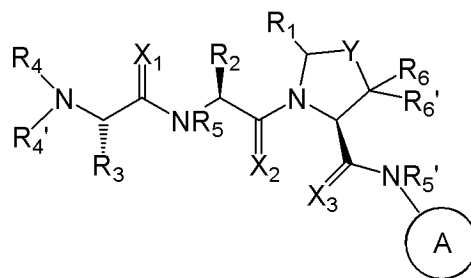


1. 式 I 化合物：



I

其中

X_1 、 X_2 和 X_3 独立为 O 或 S；

Y 为 $(CHR_7)_n$ 、O 或 S；其中 n 为 1 或 2，及 R_7 为 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、芳基氧基或芳烷基氧基；

A 为 6 元芳族环基团或包含 1-4 个杂原子的杂芳族环基团，其任选取代有氨基、羟基、巯基、卤素、羧基、脒基、胍基、烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、烷氧基羰基氨基、环烷基、烷基硫基、烷基亚磺酰基、烷基磺酰基、氨基磺酰基、烷基氨基磺酰基、烷基磺酰基氨基或杂环基团；其中每个烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、环烷基和杂环基团任选取代有羟基、卤素、巯基、羧基、烷基、烷氧基、卤代烷基、氨基、硝基、氰基、环烷基、芳基或杂环基团；

R_1 为 H，或 R_1 和 R_2 一起形成 5-8 元环；

R_2 为烷基、环烷基、环烷基烷基、芳基、芳烷基、杂环基团或杂环基烷基；每个基团任选取代有羟基、巯基、卤素、氨基、羧基、烷基、卤代烷基、烷氧基或烷基硫基；

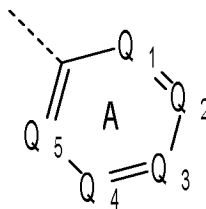
R_3 为 H 或烷基；

R_4 和 R_4' 独立为 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，其中每个烷基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂芳基和杂芳基烷基任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、烷氧基、氨基和硝基；

R_5 和 R_5' 各自独立为 H 或烷基；及

R_6 和 R_6' 各自独立为 H、烷基、芳基或芳烷基。

2. 权利要求 1 的化合物，其中环 A 具有式 II：



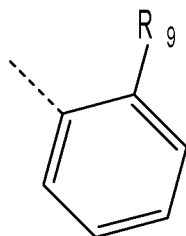
II

其中 Q_1 、 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 和 Q_5 独立为 CR_9 或 N；其中 R_9 为 H、氨基、羟基、巯基、卤素、羧基、脒基、胍基、烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、环烷基或杂环基团；其中每个烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、环烷基和杂环基团任选取代有羟基、卤素、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、氨基、硝基、环烷基、芳基或杂环基团。

3. 权利要求 2 的化合物，其中 Q_1 为 N，及 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 和 Q_5 各自为 CR_9 ；其中 R_9 为 H、氨基、

羟基、巯基、卤素、羧基、脒基、胍基、烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、环烷基或杂环基团；其中每个烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、环烷基和杂环基团任选取代有羟基、卤素、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、氨基、硝基、环烷基、芳基或杂环基团。

4. 权利要求 3 的化合物，其中环 A 具有式 II：



IIa

其中 R_9 为 H、氨基、羟基、巯基、卤素、羧基、脒基、胍基、烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、环烷基或杂环基团；其中每个烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、环烷基和杂环基团任选取代有羟基、卤素、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、氨基、硝基、环烷基、芳基或杂环基团。

5. 权利要求 1 的化合物，其中 R_1 和 R_2 一起形成 5-8 元环。

6. 权利要求 1 的化合物，其中 R_1 为 H。

7. 权利要求 1 的化合物，其中 R_2 为烷基或环烷基。

8. 权利要求 1 的化合物，其中 R_2 为异丙基、叔丁基或环己基。

9. 权利要求 1 的化合物，其中 R_3 为甲基。

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

11. 权利要求 1 的化合物，其中 R_5 和 R_5' 独立为 H 或甲基。

12. 权利要求 1 的化合物，其中 R_6 和 R_6' 独立为 H 或甲基。

13. 权利要求 1 的化合物，其中 X_1 、 X_2 和 X_3 各自为 O。

14. 权利要求 2 的化合物，其中 R_1 为 H； R_2 为异丙基、叔丁基或环己基； R_3 为甲基； R_4 为 H 或甲基，及 R_4' 为 H； R_5 和 R_5' 为 H 或甲基；及 X_1 、 X_2 和 X_3 为 O。

15. 在细胞中诱导细胞凋亡的方法，所述方法包括将权利要求 1 的化合物引入到所述细胞中。

16. 使细胞对细胞凋亡信号敏感的方法，所述方法包括将权利要求 1 的化合物引入到所述细胞中。

17. 权利要求 16 的方法，其中所述细胞凋亡信号通过使所述细胞与以下化合物接触来诱导，所述化合物选自阿糖胞苷、氟达拉滨、5-氟-2'-脱氧尿苷、吉西他滨、甲氨喋呤、博来霉素、顺铂、环磷酰胺、阿霉素（多柔比星）、米托蒽醌、喜树碱、托泊替康、秋水仙酰胺、秋水仙碱、紫杉醇、长春碱、长春新碱、他莫昔芬、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通过使所述细胞与 Apo2L/TRAIL 接触来诱导。

19. 对 IAP 蛋白与胱天蛋白酶蛋白的结合进行抑制的方法，所述方法包括使所述 IAP 蛋白与权利要求 1 的化合物接触。

20. 治疗癌症的方法，所述方法包括向所述哺乳动物给药有效量的权利要求 1 的化合物。

IAP 抑制剂

[0001] 优先权要求

[0002] 本申请要求 2008 年 8 月 2 日提交的美国临时申请 61/085,844 的优先权,将其内容引入本申请作为参考。

技术领域

[0003] 本发明涉及可用于在哺乳动物中进行治疗和 / 或预防的有机化合物,且具体涉及可用于治疗癌症的 IAP 蛋白抑制剂。

背景技术

[0004] 细胞凋亡 (apoptosis) 或程序性细胞死亡 (programmed cell death) 是遗传和生物化学调节的机理,其在无脊椎动物 (invertebrate) 及脊椎动物 (vertebrate) 的发育和稳态中起重要作用。已经将导致未成熟细胞死亡的细胞凋亡异常与各种发育障碍 (developmental disorder) 联系起来。已经将引起细胞死亡不足的细胞凋亡缺乏 (deficiency in apoptosis) 与癌症和慢性病毒感染联系起来 (Thompson et al., (1995) Science 267,1456-1462)。

[0005] 细胞凋亡中的一种关键效应分子 (effectormolecule) 是胱天蛋白酶 (caspase) (含有半胱氨酸的天冬氨酸特异性蛋白酶)。胱天蛋白酶是强蛋白酶,其在天冬氨酸残基后进行断裂,且一旦被活化就消化来自细胞内的活细胞蛋白质 (vital cell protein)。因为胱天蛋白酶是如此强的蛋白酶,所以对该家族蛋白质的紧密控制对于预防未成熟细胞死亡而言是必需的。一般而言,胱天蛋白酶被合成为主要无活性酶原 (largely inactive zymogen),所述酶原需要蛋白酶解加工 (proteolytic processing) 以便具有活性。该蛋白酶解加工仅是对胱天蛋白酶进行调节的途径中的一种。第二种机理是通过与胱天蛋白酶结合并对胱天蛋白酶进行抑制的一类蛋白质来进行的。

[0006] 抑制胱天蛋白酶的一类分子是细胞凋亡抑制剂 (Inhibitor of Apoptosis, IAP)。IAP 由于它们的代替 P35 蛋白 (一种抗细胞凋亡基因) 的功能能力而最初在杆状病毒 (baculovirus) 中发现 (Crook et al. (1993) J Virology 67,2168-2174)。已经就生物 (从果蝇 (*Drosophila*) 到人类) 描述了 IAP。不考虑 IAP 的起源, IAP 在结构上包含一至三个杆状病毒 IAP 重复 (Baculovirus IAP repeat, BIR) 结构域,所述结构域中的大多数还具有羧基末端 RING 指基序 (RING finger motif)。BIR 结构域本身是具有约 70 个残基的与锌结合的结构域,其包含 4 个 α 螺旋和 3 个 β 链 (beta strand) 及与锌离子配位的半胱氨酸和组氨酸残基 (Hinds et al., (1999) Nat. Struct. Biol. 6,648-651)。该结构域是 BIR 结构域,其被认为通过抑制胱天蛋白酶由此抑制细胞凋亡从而产生抗细胞凋亡作用。举例而言,与人 X 染色体关联的 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 被 XIAP 的 BIR2 结构域抑制,而 XIAP 的 BIR3 结构域负责对胱天蛋白酶 9 活性进行抑制。XIAP 在大多数成人组织和胎儿组织中普遍表达 (Liston et al, Nature, 1996, 379 (6563) :

349),且在NCI 60细胞系名单中的多种肿瘤细胞系中过表达 (Fong et al, Genomics, 2000, 70:113; Tamm et al, Clin. Cancer Res. 2000, 6(5):1796)。已经证明 XIAP 在肿瘤细胞中的过表达提供了对抗各种促细胞凋亡刺激物 (pro-apoptotic stimuli) 的保护且促进对化学治疗的耐受 (LaCasse et al, Oncogene, 1998, 17(25):3247)。与此一致的是,对于患有急性骨髓性白血病 (acute myelogenous leukemia) 的患者而言已经证明了在 XIAP 蛋白水平和存活之间的强相关 (Tamm et al, supra)。已经显示不论是在体外还是在体内,由反义寡核苷酸引起的 XIAP 表达下调都使肿瘤细胞对宽范围的促细胞凋亡剂 (pro-apoptotic agent) 所诱导的死亡敏感 (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)。也已经证明 Smac/DIABLO 衍生的肽使多种不同的肿瘤细胞系对各种促细胞凋亡药 (pro-apoptotic drug) 所诱导的细胞凋亡敏感 (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)。

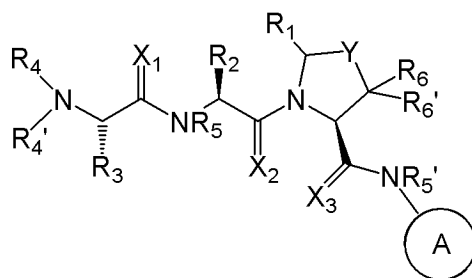
[0007] 黑素瘤 IAP (Melanoma IAP, ML-IAP) 在大多数正常成人组织中是检测不到的,但在黑素瘤 (melanoma) 中是强烈上调的 (Vucic et al., (2000) Current Bio10:1359-1366)。蛋白质结构的确定证明了 ML-IAP BIR 和 RING 指结构域与存在于人 XIAP、C-IAP1 和 C-IAP2 中的相关结构域具有显著的同源性。ML-IAP 的 BIR 结构域与 XIAP、C-IAP1 和 C-IAP2 的 BIR2 和 BIR3 具有最大的相似性,且如缺失分析 (deletional analysis) 所确定的那样,似乎负责对细胞凋亡进行抑制。此外, Vucic et al., 证明了 ML-IAP 可抑制化学治疗剂诱导的细胞凋亡。在过表达 ML-IAP 的黑素瘤的细胞培养系统中测试了例如阿霉素和 4-叔丁基苯酚 (4-TBP) 那样的药物,且当与正常黑素细胞 (melanocyte) 对照进行比较时,所述化学治疗剂在杀死细胞方面不是显著有效的。ML-IAP 产生抗细胞凋亡活性的机理部分地是通过对抗天蛋白酶 3 和 9 进行抑制来实现的。ML-IAP 没有有效地抑制抗天蛋白酶 1、2、6 或 8。

[0008] 因为细胞凋亡是具有多种相互作用因素的严格控制的途径,所以对 IAP 本身进行调节这一发现是不寻常的。在果蝇中, Reaper (rpr) 蛋白、Head Involution Defective (hid) 蛋白和 GRIM 蛋白与果蝇的 IAP 家族发生物理上的相互作用并抑制所述 IAP 果蝇家族的抗细胞凋亡活性。在哺乳动物中,蛋白质 SMAC/DIABLO 发挥作用以阻断 IAP,由此使细胞凋亡得以进行。所显示的是,在正常细胞凋亡期间,SMAC 被加工成活性形式,且从线粒体释放到细胞质中,在细胞质中其与 IAP 发生物理上的结合,且防止 IAP 与抗天蛋白酶的结合。对 IAP 的这种抑制使抗天蛋白酶保持活性,由此继续进行细胞凋亡。有趣的是, IAP 抑制剂之间的序列同源性显示,在经加工的活性蛋白质的 N 末端存在由四个氨基酸组成的基序。该四肽似乎结合到 BIR 结构域的疏水口袋 (hydrophobic pocket) 中,且瓦解 BIR 结构域与抗天蛋白酶的结合 (Chai et al., (2000) Nature 406:855-862, Liu et al., (2000) Nature 408:1004-1008, Wu et al., (2000) Nature 408:1008-1012)。

发明内容

[0009] 本发明一个方面提供 IAP 蛋白的具有通式 (I) 的新颖抑制剂及其盐和溶剂化物:

[0010]



I

[0011] 其中

[0012] X_1 、 X_2 和 X_3 独立为 0 或 S；

[0013] Y 为 $(\text{CHR}_7)_n$ 、O 或 S；其中 n 为 1 或 2，及 R_7 为 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、芳基氧基或芳烷基氧基；

[0014] A 为 6 元芳族环基团或包含 1-4 个杂原子的杂芳族环基团, 其任选取代有氨基、羟基、巯基、卤素、羧基、脒基、胍基、烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、烷氧基羰基氨基、环烷基、烷基硫基、烷基亚磺酰基、烷基磺酰基、氨基磺酰基、烷基氨基磺酰基、烷基磺酰基氨基或杂环基团; 其中每个烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、环烷基和杂环基团任选取代有羟基、卤素、巯基、羧基、烷基、烷氧基、卤代烷基、氨基、硝基、氰基、环烷基、芳基或杂环基团;

[0015] R_1 为 H, 或 R_1 和 R_2 一起形成 5-8 元环;

[0016] R_2 为烷基、环烷基、环烷基烷基、芳基、芳烷基、杂环基团或杂环基烷基；每个基团任选取代有羟基、巯基、卤素、氨基、羧基、烷基、卤代烷基、烷氧基或烷基硫基；

[0017] R_3 为 H 或烷基；

[0018] R_4 和 R_4' 独立为 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, 其中每个烷基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂芳基和杂芳基烷基任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、烷氧基、氨基和硝基;

[0019] R_5 和 R_5' 各自独立为 H 或烷基；

[0020] R_6 和 R_6' 各自独立为 H、烷基、芳基或芳烷基。

[0021] 本发明另一个方面提供了组合物,其包含式 I 化合物和载体、稀释剂或赋形剂。

[0022] 本发明另一个方面提供了在细胞中诱导细胞凋亡的方法,所述方法包括将式 I 化合物引入到所述细胞中。

[0023] 本发明另一个方面提供了使细胞对细胞凋亡信号敏感的方法,所述方法包括将式 I 化合物引入到所述细胞中。

[0024] 本发明另一个方面提供了对 IAP 蛋白与胱天蛋白酶蛋白的结合进行抑制的方法, 所述方法包括使所述 IAP 蛋白与式 I 化合物接触。

[0025] 本发明另一个方面提供了在哺乳动物中治疗与 IAP 蛋白的过表达相关的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述哺乳动物给药有效量的式 I 化合物。

具体实施方式

[0026] “酰基”是指含有取代基的羰基,由式 $-C(O)-R$ 所表示,其中 R 为 H;烷基;碳环基团;杂环基团;碳环基团取代的烷基;或杂环基团取代的烷基,其中所述烷基、烷氧基、碳环

基团和杂环基团如在本申请所定义。酰基包括烷基酰基（例如乙酰基）、芳酰基（例如苯甲酰基）和杂芳酰基。

[0027] 除非另有说明，“烷基”是指具有至多 12 个碳原子的、支链或非支链的、饱和或不饱和（即烯基、炔基）的脂肪族烃基。当用作另一术语例如“烷基氨基”的部分时，所述烷基部分优选是饱和的烃链，然而也包括不饱和的烃碳链，例如“烯基氨基”和“炔基氨基”。优选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“具有 1 至 4 个碳原子的烷基”是同义的，且可交换使用，是指甲基、乙基、1-丙基、异丙基、环丙基、1-丁基、仲丁基或叔丁基。除非有说明，取代的烷基可含有例如一个（优选地）、两个、三个或四个取代基，所述取代基可以相同或不同。上述取代的烷基的实例包括但不限于氰基甲基、硝基甲基、羟基甲基、三苯甲基氧基甲基、丙酰基氧基甲基、氨基甲基、羧基甲基、羧基乙基、羧基丙基、烷基氧基羰基甲基、烯丙基氧基羰基氨基甲基、氮甲酰基氧基甲基、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-羟基己基、2,4-二氯（正丁基）、2-氨基（异丙基）、2-氮甲酰基氧基乙基等。烷基还可被碳环基团取代。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及相应的 - 乙基、- 丙基、- 丁基、- 戊基、- 己基等。优选的取代的烷基为取代的甲基，例如被与就“取代的 C_n-C_m 烷基”所述相同的取代基取代的甲基。取代的甲基的实例包括基团如羟基甲基、经保护的羟基甲基（例如四氢吡喃基氧基甲基）、乙酰氧基甲基、氮甲酰基氧基甲基、三氟甲基、氯甲基、羧基甲基、溴甲基和碘甲基。

[0028] “脒基团 (Amidine)”是指 $-C(NH)-NHR$ 基团，其中 R 为 H；烷基；碳环基团；杂环基团；碳环基团取代的烷基；或杂环基团取代的烷基，其中所述烷基、烷氧基、碳环基团和杂环基团如在本申请所定义。具体的脒基团为基团 $-C(NH)-NH_2$ 。

[0029] “氨基 (amino)”是指伯胺基团（即 $-NH_2$ ）、仲胺基团（即 $-NRH$ ）和叔胺基团（即 $-NRR$ ），其中 R 为 H、烷基；碳环基团；杂环基团；碳环基团取代的烷基；或杂环基团取代的烷基，其中所述烷基、烷氧基、碳环基团和杂环基团如在本申请所定义。具体的仲胺基团和叔胺基团为烷基胺基团、二烷基胺基团、芳基胺基团、二芳基胺基团、芳烷基胺基团和二芳烷基胺基团，其中所述烷基如在本申请所定义且任选被取代。具体的仲胺基团和叔胺基团为甲胺基团、乙胺基团、丙胺基团、异丙胺基团、苯胺基团、苄胺基团、二甲胺基团、二乙胺基团、二丙胺基团和二异丙胺基团。

[0030] 在本申请中使用的“氨基保护基”是指氨基的衍生基团，当反应在化合物的其它官能团上进行时，所述衍生基团通常用来封闭 (block) 或保护氨基。所述保护基的实例包括氨基甲酸酯基团、酰胺基团、烷基和芳基、亚氨基基团及多种 N-杂原子衍生基团，这些保护基可被除去以重新产生所期望的胺基团。具体的氨基保护基为 Boc（叔丁氧基羰基）、Fmoc（芴甲氧羰基）和 Cbz（苄氧羰基）。保护基的其它实例参见 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“经保护的氨基”是指取代有上述氨基保护基中的一个的氨基。

[0031] 当单独使用或作为另一术语的部分使用时,“芳基”是指具有指定碳原子数目或在数目未指定时具有至多 14 个碳原子的、稠合或非稠合的碳环芳香基团。具体的芳基为苯基、萘基、联苯基、菲基、蒽基等(参见例如 Lang's Handbook of Chemistry (Dean, J. A., ed) 13th ed. Table 7-2[1985])。具体的芳基为苯基。取代的苯基或取代的芳基是指被一个、两个、三个、四个或五个例如 1-2 个、1-3 个或 1-4 个取代基取代的苯基或芳基,除非另有说明,所述取代基选自卤素(F、Cl、Br、I)、羟基、经保护的羟基、氰基、硝基、烷基(例如 C₁-C₆ 烷基)、烷氧基(例如 C₁-C₆ 烷氧基)、苄基氧基、羧基、经保护的羧基、羧基甲基、经保护的羧基甲基、羟基甲基、经保护的羟基甲基、氨基甲基、经保护的氨基甲基、三氟甲基、烷基磺酰基氨基、烷基磺酰基氨基烷基、芳基磺酰基氨基、芳基磺酰基氨基烷基、杂环基磺酰基氨基、杂环基磺酰基氨基烷基、杂环基、芳基或其它特定的基团。这些取代基中的一个或多个次甲基(CH)和/或亚甲基(CH₂)又可随后被与上文所示类似的基团取代。术语“取代的苯基”的实例包括但不限于单(卤代)苯基或二(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(羟基)苯基或二(羟基)苯基,例如 4-羟基苯基、3-羟基苯基、2,4-二羟基苯基、它们的羟基经保护的衍生基团等;硝基苯基,例如 3-硝基苯基或 4-硝基苯基;氰基苯基,例如 4-氰基苯基;单(低级烷基)苯基或二(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(烷氧基)苯基或二(烷氧基)苯基,例如 3,4-二甲氧基苯基、3-甲氧基-4-苄基氧基苯基、3-甲氧基-4-(1-氯甲基)苄基氧基-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;3-三氟甲基苯基或 4-三氟甲基苯基;单羧基苯基或二羧基苯基或单(经保护的羧基)苯基或二(经保护的羧基)苯基,例如 4-羧基苯基;单(羟基甲基)苯基或二(羟基甲基)苯基或单(经保护的羟基甲基)苯基或二(经保护的羟基甲基)苯基,例如 3-(经保护的羟基甲基)苯基或 3,4-二(羟基甲基)苯基;单(氨基甲基)苯基或二(氨基甲基)苯基或单(经保护的氨基甲基)苯基或二(经保护的氨基甲基)苯基,例如 2-(氨基甲基)苯基或 2,4-二(经保护的氨基甲基)苯基;或单(N-(甲基磺酰基)氨基)苯基或二(N-(甲基磺酰基)氨基)苯基,例如 3-(N-(甲基磺酰基)氨基)苯基。术语“取代的苯基”也表示取代基是不同的二取代的苯基,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,及取代基是不同的三取代的苯基,所述取代基为例如 3-甲氧基-4-苄基氧基-6-甲基磺酰基氨基、3-甲氧基-4-苄基氧基-6-苯基磺酰基氨基,及取代基是不同的四取代的苯基,所述取代基为例如 3-甲氧基-4-苄基氧基-5-甲基-6-苯基磺酰基氨基。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-苄基氧基苯基、4-甲氧基苯基、3-乙氧基-4-苄基氧基苯基、3,4-二乙氧基苯基、3-甲氧基-4-苄基氧基苯基、3-甲氧基-4-(1-氯甲基)苄基氧基-苯基、3-甲氧基-4-(1-氯甲基)苄基氧基-6-甲基磺酰基氨基苯基。稠合的芳基环也可按与取代的烷基相同的方式被在本申请中具体说明的任何(例如 1、2 或 3 个)取代基取代。

[0032] “碳环基(carbocyclyl)”、“碳环的(carbocyclic)”、“碳环基团(carbocycle)”和“碳环(carbocyclo)”,当单独使用或作为复杂基团(例如碳环烷基)的部分使用时,是指

具有 3 至 14 个碳原子例如 3 至 7 个碳原子的单环、二环或三环脂肪族环基团,其可以是饱和的或不饱和的、芳香的或非芳香的。具体的饱和的碳环基团为环丙基、环丁基、环戊基和环己基。具体的饱和的碳环基团为环丙基。另一种具体的饱和的碳环基团为环己基。具体的不饱和的碳环基团是芳香性的,例如先前定义的芳基,例如苯基。术语“取代的碳环基”、“取代的碳环基团”和“取代的碳环”是指被与就“取代的烷基”所述相同的取代基取代的这些基团。

[0033] 在本申请中使用的“羧基保护基”是指羧酸基团的酯衍生基团,当反应在化合物的其它官能团上进行时,所述酯衍生基团通常用来封闭或保护羧酸基团。所述羧酸保护基的实例包括 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-亚甲基二氧基苄基、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、肉桂酰基、1-(三甲基甲硅烷基甲基)丙-1-烯-3-基等。所使用的羧基保护基的种类不是关键的,只要经衍生的羧酸对于随后在分子其它位置进行反应(或多步反应)的条件是稳定的,且可在适当的时候被除去而不瓦解分子的其余部分。具体地,重要的是不使羧基经保护的分子与强亲核性碱(例如氢氧化锂或 NaOH)接触或使用高度活化金属氢化物(例如 LiAlH_4)的还原性条件接触。(当除去氨基保护基和下文讨论的羟基保护基时,也要避免过于苛刻的除去条件)。具体的羧酸保护基是烷基(例如甲基、乙基、叔丁基)、烯丙基、苄基和对硝基苄基。在头孢菌素、青霉素和肽领域中使用的类似羧基保护基也可用来保护羧基取代基。所述保护基的其它实例参见 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“经保护的羧基”是指被上述羧基保护基之一取代的羧基。

[0034] “胍基团”是指基团 -NH-C(NH)-NHR , 其中 R 为 H、烷基、碳环基团、杂环基团、碳环基团取代的烷基或杂环基团取代的烷基, 其中所述烷基、烷氧基、碳环基团和杂环基团如在本申请所定义。具体的胍基团是基团 -NH-C(NH)-NH_2 。

[0035] 在本申请中使用的“羟基保护基”是指羟基的衍生基团,当反应在化合物的其它官能团上进行时,所述衍生基团通常用来封闭或保护羟基。所述保护基的实例包括四氢吡喃基氧基、苯甲酰基、乙酰氧基、氨甲酰基氧基、苄基和甲硅烷基醚基团(例如 TBS、TBDPS)。所述保护基的其它实例参见 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“经保护的羟基”是指被上述羟基保护基之一取代的羟基。

[0036] “杂环基团”、“杂环的”、“杂环基团 (heterocycle)”、“杂环基”或“杂环 (heterocyclo)”,当单独使用或作为复合基团(例如杂环烷基)的部分使用时,可交换使用,且是指具有指定原子数目通常为 5 至约 14 个环原子的,单环、二环或三环的,饱和的或不饱和的,芳族的(杂芳基)或非芳族的任何环基团,其中环原子为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 元环基团具有 0 至 2 个双键,而 6 或 7 元环基团具有 0 至 3 个双键,且氮或硫杂原子可任选被氧化(例如 SO、SO₂),及任何氮杂原子可任选被季铵化。具体的非芳族的杂环基团为吗啉基(吗啉代)、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(thiiranyl)、硫杂环丁烷基(thietanyl)、四氢硫杂环丁烷基(tetrahydrothietanyl)、氮丙啶基、氮杂环丁烷基、1-甲基-吡咯-2-基、哌嗪基和哌啶基。“杂环烷基”是如上定义的杂环基团,所述杂环基团与如上定义的烷基共价结合。具体的含有硫或氧原子和一至三个氮原子的 5 元杂环基团为噻唑基,具体为噻唑-2-基和 N-氧化-噻唑-2-基;噻二唑基,具体为 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 元环杂环基团包括咪唑基,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。具体的与苯稠合的 5 元杂环基团为苯并噁唑-2-基、苯并噻唑-2-基和苯并咪唑-2-基。具体的 6 元杂环基团含有一至三个氮原子及任选含有硫或氧原子,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,具体为哒嗪-3-基;及吡嗪基。N-氧化-吡啶基团和 N-氧化-哒嗪基团及吡啶基、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。就“任选取代的杂环基团”及上文讨论的 5 和 6 元环系基团的其它实例而言的取代基可参见 W. Druckheimer et al., 的美国专利 4,278,793。在具体实施方案中,所述任选取代的杂环基团被以下基团取代: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、脒基或胍基。

[0037] “杂芳基”,当单独使用或作为复合基团(例如杂芳烷基)的部分使用时,是指具有指定原子数目的任何单环、二环或三环芳族环系基团,其中至少一个环是含有一至四个杂原子的 5、6 或 7 元环,所述杂原子选自氮、氧和硫,且在具体实施方案中,至少一个杂原子为氮(Lang's Handbook of Chemistry,如上所述)。在所述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。具体的杂芳基含有氮或氧杂原子。以下环系基团是术语“杂芳基”表示的杂芳基的实例(无论是取代的还是未取代的):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]哒嗪基和嘌呤基及与苯稠合的衍生基团例如苯并噁唑基、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。具体的“杂芳基”为 1,3-噻唑-2-基、4-(羧基甲基)-5-甲基-1,3-噻唑-2-基、其中成钠盐的 4-(羧基甲基)-5-甲基-1,3-噻唑-2-基、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、其

中成钠盐的 2- 羧基 -4- 甲基 -1,3,4- 三唑 -5- 基、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- 巯基 -1,3,4- 噻二唑 -5- 基、2-(甲基硫基)-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-(二甲基氨基) 乙 -2- 基)-1H- 四唑 -5- 基、1-(羧基甲基)-1H- 四唑 -5- 基、其中成钠盐的 1-(羧基甲基)-1H- 四唑 -5- 基、1-(磺基甲基)-1H- 四唑 -5- 基、其中成钠盐的 1-(磺基甲基)-1H- 四唑 -5- 基、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、N- 氧化 - 吡啶 -2- 基、6- 甲氧基 -2-(N- 氧化)- 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- 二氧化 -4- 甲基 - 偏三嗪 -3- 基 (1,4,5,6-tetrahydro-5,6-dioxo-4-methyl-as-triazin-3-yl)、1,4,5,6- 四氢 -4-(甲酰基甲基)-5,6- 二氧化 - 偏三嗪 -3- 基、2,5- 二氢 -5- 氧代 -6- 羟基 - 偏三嗪 -3- 基、其中成钠盐的 2,5- 二氢 -5- 氧代 -6- 羟基 - 偏三嗪 -3- 基、其中成钠盐的 2,5- 二氢 -5- 氧代 -6- 羟基 -2- 甲基 - 偏三嗪 -3- 基、2,5- 二氢 -5- 氧代 -6- 羟基 -2- 甲基 - 偏三嗪 -3- 基、2,5- 二氢 -5- 氧代 -6- 甲氧基 -2- 甲基 - 偏三嗪 -3- 基、2,5- 二氢 -5- 氧代 - 偏三嗪 -3- 基、2,5- 二氢 -5- 氧代 -2- 甲基 - 偏三嗪 -3- 基、2,5- 二氢 -5- 氧代 -2,6- 二甲基 - 偏三嗪 -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”的可选择基团包括 4-(羧基甲基)-5- 甲基 -1,3- 噻唑 -2- 基、其中成钠盐形式的 4-(羧基甲基)-5- 甲基 -1,3- 噻唑 -2- 基、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-(二甲基氨基) 乙 -2- 基)-1H- 四唑 -5- 基、1-(羧基甲基)-1H- 四唑 -5- 基、其中成钠盐形式的 1-(羧基甲基)-1H- 四唑 -5- 基、1-(磺基甲基)-1H- 四唑 -5- 基、其中成钠盐形式的 1-(磺基甲基)-1H- 四唑 -5- 基、1,2,3- 三唑 -5- 基、1,4,5,6- 四氢 -5,6- 二氧化 -4- 甲基 - 偏三嗪 -3- 基、1,4,5,6- 四氢 -4-(2- 甲酰基甲基)-5,6- 二氧化 - 偏三嗪 -3- 基、其中成钠盐形式的 2,5- 二氢 -5- 氧代 -6- 羟基 -2- 甲基 - 偏三嗪 -3- 基、2,5- 二氢 -5- 氧代 -6- 羟基 -2- 甲基 - 偏三嗪 -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。杂芳基任选如就杂环基团所述那样被取代。

[0038] “抑制剂”是指这样的化合物，所述化合物减少或防止 IAP 蛋白与胱天蛋白酶蛋白的结合，或减少或防止 IAP 蛋白对细胞凋亡的抑制。可供选择地，“抑制剂”是指这样的化合物，所述化合物防止 CIAP-1, C-IAP-2, X-IAP 与胱天蛋白酶的结合相互作用或 ML-IAP 与 SMAC 的结合相互作用。

[0039] 除非另有说明，“任选取代”是指基团可以是未取代的，或被一个或多个（例如 0、1、2、3 或 4 个）就该基团列出的取代基取代，其中所述取代基可以相同或不同。在一实施方案中，任选取代的基团具有 1 个取代基。在另一实施方案中，任选取代的基团具有 2 个取代基。在另一实施方案中，任选取代的基团具有 3 个取代基。

[0040] “药用盐”包括酸加成盐和碱加成盐二者。“药用酸加成盐”是指保持游离碱的生物学有效性和性质且不是生物学或其它方面不期望的那些盐，所述盐用无机酸形成，所述无机酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、碳酸、磷酸等；及所述盐用有机酸形成，所述有机酸可选自脂肪族类、环脂肪族类、芳族类、芳脂肪族类 (araliphatic)、杂环类、羧酸类和磺酸类

有机酸,如甲酸、乙酸、丙酸、羟乙酸、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、枸橼酸、天冬氨酸、抗坏血酸、谷氨酸、邻氨基苯甲酸 (anthranilic acid)、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、双羟萘酸 (embonic acid)、苯乙酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸等。

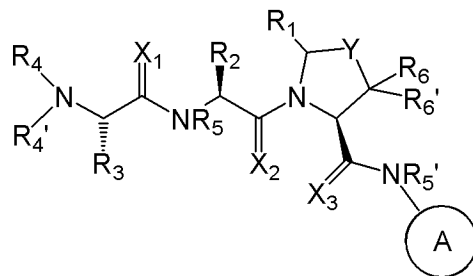
[0041] “药用碱加成盐”包括从无机碱衍生的那些盐,例如钠盐、钾盐、锂盐、铵盐、钙盐、镁盐、铁盐、锌盐、铜盐、锰盐、铝盐等。具体的碱加成盐为铵盐、钾盐、钠盐、钙盐和镁盐。从药用有机无毒碱衍生的盐包括以下物质的盐:伯胺、仲胺、叔胺、取代的胺包括天然存在的取代的胺、环状胺和碱性离子交换树脂(basic ion exchange resin),例如异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、2-二乙基氨基乙醇、氨基丁三醇(trimethamine)、二环己胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、哈胺(hydrabamine)、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡糖胺、甲基葡糖胺、可可碱(theobromine)、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶、聚胺树脂等。具体的有机无毒碱为异丙胺、二乙胺、乙醇胺、氨基丁三醇、二环己胺、胆碱和咖啡因。

[0042] “磺酰基”是指 $-\text{SO}_2-\text{R}$ 基团, 其中 R 为 H、烷基、碳环基团、杂环基团、碳环基团取代的烷基或杂环基团取代的烷基, 其中所述烷基、烷氧基、碳环基团和杂环基团如在本申请所定义。具体的磺酰基为烷基磺酰基 (即烷基 $-\text{SO}_2-$), 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。

[0043] 本申请使用的短语“或其盐或溶剂化物”是指本发明化合物可按盐或溶剂化物形式之一或混合物存在。例如,本发明化合物可为基本纯的具体盐或溶剂化物形式或可为两种或多种盐或溶剂化物形式的混合物。

[0044] 本发明提供了具有通式 I 的新颖化合物：

[0045]



I

[0046] 其中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 Y 、 A 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_4' 、 R_5 、 R_5' 、 R_6 和 R_6' 如本申请所定义。

[0047] 在具体实施方案中,式 I 化合物不是:

[0048] L-丙氨酰-L-缬氨酰-N-苯基-L-脯氨酰胺；

[0049] L-丙氨酰-L-苯基丙氨酰-N-(4-硝基苯基)-L-脯氨酰胺；

[0050] L-丙氨酰-L-丙氨酰-N-(4-硝基苯基)-L-脯氨酰胺；

[0051] N-乙酰基-L-丙氨酰-L-苯基丙氨酰-N-(2-氯-吡啶-3-基)-L-脯氨酰胺；

[0052] L-丙氨酰-L-丙氨酰-N-(4-硝基苯基)-L-脯氨酰胺;

[0053] N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙氨酰-L-丙氨酰-N-[2-[[(苯基氨基)羧基]氧基]苯基]-L-脯氨酰胺；

[0054] N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙氨酰-L-丙氨酰-N-[4-[[[(1-甲基乙基)氨基]羰基]氧基]苯基]-L-脯氨酰胺；

[0055] N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙氨酰-L-丙氨酰-N-[4-[(二甲基氨基)羰基]氧基]苯基]-L-脯氨酰胺;

[0056] N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙氨酰-L-丙氨酰-N-[4-[(苯基氨基)羰基]氧基]苯基]-L-脯氨酰胺;

[0057] N-(3-羧基-1-氧代丙基)-L-丙氨酰-L-丙氨酰-N-(4-硝基苯基)-L-脯氨酰胺;和

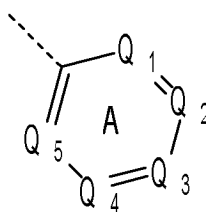
[0058] N-[(苯基甲氧基)羰基]-L-丙氨酰-L-丙氨酰-N-(4-硝基苯基)-L-脯氨酰胺。

[0059] X_1 和 X_2 各自独立为 0 或 S。在优选实施方案中, X_1 和 X_2 都为 0。在另一个优选实施方案中, X_1 和 X_2 都是 S。在另一个优选实施方案中, X_1 为 S, 同时 X_2 为 0。在另一个优选实施方案中, X_1 为 0, 同时 X_2 为 S。

[0060] Y 为 $(\text{CHR}_7)_n$, 0 或 S; 其中 n 为 1 或 2, 及 R_7 为 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、芳基氧基或芳烷基氧基。在具体实施方案中, Y 为 CH_2 。在具体实施方案中, n 为 1。在具体实施方案中, n 为 1, 及 Y 为 CHR_7 , 其中 R_7 为芳烷基氧基例如苄基氧基。在具体实施方案中, n 为 1, 及 Y 为 CHR_7 , 其中 R_7 为 F。在具体实施方案中, n 为 1, 及 Y 为 CHR_7 , 其中 R_7 为芳烷基氨基例如苄基氨基。在另一个具体实施方案中, Y 为 0。在另一个具体实施方案中, Y 为 S。

[0061] 环'A'为 6 元芳族环或包含 1-4 个氮杂原子的杂芳族环, 其任选取代有氨基、羟基、巯基、卤素、羧基、脒基、胍基、烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、烷氧基羰基氨基、环烷基、烷基硫基、烷基亚磺酰基、烷基磺酰基、氨基磺酰基、烷基氨基磺酰基、烷基磺酰基氨基或杂环基团; 其中每个烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、环烷基和杂环基团任选取代有羟基、卤素、巯基、羧基、烷基、烷氧基、卤代烷基、氨基、硝基、氰基、环烷基、芳基或杂环基团。在一个实施方案中, 环 A 任选取代有氨基、羟基、巯基、卤素、羧基、脒基、胍基、烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、环烷基或杂环基团; 其中每个烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、环烷基和杂环基团任选取代有羟基、烷氧基、卤素、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、氨基、硝基、环烷基、芳基或杂环基团。在具体实施方案中, 环 A 为如上所述任选取代的 6 元芳族环。在具体实施方案中, 环 A 为具有 1 个氮杂原子并如上所述任选取代的 6 元杂芳族环。在具体实施方案中, 环 A 为具有 2 个氮杂原子并如上所述任选取代的 6 元杂芳族环。在具体实施方案中, 环 A 具有式 II:

[0062]



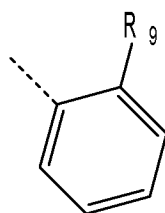
II

[0063] 其中 Q_1 、 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 和 Q_5 独立为 CR_9 或 N; 其中 R_9 为 H、氨基、羟基、巯基、卤素、羧基、脒基、胍基、烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、环烷基或杂环基团; 其中每个烷基、烷氧基、芳基、芳基氧基、酰基、酰基氧基、酰基氨基、环烷基和杂环基团任选取代有羟基、卤素、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、氨基、硝基、环烷基、芳基或杂环基团。在具

体实施方案中,环 A 为式 II 基团,其中 Q_4 为 CR_9 ,其中 R_9 为芳基或杂芳基,其如上所述任选被取代。在具体实施方案中,环 A 为式 II 基团,其中 Q_1 、 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 和 Q_5 各自为 CR_9 ,其中每个 R_9 是独立的并如上所定义。在具体实施方案中,环 A 为式 II 基团,其中 Q_1 为 N,及 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 和 Q_5 各自独立为 CR_9 。在另一个实施方案中,环 A 为式 II 基团,其中 Q_2 为 N,及 Q_1 、 Q_3 、 Q_4 和 Q_5 各自独立为 CR_9 。在另一个实施方案中,环 A 为式 II 基团,其中 Q_3 为 N,及 Q_1 、 Q_2 、 Q_4 和 Q_5 各自独立为 CR_9 。在另一个实施方案中,环 A 为式 II 基团,其中 Q_1 和 Q_3 都为 N,及 Q_2 、 Q_4 和 Q_5 各自独立为 CR_9 。在另一个实施方案中,环 A 为式 II 基团,其中 Q_1 和 Q_4 都为 N,及 Q_2 、 Q_3 和 Q_5 各自独立为 CR_9 。在另一个实施方案中,环 A 为式 II 基团,其中 Q_1 和 Q_5 都为 N,及 Q_2 、 Q_3 和 Q_4 各自独立为 CR_9 。在另一个实施方案中,环 A 为式 II 基团,其中 Q_2 和 Q_4 都为 N,及 Q_1 、 Q_3 和 Q_5 各自独立为 CR_9 。在另一个实施方案中,环 A 为式 II 基团,其中 Q_1 、 Q_3 和 Q_5 各自为 N,及 Q_2 和 Q_4 都独立为 CR_9 。

[0064] 在另一个实施方案中,环 A 为苯基,其任选取代有卤素、羟基、烷基、烷氧基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂环基团或杂环基团-烷基,所述取代基任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、氨基、硝基、芳基或杂芳基。在一个实施方案中,环 A 为取代有芳基或杂芳基的苯基,其中所述芳基和杂芳基任选取代有羟基、卤素、烷基和烷氧基。在具体实施方案中,环 A 为式 IIa 基团:

[0065]

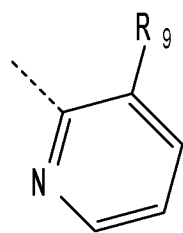


IIa

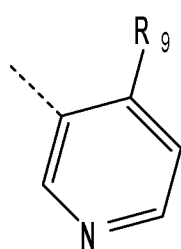
[0066] 其中 R_9 如上所定义。在具体实施方案中, R_9 为 H、卤素、羟基、烷基、烷氧基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂环基团或杂环基团-烷基,所述基团任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、氨基、硝基、芳基或杂芳基。在另一个具体实施方案中, R_9 为 H、卤素、羟基、烷氧基、芳基或杂芳基,其中所述芳基和杂芳基任选取代有卤素、羟基和烷氧基。在另一个具体实施方案中, R_9 为 H、氟、氯、甲氧基、咪唑基(例如咪唑-2-基)、苯基、邻氯苯基、间氯苯基或嘧啶基(例如嘧啶-2-基或嘧啶-5-基)。

[0067] 在另一个实施方案中,环 A 为吡啶基,其任选取代有羟基、烷基、烷氧基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂环基团或杂环基团-烷基,所述取代基任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、氨基、硝基、芳基或杂芳基。在一个实施方案中,环 A 取代有芳基或杂芳基。在具体实施方案中,环 A 为式 IIb-IIe 基团:

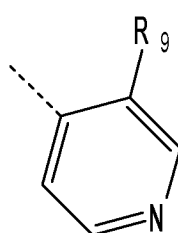
[0068]



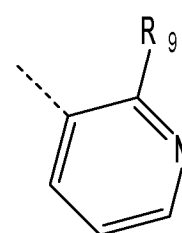
IIb



IIc



IIId

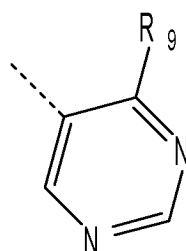


IIe

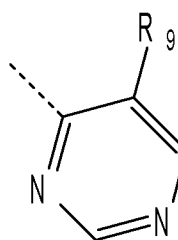
[0069] 其中 R_9 如上所定义。在具体实施方案中, R_9 为 H、卤素、羟基、烷基、烷氧基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂环基团或杂环基团-烷基, 所述基团任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、氨基、硝基、芳基或杂芳基。在另一个具体实施方案中, R_9 为 H、卤素、羟基、烷氧基、芳基或杂芳基, 其中所述芳基和杂芳基任选取代有卤素、羟基和烷氧基。在另一个具体实施方案中, R_9 为 H、氟、氯、甲氧基、咪唑基 (例如咪唑-2-基)、苯基、邻氯苯基、间氯苯基或嘧啶基 (例如嘧啶-2-基或嘧啶-5-基)。在具体实施方案中, R_9 为 H、羟基或苯基。

[0070] 在另一个实施方案中, 环 A 为嘧啶基, 其任选取代有羟基、烷基、烷氧基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂环基团或杂环基团-烷基, 所述取代基任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、氨基、硝基、芳基或杂芳基。在一个实施方案中, 环 A 取代有芳基或杂芳基。在具体实施方案中, 环 A 为式 IIIf 或 IIg 基团:

[0071]



IIIf

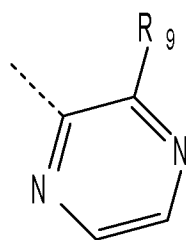


IIg

[0072] 其中 R_9 如上所定义。在具体实施方案中, R_9 为 H、卤素、羟基、烷基、烷氧基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂环基团或杂环基团-烷基, 所述基团任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、氨基、硝基、芳基或杂芳基。在另一个具体实施方案中, R_9 为 H、卤素、羟基、烷氧基、芳基或杂芳基, 其中所述芳基和杂芳基任选取代有卤素、羟基和烷氧基。在另一个具体实施方案中, R_9 为 H、氟、氯、甲氧基、咪唑基 (例如咪唑-2-基)、苯基、邻氯苯基、间氯苯基或嘧啶基 (例如嘧啶-2-基或嘧啶-5-基)。在具体实施方案中, R_9 为 H、羟基或苯基。

[0073] 在另一个实施方案中, 环 A 为吡嗪基, 其任选取代有羟基、烷基、烷氧基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂环基团或杂环基团-烷基, 所述取代基任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、氨基、硝基、芳基或杂芳基。在一个实施方案中, 环 A 取代有芳基或杂芳基。在具体实施方案中, 环 A 为式 IIh 基团:

[0074]



IIIh

[0075] 其中 R_9 如上所定义。在具体实施方案中, R_9 为 H、卤素、羟基、烷基、烷氧基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂环基团或杂环基团-烷基, 所述基团任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、卤代烷基、氨基、硝基、芳基或杂芳基。在另一个具体实施方案中, R_9 为 H、卤素、羟基、烷氧基、芳基或杂芳基, 其中所述芳基和杂芳基任选取代有卤素、羟基和烷氧基。在另一个具体实施方案中, R_9 为 H、氟、氯、甲氧基、咪唑基 (例如咪唑-2-基)、苯基、邻氯苯基、间氯苯基或嘧啶基 (例如嘧啶-2-基或嘧啶-5-基)。在具体实施方案中, R_9 为 H、羟基或苯基。

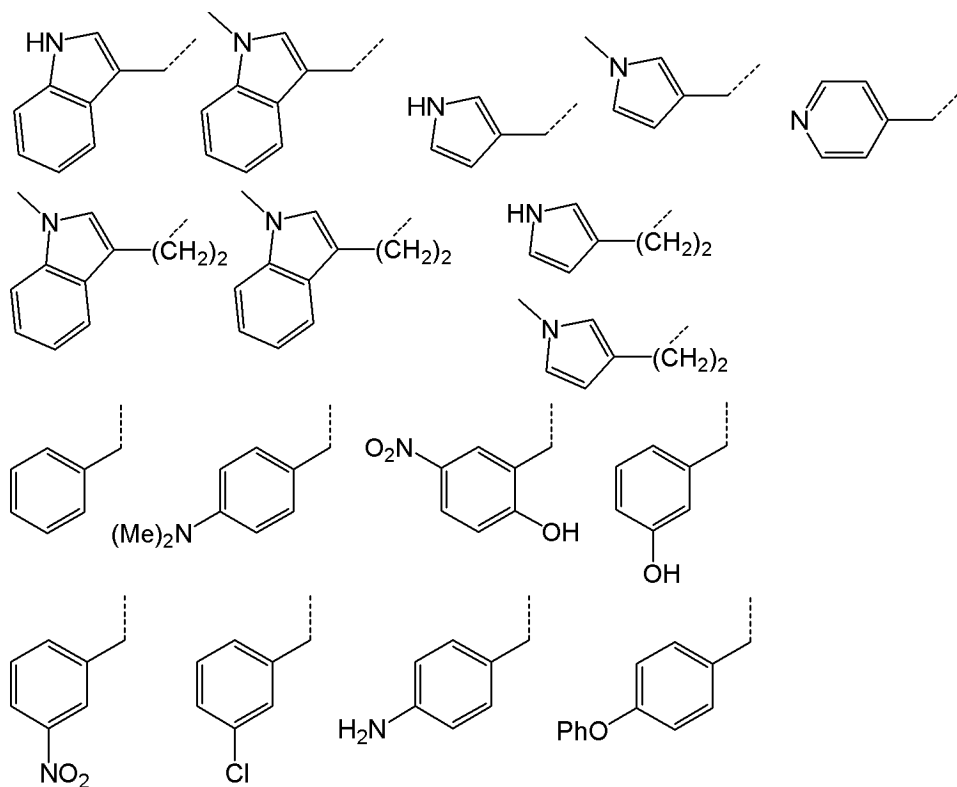
[0076] R_1 为 H, 或 R_1 和 R_2 一起形成 5-8 元环。在具体实施方案中, R_1 为 H。在具体实施方案中, R_1 和 R_2 一起形成 6 元环。在具体实施方案中, R_1 和 R_2 一起形成 7 元环。在另一个具体实施方案中, R_1 和 R_2 一起形成 8 元环。在另一个具体实施方案中, R_1 和 R_2 一起形成 7 元环, 同时 Y 为 S。在另一个具体实施方案中, R_1 为 H, 同时 Y 为 CH_2 。在另一个具体实施方案中, R_1 为 H, 同时 Y 为 S。在另一个具体实施方案中, R_1 为 H, 同时 Y 为 O。

[0077] R_2 为烷基、环烷基、环烷基烷基、芳基、芳烷基、杂环基团或杂环基烷基。在优选实施方案中, R_2 为烷基或环烷基。在一个实施方案中, 每个 R_2 基团各自任选取代有羟基、巯基、卤素、氨基、羧基、烷基、卤代烷基、烷氧基或烷基硫基; 在本发明一个实施方案中, R_2 为叔丁基、异丙基、环己基、环戊基或苯基。在具体实施方案中, R_2 为环己基。在另一个实施方案中, R_2 为四氢吡喃-4-基。在另一个具体实施方案中, R_2 为异丙基 (即缬氨酸侧链)。在另一个具体实施方案中, R_2 为叔丁基。在具体实施方案中, R_2 的取向使其包含的氨基酸或氨基酸类似物呈 L-构型。

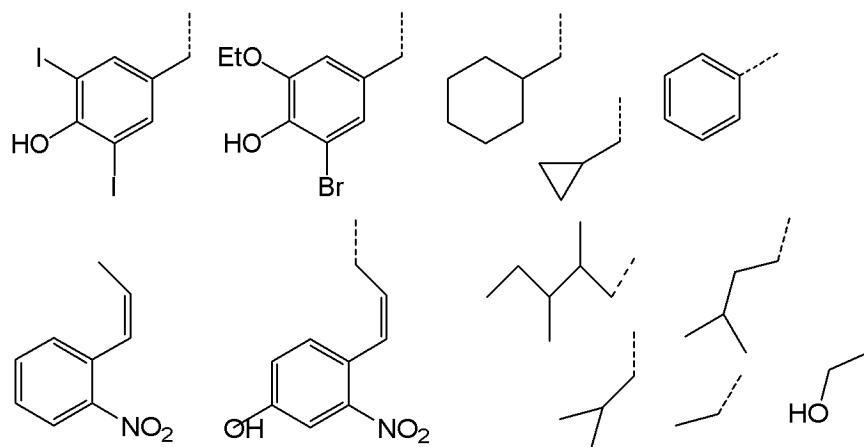
[0078] R_3 为 H 或烷基。在优选实施方案中, R_3 为 H、甲基、乙基、丙基或异丙基。在特别优选实施方案中, R_3 为 H 或甲基。在最优选实施方案中, R_3 为甲基。在另一个具体实施方案中, R_3 为叔丁基。在优选实施方案中, R_3 的取向使其包含的氨基酸或氨基酸类似物呈 L-构型。

[0079] R_4 和 R_4' 独立为 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, 其中每个烷基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、杂芳基和杂芳基烷基任选取代有卤素、羟基、巯基、羧基、烷基、烷氧基、氨基和硝基。在具体实施方案中, R_4 和 R_4' 都为 H。在另一个具体实施方案中, R_4 为甲基, 及 R_4' 为 H。在具体实施方案中, R_4 和 R_4' 之一为羟基 (OH), 同时另一个为 H。在另一个实施方案中, R_4 和 R_4' 之一为氨基例如 NH_2 、 $NHMe$ 和 $NHEt$, 同时另一个为 H。在具体实施方案中, R_4' 为 H, 及 R_4 为 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。在具体实施方案中, R_4 为选自以下的基团:

[0080]



[0081]

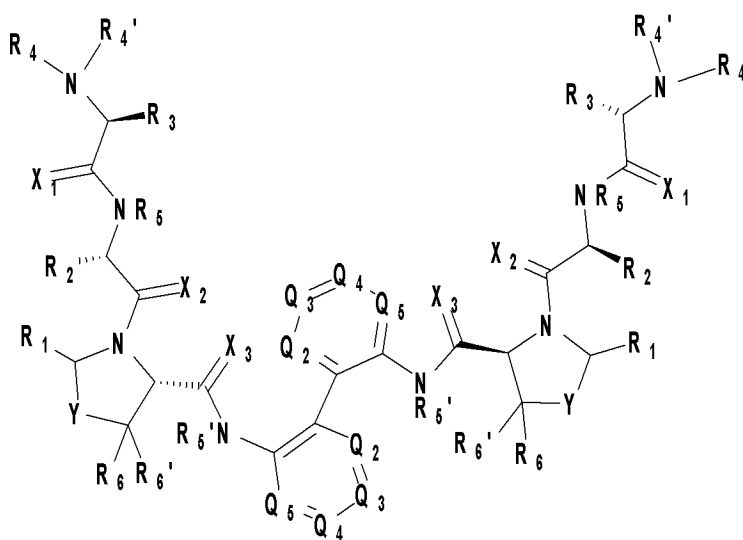


[0082] R₅ 和 R₅' 各自独立为 H 或烷基。在优选实施方案中, R₅ 和 R₅' 为 H 或甲基。在具体实施方案中, R₅ 为 H, 及 R₅' 为甲基。在另一个具体实施方案中, R₅ 为甲基, 及 R₅' 为 H。在另一个具体实施方案中, R₅ 和 R₅' 都为甲基。在另一个具体实施方案中, R₅ 和 R₅' 都为 H。

[0083] R_6 和 R_6' 各自独立为 H、烷基、芳基或芳烷基。在具体实施方案中, R_6 为烷基例如甲基。在另一个具体实施方案中, R_6 为芳基例如苯基。在另一个具体实施方案中, R_6 为芳烷基例如苄基。在具体实施方案中, R_6 和 R_6' 是相同的, 例如都为烷基例如都为甲基。在另一个具体实施方案中, R_6 为甲基, 及 R_6' 为 H。在另一个具体实施方案中, R_6 和 R_6' 都为 H。

[0084] 本发明另一个方面提供了通式 IIIa 二聚体化合物：

[0085]

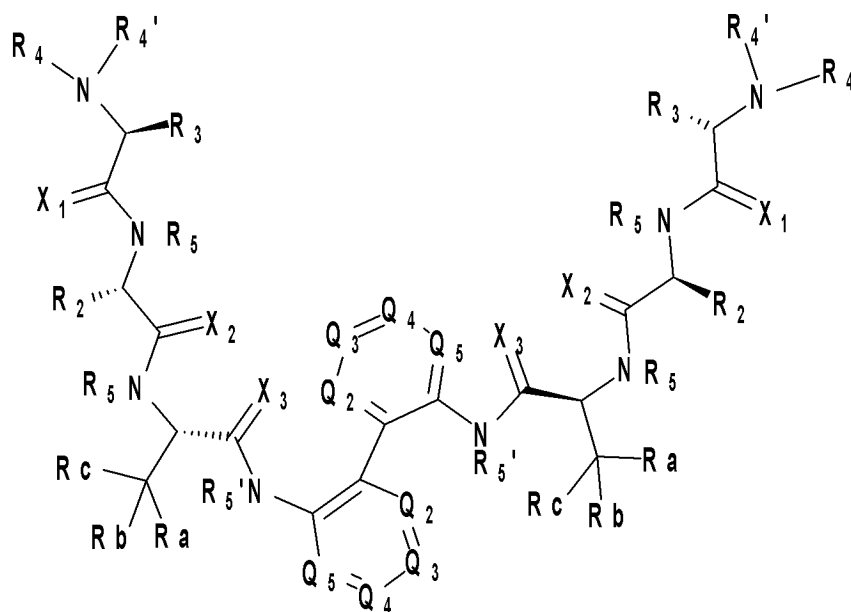


IIIa

[0086] 其中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 Y 、 A 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_4' 、 R_5 、 R_5' 、 R_6 、 R_6' 、 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 和 Q_5 在每种情况下独立如本申请所定义。

[0087] 本发明另一个方面提供了通式 IIIb 二聚体化合物：

[0088]



IIIb

[0089] 其中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_4' 、 R_5 、 R_5' 、 R_6 、 R_6' 、 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 和 Q_5 在每种情况下独立如本申请所定义，及 R_a 、 R_b 和 R_c 各自独立为羟基、卤素、烷基、烷氧基、烷基硫基或磺酰基；其中所述烷基、烷氧基、烷基硫基和磺酰基任选取代有酰氨基、氨基甲酰基和芳基，所述取代基任选取代有羟基、卤素和烷氧基；或 R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个一起形成碳环基团或杂环基团，且 R_a 、 R_b 和 R_c 中的另一个为 H、羟基、卤素、烷基、烷氧基、烷基硫基或磺酰基。可选择地， R_a 为 H，同时 R_b 和 R_c 各自独立为羟基、卤素、烷基、烷氧基、烷基硫基或磺酰基；其中所述烷基、烷氧基、烷基硫基和磺酰基任选取代有酰氨基、氨基甲酰基和芳基，所述取代基任选取代有羟基、卤素和烷氧基；或 R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个一起形成碳环基团或杂环基团，且 R_a 、 R_b 和 R_c 中的另一个为 H、羟基、卤素、烷基、烷氧基、烷基硫基或磺酰基。在具体实施方案中， R_a 、 R_b 和 R_c 各自为

甲基、卤素、甲氧基、羟基、甲基硫基或甲基磺酰基。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 各自为甲基。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 各自为 F。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个为甲基, 且另一个为 F。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个为甲基, 且另一个为羟基。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个为甲基, 且另一个为甲氧基。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个为甲基, 且另一个为甲基磺酰基。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个为甲基, 且另一个为甲基硫基。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个为甲基, 且另一个为 4-甲氧基苄基硫基。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个为甲基, 且另一个为乙酰氨基甲基硫基。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个一起形成碳环基团或杂环基团, 同时 R_a 、 R_b 和 R_c 中的另一个为 H、羟基、卤素、烷基、烷氧基、烷基硫基或磺酰基。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个形成杂环基团。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个形成吡喃基团。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个形成吡喃基团, 同时另一个为 H。在具体实施方案中, R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个形成吡喃基团, 同时另一个为甲基。

[0090] 可选择地, R_a 为 H, 同时 R_b 和 R_c 各自独立为羟基、卤素、烷基、烷氧基、烷基硫基或磺酰基; 其中所述烷基、烷氧基、烷基硫基和磺酰基任选取代有酰氨基、氨甲酰基和芳基, 所述取代基任选取代有羟基、卤素和烷氧基; 或 R_a 、 R_b 和 R_c 中的两个一起形成碳环基团或杂环基团, 且 R_a 、 R_b 和 R_c 中的另一个为 H、羟基、卤素、烷基、烷氧基、烷基硫基或磺酰基; 条件是本发明化合物不是 2-乙酰氨基-N-(1-(1-(呋喃-2-基)-2-甲基丙基氨基)-1-氧代丙-2-基)丙酰胺。当 R_a 为 H 时, R_b 和 R_c 可为上述具体实施方案中的每种, 同时 R_a 为 H, 条件是本发明化合物不是 2-乙酰氨基-N-(1-(1-(呋喃-2-基)-2-甲基丙基氨基)-1-氧代丙-2-基)丙酰胺。在具体实施方案中, R_a 为 H, 及 R_b 和 R_c 各自为甲基, 条件是本发明化合物不是 2-乙酰氨基-N-(1-(1-(呋喃-2-基)-2-甲基丙基氨基)-1-氧代丙-2-基)丙酰胺。

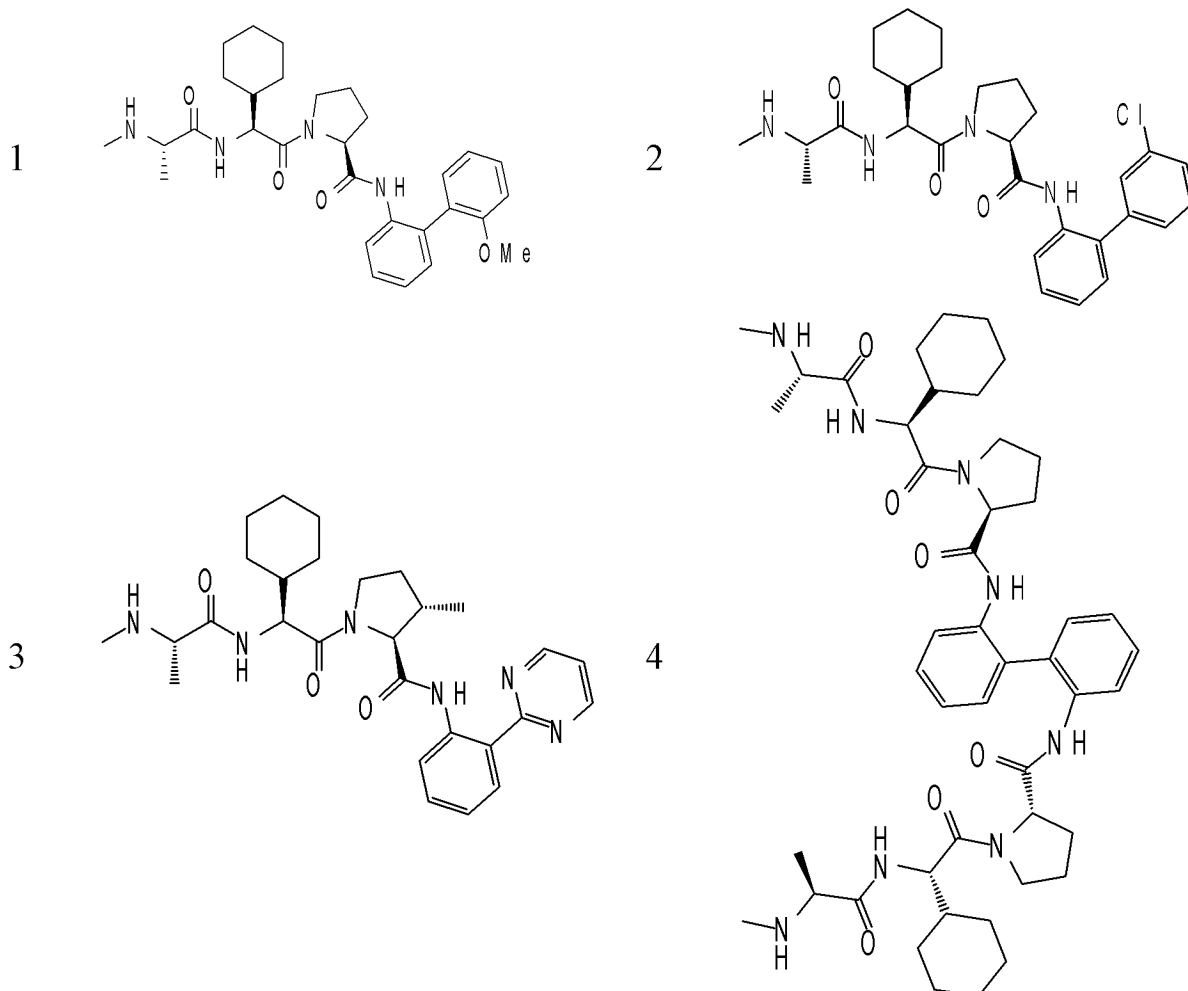
[0091] 本发明化合物含有一个或多个不对称碳原子。因此, 所述化合物可按非对映异构体、对映异构体或它们的混合物形式存在。所述化合物的合成可使用外消旋体、非对映异构体或对映异构体作为起始原料或作为中间体。非对映异构的化合物可通过色谱法或结晶法来分离。类似地, 对映异构体的混合物可通过相同的技术或本领域已知的其它技术来分离。每个不对称碳原子可呈 R 或 S 构型, 且这两种构型都在本发明范围内。

[0092] 本发明还包括上述化合物的前药。在适当的情况下, 合适的前药包括已知的氨基保护基和羧基保护基, 所述保护基在生理学条件下被释放 (例如被水解), 得到母体化合物。具体类别的前药为这样的化合物, 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以下基团取代: 羟基 (OH); 烷基羰基 ($-CO-R$); 烷氧基羰基 ($-CO-OR$); 酰基氧基烷基烷氧基羰基 ($-CO-O-R-O-CO-R$), 其中 R 为单价或二价基团并如上所定义; 或具有式 $-C(O)-O-CP_1P_2-(\text{卤代烷基})$ 的基团, 其中 P_1 和 P_2 是相同或不同的, 且为 H、低级烷基、低级烷氧基、氰基、卤代低级烷基或芳基。在具体实施方案中, 所述氮原子为本发明化合物的脒基中的一个氮原子。这些前药化合物如下制备: 使上述本发明化合物与活化的酰基化合物反应以使本发明化合物中的氮原子与活化的酰基化合物中的羰基相连。合适的活化的羰基化合物含有与羰基碳相连的良好离去基, 且包括酰卤、酰胺、酰基吡啶鎓盐、酰基烷氧化物, 特别是酰基酚氧化物, 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。所述反应通常是放热的, 且在惰性溶剂中在低温 (例如 -78°C 至约

50℃) 进行。所述反应通常也在无机碱(例如碳酸钾或碳酸氢钠)或有机碱(例如胺,包括吡啶、三乙胺等)存在下进行。制备前药的一种方式参见 1997 年 4 月 15 日提交的 USSN 08/843, 369(对应于 PCT 公开文本 W09846576), 将其内容引入本申请作为参考。

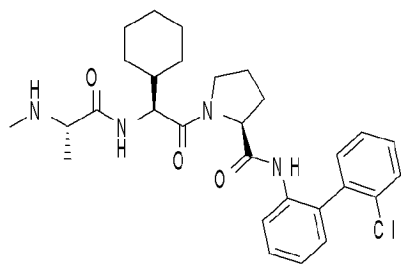
[0093] 式 I 具体化合物包括:

[0094]

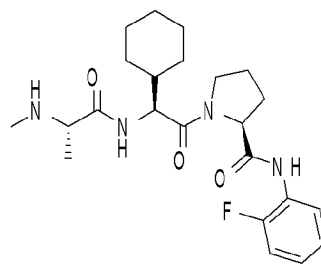


[0095]

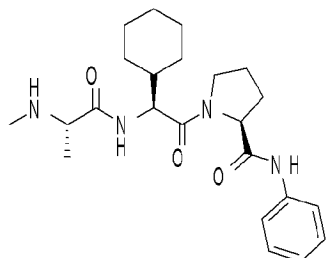
5



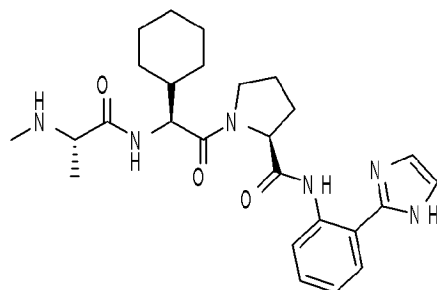
6



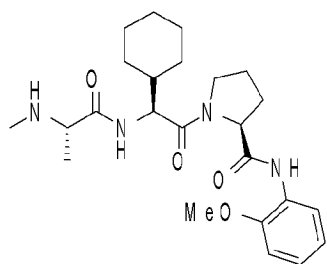
7



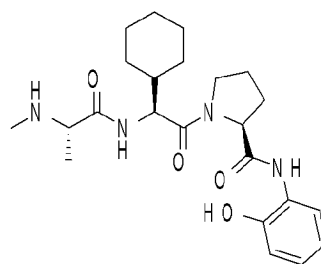
8



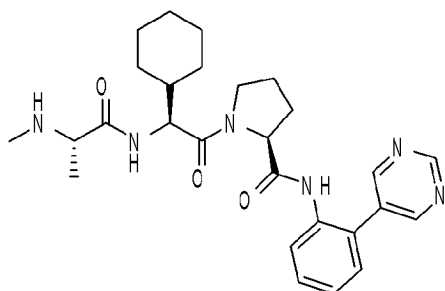
9



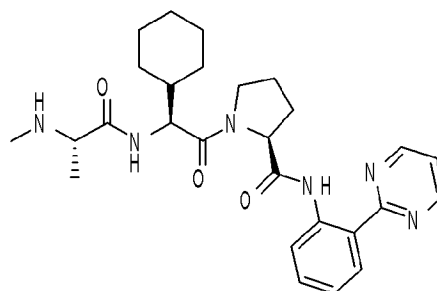
10



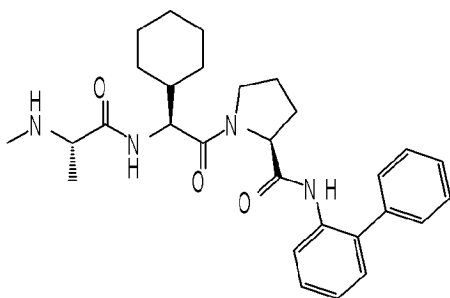
11



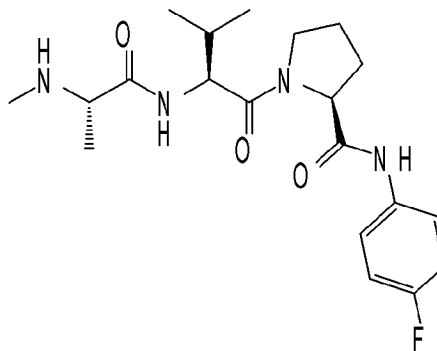
12



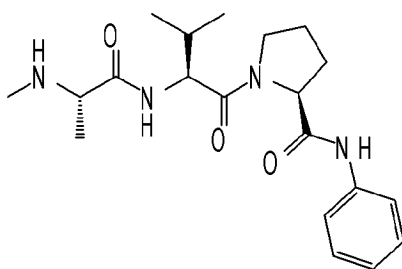
13



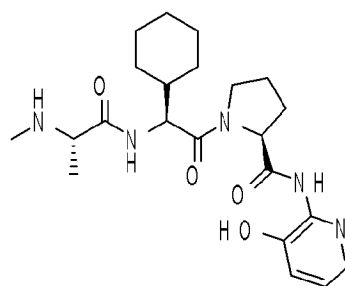
14



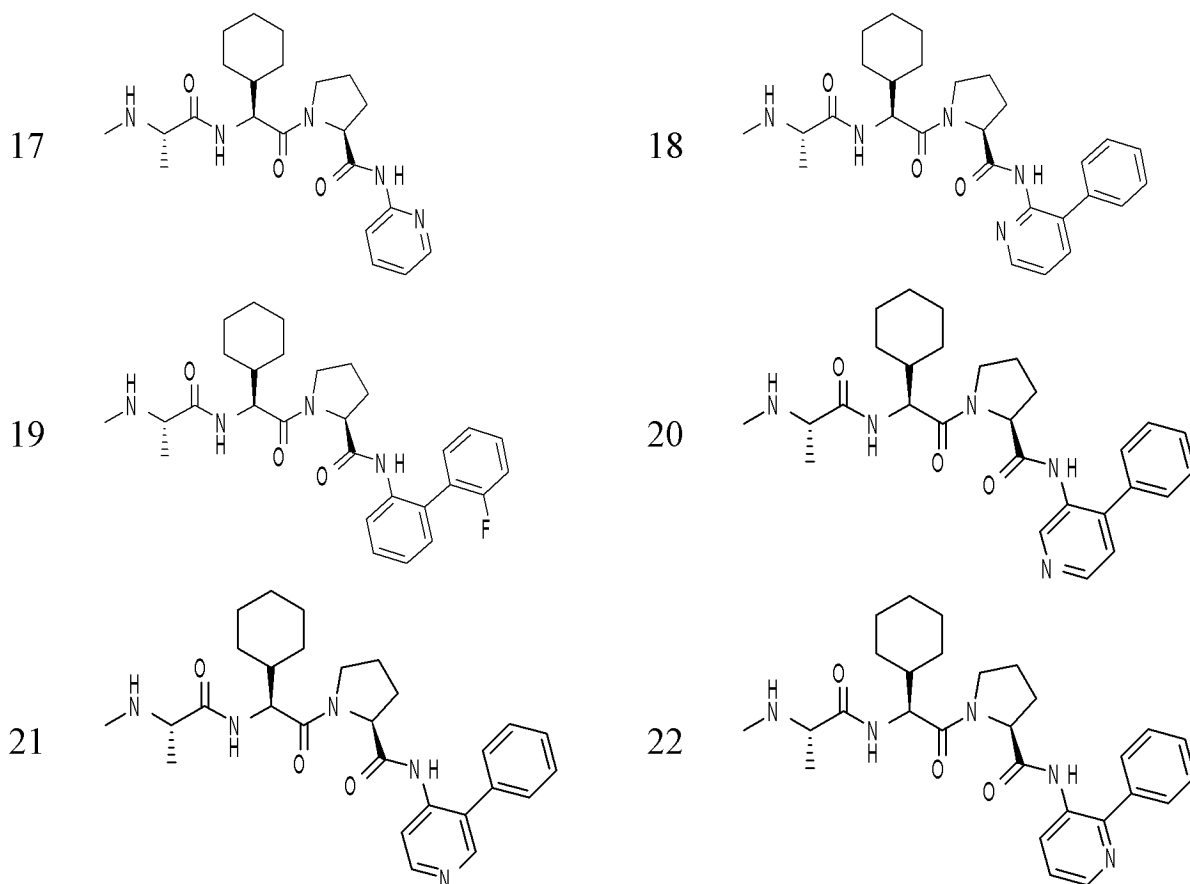
15



16



[0096]

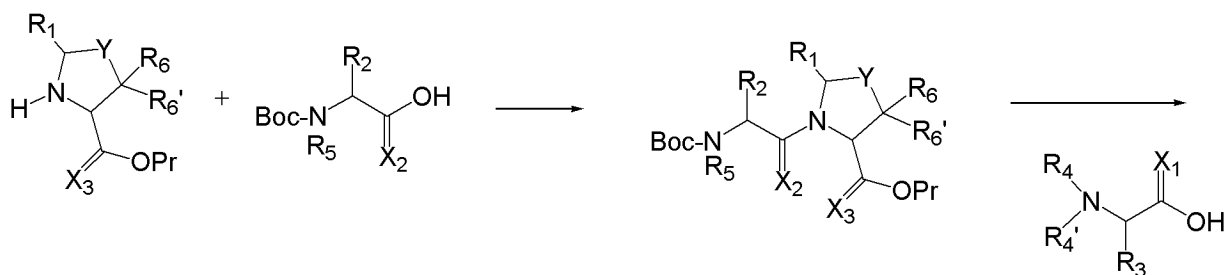


[0097] 合成

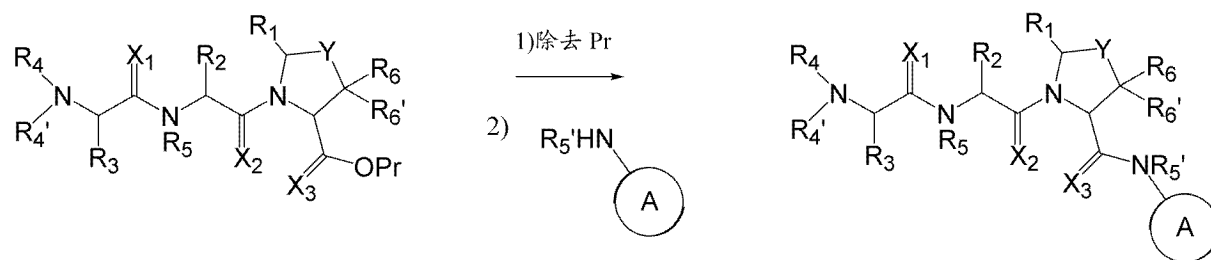
[0098] 本发明化合物使用标准有机合成技术由市售起始原料和试剂来制备。应该理解的是,在制备本发明化合物中使用的合成操作将取决于化合物中存在的具体取代基,及应该理解的是,可能需要在有机合成中是标准的各种保护和脱保护步骤。在一般合成方案中,本发明化合物可使用常规肽化学技术通过以常规酰胺偶联操作对氨基酸残基类似物进行偶联来制备。在方案 1 中,对胺经保护的氨基酸残基类似物进行偶联,随后进行脱保护,得到最终化合物。

[0099] 方案 1

[0100]



[0101]



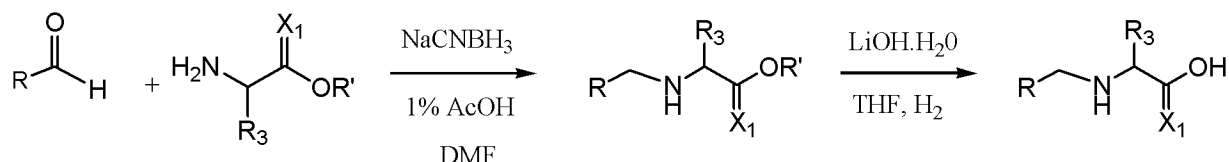
[0102] 应该理解的是,所述氨基酸类似物可按任何顺序来偶联并可使用在本领域中是常规的固相载体来制备。

[0103] 其中 R_4 或 R_4' 不是 H 的本发明化合物可根据标准有机化学技术来制备,例如通过还原胺化,其中使起始氨基酸残基类似物例如

[0104] $\text{NH}_2\text{-CH(R}_3\text{)-C(O)-OH}$ 与合适的醛或酮反应,得到所需要的 R_4 和 R_4' 取代基。参见方案 14。然后可使用标准肽偶联操作使所得经 R_4/R_4' 取代的氨基酸中间体与下一个氨基酸中间体或所述化合物中的其余部分结合。

[0105] 方案 2

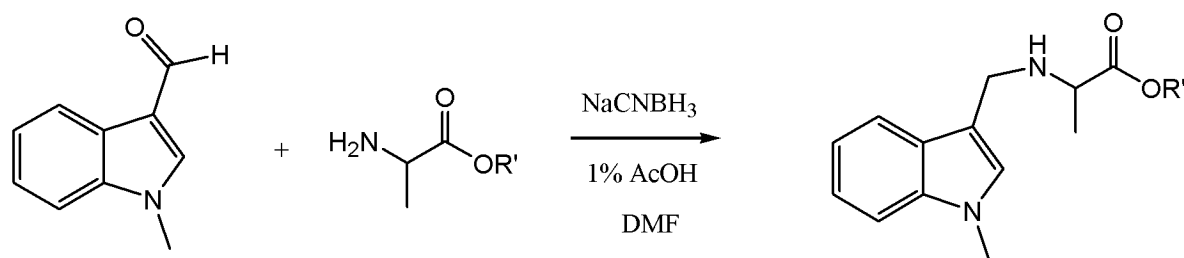
[0106]



[0107] 在具体实施方案中,使丙氨酸与 1-甲基吡咯-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 经取代的丙氨酸残基,所述 N 经取代的丙氨酸残基可用于制备本发明化合物。参见方案 15。

[0108] 方案 3

[0109]

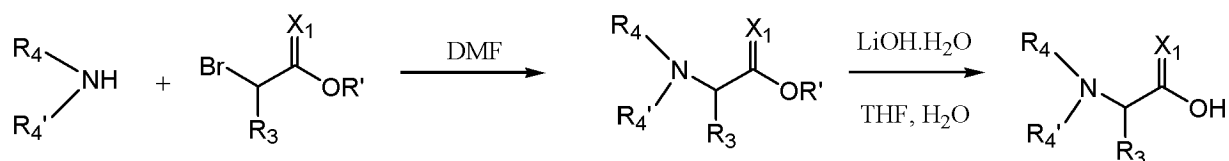


[0110] 可选择地,引入 R_4/R_4' 取代基的还原胺化操作在所述化合物的制备中是最后步骤。

[0111] 当本发明化合物包含非 H 的 R_4 或 R_4' 取代基时,它们也可通过用所需要的胺对引入离去基的合适酸中间体进行取代来制备。例如,根据方案 16,用胺 $R_4\text{-NH}_2$ 或 $R_4\text{-NH-}R_4'$ 对 $\text{Br-CH(R}_3\text{)-C(O)-OH}$ 进行取代。

[0112] 方案 4

[0113]

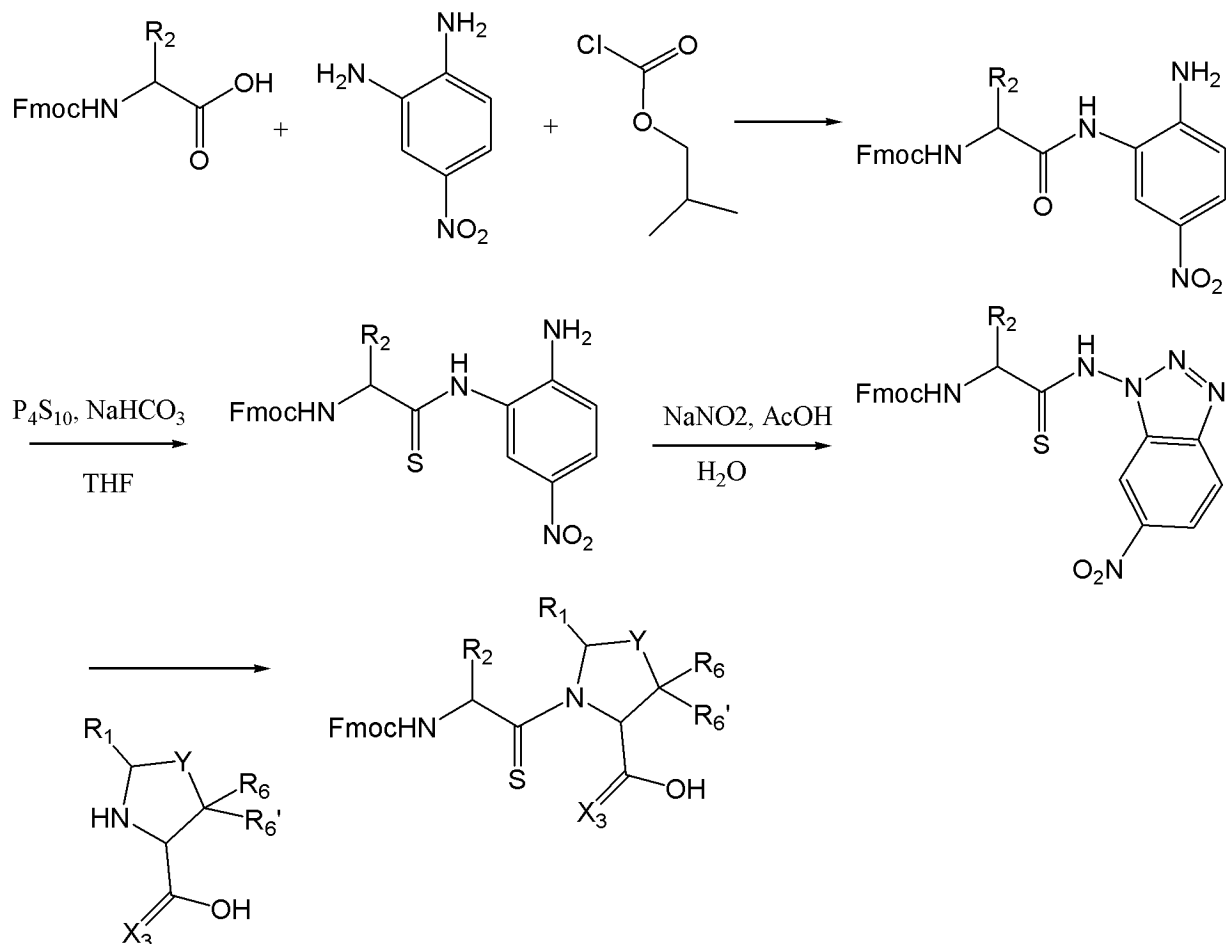


[0114] 可选择地,如方案 17 中所示,在所述化合物的制备中,引入 R_4 或 R_4' 取代基的取代

并与经氨基取代的 A 环中间体偶联。可选择地,首先使经 Fmoc 保护的硫代酰胺与经氨基取代的 A 环中间体偶联,然后进行 Fmoc 脱保护并随后与 $R_4/R_4'-N-CH(R_3)-COOH$ 氨基酸残基类似物偶联。

[0120] 方案 6

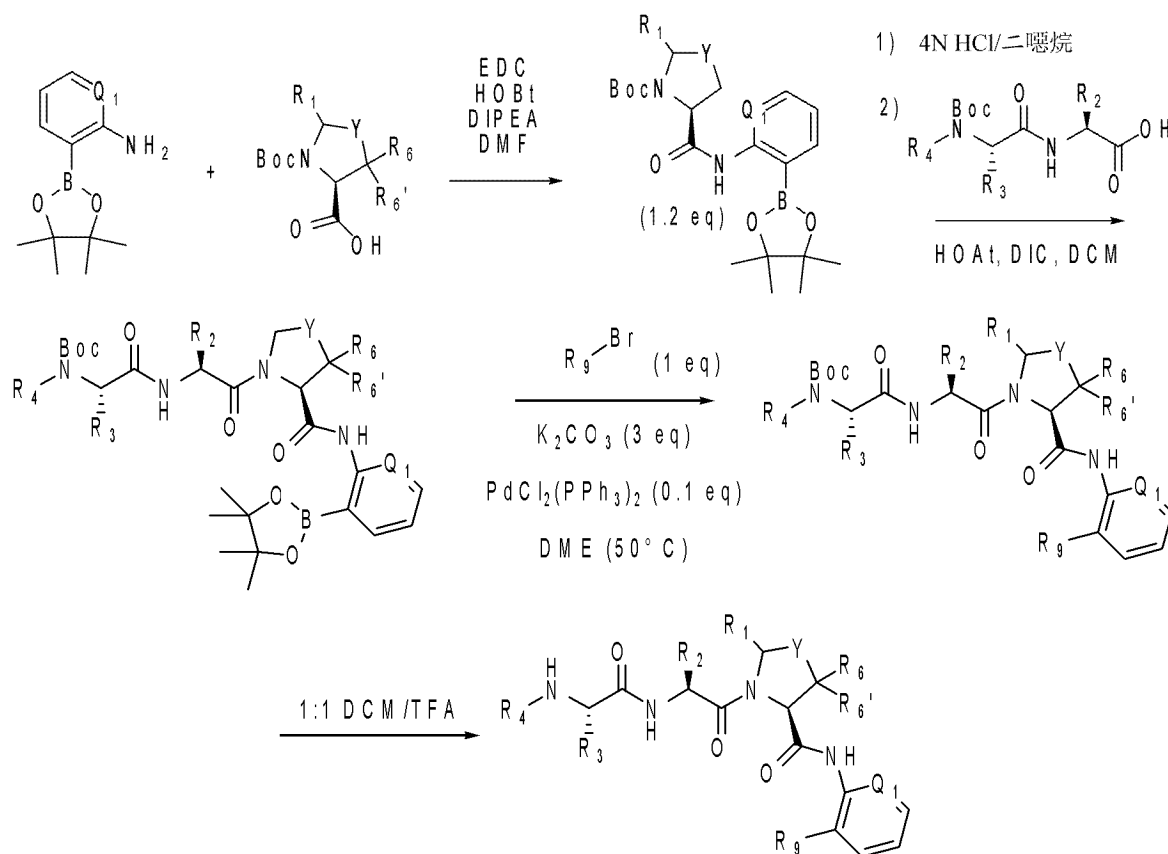
[0121]



[0122] 在具体实施方案中,当 R_9 为芳基或杂芳基时,本发明化合物可使用苏楚基偶联技术来制备。例如,其中 R_9 为芳基或杂芳基的本发明具体化合物可根据方案 7 来制备。

[0123] 方案 7

[0124]



[0125] 适应症

[0126] 本发明化合物抑制 IAP 蛋白与胱天蛋白酶的结合,特别是抑制与胱天蛋白酶 3 和 7 的 X-IAP 结合相互作用。本发明化合物也抑制 ML-IAP 与 Smac 的结合。因此,本发明化合物可用于在细胞(特别是癌细胞)中诱导细胞凋亡或使细胞(特别是癌细胞)对细胞凋亡信号敏感。本发明化合物可用于在过表达 IAP 蛋白的细胞中诱导细胞凋亡。可供选择地,本发明化合物可用于在下述细胞中诱导细胞凋亡,在所述细胞中线粒体细胞凋亡途径被破坏,从而使 Smac 从 ML-IAP 蛋白的释放被抑制(例如通过 Bcl-2 的上调或 Bax/Bak 的下调)。更广泛地,所述化合物可用于治疗未能进行细胞凋亡的所有癌症类型。所述癌症类型的实例包括神经母细胞瘤(neuroblastoma)、肠癌(intestine carcinoma),例如直肠癌(rectum carcinoma)、结肠癌(colon carcinoma)、家族性腺瘤性息肉癌(familial adenomatous polyposis carcinoma)和遗传性非息肉性结肠直肠癌(hereditary non-polyposis colorectal cancer)、食管癌(esophageal carcinoma)、唇癌(labial carcinoma)、喉癌(larynx carcinoma)、咽喉癌(hypopharynx carcinoma)、舌癌(tong carcinoma)、唾液腺癌(salivary gland carcinoma)、胃癌(gastric carcinoma)、腺癌(adenocarcinoma)、甲状腺髓样癌(medullary thyroidea carcinoma)、甲状腺乳头状癌(papillary thyroideacarcinoma)、肾癌(renal carcinoma)、肾实质癌(kidney parenchym carcinoma)、卵巢癌(ovarian carcinoma)、子宫颈癌(cervix carcinoma)、子宫体癌(uterine corpus carcinoma)、子宫内膜癌(endometrium carcinoma)、绒毛膜癌(chorion carcinoma)、胰腺癌(pancreatic carcinoma)、前列腺癌(prostate carcinoma)、睾丸癌(testis carcinoma)、乳癌(breast carcinoma)、泌尿系癌(urinary carcinoma)、黑素瘤(melanoma)、脑肿瘤,例如成胶质细胞瘤(glioblastoma)、星形细胞瘤

(astrocytoma)、脑膜瘤 (meningioma)、髓母细胞瘤 (medulloblastoma) 和外周神经外胚层肿瘤 (peripheral neuroectodermal tumor)、霍奇金淋巴瘤 (Hodgkin lymphoma)、非霍奇金淋巴瘤 (non-Hodgkin lymphoma)、伯基特淋巴瘤 (Burkitt lymphoma)、急性淋巴性白血病 (acute lymphatic leukemia, ALL)、慢性淋巴性白血病 (chronic lymphatic leukemia, CLL)、急性髓细胞样白血病 (acute myeloid leukemia, AML)、慢性髓细胞样白血病 (chronic myeloid leukemia, CML)、成人 T 细胞性白血病淋巴瘤 (adult T-cell leukemia lymphoma)、肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma)、胆囊癌 (gall bladder carcinoma)、支气管癌 (bronchial carcinoma)、小细胞肺癌 (small cell lung carcinoma)、非小细胞肺癌 (non-small cell lung carcinoma)、多发性骨髓瘤 (multiple myeloma)、基底细胞瘤 (basalioma)、畸胎瘤 (teratoma)、视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma)、脉络膜黑素瘤 (choroidea melanoma)、精原细胞瘤 (seminoma)、横纹肌肉瘤 (rhabdomyo sarcoma)、颅咽管瘤 (craniopharyngeoma)、骨肉瘤 (osteosarcoma)、软骨肉瘤 (chondrosarcoma)、肌肉瘤 (myosarcoma)、脂肪肉瘤 (liposarcoma)、纤维肉瘤 (fibrosarcoma)、尤因肉瘤 (Ewing sarcoma) 和浆细胞瘤 (plasmocytoma)。

[0127] 在一个实施方案中,如在结合测定如时间分辨荧光共振能量转移 (Time-Resolved Fluorescence Resonance Energy Transfer, TR-FRET) 测定或本申请所述的荧光偏振测定中所测量,本发明化合物相对于 XIAP 选择性地结合 cIAP1。在一个具体实施方案中,本发明化合物对 cIAP1 的亲合力性比其对 XIAP 的亲合力大 10 倍。在另一个具体实施方案中,本发明化合物对 cIAP1 的亲合力性比其对 XIAP 的亲合力大 100 倍。在一个具体实施方案中,本发明化合物对 cIAP1 的亲合力性比其对 XIAP 的亲合力大 1000 倍。

[0128] 本发明化合物可用于使细胞对细胞凋亡信号敏感。因此,所述化合物可在放射治疗或细胞抑制性化学治疗或抗肿瘤化学治疗之前、同时或之后给药。合适的细胞抑制性化学治疗 (cytostatic chemotherapy) 化合物包括但不限于 (i) 抗代谢药,例如阿糖胞苷 (cytarabine)、氟达拉滨 (fludarabine)、5- 氟 -2'- 脱氧尿苷 (5- 氟 -2'-deoxyuridine)、吉西他滨 (gemcitabine)、羟基脲 (hydroxyurea) 或甲氨喋呤 (methotrexate); (ii) DNA 断裂剂 (DNA-fragmenting agent), 例如博来霉素 (bleomycin); (iii) DNA 交联剂 (DNA-crosslinking agent), 例如苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、顺铂 (cisplatin)、环磷酰胺 (cyclophosphamide) 或氮芥 (nitrogen mustard); (iv) 嵌入剂 (intercalating agent), 例如阿霉素 (adriamycin) (多柔比星 (doxorubicin)) 或米托蒽醌 (mitoxantrone); (v) 蛋白质合成抑制剂,例如 L- 天冬酰胺酶 (L-asparaginase)、放线菌酮 (cycloheximide)、嘌呤霉素 (puromycin) 或白喉毒素 (diphtheria toxin); (vi) 拓扑异构酶 I 毒素 (topoisomerase I poison), 例如喜树碱 (camptothecin) 或托泊替康 (topotecan); (vii) 拓扑异构酶 II 毒物 (topoisomerase II poison), 例如依托泊苷 (etoposide) (VP-16) 或替尼泊苷 (teniposide); (viii) 微管靶向剂 (microtubule-directed agent), 例如秋水仙酰胺 (colcemid)、秋水仙碱 (colchicine)、紫杉醇 (paclitaxel)、长春碱 (vinblastine) 或长春新碱 (vincristine); (ix) 激酶抑制剂,例如 flavopiridol、十字孢碱 (staurosporine)、STI571 (CPG 57148B) 或 UCN-01 (7- 羟基十字孢碱); (x) 各种试验药 (miscellaneous investigational agent), 例如硫代铂 (thioplantin)、PS-341、丁酸苯酯、ET-18-OCH₃ 或法尼基转移酶抑

制剂 (farnesyl transferase inhibitor) (L-739749、L-744832) ; 多酚类, 例如槲皮素 (quercetin)、白藜芦醇 (resveratrol)、白皮杉醇 (piceatannol)、没食子酸表没食子儿茶素酯 (epigallocatechine gallate)、茶黄素 (theaflavin)、黄烷醇 (flavanol)、原花青素 (procyanidin)、桦木酸 (betulinic acid) 和它们的衍生物 ; (xi) 激素, 例如糖皮质激素或芬维 A 胺 (fenretinide) ; (xii) 激素拮抗剂, 例如他莫昔芬 (tamoxifen)、非那雄胺 (finasteride) 或 LHRH 拮抗剂。在具体实施方案中, 本发明化合物与选自下列的细胞抑制性化合物共同给药 : 顺铂、多柔比星、泰素 (taxol)、泰索帝 (taxotere) 和丝裂霉素 C (mitomycin C)。在具体实施方案中, 所述细胞抑制性化合物为多柔比星。

[0129] 可在本发明中使用的另一类活性化合物是通过与死亡受体 (death receptor) 结合能够使死亡受体对细胞凋亡敏感或诱导细胞凋亡的那些化合物 (“死亡受体激动剂”)。所述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 配体及任何所述配体的片段和衍生物。优选地, 所述死亡受体配体为 TNF- α 。更优选地, 所述死亡受体配体为 Apo2L/TRAIL。此外, 死亡受体激动剂包括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) 抗体及任何所述抗体的片段和衍生物。

[0130] 出于使细胞对细胞凋亡敏感的目的, 本发明化合物还可与放射治疗联用。短语“放射治疗”是指在治疗瘤形成 (neoplasia) 中使用电磁辐射或粒子辐射。放射治疗基于这样的原理, 即递送至靶区的高剂量放射可导致肿瘤组织和正常组织中复制细胞 (reproducing cell) 的死亡。放射剂量方案通常根据放射吸收剂量 (radiation absorbed dose (rad))、时间和分级 (fractionation) 来定义, 且必须由肿瘤学专家谨慎定义。患者接受的放射量将取决于各种因素, 但两个最重要的因素是肿瘤相对于身体的其它关键结构或器官的位置 ; 及肿瘤扩散的程度。在放射治疗中 (但不限于放射治疗) 提供放射治疗剂, 且放射治疗剂是本领域已知的 (Hellman, Principles of Radiation Therapy, Cancer, in Principles I and Practice of Oncology, 24875 (Devita et al, 4th ed., vol 1, 1993)。放射治疗的最新进展包括三维等角外束放射 (three-dimensional conformal external beam radiation)、强度调节放射治疗 (intensity modulated radiation therapy, IMRT)、立体定向放射外科 (stereotactic radiosurgery) 和近距离放射治疗 (brachytherapy) (间质放射治疗 (interstitial radiation therapy)), 所述近距离放射治疗将放射源直接置于肿瘤中作为植入的“种子”。这些较新的治疗模式将较大剂量的放射递送至肿瘤, 当与标准外束放射治疗 (external beam radiation therapy) 进行比较时, 这解释了它们有效性的增加。

[0131] 用发射 β 射线的放射性核素进行的电离放射被视为对于放射治疗应用是最有用的, 这是因为电离粒子 (电子) 的适度线性能量转移 (LET) 及其中间范围 (在组织中通常为几毫米)。 γ 射线以较大的距离递送较低水平的剂量。 α 粒子表现出另一种极端, 它们递送非常高的 LET 剂量, 但具有极其有限的范围, 因此必须与待治疗组织的细胞直接接触。此外, α 发射体 (alpha emitter) 通常是重金属, 这限制了可能的化学作用, 且存在放射性核素从待治疗区域泄漏的不适当危害。基于待治疗的肿瘤, 所有种类的发射体都可包括在本发明范围内。

[0132] 此外,本发明包括各种类型的非电离辐射,例如紫外 (UV) 辐射、高能可见光、微波辐射 (高温疗法 (hyperthermia therapy))、红外 (IR) 辐射和激光。在本发明具体实施方案中,应用 UV 辐射。

[0133] 本发明还包括药物组合物或药品,所述药物组合物或药品含有本发明化合物和就治疗而言是惰性的载体、稀释剂或赋形剂,及本发明还包括使用本发明化合物制备所述组合物和药品的方法。通常,在本发明方法中使用的式 I 化合物被如下配制成植物制剂给药形式 (galenical administration form): 在环境温度,在适当的 pH,及以所期望的纯度,对所述式 I 化合物与生理学上可接受的载体 (即对于接受者而言是无毒的载体) 以所使用的剂量和浓度进行混合。制剂的 pH 主要取决于化合物的具体用途和浓度,但优选地范围可以是约 3 至约 8。在 pH 为 5 的乙酸盐缓冲液中的制剂是合适的实施方案。用于此的抑制性化合物优选是无菌的。所述化合物通常以固体组合物形式储存,但冻干制剂或含水溶液剂也是可接受的。

[0134] 本发明组合物可按符合良好医药实践的方式进行配制、制定剂量和给药。在此背景下考虑的因素包括所治疗的具体病症、所治疗的具体哺乳动物、个体患者的临床状态、病症的起因、药物的递送位点、给药方法、给药安排和医疗实践者已知的其它因素。待给药化合物的“有效量”将由所述因素支配,且是抑制 IAP 与胱天蛋白酶的相互作用、诱导细胞凋亡或使恶性细胞 (malignant cell) 对细胞凋亡信号敏感所必需的最小量。所述量可低于对于正常细胞或哺乳动物整体而言是毒性的量。

[0135] 一般而言,肠胃外给药的本发明化合物的最初药物有效量在每剂中为约 0.01-100mg/kg,优选约 0.1 至 20mg/kg 患者体重/日,其中所用化合物的典型最初范围为 0.3 至 15mg/kg/日。口服单位剂型如片剂和胶囊剂可含有约 25 至约 1000mg 本发明化合物。

[0136] 本发明化合物可通过任何合适的方式来给药,所述方式包括口服给药、表面给药、透皮给药、肠胃外给药、皮下给药、腹膜内给药、肺内给药和鼻内给药,及在期望局部治疗时为病灶内给药。肠胃外输注包括肌内给药、静脉内给药、动脉内给药、腹膜内给药或皮下给药。合适的口服剂型的实例为含有以下成分的片剂: 约 25mg、50mg、100mg、250mg 或 500mg 本发明化合物及约 90-30mg 无水乳糖、约 5-40mg 交联羧甲纤维素钠、约 5-30mg 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) K30 和约 1-10mg 硬脂酸镁。首先将粉末状成分混合在一起,然后与 PVP 溶液混合。对所得到的组合物进行干燥,制粒,与硬脂酸镁混合,然后使用常规设备压制成片剂形式。气雾剂可如下制备: 将本发明化合物 (例如 5-400mg) 溶于合适的缓冲溶液 (例如磷酸盐缓冲液) 中,在需要时加入张力调节剂 (tonicifier) 例如盐如氯化钠。通常对溶液进行过滤 (例如使用 0.2 微米滤器),以除去杂质和污染物。

[0137] 实施例

[0138] 通过参考以下实施例将更全面地理解本发明。然而,它们不应该被理解为对本发明范围进行限制。本申请使用的缩写如下:

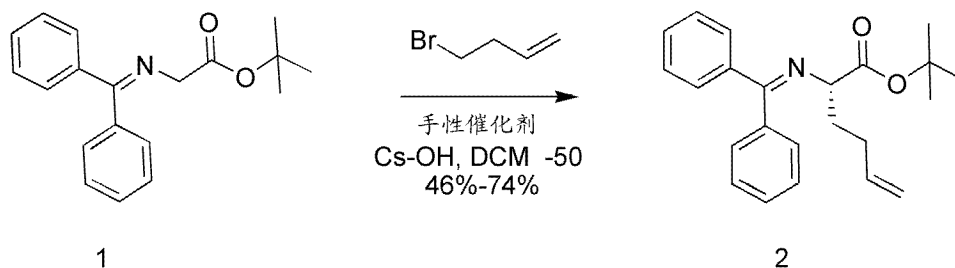
[0139] ACN: 乙腈;

[0140] Chg: 环己基甘氨酸;

[0141] DCM: 二氯甲烷;

[0142] DI Boc: 一缩二碳酸二叔丁酯;

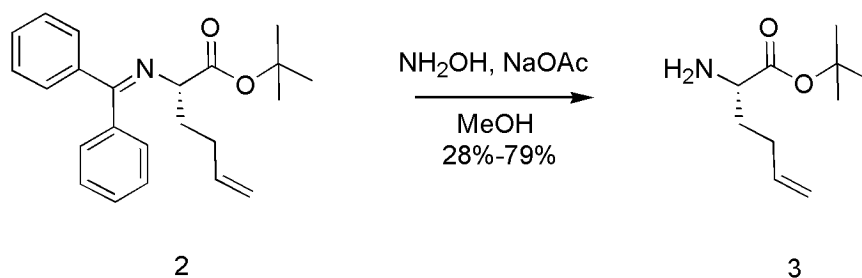
- [0143] DIPEA :二异丙基乙基胺 ;
- [0144] DMAP :4- 二甲基氨基吡啶 ;
- [0145] DME :1,2- 二甲氧基乙烷 ;
- [0146] DMF :二甲基甲酰胺 ;
- [0147] DMSO :二甲基亚砷 ;
- [0148] EDC :1- 乙基 -3-(3- 二甲基氨基丙基) 碳二亚胺 ;
- [0149] EEDQ :2- 乙氧基 -1- 乙氧基羰基 -1,2- 二氢喹啉 ;
- [0150] LCMS :液相色谱 - 质谱 ;
- [0151] HATU :0-(7- 氮杂苯并三唑 -1- 基)-1,1,3,3- 四甲基脲鎓六氟磷酸盐 ;
- [0152] HOBt :N- 羟基苯并三唑 ;
- [0153] HBTU :2-(1H- 苯并三唑 -1- 基)-1,1,3,3- 四甲基脲鎓六氟磷酸盐 ;
- [0154] HPLC :高效液相色谱 ;
- [0155] NBS :N- 溴琥珀酰亚胺 ;
- [0156] TASf :二氟三甲基硅化三 (二甲基氨基) 鎓 (tris(dimethylamino)sulfoniumdifluorotrimethylsilicate) ;
- [0157] TEA :三乙胺 ;
- [0158] TFA :三氟乙酸 ;
- [0159] THF :四氢呋喃。
- [0160] 实施例 1 :6-(1,3- 二氧代 -1,3- 二氢 - 异吡啶 -2- 基)-5- 氧代 - 八氢 - 噻唑并 [3,2-a] 氮杂草 -3- 甲酸乙酯
- [0161]



[0162] 向搅拌的 N-(二苯基亚甲基) 甘氨酸叔丁酯 1 (3.0g, 10.1mmol) 和手性催化剂 0- 烯丙基 -N-(蒽 -9- 基甲基)- 辛可尼定鎓溴化物

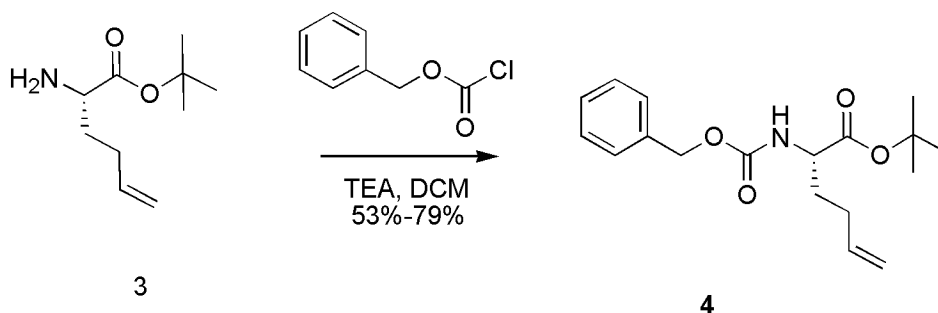
[0163] (0-Allyl-N-(9-anthracenylmethyl)-cinchonidium bromide) (613mg, 1.0mmol) 于无水 DCM (30mL) 中的溶液中加入氢氧化铯 (17g, 101mmol)。将反应混合物在干冰 - 丙酮浴中冷却至 -78°C, 滴加 4- 溴 -1- 丁烯。加完后, 将反应混合物在 -48°C 和氮气下剧烈搅拌 48 小时。加入乙醚, 然后加入 H₂O。分离有机层, 用 H₂O 洗涤 2 次、用盐水洗涤一次, 用 MgSO₄ 干燥并浓缩。产物通过硅胶色谱来纯化 (梯度为 0-10% EtOAc/ 己烷), 得到 2, 收率为 65%。

[0164]



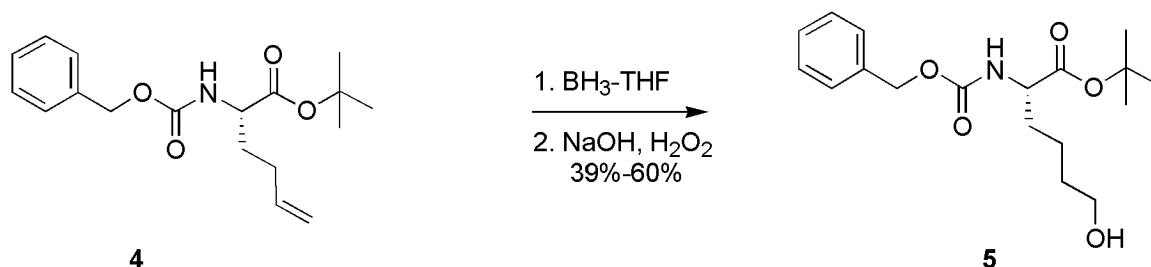
[0165] 向搅拌的 2 (1.52g, 4.3mmol) 于无水 MeOH (50mL) 中的溶液中加入 NaOAc (720mg, 8.6mmol) 和 $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ (540mg, 7.6mmol)。在室温和氮气下搅拌 2 小时。加入 DCM 和 0.1N NaOH。分离水层, 用 DCM 萃取 3 次, 用 Na_2SO_4 干燥, 合并 DCM 馏分并浓缩。产物通过硅胶色谱来纯化 (0-10% MeOH/DCM (含有 0.05% TEA)), 得到 3, 收率为 70%。

[0166]



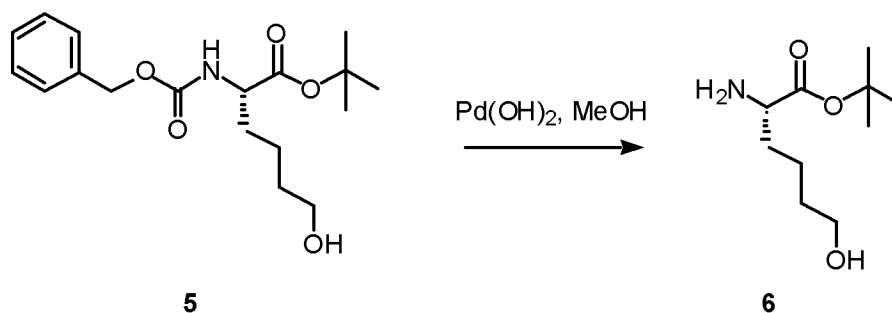
[0167] 向 3 (610mg, 3.3mmol) 于无水 DCM (20mL) 中的溶液中加入三乙胺 (550 μL , 3.9mmol) 和氯甲酸苄酯 (550 μL , 3.9mmol)。将反应混合物在室温搅拌 2 小时。浓缩溶液并通过硅胶色谱来纯化 (梯度为 0-30% EtOAc/己烷), 得到 4, 收率为 66%。

[0168]



[0169] 在氮气下向搅拌的 4 (577mg, 1.8mmol) 于 THF (20mL) 中的溶液中加入 $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ 。1 小时后, 加入 3N NaOH (300 μL , 0.9mmol) 和 H_2O_2 (306 μL , 2.7mmol)。将反应混合物搅拌过夜, 随后用 H_2O 稀释、用乙醚萃取 2 次, 用 MgSO_4 干燥并浓缩。产物通过硅胶色谱来纯化 (梯度为 10-45% EtOAc/己烷), 得到 5, 收率为 50%。

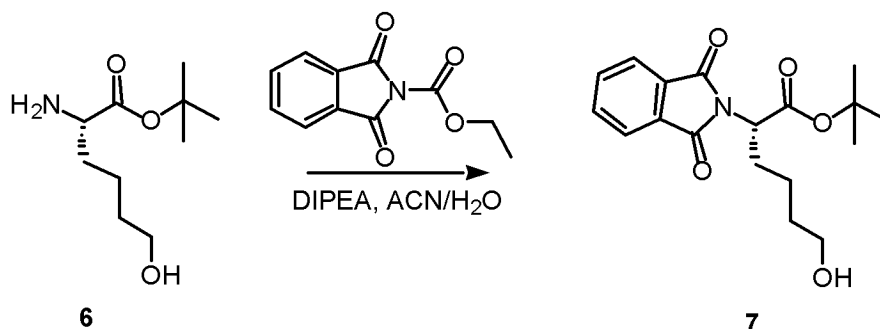
[0170]



[0171] 在 1 大气压氢气下向搅拌的 5 (71mg, 0.21mmol) 于 MeOH (2mL) 中的溶液中加入

10%氢氧化钡 / 炭 (30mg)。30 分钟后,反应完成。反应混合物用硅藻土过滤并浓缩,得到 6 (定量收率)。

[0172]



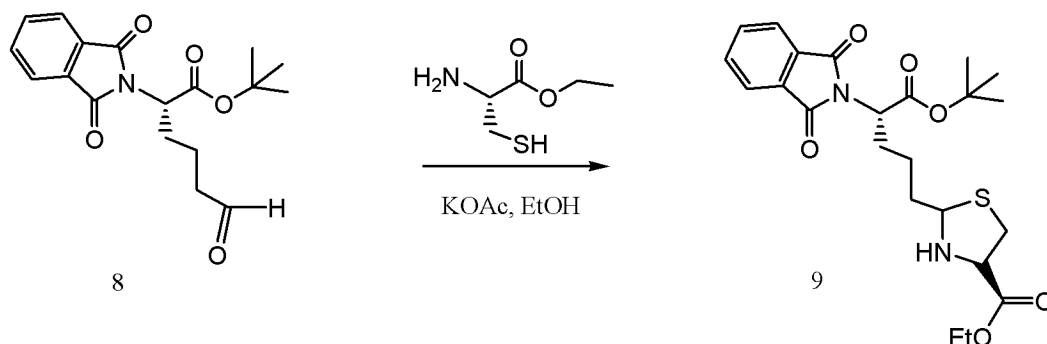
[0173] 向 6 (42mg, 0.21mmol) 于 ACN (2mL) 中的溶液中加入 N-乙氧羰基邻苯二甲酰亚胺 (50mg, 0.23mmol) 和 DIPEA (40 μ L, 0.23mmol), 在室温搅拌 2 小时。加入 H₂O (1mL) 并再搅拌 10 分钟。蒸发掉 CAN, 加入 DCM 和 10% 枸橼酸。分离水层, 用 DCM 萃取 3 次, 合并 DCM 部分, 用 Na₂SO₄ 干燥并浓缩, 得到 7, 收率为 95%。

[0174]



[0175] 将草酰氯 (561 μ L, 6.60mmol) 溶解在 DCM (35mL) 中, 冷却至 -78 $^{\circ}$ C, 搅拌 5 分钟, 然后加入二甲基亚砜 (870 μ L, 12.3mmol) 于 DCM (2.5mL) 中的溶液。搅拌 5 分钟后, 加入 7 (1.05g, 3.15mmol) 于二氯甲烷 (20mL) 中的溶液, 然后加入三乙胺 (2.37mL, 17.0mmol)。将反应混合物缓慢温热至室温。加入 DCM 和 H₂O, 分离水层并用 DCM 萃取 2 次。合并 DCM 部分, 过滤通过 Na₂SO₄ 并浓缩, 得到 8, 收率为 95%。

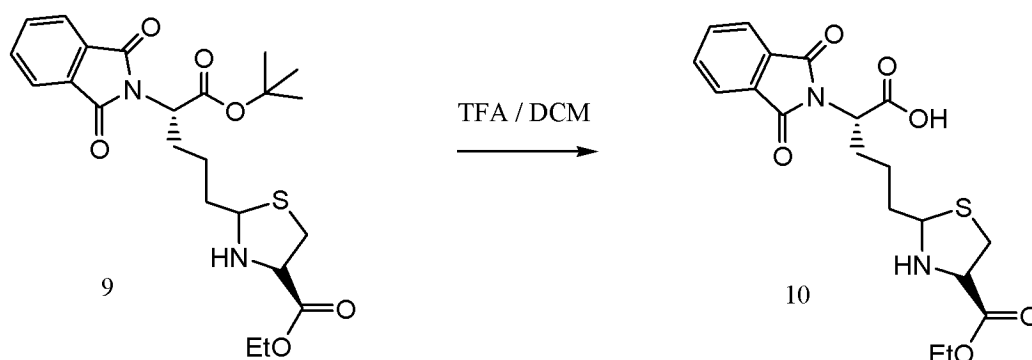
[0176]



[0177] 将 L-半胱氨酸乙酯盐酸盐 (643mg, 3.5mmol) 和乙酸钾 (343mg, 3.5mmol) 溶解在搅拌的 EtOH (13mL) 中, 在冰-水浴中冷却至 0 $^{\circ}$ C。将化合物 8 溶解在 EtOH (13mL) 中并加入。将反应混合物在 0 $^{\circ}$ C 搅拌 4 小时, LCMS 证实 8 转化为两种非对映异构产物。过滤反应混合物, 蒸发 EtOH, 重新溶解在 DCM 中, 用盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥并浓缩, 得到非对映异构

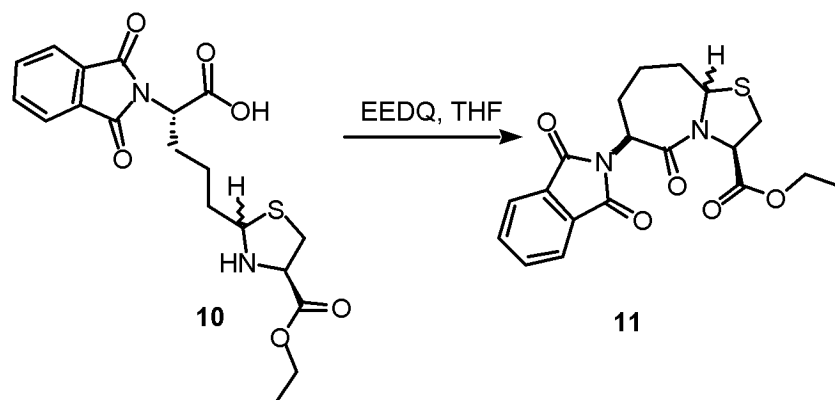
体 9 的 1 : 1 混合物 (定量收率)。

[0178]



[0179] 将上述非对映异构体重新溶解在 1 : 1TFA : DCM(10mL) 中,在室温搅拌 1 小时。LCMS 显示完全转化成 10。浓缩反应混合物,得到 10,两种非对映异构体的收率为 95%。

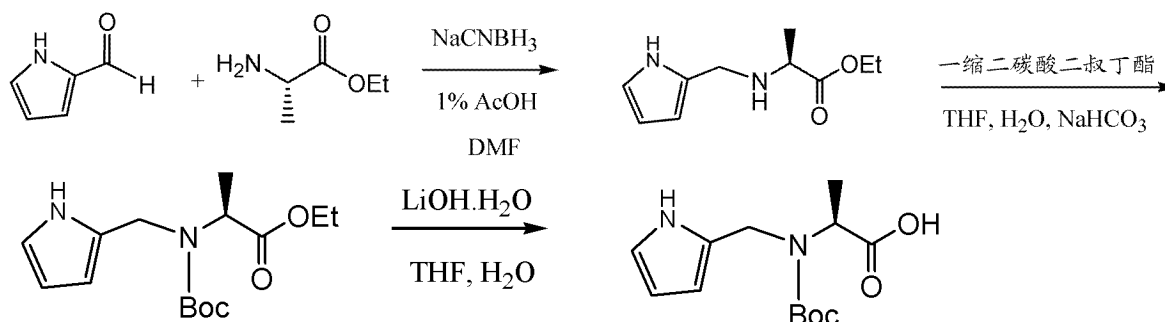
[0180]



[0181] 向搅拌的 10(675mg, 1.67mmol) 于 THF(20mL) 中的溶液中加入 EEDQ(619mg, 2.50mmol)。在室温搅拌 2 天。减压除去 THF,将产物重新溶解在 EtOAc 中。有机层用 0.5N HCl、0.5% NaHCO₃、H₂O 和盐水洗涤。EtOAc 溶液用 MgSO₄ 干燥并浓缩。产物通过反相 HPLC 来纯化 (10-70% CAN/H₂O),得到两种非对映异构体 11,非对映异构体 1 的收率为 20%,非对映异构体 2 的收率为 18%。

[0182] 实施例 2 :2-[叔丁氧基羰基 -(1H-吡咯-2-基甲基)-氨基]-丙酸

[0183]



[0184] 将丙氨酸乙酯 (5g, 32.5mmol)、吡咯-2-甲醛 (3.1g, 32.5mmol)、氰基硼氢化钠 (2.04g, 32.5mmol) 和 AcOH(1%) 混合在 DMF 中并搅拌过夜。用 H₂O 淬灭反应并蒸发 DMF。混合物用 EtOAc 稀释,用 0.1N NaOH 洗涤,干燥并浓缩,得到 2.5g 产物。将所得酯 (2.5g, 12.8mmol) 和一缩二碳酸二叔丁酯 (3.06g, 14mmol) 在 THF 和 H₂O(含有 NaHCO₃) 中混合并

搅拌过夜。蒸发 THF, 混合物用 EtOAc 稀释, 用 1N NaOH、饱和 NH_4Cl 溶液和盐水洗涤。干燥后, 浓缩混合物, 得到经 Boc 保护的酯 3.3g。在 0°C 将经 Boc 保护的酯 (1.67g, 5.6mmol) 和氢氧化锂一水合物 (284mg, 6.77mmol) 混合在 THF 和 H_2O 中。真空除去 THF, 溶液用稀 H_2SO_4 酸化, 用 EtOAc 萃取两次。合并有机层, 干燥并蒸发。

[0185] 实施例 3: 四氢吡喃基甘氨酸

[0186] 四氢吡喃基甘氨酸购自 NovaBiochem, 或根据以下文献来合成: 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.; Anderson, P. S. J. Med. Chem, 1993, 36, 2300-2310。

[0187] 实施例 4: 哌啶基甘氨酸

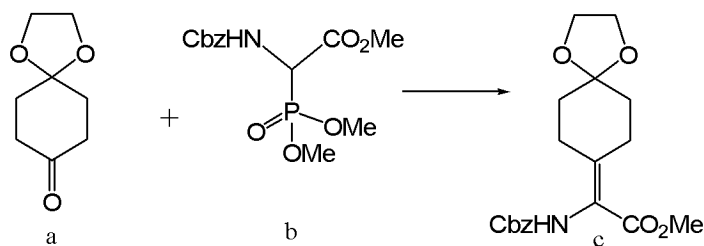
[0188] 哌啶基甘氨酸根据以下文献来合成: Shieh, W-C.; Xue, S.; Reel, N.; Wu, R.; Fitt, J.; Repic, O. Tetrahedron: Asymmetry, 2001, 12, 2421-2425。

[0189] 实施例 5: 4,4-二氟环己基甘氨酸

[0190] 4,4-二氟环己基甘氨酸根据 US 2003/0216325 中描述的操作来制备。

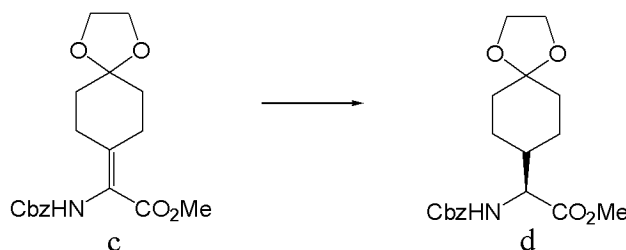
[0191] 实施例 6: Boc(S)-2-氨基-2-(4-羟基环己基)乙酸

[0192]



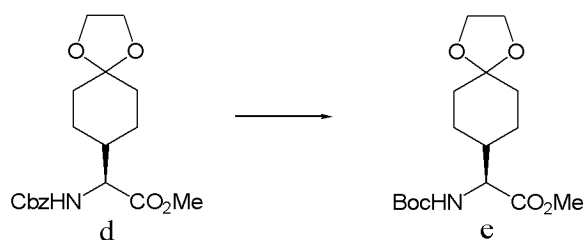
[0193] 按照 Sheih, Tetrahedron: Asymmetry, 2001, 12, 2421-2425 中描述的操作, 将酮 a (8.4g) 和 EtOAc (30mL) 的溶液加到 N-Cbz-膦酰基甘氨酸甲酯 b、TMG (4.5mL) 和 EtOAc (30mL) 的溶液中。将溶液在室温保持 48 小时, 然后用 1N HCl (3×50mL) 和盐水 (1×50mL) 洗涤, 干燥 (Na_2SO_4), 过滤并浓缩。将残余物吸附在硅藻土上, 通过色谱来纯化, 然后通过用 EtOAc/己烷重结晶来进一步纯化, 得到 5.2g 产物 c。

[0194]



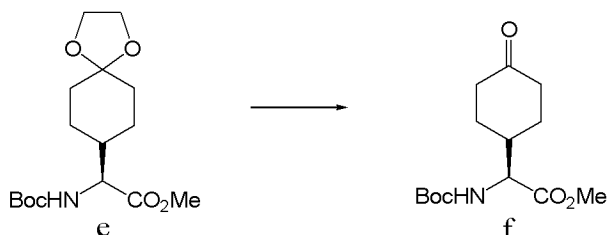
[0195] 按照 Sheih, Tetrahedron: Asymmetry, 2001, 12, 2421-2425 中描述的操作, 在 70psi 氢气下将烯酰胺 c (5.0g)、(S,S)-Me-BPE-Rh(I) (1.5g, Strem Chemicals, Newburyport, MA) 和 MeOH (100mL) 的溶液剧烈振摇 48 小时。减压除去溶剂。将残余物吸收在 EtOAc 中并过滤通过硅胶 (用 EtOAc 洗涤)。减压除去溶剂, 得到 4.0g 产物 d, 其为无色固体。

[0196]



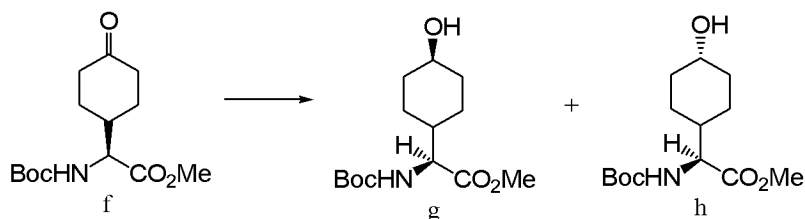
[0197] 将 Cbz-氨基甲酸酯 d (4.0g)、Boc₂O (2.9g)、20% Pd(OH)₂/C (1.0g) 和 MeOH (30mL) 的混合物在氢气下保持 6 小时。将混合物过滤通过硅藻土 (用 MeOH 洗涤)。减压除去溶剂, 得到 4.5g 残余物 e, 其直接使用。

[0198]



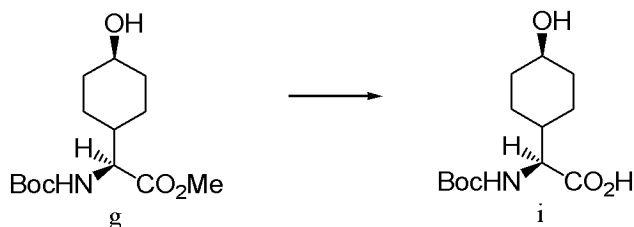
[0199] 将上述残余物 e 溶解在 H₂O (10mL)、AcOH (30mL)、THF (5mL) 和二氯乙酸 (3mL) 中, 在室温保持过夜。加入水 (5mL), 保持溶液直到水解完成 (通过 HPLC-MS 来监测)。小心加入 Na₂CO₃ 固体直到不再放出气体, 混合物用 NaHCO₃ 水溶液稀释并用 10% EtOAc/DCM 萃取。合并的有机相用盐水洗涤一次, 干燥 (Na₂SO₄), 过滤并浓缩。残余物通过色谱来纯化, 得到 2.9g 产物 f。

[0200]



[0201] 酮 f (1.5g) 和 MeOH (50mL) 的混合物在 0°C 用 NaBH₄ (290mg) 处理 20 分钟。混合物用 10% 枸橼酸水溶液酸化至 ~pH 1, 减压除去 MeOH。残余物用水稀释并用 20% EtOAc/DCM 萃取。合并的有机相用盐水洗涤一次, 干燥 (Na₂SO₄), 过滤并浓缩。残余物通过色谱来纯化, 得到 1.17g 产物 g 和 0.23g 产物 h。

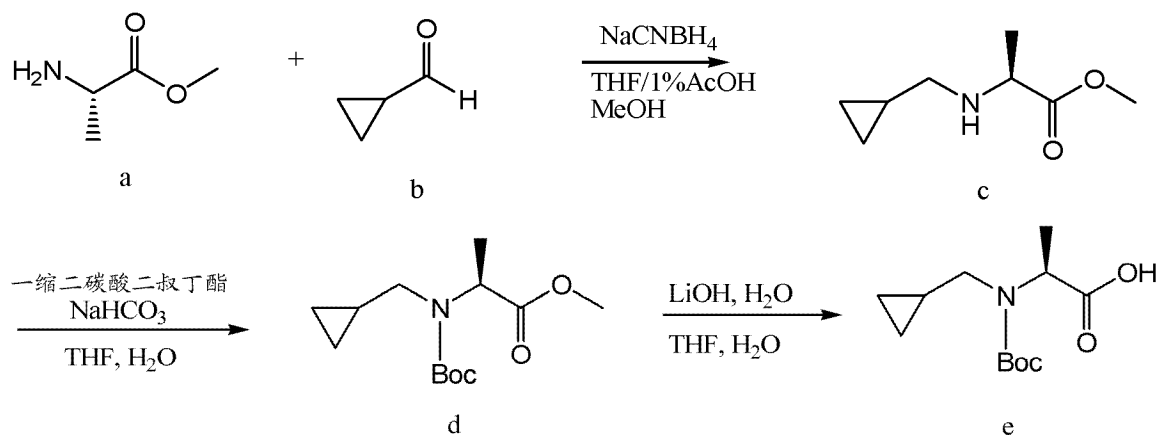
[0202]



[0203] 将酯 g (1.17g)、LiOH · H₂O (160mg)、THF (3mL) 和水 (4.5mL) 的混合物在室温剧烈搅拌过夜。混合物用盐水稀释并用 EtOAc 充分萃取。合并的有机相用盐水洗涤一次, 干燥 (Na₂SO₄), 过滤并浓缩, 得到酸 i (525mg)。

[0204] 实施例 7 :N-Boc-N-环丙基甲基-L-丙氨酸

[0205]

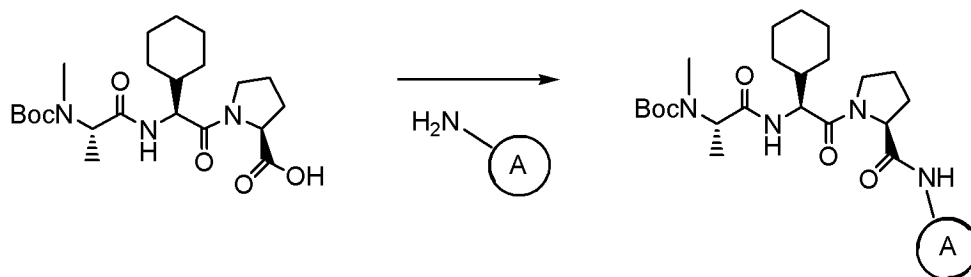


[0206] 将 L-丙氨酸甲酯盐酸盐 a (5g, 35.8mmol) 和环丙烷甲醛 b (2.67ml, 35.8mmol) 混悬在 50ml THF/1% AcOH 中。加入 5ml CH₃OH, 使混浊溶液变为澄清。加入 NaCNBH₄ (2.25g, 35.8mmol), 将反应混合物搅拌过夜。通过加入 1N NaOH 水溶液将反应淬灭, 用 EtOAc 萃取两次, 有机层用 Na₂SO₄ 干燥并浓缩至干。粗品通过色谱来纯化 (使用 30% EtOAc/己烷) (通过水合茚三酮来染色), 得到化合物 c (1g, 18%)。

[0207] 将化合物 c (1g, 6.37mmol) 和一缩二碳酸二叔丁酯 (2.1g, 9.55mmol) 在 THF (20ml) 和 H₂O (20ml) 中稀释, 加入 NaHCO₃ (1.3g, 15.9mmol)。为了使反应完成, 将反应混合物搅拌过夜。减压除去 THF, 水层用 EtOAc 萃取 3 次。合并的有机层先后用 1N NaOH、饱和 NH₄Cl 溶液和盐水洗涤, 浓缩至干。在室温将经 Boc 保护的化合物 d (1.39g, 5.40mmol) 与 LiOH·H₂O (1.14g, 27mmol) 一起在 THF (20ml) 和 H₂O (20ml) 中搅拌过夜。除去 THF, 通过加入 10% 枸橼酸将水层调至 pH = 4, 然后用 EtOAc 萃取 3 次。合并的有机层用盐水洗涤并浓缩。粗品通过反相 C-18 柱来纯化 (用 0% -50% 乙腈/H₂O 洗脱), 得到纯化合物 e, 其为白色固体 (794mg)。

[0208] 实施例 8: 酰氟偶联操作

[0209]

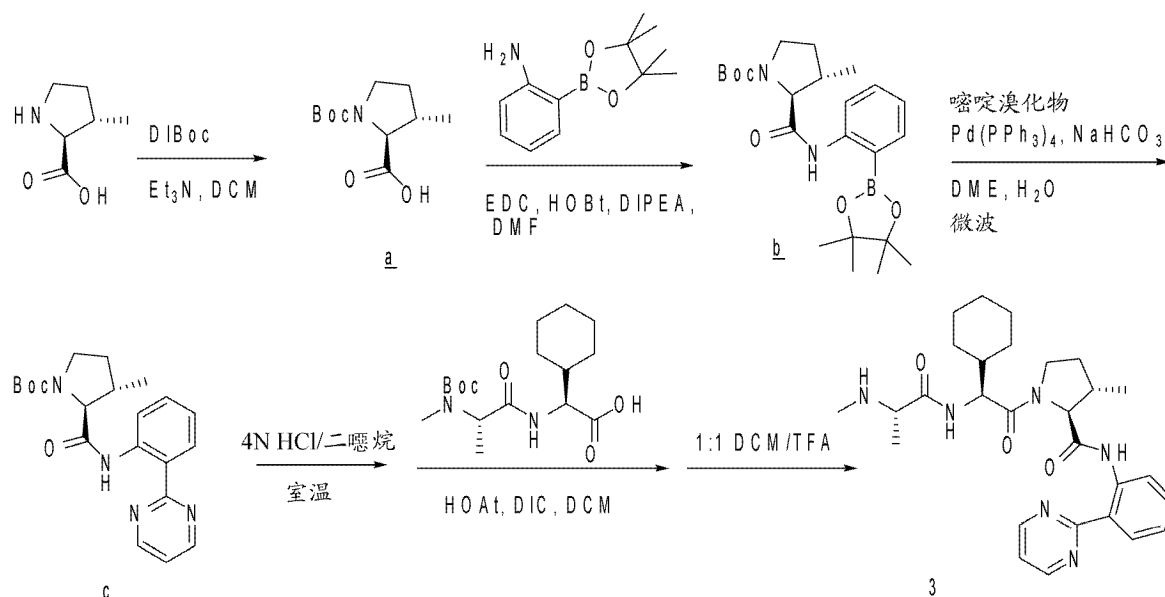


[0210] 将 Boc-MeAla-Chg-Pro-OH (2.3mmol) 和吡啶 (6.9μmol) 于无水二氯甲烷 (23ml) 中的溶液冷却至 0°C 并历时 30 秒滴加酰氟 (2.3mmol)。将混合物在 0°C 搅拌 15 分钟, 在环境温度搅拌 5 小时, 然后用水淬灭。混合物用二氯甲烷 (共 100ml) 萃取三次, 合并的有机相用盐水洗涤并用无水硫酸钠干燥。过滤并真空浓缩, 得到肽酰氟, 其为透明无色油状物, 所述油状物不经进一步纯化就直接使用。

[0211] 将粗酰氟 (0.50mmol) 和吡啶 (1.5mmol) 于二氯甲烷 (2.5ml) 中的溶液加到固体胺 (0.50mmol) 中, 将所得混合物在环境温度或或在 50°C (密封容器) 搅拌。将混合物倒入碳酸氢钠水溶液中并用二氯甲烷 (共 100ml) 萃取三次。合并的有机相用盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤并真空浓缩。粗肽酰胺不经进一步纯化就直接使用。

[0212] 实施例 9 : 化合物 3

[0213]



[0214] 将甲基 Pro-OH (0.25g, 0.0019mol) 混悬在二氯甲烷 (11mL, 0.18mol) 中, 用三乙胺 (0.81mL, 0.0058mol) 处理, 将反应混合物冷却至 0°C , 加入一缩二碳酸二叔丁酯 (0.84g, 0.0039mol), 将反应混合物温热至室温并搅拌过夜。加入 10% 枸橼酸溶液以淬灭反应。水层通过 DCM 萃取三次。合并有机层并通过硫酸钠干燥。减压除去溶剂。粗制化合物 **a** 不经进一步纯化即使用。

[0215] 将 2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯胺 (0.84g, 0.0038mol; Aldrich) 溶解在 DMF 中并用化合物 **a** (0.44g, 0.0019mol)、N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐、1-羟基苯并三唑和 DIPEA 处理。将反应混合物加热至 50°C , 持续过夜, 然后用饱和 NaHCO_3 淬灭, 用 EtOAc 萃取 3 次, 干燥, 浓缩并通过 ISCO 色谱法 (0-50% EA/Hex) 来纯化。通过 NMR 检测主要产物, NMR 表明所述主要产物为所需产物。收率 (0.4g, 50%)。

[0216] 在 40ml 微波容器中将 2-嘧啶溴化物 (0.17g, 0.0010mol; Aldrich)、化合物 **b** (0.4g, 0.0009mol)、四(三苯基膦)钯 (0) (0.054g, 0.00046mol) 和碳酸氢钠 (0.39g, 0.0046mol) 混悬在二甲氧基乙烷和水中, 在氮气下脱气并填充。将所述过程重复两次, 然后在 150°C 微波处理 20 分钟, 此时反应结束。

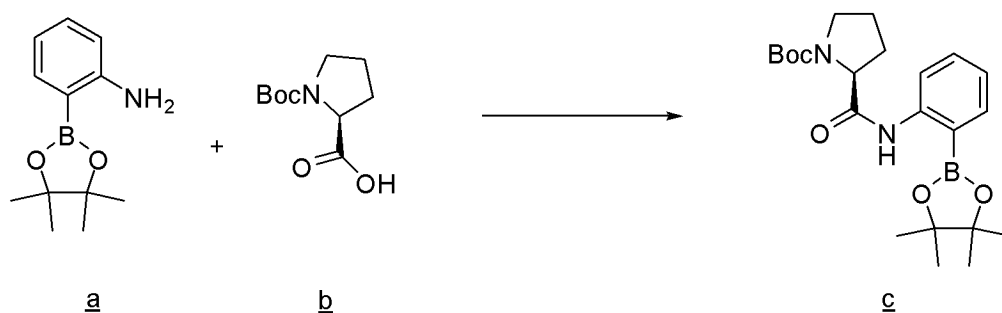
[0217] 反应混合物用 CH_2Cl_2 稀释, 用 1N NaOH 洗涤, 用 CH_2Cl_2 萃取两次, 干燥, 浓缩并通过 ISCO 色谱法 (40g 柱, 0-50% EtOAc/己烷) 来纯化。收率 (0.21g, 60%)。

[0218] 用 4N HCl /1,4-二噁烷处理化合物 **c**。反应进行 30 分钟并真空浓缩。所述粗品不经进一步纯化就用于下一步骤。

[0219] 用 DCM 稀释脱保护的化合物 **c** (200mg, 0.0007mol) 并用二肽 (270mg, 0.00080mol)、N, N'-二异丙基碳二亚胺 (0.17mL, 0.0011mol) 和 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (140mg, 0.0011mol) 处理。将反应混合物在室温搅拌 1 小时。LCMS 显示没有起始原料 (SM) (主要是 DP(二肽)) 剩余。用 DCM 稀释, 用水洗涤, 干燥有机层, 浓缩并通过 ISCO 色谱法 (50-80% EA/Hex) 来纯化。收率 (0.2g, 50%)。在室温用 1:1 $\text{TFA}:\text{DCM}$ 处理 30 分钟, 浓缩至干, 得到粗化合物 3。得到 124mg 纯物质。

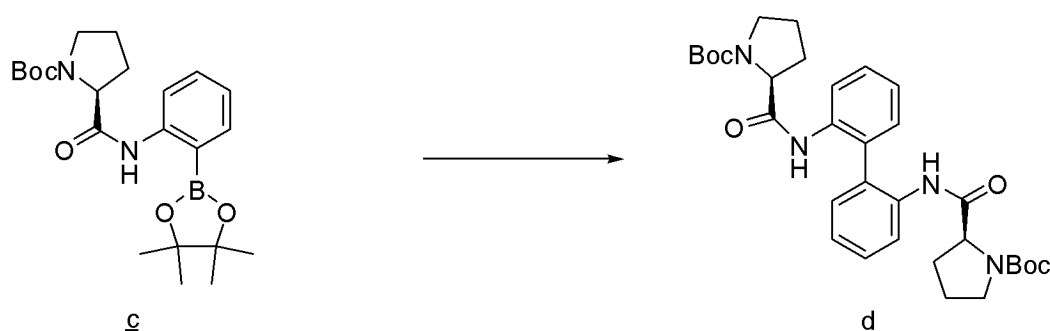
[0220] 实施例 10 : 化合物 4

[0221]



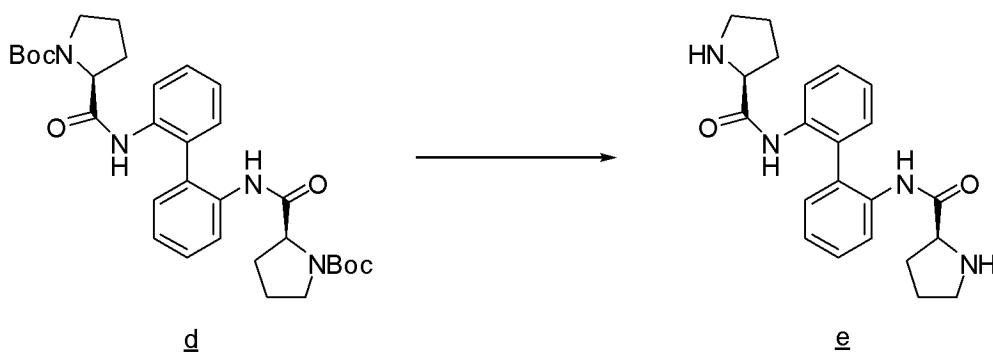
[0222] 向 2-氨基苯基硼酸频哪醇酯 **a** (3.0g, 0.014mol) 和 N-Boc-L-脯氨酸 **b** (3.0g, 0.014mol) 于 N,N-二甲基甲酰胺 (15mL) 中的溶液中先后加入 N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 (2.6g, 0.014mol)、1-羟基苯并三唑 (1.9g, 0.014mol) 和 N,N-二异丙基乙基胺 (2.4mL, 0.014mol)。将反应混合物加热至 60℃, 搅拌数天, 冷却至室温, 然后通过加入饱和碳酸氢钠水溶液来淬灭。水层用 EtOAc 萃取, 合并的有机层用 MgSO₄ 干燥, 过滤并浓缩。粗制残余物通过 ISCO 色谱法 (80g 柱, 0 至 80% EtOAc/己烷) 来纯化, 得到 (S)-2-(2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯基氨甲酰基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 **c** (2.87g, 49%)。

[0223]



[0224] 将 (S)-2-(2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)苯基氨甲酰基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 **c** (0.50g, 0.001mol)、1-溴-2-氟苯 (0.18g, 0.001mol)、碳酸钾 (0.41g, 0.003mol) 和二(三苯基膦)-二氯化钯 (II) (催化量) 混合在无水 1,2-二甲氧基乙烷 (30mL) 中。将氮气鼓泡通过反应混合物且保持 15 分钟。将反应混合物加热至 80℃ 并搅拌过夜。将反应混合物冷却至室温, 用 EtOAc 稀释, 用硅藻土过滤并浓缩。粗残余物通过 ISCO 色谱法来纯化 (40g 柱, 0 至 100% EtOAc/己烷), 得到 (2S,2'S)-2,2'-(联苯-2,2'-二基二(氮烷二基))二(氧代亚甲基)二吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 **d** (0.140g, 24%)。LC/MS :mw 578.70 ;M+H⁺ = 579.5。

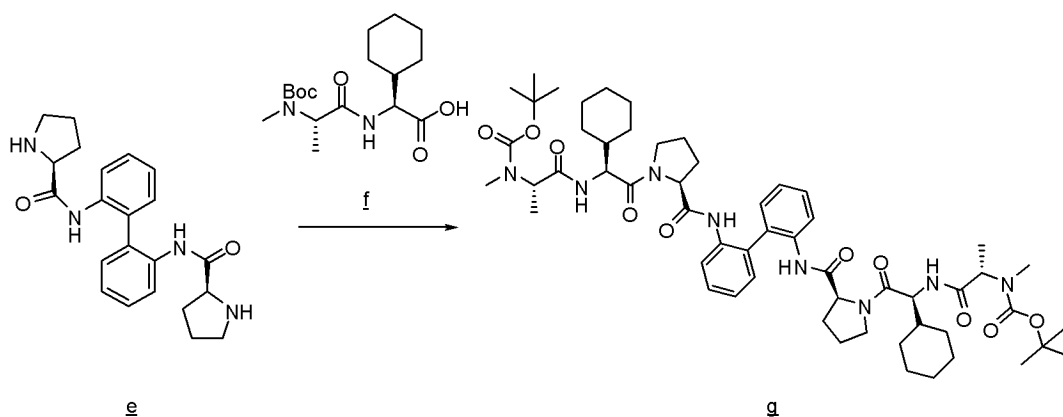
[0225]



[0226] 将 (2S,2'S)-2,2'-(联苯-2,2'-二基二(氮烷二基))二(氧代亚甲基)二吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 **d** (0.140g, 0.24mmol) 混悬在 4M HCl/二噁烷溶液中,在室温搅拌 4 小时直到 LCMS 表明完全脱保护。浓缩反应混合物,得到

[0227] (2S,2'S)-N,N'-(联苯-2,2'-二基)二吡咯烷-2-甲酰胺 **e** (0.09g, 100%)。LC/MS :mw 378.47 ; $M+H^+$ = 379.2。

[0228]

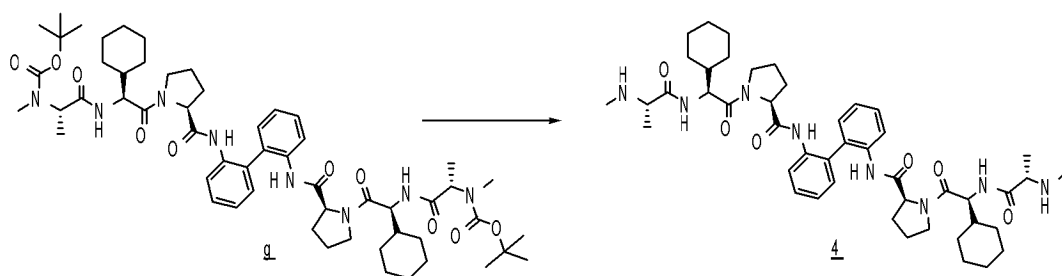


[0229] 向 (2S,2'S)-N,N'-(联苯-2,2'-二基)二吡咯烷-2-甲酰胺 **e** (0.09g, 0.24mmol) 中加入 CH_2Cl_2 (10mL) 并在冰浴中冷却。向该混合物中加入 N,N-二异丙基乙基胺 (0.16mL, 0.96mmol) 和 HOAt (0.07g, 0.58mmol), 将其在室温搅拌 5 分钟, 加入 DIC (0.09mL, 0.58mmol)。然后将混合物在室温搅拌过夜, 用

[0230] EtOAc (25mL) 稀释, 然后通过加入饱和碳酸氢钠水溶液来淬灭。水层用 EtOAc 萃取, 合并的有机层用 $MgSO_4$ 干燥, 过滤并浓缩。粗残余物通过 ISCO 色谱法来纯化 (12g 柱, 0 至 100% EtOAc/己烷), 得到

[0231] (2S,2'S)-1,1'-(1S,1'S)-2,2'-((2S,2'S)-2,2'-(联苯-2,2'-二基二(氮烷二基))二(氧代-亚甲基)二(吡咯烷-2,1-二基))二(1-环己基-2-氧代乙烷-2,1-二基)二(氮烷二基)二(1-氧代丙烷-2,1-二基)二(甲基氨基甲酸叔丁酯) **g** (0.141g, 57%)。LC/MS :mw 1027.30 ; $M+H^+$ = 1027.8。

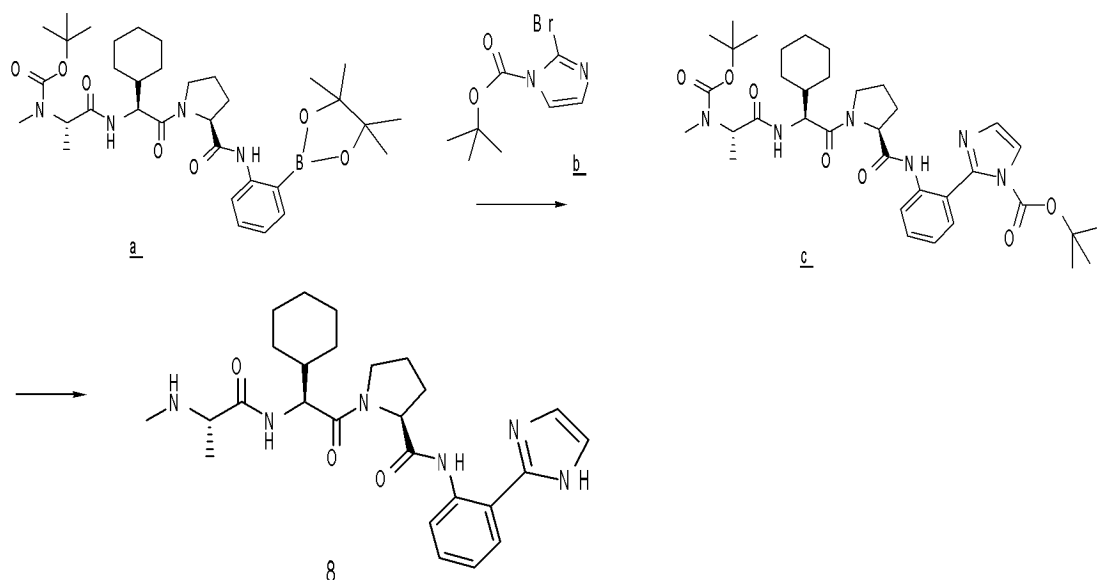
[0232]



[0233] 向 (2S,2'S)-1,1'-(1S,1'S)-2,2'-((2S,2'S)-2,2'-(联苯-2,2'-二基二(氮烷二基))二(氧代-亚甲基)二(吡咯烷-2,1-二基))二(1-环己基-2-氧代乙烷-2,1-二基)二(氮烷二基)二(1-氧代丙烷-2,1-二基)二(甲基氨基甲酸叔丁酯) **g** (0.141g, 0.14mmol) 中加入 CH_2Cl_2 (2mL) 和 TFA (2mL), 将其搅拌 2 小时并浓缩。残余物通过 HPLC 来纯化, 得到化合物 **4** 即 (S,S,2S,2'S)-N,N'-((联苯-2,2'-二基)二(1-((S)-2-环己基-2-((S)-2-(甲基氨基)-丙烷酰氨基)乙酰基)吡咯烷-2-甲酰胺)) (0.015g, 14%)。LC/MS :mw 827.07 ; $\text{M}+\text{H}^+$ = 827.5。

[0234] 实施例 11 : 化合物 **8**

[0235]



[0236] 在 40ml 微波容器中将肽 **a** (0.34g, 0.00053mol)、**b** (0.26g, 0.0011mol)、四(三苯基膦) 钯 (0) (0.031g, 0.000026mol) 和碳酸氢钠 (0.22g, 0.0026mol) 混悬在二甲氧基乙烷和水中, 在氮气下脱气并填充。将所述过程重复 2 次。在 150℃ 微波处理 20 分钟, 此时反应完成。LCMS 显示出所需产物峰。反应混合物用 CH_2Cl_2 稀释, 用 1N NaOH 洗涤, 用 CH_2Cl_2 萃取 2 次, 干燥并浓缩。通过 ISCO 色谱法来纯化 (40g 柱, 0-50% EtOAc/ 己烷)。使中间体 **c** 与 TFA 在二氯甲烷中反应 30 分钟并浓缩。LCMS 显示出 4 个主要峰, DP 峰在 1.32 分钟处。将化合物溶解在 DMF 中, 通过制备性 HPLC 来纯化 (历时 20 分钟 5% -30% 且流速降至 30ml/min) 并冻干, 得到 22mg 化合物 **8**, 其为白色松散粉末。

[0237] 实施例 12 : IAP 抑制测定

[0238] 在以下的实验中, 使用称为 MLXBIR3SG 的嵌合 BIR 结构域, 其中 110 个残基中的 11 个与在 XIAP-BIR3 中发现的残基相应, 而剩余的残基与 ML-IAP-BIR 相应。已证明嵌合蛋白质 (chimeric protein) MLXBIR3SG 对胰天蛋白酶-9 的结合和抑制显著好于任一天然的 BIR

结构域,但与基于 Smac 的肽和成熟的 Smac 结合的亲和力与天然的 ML-IAP-BIR 结合的亲和力相似。当转染至 MCF7 细胞时,已经将嵌合 BIR 结构域 MLXBIR3SG 对胱天蛋白酶-9 的抑制改善与对多柔比星所诱导细胞凋亡的抑制增加相关联。

[0239] MLXBIR3SG 序列:

[0240] MGSSHHHHHSSGLVPRGSHMLETEEEEEEGAGATLSRGPAPPGMGSEELRLASFYDWPLTAEVPPELLAAAGFFHTGHQDKVRCFFCYGGLQSWKRGDDPWTEHAKWFPGCQFLLRSKGQEYINNIHLTHSL (SEQ ID NO. : 1)

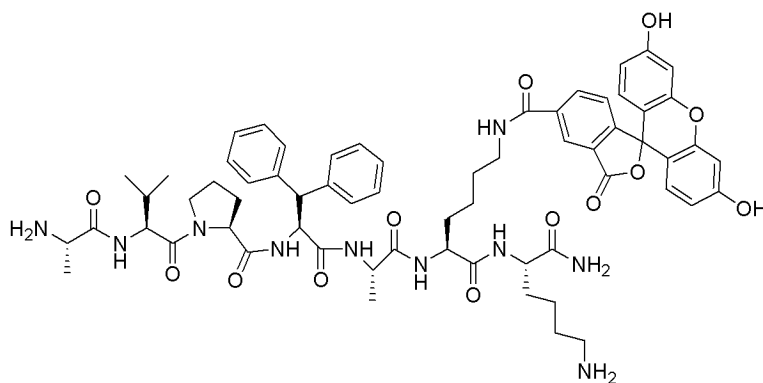
[0241] TR-FRET 肽结合测定

[0242] 根据 Kolb 等人的操作 (Journal of Biomolecular Screening, 1996, 1(4) : 203), 在 Wallac Victor2 Multilabeled Counter Reader (Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, Inc.) 上进行时间分辨荧光共振能量转移竞争实验 (Time-Resolved Fluorescence Resonance Energy Transfer competition experiments)。在试剂缓冲液 (50mM Tris [pH 7.2], 120mM NaCl, 0.1% 牛球蛋白, 5mM DTT 和 0.05% 辛基葡萄糖苷 (octylglucoside)) 中制备鸡尾酒试剂 (reagent cocktail) (含有 300nM his 标记的 MLXBIR3SG、200nM 生物素化的 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-镧 (streptavidin-europium) (Perkin Elmer))。(可供选择地,该鸡尾酒试剂可使用浓度分别为 6.5nM 和 25nM 的镧标记的抗 His (Perkin Elmer) 和链霉抗生物素-别藻蓝蛋白 (Perkin Elmer) 来制备)。将鸡尾酒试剂在室温孵育 30 分钟。孵育后,将鸡尾酒试剂加到于 384 孔黑色 FIA 板 (Greiner Bio-One, Inc.) 中的 1 : 3 连续稀释的拮抗剂化合物 (起始浓度为 50 μ M) 中。在室温孵育 90 分钟后,用滤光片针对镧的激发波长 (340nm) 和镧的发射波长 (615nm) 及别藻蓝蛋白的发射波长 (665nm) 对荧光进行读数。将拮抗剂数据计算为别藻蓝蛋白在 665nm 的发射信号与镧在 615nm 的发射信号的比值 (为了便于数据处理,将这些比值乘以因子 10,000)。将所得到的值描绘为拮抗剂浓度的函数,且使用 Kaleidograph 软件 (Synergy Software, Reading, PA) 拟合成 4 参数方程。拮抗剂效能的指标从 IC_{50} 值确定。被发现具有 IAP 抑制活性的本发明化合物在该测定中得到证明。

[0243] 荧光偏振肽结合测定

[0244] 根据 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 的操作在 Analyst HT 96-384 (Molecular Devices Corp.) 上进行偏振实验。用于荧光偏振亲和力测量的样品如下制备:将 1 : 2 连续稀释的 MLXBIR3SG (从终浓度 5 μ M 开始) 在极性缓冲液 (50mM Tris [pH 7.2], 120mM NaCl, 1% 牛球蛋白, 5mM DTT 和 0.05% 辛基葡萄糖苷) 中的溶液加至 5nM 终浓度的 5-羧基荧光素结合的 AVPdi-Phe-NH₂ (AVP-diPhe-FAM) 中。

[0245]



[0246] AVP-diPhe-FAM 探针

[0247] 在室温孵育 10 分钟后,用标准截止滤光片 (cut-off filter) 针对 96 孔黑色 HE96 板 (Molecular Devices Corp.) 中的荧光素荧光基团 ($\lambda_{\text{ex}} = 485\text{nm}$; $\lambda_{\text{em}} = 530\text{nm}$) 对反应混合物进行读数。将荧光值描绘为蛋白质浓度的函数,且半数抑制浓度 (IC_{50}) 如下得到: 使用 Kaleidograph 软件 (Synergy software, Reading, PA) 将数据拟合成 4 参数方程。竞争实验如下进行:将浓度为 30nM 的 MLXBIR3SG 加至含有 5nM AVP-diPhe-FAM 探针和 1 : 3 连续稀释的拮抗化合物 (从浓度 300 μM 开始) 于偏振缓冲液中的溶液的孔中。孵育 10 分钟后对样品进行读数。将荧光偏振值描绘为拮抗剂浓度的函数,并通过使用 Kaleidograph 软件 (Synergy software, Reading, PA) 将数据拟合成 4 参数方程来得到 IC_{50} 值。由 IC_{50} 值计算拮抗剂的抑制常数 (K_i) 值。被发现具有 IAP 抑制活性的本发明化合物在该测定中得到证明。