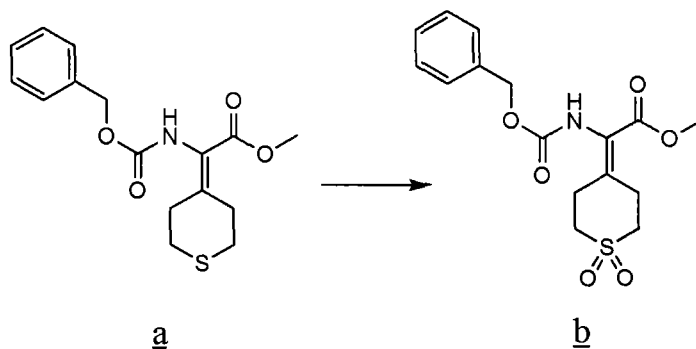
3-氨基-4-氯-2-苯基吡啶 a (0.435g, 2.12mmol) 溶解在无水 CH₂Cl₂ (10mL) 中。加入无水吡啶 (0.86mL, 10.6mmol)。滴加根据实施例 15 制备的

Cbz-Pro-Cl (1.0804g, 4.04mmol)的 CH_2Cl_2 (5mL)溶液。搅拌样品 1 小时。将反应混合物吸收到硅胶上, 和急骤层析纯化(40g SiO_2 , 0-100%EtOAc 的己烷溶液), 得到 2(S)-[[4-氯-2-苯基-3-吡啶基]氨基]羧基]-1-(9H-芴-9-基甲基)酯-1-吡咯烷羧酸 b (0.986g, 2.12mmol, 100%)。

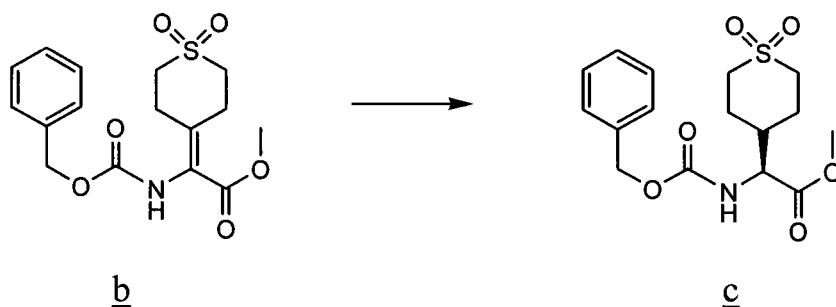


2(S)-[[4-氯-2-苯基-3-吡啶基]氨基]羧基]-1-(9H-芴-9-基甲基)酯-1-吡咯烷羧酸 b (9.564g, 21.9 mmol)溶解在无水二甲氧基乙烷 (240mL)中。加入劳氏试剂(5.83g, 14.3 mmol)。将样品加热到40°C和搅拌过夜。将混合物吸收到硅胶上和急骤层析纯化(330g SiO_2 , 己烷 - 10% MeOH 的二氯甲烷梯度), 得到 2(S)-[[4-苯基-2-噻唑并[4,5-c]吡啶基]-1-(9H-芴-9-基甲基)酯-1-吡咯烷羧酸 c (11.88g, 28.6 mmol, >100%)。接着在与实施例14相同的条件下除去Cbz基团。

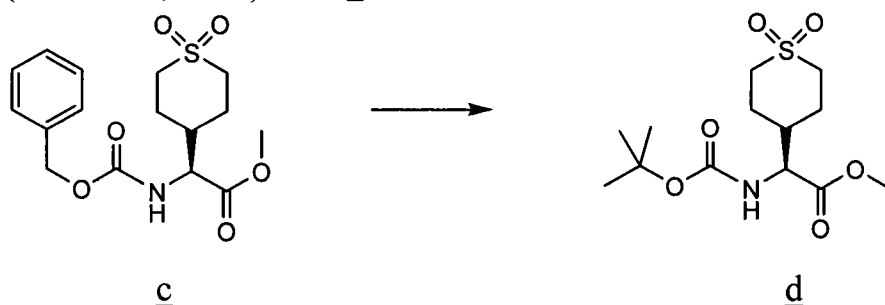
实施例 29 N-Boc-保护的环状磺酰基氨基酸



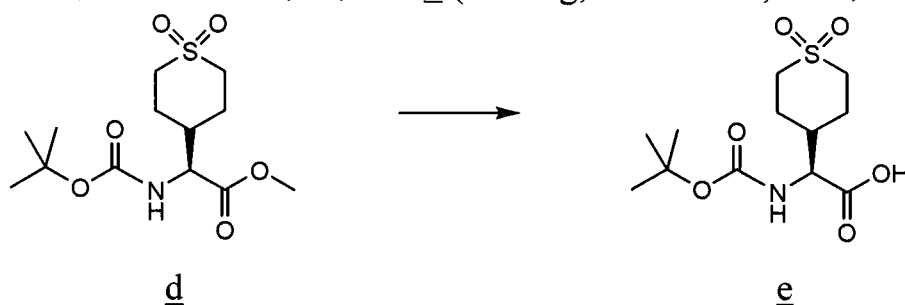
根据 Shieh [Shieh, W-C.; Xue, S.; Reel, N.; Wu, R.; Fitt, J.; Repic, O. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2001, 12, 2421-2425]的一般过程合成的硫化物 a (810 mg, 2.5 mmol)溶解在甲醇 (25 mL)中。过硫酸氢钾试剂(4.5g)溶解在去离子水 (25 mL)中。将基质的甲醇溶液冷却到-10 °C 和向反应物中缓慢加入过硫酸氢钾试剂的水溶液。将反应物保持在冰上, 并逐渐温热到室温同时搅拌过夜。使用去离子水稀释反应物到大约 150 mL, 然后倒入 90% 乙酸乙酯-己烷, 以便萃取。干燥有机相(Na_2SO_4), 吸收到 C 盐上, 并通过 ISCO CombiFlash 40 g 柱, 5-90% 乙酸乙酯-己烷 色谱纯化 30 min, 得到 804 mg (2.27 mmol, 91%)产物磺 b。



按照 Burk [Burk, M. J.; Gross, M. F.; Martinez, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 9375–9376.]的一般过程, 将碱 b (774 mg 2.19 mmol), 无水甲醇 (40 mL) 和 $[(S,S)\text{-Me-BPE-Rh(COD)}]^+\text{OTf}^-$ (500 mg, 0.8 mmol) 混合在 Parr shaker 烧瓶中, 用氮气吹扫。将 Parr 瓶排气并接着充入 60 psi 氢气, 剧烈振动过夜。减压除去甲醇, 使用乙酸乙酯, 粗产物过滤通过硅胶的小塞。蒸发溶剂, 得到 730 mg (2.0 mmol, 94%) 产物 c, 产率 >98%。

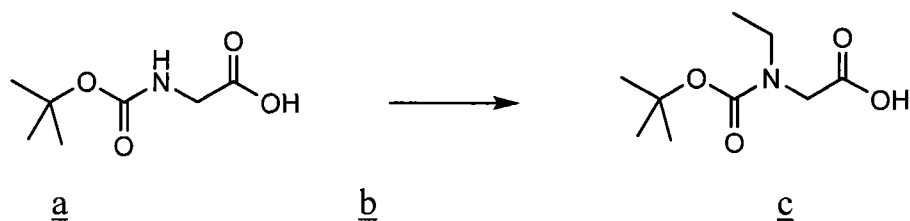


Z-保护的氨基酯 c (804 mg, 2.27 mmol) 溶解在甲醇 (16 mL)。向该溶液中加入 BOC-酐 (1.5 g, 6.8 mmol), 接着加入 20% $\text{Pd(OH)}_2\cdot\text{C}$ (250 mg)。通过真空从反应烧瓶中除去所有空气, 将混合物剧烈搅拌 5 min。然后向烧瓶充入氢气, 在室温剧烈搅拌 6 h。在排空氢气后, 使用甲醇, 将混合物过滤通过 C 盐, 通过蒸发溶剂获得粗产物 d (508 mg, 1.56 mmol, 70% 产率)。



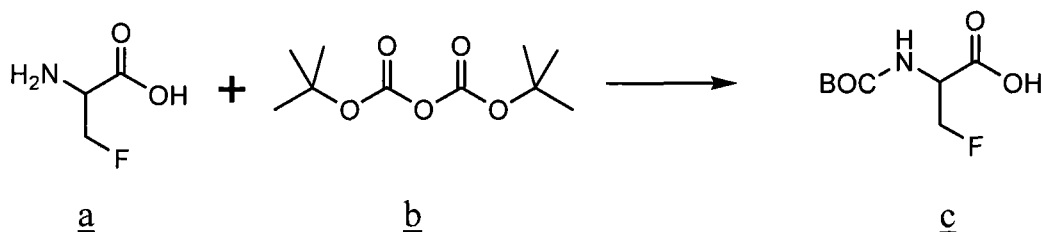
酯 d (508 mg, 1.56 mmol) 溶解在 8 mL THF。加入去离子水 (4 mL), 接着加入 $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (120 mg, 2.8 mmol)。混合物在室温搅拌过夜, 使用 1 N HCl 水溶液酸化并萃取到乙酸乙酯 (3 X 25 mL) 中。再用 Na_2SO_4 干燥有机萃取物, 过滤并浓缩, 得到 372 mg (1.21 mmol, 78% 产率) N-Boc-保护的环状磺酰基氨基酸 e, 将其收集而无需纯化。

实施例 30



按照 Grigg [Blaney, P.; Grigg, R.; Rankovic, Z.; Thornton-Pett, M.; Xu, J. *Tetrahedron*, 2002, 58, 1719-1737]的一般过程, 将氰化钠装入圆底烧瓶中 (480mg 60% 油分散体, 2.0 mmol, 4.0 当量)用氮气吹扫 15 min。将 THF (6.0mL)加入烧瓶中, 使用冰水浴, 将悬浮液冷却到 0 °C。用 BOC-甘氨酸 a (525 mg, 3.0 mmol), 无水 THF (6.0 mL)和乙基碘(1.0 mL, 12 mmol, 4 当量)充填单独的烧瓶。将混合物滴加到 NaH 的 THF 悬浮液中, 在 0 °C 剧烈搅拌。在搅拌 1 h 后, 将反应物温热到室温, 搅拌过夜。将反应物再次冷却到 0 °C 和非常慢地加入甲醇 (4 mL), 猝灭过量的氰化物。加入去离子水, 稀释混合物, 并减压除去甲醇。将杂质萃取到 90%乙酸乙酯-己烷中, 然后通过加入固体柠檬酸, 直至 pH 达到 2-3, 将水层酸化。产物萃取到 90% 乙酸乙酯-己烷中。干燥该有机层(Na_2SO_4)和过滤。减压除去溶剂, 得到定量产率的产物 b。

实施例 32



将未保护的氨基酸 a (775 mg, 7.24 mmol) 和碳酸钠 (1.69 g, 16.0 mmol) 的混合物溶解在 1:1 的去离子水和 THF (15 mL each) 溶液中。向该混合物加入 BOC-酐 b (1.73 g, 7.96 mmol)。将混合物室温搅拌过夜，减压除去 THF。然后使用饱和柠檬酸水溶液将混合物酸化到 pH 2-3，产物萃取到 10% 乙酸乙酯-二氯甲烷中。干燥有机层 (Na₂SO₄)，减压过滤并浓缩，得到清澈 BOC-保护的氨基酸 c (1.40 g, 6.7 mmol, 93%)，使用而无需纯化。

实施例 33 IAP 抑制作用测定法

在下列实验中使用被称为 MLXBIR3SG 的嵌合 BIR 结构域, 其中 110 个残基中有 11 个对应于在 XIAP-BIR3 中见到的那些, 其余对应于 ML-IAP-BIR。已经显示嵌合蛋白 LXBIR3SG 结合和抑制胱天蛋白酶-9 显著

好于天然 BIR 结构域，但是所结合的 Smac-类肽和成熟 Smac 具有与天然 ML-IAP-BIR 相似的亲和性。在转染到 MCF7 细胞中时，嵌合 BIR 结构域 MLXBIR3SG 的胱天蛋白酶-9 抑制作用提高已经与阿霉素-诱导的细胞凋亡的抑制作用增加有关连。

MLXBIR3SG 序列:

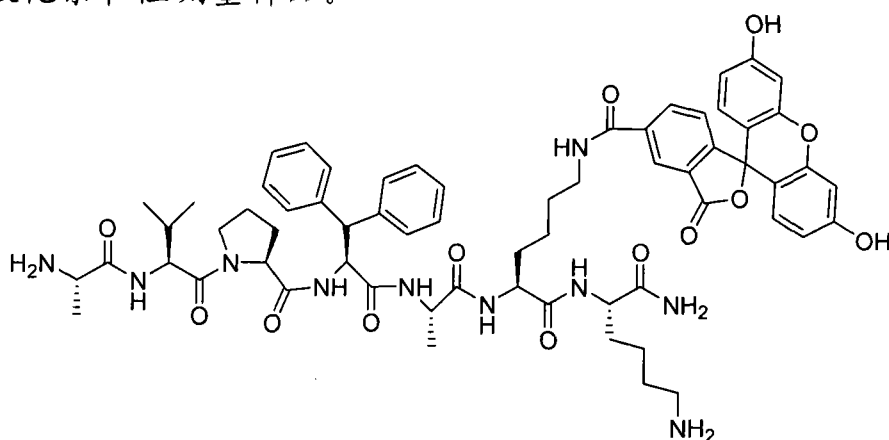
MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHMLETEEEEEEGAGATLSRGPAFPGMG
SEELRLASFYDWPLTAEVPPPELLAAAGFFHTGHQDKVRCFFCYGGLQSW
KRGDDPWTEHAKWFPGCQFLLRSGQEYINNIHLTHSL (SEQ ID NO.: 1)

TR-FRET 肽结合测定法

按照 Kolb 等的工艺 (Journal of Biomolecular Screening, 1996, 1(4): 203), 在 Wallac Victor2 Multilabeled Counter Reader (Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, Inc.) 上进行定时-解析的荧光共振能量转移竞争实验。在试剂缓冲液 (50mM Tris [pH 7.2], 120mM NaCl, 0.1% 牛球蛋白, 5mM DTT 和 0.05% 辛基糖苷) 中制备鸡尾酒试剂，其中含有 300nM his- 标记的 MLXBIR3SG、200nM 生物素基化 SMAC 肽 (AVPI)、5 μ g/mL 抗-his 别藻蓝蛋白 (XL665) (CISBio International) 和 200ng/mL 链霉抗生物素蛋白-铕 (Perkin Elmer) (作为替代选择，这种鸡尾酒试剂可以使用铕-标记的抗-His (Perkin Elmer) 和链霉抗生物素蛋白-别藻蓝蛋白 (Perkin Elmer) 制备，浓度分别为 6.5nM 和 25nM)。在室温下温育鸡尾酒试剂达 30 分钟。温育后，将鸡尾酒试剂加入到拮抗剂化合物 (起始浓度为 50 μ M) 在 384-孔黑色 FIA 平板 (Greiner Bio-One, Inc.) 中的 1:3 系列稀释液中。在室温下温育 90 分钟后，用滤光器读取荧光，铕的激发波长为 340nm，铕和别藻蓝蛋白的发射波长分别为 615nm 和 665nm。计算拮抗剂数据，为别藻蓝蛋白在 665nm 下的发射信号与铕在 615nm 下的发射信号之比 (这些比例乘以系数 10,000，以便数据处理)。将所得数值对拮抗剂浓度作图，利用 Kaleidograph 软件 (Synergy Software, Reading, PA) 带入 4-参数方程。从 IC₅₀ 值测定拮抗剂效力的指标。

荧光极化肽结合测定法

按照 Keating, S.M., Marsters, J, Beresini, M., Ladner, C., Zioncheck, K., Clark, K., Arellano, F., and Bodary, S.(2000) in *Proceedings of SPIE : In Vitro Diagnostic Instrumentation* (Cohn, G.E., Ed.) pp 128-137, Bellingham, WA 的工艺, 在 Analyst HT 96-384 (Molecular Devices Corp.)上进行极化实验。向 5-羧基荧光素-缀合的 AVPdi-Phe-NH₂ (AVP-diPhe-FAM)(最终浓度 5nM)加入 MLXBIR3SG 在极化缓冲液(50mM Tris [pH 7.2], 120mM NaCl, 1%牛球蛋白, 5mM DTT 和 0.05%辛基糖苷)中的 1:2 系列稀释液(始于 5 μ M 的最终浓度), 制备荧光极化亲和性测量样品。



AVP-diPhe-FAM 探针

在96-孔黑色HE96平板(Molecular Devices Corp.)中, 利用荧光素荧光团($\lambda_{\text{ex}} = 485\text{nm}$; $\lambda_{\text{em}} = 530\text{nm}$)的标准截留滤光器读取在室温下温育10分钟后的反应。将荧光数值对蛋白质浓度作图, 利用Kaleidograph软件(Synergy software, Reading, PA)将数据带入4-参数方程, 得到IC₅₀。向小孔加入30nM的MLXBIR3SG, 进行竞争实验, 小孔含有5nM AVP-diPhe-FAM探针以及拮抗剂化合物在极化缓冲液中的1:3系列稀释液(始于300 μ M的浓度)。温育10分钟后读取样品。将荧光极化值对拮抗剂浓度作图, 利用Kaleidograph软件(Synergy software, Reading, PA)将数据带入4-参数方程, 得到IC₅₀值。从IC₅₀值测定拮抗剂的抑制常数(K_i)。在本测定法中测试的本发明化合物表现小于100 μ M的 K_i 。例如化合物48的 K_i 为7.87, 化合物54的 K_i 为0.0556, 化合物56的 K_i 为0.0338和化合物60的 K_i 为0.1454。