



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102105485 B

(45) 授权公告日 2016. 01. 13

(21) 申请号 200980128709. 7

(22) 申请日 2009. 05. 21

(30) 优先权数据

61/128, 253 2008. 05. 21 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011. 01. 21

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CA2009/000696 2009. 05. 21

(87) PCT国际申请的公布数据

W02009/140765 EN 2009. 11. 26

(73) 专利权人 新世界实验室公司

地址 加拿大魁北克

(72) 发明人 扬 - 埃里克 · 阿尔福斯

哈立德 · 马库瓦尔

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任
公司 11021

代理人 柳春琦

(51) Int. Cl.

C07K 7/06(2006. 01)

A61K 31/223(2006. 01)

A61K 31/47(2006. 01)

A61K 31/5375(2006. 01)

A61K 31/662(2006. 01)

A61K 38/00(2006. 01)

C07C 237/12(2006. 01)

C07C 237/20(2006. 01)

C07C 317/48(2006. 01)

C07D 215/14(2006. 01)

C07D 295/26(2006. 01)

C07F 9/40(2006. 01)

C07K 5/08(2006. 01)

C07K 5/10(2006. 01)

C07K 14/81(2006. 01)

C12N 9/64(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1513871 A, 2004. 07. 21,

CN 101161672 A, 2008. 04. 16,

WO 9630395 A2, 1996. 10. 03,

审查员 冯晓亮

权利要求书4页 说明书92页

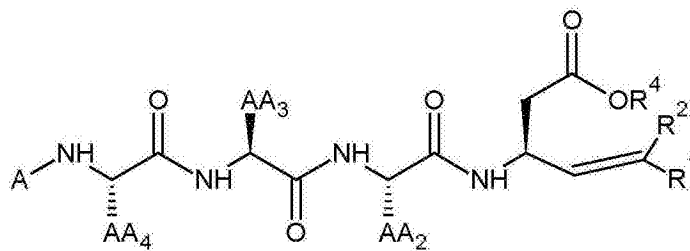
(54) 发明名称

选择性胱天蛋白酶抑制剂及其用途

(57) 摘要

本发明涉及式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 的化合物和它们的药物用途。本发明的具体方面涉及这些化合物用于选择性抑制一种或多种胱天蛋白酶的用途。还描述的是其中将式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 的化合物用于预防和 / 或治疗受治者的各种疾病和病症的方法, 所述疾病和病症包括胱天蛋白酶介导的疾病如脓毒症, 心肌梗死, 缺血性卒中, 脊髓损伤 (SCI), 外伤性脑损伤 (TBI) 和神经变性疾病 (例如多发性硬化 (MS) 和阿尔茨海默病, 帕金森病和亨廷顿病)。

1. 式 IIA 的化合物



IIA

其中

A 是

1) H,

2) $R^3-OC(O)-$; 或

3) $PhCH_2OC(O)-$;

AA_2 是 Val, Leu, Met, Ala, Thr, His, Trp 或 Ile 的氨基酸侧链;

AA_3 是 Trp, Tyr, Ala, Asp, Gln, Glu, Phe, Ser, Thr, Val, Gly 或 Leu 的 (R) 或 (S) 氨基酸侧链; 或 AA_3 是苯基甘氨酸, 茚满基甘氨酸或 Ala-(2'-喹啉基);

AA_4 是 Asp, Ile, Leu, Glu, Ala, Val, Tyr, Trp 或 Phe 的氨基酸侧链;

R^1 是

1) SO_2R^5 , 或

2) SO_3R^5 ,

R^2 是

1) H, 或

2) 卤素,

R^3 是

1) C_1-C_6 烷基,

2) 芳基,

3) 杂芳基, 或

4) 杂环基;

R^4 是

1) H, 或

2) C_1-C_6 烷基;

R^5 是

1) H,

2) C_1-C_6 烷基,

3) 芳基, 或

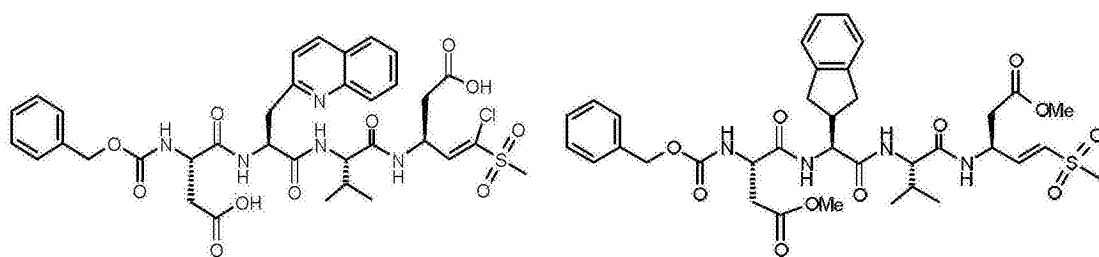
4) 杂环基;

或其药用盐, 或所述化合物是用可检测的标记标记的。

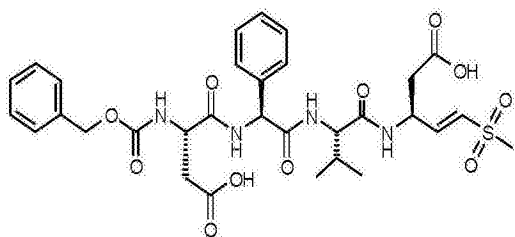
2. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中 A 是 H。

3. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中 A 是 $PhCH_2OC(O)-$ 。

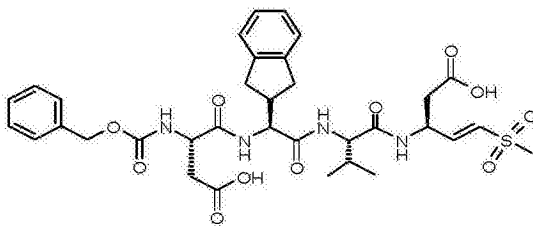
4. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中 R^4 是 H 或 CH_3 。
5. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中 R^4 是 H。
6. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中 R^1 处于反式构型。
7. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中 R^2 是 H 或 Cl。
8. 根据权利要求 7 所述的化合物, 其中 R^2 是 Cl。
9. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中
 AA_2 是 Val, Leu, Met, Ala, Thr 或 His 的氨基酸侧链;
 AA_3 是 Trp, Tyr, Ala, Asp, Gln, Phe, Ser, Thr, Val, Gly 或 Leu 的氨基酸侧链; 或 AA_3 是苯基甘氨酸, 茚满基甘氨酸或 Ala-(2'-喹啉基);
 AA_4 是 Asp 的氨基酸侧链;
并且其中 A, R^1 , R^2 和 R^4 如权利要求 1 中所定义。
10. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中
 AA_2 是 Thr, His, Val, Trp, Ile 或 Ala 的氨基酸侧链,
 AA_3 是 Glu 的氨基酸侧链或 AA_3 是 Ala-(2'-喹啉基);
 AA_4 是 Ile, Leu, Glu, Asp, Ala 或 Val 的氨基酸侧链;
并且其中 A, R^1 , R^2 和 R^4 如权利要求 1 中所定义。
11. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中
 AA_2 是 Val, Ala, Thr 或 His 的氨基酸侧链;
 AA_3 是 Glu, Gln, Asp, Ala, Gly, Thr, Val 或 Trp 的氨基酸侧链; 或 AA_3 是苯基甘氨酸或茚满基甘氨酸;
 AA_4 是 Tyr, Trp, Phe 或 Asp 的氨基酸侧链;
并且其中 A, R^1 , R^2 和 R^4 如权利要求 1 中所定义。
12. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中 AA_2 是 Val 并且 AA_4 选自包括 β 甲基形式在内的 Asp 和 Tyr。
13. 根据权利要求 1 的化合物, 其选自由以下组成的组:



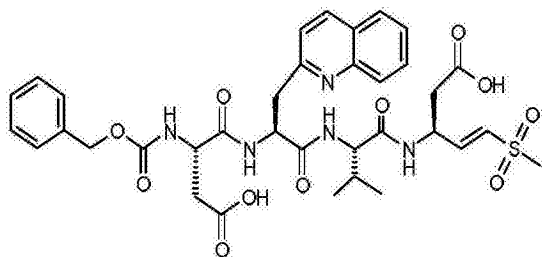
化合物#48



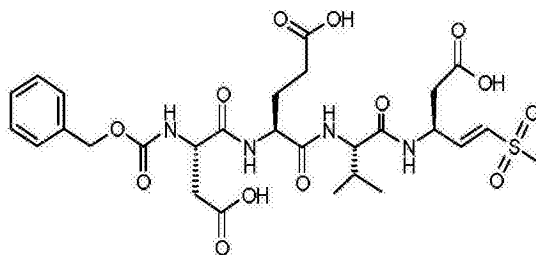
化合物#51



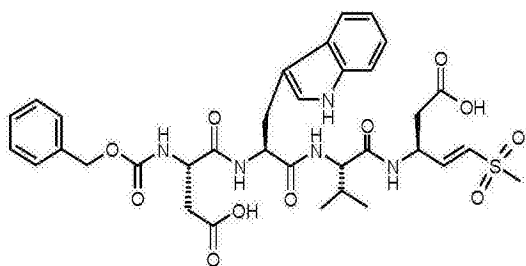
化合物#53



化合物#57



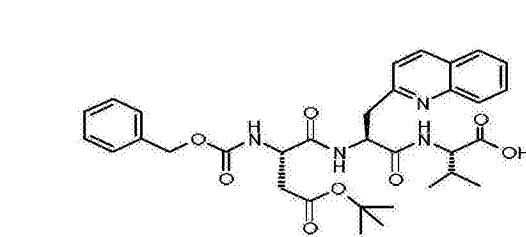
化合物#55



化合物#59

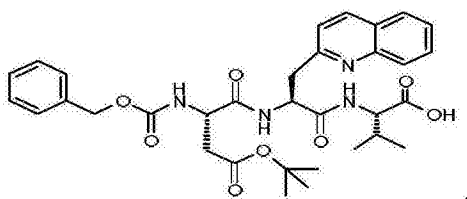
; 和

化合物#88

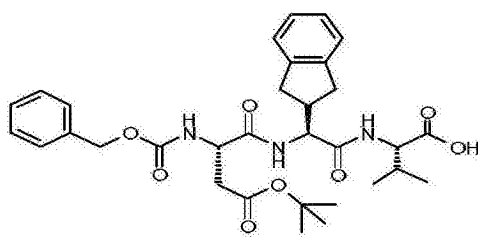


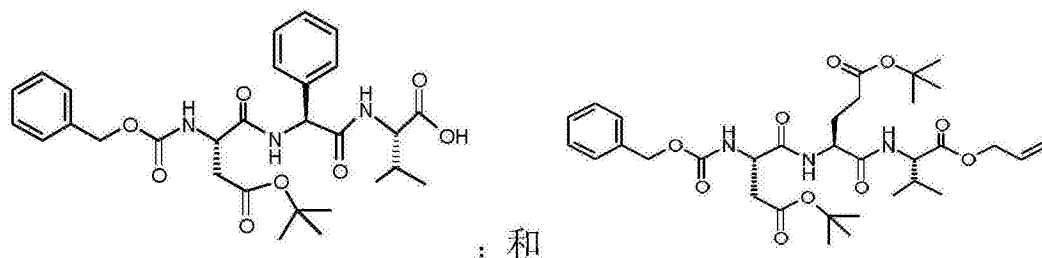
14. 一种中间体化合物,其选自由以下组成的组:

化合物#4



化合物#12





化合物#16

化合物#19

15. 一种用于预防和/或治疗需要它的受治者的胱天蛋白酶-3相关的疾病的药物组合物,其包含有效量的根据权利要求1-13中任何一项的化合物。

16. 根据权利要求1-13中任何一项的化合物用于制备药物的用途,所述药物用于预防和/或治疗需要它的受治者的胱天蛋白酶-3相关的疾病。

17. 根据权利要求16所述的用途,其中所述疾病选自由以下组成的组:凋亡介导的疾病,IL-1介导的疾病,炎症疾病,自身免疫疾病,变性疾病,呼吸窘迫综合征,格雷夫斯病,糖尿病,血小板减少,移植物抗宿主病,骨质疏松症,白血病和相关紊乱,多发性骨髓瘤相关疾病,转移性黑色素瘤,卡波西肉瘤,阿尔茨海默病,帕金森病,亨廷顿病,脑缺血,癫痫,心肌缺血,急性和慢性心脏病,心肌梗死,充血性心力衰竭,动脉粥样硬化,脊髓性肌萎缩,肌萎缩侧索硬化,多发性硬化,老化,由卒中造成的神经性损伤,外伤性脑损伤,脊髓损伤,肝相关疾病和肾病。

18. 根据权利要求17所述的用途,其中所述疾病选自由以下组成的组:视网膜异常,自身炎症性疾病,炎症性腹膜炎,骨关节炎,胰腺炎,哮喘,硬皮病,炎症性肠病,皮炎,脓毒病,脓毒性休克,HIV相关的脑炎,溃疡性结肠炎,肝炎,类风湿性关节炎,系统性红斑狼疮,自身免疫性胃炎,自身免疫性溶血性贫血,自身免疫性中性白细胞减少,银屑病和器官移植排斥。

19. 根据权利要求18所述的用途,其中所述疾病选自由以下组成的组:局限性回肠炎,乙型肝炎,丙型肝炎和庚型肝炎。

20. 根据权利要求1-13中任何一项的化合物用于制备药物的用途,所述药物用于治疗细胞或组织中受胱天蛋白酶-3活性影响的过度凋亡。

选择性胱天蛋白酶抑制剂及其用途

发明领域

[0001] 本发明涉及化学化合物和它们的药物用途。更具体地,本发明涉及胱天蛋白酶的选择性抑制剂和它们用于预防和/或治疗受治者的各种疾病和病症的用途。

[0002] 发明背景

[0003] 胱天蛋白酶包括具有众所周知的在凋亡信号传导途径和细胞分解中起关键介体作用的半胱氨酸蛋白酶家族。白介素转变酶 (ICE), 也称作胱天蛋白酶-1, 是首先被识别的胱天蛋白酶。在人类中, 已经进一步识别了 11 种其它已知胱天蛋白酶。胱天蛋白酶根据它们的效果被分类成两大组: 促凋亡 (proapoptotic) 胱天蛋白酶 (胱天蛋白酶-2, 3, 6, 7, 8, 9, 10) 和促炎 (proinflammatory) 胱天蛋白酶 (胱天蛋白酶-1, 4, 5, 11, 12)。促凋亡胱天蛋白酶被分成起始子 (胱天蛋白酶-2, 8, 9, 10), 也称为组 II, 和凋亡过程的处决者 (executioner) (胱天蛋白酶-3, 6, 7) 或组 III。白介素转变酶 (ICE), 也称作胱天蛋白酶-1, 仅具有促炎作用。

[0004] 有越来越多的证据表明胱天蛋白酶在非常多的病理中起作用。例如, 已知促凋亡胱天蛋白酶涉及许多心血管疾病的发病机理。一些促凋亡胱天蛋白酶如胱天蛋白酶-8 还拥有可能有助于肿瘤进展的非凋亡功能。胱天蛋白酶-1 在对于致病性感染以及炎性和自身免疫紊乱的响应中起重要作用。另外, 胱天蛋白酶-1 活性在糖尿病患者的视网膜中升高, 并且构成哺乳动物心脏的心肌细胞程序性细胞死亡的关键性的调节剂。胱天蛋白酶还在神经变性疾病和外伤中起作用。例如, 已经显示胱天蛋白酶-3 级联 (cascade) 由于外伤性脊髓损伤而高度活化。最后, 已经报道了肌萎缩侧索硬化 (ALS) 患者的胱天蛋白酶-1 和胱天蛋白酶-3 的活化和 ALS 末期小鼠模型中的胱天蛋白酶-7, -8 和 -9 的活化。据报道, 在急性疾病 (例如脓毒病, 心肌梗死 (MI), 缺血性卒中, 脊髓损伤 (SCI), 外伤性脑损伤 (TBI)) 和神经变性疾病 (例如阿尔茨海默病, 帕金森病和亨廷顿病, 和多发性硬化 (MS)) 的细胞损伤位点经常观察到凋亡和胱天蛋白酶活性 (特别是胱天蛋白酶-3) 水平提高。

[0005] 由于胱天蛋白酶涉及许多疾病, 已经开发出数种化合物和方法以钝化它们。例如, 广谱不可逆胱天蛋白酶抑制剂苄氧基羰基-Val-Ala-Asp-氟甲基酮 (z-VAD-fmk) 在动物模型中是保护性和有效阻断死亡受体介导的肝损伤 (Rodriguez 等 (1996), J Exp Med. 1996 Nov 1; 184(5): 2067-72)。在动物模型中, 心肌梗死和导致的肌细胞死亡被 z-VAD-fmk 和相关的肽抑制剂改善 (Yaoita 等, 1998) Circulation 97: 276-281)。还有许多努力用于识别肽酶的抑制剂。例如, Hanzlik 和 Thompson (J. Med. Chem. (1984), 27(6), 711-712) 描述了用于钝化硫醇蛋白酶的插烯氨基酸酯。Thompson 等 (J. Med. Chem. (1986), 29(1), 104-111) 描述了羧基改性的氨基酸和肽作为蛋白酶抑制剂。Liu 和 Hanzlik 制备了一系列肽基迈克尔受体 (peptidyl Michael acceptor), 其具有不同的吸电子基团, 有不同的识别和结合基团, 作为木瓜蛋白酶 (半胱氨酸蛋白酶家族成员之一) 的钝化剂。类似地, Palmer 等 (1997) 的美国专利 5, 976, 858 和 6, 287, 840 描述了含有与吸电子基团共轭的乙烯基的不可逆半胱氨酸蛋白酶抑制剂。然而, 这些和其它化合物对于胱天蛋白酶不是有效的, 因为胱天蛋白酶属于最特异性的内肽酶。

[0006] 考虑到它们在几种疾病和病症中所起的作用,需要能够选择性地靶向特定的胰蛋白酶或一组胰蛋白酶的化合物。还需要用于治疗胰蛋白酶相关的疾病的有效药物组合物和方法。

[0007] 本发明针对的是这些对于新疗法、新治疗方法、化合物和药物组合物的需要。

[0008] 本发明的另外的特征将通过阅读下面的本发明的公开内容、附图和描述而明显。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明涉及如本文中定义的根据式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 中任一个的化合物,其组合物和用于预防和 / 或治疗受治者的胰蛋白酶相关的疾病的方法。本发明的具体方面涉及如本文定义的根据式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 中任一个的化合物的用途。

[0011] 本发明的一个方面涉及用于预防和 / 或治疗需要它的受治者的胰蛋白酶相关的疾病的方法,该方法包括向所述受治者给药有效量的如本文定义的由式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 中任一个表示的化合物。

[0012] 本发明的一个方面涉及如本文定义的由式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 中任一个表示的化合物用于预防和 / 或治疗需要它的受治者的胰蛋白酶相关的疾病的用途。

[0013] 本发明的另一相关方面涉及如本文定义的由式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 中任一个表示的化合物用于制备药物的用途,所述药物用于预防和 / 或治疗需要它的受治者的胰蛋白酶相关的疾病。

[0014] 本发明的一个方面涉及用于治疗细胞或组织中受胰蛋白酶活性影响的过度凋亡的方法,该方法包括:使所述细胞或组织与有效量的一种或多种如本文定义的由式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 中任一个表示的化合物接触,以治疗过度凋亡。

[0015] 本发明的一个具体方面涉及如本文定义的由式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 中任一个表示的化合物用于凋亡介导的疾病的用途。

[0016] 如本文定义的胰蛋白酶相关的疾病选自自由以下组成的组:凋亡介导的疾病,IL-1 介导的疾病,炎症性疾病,自身免疫性疾病,自身炎症性 (autoinflammatory) 疾病,增生性疾病,传染病,变性疾病,视网膜异常,炎症性腹膜炎,骨关节炎,胰腺炎,哮喘,呼吸窘迫综合征,类风湿性关节炎,系统性红斑狼疮 (erythematous),硬皮病,格雷夫斯病,自身免疫性胃炎,糖尿病,自身免疫性溶血性贫血,自身免疫性中性白细胞减少,血小板减少,肝炎,炎症性肠病,局限性回肠炎,银屑病,皮炎,移植物抗宿主病,器官移植排斥,骨质疏松症,白血病和相关紊乱,多发性骨髓瘤相关疾病,转移性黑色素瘤,卡波西肉瘤,脓毒病,脓毒性休克,阿尔茨海默病,帕金森病,亨廷顿病,脑缺血,癫痫,心肌缺血,急性和慢性心脏病,心肌梗死,充血性心力衰竭,动脉粥样硬化,脊髓性肌萎缩,肌萎缩侧索硬化,多发性硬化,HIV 相关的脑炎,老化,由卒中造成的神经性损伤,溃疡性结肠炎,外伤性脑损伤,脊髓损伤,乙型肝炎,丙型肝炎,庚型肝炎,肝相关疾病,肾病和 HIV 感染。

[0017] 根据本发明的化合物的具体实施例示于表 1 中。

[0018] 本发明还提供靶向胰蛋白酶的方法和策略。在一个实施方案中,该方法包括设计自杀 (suicide) 底物,导致对胰蛋白酶的永久抑制。优选地,该方法包括设计一种底物,该底物对于胰蛋白酶,特别是一种或多种特定的胰蛋白酶是足够可识别的,以适配到其中,从而潜在地在特定位置裂开 (cleave),裂开方式使得胰蛋白酶酶不可逆地结合于底物,从而导致该胰蛋白酶的永久抑制。在一些实施方案中,本发明的自杀底物是乙烯

基吸电子基团 (EWG)。

[0019] 本发明的更多方面将由以下的描述、权利要求和其中的概括而对本领域技术人员显而易见。

[0020] 发明详述

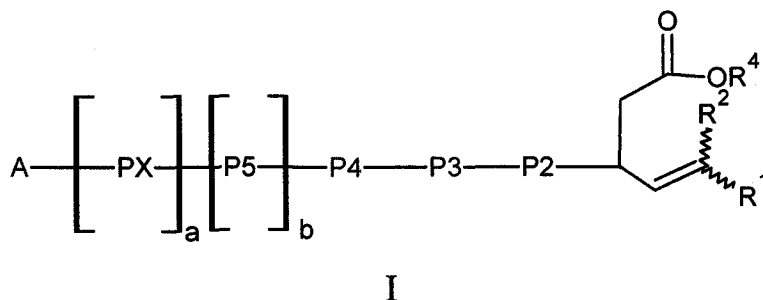
[0021] A) 发明综述

[0022] 本发明的发明人发现了具有有益药物性质的化合物,并且这些化合物可有效用于胱天蛋白酶介导的疾病如脓毒病,心肌梗死,缺血性卒中,脊髓损伤 (SCI),外伤性脑损伤 (TBI) 和神经变性疾病 (例如多发性硬化 (MS) 和阿尔茨海默病,帕金森病,和亨廷顿病)。

[0023] B) 本发明的化合物

[0024] 宽泛而言,本发明涉及由式 I 表示的化合物

[0025]



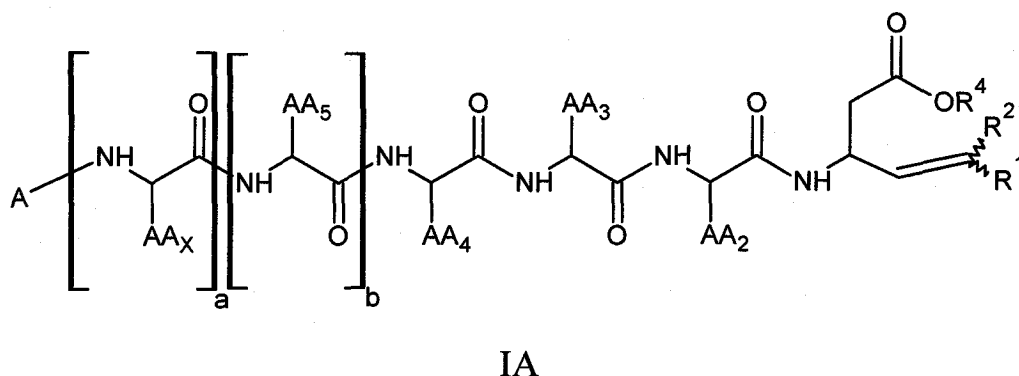
[0026] 其中 A, PX, P5, P4, P3, P2, R¹, R², a 和 b 如上文和下文所定义;或其前药,或药用盐,以允许药物渗透细胞膜,或者所述化合物是用可检测的标记或亲和标记物标记的。

[0027] 线“-“在位于 P2, P3, P4, P5 和 PX 之间时表示肽键或拟肽键 (peptidomimetic bond);PX, P5, P4, P3, P2 氨基酸残基通常经由肽键,就是说,肽的氨基甲酰基,即 --CONH-- 连接。然而,也考虑拟肽键,如 CH₂-NH, CO-CH₂, 氮杂肽 (azapeptide) 和逆-反 (retro-inverso) 键。

[0028] 结合到乙烯基上的 R¹和 R²可以处于顺式构型或反式构型,如由波浪线所表示的。在一个实例中, R¹被形成为反式的,使得 R¹基团的吸电子能力被稳定化。

[0029] 还包括在本发明的范围内的是式 IA 的化合物:

[0030]

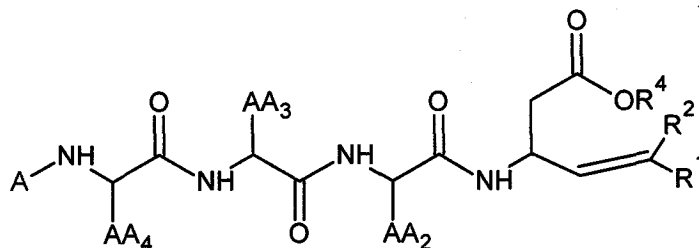


[0031] 其中 A, AA_x, AA₅, AA₄, AA₃, AA₂, R¹, R², a 和 b 如上文和下文所定义;

[0032] 或其前药,或药用盐,以允许该药物渗透细胞膜,或者该化合物是用可检测的标记或亲和标记物标记的。

[0033] 因此,当 a 和 b 都是 0 时,本发明包括式 II 的化合物:

[0034]

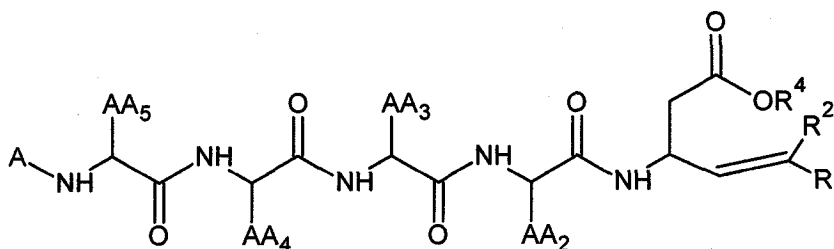


II

[0035] 其中 A, AA₄, AA₃, AA₂, R¹和 R²如上文和下文所定义。

[0036] 此外,当 a 是 0 并且 b 是 1 时,本发明包括式 III 的化合物

[0037]

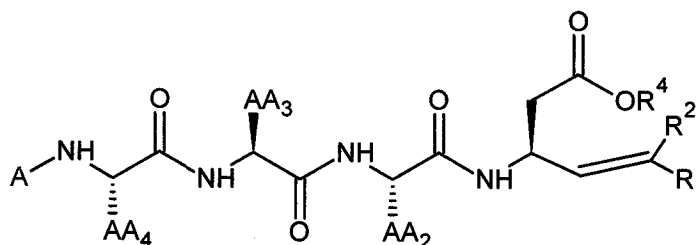


III

[0038] 其中 A, AA₅, AA₄, AA₃, AA₂, R¹和 R²如上文和下文所定义。

[0039] 式 II 化合物的一个子集包括式 IIA 的化合物:

[0040]

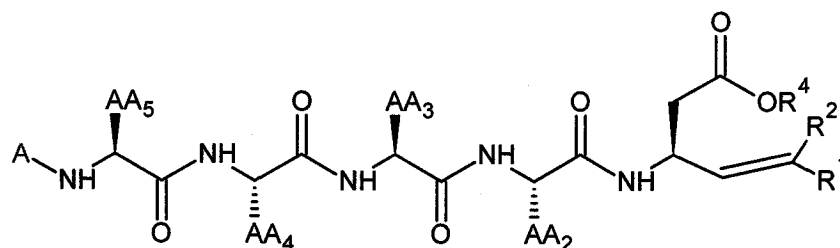


IIA

[0041] 其中 A, AA₄, AA₃, AA₂, R¹和 R²如上文和下文所定义。

[0042] 式 III 化合物的一个子集包括式 IIIA 的化合物:

[0043]



IIIA

[0044] 其中 A, AA₅, AA₄, AA₃, AA₂, R¹和 R²如上文和下文所定义。

[0045] a 和 b :

[0046] 在本发明化合物的一个子集中, a 是 0 或 1 ;并且 b 是 0 或 1,条件是当 b 是 0 时, a 是 0。

[0047] 在一个实例中, a 和 b 都是 0。

[0048] 在另一个实例中, a 是 0 并且 b 是 1。

[0049] A :

[0050] 在一个子集中, A 是

[0051] 1) H,

[0052] 2) C_1-C_6 烷基,

[0053] 3) 芳基,

[0054] 4) 杂芳基,

[0055] 5) 杂环基,

[0056] 6) $R^3-OC(O)-$;

[0057] 7) $R^3-C(O)O-$, 或

[0058] 8) $R^3-S(O)_2-$;

[0059] 其中 R^3 是

[0060] 1) C_1-C_6 烷基,

[0061] 2) 芳基,

[0062] 3) 杂芳基, 或

[0063] 4) 杂环基。

[0064] 在一个实例中, A 是 H。

[0065] 在一个实例中, A 是 $R^3-OC(O)-$ 。

[0066] 在一个实例中, A 是 $PhCH_2OC(O)-$ 。

[0067] R^1 :

[0068] 在一个子集中, R^1 是吸电子基团 (EWG), 其选自 :

[0069] 1) 芳基,

[0070] 2) 杂芳基,

[0071] 3) 杂环基,

[0072] 4) C_2-C_6 烯烃 $-R^{20}$,

[0073] 5) SO_2R^5 ,

[0074] 6) SO_3R^5 ,

[0075] 7) SOR^5 ,

[0076] 8) $SONHR^5$,

[0077] 9) SO_2NHR^5 ,

[0078] 10) CN,

[0079] 11) CO_2R^5 ,

[0080] 12) COR^5 ,

[0081] 13) PO_3R^5 ,

[0082] 14) $PO(OR^5)_2$, 或

- [0083] 15) $\text{PO}(\text{OR}^5)$,
- [0084] 其中所述芳基,所述杂芳基或所述杂环基任选被一个或多个 R^{30} 取代。
- [0085] R^2 :
- [0086] 在一个子集中, R^2 是
- [0087] 1) R^1 ; 或
- [0088] 2) H ,
- [0089] 3) 卤素,
- [0090] 4) 卤代烷基,
- [0091] 5) C_1 - C_6 烷基,
- [0092] 6) C_2 - C_6 烯烃,
- [0093] 7) C_3 - C_7 环烷基,
- [0094] 8) OR^9 ;
- [0095] 9) OCOR^6 ,
- [0096] 10) OCO_2R^6 ,
- [0097] 11) NR^7R^8 ,
- [0098] 12) NHSO_2R^6 ,
- [0099] 13) NHCOR^6 ,
- [0100] 14) 芳基,
- [0101] 15) 杂芳基, 或
- [0102] 16) 杂环基;
- [0103] 其中 R^1 , R^6 , R^7 , R^8 和 R^9 如上文和下文所定义。
- [0104] 在一个实例中, R^2 是 H 。
- [0105] 在另一个实例中, R^2 是卤素。
- [0106] 在还另一个实例中, R^2 是 Cl 。
- [0107] R^4 :
- [0108] 在一个子集中, R^4 是
- [0109] 1) H , 或
- [0110] 2) 甲基, 乙基, 丙基或叔丁基。
- [0111] 在一个实例中, R^4 是 H 。
- [0112] R^5 :
- [0113] 在一个子集中, R^5 是
- [0114] 1) H ,
- [0115] 2) C_1 - C_6 烷基,
- [0116] 3) C_2 - C_6 烯烃,
- [0117] 4) C_3 - C_7 环烷基,
- [0118] 5) 芳基,
- [0119] 6) 杂芳基,
- [0120] 7) 杂环基, 或
- [0121] 8) 任何任选保护的 (D) 或 (L) 氨基酸残基。

[0122] R^6 :

[0123] 在一个子集中, R^6 是

[0124] 1) 任何 (D) 或 (L) 氨基酸残基,

[0125] 2) C_1 - C_6 烷基,

[0126] 3) C_3 - C_7 环烷基,

[0127] 4) 芳基,

[0128] 5) 杂芳基, 或

[0129] 6) 杂环基,

[0130] 其中所述烷基或所述环烷基任选被一个或多个 R^{10} 取代基取代; 并且其中所述芳基, 杂芳基或杂环基任选被一个或多个 R^{20} 取代基取代。

[0131] R^7 和 R^8 :

[0132] 在一个子集中, R^7 和 R^8 独立地选自:

[0133] 1) H,

[0134] 2) C_1 - C_6 烷基,

[0135] 3) C_3 - C_7 环烷基,

[0136] 4) 卤代烷基,

[0137] 5) 芳基,

[0138] 6) 杂芳基, 或

[0139] 7) 杂环基,

[0140] 其中所述烷基和所述环烷基任选被一个或多个 R^{10} 取代基取代, 并且所述芳基, 所述杂芳基和所述杂环基任选被一个或多个 R^{20} 取代基取代。

[0141] R^9 :

[0142] 在一个子集中, R^9 是

[0143] 1) H,

[0144] 2) C_1 - C_6 烷基,

[0145] 3) C_3 - C_7 环烷基,

[0146] 4) 芳基,

[0147] 5) 杂芳基, 或

[0148] 6) 杂环基,

[0149] 其中所述烷基或所述环烷基任选被一个或多个 R^{10} 取代基取代; 并且其中所述芳基, 杂芳基或杂环基任选被一个或多个 R^{20} 取代基取代。

[0150] R^{10} :

[0151] 在一个子集中, R^{10} 独立地选自:

[0152] 1) 卤素,

[0153] 2) C_1 - C_6 烷基,

[0154] 3) C_3 - C_7 环烷基,

[0155] 4) 卤代烷基,

[0156] 5) 芳基,

[0157] 6) 杂芳基,

- [0158] 7) 杂环基,
- [0159] 8) OR^9 ,
- [0160] 9) $S(O)_mR^9$,
- [0161] 10) NR^7R^8 ,
- [0162] 11) COR^9 ,
- [0163] 12) $C(O)OR^9$,
- [0164] 13) $OC(O)R^9$,
- [0165] 14) $SC(O)R^9$,
- [0166] 15) $CONR^7R^8$, 或
- [0167] 16) $S(O)_2NR^7R^8$;
- [0168] 其中 R^7, R^8, R^9 如上文和下文所定义;
- [0169] m 是 0, 1 或 2 的整数。
- [0170] R^{20} :
- [0171] 在一个子集中, R^{20} 独立地选自:
- [0172] 1) 卤素,
- [0173] 2) NO_2 ,
- [0174] 3) CN ,
- [0175] 4) C_1-C_6 烷基,
- [0176] 5) 卤代烷基,
- [0177] 6) C_3-C_7 环烷基,
- [0178] 7) OR^7 ,
- [0179] 8) NR^7R^8 ,
- [0180] 9) SR^7 ,
- [0181] 10) 芳基,
- [0182] 11) 杂芳基,
- [0183] 12) 杂环基,
- [0184] 13) SO_2R^5 ,
- [0185] 14) SO_3R^5 ,
- [0186] 15) SOR^5 ,
- [0187] 16) $SONHR^5$,
- [0188] 17) SO_2NHR^5 ,
- [0189] 18) PO_3R^5 ,
- [0190] 19) $PO(OR^5)_2$,
- [0191] 20) $PO(OR^5)$,
- [0192] 21) COR^7 ,
- [0193] 22) CO_2R^7 ,
- [0194] 23) $S(O)_mR^7$,
- [0195] 24) $CONR^7R^8$, 或
- [0196] 25) $S(O)_2NR^7R^8$,

[0197] 其中所述烷基和所述环烷基任选被一个或多个 R^6 取代基取代；并且其中所述芳基, 所述杂芳基或所述杂环基任选被一个或多个 R^{30} 取代。

[0198] 其中 R^7 , R^8 和 m 如上文和下文所定义。

[0199] R^{30} :

[0200] 在一个子集中, R^{30} 是

[0201] 1) NO_2 ,

[0202] 2) C_2-C_6 烯烃 $-R^{20}$,

[0203] 3) SO_2R^5 ,

[0204] 4) SOR^5 ,

[0205] 5) $SONHR^5$,

[0206] 6) SO_2NHR^5 ,

[0207] 7) CN ,

[0208] 8) CO_2R^5 ,

[0209] 9) COR^5 ,

[0210] 10) PO_3R^5 ,

[0211] 11) $PO(OR^5)_2$, 或

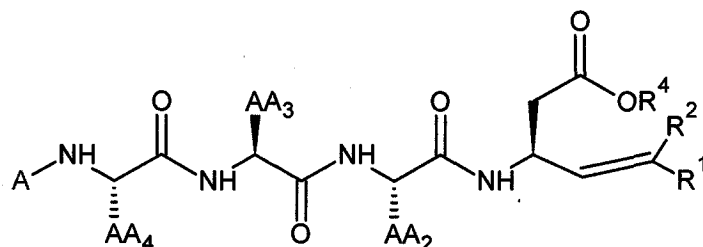
[0212] 12) $PO(OR^5)$;

[0213] 其中 R^5 和 R^{20} 如上文和下文所定义。

[0214] 胰天蛋白酶 3 抑制剂

[0215] 本发明包括式 IIA 的化合物:

[0216]



IIA

[0217] 其中

[0218] AA_2 是 Val, Leu, Pro, Met, Ala, Thr, His 的氨基酸侧链。

[0219] AA_3 是 Trp, Tyr, Ala, Asp, Glu, Gln, Phe, Ser, Thr, Val, Tyr, Gly,

[0220] Leu 的氨基酸侧链; 或 AA_3 是苯基甘氨酸, 茚满基甘氨酸或 Ala-(2'-喹啉基);

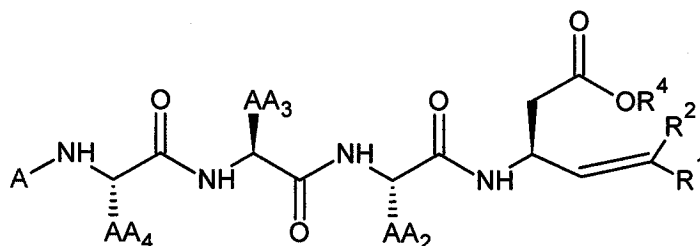
[0221] AA_4 是 Asp 的氨基酸侧链;

[0222] 并且其中 A, R^1 , R^2 和 R^4 如上文和下文所定义。

[0223] 胰天蛋白酶 8/ 胰天蛋白酶 9 抑制剂

[0224] 本发明包括式 IIA 的化合物:

[0225]



IIA

[0226] 其中

[0227] AA₂是 Thr, His, Val, Trp, Ile 或 Ala 的氨基酸侧链

[0228] AA₃是 Glu 的氨基酸侧链或 AA₃是 Ala-(2'- 喹啉基) ;

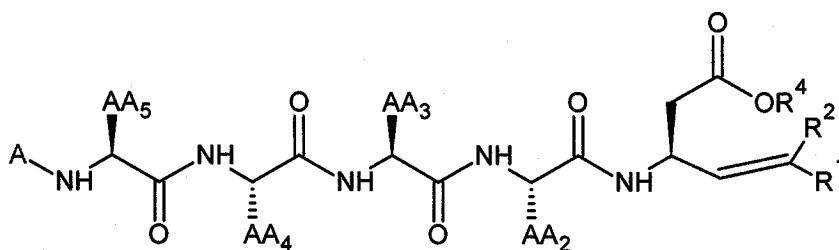
[0229] AA₄是 Ile, Leu, Glu, Asp, Ala, Pro 或 Val 的氨基酸侧链 ;

[0230] 并且其中 A, R¹, R²和 R⁴如上文和下文所定义。

[0231] 胰天蛋白酶 2 抑制剂

[0232] 本发明包括式 IIIA 的化合物

[0233]



IIIA

[0234] 其中

[0235] AA₂是 Ala, Ser, Lys 或 Val 的氨基酸侧链 ;

[0236] AA₃是 Val, Glu, Thr 或 Gln 的氨基酸侧链 ;

[0237] AA₄是 Asp 或 Leu 的氨基酸侧链 ;

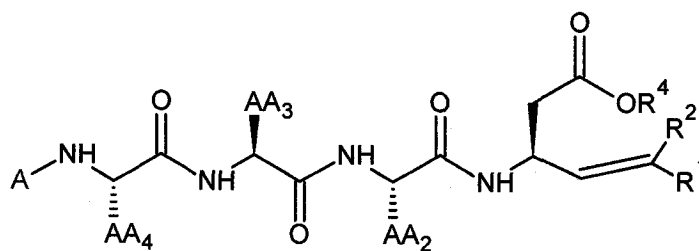
[0238] AA₅是 Val 或 Leu 的氨基酸侧链 ;

[0239] 并且其中 A, R¹, R²和 R⁴如上文和下文所定义。

[0240] 胰天蛋白酶 1 抑制剂

[0241] 本发明包括式 IIA 的化合物 (胰天蛋白酶 1 抑制剂)

[0242]



IIA

[0243] 其中

[0244] AA₂是 Val, Ala, Thr 或 His 的氨基酸侧链；

[0245] AA₃是 Glu, Gln, Asp, Ala, Gly, Thr, Val, Trp 的氨基酸侧链；或 AA₃是苯基甘氨酸或茚满基甘氨酸；

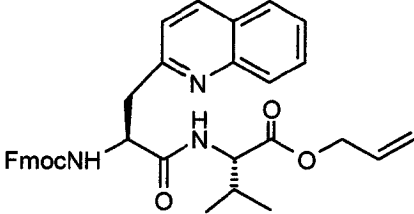
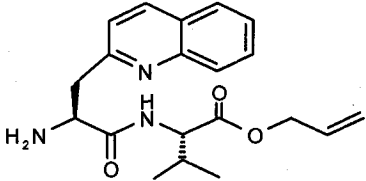
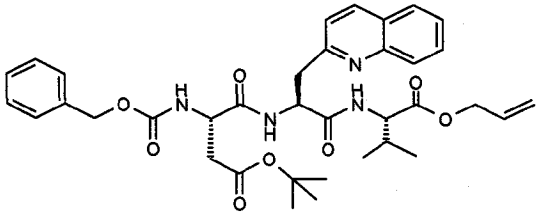
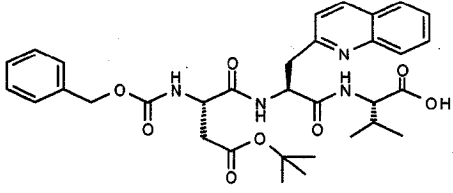
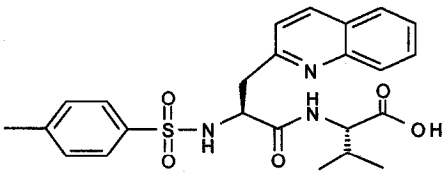
[0246] AA₄是 Tyr, Trp, Phe 或 Asp 的氨基酸侧链；

[0247] 并且其中 A, R¹, R²和 R⁴如上文和下文所定义。

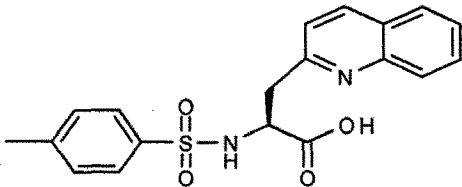
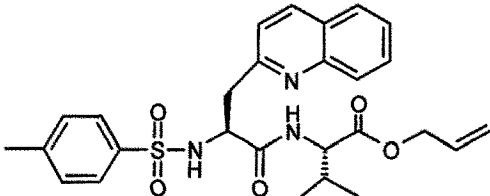
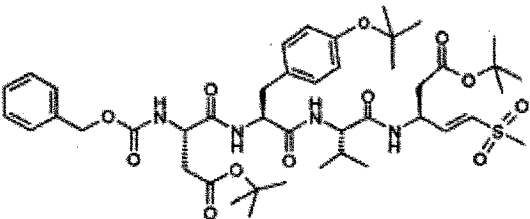
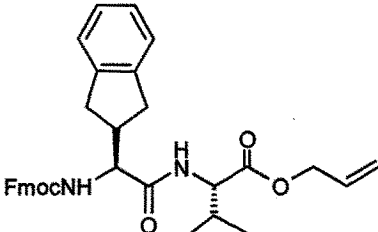
[0248] 根据本发明合成的化合物和中间体化合物包括在表 1 中的那些：

[0249] 表 1

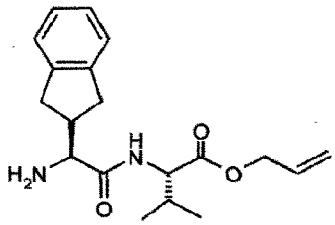
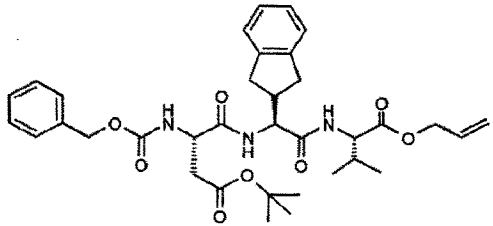
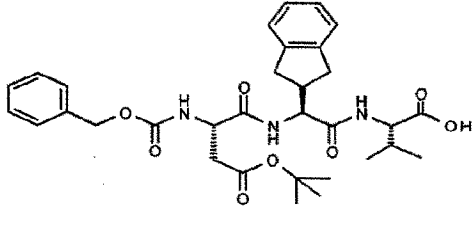
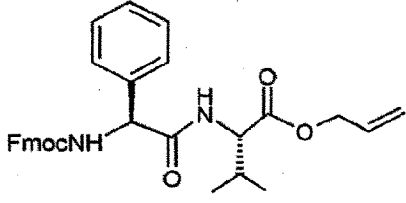
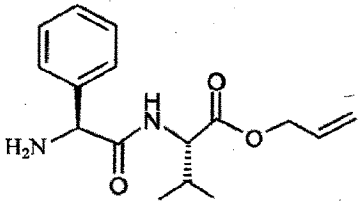
[0250]

化合物编号	化合物名称	结构
1	Fmoc-Ala(2'-喹啉基)-Val-O烯丙基	
2	Ala(2'-喹啉基)-Val-O烯丙基	
3	Cbz-Asp(O-tBu)-Ala(2'-喹啉基)-Val-O烯丙基	
4	Cbz-Asp(O-tBu)-Ala(2'-喹啉基)-ValOH	
5	Ts-Ala(2'-喹啉基)-Val-OH	

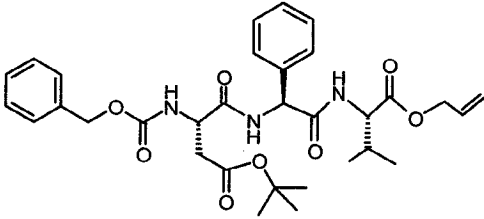
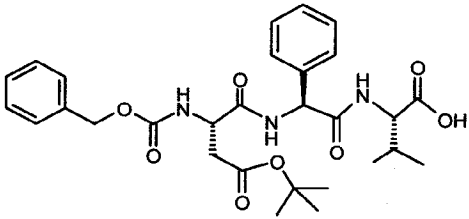
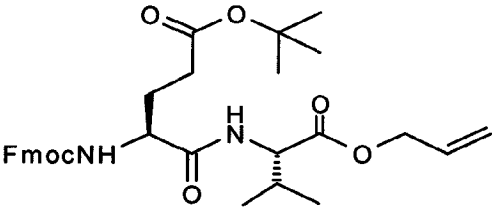
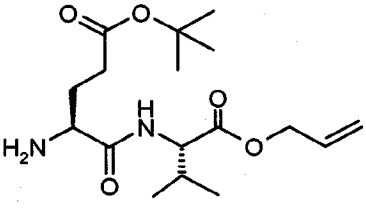
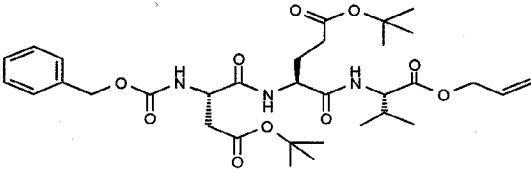
[0251]

化合物编号	化合物名称	结构
6	Ts-Ala(2'-喹啉基)-OH	
7	Ts-Ala(2'-喹啉基)-Val-O烯丙基	
8	Z-Asp(OtBu)-Tyr(OtBu)-Val-Asp(OtBu)甲基乙烯基砒	
9	Fmoc-茚满基甘氨酸-Val-O烯丙基	

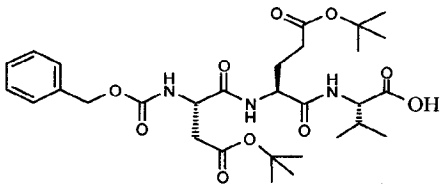
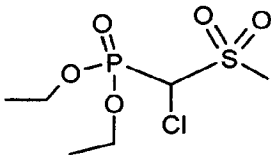
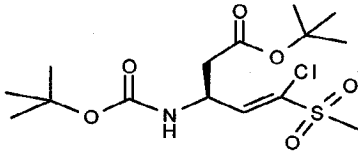
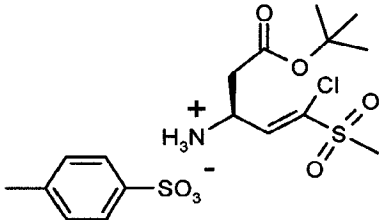
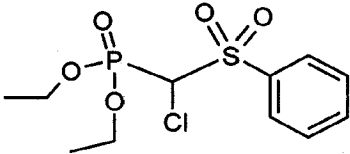
[0252]

化合物编号	化合物名称	结构
10	茚满基甘氨酸-Val-O烯丙基	
11	Cbz-Asp(O-tBu)-茚满基甘氨酸-Val-O烯丙基	
12	Cbz-Asp(O-tBu)茚满基甘氨酸-Val-OH	
13	Fmoc-Phg-Val-O烯丙基	
14	Phg-Val-O烯丙基	

[0253]

化合物编号	化合物名称	结构
15	Z-Asp(β-叔丁基)-Phg-Val-O烯丙基.	
16	Z-Asp(β-叔丁基)-Phg-Val-OH.	
17	Fmoc-Glu(O-tBu)-Val-O烯丙基	
18	Glu(O-tBu)-Val-O烯丙基	
19	Cbz-Asp(O-tBu)-Glu(O-tBu)-Val-O烯丙基	

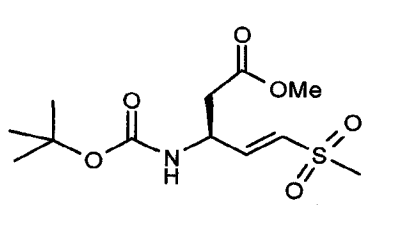
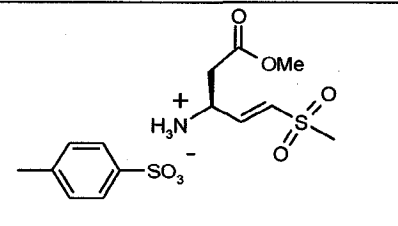
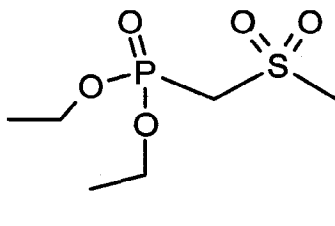
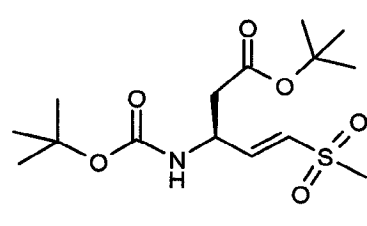
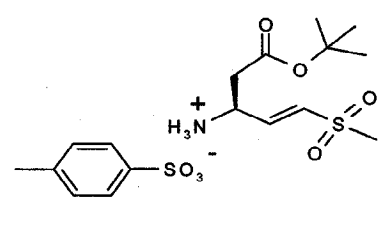
[0254]

化合物编号	化合物名称	结构
20	Cbz-Asp(O-tBu)-Glu(O-tBu)-Val-OH	
21	氯(甲基砜)甲基膦酸二乙酯	
22	Boc-Asp (β-叔丁基) α氯乙烯基甲基砜基甲基砜	
23	Asp(β-叔丁基)α氯乙烯基甲基砜基甲基砜盐	
24	氯(苯基砜)甲基膦酸二乙酯	

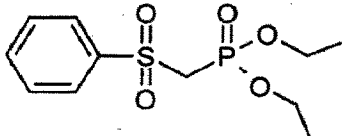
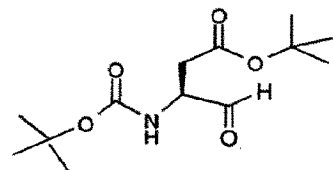
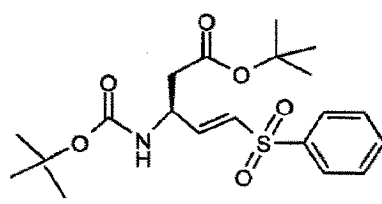
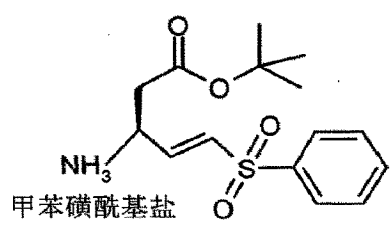
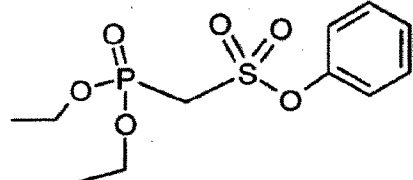
[0255]

化合物编号	化合物名称	结构
25	Asp(β -叔丁基) α 氯乙烯基苯基砒	
26	Asp(β -叔丁基) α 氯乙烯基苯基砒甲苯磺酰基盐	
27	Boc-天冬氨酸醇(β -甲基)	
28	Boc-Asp(β -甲基)-H	

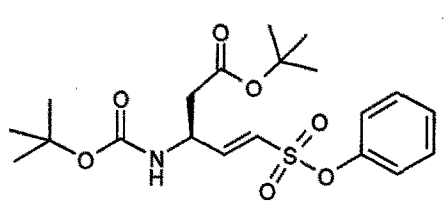
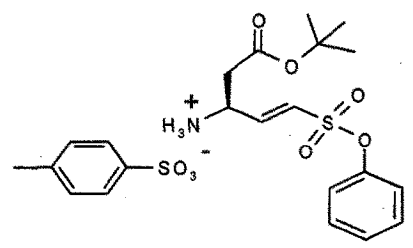
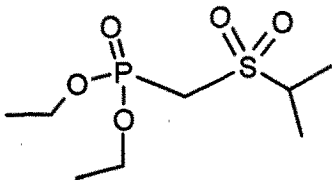
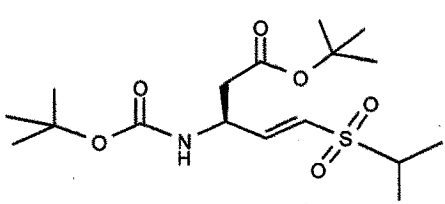
[0256]

化合物编号	化合物名称	结构
29	Boc-Asp(β -甲基)甲基乙烯基砒	
30	Boc-Asp(β -甲基)甲基乙烯基砒 甲苯磺酰基盐	
31	(甲基砒)甲基磷酸二乙酯	
32	Boc-Asp(β -叔丁基)甲基乙烯基砒	
33	Asp(β -叔丁基)甲基乙烯基砒 甲苯磺酰基盐	

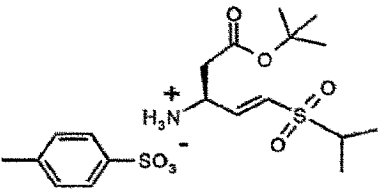
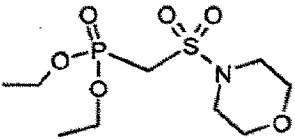
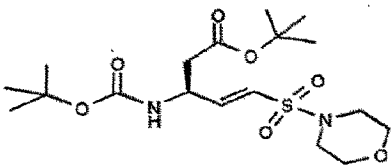
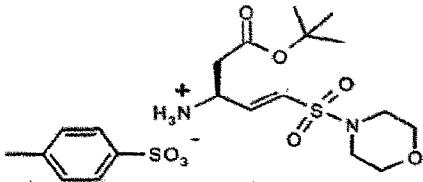
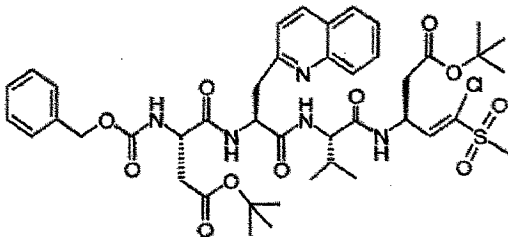
[0257]

化合物编号	化合物名称	结构
34	苯基磺酰基甲基膦酸二乙酯	
35	Boc-Asp(β-叔丁基)-H	
36	Boc-Asp-乙烯基苯基砜	
37	Asp-乙烯基苯基砜甲苯磺酰基盐	
38	(苯氧基砜)甲基膦酸二乙酯	

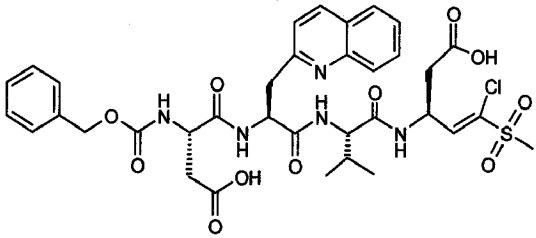
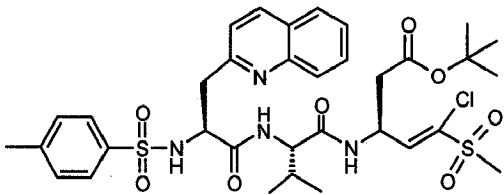
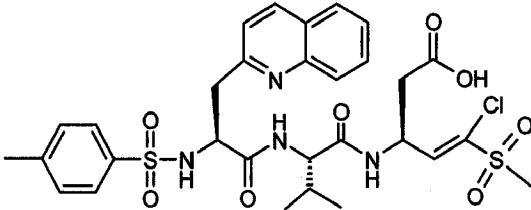
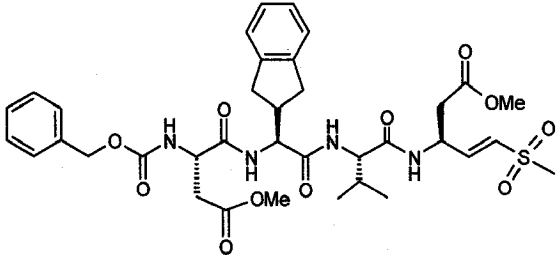
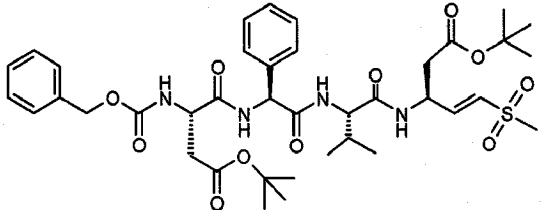
[0258]

化合物编号	化合物名称	结构
39	Asp(β -叔丁基)苯氧基乙烯基砒	
40	Asp(β -叔丁基)苯氧基乙烯基砒甲磺酰基盐	
41	(异丙基砒)甲基膦酸二乙酯	
42	BocAsp(β -叔丁基)异丙基乙烯基砒	

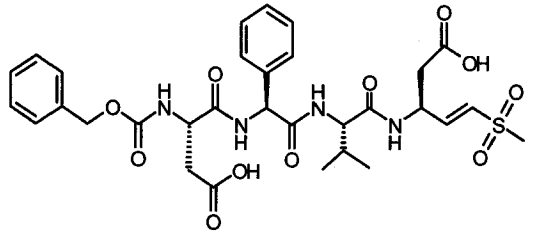
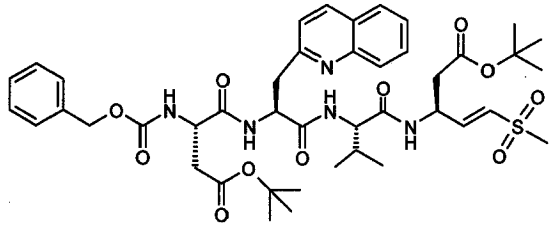
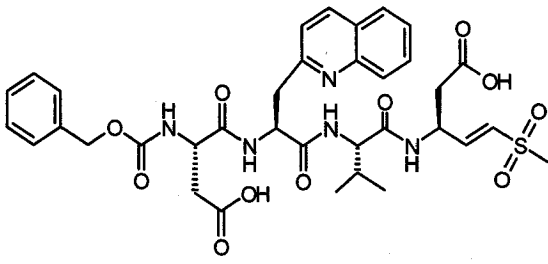
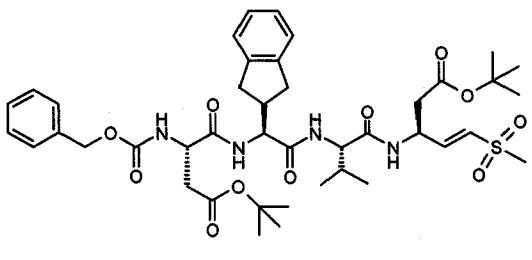
[0259]

化合物编号	化合物名称	结构
43	Asp(β -叔丁基)异丙基乙烯基砜 甲苯磺酰基盐	
44	(吗啉砜)甲基磷酸二乙酯	
45	Boc-Asp(β -叔丁基)吗啉 乙烯基砜	
46	Asp(β -叔丁基)吗啉乙烯基砜 甲苯磺酰基盐	
47	Z-Asp(β -叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β -叔丁基) α 氯乙 基甲基砜	

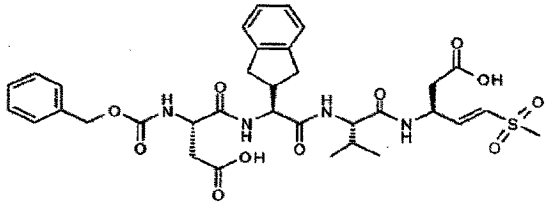
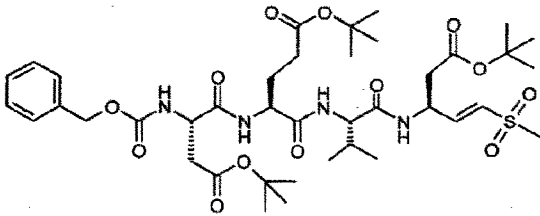
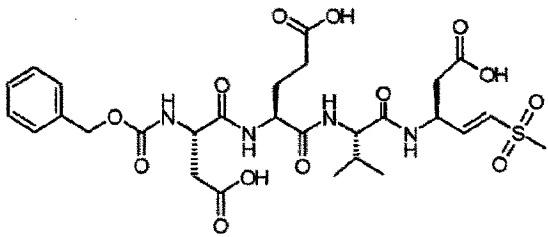
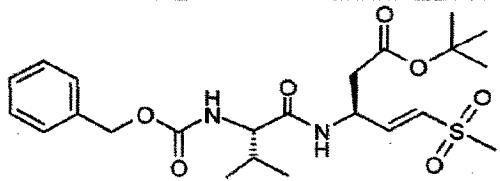
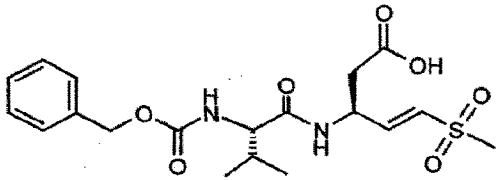
[0260]

物编 号		
48	Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp-α氯乙烯基甲基砒	
49	Ts-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β-叔丁基)-α氯乙烯基甲基砒	
50	Ts-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp-α氯乙烯基甲基砒	
51	Z-Asp(β-甲基)-茛满基甘氨酸-Val-Asp(β-甲基)甲基乙烯基砒	
52	Z-Asp(β-叔丁基)-Phg-Val-Asp(β-叔丁基)甲基乙烯基砒	

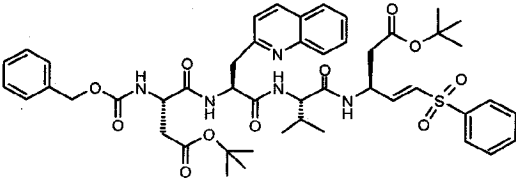
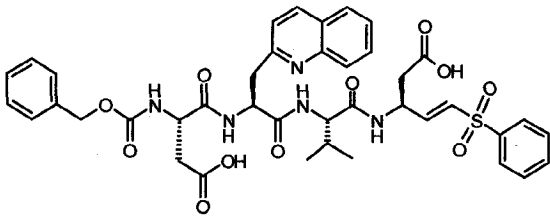
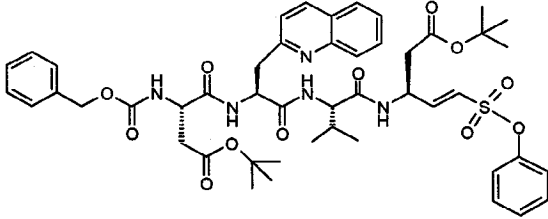
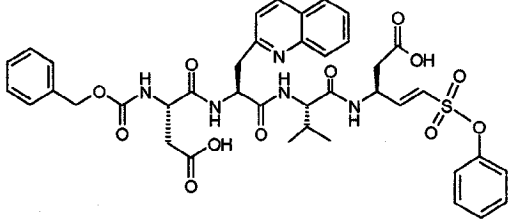
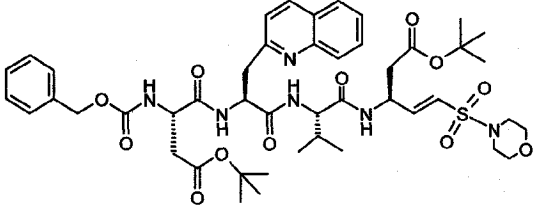
[0261]

化合物编号	化合物名称	结构
53	Z-Asp-Phg-Val-Asp甲基乙烯基砒	
54	Z-Asp(β -叔丁基)-Al(2'-喹啉基)-Val-Asp(β -叔丁基)甲基乙烯基砒	
55	Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp甲基乙烯基砒	
56	Z-Asp(β -叔丁基)-茚满基甘氨酸-Val-Asp(β -叔丁基)甲基乙烯基砒	

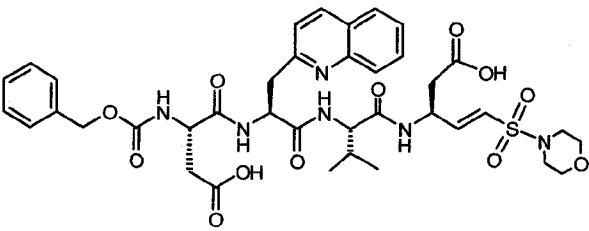
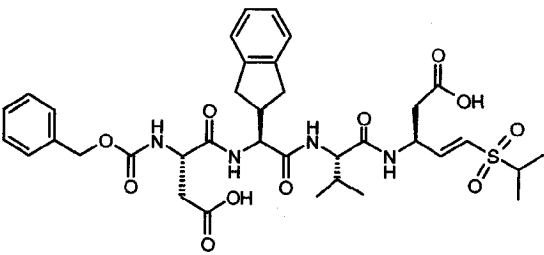
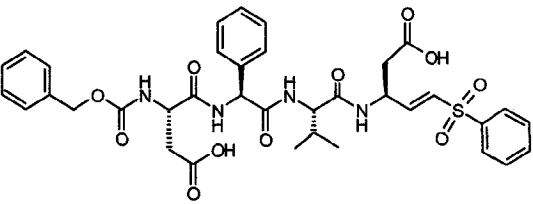
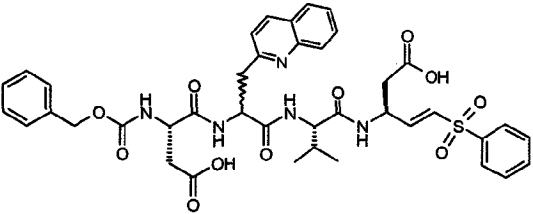
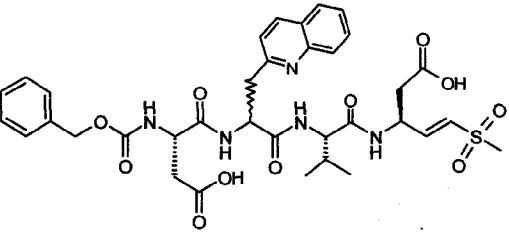
[0262]

化合物编号	化合物名称	结构
57	Z-Asp-茚满基甘氨酸-Val-Asp甲基乙烯基砒	
58	Z-Asp(β-叔丁基)-Glu(β-叔丁基)-Val-Asp(β-叔丁基)甲基乙烯基砒	
59	Z-Asp-Glu-Val-Asp甲基乙烯基砒	
60	Z-Val-Asp(β-叔丁基)甲基乙烯基砒	
61	Z-Val-Asp甲基乙烯基砒	

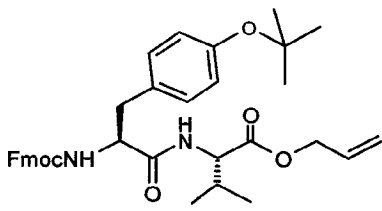
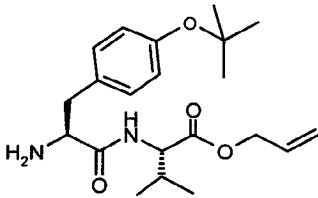
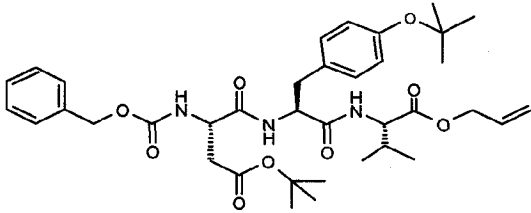
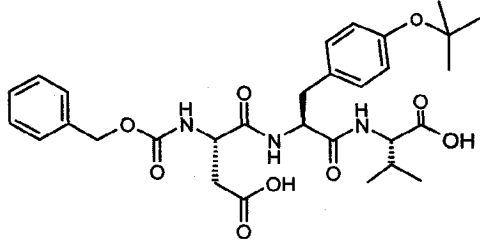
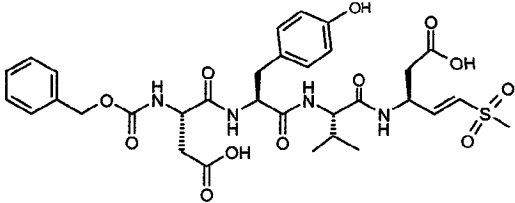
[0263]

化合物编号	化合物名称	结构
62	Z-Asp(β -叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β -叔丁基)苯基乙烯基砒	
63	Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp 苯基乙烯基砒	
64	Z-Asp(β -叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β -叔丁基)苯氧基乙烯基砒	
65	Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp 苯氧基乙烯基砒	
66	Z-Asp(β -叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β -叔丁基)吗啉乙烯基砒	

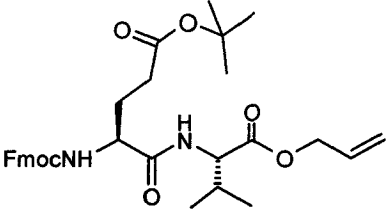
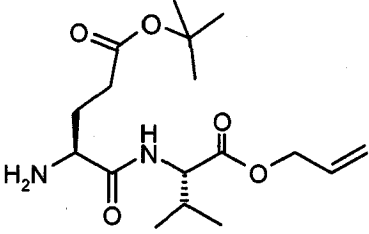
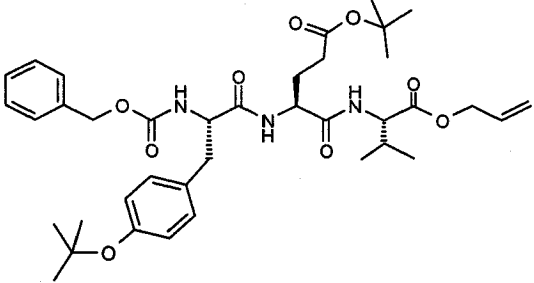
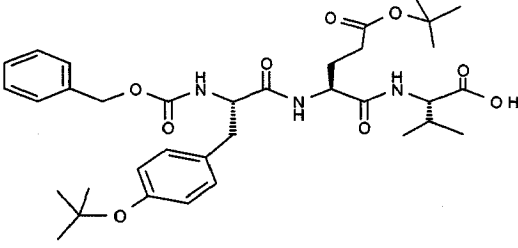
[0264]

化合物编号	化合物名称	结构
67	Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp 吗啉乙烯基砒	
68	Z-Asp-茚满基甘氨酸-Val-Asp 异丙基乙烯基砒	
69	Z-Asp-Phg-Val-Asp-苯基乙烯基砒	
70	Z-Asp-(D,L Ala(2'-喹啉基))-Val-Asp苯基乙烯基砒	
71	Z-Asp-(D,L Ala(2'-喹啉基))-Val-Asp甲基乙烯基砒	

[0265]

化合物编号	化合物名称	结构
72	Fmoc-Tyr(O-tBu)-Val-O烯丙基	
73	Tyr(O-tBu)-Val-O烯丙基	
74	Z-Asp(O-tBu)-Tyr(O-tBu)-Val-O烯丙基	
75	Z-Asp-Tyr(O-tBu)-Val-OH	
76	Z-Asp-Tyr-Val-Asp甲基乙烯基砒	

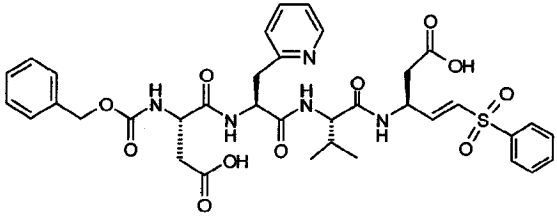
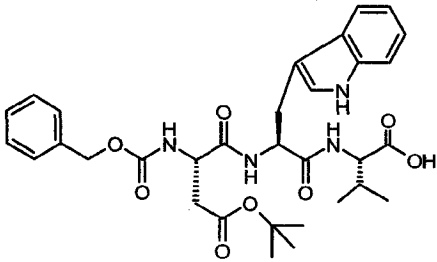
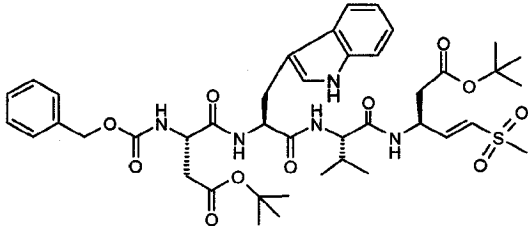
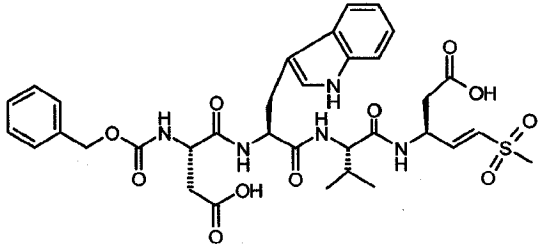
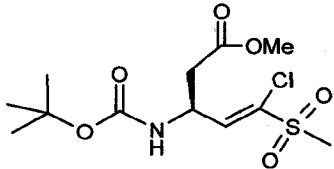
[0266]

化合物编号	化合物名称	结构
77	Fmoc-Glu(O-tBu)-Val-O烯丙基	
78	Glu(O-tBu)-Val-O烯丙基	
79	Z-Tyr(O-tBu)-Glu(O-tBu)-Val-O烯丙基	
80	Z-Tyr(O-tBu)-Glu(O-tBu)-Val-OH	

[0267]

化合物编号	化合物名称	结构
81	Z-Tyr(O-tBu)-Glu(O-tBu)-Val-Asp(OtBu)甲基乙烯基砒	
82	Z-Tyr-Glu-Val-Asp甲基乙烯基砒	
83	Z-Asp(O-tBu)-Ala-(2'吡啶)-Val-OH	
84	Z-Asp(O-tBu)-Ala-(2'吡啶)-Val-Asp(O-tBu)苯基乙烯基砒	

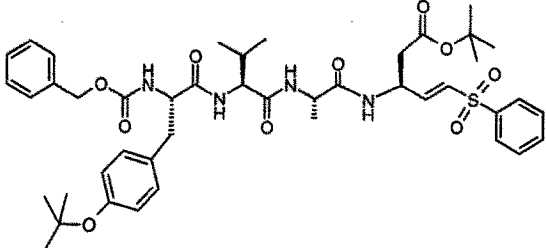
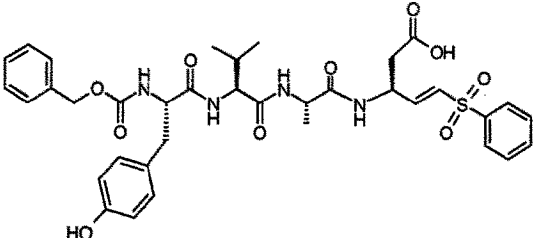
[0268]

化合物编号	化合物名称	结构
85	Z-Asp-Ala(2'-吡啶基)-Val-Asp苯基乙烯基砒	
86	Z-Asp(O-tBu)-Trp-Val-OH	
87	Z-Asp(O-tBu)-Trp-Val-Asp(OtBu)甲基乙烯基砒	
88	Z-Asp-Trp-Val-Asp甲基乙烯基砒	
89	Boc-Asp(β-甲基)α氯乙烯基甲基砒	

[0269]

化合物编号	化合物名称	结构
90	Asp(β-甲基)α氯乙烯基甲基砒甲苯磺酰基盐	
91	Boc-Asp(β-甲基)α甲氧基乙烯基甲基砒	
92	Asp(β-甲基)α甲氧基乙烯基甲基砒甲苯磺酰基盐	
93	Asp甲基乙烯基砒甲苯磺酰基盐	
94	Z-Tyr(OtBu)-Val-Ala-OH	

[0270]

化合物编号	化合物名称	结构
95	Z-Tyr(OtBu)-Val-Ala-Asp(OtBu)苯基乙烯基砒	
96	Z-Tyr-Val-Ala-Asp 苯基乙烯基砒	

[0271] 定义

[0272] 除非另外规定,适用以下定义:

[0273] 单数形式“一个或一种 (a)”,“一个或一种 (an)”和“所述的 (the)”包括相应的复数参考,除非上下文另有明确指示。

[0274] 如本文使用的术语“包括”意在表示在单词“包括”后所列的要素是必需或强制的,但其它要素是任选的并且可以存在或不存在。

[0275] 如本文使用的术语“由……组成”意在表示包括和限于短语“由……组成”后的内容。因此短语“由……组成”表示所列要素是必需或强制的并且不可以存在其它要素。

[0276] 如本文使用的术语“烷基”意在包括支链和直链的饱和脂族烃基,其具有规定数量的碳原子,例如, C_1-C_6 -烷基中的 C_1-C_6 被定义为包括具有直链或支链排列的 1,2,3,4,5 或 6 个碳的基团。如上定义的 C_1-C_6 -烷基和 C_1-C_4 烷基的实例包括但不限于:甲基,乙基,正丙基,异丙基,正丁基,叔丁基,异丁基,戊基和己基。

[0277] 如本文使用的术语“烯基”意在表示不饱和的直链或支链烃基,其中具有规定数量的碳原子,并且其中至少两个碳原子是通过双键彼此结合的,并且具有 E 或 Z 区域化学结构 (regiochemistry) 和它们的组合。例如, C_2-C_6 烯基中的 C_2-C_6 被定义为包括具有直链或支链排列的 1,2,3,4,5 或 6 个碳的基团,所述碳原子中的至少两个通过双键结合在一起。 C_2-C_6 烯基的实例包括乙烯基 (ethenyl) (乙烯基 (vinyl)), 1- 丙烯基, 2- 丙烯基, 1- 丁烯基等。

[0278] 如本文使用的术语“环烷基”意在表示单环的饱和脂族烃基,其中具有规定数量的

碳原子,例如, C_3-C_7 环烷基中的 C_3-C_7 被定义为包括具有单环排列的 3,4,5,6 或 7 个碳的基团。如上定义的 C_3-C_7 环烷基的实例包括但不限于:环丙基,环丁基,环戊基,环己基和环庚基。

[0279] 如本文使用的术语“卤代”或“卤素”意在表示氟,氯,溴和碘。

[0280] 如本文使用的术语“卤代烷基”意在表示如上定义的烷基,其中每个氢原子可以相继被卤素原子代替。卤代烷基的实例包括但不限于: CH_2F , CHF_2 和 CF_3 。

[0281] 如本文使用的术语“芳基”,单独的或与另一基团组合的,表示含 6 个碳原子的碳环芳族单环基团,其可以进一步与第二个可以为芳族、饱和或不饱和的 5- 或 6- 元碳环基团稠合。芳基包括但不限于:苯基,茚满基,1- 萘基,2- 萘基和四氢萘基。芳基可以在环烷基环或芳族环的合适位置连接到另一基团上。

[0282] 如本文使用的术语“杂芳基”意在表示至多 10 个原子的单环或双环体系,其中至少一个环是芳族的,并且含有 1 至 4 个杂原子,所述杂原子选自以下组成的组:O, N 和 S。杂芳基取代基可以经由环碳原子或一个杂原子连接。杂芳基的实例包括但不限于:噻吩基,苯并咪唑基,苯并 [b] 噻吩基,呋喃基,苯并呋喃基,吡喃基,异苯并呋喃基,色烯基,咕吨基,2H- 吡咯基,吡咯基,咪唑基,吡唑基,吡啶基,吡嗪基,嘧啶基,哒嗪基,吲哚基,异吲哚基,3H- 吲哚基,吲哚基,吲唑基,嘌呤基,4H- 喹啉基,异喹啉基,喹啉基,酞嗪基,萘啶基(naphthyridinyl),喹喔啉基,喹唑啉基,噌啉基,蝶啶基,异噻唑基,异色满基,色满基,异噁唑基,呋咱基,吲哚啉基,异吲哚啉基,噻唑并 [4,5-b]- 吡啶和荧光素(fluorescein) 衍生物。

[0283] 如本文使用的术语“杂环”,“杂环的”或“杂环基”意在表示含有 1 至 4 个杂原子的 5,6 或 7 元非芳族环体系,所述杂原子选自以下组成的组:O, N 和 S。杂环的实例包括但不限于:吡咯烷基,四氢呋喃基,哌啶基,吡咯啉基,哌嗪基,咪唑烷基,吗啉基,咪唑啉基,吡唑烷基和吡唑啉基。

[0284] 如本文使用的术语“吸电子基团(EWG)”意在表示这样的官能团:其由于 EWG 的吸电子性质而允许在抑制剂的烯烃键处被胰天蛋白酶的硫醇基团亲核攻击。EWG 与烯烃键共扼,从而 EWG 的吸电子性质允许在烯烃键处被胰天蛋白酶亲核攻击,即烯烃键和 EWG 在电子上是共扼的。因此,烯烃键和 EWG 之间的共价键是直接键,没有将防止 EWG 的吸电子性质施加于烯烃键的居间部分。

[0285] 如本文使用的术语“可检测的标记”意在表示这样的基团,该基团可以连接于本发明的化合物以产生探针,或连接于胰天蛋白酶,使得当探针与胰天蛋白酶缔合时,该标记允许直接或间接识别探针,从而使其可以被检测、测量和定量。

[0286] 如本文使用的术语“亲和标记物”意在表示配体或基团,其或者连接于本发明的化合物,或者连接于胰天蛋白酶,以允许从溶液中提取该配体或基团所连接的另一化合物。

[0287] 如本文使用的术语“探针”意在表示式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 的化合物,其是用可检测的标记或亲和标记物标记的,并且其能够共价地或非共价地与胰天蛋白酶结合。当,例如,探针是非共价结合时,其可以被测试化合物取代。当,例如,探针是共价结合时,其可以用于形成交联的加合物,该交联的加合物可以被测试化合物定量和抑制。

[0288] 如本文使用的术语“任选被一个或多个取代基取代”或其等价术语“任选被至少一个取代基取代”意在表示后续描述的事件情形可以发生或不发生,并且该描述包括事

件或情形发生的情况和事件或情形不发生的情况。该定义意在表示 0 至 5 个取代基。

[0289] 如果取代基本身与本发明的合成方法不相容,可以用在这些方法所用的反应条件下稳定的合适保护基 (PG) 保护该取代基。保护基可以在方法的反应顺序中的合适的点被除去,以提供所需的中间体或目标化合物。合适的保护基和使用这种合适的保护基保护和去保护不同取代基的方法是本领域技术人员熟知的;其实例可以在 T. Greene 和 P. Wuts, *Protecting Groups in Chemical Synthesis* (第三版), John Wiley&Sons, NY (1999) 中找到,该文献通过引用以其全文形式结合在此。通篇使用的保护基的实例包括但不限于: Fmoc, Bn, Boc, CBz 和 COCF₃。在某些情况下,可以具体选择取代基使其在本发明方法采用的反应条件下是反应性的。在这些情况下,所述反应条件将所选的取代基转化成另一取代基,该另一取代基或者可用于本发明方法中的中间体化合物,或者是目标化合物中的所需取代基。

[0290] 通篇使用的 α -氨基酸的三字母和单字母缩写如下:

[0291]

氨基酸	缩写	缩写
α -氨基丁酸	Abu	-
丙氨酸	Ala	A
精氨酸	Arg	R
天冬氨酸	Asp	D
天冬酰胺	Asn	N
半胱氨酸	Cys	C
谷氨酸	Glu	E
谷氨酰胺	Gln	Q
甘氨酸	Gly	G
异亮氨酸	Ile	I
组氨酸	His	H
亮氨酸	Leu	L
赖氨酸	Lys	K
甲硫氨酸	Met	M
苯丙氨酸	Phe	F

脯氨酸	Pro	P
丝氨酸	Ser	S
苏氨酸	Thr	T
色氨酸	Trp	W

[0292]

氨基酸	缩写	缩写
酪氨酸	Tyr	Y
缬氨酸	Val	V

[0293] 一系列的可代替天然氨基酸使用的非天然氨基酸为,但不限于,3-氨基 2-羟基吡啶;(2 呋喃基)丙氨酸;1 氨基 1 环己烷甲酸;(2 噻吩基)丙氨酸;2-氨基苯甲酸(2-Abz);2 吡啶基丙氨酸;1 氨基 1 环戊烷甲酸;2-氨基丁酸(2Abu);3 氨基 3 苯基丙氨酸;氨基环戊烷甲酸(ACPC);4-氨基甲基苯甲酸(Amb);氨基异丁酸(aminoisobutyric acid)(Aib);对苯甲酰基-1-苯丙氨酸(Bpa);烯丙基甘氨酸;4-氨基甲基环己烷甲酸(Amc);环己基-丙氨酸(Cha); δ 缬氨酸; δ 亮氨酸;氰基丁基丙氨酸(Cba);茚满基甘氨酸(IgI);3-(2-萘基)丙氨酸(1-NaI);联苯丙氨酸(Bip);羟基脯氨酸(Hyp);六氢异烟酸(Inp);正缬氨酸(Nva);4-碘苯丙氨酸(Phe(pI));4-硝基苯丙氨酸;4 甲基苯丙氨酸;4 甲基 Phe 丙氨酸;高苯丙氨酸(hPhe);4-氨基苯丙氨酸(Phe4NH(Boc));苯基甘氨酸;哌可酸(Pip);炔丙基甘氨酸;硫代脯氨酸(Thz);丁基甘氨酸(Tle);3-硝基酪氨酸。

[0294] 如本文使用的术语“残基”当指 α -氨基酸时意在表示通过消除羧基中的羟基和 α -氨基的一个氢而从相应 α -氨基酸得到的基团。例如,术语 Gln, Ala, Gly, Ile, Arg, Asp, Phe, Ser, Leu, Cys, Asn 和 Tyr 分别表示 L-谷氨酰胺, L-丙氨酸, 甘氨酸, L-异亮氨酸, L-精氨酸, L-天冬氨酸, L-苯丙氨酸, L-丝氨酸, L-亮氨酸, L-半胱氨酸, L-天冬酰胺和 L-酪氨酸的残基。

[0295] 如本文使用的术语“氨基酸侧链”意在表示使其与其它氨基酸区别的那部分氨基酸化学结构。氨基酸结构包括羧基、氨基加上各个侧链。每个氨基酸具有独特的侧链。这也适用于非天然氨基酸。该侧链可以以保护形式或非保护形式存在。

[0296] 如本文使用的术语“前药”意在表示可以在生理条件下或者通过溶剂分解转成本发明的生物活性化合物的化合物。因此,术语“前药”是指本发明化合物的前体,其是可药用的。前药在向需要它的受治者给药时可以是钝化的或者显示受限的活性,但是在体内转成本发明的活性化合物。典型地,前药在体内转变以产生本发明的化合物,例如,通过在血液中水解或者在其它器官中通过酶处理。前药化合物通常提供溶解性、组织相容性或在受治者中延迟释放的优点(参见, Bundgard, H., Design of Prodrugs(1985), 7-9 页, 21-24(Elsevier, Amsterdam)。前药的定义包括任何共价结合的载体,其当将这种前药给药于受治者时在体内释放本发明的活性化合物。本发明化合物的前药可以通过改性本发明化合物中存在的官能团而制备,改性的方式是改性物在常规操作中或体内被分裂成本发明的

母体化合物。

[0297] 如本文使用的术语“药用盐”意在表示酸和碱加成盐。

[0298] 如本文使用的术语“药用酸加成盐”意在表示这些盐,其保持游离碱的生物效力和性质,不是在生物学上或其它方面不合需要的,并且其是用无机酸和有机酸形成的,无机酸如盐酸,氢溴酸,硫酸,硝酸,磷酸等,有机酸如乙酸,三氟乙酸,丙酸,羟基乙酸,丙酮酸,草酸,马来酸,丙二酸,琥珀酸,富马酸,酒石酸,柠檬酸,苯甲酸,肉桂酸,扁桃酸,甲磺酸,乙磺酸,对甲苯磺酸,水杨酸等。

[0299] 如本文使用的术语“药用碱加成盐”意在表示这些盐,其保持游离酸的生物效力和性质,不是在生物学上或其它方面不合需要的。这些盐是由无机碱或有机碱与游离酸的加成制备的。由无机碱得到的盐包括但不限于:钠,钾,锂,铵,钙,镁,铁,锌,铜,锰,铝盐等。由有机碱得到的盐包括但不限于以下物质的盐:伯、仲和叔胺,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,如异丙胺,三甲胺,二乙胺,三乙胺,三丙胺,乙醇胺,2-二甲基氨基乙醇,2-二乙基氨基乙醇,二环己基胺,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,嘌呤,哌嗪,哌啶,N-乙基哌啶,聚胺树脂等。

[0300] 本发明的化合物或它们的药用盐可以含有一个或多个不对称中心,手性轴和手性平面,并且因此可以产生对映体,非对映异构体和其它立体异构形式,并且可以用绝对立体化学,如(R)-或(S)-,或者作为(D)-或(L)-氨基酸定义。本发明意在包括所有这样可能的异构体,以及它们的外消旋和光学纯的形式。光学活性的(+)和(-), (R)-和(S)-或(D)-和(L)-异构体可以使用手性合成子(synthon)或手性试剂制备,或者使用常规技术如反相HPLC拆分。可以制备外消旋混合物,之后分离成单独的光学异构体,或这些光学异构体可以通过手性合成制备。对映体可以通过本领域技术人员已知的方法拆分,例如,通过形成非对映异构体盐,然后所述非对映异构体盐可以通过结晶、气-液或液相色谱法分离,一种对映体与对映体特异性试剂的选择性反应。本领域技术人员还应理解,当通过分离技术将所需的对映体转化成另一化学实体时,则需要另外的步骤以形成所需的对映体形式。备选地,可以通过使用光学活性试剂、底物、催化剂或溶剂的不对称合成,或者通过用不对称转化将一种对映体转化成另一种对映体,合成特定的对映体。

[0301] 本发明的某些化合物可以作为差向异构体的混合物存在。差向异构体表示在存在于各个化合物中的两个以上的立体(stereogenic)中心中的仅一个处具有相反构型的非对映异构体。

[0302] 本发明的某些化合物可以以两性离子形式存在,并且本发明包括这些化合物的两性离子形式和它们的混合物。

[0303] 另外,本发明的化合物还可以以含水的和无水的形式存在。本文描述的任一式的化合物的水合物被包括作为本发明的化合物。在进一步的实施方案中,根据本文描述的任一式的化合物是一水合物。在一个实施方案中,本发明的化合物包含约10%以下,约9%以下,约8%以下,约7%以下,约6%以下,约5%以下,约4%以下,约3%以下,约2%以下,约1%以下,约0.5%以下,约0.1%以下以重量计算的水。在另一个实施方案中,本发明的化合物包含约0.1%以上,约0.5%以上,约1%以上,约2%以上,约3%以上,约4%以上,约5%以上或约6%以上以重量计算的水。

[0304] C) 制备方法

[0305] 用于合成本发明化合物的通用方法显示在下面,并且是仅为了说明目的而公开的,并不表示被理解为限制通过任何其它方法制备化合物的方法。

[0306] 本领域技术人员将容易理解,有多种方法可用于制备本发明的化合物。

[0307] 用于制备这些化合物的原料和试剂各自可获自商业供应商如 Sigma-Aldrich Chemicals, Anaspec 或 chemipex。

[0308] 如果需要,可以使用常规技术分离和纯化反应的原料和中间体,所述常规技术如色谱法 (Biotage 急骤色谱),过滤,蒸馏等。这样的材料可以使用常规分析方法如 NMR 和 LCMS 表征。

[0309] 偶联步骤是在合适的偶联剂存在下,所述偶联剂例如,但不限于,二异丙基碳二亚胺 (DPC),酸酐混合物 (anhydride mixte) (氯甲酸异丁酯),0- 苄并三唑-1-基氧基三吡咯烷基 (pyrrolidino) 磷六氟磷酸盐 (PyBOP),0- 苄并三唑-1-基-N,N,N,N-四甲基脒磷六氟磷酸盐 (HBTU),0-(7-氮杂苄并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脒磷六氟磷酸盐 (HATU),1-羟基苄并三唑 (HOBT),在 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC) 存在下进行的。碱如 N,N-二异丙基乙胺,三乙胺或 N-甲基吗啉。除了酸酐混合物形成 (氯甲酸异丁酯, -5/-13°C) 外,该反应是在 20°C 进行的,以避免氨基酸的任何消旋化。

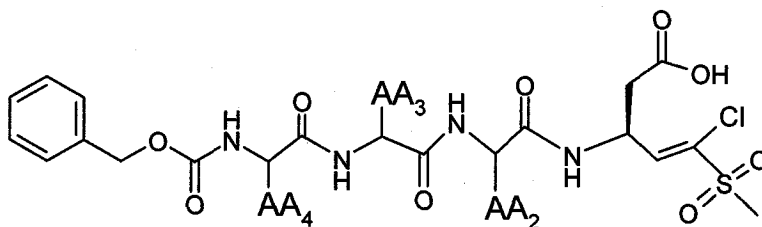
[0310] 氨基保护基的除去是采用哌啶在二氯甲烷中进行的 (Fmoc 保护基)。β-叔丁基羧酸的除去是用 TFA 进行的。N-Boc 从 β-叔丁基天冬氨酸的选择性除去是用 PTSA 或 TFA 在 0°C 进行的。

[0311] 乙烯基砜官能团在以下实例中仅作为一个例子而说明的,而限于其。本领域技术人员将认识到,其它乙烯基吸电子基团 (EWG) 也可以用于本发明中。苄氧基羰基 (Z) 是作为可以促进药物向细胞中渗透的连接子的一个实例而说明的。应认识到,也可以使用其它 X-R3。烯丙基是通过使用可商购的 AA₂-O 烯丙基保护形式直接引入的或由相应的氨基酸 AA₂-OH 合成的。

[0312] 这是汇集成,其包括在‘偶联步骤’之前合成两种不同片断 (自杀抑制剂连接子和肽或拟肽的片断)。

[0313] 式 1a 的化合物可以通过下述程序制备

[0314]



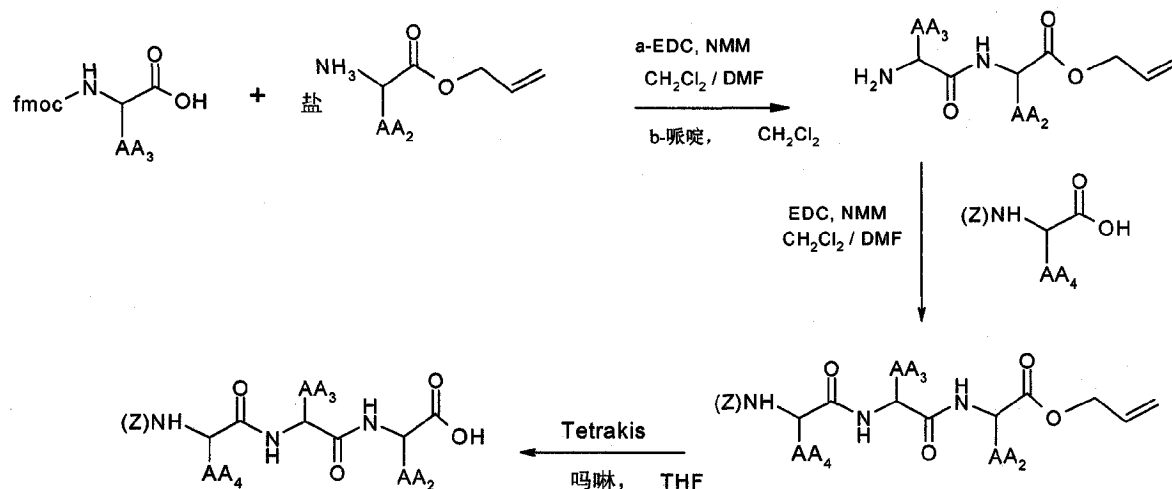
[0315] 式 1a

[0316] 左臂合成:

[0317] 烯丙基是通过使用可商购的 AA₂-O 烯丙基保护形式直接引入的,或由保护的氨基酸 fmoc-AA₂-OH 和烯丙醇 (EDC, DMAPcat, NMM, CH₂Cl₂/DMF (5/1)) 接着 fmoc 去保护 (哌啶, CH₂Cl₂) 而合成的。

[0318] 用偶联试剂 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC) 将 AA_2 -O 烯丙基偶联到 Fmoc- AA_3 -OH 并且随后用哌啶进行 fmoc 去保护, 得到 AA_3 - AA_2 -O 烯丙基 (中间体 A), 其即可用于与 (Z)- AA_4 -OH 偶联得到 (Z)- AA_4 - AA_3 - AA_2 -O 烯丙基 (中间体 B), 该中间体 B 在除去烯丙基 (四 (tetrakis)) 后释放 C-末端羧酸 (三肽 A), 如以下方案所示。

[0319]



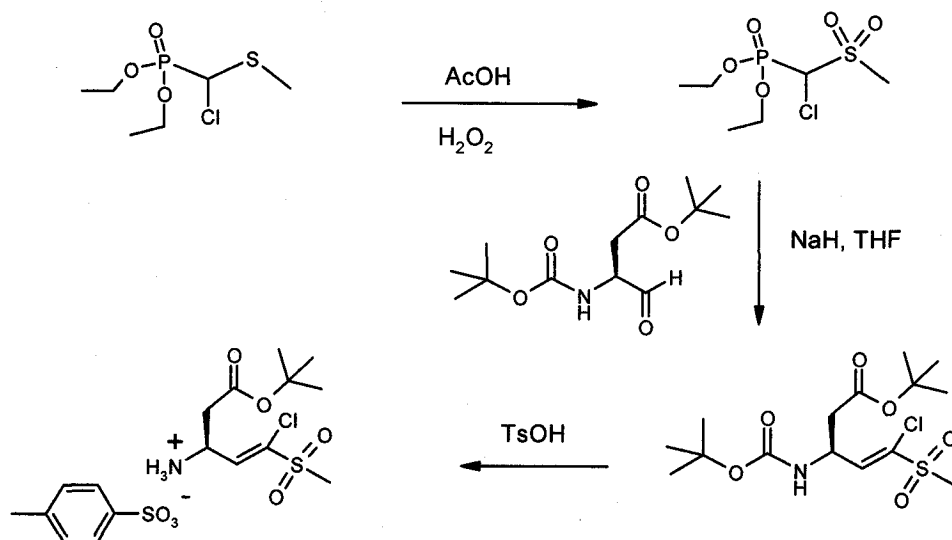
[0320] 右臂合成

[0321] 在以下方案中提议的自杀底物是 Asp α -氯乙烯基甲基砒。

[0322] 共用中间体 Boc-Asp(B-叔丁基)-H 是由 Boc-Asp(B-叔丁基)-N-羟基琥珀酰亚胺酯合成的, 如 (Mancuso A 等, 1981, William R. Ewing 等, 1999 和 Won Bum Jang. 2004) 所报道。

[0323] 将醛用氯 (甲基砒) 甲基膦酸二乙酯阴离子钠处理, 以 Wadsworth 和 Emmons 方式, 得到相应的 Boc-Asp(β -叔丁基) α -氯乙烯基-甲基砒。

[0324]

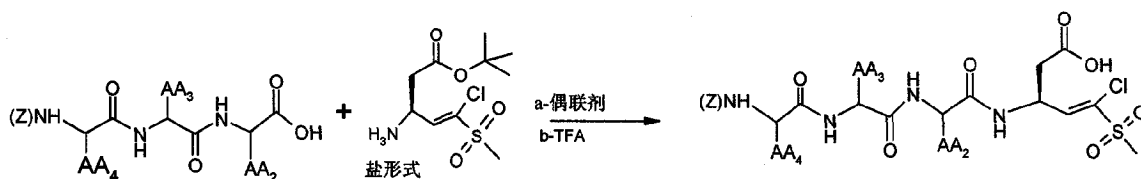


[0325] 偶联步骤合成

[0326] 在偶联试剂如 (氯甲酸异丁酯, NMM) 或 (HOBT, NMM, EDC; Dragovich P., S., 1999) 存在下, Asp α -氯乙烯基甲基砒盐和该肽之间的偶联步骤得到 Asp α -氯乙烯基甲基砒肽

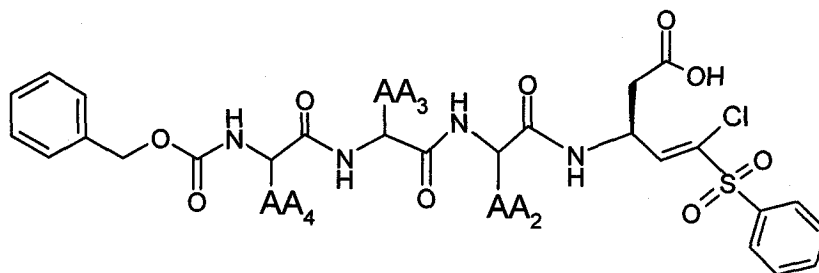
衍生物。

[0327]



[0328] 式 1b 的化合物可以通过下述程序制备

[0329]



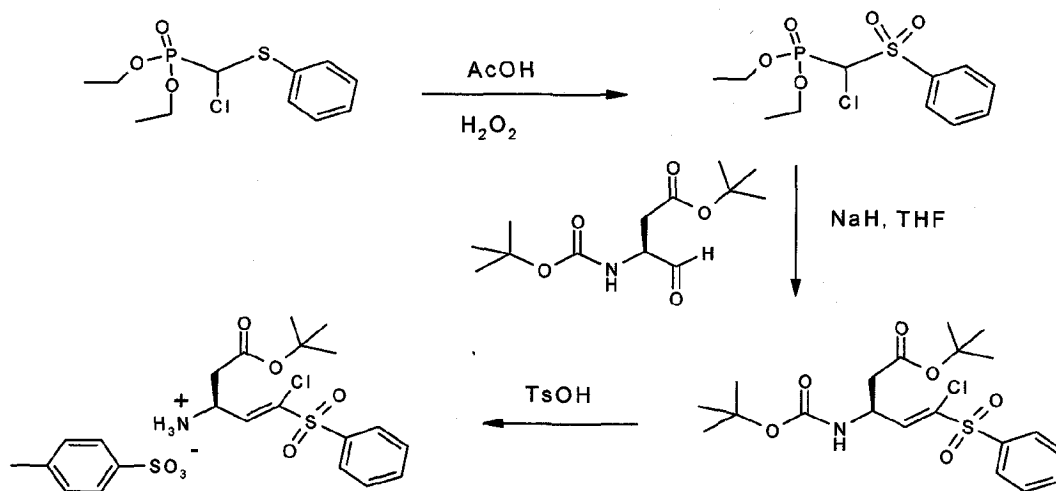
[0330] 式 1b

[0331] 右臂合成

[0332] 在以下方案中提议的自杀底物是 Asp α -氯乙基苯基砷。

[0333] 该醛用氯(甲基砷)苯基膦酸二乙酯阴离子钠处理,以 Wadsworth 和 Emmons 方式,得到相应的 Boc-Asp(β -叔丁基) α -氯乙基苯基砷。

[0334]

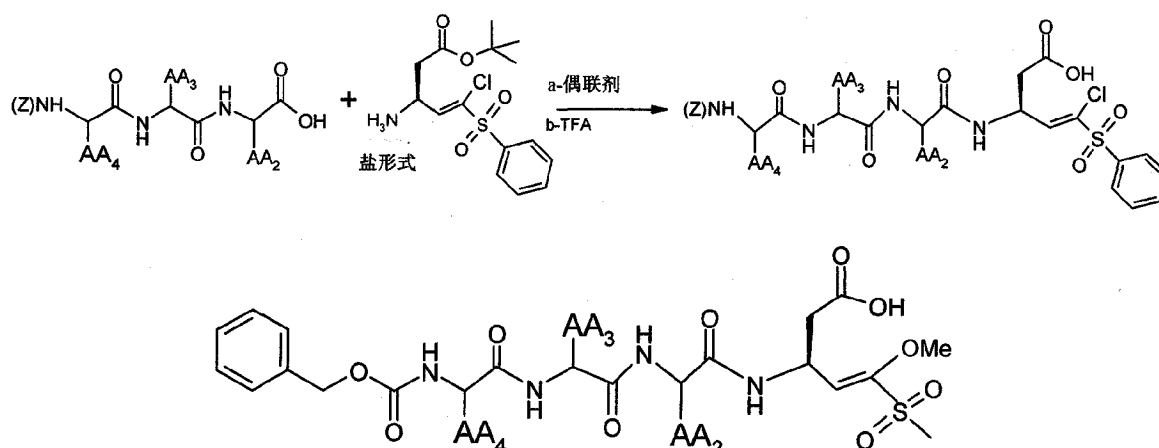


[0335] 偶联步骤合成

[0336] 在偶联试剂如(氯甲酸异丁酯, NMM)或(HOBT, NMM, EDC)存在下, Asp α -氯乙基苯基砷盐和该肽之间的偶联步骤得到 Asp α -氯乙基苯基砷肽衍生物。

[0337] 式 1c 的化合物可以通过下述程序制备

[0338]



[0339] 式 1c

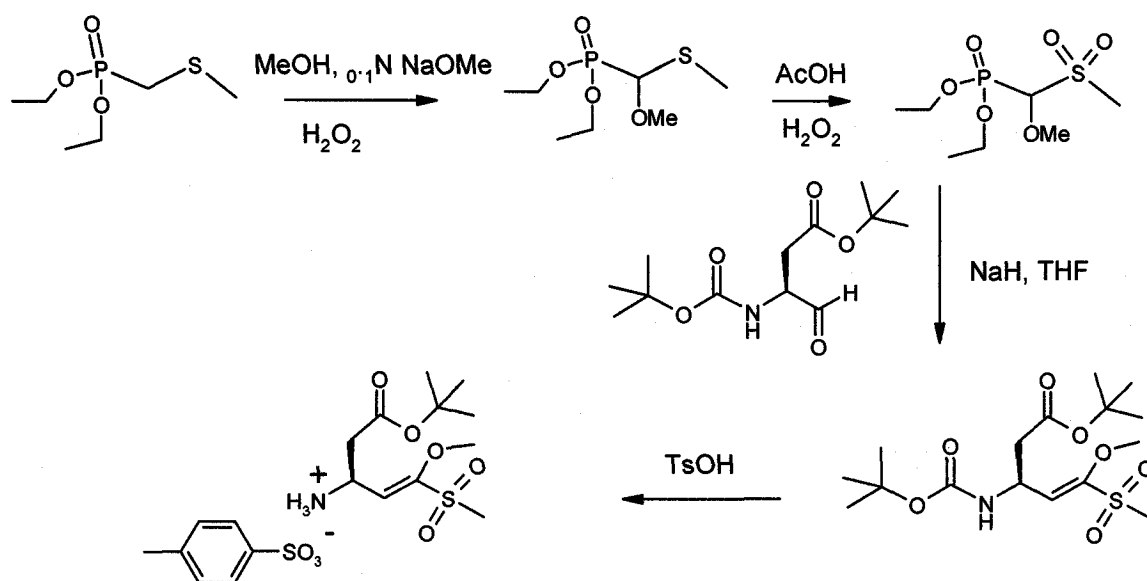
[0340] 右臂合成

[0341] 在以下方案中提议的自杀底物是 Asp α -甲氧基乙烯基甲基砜。

[0342] 甲硫基甲基膦酸二乙酯的氧化包括在 NaOMe/MeOH(用 CO₂ 饱和)中的阳极氧化, 得到二乙氧基氧磷基甲醛的 O,S-缩醛, 其在氧化后可以得到相应的砜, 如甲氧基(甲基砜)苯基膦酸二乙酯 (Shankaran, K 等, 2001)。

[0343] 该醛用甲氧基(甲基砜)苯基膦酸二乙酯阴离子钠处理, 应当以 Wadsworth 和 Emmons 方式得到相应的 Boc-Asp(β -叔丁基) α -甲氧基乙烯基甲基砜。

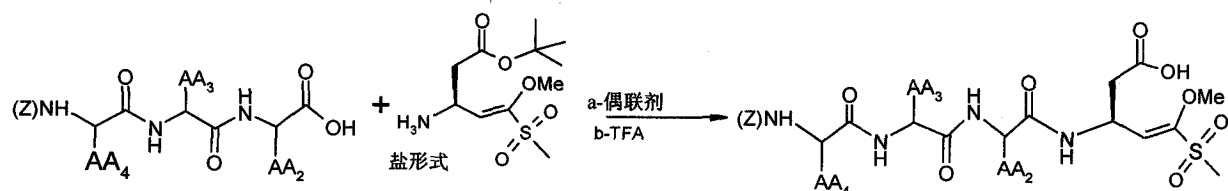
[0344]



[0345] 偶联步骤合成

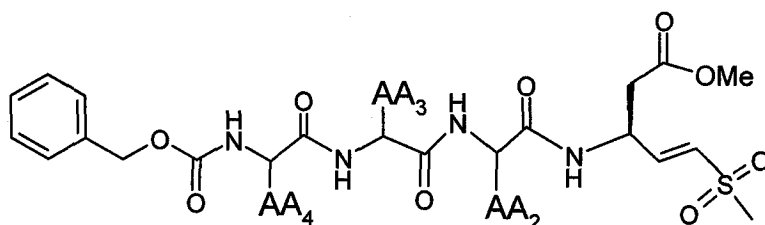
[0346] 在偶联试剂如(氯甲酸异丁酯, NMM)或(HOBT, NMM, EDC)存在下, Asp α -甲氧基乙烯基甲基砜盐和该肽之间的偶联步骤得到 Asp α -甲氧基乙烯基甲基砜肽衍生物。

[0347]



[0348] 式 1d 的化合物可以通过下述程序制备

[0349]



[0350] 式 1d

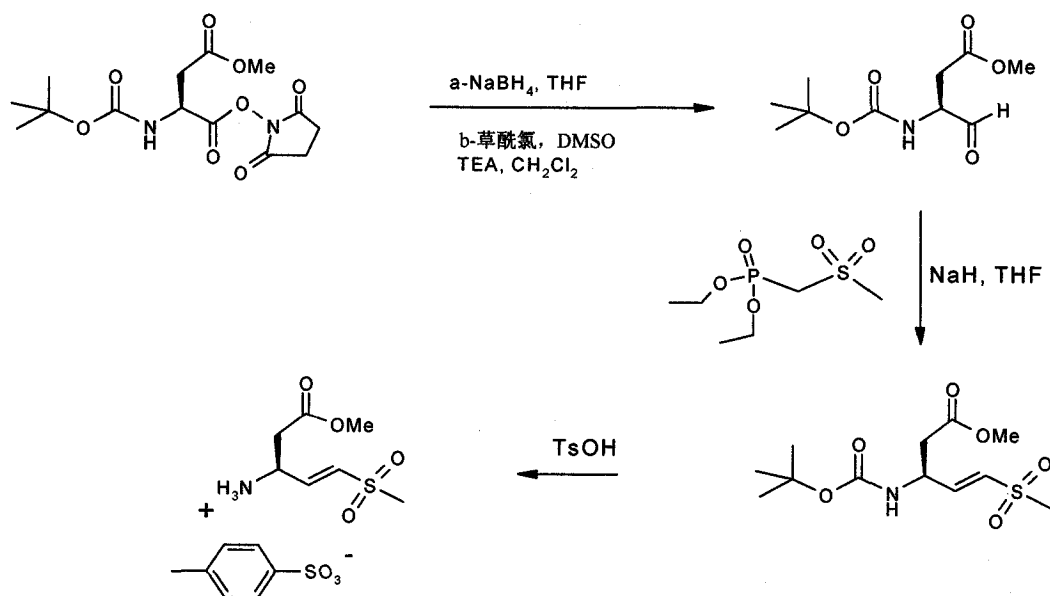
[0351] 右臂合成

[0352] 在以下方案中提议的自杀底物是 Asp(B- 甲基) 甲基乙烯基砒。

[0353] 将 Boc-Asp(B- 甲基)-N- 羟基琥珀酰亚胺酯还原成相应的醇 (NaBH_4 , THF), 随后氧化 (草酰氯, DMSO) 得到醛 :Boc-Asp(B- 甲基)-H。

[0354] 将 Boc-Asp(B- 甲基)-H 用 (甲基砒) 甲基膦酸二乙酯阴离子钠处理, 以 Wadsworth 和 Emmons 方式得到相应的 Boc-Asp(β - 甲基) 甲基乙烯基砒。

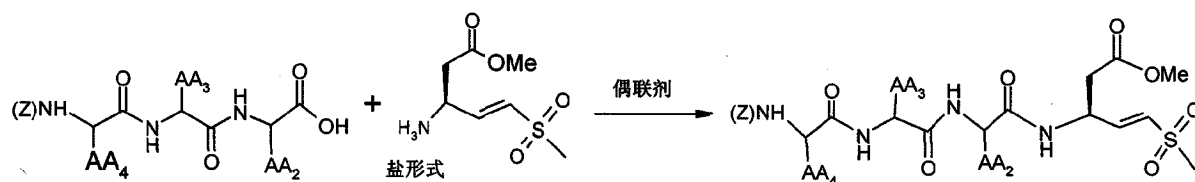
[0355]



[0356] 偶联步骤合成

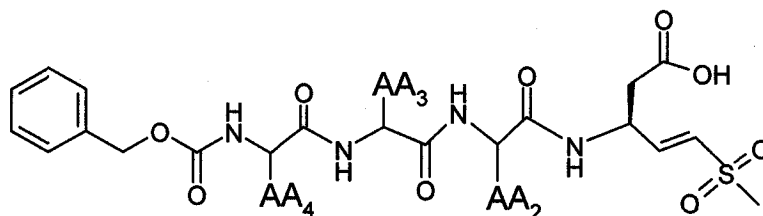
[0357] 在偶联试剂如 (氯甲酸异丁酯, NMM) 或 (HOBT, NMM, EDC) 存在下, Asp(β - 甲基) 甲基乙烯基砒盐和该肽之间的偶联步骤得到 Asp(β - 甲基) 甲基乙烯基砒肽衍生物,

[0358]



[0359] 式 1e 的化合物可以通过下述程序制备

[0360]



[0361] 式 1e

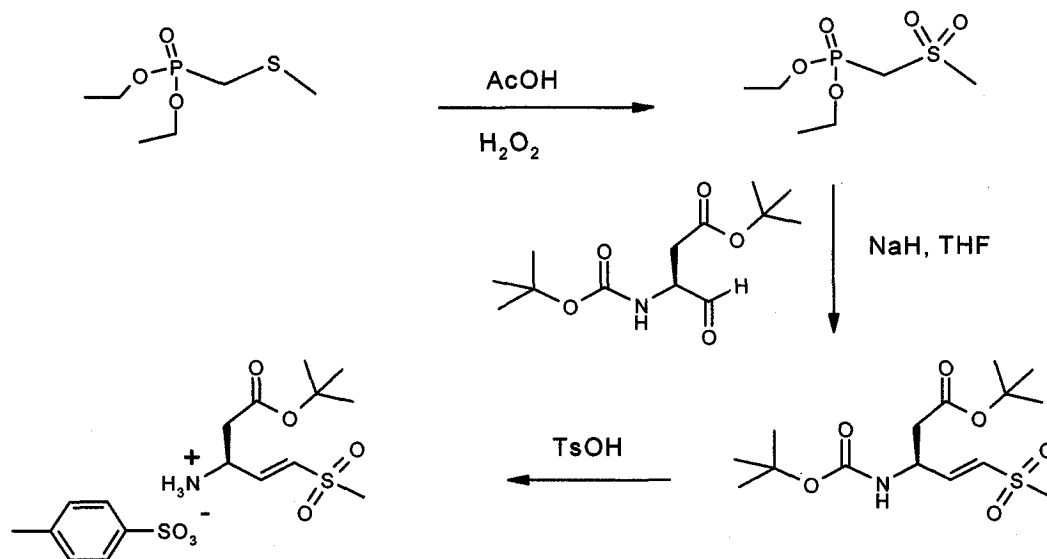
[0362] 右臂合成

[0363] 在以下方案中提议的自杀底物是 Asp 甲基乙烯基砒。

[0364] 共用中间体 Boc-Asp(B-叔丁基)-H 是从 Boc-Asp(B-叔丁基)-N-羟基琥珀酰亚胺酯合成的,如 (Mancuso A 等,1981,William R.Ewing 等,1999 和 Won Bum Jang. 2004) 所报道。

[0365] 该醛用 (甲基砒) 甲基膦酸二乙酯阴离子钠处理,以 Wadsworth 和 Emmons,1961 和 Palmer 等,1995 的方式,得到相应的 Boc-Asp(β-叔丁基) 甲基乙烯基砒。

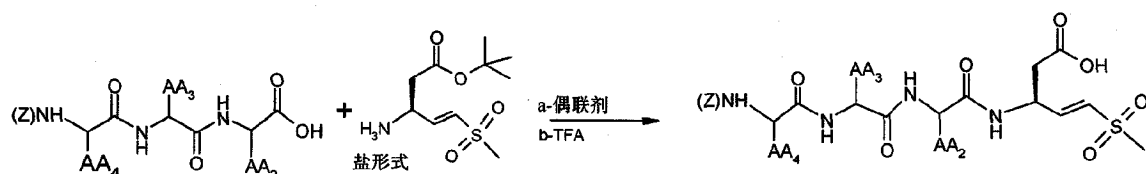
[0366]



[0367] 偶联步骤合成

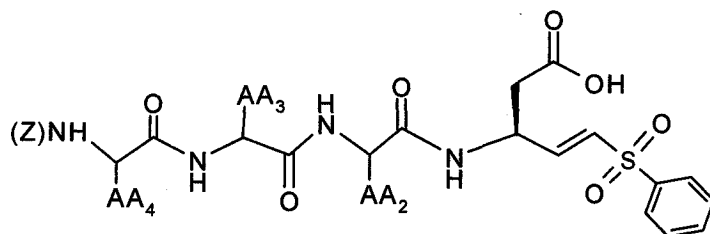
[0368] 在偶联试剂如 (氯甲酸异丁酯, NMM) 或 (HOBT, NMM, EDC) 存在下, Asp 甲基乙烯基砒盐和该肽之间的偶联步骤得到 Asp 甲基乙烯基砒肽衍生物。

[0369]



[0370] 式 1f 的化合物可以通过下述程序制备

[0371]



[0372] 式 1f

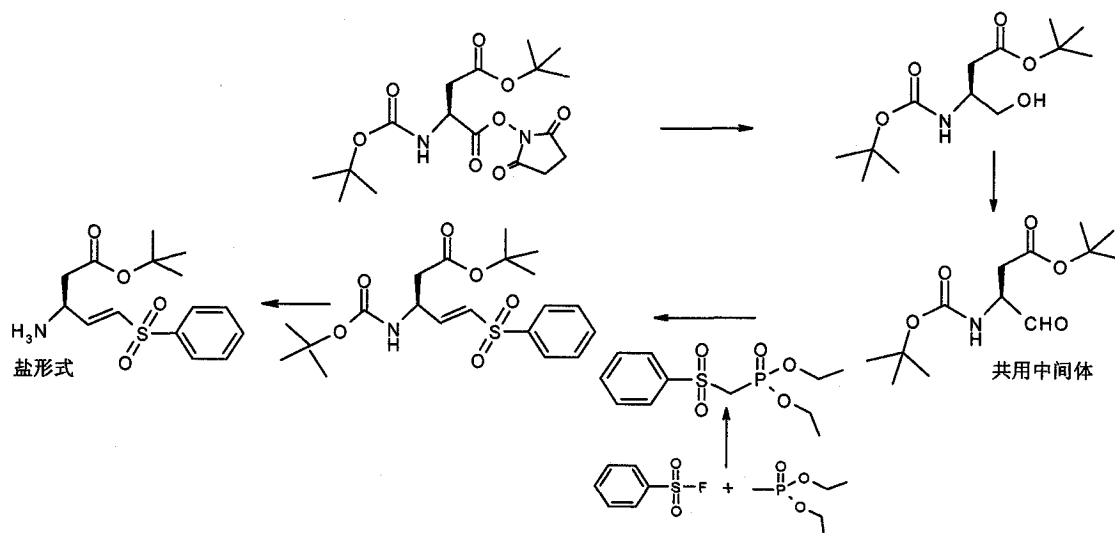
[0373] 右臂合成

[0374] 在以下方案中提议的自杀底物是 Asp 苯基乙烯基砒。

[0375] 苯基磺酰基甲基膦酸二乙酯是在六甲基二硅叠氮化锂 (lithium hexamethyldisilazide) 存在下从苯磺酰氟和三乙基膦烷一步获得的 (Won Bum Jang 等, 1998)。

[0376] 该醛用 (苯基砒) 甲基膦酸二乙酯阴离子钠处理, 以 Wadsworth 和 Emmons, 1961 和 Palmer 等, 1995 的方式得到相应的 Boc-Asp(β-叔丁基) 苯基乙烯基砒。

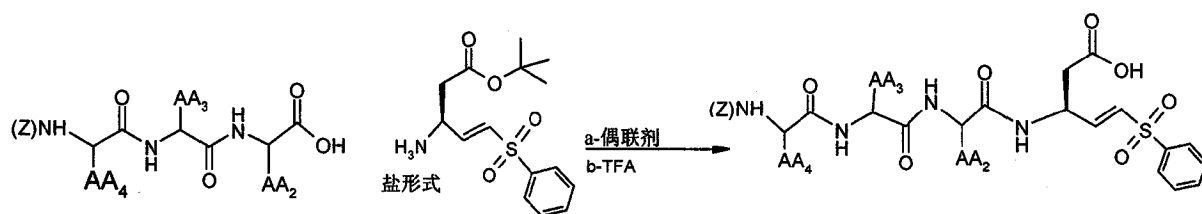
[0377]



[0378] 偶联步骤合成

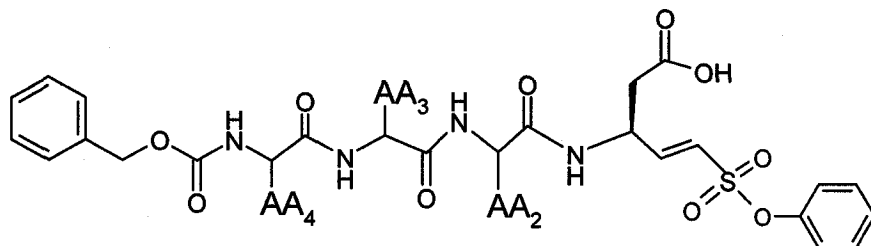
[0379] 在偶联试剂如 (氯甲酸异丁酯, NMM) 或 (HOBT, NMM, EDC) 存在下, Asp 苯基乙烯基砒盐和该肽之间的偶联步骤得到 Asp 苯基乙烯基砒肽衍生物。

[0380]



[0381] 式 1g 的化合物可以通过下述程序制备

[0382]



[0383] 式 1g

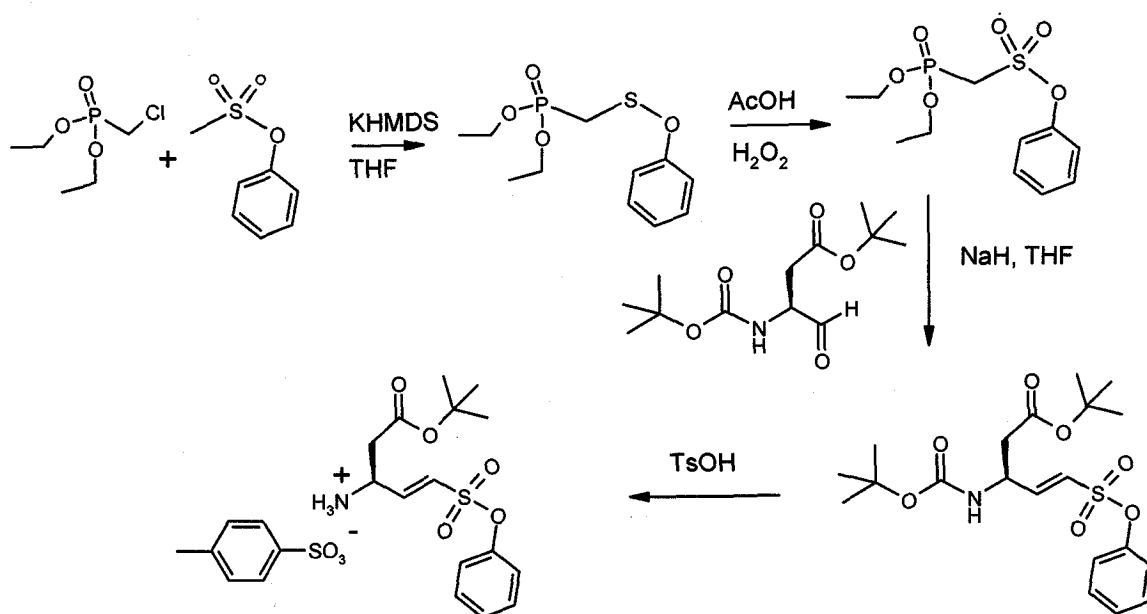
[0384] 右臂合成

[0385] 在以下方案中提议的自杀底物是 Asp 苯氧基乙烯基砒。

[0386] (苯氧基砒) 甲基膦酸二乙酯是在双(三甲代甲硅烷基)氨基钾存在下从甲磺酰基苯氧基和氯膦酸二乙酯获得的。随后的氧化 (AcOH, H₂O₂) 得到相应的砒。

[0387] 该醛用 (苯氧基砒) 甲基膦酸二乙酯阴离子钠处理, 以 Wadsworth 和 Emmons 方式得到相应的 Boc-Asp (β-叔丁基) 苯氧基乙烯基砒。

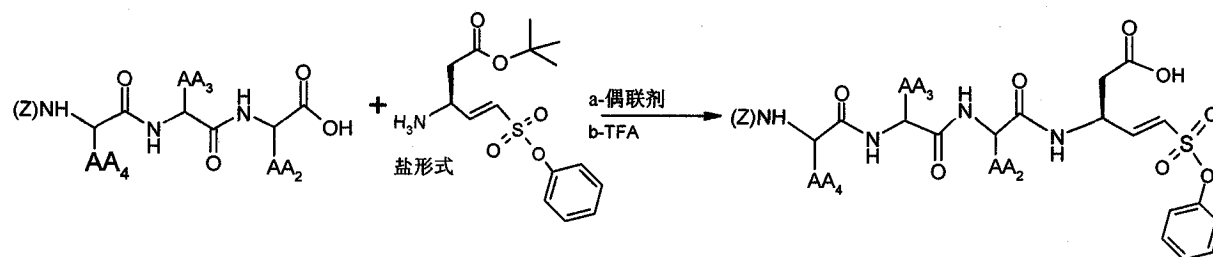
[0388]



[0389] 偶联步骤合成

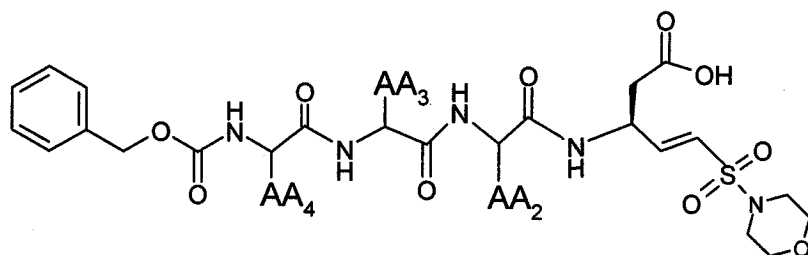
[0390] 在偶联试剂如 (氯甲酸异丁酯, NMM) 或 (HOBT, NMM, EDC) 存在下, Asp 苯氧基乙烯基砒盐和该肽之间的偶联步骤得到 Asp 苯氧基乙烯基砒肽衍生物。

[0391]



[0392] 式 1h 的化合物可以通过下述程序制备

[0393]



[0394] 式 1h

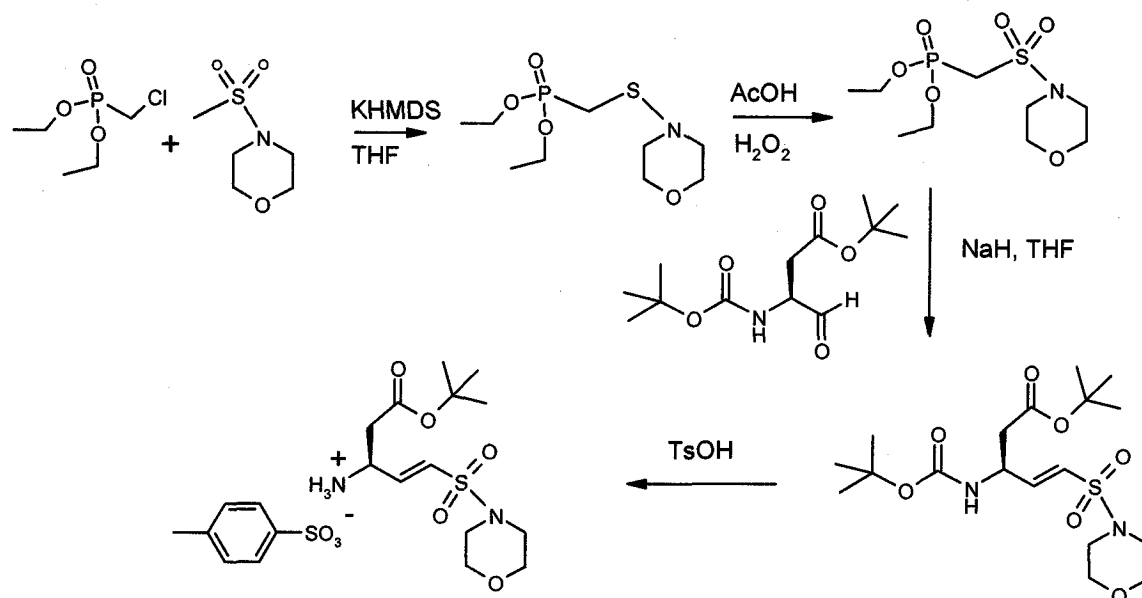
[0395] 右臂合成

[0396] 在以下方案中提议的自杀底物是 Asp 吗啉乙烯基砜。

[0397] (吗啉砜) 甲基膦酸二乙酯是在双(三甲代甲硅烷基)氨基钾存在下从甲磺酰基吗啉和氯甲基膦酸酯制备的。

[0398] 该醛用(吗啉砜)甲基膦酸二乙酯阴离子钠处理,以 Wadsworth 和 Emmons 方式得到相应的 Boc-Asp(β-叔丁基)吗啉代乙烯基砜。

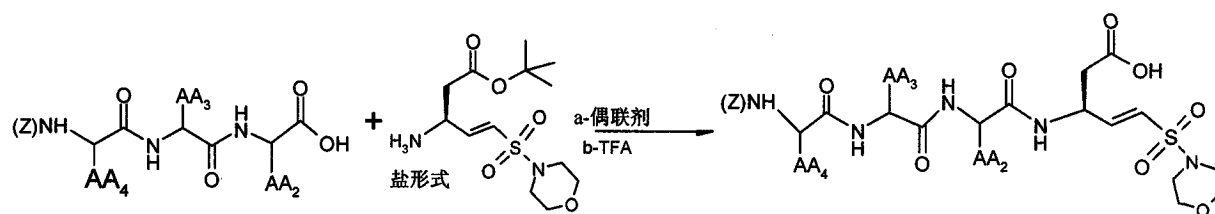
[0399]



[0400] 偶联步骤合成

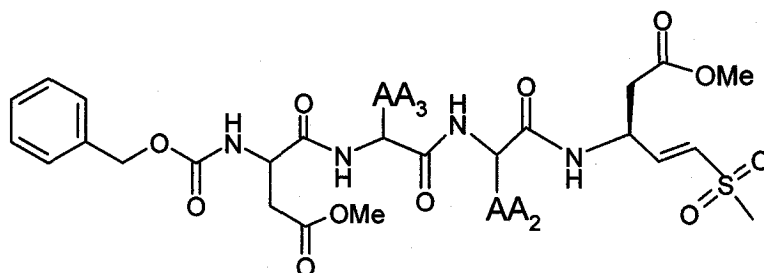
[0401] 在偶联试剂如(氯甲酸异丁酯, NMM) 或 (HOBT, NMM, EDC) 存在下, Asp 吗啉乙烯基砜盐和该肽之间的偶联步骤得到 Asp 吗啉乙烯基砜肽衍生物。

[0402]



[0403] 式 1i 的化合物可以通过下述程序制备

[0404]



[0405] 式 1i

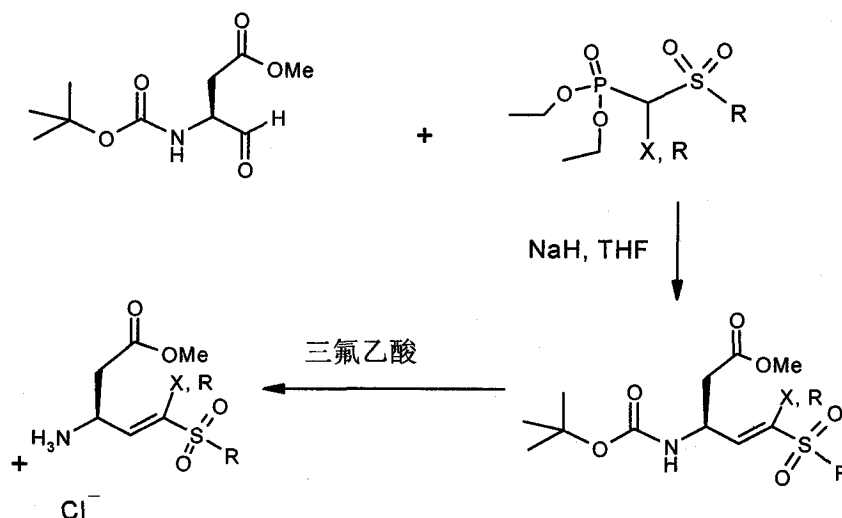
[0406] 右臂合成

[0407] 在以下方案中提议的自杀底物是 Asp(B-甲基)-乙烯基砜衍生物。

[0408] 将 Boc-Asp(B-甲基)-N-羟基琥珀酰亚胺酯还原成相应的醇 (NaBH_4 , THF), 随后氧化 (草酰氯, DMSO) 得到醛 Boc-Asp(B-甲基)-H。

[0409] Boc-Asp(B-甲基)-H 用 (甲基砜) 磷酸二乙酯衍生物阴离子钠处理, 以 Wadsworth 和 Emmons 方式得到相应的 Boc-Asp(β -甲基) 乙烯基砜衍生物。

[0410]

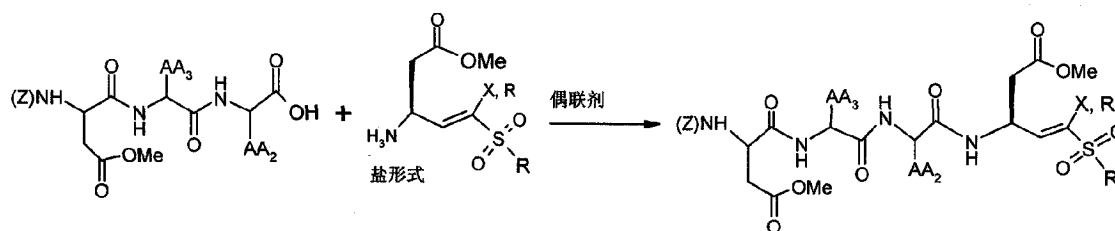


[0411] 偶联步骤合成

[0412] 在偶联试剂如 (氯甲酸异丁酯, NMM) 或 (HOBT, NMM, EDC) 存在下, Asp(β -甲基) 乙烯基砜衍生物盐和胱天蛋白酶-3 设计肽之间的偶联步骤得到 Z-Asp(β -甲基)- AA_3 - AA_2 -Asp(β -甲基) 乙烯基砜肽衍生物。

[0413] 该方法允许合成多种前药乙烯基砜衍生物, 这些前药乙烯基砜衍生物可以通过选择合适的组合 (X, R) 并且采用上述的合适方法而容易地获得。这样的组合可以提高细胞透性、选择性和效力。

[0414]



[0415] 作为本发明的化合物,包括所述化合物的所有的酸、盐和其它离子形式和非离子形式。例如,如果化合物在此处显示为酸,则还包括该化合物的盐形式。类似地,如果化合物显示为盐,则还包括酸形式。

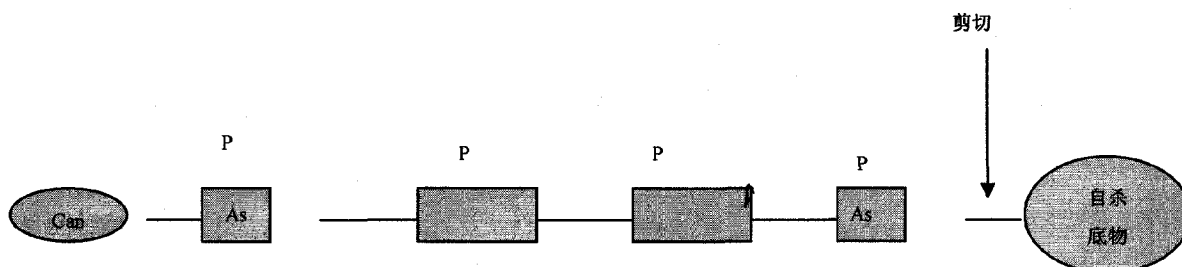
[0416] 在某些实施方案中,本发明的化合物由通式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 或其药用盐和 / 或前药表示:

[0417] D) 特异性胰天蛋白酶抑制剂的开发

[0418] 本发明的另一方面涉及用于设计胰天蛋白酶抑制剂的方法。按照与以下所概述的相同方法,本领域技术人员将理解:可以想到进一步提高式 II 化合物例如 Z-Asp-Phg-Val-AspVS 甲基 (53) 对胰天蛋白酶-3 的效力,并且选择性地抑制其它胰天蛋白酶如胰天蛋白酶-2,胰天蛋白酶-8,胰天蛋白酶-9 和胰天蛋白酶-1。

[0419] 如已知的,所有胰天蛋白酶在位置 P1 的天冬氨酸氨基酸的右侧分裂底物。但是,胰天蛋白酶-3 需要在位置 P4 的另外的 Asp,这赋予胰天蛋白酶-3 其特异性:

[0420]



[0421] 如以下表 2 中所示,自杀底物如 AspVS 甲基 (化合物 93) 和 Asp(Otbu)VS 甲基 (化合物 33) 对胰天蛋白酶-3 没有任何活性。底物 z-Asp(Otbu)-Phg-val-OH (化合物 16) 也对胰天蛋白酶-3 没有任何活性。但是,肽和自杀底物的融合产物, z-Asp-Phg-Val-AspVS 甲基 (化合物 53),被证明是非常有效力的胰天蛋白酶-3 抑制剂,IC₅₀ 为 30-90nM。抑制是选择性的,因为,虽然胰天蛋白酶-7 与胰天蛋白酶-3 属于同一组,但是该胰天蛋白酶的 IC₅₀ 值约高 12 倍。用 Ala(2'-喹啉基)取代在位置 P3 的 Phg 进一步提高选择性 (约 56 倍的差异,见化合物 55)。

[0422] 如就 z-Val-AspVS 甲基 (化合物 61) 所观察到的,将在 P4 和 P3 位置的天冬氨酸和 Ala(2'-喹啉基)都删除完全消除了对胰天蛋白酶-3 的活性。在 z-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp α 氯乙基甲基磺 (化合物 50) 与 z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp α 氯乙基甲基磺 (化合物 48) 相比的实例中,在仅删除天冬氨酸后,观察到相同的结果。

[0423] 在位置 P3 和 P2 的变化

[0424] 在位置 P3 和 P2 处的氨基酸都可以用来选择性地靶向胰天蛋白酶-3,如所观察到

的,而且还可以用来选择性地靶向其它胰天蛋白酶。以下实例突出了这种可能性:(1) 在 P3 位置用茚满基(indanyl)甘氨酸代替 Ala(2'-喹啉基)(化合物 55)导致 z-Asp-茚满基甘氨酸-Val-AspVS 甲基(化合物 57)。此取代提高了对组 III 胰天蛋白酶的抑制效果(胰天蛋白酶-3(30-90nM)和 7(0.18-0.30uM),并且对于组 1 的效力小约 29 倍(胰天蛋白酶-1(0.6-1.2uM))。(2) 在 P3 位置的 Trp 的存在(z-Asp-Trp-Val-AspVS 甲基;化合物 88)保留了对胰天蛋白酶-3 的选择性(30-90nM)并且产生了对胰天蛋白酶-1 的额外活性(0.6-1.2uM)。因此,该分子拥有选择性抑制属于两个不同组(即,促炎和促凋亡组)的两种胰天蛋白酶的能力。(3) 在 P-3 位置的谷氨酸的存在(z-Asp-Glu-Val-AspVS 甲基;化合物 59)保留了对胰天蛋白酶-3 的选择性(IC50 20nM)并且产生对胰天蛋白酶-7(IC50 42nM)和胰天蛋白酶-9(509nM)的额外活性。因此,该分子拥有选择性抑制属于两个不同组(即,起始子和处决者胰天蛋白酶)的两种胰天蛋白酶的能力。

[0425] 位置 P4 的变化

[0426] 在位置 P4 的变化也可以影响给定抑制剂的选择性。显示在位置 P4 良好匹配到相应胰天蛋白酶-1 口袋中的氨基酸是酪氨酸。因此,将 z-Tyr-Val-Ala-AspVS 苯基(化合物 96)对不同胰天蛋白酶进行了测试,并且证明对胰天蛋白酶-1 的选择性(IC50 1.2-1.5 μM)。显示在位置 P3 良好匹配到相应胰天蛋白酶-1 口袋中的氨基酸是谷氨酸。因此,将 z-Tyr-Glu-Ala-AspVS 甲基(化合物 82)对不同胰天蛋白酶进行了测试并且对胰天蛋白酶-1 的抑制提高到 0.5 μM。

[0427] 这些具体实例证明,可以基于由组 III 胰天蛋白酶识别的序列制备选择性的胰天蛋白酶-3 抑制剂。按照与以下所略述的相同方法,可以想到的是,选择性抑制其它胰天蛋白酶和进一步提高对所选择的胰天蛋白酶的效力。

[0428] 选择性胰天蛋白酶-3 抑制剂的设计

[0429] 在一个实施方案中,所述方法包括合成具有以下通式 D1 的化合物:

[0430] $D_a-(P3)-(P2)-D_b-$ 自杀底物 (D1)

[0431] 其中

[0432] P2 选自以下氨基酸:V, L, P, M, A, T 和 H;

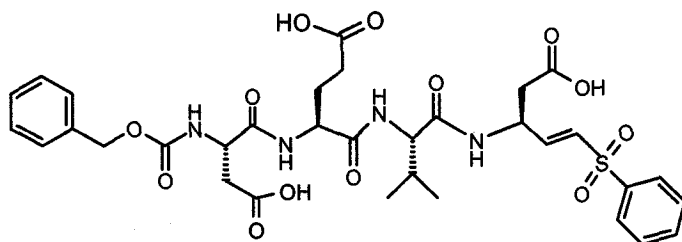
[0433] P3 选自以下氨基酸:Phg, E, 茚满基甘氨酸, W, Y, A, D, Ala-(2'-喹啉基), Q, F, S, T, V, Y, G, L;

[0434] D_a 是 (D) 或 (L) 天冬氨酸。

[0435] D_b 是 (D) 或 (L) 天冬氨酸的侧链。

[0436] 以下化合物 (DEVD- 乙烯基苯基砒) 是具有设计用以选择性抑制胰天蛋白酶-3 的序列(即, D_a 是 Cbz- 天冬氨酸;P3 是 Glu;P2 是 Val; D_b 是 Asp;并且自杀底物是乙烯基苯基砒)的化合物的一个实例:

[0437]



[0438] 选择性胱天蛋白酶 -8/ 胱天蛋白酶 -9 抑制剂的设计

[0439] 在一个实施方案中,所述方法包括合成具有以下通式 D2 的化合物:

[0440] (P4)-(P3)-(P2)-D- 自杀底物 (D2)

[0441] 其中

[0442] P2 选自以下氨基酸 :T, H, V, W, I 和 A ;

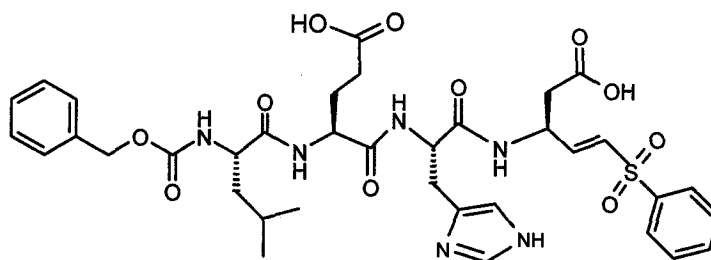
[0443] P3 选自以下氨基酸 :E, Ala(2'- 噻啉基 ;

[0444] P4 选自以下氨基酸 :I, L, E, D, A, P 和 V ;

[0445] D 是 (D) 或 (L) 天冬氨酸的侧链并且自杀底物是乙烯基苯基砒。

[0446] 以下是具有设计用以选择性抑制胱天蛋白酶 -8 的序列 (即, P4 是 Cbz-L ;P3 是 Glu ; P2 是 His ;D 是 Asp 并且自杀底物是乙烯基苯基砒) 的化合物的一个实例 :

[0447]



[0448] 选择性胱天蛋白酶 -2 抑制剂的设计

[0449] 在一个实施方案中,所述方法包括合成具有以下通式 D3 的化合物:

[0450] (P5)-(P4)-(P3)-(P2)-D- 自杀底物 (D3)

[0451] 其中

[0452] P2 选自以下氨基酸 :A, S, K 和 V ;

[0453] P3 选自以下氨基酸 :V, E, T 和 Q ;

[0454] P4 选自以下氨基酸 :D 和 L ;

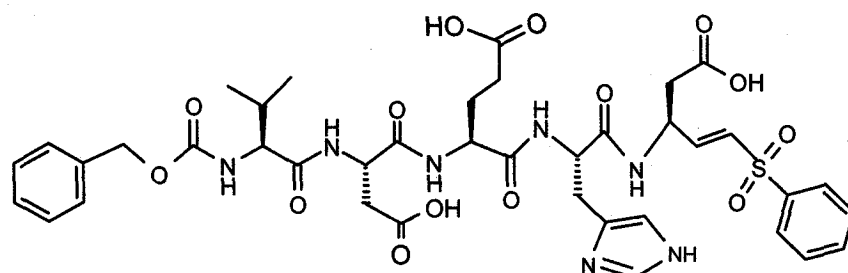
[0455] P5 选自以下氨基酸 :V 和 L ;

[0456] D 是 (D) 或 (L) 天冬氨酸的侧链 ;并且

[0457] 自杀底物选自由乙烯基苯基砒组成的组。

[0458] 以下是具有设计用以选择性抑制胱天蛋白酶 -2 的序列 (即, P5 是 CbzVal ;P4 是 Asp ;P3 是 Glu ;P2 是 His 并且 D 是 Asp ;自杀底物是乙烯基苯基砒) 的化合物 (VDEHD- 乙烯基苯基砒) 的一个实例 :

[0459]



[0460] 选择性胱天蛋白酶 -1 抑制剂的设计

[0461] 在一个实施方案中,所述方法包括合成以下通式 D4 的化合物:

[0462] (P4)-(P3)-(P2)-D- 自杀底物 (D4)

[0463] 其中

[0464] P2 选自以下氨基酸 :V, A, T 和 H ;

[0465] P3 选自以下氨基酸 :E, Q, D, A, G, T, V, Ala(2' - 喹啉基), 茚满基甘氨酸和 W ;

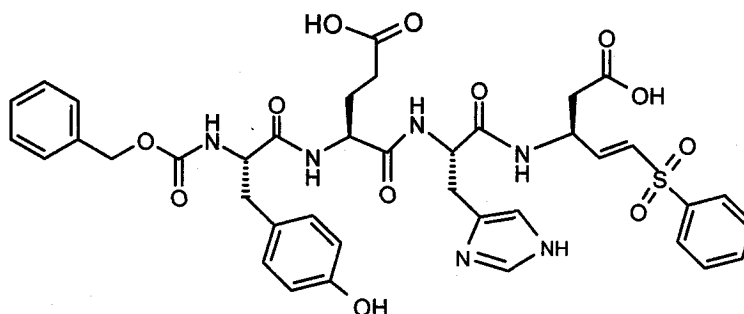
[0466] P4 选自以下氨基酸 :Y, W, F 和 D ;

[0467] D 是 (D) 或 (L) 天冬氨酸的侧链 ;并且

[0468] 自杀底物选自由乙烯基苯基砜组成的组。

[0469] 以下是具有设计用以选择性抑制胰天蛋白酶 -1 的序列 (即, P4 是 CbzTyr ; P3 是 Glu ; P2 是 His ;D 是 Asp 并且自杀底物是乙烯基苯基砜) 的化合物 (YEHD- 乙烯基苯基砜) 的一个实例 :

[0470]



[0471] D) 药物应用

[0472] 如以上所示和以下所示例的, 本发明的化合物具有有益的药物性质并且这些化合物可以具有在受治者的各种疾病和病症的预防和 / 或治疗方面的药物应用。发明人考虑的医学和药物应用包括但不限于 : 胰天蛋白酶介导的疾病。另外, 本发明的化合物可以用于体外细胞具有有益的益处如促进细胞存活或细胞的健康。

[0473] 术语“受治者”包括活的有机体, 其中可能发生血液病、肾衰竭、与高血压有关的炎症相关疾病和 / 或氧化应激相关的紊乱, 或其易患这样的病症。术语“受治者”包括动物 (例如, 哺乳动物 (例如, 猫、狗、马、猪、牛、山羊、绵羊、啮齿动物 (例如, 小鼠或大鼠)、兔、松鼠、熊、灵长类 (例如, 黑猩猩、猴子、大猩猩和人)), 以及鸟类 (例如鸡、鸭、北京鸭、鹅), 及其转基因物种。优选地, 受治者是哺乳动物。更优选受治者是人。还更优选受治者是需要治疗的人患者。

[0474] 术语“胰天蛋白酶介导的疾病”包括胰天蛋白酶 -1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -10, -11, -12 中的任何一种或多种在其中起显著作用的所有疾病、紊乱和 / 或病症。在一些实施方案中, 胰天蛋白酶介导的疾病主要涉及处决者胰天蛋白酶 (胰天蛋白酶 -3, 6, 7)。在另一实施方案中, 胰天蛋白酶介导的疾病主要涉及起始子 (胰天蛋白酶 -2, 8, 9, 10)。在一些实施方案中, 本发明的化合物对一种特定胰天蛋白酶显示高的特异性。在另一实施方案中, 本发明的化合物能够抑制两组胰天蛋白酶。另外, 在另一实施方案中, 本发明化合物甚至能够抑制属于两个不同胰天蛋白酶组的两种特定的胰天蛋白酶。

[0475] 根据本发明的胰天蛋白酶介导的疾病的实例包括但不限于 : 凋亡介导的疾病, IL-1 介导的疾病, 炎症性疾病, 自身免疫性疾病, 自身炎症性疾病, 增生性疾病, 传染病, 变性疾病, 视网膜异常, 炎症性腹膜炎, 骨关节炎, 胰腺炎, 哮喘, 呼吸窘迫综合征, 类风湿性关节炎, 系统

性红斑狼疮,硬皮病,格雷夫斯病,自身免疫性胃炎,糖尿病,自身免疫性溶血性贫血,自身免疫性中性白细胞减少,血小板减少,肝炎,炎性肠病,局限性回肠炎,银屑病,皮炎,移植物抗宿主病,器官移植排斥,骨质疏松症,白血病和相关紊乱,多发性骨髓瘤相关疾病,转移性黑色素瘤,卡波西肉瘤,脓毒病,脓毒性休克,阿尔茨海默病,帕金森病,亨廷顿病,脑缺血,癫痫,心肌缺血,急性和慢性心脏病,心肌梗死,充血性心力衰竭,动脉粥样硬化,脊髓性肌萎缩,肌萎缩侧索硬化,多发性硬化,HIV 相关的脑炎,老化,由卒中造成的神经性损伤,溃疡性结肠炎,外伤性脑损伤,脊髓损伤,乙型肝炎,丙型肝炎,庚型肝炎,肝相关疾病,肾病和 HIV 感染。

[0476] 如本文中使用的,“预防(preventing)”或“预防(prevention)”意在表示至少降低患(或易感)所述疾病或紊乱的风险的可能性(即,使得患者疾病临床症状中的至少一种不发展,所述患者可能暴露于或易感于所述疾病但是还没有经历或显示该疾病的症状)。本文中提供用于识别这样的患者的生物和生理参数并且它们也是医师熟知的。

[0477] 术语受治者的“治疗(treatment)”或“治疗(treating)”包括向受治者施用或给药本发明的化合物(或者向受治者的细胞或组织施用或给药本发明的化合物),其目的是稳定、治愈、康复、缓和、减轻、改变、补救、较慢恶化、改良、改善或影响所述疾病或病症、所述疾病或病症的症状或患(或易感)所述疾病或病症的风险。术语“治疗”表示治疗或改善损伤、病理或病症成功的任何标记,包括任何客观或主观参数,如缓和;缓解;恶化率的减少;疾病严重程度的下降;症状的稳定、消除,或使得损伤、病理或病症对受治者更可容忍;减缓变性或衰退速率;使得变性的终点较不虚弱;或改善受治者的身体或精神保持良好状态。在一些实施方案中,术语“治疗”可以包括提高受治者的预期寿命和/或在需要另外治疗之前的延迟。

[0478] 寻址(addressing)胱天蛋白酶介导的疾病在本发明考虑的医学和药物应用之列。因此,本发明的一个方面涉及用于预防和/或治疗需要其的患者,优选人类患者的胱天蛋白酶介导的疾病的方法、化合物和组合物。

[0479] 本发明的另一方面涉及本文所述的化合物用于抑制细胞中胱天蛋白酶或胱天蛋白酶样蛋白的用途,包括使胱天蛋白酶或胱天蛋白酶样蛋白与有效量的根据本发明的胱天蛋白酶抑制剂接触。

[0480] 在一些实施方案中,受治者可能受到病毒感染。因此,本发明还涉及预防或治疗病毒感染的方法,包括向需要其的受治者给药有效剂量的根据本发明的胱天蛋白酶抑制剂(或包含所述胱天蛋白酶抑制剂的药物组合物)。这可以有助于抑制细胞的胱天蛋白酶,从而抑制病毒增殖。

[0481] 还特别感兴趣的是用于治疗细胞或组织中受胱天蛋白酶活性影响的过度凋亡的方法,包括使细胞或组织与有效量的一种或多种根据本发明的胱天蛋白酶抑制剂(或包含所述胱天蛋白酶抑制剂的药物组合物)接触。

[0482] 还特别感兴趣的是用于通过防止一些干细胞进入部分或完全凋亡循环而刺激干细胞增殖的方法。用于培养大量干细胞的方法可以包括有效量的一种或多种根据本发明的胱天蛋白酶抑制剂(或包含所述胱天蛋白酶抑制剂的药物组合物)和用于培养干细胞的培养基。

[0483] 尽管关注于胱天蛋白酶,但是本发明不仅限于胱天蛋白酶。例如,可想到的是,本

发明的化合物还对抑制另外的蛋白酶家族有效,包括但不限于:丝氨酸蛋白酶,半胱氨酸蛋白酶,天冬氨酸蛋白酶,金属蛋白酶和未知催化类型的其它蛋白酶。对于可以被本文定义的化合物抑制的蛋白酶的更详细列表,见 ZBIGNIEW GRZONKA,半胱氨酸蛋白酶。Industrial Enzymes, 181-195,第 11 章,2007 年, Springer。

[0484] 为了评价、考核和 / 或证实本发明的方法、化合物和 / 或组合物的效力,可以测定系列测量。胱天蛋白酶功能异常的胱天蛋白酶功能和参数的定量评价是本领域熟知的。用于确定胱天蛋白酶活性的试验的实例在实施例部分中提供。

[0485] 因此希望的是,可以进一步分析、测试或验证根据本发明的化合物穿过血脑屏障 BBB 的能力。许多体外、体内和硅胞中 (in-silico) 方法可以用来在药物开发过程中模拟 BBB (Lohmann 等 (2002) Predicting blood-brain barrier permeability of drugs: evaluation of different in vitro assays. J Drug Target 10:263-276; Nicolazzo 等 (2006) Methods to assess drug permeability across the blood-brain barrier. J Pharm Pharmacol 58:281-293)。体外模型包括初级内皮细胞培养和无限增殖化的细胞系如 Caco-2, BMEC, MDCK。这些细胞可用作筛选方法并且可以将化合物按 BBB 渗透性适当排序。体内模型如颈内动脉单注入或灌注,静脉快速浓注,脑通量指数和脑内微量渗析提供关于脑摄取的更精确信息,并且这些可以补充新型成像技术 (如磁共振成像和正电子发射层析照相术),尽管这些方法不适合高通过量渗透性评价。

[0486] 在某些实施方案中,给药的前药中的至少一些仅在被胃肠道吸收后和 / 或仅当其达到脑时即在其通过血脑屏障 (BBB) 后产生相应的药物化合物。

[0487] E) 药物组合物和制剂

[0488] 本发明的相关方面涉及包含一种或多种本文描述的本发明化合物的药物组合物。如之前所指出的,本发明的化合物可用于预防和 / 或治疗胱天蛋白酶介导的疾病,更具体是脓毒病,心肌梗死,缺血性卒中,脊髓损伤 (SCI),外伤性脑损伤 (TBI) 和神经变性疾病 (例如多发性硬化 (MS) 和阿尔茨海默病,帕金森病和亨廷顿病)。

[0489] 如本文使用的术语“治疗有效量”是指向受治者给药以治疗或预防具体紊乱、疾病或病症时,足以实现该紊乱、疾病或病症的这种治疗或预防的化合物的量。剂量和治疗有效量可以根据多种因素而变化,例如,包括所用的特定药剂的活性,受治者年龄、体重、总的健康情况、性别和饮食,给药时间,给药途径,排泄率和可应用的任何药物组合,从业医师希望的化合物对受治者具有的效果和化合物的性质 (例如生物利用度,稳定性,效力,毒性等),以及受治者所患的一种或多种具体紊乱。另外,治疗有效量可以取决于受治者的血液参数 (例如脂质分布,胰岛素水平,血糖),疾病状态的严重性,器官功能或潜在的疾病或并发症。这种合适的剂量可以采用任何可用的试验确定,包括本文描述的试验。当将本发明的一种或多种化合物向人给药时,医师可以例如先开较低的剂量,随后增加剂量直至获得合适的反应。

[0490] 如本文使用的术语“药物组合物”是指存在至少一种根据如本文定义的式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 中的任何一个的本发明化合物和至少一种药用媒介物。本发明代表性化合物的实例包括表 1 中的化合物及其药用盐。

[0491] “药用媒介物”是指与化合物一起给药的稀释剂、辅剂、赋形剂或载体。术语“药用的”是指药物、药剂、惰性成分等,其适合用于与人和低等动物的组织接触,无不适当

的毒性、不相容、不稳定、刺激、变态反应等,与合理的益处/风险比例相匹配。优选表示被联邦或州政府管理机构批准或可批准的或者在美国药典或其它普遍接受的用于动物、更特别是人的药典中所列出的化合物或组合物。药用媒介物可以是溶剂或分散介质,其含有例如,水,乙醇,多元醇(例如,甘油,丙二醇和液体聚乙二醇等),其合适的混合物,以及植物油。药用媒介物的另外的实例包括但不限于:USP 注射用水;水性媒介物如,但不限于,氯化钠注射液,林格氏注射液,葡萄糖注射液,葡萄糖和氯化钠注射液,和乳酸盐林格氏注射液(Lactated Ringer's Injection);水混溶性媒介物如,但不限于,乙醇,聚乙二醇和聚丙二醇;和非水性媒介物如,但不限于,玉米油,棉籽油,花生油,芝麻油,油酸乙酯,肉豆蔻酸异丙酯和苯甲酸苄酯。通过各种抗菌剂和抗真菌剂可以实现微生物作用的预防,所述抗菌剂和抗真菌剂例如,对羟基苯甲酸酯类,氯丁醇,酚,抗坏血酸,硫柳汞等。在许多情况下,在组合物中包括等渗剂,例如,糖,氯化钠或多元醇如甘露糖醇和山梨糖醇。通过在组合物中包含延迟吸收的试剂,例如,一硬脂酸铝或明胶,可以带来可注射组合物的延长吸收。纳米粒子、脂质体和结合到纳米粒子上的抗体或其组合也考虑作为药用媒介物。

[0492] 在一些实施方案中,本发明的组合物包含有效量的如上所述的式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 的化合物,优选化合物 Z-Asp- 茚满基甘氨酸 -Val-Asp 甲基乙烯基砒 (57); Z-Asp-Glu-Val-Asp 甲基乙烯基砒 (59) Z-Asp-Ala(2'- 喹啉基) -Val-Asp 甲基乙烯基砒 (55); Z-Asp-Phe-Val-Asp 甲基乙烯基砒 (53); Z-Asp-Ala(2'- 喹啉基) -Val-Asp- α 氯乙烯基甲基砒 (48); Z-Asp(β - 甲基) - 茚满基甘氨酸 -Val-Asp(β - 甲基) 甲基乙烯基砒 (51) Z-Asp-Tyr-Val-Asp 甲基乙烯基砒 (76) Z-Asp-Trp-Val-Asp 甲基乙烯基砒 (88) 或其药用盐。

[0493] 在本发明的一些实施方案中涉及用于预防和/或治疗其中明显牵连至少一种胰天蛋白酶的疾病或其它医学病症的药物组合物,该组合物包含一种或多种如本文定义的式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 的化合物。

[0494] 在本发明的一些实施方案中涉及用于预防和/或治疗其中明显牵连至少一种胰天蛋白酶的疾病或其它医学病症的药物组合物,所述组合物包含一种或多种如本文定义的式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 的化合物。

[0495] 本发明的化合物可以使用可用的技术和程序在给药之前配制成药物组合物。例如,药物组合物可以配制成合适的给药形式(口服,肠胃外,(血管内(IV),动脉内(IA),肌肉内注射(IM),depo-IM,皮下(SC)和 depo SC),舌下,鼻内(吸入),胸内,局部或直肠给药。

[0496] 优选本发明的一种或多种化合物可以口服给药。制剂可以便利地以单位剂量形式存在,并且可以通过制药领域熟知的任何方法制备。制备这些制剂或组合物的方法包括使本发明化合物与药用媒介物(例如惰性稀释剂或可吸收的可食用载体)以及任选的一种或多种辅助成分组合的步骤。通常,通过以下方法制备制剂:使本发明化合物与液体载体或细碎的固体载体或两者均匀和紧密地结合,然后,如果需要,将产物成形。治疗剂在这种可药用组合物中的量是获得合适剂量的量。

[0497] 适合口服给药的本发明制剂的存在形式可以是胶囊(例如硬或软壳明胶胶囊),扁囊剂,药丸,片剂,锭剂,粉末,颗粒,丸剂,糖锭剂,例如,包衣的(例如,肠溶包衣的)或未包衣的,或作为在水性或非水性液体中的溶液或悬浮液,或作为水包油或油包水型液体乳液,或作为酞剂或糖浆,或作为软锭剂或作为漱口剂等,其各自含有预定量的本发明化合物

作为活性成分。本发明的化合物还可以作为推注剂, 药糖剂或糊剂给药或者直接混入受治者的饮食中。此外, 在某些实施方案中, 这些丸剂可以被配制成 (a) 用于即时或快速药物释放 (即, 其上没有包衣); (b) 包衣的, 例如, 用于提供随时间的持续药物释放; 或 (c) 为了更好的肠胃耐受性用肠溶包衣进行包衣的。包衣可以通过常规方法实现, 典型地用 pH 或时间依赖性包衣实现, 使得本发明的一种或多种化合物在所需位置附近释放或在不同时间释放以延长所需的作用。这样的剂量形式典型地包括但不限于: 一种或多种乙酸邻苯二甲酸纤维素, 聚乙酸邻苯二甲酸乙烯酯, 羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯, 乙基纤维素, 蜡和虫漆。

[0498] 在用于口服给药的固体剂型中, 本发明的化合物可以与一种或多种药用载体, 如柠檬酸钠或磷酸二钙或以下中的任何一种混合: 填料或增量剂, 如淀粉, 乳糖, 蔗糖, 葡萄糖, 甘露糖醇或硅酸; 粘合剂, 如, 例如, 羧甲基纤维素, 藻酸盐, 明胶, 聚乙烯吡咯烷酮, 蔗糖或阿拉伯树胶; 保湿剂, 如甘油; 崩解剂如琼脂-琼脂, 碳酸钙, 马铃薯或木薯淀粉, 褐藻酸, 某些硅酸盐, 和碳酸钠; 溶液阻滞剂如石蜡; 吸收加速剂如季铵化合物; 润湿剂, 如, 例如, 鲸蜡醇和甘油单硬脂酸酯; 吸收剂如高岭土和膨润土; 滑润剂如滑石, 硬脂酸钙, 硬脂酸镁, 固体聚乙二醇, 十二烷基硫酸钠和它们的混合物; 以及着色剂。在胶囊、片剂和药丸的情况下, 药物组合物还可以包含缓冲剂。类似类型的固体组合物还可以被用作软和硬填充明胶胶囊中的填料, 所述胶囊使用如一种或多种乳糖以及高分子量聚乙二醇等的赋形剂。

[0499] 经口的组合物典型地包括液体溶液, 乳液, 悬浮液等。适合于制备这种组合物的药用媒介物是本领域熟知的。用于糖浆、酏剂、乳液和悬浮液的载体的典型组分包括乙醇, 甘油, 丙二醇, 聚乙二醇, 液体蔗糖, 山梨糖醇和水。对于悬浮液, 典型的悬浮剂包括甲基纤维素, 羧甲基纤维素钠, 黄蓍胶和藻酸钠; 典型的润湿剂包括卵磷脂和聚山梨醇酯 80; 并且典型的防腐剂包括羟苯甲酸甲酯和苯甲酸钠。经口的液体组合物还可以含有一种或多种组分如甜味剂, 增香剂和上面公开的着色剂。

[0500] 适合于注射用途的药物组合物可以包括无菌水溶液 (在水溶性的情况下) 或分散体, 和用于临时制备无菌的可注射溶液或分散体的无菌粉末。在所有情况下, 组合物必须是无菌的并且必须是达到存在容易注射性程度的流体。其在制备和储存的条件下必须是稳定的并且必须防止微生物如细菌和真菌的污染作用。无菌注射液可以通过将治疗剂以所需的量, 按需要, 与上述成分中的一种或组合一起结合到合适的溶剂中, 接着过滤灭菌而制备。通常, 分散体是通过将治疗剂结合到含有基本分散介质和选自上述那些的所需的其他成分的无菌媒介物中而制备的。在用于制备无菌注射液的无菌粉末的情况下, 制备方法有真空干燥和冷冻干燥, 其由先前的无菌过滤的溶液得到活性成分 (即, 治疗剂) 加上任何另外所需成分的粉末。

[0501] 还提供适合作为气雾剂通过吸入给药的药物制剂。这些制剂包含所需的本文中任何式的化合物的溶液或悬浮液或这样的一种或多种化合物的多个固体颗粒。所需制剂可以放置在小室中并且喷雾。喷雾可以通过压缩空气或通过超声波能来完成, 以形成包含所述试剂或盐的多个液体小滴或固体颗粒。液体小滴或固体颗粒应当具有在约 0.5 至约 5 微米范围内的粒度。固体颗粒可以通过用本领域已知的任何合适的方式如通过微粉化, 加工本文所述的任何式的固体试剂或其盐而获得。固体颗粒或小滴的大小为例如约 1 至约 2 微米。在这点上, 可用商业喷雾器实现该目的。适合于作为气雾剂给药的药物制剂可以是液体形式, 该制剂将在包含水的载体中包含本文所述的任何式的水溶性试剂或其盐。可以存在表

面活性剂,其将制剂的表面张力充分降低以导致在进行喷雾时形成在所需大小范围内的小滴。

[0502] 本发明的组合物还可以向受治者局部给药,例如,通过将组合物直接敷设或分散在受治者的表皮或上皮组织,或者经由“贴剂”经皮给药。这样的组合物包括,例如,洗剂,乳膏,溶液,凝胶和固体。这些局部组合物可以包含有效量的,通常至少约 0.1%或甚至约 1%至约 5%的本发明化合物。用于局部给药的合适的载体典型地以连续薄膜的形式保留在皮肤的合适位置,并且抵抗通过排汗或浸入水中的移除。通常,载体本性是有机的并且能够在其中分散或溶解治疗剂。载体可以包括药用润肤剂,乳化剂,增稠剂,溶剂等。

[0503] 可用于实现所述主题试剂的全身递送的其他组合物包括舌下,含服和经鼻的剂型。这样的组合物典型地包含一种或多种可溶性填料物质如蔗糖,山梨糖醇和甘露糖醇;和粘合剂如阿拉伯树胶,微晶纤维素,羧甲基纤维素和羟丙基甲基纤维素。还可以包含上面公开的助流剂,润滑剂,甜味剂,着色剂,抗氧化剂和增香剂。

[0504] 本发明的一种或多种化合物还可以肠胃外,腹膜内,静脉内,脊柱内,鞘内或脑内给药。对于这样的组合物,可以在甘油、液体聚乙二醇及其混合物中和在油中制备本发明的一种或多种化合物。在储存和使用的普通条件下,这些制剂可以含有防腐剂以防止微生物的生长。

[0505] 本发明的治疗方法还包括根据本发明的至少一种化合物或其药用盐与另一治疗有效药剂的给药一起共同给药。因此,本发明的另一方面涉及伴随疗法治疗受治者的方法,该方法包括向需要其的受治者给药有效量的第一药剂和第二药剂,其中第一药剂是如式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 中所定义的并且第二药剂用于预防或治疗上文指出的任何一种紊乱或疾病。如本文使用的术语“伴随的”或“伴随地”,如在短语“伴随疗法治疗”或“与... 伴随地”中,包括在第二药剂存在下给药第一药剂。伴随疗法治疗方法包括其中将第一、第二、第三或其它药剂共同给药的方法。伴随疗法治疗方法还包括其中在第二或其它药剂存在下给药第一或其它药剂的方法,其中第二或其它药剂,例如,可以预先给药。伴随疗法治疗方法可以由不同施动者分步执行。例如,一个施动者可以向受治者给药第一药剂,而作为第二施动者可以向受治者给药第二药剂,并且给药步骤可以同时或几乎同时或在不同时间执行,只要第一药剂(和/或其它药剂)在给药后是在第二药剂(和/或其它药剂)存在下即可。施动者和受治者可以是同一实体(例如人)。

[0506] 因此,本发明还涉及用于预防、减少或消除上述疾病或病症中的任何一种的症状或并发症的方法。所述方法包括向需要其的受治者给药包含至少一种本发明化合物的第一药物组合物和包含一种或多种其它活性成分的第二药物组合物,其中所有活性成分是以足以抑制、减少或消除待治疗的疾病或病症的一种或多种症状或并发症的量给药的。在一个方面中,第一和第二药物组合物的给药在时间上间隔至少约 2 分钟。优选第一药剂是如本文定义的式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 的化合物或其药用盐。第二药剂可以选自下列化合物:Z-Asp-Phe-Val-Asp 甲基乙基砒(53)。

[0507] F) 筛选试验

[0508] 本发明的化合物还可以用于筛选方法中。例如,这些化合物可以用于在体外和/或体内跟踪胰天蛋白酶活性的方法中。本发明的化合物还可以有助于识别结合于胰天蛋白酶活性位点(side)的其它化合物。在一些实施方案中,本发明的化合物是带标签或被标记

的（例如荧光或放射性标记的，亲和标记物）。荧光或放射性标记化合物还可用于诊断试验。

[0509] 有许多方法来确定本发明化合物与胰天蛋白酶的结合。在一个实施方案中，将胰天蛋白酶结合到载体上，并且加入标记的本发明化合物进行试验。备选地，可以将本发明化合物结合到载体上并且加入胰天蛋白酶。

[0510] 本发明的化合物还可以用作竞争剂以筛选另外的药物候选物或测试化合物。如本文中使用的，术语“药物候选物”或“测试化合物”是可互换使用的并且表示要被测试生物活性的任何分子，例如，蛋白，寡肽，小的有机分子，多醌，多核苷酸等。

[0511] 典型地，试验（例如体外，体内和 / 或诊断）中检测的信号可以包括荧光，共振能量转移，时间分辨荧光，放射性，荧光偏振，等离子体共振或化学发光等，取决于标记物的性质。可用于在本发明中进行筛选试验的可检测的标记物包括荧光标记物如荧光素，俄勒冈绿 (Oregon green)，丹酰，若丹明，四甲基若丹明，得克萨斯红 (texas red)， Eu^{3+} ；化学发光标记物如荧光素酶；比色标记物；酶标志；或放射性同位素如氚， I^{125} 等。可用于进行本发明的筛选试验的亲和标记物包括生物素，聚组氨酸等。

[0512] F) 试剂盒

[0513] 本发明的一种或多种化合物可以包装成为试剂盒的一部分，所述试剂盒任选包括容器（例如包装，盒子，小瓶等）。试剂盒可以根据本文描述的方法在商业上使用，并且可以包括用于以本发明方法使用的用法说明。其它试剂盒组分可以包括酸、碱、缓冲剂、无机盐、溶剂、抗氧化剂、防腐剂或金属螯合剂。其它试剂盒组分以纯组合形式或者以结合一种或多种其它试剂盒组分的水溶液或有机溶液形式存在。试剂盒组分中的任何一种或全部任选还包含缓冲剂。

[0514] 本发明的一种或多种化合物可以同时或通过相同的给药途径向患者给药，或可以不同时或通过相同的给药途径向患者给药。因此，本发明的方法包括在被开业医生使用时，能够简化将合适量的两种以上活性成分向患者给药的试剂盒。

[0515] 本发明的典型的试剂盒包含根据本发明的至少一种化合物，例如，如本文定义的式 I，IA，II，IIA，III 或 IIIA 化合物或其药用盐的单位剂型，和至少一种其它活性成分的单位剂型。可以与根据本发明的化合物联合使用的其它活性成分的实例包括但不限于：可以与此前所述的本发明的一种或多种化合物组合使用的任何化合物。

[0516] 本发明的试剂盒还可以包含用于给药活性成分的装置。这样的装置的实例包括但不限于：注射器，滴注袋，贴剂 (patch)，吸入器，灌肠剂和用于栓剂制剂给药的分配器。

[0517] 本发明的试剂盒还可以包含可用于给药一种或多种活性成分的药用媒介物。例如，如果活性成分是以必须重建用于肠胃外给药的固体形式提供的，则试剂盒可以包含合适媒介物的密封容器，在所述合适媒介物中可以溶解活性成分以形成适合于肠胃外给药的无颗粒的无菌溶液。药用媒介物的实例在以上提供。

[0518] * * *

[0519] 此处包括标题用于参考并帮助定位某些部分。这些标题不意在限制其下描述的概念的范围，并且这些概念可以应用于整个说明书的其它部分。因此，本发明不意在限于本文所示的实施方案，而是根据与本文公开的原理和新特征一致的最宽范围。

[0520] 除非另外指出，说明书和权利要求书中使用的表示成分的量、反应条件、浓度、性

质等的所有数应理解为在所有情况下均被术语“约”修饰。至少,每个数值参数应当至少按照所报道的有效数字并且进行普通舍入技术的数值理解。因此,除非有相反的指示,本说明书和后附权利要求书中所述的数值参数是可以取决于想要获得的性质而变化的近似值。尽管说明实施方案的宽范围的数值范围和参数是近似值,但是具体实例中说明的数值是尽可能精确报道的。但是,任何数值均固有地含有由实验、测试测量值、统计分析等中的变化导致的一定误差。

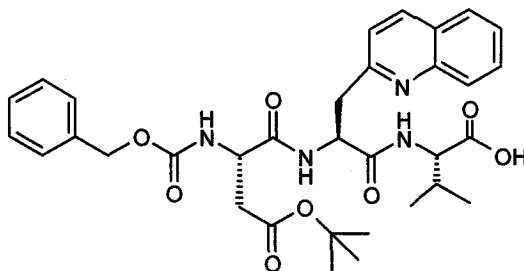
[0521] 本领域技术人员将认识到或者能够使用不超过常规实验的方法确定众多与本文描述的特定程序、实施方案、权利要求和实例的等价物。这样的等价物被认为在本发明的范围内并且为后附权利要求所覆盖。本发明由以下实施例进一步说明,这些实施例不应理解为进一步限制。

实施例

[0522] 下文所述的实施例提供了用于制备由通式 I, IA, II, IIA, III 或 IIIA 包括的某些代表性化合物的示例性方法。一些实施例提供了本发明的某些代表性化合物的示例性用途。还提供了用于测定本发明化合物的体外和体内效力的示例性方法。

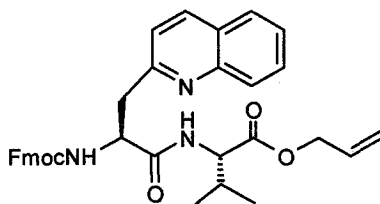
[0523] 实施例 1: 合成化合物 4 (Cbz-Asp(O-tBu)-Ala(2'-喹啉基)-ValOH)

[0524]



[0525] a) Fmoc-Ala(2'-喹啉基)-Val-O 烯丙基

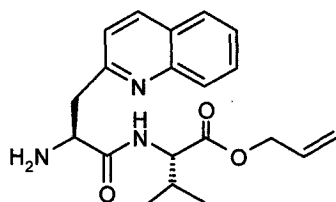
[0526]



[0527] 将 Fmoc-Ala(2'-喹啉基)-OH (0.152g, 0.347mmol) 溶解在 DMF (1mL) 和 CH₂Cl₂ (0.9mL) 中。加入在 0.3mL 的 CH₂Cl₂ 中的 L-Val 烯丙基酯甲苯-4-磺酸盐 (0.115g, 1.01eq), 接着加入 4-甲基吗啉 (0.04mL, 1.05eq) 和 EDC (0.0681g, 1.02eq)。将混合物搅拌 3 小时, 然后将其使用 CH₂Cl₂/ 盐水萃取。将有机层用 MgSO₄ 干燥, 滤出和浓缩至干燥。

[0528] b) Ala(2'-喹啉基)-Val-O 烯丙基

[0529]

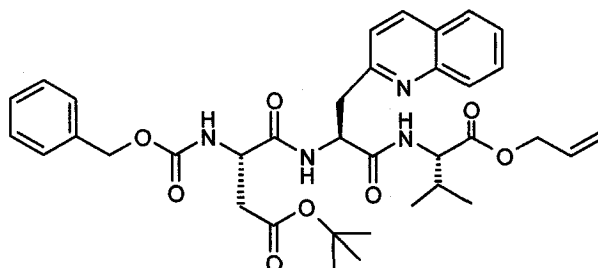


[0530] 将 Fmoc-Ala(2'-喹啉基)-Val(0-烯丙基) (0.425g, 0.737mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (40mL) 中, 接着滴加哌啶 (0.6mL, 8.24eq)。40min 后, 将混合物在真空下蒸发至干燥。然后将产物在二氧化硅上使用 MeOH/ CH_2Cl_2 (0 至 10%) 的梯度纯化, 得到 0.188g 的所需化合物。

[0531] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ : 8.18 (s, 1H, NH); 8.08 (d, 1H, $J = 8.4\text{Hz}$); 8.03 (d, 1H, $J = 8.47\text{Hz}$); 7.79 (d, 1H, $J = 7.91\text{Hz}$); 7.71-7.68 (m, 1H); 7.52-7.49 (m, 1H); 7.35 (d, 1H, $J = 8.42\text{Hz}$); 5.92-5.85 (m, 2H); 5.34-5.22 (m, 2H); 4.63-4.58 (m, 2H); 4.55-4.52 (m, 1H); 3.95-3.93 (m, 1H); 3.52 (dd, 1H, $J = 3.95\text{Hz}$); 3.25-3.20 (m, 1H); 2.20-2.13 (m, 1H); 2.01 (m, 2H, NH_2); 0.85 (m, 6H)。

[0532] c) Cbz-Asp(O-tBu)-Ala(2'-喹啉基)-Val-0 烯丙基

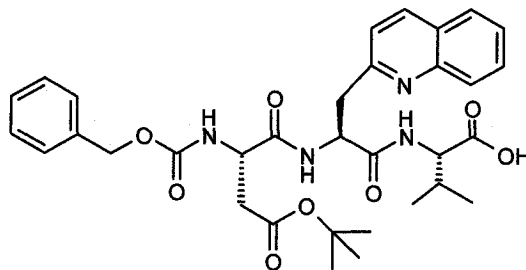
[0533]



[0534] 将 Ala(2'-喹啉基)-Val(0-烯丙基) (0.054g, 0.1519mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (0.7mL) 中, 接着加入 L-Asp(O-tBu)-OH (0.053g, 1.08eq) 和 4-甲基吗啉 (0.018mL, 1.08eq), 最后是 DPC (0.025mL, 1.06eq)。将混合物搅拌 1 小时。然后进行二氯甲烷 / 盐水的液相萃取。将有机层用 MgSO_4 干燥, 真空浓缩并且在二氧化硅上使用 MeOH/ CH_2Cl_2 (0 至 10%) 的梯度纯化, 得到 0.084g 的所需化合物。

[0535] d) Cbz-Asp(O-tBu)-Ala(2'-喹啉基)-ValOH

[0536]



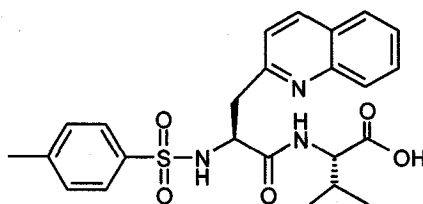
[0537] 将 Cbz-Asp(OtBu)-Ala(2'-喹啉基)-Val(0 烯丙基) (0.082g, 0.1241mmol) 溶解在 THF (3.5mL) 中并且旋转蒸发至干燥, 然后将样品再溶解在 THF (3.5mL) 中并且抽真空 (3*1min 的抽气), 接着用氩气代替该气氛。加入吗啉 (0.04mL, 3.7eq), 接着加入 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.0171g, 0.12eq)。然后将样品烧瓶用锡箔覆盖并且在搅拌下于氩气下保持 3

天。将化合物蒸发至干燥,对获得的残余物进行在 C_{18} 上使用 $MeOH/pH = 3.5$ 的 H_2O 溶液 (0 至 100%) 的梯度的纯化,得到 0.065g 的所需化合物。

[0538] NMR $^1H(CD_3OD, 400MHz)$ δ :8.18(d, 1H, $J = 8.4Hz$) ;8.02(d, 1H, $J = 8.49Hz$) ;7.84(d, 1H, $J = 8.08Hz$) ;7.63(t, 1H, $J = 7.51Hz$) ;7.52(t, 1H, $J = 7.39Hz$) ;7.41(d, 1H, $J = 8.3Hz$) ;7.40-7.30(m, 5H) ;5.03-4.93(m, 3H) ;4.50-4.48(m, 1H) ;4.26(d, 1H, $J = 4.9Hz$) ;3.48-3.34(m, 2H) ;2.73-2.68(m, 1H) ;2.54-2.49(m, 1H) ;2.15-2.11(m, 1H) ;1.36(m, 9H) ;0.87-0.84(m, 6H)。

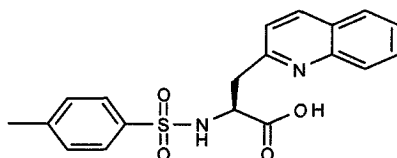
[0539] 实施例 2:合成化合物 5(Ts-Ala(2'-喹啉基)-Val-OH)

[0540]



[0541] a) Ts-Ala(2'-喹啉基)-OH

[0542]

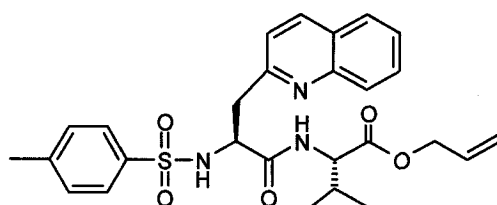


[0543] 向 L-Ala(2'-喹啉基)-OH(0.060g, 0.277mmol) 中加入 H_2O (0.4mL) 和 THF(0.15mL)。将混合物搅拌 2min,之后加入 TEA(0.074mL, 1.93eq)。使混合物达到 $0^\circ C$,之后以滴加的方式加入在 THF(0.4mL) 中的甲苯磺酰氯(0.052g, 1eq)。然后将混合物温热至室温并且搅拌 16 小时。将混合物用 EtOAc(8mL) 和 H_2O (2mL) 稀释,然后将其用 HCl 1N(滴加)酸化以达到 pH3/4。将混合物用 EtOAc 萃取,用 $MgSO_4$ 干燥和蒸发至干燥,在加入 $MeOH$ (0.5mL) 后得到 30mg 的沉淀物;另一部分可以由溶液中获得。

[0544] NMR $^1H(DMSO, 400MHz)$ δ :8.30-8.23(m, 1H, NH) ;8.14(d, 1H, $J = 8.37Hz$) ;7.89(d, 1H, $J = 8.0Hz$) ;7.78(d, 1H, $J = 8.39Hz$) ;7.70(t, 1H, $J = 7.2Hz$) ;7.55(t, 1H, $J = 7.33Hz$) ;7.32-7.27(m, 3H) ;6.88(d, 2H, $J = 8.05Hz$) ;4.28(s, 1H) ;3.4-3.03(m, 2H) ;2.13(s, 3H)。

[0545] b) Ts-Ala(2'-喹啉基)-Val-O 烯丙基

[0546]



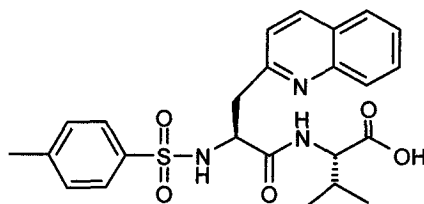
[0547] 将 Ts-Ala(2'-喹啉基)-OH(0.027g, 0.076mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 中,接着加入 L-Val-O 烯丙基酯甲苯-4-磺酸盐(0.025g, 1.02eq), 4-甲基吗啉(0.017mL, 1.91eq), DMAP(0.0012g, 0.13eq), 最后是 EDC(0.015g, 1.04eq)。用 TLC 跟踪反应进程。用 CH_2Cl_2 / 盐水萃取混合物。将有机层用 $MgSO_4$ 干燥,滤出和浓缩至干燥。将获得的残余物在二氧化硅

上使用 EtOAc/ 己烷 (5 至 60%) 的梯度纯化, 得到 10mg 的所需化合物。

[0548] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ : 7.99 (m, 2H) ; 7.89 (d, 1H, $J = 8.93\text{Hz}$) ; 7.76 (d, 1H, $J = 8.06\text{Hz}$) ; 7.72 (t, 1H, $J = 8.16\text{Hz}$) ; 7.64 (m, 2H) ; 7.53 (t, 1H, $J = 7.61\text{Hz}$) ; 7.45 (d, 1H, $J = 6.86\text{Hz}$) ; 7.16 (d, 1H, $J = 8.34\text{Hz}$) ; 7.08 (m, 2H) ; 5.86-5.79 (m, 1H) ; 5.27 (dd, 1H, $J = 17.25\text{Hz}$, $J = 1.36\text{Hz}$) ; 5.20 (dd, 1H, $J = 10.4\text{Hz}$, $J = 1.0\text{Hz}$) ; 4.58-4.5 (m, 2H) ; 4.38 (dd, 1H, $J = 8.78\text{Hz}$, $J = 5.02\text{Hz}$) ; 4.22 (q, 1H, $J = 5.58\text{Hz}$) ; 3.41 (dd, 1H, $J = 15.50\text{Hz}$, $J = 5.23\text{Hz}$) ; 3.14 (dd, 1H, $J = 15.53\text{Hz}$, $J = 5.64\text{Hz}$) ; 2.33 (s, 3H) ; 2.16-2.00 (m, 1H) ; 0.72 (d, 3H, $J = 6.8\text{Hz}$) ; 0.65 (d, 3H, $J = 6.85\text{Hz}$) 。

[0549] c) Ts-Ala(2'-喹啉基)-Val-OH

[0550]

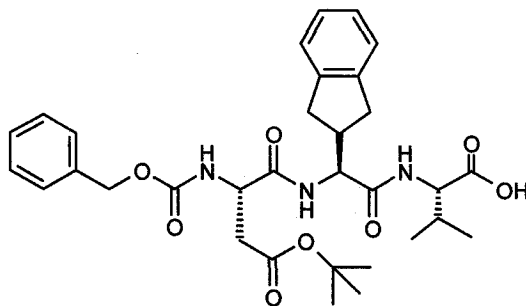


[0551] 将 Ts-Ala(2'-喹啉基)-O 烯丙基 (0.010g, 0.02mmol) 溶解在 THF (3.5mL) 中并且旋转蒸发至干燥, 然后将样品再溶解在 THF (3.5mL) 中并且抽真空 (3*1min 的抽气), 接着用氩气代替该气氛。在氩气下加入 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.0036g, 0.16eq), 接着加入吗啉 (0.007mL, 4.1eq)。然后将样品烧瓶用锡箔覆盖并且在搅拌下于氩气下保持 3 天。将化合物蒸发至干燥并且对获得的残余物使用梯度: MeOH/ H_2O (15 至 100%) 在 C_{18} 上进行纯化, 得到 0.006g 的所需化合物。

[0552] NMR ^1H (CD_3OD , 400MHz) δ : 8.05 (d, 1H, $J = 8.44\text{Hz}$) ; 7.88-7.84 (m, 2H) ; 7.76-7.72 (m, 1H) ; 7.58-7.55 (m, 1H) ; 7.33-7.29 (m, 3H) ; 6.78-6.76 (m, 2H) ; 4.35 (dd, 1H, $J = 10.43\text{Hz}$, $J = 3.38\text{Hz}$) ; 4.19 (d, 1H, $J = 4.6\text{Hz}$) ; 3.44-3.03 (m, 2H) ; 2.20-2.12 (m, 1H) ; 2.12 (s, 3H) ; 0.93-0.89 (m, 6H) 。

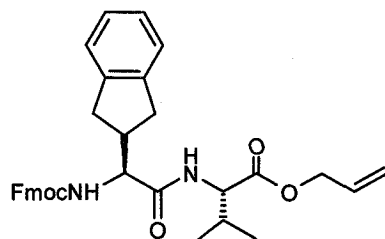
[0553] 实施例 3: 合成化合物 12 (Cbz-Asp(O-tBu)-茚满基甘氨酸-Val-OH)

[0554]



[0555] a) Fmoc-茚满基甘氨酸-Val-O 烯丙基

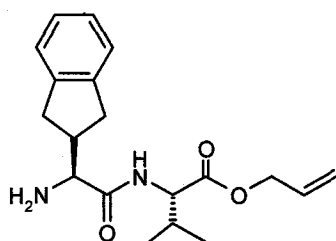
[0556]



[0557] 将 Fmoc-茚满基甘氨酸 (0.54g, 1.315mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (5mL) 和 DMF (1.8mL) 中, 接着加入 L-Val 烯丙基酯 (0.437g, 1eq), 4-甲基吗啉 (0.15mL, 1.04eq), 并且在 4min 后加入 DMAP (14.5mg, 0.09eq) 然后加入 EDC (0.265g, 1.05eq)。将混合物搅拌 1 小时 45 分钟。然后使用 EtOAc/ 盐水将其萃取。将有机层用 MgSO_4 干燥, 滤出和浓缩至干燥。

[0558] b) 茚满基甘氨酸-Val-O-烯丙基

[0559]

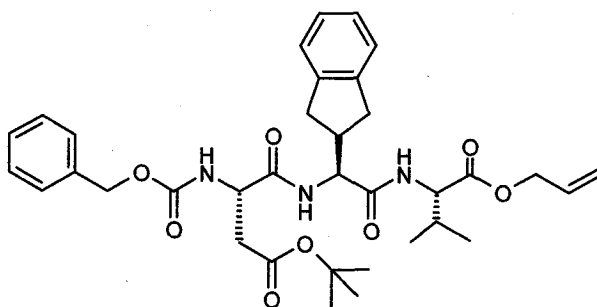


[0560] 将 Fmoc-茚满基甘氨酸-Val-O-烯丙基 (0.758g, 1.31mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (5mL) 和 DMF (1.8mL) 中, 接着在 30 秒内滴加吡啶 (1.05mL, 8.1eq)。45min 后, 使混合物经历萃取 CH_2Cl_2 / 盐水 (30/15mL) 和饱和 NH_4Cl (5mL)。将有机层用 MgSO_4 干燥, 浓缩并且通过二氧化硅使用 MeOH/ CH_2Cl_2 (0 至 5%) 梯度纯化, 得到 0.45g 的所需化合物。

[0561] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ : 7.80 (d, 1H, NH); 7.20-7.17 (m, 2H); 7.15-7.11 (m, 2H); 5.96-5.88 (m, 1H); 5.37-5.25 (m, 2H); 4.68-4.58 (m, 3H); 3.53 (d, 1H, $J = 5.05\text{Hz}$); 3.12-2.8 (m, 5H); 2.27-2.20 (m, 1H); 0.98 (d, 3H, $J = 6.85\text{Hz}$); 0.94 (d, 3H, $J = 6.88\text{Hz}$)。

[0562] c) Cbz-Asp(O-tBu)-茚满基甘氨酸-Val-O-烯丙基

[0563]



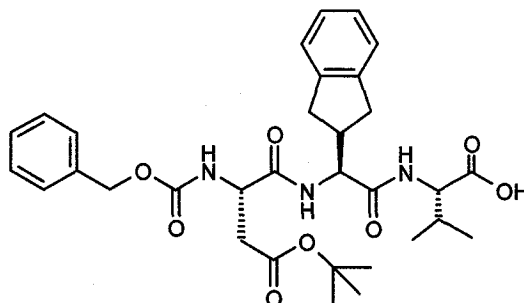
[0564] 将茚满基甘氨酸-Val-O-烯丙基 (0.46g, 1.3mmol) 和 Z-L-Asp(OtBu)-OH (0.425g, 1.3mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (4.5mL) 中, 接着加入 4-甲基吗啉 (1.45mL, 1.01eq), DMAP (14mg, 0.09eq), 然后是 EDC (0.251g, 1.01eq)。将混合物搅拌 1 小时 40 分钟。然后使用 CH_2Cl_2 / 盐水将其萃取。将有机层用 MgSO_4 干燥, 浓缩并且通过使用 EtOAc/ 己烷 (10 至 80%) 梯度的二氧化硅纯化, 得到 0.578g 的所需化合物。

[0565] NMR ^1H (CD_3OD , 400MHz) δ : 7.35-7.25 (m, 5H); 7.15-7.07 (m, 4H); 6.0-5.92 (m,

1H) ;5.36(dd, 1H, $J = 17.17\text{Hz}$, $J = 1.429\text{Hz}$) ;5.24(dd, 1H, $J = 10.45\text{Hz}$, $J = 1.251\text{Hz}$) ;
5.09-5.036(m, 2H) ;4.77-4.61(m, 2H) ;4.54-4.50(m, 2H) ;4.33(d, 1H, $J = 6.04\text{Hz}$) ;
2.97-2.52(m, 7H) ;2.20-2.011(m, 1H) ;1.41(s, 9H) ;0.97(d, 3H, $J = 1.78\text{Hz}$) ;0.96(d, 3H,
 $J = 1.78\text{Hz}$)。

[0566] d) Cbz-Asp(O-tBu)-茚满基甘氨酸-Val-OH

[0567]

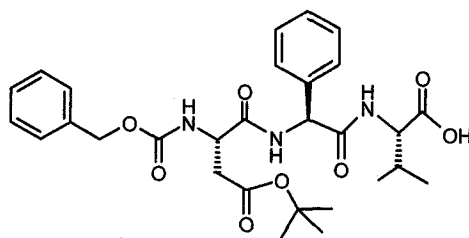


[0568] 将 Z-Asp(O-tBu)-茚满基甘氨酸-Val-(O-烯丙基) (0.102g, 0.1611mmol) 溶解在 THF (6mL) 中并且旋转蒸发至干燥, 然后将样品再溶解在 THF (6mL) 中并且抽真空 (3*1min 的抽气), 接着用氩气代替该气氛。将 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.017g, 0.1510.094 eq) 一次性加入, 然后将烧瓶用氩气排空 (evacuated)。加入吗啉 (0.06mL, 4.28eq) 并且将烧瓶用锡箔覆盖。将混合物在搅拌下于氩气下保持 2.5 天。将样品蒸发至干燥并且将获得的残余物使用 MeOH/pH = 3.5 的 H_2O 溶液 (10 至 100%) 的梯度在 C_{18} 上进行纯化, 得到 0.046g 的所需化合物。

[0569] NMR ^1H (CD_3OD , 400MHz) δ :7.4-7.23(m, 5H) ;7.18-7.03(m, 4H) ;5.20-5.0(m, 2H) ;
4.58-4.50(m, 2H) ;4.3(d, 1H, $J = 5.5\text{Hz}$) ;3.0-2.7(m, 6H) ;2.6-2.50(m, 1H) ;1.4(s, 9H) ;
0.97(d, 3H, $J = 2.06\text{Hz}$) ;0.96(d, 3H, $J = 2.18\text{Hz}$)。

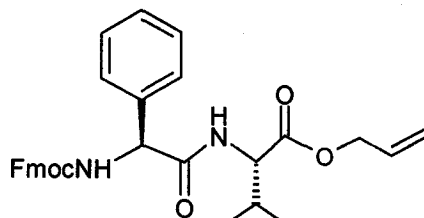
[0570] 实施例 4 : 合成化合物 16 (Z-Asp(β -叔丁基)-Phg-Val-OH)

[0571]



[0572] a) Fmoc-Phg-Val-O-烯丙基

[0573]

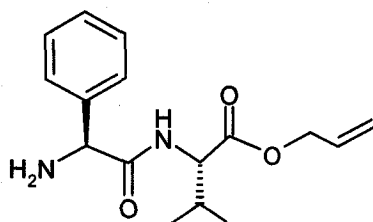


[0574] 将 Fmoc-PhgOH (1g, 2.678mmol) 溶解在无水二氯甲烷和 DMF 的混合物 (9mL/0.5mL) 中。加入在 1mL 的二氯甲烷中的 Val(O-烯丙基) 甲苯磺酰基盐形式 (0.804g, 2.44mmol), 接着加入二异丙基碳二亚胺 (0.414mL, 2.44mmol) 和 N-甲基吗啉 (0.270mL, 2.44mmol)。将混

合物在 RT 搅拌 2.20hrs,然后在硅藻土垫 (1cm) 上滤出并且用二氯甲烷洗涤。将滤液浓缩并且将获得的残余物用作下一步骤的粗制物。

[0575] b) Phg-Val-O 烯丙基

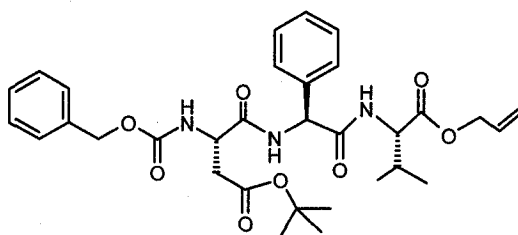
[0576]



[0577] 将 1.45g 之前的粗制物 (Fmoc-Phg-Val-O 烯丙基) 溶解在 20% 哌啶的二氯甲烷溶液 (8.5ml) 中并且在室温搅拌 45 分钟。然后将混合物在真空下浓缩,用二氯甲烷稀释并且通过硅藻土垫 (1cm) 滤出。将溶剂蒸发至干燥然后在硅胶上纯化,先用乙酸乙酯 / 己烷 (20%) 洗脱,然后用二氯甲烷 / 甲醇 (0 至 10%) 梯度洗脱,得到 0.72g 的 N-未保护的肽 Phg-Val-O 烯丙基。

[0578] c) Z-Asp(β-叔丁基)-Phg-Val-O 烯丙基

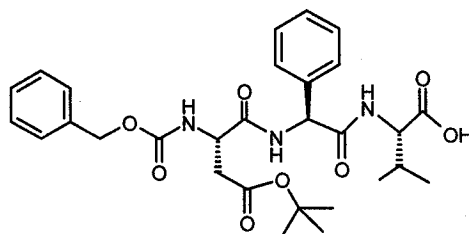
[0579]



[0580] 将 Phg-Val-O 烯丙基 (0.89g, 2.74mmol) 溶解在无水二氯甲烷 (7ml) 中。然后加入在二氯甲烷 (2ml) 中的 Z-Asp(β-叔丁基)-OH (0.89g, 2.74mmol), 接着加入二异丙基碳二亚胺 (0.424ml, 2.74mmol)。将混合物在 RT 搅拌 2.45hrs 然后用二氯甲烷稀释。将有机相用盐水洗涤两次,并且用无水硫酸镁干燥。将溶剂蒸发并且将获得的残余物在硅胶上纯化 (梯度:乙酸乙酯 / 己烷),得到 0.4g 的 Z-Asp(OtBu)-Phg-Val-O 烯丙基。

[0581] d) Z-Asp(β-叔丁基)-Phg-Val-OH.

[0582]



[0583] 将 Z-Asp(β-叔丁基)-Phg-Val-O 烯丙基 (0.064g; 0.107mmol) 在氩气下溶解在无水 THF (3ml, 不含抑制剂) 中。将溶剂在氩气下脱气三次,之后加入吗啉 (28ul, 3eq), 接着加入四 (Tetrakis) (13mg)。将混合物在室温搅拌 3.5 天。然后将混合物在真空 (12mbar) 下浓缩并且在硅胶上纯化 (甲醇 / 二氯甲烷梯度:1 至 14%), 得到 46mg 的所需 Z-Asp(β-叔丁基)-Phg-Val-OH。

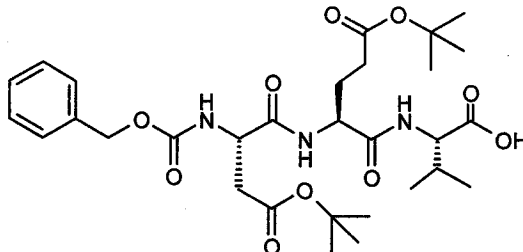
[0584] NMR ^1H (CD_3OD , 400MHz) δ 7.43 (m, 2H); 7.34-7.26 (m, 8H); 5.57 (s, 1H); 5.10 (s,

2H) ;4.60 (dd, $J = 8.28 ; 5.57\text{Hz}$, 1H) ;4.24 (s, 1H) ;2.81 (m, 1H) ;2.58 (m, 1H) ;1.41 (s, 9H) ;0.96 (t, $J = 6\text{Hz}$, 6H)。

[0585] LCMS 负 (M-H) = 554.2

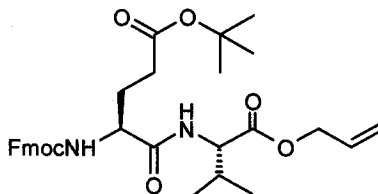
[0586] 实施例 5 :合成化合物 20Cbz-Asp(O-tBu)-Glu(O-tBu)-Val-OH

[0587]



[0588] a) Fmoc-Glu(O-tBu)-Val-O 烯丙基

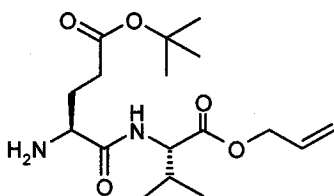
[0589]



[0590] 将 Fmoc-Glu(O-tBu)-OH(0.549g, 1.292mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (5mL) 中, 接着加入 L-Val-烯丙基酯甲苯-4-磺酸盐 (0.426g, 1eq), 4-甲基吗啉 (0.145mL, 1.02eq), DMAP(11.53mg, 0.13eq), 最后加入 EDC(0.252g, 1.02eq)。用 CH_2Cl_2 (0.5mL*2) 洗涤 EDC 小瓶并且加入反应混合物中。在 1 小时 10min 的搅拌后, 用 CH_2Cl_2 (30mL) / 盐水 (5mL) 萃取反应混合物。将有机层用 MgSO_4 干燥, 滤出和浓缩。使用梯度 Hex/EtOAc (0 至 40%) 将获得的残余物在二氧化硅上纯化, 得到 0.396g 的所需化合物。

[0591] b) Glu(O-tBu)-Val-O 烯丙基

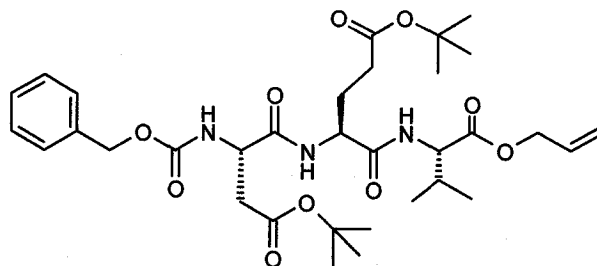
[0592]



[0593] 将 Fmoc-Glu(O-tBu)-Val(O 烯丙基) (0.394g, 0.698mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (4mL) 中, 接着加入哌啶 (0.550mL, 7.98eq)。在 40min 后, 将混合物蒸发至干燥并且与 CH_2Cl_2 (20mL*2) 共蒸发, 接着采用高真空蒸发 10min 以除去过量的哌啶。采用 MeOH/ CH_2Cl_2 (0 至 7%) 的梯度将样品在二氧化硅上纯化, 得到 0.191g 的所需化合物。

[0594] c) Cbz-Asp(O-tBu)-Glu(O-tBu)-Val-O 烯丙基

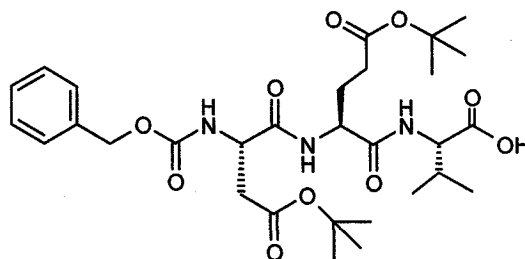
[0595]



[0596] 将 Glu-Val(O 烯丙基) (0.189g, 0.55mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (2.5ml) 中, 接着加入 Z-Asp(OtBu)-OH (0.187g, 1.05eq), DMAP (5.98mg, 0.088eq) 和 4-甲基吗啉 (0.065ml, 1.07eq), 然后是 EDC (0.109g, 1.03eq)。将小瓶用 0.5ml 的二氯甲烷冲洗。将混合物在室温搅拌 2 小时。然后将其用 CH_2Cl_2 / 盐水萃取。将有机层用 MgSO_4 干燥, 滤出和浓缩。使用 EtOAc/Hex (10 至 100%) 的梯度, 将获得的残余物在二氧化硅上纯化, 得到 0.300g 的所需化合物。

[0597] d) Cbz-Asp(O-tBu)-Glu(O-tBu)-Val-OH

[0598]

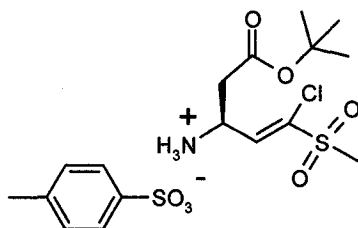


[0599] 将 Cbz Asp(O-tBu)-Glu(OtBu)-Val-(O 烯丙基) (0.298g, 0.46mmol) 溶解在 THF (10mL) 中并且旋转蒸发至于干燥, 然后将样品再溶解在 THF (10mL) 中并抽真空 (3*1min 的抽气), 接着用氩气代替该气氛。将 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.052g, 0.1eq) 一次性加入, 然后将烧瓶用氩气排空。加入吗啉 (0.14mL, 3.49eq) 并且用锡箔覆盖烧瓶。将混合物在氩气下、在搅拌下保持 2.5 天。将样品蒸发至干燥, 并且使用 MeOH/pH = 3.5 的 H_2O 溶液 (10 至 100%) 的梯度对获得的残余物在 C_{18} 上进行纯化, 得到 0.150g 的所需化合物。

[0600] NMR ^1H (CD_3OD , 400MHz) δ : 7.4-7.25 (m, 5H); 5.20-5.05 (m, 2H); 4.6-4.05 (m, 1H); 4.47-4.38 (m, 1H); 4.25-4.18 (m, 1H); 2.88-2.75 (m, 1H); 2.68-2.55 (m, 1H); 2.42-2.25 (m, 2H); 2.22-2.08 (m, 2H); 1.96-1.80 (m, 1H); 1.45 (2s, 18H); 0.93 (t, 6H)。

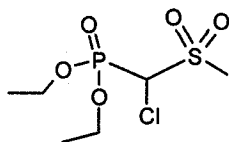
[0601] 实施例 6: 合成化合物 23 (Asp(β -叔丁基) 氯乙基 - 甲基乙基砷甲苯磺酰基盐)

[0602]



[0603] a) 氯(甲基砷)甲基膦酸二乙酯

[0604]

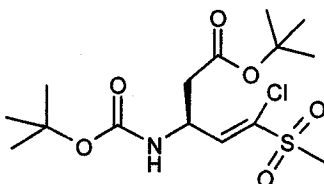


[0605] 将 (甲硫基) 甲基磷酸二乙酯 (1.45g, 6.25mmol) 溶解在乙酸 (5mL, 14eq) 中, 接着加入过氧化氢 (1.98mL, 2.8eq)。然后将样品放置在预热到 70℃ 的油浴中, 接着是短暂的剧烈放气。30min 后, 使反应物达到室温, 然后将 NaHCO_3 以小份加入直至 pH 变为中性。然后将样品抽真空, 接着用乙醚 (30mL) 萃取。然后将有机层用 20% 的柠檬酸 (5mL) 洗涤然后用盐水 (2*5mL) 洗涤。将有机层用 MgSO_4 干燥并且使用 EtOAc/ 己烷 (20 至 100%) 的梯度在二氧化硅上纯化, 得到 0.552g 的所需化合物。

[0606] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ : 4.21-4.13 (m, 4H); 2.88-2.75 (m, 1H); 2.68 (d, 2H, $J = 12.83\text{Hz}$); 2.29 (s, 3H); 1.34 (t, 6H)。

[0607] b) Boc-Asp(β -叔丁基) α -氯乙烯基甲基砷

[0608]

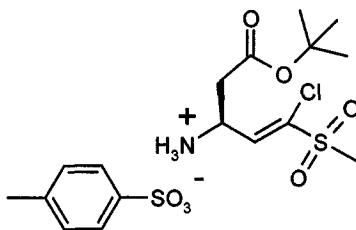


[0609] 将氯 (甲基砷) 甲基磷酸二乙酯 (0.327g, 1.24mmol) 溶解在 THF (5mL) 中并且使溶液达到 -78℃。然后将已经用无水乙醚 (3*0.9mL) 洗涤的 NaH60% (0.0519g, 1.04eq) 以在 THF (1.5mL) 中的悬浮液形式加入。用 THF (0.4mL*2) 洗涤容纳悬浮液形式的 NaH 的小瓶并且将其加入到所述溶液中。将混合物搅拌 25min, 然后向溶液中滴加溶解在 THF (3mL) 中的 BocAsp(O-*t*Bu)-H (0.326g, 1eq), 历时 1min。将小瓶用 THF (0.3mL*2) 冲洗, 并且加入到反应混合物中。在 45min 的搅拌后, 将溶液用饱和氯化铵溶液 (5mL) 猝灭并且用 EtOAc (30mL) 萃取。将有机层用盐水洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并且浓缩。将残余物在二氧化硅上使用 EtOAc/Hex (0 至 40%) 的梯度纯化, 首先得到顺式异构体然后得到 0.183g 的反式异构体化合物。

[0610] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ : 7.1 (d, 1H, $J = 8.06\text{Hz}$); 5.5 (m, 1H); 4.8 (m, 1H); 3.05 (s, 3H); 2.62 (m, 2H); 1.45 (2s, 18H)。

[0611] c) Asp(β -叔丁基) α -氯乙烯基甲基砷甲苯磺酰基盐

[0612]



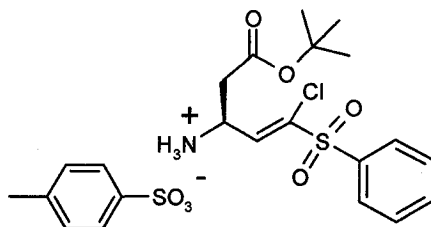
[0613] 将 Boc-Asp(β -叔丁基)氯乙烯基-甲基乙烯基砷 (0.182g, 0.4937mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (0.7mL) 中, 接着加入 Et_2O (0.7mL)。一次性加入一水合对甲苯磺酸 (0.101g, 1.07eq)。在室温搅拌 15 小时后, 则将其用乙醚 (8mL) 稀释并且滤出。然后将白色固体真

空干燥,获得 0.12g 的所需化合物。

[0614] NMR ^1H (DMSO, 400MHz) δ :8.2(bs, 3H, NH_3) ;7.48(d, 2H, $J = 8.04\text{Hz}$) ;7.12(d, 2H, $J = 7.89\text{Hz}$) ;7.02(d, 1H, $J = 9.4\text{Hz}$) ;4.4-4.3(m, 1H) ;3.2(s, 3H) ;2.85(dd, 1H, $J = 16.39\text{Hz}$, $J = 5.55\text{Hz}$) ;2.75(dd, 1H, $J = 16.47\text{Hz}$, $J = 7.63\text{Hz}$) ;2.28(s, 3H) ;1.42(s, 9H)。

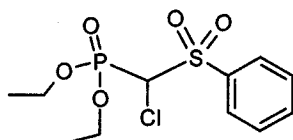
[0615] 实施例 7 :合成化合物 26 (Asp(β -叔丁基) α 氯乙烯基苯基砒甲苯磺酰基盐)

[0616]



[0617] a) 氯(苯基砒)甲基磷酸二乙酯

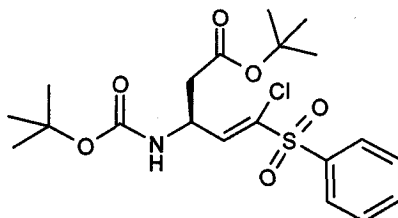
[0618]



[0619] 将氯(苯基砒)甲基磷酸二乙酯(0.919g, 3.12mmol)溶解在乙酸(1.8mL)中,接着加入过氧化氢(0.78mL, 2.8eq)。然后将样品放置在预热到 70℃ 的油浴中。5min 后加入另外部分的过氧化氢(0.21mL)。30min 后,使反应物达到室温。用 AcOEt/5% NaHCO_3 (30/5mL) 萃取样品。将有机层用 MgSO_4 干燥,过滤并且浓缩。将残余物在二氧化硅上使用 EtOAc/己烷(10 至 80%) 的梯度纯化,得到 0.627g 的所需化合物。

[0620] b) Asp(β -叔丁基) α 氯乙烯基苯基砒

[0621]



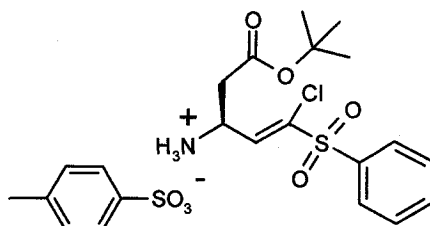
[0622] 将氯(苯基砒)甲基磷酸二乙酯(0.458g, 1.03eq)溶解在 THF(3mL)中并且使溶液达到 -78℃。然后将已经用无水乙醚(3*0.9mL)洗涤的 NaH60% (0.016g, 1.1eq) 以在 THF(1.5mL) 中的悬浮液形式加入。用 THF(0.4mL*2) 洗涤容纳悬浮液形式的 NaH 的小瓶并且加入到所述溶液中。将混合物搅拌 25min, 然后向溶液中滴加溶解在 THF(0.5mL) 中的 BocAsp(OtBu)-H(0.372g, 1.36mmol), 历时 1min。将小瓶用 THF(2*0.5mL) 冲洗并且加入到反应混合物中。在 45min 的搅拌后,将溶液用氯化铵饱和溶液(5mL)猝灭并且用 EtOAc(30mL)萃取。将有机层用盐水洗涤,用 MgSO_4 干燥,过滤并且浓缩。将残余物在二氧化硅上使用 Hex/EtOAc(0 至 30%) 的梯度纯化,使用 MeOH/ CH_2Cl_2 (0 至 3%) 的梯度再次纯化,首先洗脱出顺式产物,然后洗脱反式产物。最后,获得少量的所需化合物。

[0623] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ :8.13(m, 2H) ;7.67(t, 1H, $J = 7.42\text{Hz}$) ;7.57(t, 2H) ;6.55(d, 1H, $J = 9.19\text{Hz}$) ;5.75(bs, 1H) ;5.64(bs, 1H) ;2.86-2.77(m, 2H) ;1.47(s, 9H) ;

1.45 (s, 9H)。

[0624] c) Asp(β-叔丁基) α 氯乙基苯基砷甲苯磺酰基盐

[0625]

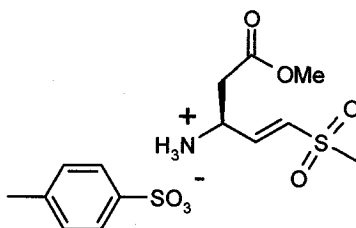


[0626] 将 Asp(β-叔丁基) α 氯乙基苯基砷 (0.018g, 0.04mmol) 溶解在 CH₂Cl₂ (0.1mL) 中, 接着加入 Et₂O (0.1mL)。一次性加入一水合对甲苯磺酸 (0.05g, 0.1eq)。在室温搅拌 15 小时后, 则将其在不加热的情况下蒸发至干燥, 得到 18mg 的所需化合物。

[0627] NMR ¹H(DMSO, 400MHz) δ : 8.3 (s, 3H, NH₃) ; 8.08-8.02 (m, 2H) ; 7.8 (t, 1H, J = 7.46Hz) ; 7.76 (t, 2H, J = 8.08Hz) ; 7.48 (d, 2H, J = 8.06Hz) ; 7.1 (d, 2H, J = 7.81Hz) ; 6.73 (d, 1H, J = 10.09Hz) ; 5.3 (m, 1H) ; 2.87 (dd, 1H, J = 16.67Hz, J = 6.13Hz) ; 2.78 (dd, 1H, J = 16.77Hz, J = 7.01Hz) ; 2.28 (s, 3H) ; 1.43 (s, 9H)。

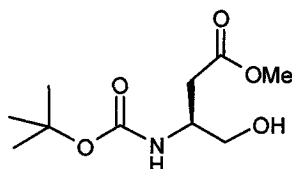
[0628] 实施例 8 : 合成化合物 30 (Asp(β-甲基) 甲基乙基砷甲苯磺酰基盐)

[0629]



[0630] a) Boc-天冬氨酸 (Aspartimo(β-甲基))

[0631]



[0632] 将 a-Boc-L-Asp(β-甲基)-OH (2.5g, 0.0101mol) 溶解在乙酸乙酯 (12.5ml) 中并且在 0℃ 冷却 (shilled)。加入 N-羟基琥珀酰亚胺 (1.163g, 1eq), 接着滴加 DCC (10.1ml, 1eq, 1M, 在 CH₂Cl₂ 中)。使混合物达到室温过夜 (20h), 然后将其用乙酸乙酯稀释, 在硅藻土上滤出并用乙酸乙酯 (80ml 总体积) 洗涤。将有机层用 5% NaHCO₃ (2*15ml)、盐水 (2*25ml) 洗涤, 用 MgSO₄ 干燥并且浓缩至干, 得到 3.58g 的所需化合物。

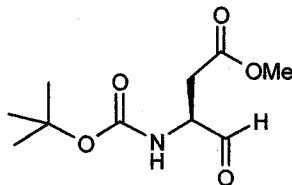
[0633] 在氩气下将 b-Boc-L-Asp(β-甲基)-N-羟基琥珀酰亚胺 (1.81g, 0.00526mol) 溶解在 24mL 的无水 THF 中。将混合物冷却到 0℃, 在 25min 的时间内分批加入 NaBH₄ (0.5g, 2.51eq)。使混合物达到室温, 并且搅拌另外的 4 小时。在 0℃ 滴加冰水 / 盐水的溶液 (1/1, 15mL), 接着小心加入柠檬酸 (0.5M, 40mL)。将两相混合物搅拌并且将产物用 EtOAc (4*40mL) 萃取。将合并的有机层用 5% NaHCO₃ (15mL) 和盐水 (15mL) 洗涤, 用 MgSO₄ 干燥, 滤出和在真空下浓缩。然后将粗制物在二氧化硅上采用 CH₂Cl₂/MeOH (0 至 5%) 的梯

度纯化,得到 0.7g 的所需化合物。

[0634] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ :5.20 (bs, 1H) ;4.02-3.95 (m, 1H) ;3.88-3.64 (m, 2H) ;3.70 (s, 3H) ;2.63 (d, 2H, $J = 5.86\text{Hz}$) ;2.0 (bs, 1H, OH) ;1.44 (s, 9H)。

[0635] b) Boc-Asp(β -甲基)-H

[0636]

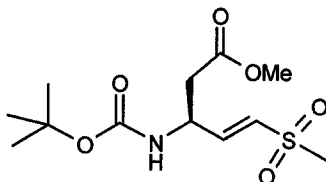


[0637] 将溶解在 CH_2Cl_2 (2.4mL) 中的 2M 的草酰氯的 CH_2Cl_2 溶液 (1.242mL, 1.7eq) 冷却到 -65°C 。在 -65°C 滴加 DMSO (0.4mL, 3.9eq) 在 CH_2Cl_2 (0.92mL) 中的溶液, 历时 20min。滴加在 CH_2Cl_2 (2.6mL) 中的 Boc Asp (OCH_3)- CH_2OH , 历时 20min, 并且将反应物在 -65°C 搅拌另外 15min。在 20min 内滴加在 CH_2Cl_2 (1.42mL) 中的 TEA (1.33mL, 6.54eq)。将反应在 -65°C / -70°C 留置另外的 55min, 然后在此温度用乙醚 / 0.5N KHSO_4 (30/6mL) 猝灭。将有机层用 0.5N KHSO_4 洗涤 3 次 (3*6mL), 然后用盐水洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 滤出和浓缩, 得到 0.29g 的所需化合物。

[0638] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ :9.65 (s, 1H) ;5.61 (d, 1H, $J = 7.04\text{Hz}$) ;4.38-4.35 (q, 1H, $J = 4.3\text{Hz}$) ;3.70 (s, 3H) ;3.01 (dd, 1H, $J = 17.41\text{Hz}$, $J = 4.49\text{Hz}$) ;2.83 (dd, 1H, $J = 17.41\text{Hz}$, $J = 4.69\text{Hz}$) ;1.46 (s, 9H)。

[0639] c) Boc-Asp(β -甲基) 甲基乙烯基砒

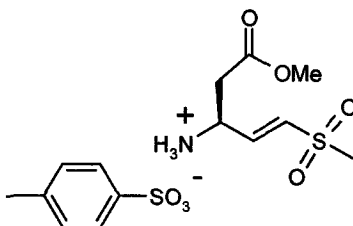
[0640]



[0641] 将已经用无水乙醚 (3*0.9mL) 洗涤的 NaH 95% (0.038g, 1.2eq) 悬浮在 THF (1mL) 中。在 0°C 将该 NaH 溶液滴加到溶解在 THF (10mL) 溶液中的 (甲基砒) 甲基膦酸二乙酯 (0.280g, 1.08eq) 中。将混合物搅拌 20min, 然后向溶液中滴加溶解在 THF (2.5mL) 中的 Boc Asp (0 甲基)-H (0.290g, 1.255mmol), 历时 1min。在 0°C 15min 后, 使反应物达到室温。在搅拌 1 小时后, 将溶液用饱和氯化铵溶液 (10mL) 猝灭并且用 EtOAc (30mL) 萃取。将有机层用盐水 (20mL) 洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并且浓缩。将残余物在二氧化硅上使用 EtOAc/Hex (10 至 80%) 的梯度纯化, 首先洗脱出顺式异构体, 然后洗脱出反式异构体 (0.174g)。

[0642] d) Boc-Asp(β -甲基) 甲基乙烯基砒 甲苯磺酰基盐

[0643]

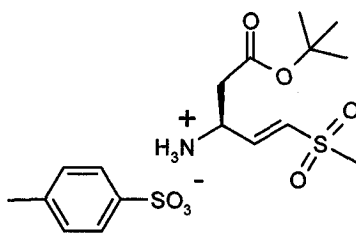


[0644] 将 Boc-Asp(β -甲基)甲基乙烯基砒(0.172g, 0.56mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (0.44mL) 中,接着加入 Et_2O (0.44mL)。一次性加入一水合对甲苯磺酸(0.19g, 1.04eq)。在室温搅拌 15 小时后,则将其用乙醚(2mL) 稀释并且滤出。然后将白色固体真空干燥,获得 0.140g 的所需化合物。

[0645] NMR ^1H (DMSO, 400MHz) δ :8.20(bs, 3H, NH_3) ;7.47-7.45(m, 2H) ;7.11(dd, 2H, $J = 8.41\text{Hz}$, $J = 0.58\text{Hz}$) ;7.03(dd, 1H, $J = 15.45\text{Hz}$, $J = 1.17\text{Hz}$) ;6.73(dd, 1H, $J = 15.45\text{Hz}$, $J = 6.26\text{Hz}$) ;4.34(q, 1H, $J = 6.45\text{Hz}$) ;3.66(s, 3H) ;3.05(s, 3H) ;2.92-2.82(m, 2H) ;2.28(s, 3H)。

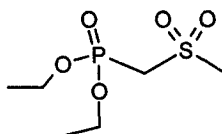
[0646] 实施例 9 :合成化合物 33(Asp(β -叔丁基)甲基乙烯基砒甲苯磺酰基盐)

[0647]



[0648] a)(甲基砒)甲基膦酸二乙酯

[0649]

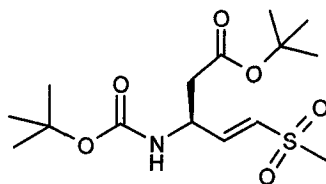


[0650] 将(甲硫基)甲基膦酸二乙酯(4.0180g, 20.3mmol) 溶解在乙酸(14mL, 12eq) 中,接着滴加(10min)的过氧化氢(5.9mL, 2.56eq)。然后将样品加热到 70℃,随后是短暂的剧烈放气。25min 后,使反应物达到室温。然后将 NaHCO_3 以小份加入直至 pH 变为中性。然后将样品抽真空,接着用乙醚萃取。然后将有机层用 20% 的柠檬酸(5mL) 洗涤然后用盐水(2*10mL) 洗涤。将有机层用 MgSO_4 干燥并且在二氧化硅上使用 EtOAc/ 己烷(10 至 100%) 的梯度纯化,得到 3.237g 的所需化合物。

[0651] NMR ^1H (DMSO, 400MHz) δ :4.18(d, 2H, $J = 16.62\text{Hz}$) ;4.10-4.03(m, 4H) ;3.10(s, 3H) ;1.23(t, 6H, $J = 7.04\text{Hz}$)。

[0652] b)Boc-Asp(β -叔丁基)甲基乙烯基砒

[0653]



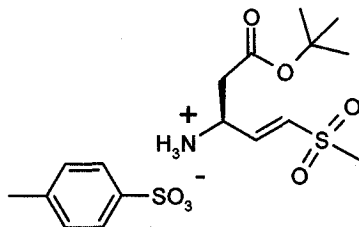
[0654] 将已经用无水乙醚(3*0.9mL) 洗涤的 NaH 60% (0.087g, 1.11eq) 悬浮在 THF(1mL) 中。将该 NaH 溶液滴加到溶解在 0℃ 的 THF 溶液(20mL) 中的(甲基砒)甲基膦酸二乙酯(0.485g, 1.08eq) 中。将混合物搅拌 20min,然后将溶解在 THF(2mL) 中的 Boc Asp(OtBu)-H(0.537g, 1eq) 滴加到溶液中,历时 1min。在 0℃ 10min 后,使反应物达到室温。搅拌 1 小时后,将溶液用饱和氯化铵溶液(45mL) 猝灭并且用 EtOAc(100mL) 萃取。将有

机层用盐水 (20mL) 洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并且浓缩。将残余物在二氧化硅上使用 Hex/EtOAc (10 至 80%) 的梯度纯化, 以洗脱 0.05g 的顺式化合物和 0.480g 的反式化合物。

[0655] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ : 6.86 (dd, 1H, $J = 15.08\text{Hz}$, $J = 4.60\text{Hz}$) ; 6.51 (dd, 1H, $J = 15.14\text{Hz}$, $J = 1.38\text{Hz}$) ; 5.41 (bs, 1H) ; 4.7 (bs, 1H) ; 2.91 (s, 3H) ; 2.64–2.52 (qd, 2H) ; 1.43 (s, 18H)。

[0656] c) Asp (β -叔丁基) 甲基乙烯基砒甲苯磺酰基盐

[0657]

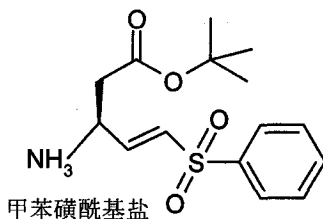


[0658] 将 Boc-Asp (β -叔丁基) 甲基乙烯基砒 (0.158g, 0.4534mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (0.7mL) 中, 接着加入 Et_2O (0.7mL)。一次性加入一水合对甲苯磺酸 (0.0878g, 1.02eq)。使用过量的 PTSA 水合物同时分裂 boc 和叔丁基, 这与 Palmer 报道的不同。在室温搅拌 15 小时后, 则将其用乙醚 (5mL) 稀释并且滤出。然后将白色固体真空干燥, 获得 0.121g 的所需化合物。

[0659] NMR ^1H (DMSO, 400MHz) δ : 8.18 (bs, 3H, NH_3) ; 7.47 (d, 2H, $J = 8.14\text{Hz}$) ; 7.10 (d, 2H, $J = 7.85\text{Hz}$) ; 7.02 (d, 1H, $J = 15.42\text{Hz}$) ; 6.70 (dd, 1H, $J = 15.40\text{Hz}$, $J = 6.61\text{Hz}$) ; 4.27 (q, 1H, $J = 6.3\text{Hz}$) ; 3.04 (s, 3H) ; 2.81–2.70 (qd, 2H) ; 2.28 (s, 3H) ; 1.42 (s, 9H)。

[0660] 实施例 10 : 合成化合物 37 (Asp- 乙烯基苯基砒盐形式)

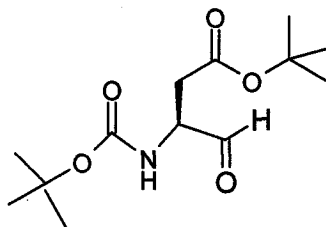
[0661]



[0662] 在硼氢化钠存在下在 THF 中将商购的 N-tBoc-L-Asp (β -叔丁基)-O-琥珀酰亚胺还原成相应的醇, 如在文献 (Ramond J. Begeron 等, 1999) 中所描述的。

[0663] a) Boc-Asp (β -叔丁基)-H

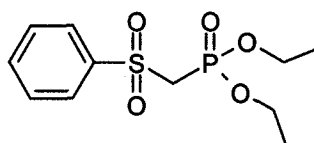
[0664]



[0665] 然后在草酰氯、DMSO 和 TEA 存在下、在二氯甲烷中、于 -70°C 将该醇氧化成相应的 Boc-L-Asp (β -叔丁基)-H, 如在文献 (William R. Ewing 等, 1999 ; Won Bum Jang, 2004 和 Mancuso A 等, 1981) 中所描述的

[0666] b) 苯基磺酰基甲基膦酸二乙酯

[0667]

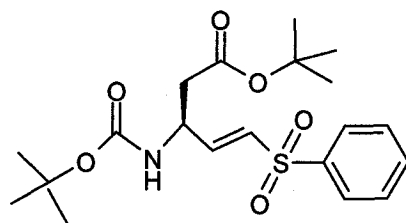


[0668] 在六甲基二硅叠氮化锂存在下、在 -78°C ，以一个步骤从苯磺酰氟和三乙基膦烷 (phosphorane) 获得苯基乙烯基磺前体，以得到苯基磺酰基甲基膦酸二乙酯，如在文献 (Won Bum Jang 等, 1998) 中所描述的。

[0669] Boc-Asp(β -叔丁基)-乙烯基苯基磺 (Gang Wang 等, 2003; Marion G. Gotz 等, 2004; Palmer, James T 等, 1995)。

[0670] c) Boc-Asp-乙烯基苯基磺

[0671]

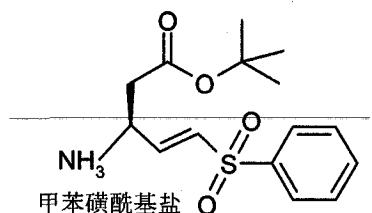


[0672] 将氢化钠 (40mg (60 %), 1.09eq) 加入到 0°C 的苯基磺酰基甲基膦酸二乙酯 (0.279g, 1.09eq) 在无水 THF (5.6ml) 中的溶液中。将混合物搅拌 20 分钟，之后滴加 Boc-L-Asp(O-*t*-Bu)-H (0.24g, 0.876mmol) 在 1.6ml THF 中的溶液。将混合物在 RT 搅拌 1.15h，然后倾倒入乙酸乙酯和氯化铵饱和溶液的混合物 (45/15ml) 中。将有机层用硫酸镁干燥并且将溶剂蒸发至干燥。将粗制物在硅胶上 (梯度: 乙酸乙酯 / 己烷) 纯化，以高化学收率得到所需化合物。

[0673] NMR ^1H (CD_3OD , 400MHz) δ 7.87 (d, $J = 7.62\text{Hz}$, 2H) ; 7.61 (t, $J = 7.35\text{Hz}$, 1H) ; 7.53 (t, $J = 7.68\text{Hz}$, 2H) ; 6.92 (dd, $J = 15.08$ 和 4.28Hz , 1H) ; 6.46 (d, $J = 15.12\text{Hz}$, 1H) ; 5.34 (m, 1H) ; 4.68 (m, 1H) ; 2.63-2.52 (m, 2H) ; 1.40 (s, 18H)。

[0674] d) Asp 乙烯基苯基磺甲苯磺酰基盐

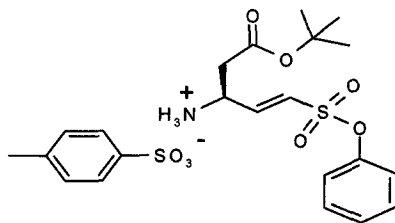
[0675]



[0676] 将 Boc-L-Asp(β -叔丁基)-乙烯基苯基磺 (0.1g, 0.243mmol) 溶解在二氯甲烷和乙醚混合物 (0.7/0.7ml) 中，然后加入 PTSA 水合物 (1eq)。使用过量的 PTSA 水合物同时分裂 boc 和叔丁基，这与 Palmer 报道的不同。将混合物在室温搅拌过夜。然后，将其用乙醚 (8ml) 稀释。将白色沉淀物滤出并且干燥，得到白色粉末形式的所需化合物。

[0677] 实施例 11 : 合成化合物 40 (Asp(β -叔丁基)苯氧基乙烯基磺甲苯磺酰基盐)

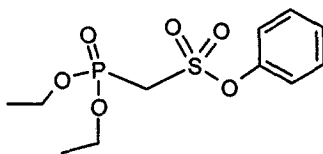
[0678]



[0679] 向 -10°C 的苯酚 (1.62g, 17.2mmol) 在 Et_2O (50mL) 中的溶液中加入 TEA (3.6mL, 1.5eq)。15min 后, 滴加甲磺酰氯 (1.6mL, 1.2eq) 在 Et_2O (4mL) 中的溶液, 历时 50min。然后使溶液在室温温热并且加入另外部分的 Et_2O (5mL)。通过加入 1N HCl (12mL, 4C) 猝灭反应, 然后用饱和 NaHCO_3 、盐水洗涤有机层, 用 MgSO_4 干燥, 滤出和浓缩, 得到油状物, 该油状物用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Hex}$ (1/1) 重结晶。将得到的固体过滤并且除去残余溶剂。

[0680] a) (苯氧基砒) 甲基磷酸二乙酯

[0681]

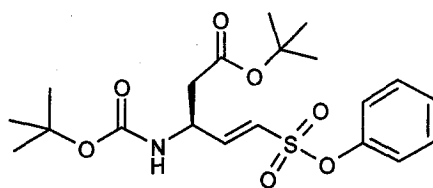


[0682] 向 -78°C 的甲磺酰基苯氧基 (1.938g, 11.25mmol) 在 THF (8mL) 中的溶液中, 滴加双(三甲代甲硅烷基)氨基钾 (2.36g, 1eq) 在 11mL 的 THF 中的溶液, 历时 40min。然后将反应物搅拌另外 5min。在 7min 内滴加氯磷酸二乙酯 (0.95mL, 0.59eq)。1 小时后, 通过在 5min 内滴加乙酸溶液 (0.645mL, 0.59eq) 而猝灭反应。使溶液温热至室温并且在真空下除去溶剂。将产物用 CH_2Cl_2 (30mL) 和 H_2O (10mL) 萃取, 用 MgSO_4 干燥, 滤出和浓缩。将残余物在二氧化硅上使用 $\text{EtOAc}/$ 己烷 (12 至 100%) 的梯度纯化, 得到 1.046g 的所需化合物。

[0683] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ : 7.44–7.41 (m, 2H); 7.36–7.32 (m, 3H); 4.31–4.25 (m, 4H); 3.81 (d, 2H, $J = 17.14\text{Hz}$); 1.38 (t, 6H, $J = 7.11\text{Hz}$)。

[0684] b) Asp(β -叔丁基)苯氧基乙烯基砒

[0685]



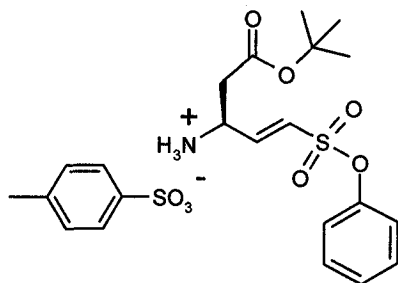
[0686] 将 (苯氧基砒) 甲基磷酸二乙酯 (0.36g, 1.07mmol) 溶解在 THF (10mL) 中并且使溶液达到 -0°C 。然后以在 THF (1mL) 中的悬浮液形式加入已经用无水乙醚 (3*0.9mL) 洗涤的 NaH 60% (0.0539g, 1.22eq)。用 THF (1mL) 洗涤容纳悬浮液形式的 NaH 的小瓶并且将其加入到所述溶液中。将混合物搅拌 20min, 然后向溶液中滴加溶解在 THF (2mL) 中的 Boc Asp(O-tBu)-H (0.30g, 1eq), 历时 1min。将小瓶用 THF (1mL) 冲洗并且加入到反应混合物中。在室温搅拌 2 小时后, 将溶液用氯化铵饱和溶液 (5mL) 猝灭并且用 EtOAc (30mL) 萃取。将有机层用盐水洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 滤出和浓缩。将残余物在二氧化硅上使用 $\text{EtOAc}/$ 己烷 (0 至 30%, 30 至 80%) 的梯度纯化, 得到 0.359g 的所需化合物。

[0687] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ : 7.38 (t, 2H, $J = 7.96\text{Hz}$); 7.29 (t, 1H, $J = 7.46\text{Hz}$); 7.23–7.21 (m, 2H); 6.79 (dd, 1H, $J = 15.14\text{Hz}$, $J = 4.67\text{Hz}$); 6.49 (dd, 1H, $J = 15.18\text{Hz}$, $J =$

1.31Hz) ;5.37(bs,1H) ;4.65(bs,1H) ;2.60(dd,1H, $J = 16.04\text{Hz}$, $J = 5.46\text{Hz}$) ;2.50(dd,1H, $J = 16.04\text{Hz}$, $J = 5.63\text{Hz}$) ;1.46(s,9H) ;1.43(s,9H)。

[0688] c) Asp(β -叔丁基)苯氧基乙烯基砒甲苯磺酰基盐

[0689]

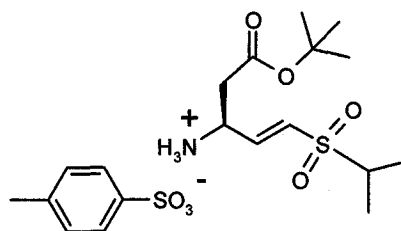


[0690] 将 Asp(β -叔丁基)苯氧基乙烯基砒 (0.187g, 0.444mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (0.7mL) 中,接着加入 Et_2O (0.7mL)。一次性加入一水合对甲苯磺酸 (0.084g, 1.01eq)。在室温搅拌 15 小时后,则将其用乙醚 (8mL) 稀释和滤出。然后将白色固体真空干燥,得到所需化合物。

[0691] NMR ^1H (DMSO, 400MHz) δ :8.25(bs, 3H, NH_3^+) ;7.49–7.46(m, 4H) ;7.39(t, 1H, $J = 7.4\text{Hz}$) ;7.31–7.29(m, 2H) ;7.22–7.17(m, 1H) ;7.10(d, 2H, $J = 7.88\text{Hz}$) ;6.82(dd, 1H, $J = 15.41\text{Hz}$, $J = 6.15\text{Hz}$) ;4.35(m, 1H) ;2.82–2.73(m, 2H) ;2.28(s, 3H) ;1.41(s, 9H)。

[0692] 实施例 12 :合成化合物 43 (Asp(β -叔丁基)异丙基乙烯基砒甲苯磺酰基盐)

[0693]

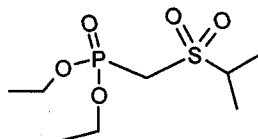


[0694] 将氯甲基异丙基硫醚 (12.54g, 100.6mmol) 加热到 110°C ,接着滴加磷酸三乙基 (21mL, 1.10eq)。在搅拌 8 小时后,使反应物达到室温。通过蒸馏 (110°C / 6mmbar) 纯化样品,得到 4.7g 的 ((异丙基砒)甲基磷酸二乙酯)。

[0695] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ :4.21–4.13(m, 4H) ;3.19–3.14(m, 1H) ;2.76(d, 2H, $J = 14.35\text{Hz}$) ;1.34–1.27(m, 12H)。

[0696] 实施例 13 :合成化合物 41 ((异丙基砒)甲基磷酸二乙酯)

[0697]



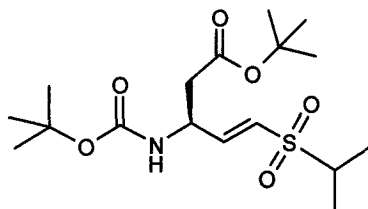
[0698] 将 ((异丙基砒)甲基磷酸二乙酯 (4.746g, 0.02mol) 溶解在乙酸 (14.5mL, 12.06eq) 中,接着在 5min 内滴加过氧化氢 (6mL, 2.52eq)。然后将样品加热到 70°C ,随后是短暂的剧烈放气。30min 后,使反应物达到室温。然后以小份加入 NaHCO_3 直至 pH 变为中性。然后将样品抽真空,接着用乙醚 (30mL) 萃取。然后将有机层用 20% 的柠檬酸 (5mL) 洗

涤,然后用盐水 (2*10mL) 洗涤。将有机层合并并且用 CH_2Cl_2 / 水萃取,用 MgSO_4 干燥并且在二氧化硅上使用 EtOAc/ 己烷 (20 至 100%) 的梯度纯化,得到 4.689g 的所需化合物。

[0699] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ :4.23-4.50(m, 4H) ;3.67-3.63(m, 1H) ;3.53(d, 2H, $J = 16.82\text{Hz}$) ;1.37-1.30(m, 12H)。

[0700] 实施例 14 :合成化合物 42(BocAsp(β -叔丁基)异丙基乙烯基砜)

[0701]

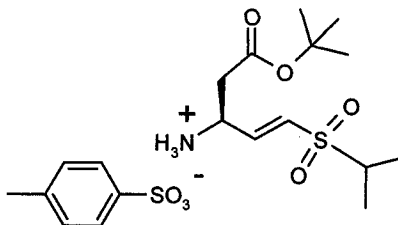


[0702] 将 (异丙基砜) 甲基磷酸二乙酯 (0.036g, 0.1427mmol) 溶解在 THF (0.2mL) 中并且使溶液达到 0℃。然后以在 THF (1.2mL) 中的悬浮液形式加入已经用无水乙醚 (3*0.9mL) 洗涤的 NaH 60% (5.38mg, 1.05eq)。将混合物搅拌 25min, 然后向溶液中滴加溶解在 THF (0.6mL) 中的 Boc Asp(O-*t*Bu)-H (0.0351g, 1eq), 历时 1min。搅拌 45min 后, 将溶液用氯化铵饱和溶液 (2mL) 猝灭并且用 EtOAc (10mL) 萃取。将有机层用盐水洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并且浓缩。将残余物在二氧化硅上使用 EtOAc/ 己烷 (5 至 60%) 的梯度纯化, 得到 29.3mg 的所需化合物。

[0703] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ :6.82(dd, 1H, $J = 15.24\text{Hz}$, $J = 4.78\text{Hz}$) ;6.38(dd, 1H, $J = 15.17\text{Hz}$, $J = 1.41\text{Hz}$) ;5.43(m, 1H) ;4.67(s, 1H) ;3.07-3.0(m, 1H) ;2.64(dd, 1H, $J = 16.07\text{Hz}$, $J = 5.5\text{Hz}$) ;2.57(dd, 1H, $J = 16.12\text{Hz}$, $J = 5.52\text{Hz}$) ;1.48-1.32(m, 24H)。

[0704] 实施例 15 :合成化合物 43(Asp(β -叔丁基)异丙基乙烯基砜甲苯磺酰基盐)

[0705]

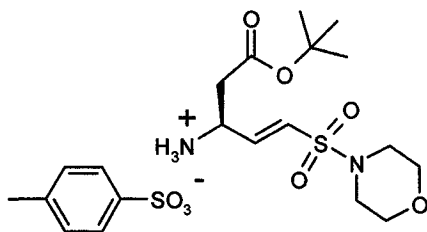


[0706] 将 Boc-Asp(β -叔丁基)异丙基乙烯基砜 (0.028g, 0.0741mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (0.2mL) 中, 接着加入 Et_2O (0.2mL)。一次性加入一水合对甲苯磺酸 (0.0154g, 1.09eq)。在室温搅拌后 15 小时, 则将其用乙醚 (8mL) 稀释并且滤出。然后将白色固体真空干燥, 获得 11mg 的所需化合物。

[0707] NMR ^1H (DMSO, 400MHz) δ :8.21(bs, 3H, NH_3) ;7.46(d, 2H, $J = 7.81\text{Hz}$) ;7.10(d, 2H, $J = 7.85\text{Hz}$) ;6.92-6.85(m, 1H) ;6.71(dd, 1H, $J = 15.42\text{Hz}$, $J = 6.34\text{Hz}$) ;4.30(m, 1H) ;3.23-3.13(m, 1H) ;2.85-2.72(m, 2H) ;2.28(s, 3H) ;1.42(s, 9H) ;1.21(m, 6H)。

[0708] 实施例 16 :合成化合物 46(Asp(β -叔丁基)吗啉乙烯基砜甲苯磺酰基盐)

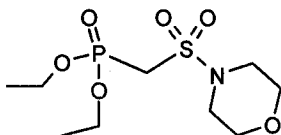
[0709]



[0710] 向-10℃的哌啶 (1.4mL, 16.07mmol) 在 CH_2Cl_2 (30mL) 中的溶液中加入 TEA (3.4mL, 1.5eq)。15min 后, 滴加甲磺酰氯 (1.5mL, 1.2eq) 在 CH_2Cl_2 (4mL) 中的溶液, 历时 40min。然后使溶液在室温温热并且加入另外部分的 Et_2O (5mL)。通过加入 1N HCl (12mL, 4C) 猝灭反应, 然后将有机层用饱和 NaHCO_3 、盐水洗涤并且用 MgSO_4 干燥, 滤出和浓缩, 得到油状物, 将该油状物在二氧化硅上使用 $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (0 至 5%) 的梯度纯化, 得到 0.831g 的 (哌啶硫基) 甲基膦酸二乙酯。

[0711] 实施例 16:合成化合物 44((吗啉砷)甲基膦酸二乙酯)

[0712]

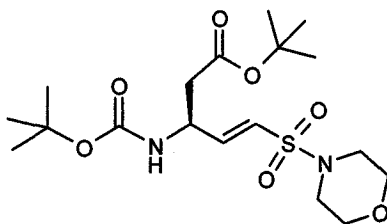


[0713] 向 -78℃ 的甲磺酰基吗啉 (0.719g, 4.356mmol) 在 THF (4mL) 中的溶液中, 滴加双 (三甲代甲硅烷基) 氨基钾 (0.748g, 0.86eq) 在 11mL 的 THF 中的溶液, 历时 40min。然后将反应物搅拌另外 5min。在 7min 内滴加氯甲基膦酸二乙酯 (0.37mL, 0.57eq)。1 小时后, 通过在 5min 内滴加乙酸溶液 (0.226mL, 0.77eq) 猝灭反应。使溶液温热至室温并且在真空下除去溶剂。将产物用 CH₂Cl₂ (30mL) 和 H₂O (10mL) 萃取, 用 MgSO₄ 干燥, 滤出和浓缩。将残余物在二氧化硅上使用 MeOH/CH₂Cl₂ (0 至 4%) 的梯度纯化, 得到 0.247g 的所需化合物。

[0714] NMR ^1H (CDCl_3 , 400MHz) δ :4. 26-4. 20 (m, 4H) ;3. 76 (t, 4H, $J = 4. 6\text{Hz}$) ;3. 51 (d, 2H, $J = 17. 33\text{Hz}$) ;3. 34 (t, 4H, $J = 4. 74\text{Hz}$) ;1. 37 (t, 6H, $J = 7. 11\text{Hz}$) 。

[0715] 实施例 17:合成化合物 45(Boc-Asp(β -叔丁基)吗啉乙烯基砜)

[0716]

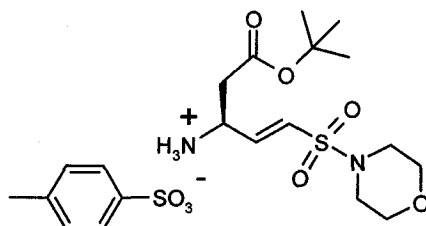


[0717] 将(吗啉砒)甲基膦酸二乙酯(0.103g, 1.07mmol)溶解在THF(1mL)中并且使溶液达到-10℃。然后以在THF(1mL)中的悬浮液形式加入已经用无水乙醚(3*0.9mL)洗涤的NaH 60%(0.013g, 1.04eq)。用THF(0.5mL)洗涤容纳悬浮液形式的NaH的小瓶并且将其加入到所述溶液中。将混合物搅拌20min, 然后向溶液中滴加溶解在THF(1.5mL)中的Boc Asp(OtBu)-H(0.208g, 1eq), 历时1min, 将小瓶用DMF(0.5ml)洗涤并且加入到所述溶液中。在室温搅拌3小时后, 将溶液用氯化铵饱和溶液(5mL)猝灭并且用EtOAc(30mL)萃取。将有机层用盐水洗涤, 用MgSO₄干燥, 滤出和浓缩。将残余物在二氧化硅上使用先是Hex/EtOAc(5

至 80%) 然后是 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (0 至 10%) 的梯度纯化, 得到 0.075g 的所需化合物。

[0718] 实施例 18: 合成化合物 46 (Asp(β -叔丁基) 吗啉乙烯基砜甲苯磺酰基盐)

[0719]

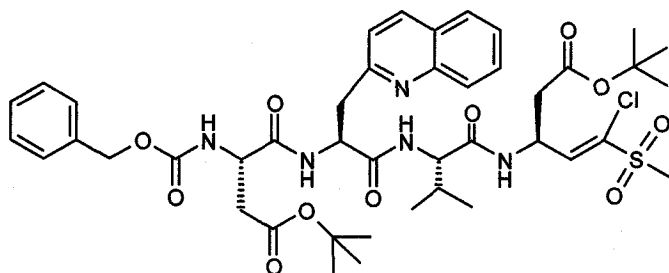


[0720] 将 Boc-Asp(β -叔丁基) 吗啉乙烯基砜 (0.075g, 0.178mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 (0.2mL) 中, 接着加入 Et_2O (0.2mL)。一次性加入一水合对甲苯磺酸 (0.034g, 1.0eq)。在室温搅拌 15 小时后, 则将其用乙醚 (0.5mL) 稀释并且滤出。然后将白色固体真空干燥, 获得 0.045g 的所需化合物。

[0721] NMR ^1H (DMSO, 400MHz) δ : 8.20 (bs, 3H, NH_3^+); 7.47 (d, 2H, $J = 7.9\text{Hz}$); 7.10 (d, 2H, $J = 7.89\text{Hz}$); 6.88 (d, 1H, $J = 15.33\text{Hz}$); 6.60 (dd, 1H, $J = 15.00\text{Hz}$, $J = 6.36\text{Hz}$); 4.28 (s, 1H); 3.65 (t, 4H, $J = 4.43\text{Hz}$); 3.02 (m, 4H); 2.84-2.76 (m, 2H); 2.28 (s, 3H); 1.42 (s, 9H)。

[0722] 实施例 18: 合成化合物 47 (Z-Asp(β -叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β -叔丁基) α 氯乙烯基甲基砜)

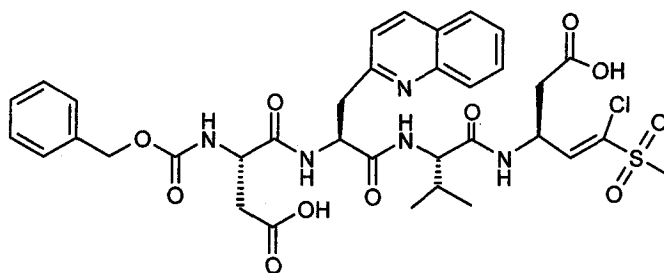
[0723]



[0724] 将 Z-Asp(β -叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-OH (18mg, 0.029mmol) 溶解在二氯甲烷和 DMF 混合物 (0.39ml/0.13ml) 中。使混合物达到 $-15/-20^\circ\text{C}$, 之后加入 N-甲基吗啉 ($8\mu\text{l}$), 在 3min 后加入氯甲酸异丁酯 ($7\mu\text{l}$)。将混合物在 -15°C 搅拌 10 分钟。接着, 一次性加入 Asp(β -叔丁基) α 氯甲基-甲基砜甲苯磺酰基盐 (13mg, 1eq), 接着加入 N-甲基吗啉 ($8\mu\text{l}$)。将混合物在 $-15/-20^\circ\text{C}$ 搅拌 35 分钟, 然后用 5ml 的二氯甲烷稀释并且用 1.5ml 碳酸氢钠饱和溶液猝灭。将有机层用硫酸镁干燥, 将溶剂蒸发至干燥。将获得的残余物在硅胶上 (梯度: 乙酸乙酯/己烷: 5 至 100%) 纯化, 得到 12mg 的所需化合物。

[0725] 实施例 19: 合成化合物 48 (Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp- α 氯乙烯基甲基砜)

[0726]



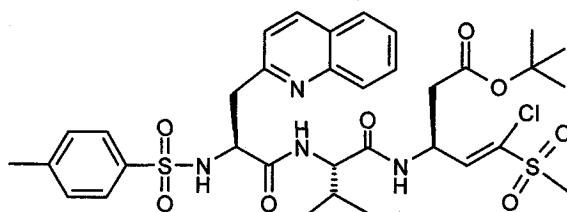
[0727] 将 Z-Asp(β -叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β -叔丁基)- α 氯乙基甲基磺基 (11.7mg) 溶解在二氯甲烷 (0.24ml) 中,接着加入三氟乙酸 (0.35ml)。将混合物在室温搅拌过夜 (15h)。然后将其用二乙醚 (5ml) 猝灭,在真空下除去溶剂。将获得的残余物再次用乙醚 (5ml) 稀释并且将该过程重复两次。将沉淀物用 2*1ml 的乙醚洗涤,干燥,得到 9mg 的所需化合物。

[0728] NMR ^1H (CD_3OD , 400MHz) δ : 8.6-7.25 (m, 11H) ; 7.07 (d, 1H, $J = 8.61\text{Hz}$) ; 5.03-4.06 (m, 4H) ; 4.45-4.42 (m, 1H) ; 4.09-4.05 (m, 1H) ; 3.65-3.49 (m, 2H) ; 3.07 (s, 3H) ; 2.84-2.7 (m, 2H) ; 2.71-2.66 (m, 2H) ; 2.00 (m, 1H) ; 0.85 (t, 6H, $J = 8.2\text{Hz}$)。

[0729] LCMS(M-H $^+$) = 772.4。

[0730] 实施例 20 :合成化合物 49(Ts-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β -叔丁基)- α 氯乙基甲基磺基)

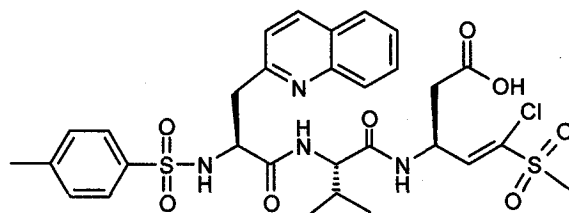
[0731]



[0732] 将 Ts-Ala(2'-喹啉基)-OH(5.6mg, 0.0123mmol) 溶解在 CH_2Cl_2 /DMF 混合物 (0.15/0.13mL) 中。使混合物达到 -15°C / -20°C (冰 MeOH 浴),之后加入 NMM(0.004mL),在 3min 后加入氯甲酸异丁酯 (0.004mL)。将混合物在 -15°C 搅拌 10min,之后一次性加入 Asp(β -叔丁基) 氯乙基-甲基乙基磺基甲苯磺酰基盐 (6.3mg, 1eq),随后加入 4-甲基吗啉 (0.004mL)。将混合物在 -15°C / -20°C 搅拌 30min,然后将其用 CH_2Cl_2 (5mL) 稀释,然后用水 (2mL) 稀释,并且使混合物达到室温,萃取。将有机层用 MgSO_4 干燥,浓缩并且通过使用 Hex/EtOAc (15 至 100%) 的二氧化硅纯化,得到 6mg 的所需化合物。

[0733] 实施例 21 :合成化合物 50(Ts-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp- α 氯乙基甲基磺基)

[0734]



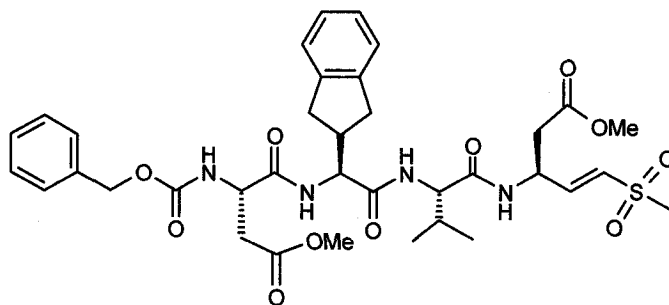
[0735] 将 Ts-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β -叔丁基)- α 氯乙基甲基磺基 (6mg) 溶解在二氯甲烷 (0.15ml) 中,接着加入三氟乙酸 (0.2ml)。将混合物在室温搅拌过夜 (15h)。然后将其二乙醚 (5ml) 猝灭并且在真空下除去溶剂。获得的残余物再次用乙醚稀释,并将该

过程重复两次。将沉淀物用 2*1ml 乙醚洗涤,干燥,得到 4mg 的所需化合物。

[0736] NMR ^1H (CD_3OD , 400MHz) δ : 8.37 (m, 1H) ; 8.01-7.99 (m, 1H) ; 7.96-7.94 (m, 1H) ; 7.90-7.94 (m, 1H) ; 7.90-7.88 (m, 1H) ; 7.71-7.63 (m, 1H) ; 7.46 (m, 1H) ; 7.37 (d, 2H, $J = 8.22\text{Hz}$) ; 7.08 (d, 1H, $J = 8.46\text{Hz}$) ; 6.88 (d, 2H, $J = 8.0\text{Hz}$) ; 5.04-5.01 (m, 1H) ; 4.37-4.34 (m, 1H) ; 4.08-4.07 (m, 1H) ; 3.44-3.4 (m, 1H) ; 3.2 (m, 1H) ; 3.08 (s, 3H) ; 2.83-2.78 (m, 1H) ; 2.73-2.684 (m, 1H) ; 2.17 (s, 3H) ; 2.07-2.03 (m, 1H) ; 0.91-0.89 (m, 6H)。

[0737] 实施例 22 : 合成化合物 51 (Z-Asp(β -甲基)-茚满基甘氨酸-Val-Asp(β -甲基)甲基乙烯基砒)

[0738]

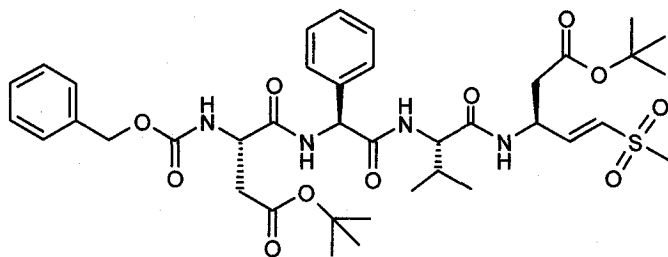


[0739] 将 Z-Asp(β -甲基)-茚满基甘氨酸-Val-OH (16.7mg, 0.0301mmol) 溶解在 THF 和 DMF 混合物 (0.5ml/0.1ml) 中。使混合物达到 $-15/-20^\circ\text{C}$, 之后加入 N-甲基吗啉 ($9\mu\text{l}$), 3min 后加入氯甲酸异丁酯 ($8\mu\text{l}$)。将混合物在 -15°C 搅拌 10 分钟。接着, 一次性加入 Asp(β -甲基)甲基乙烯基砒甲苯磺酰基盐 (12mg, 1eq), 将小瓶用 THF (0.1ml) 洗涤并且加入到所述溶液中, 接着加入 N-甲基吗啉 ($9\mu\text{l}$)。将混合物在 $-15/-20^\circ\text{C}$ 搅拌 35 分钟, 然后用 7ml 的二氯甲烷稀释并且用 1.5ml 的碳酸氢钠饱和溶液猝灭。之后, 将有机层用硫酸镁干燥。将溶剂蒸发至干燥。将获得的残余物在硅胶上 (乙酸乙酯/己烷: 40% 然后二氯甲烷/甲醇: 5 至 15%) 纯化, 得到 14mg 的 Z-Asp(β -甲基)-茚满基甘氨酸-Val-Asp(β -甲基)-甲基乙烯基砒。

[0740] NMR ^1H (DMSO, 400MHz) δ : 8.31 (d, NH, $J = 7.82\text{Hz}$) ; 8.11 (d, NH, $J = 8.8\text{Hz}$) ; 7.93 (d, NH, $J = 8.21\text{Hz}$) ; 7.69 (d, NH, $J = 8.02\text{Hz}$) ; 7.37-7.08 (m, 9H) ; 6.74 (dd, 1H, $J = 15.45\text{Hz}$, $J = 4.30\text{Hz}$) ; 6.67 (d, 1H, $J = 15.59\text{Hz}$) ; 5.05 (s, 2H) ; 4.99 (m, 1H) ; 4.44 (m, 2H) ; 4.11 (m, 1H) ; 3.57 (s, 6H) ; 2.98 (s, 3H) ; 2.95-2.5 (m, 9H) ; 2.00-1.94 (m, 1H) ; 0.84 (t, 6H, $J = 6.06\text{Hz}$)。

[0741] 实施例 23 : 合成化合物 52 (Z-Asp(β -叔丁基)-Phg-Val-Asp(β -叔丁基)甲基乙烯基砒)

[0742]

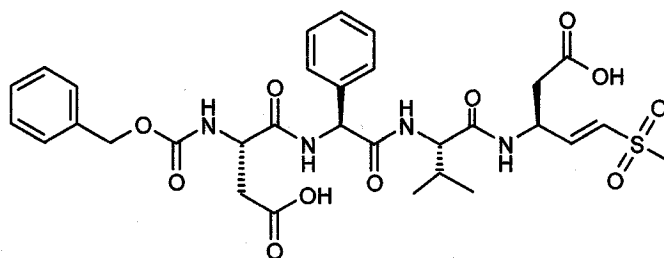


[0743] 将 Z-Asp(β -叔丁基)-Phg-Val-OH (17mg, 0.0306mmol) 溶解在二氯甲烷和 DMF 混

合物 (0.39ml/0.13ml) 中。使混合物达到 $-15/-20^{\circ}\text{C}$, 之后加入 N-甲基吗啉 ($8\mu\text{l}$), 3min 后加入氯甲酸异丁酯 ($8\mu\text{l}$)。将混合物在 -15°C 搅拌 10 分钟。接着, 一次性加入 Asp(β -叔丁基)甲基乙烯基砒甲苯磺酰基盐 (12mg, 1eq), 接着加入 N-甲基吗啉 ($8\mu\text{l}$)。将混合物在 $-15/-20^{\circ}\text{C}$ 搅拌 35 分钟, 然后用 5ml 的二氯甲烷稀释并且用 1.5ml 的碳酸氢钠饱和溶液猝灭。用硫酸镁干燥有机层。将溶剂蒸发至干燥。将获得的残余物在硅胶上 (梯度: 乙酸乙酯/己烷: 5 至 100%) 纯化, 得到 8mg 的 Z-Asp(β -叔丁基)-Phg-Val-Asp(β -叔丁基)-甲基乙烯基砒。

[0744] 实施例 24: 合成化合物 53 (Z-Asp-Phg-Val-Asp-甲基乙烯基砒)

[0745]



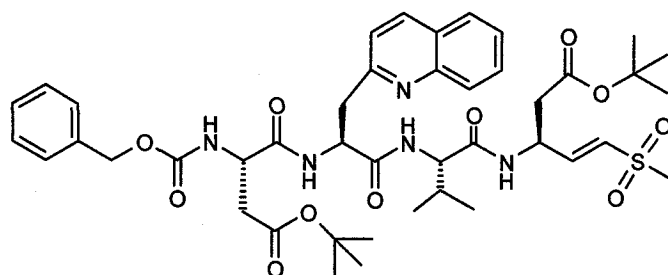
[0746] 将 Z-Asp(β -叔丁基)-Phg-Val-Asp(β -叔丁基)-甲基乙烯基砒 (6.2mg) 溶解在二氯甲烷 (0.16ml) 中, 接着加入三氟乙酸 (0.22ml)。将混合物在室温搅拌过夜 (15h)。然后将其用二乙醚 (5ml) 猝灭, 然后在真空下除去溶剂。将获得的残余物再次用乙醚 (5ml) 稀释并且将该过程重复两次。将粗制物再次用乙醚稀释, 除去滤液并且将沉淀物用 $2\times 1\text{ml}$ 的乙醚洗涤, 干燥, 得到 5mg 的所需化合物。

[0747] NMR ^1H (CD_3OD , 400MHz) δ : 7.46-7.29(m, 10H); 6.83(dd, 1H, $J = 15.22\text{Hz}$, $J = 4.60\text{Hz}$); 6.68(dd, 1H, $J = 15.229\text{Hz}$, $J = 1.36\text{Hz}$); 5.38(s, 1H); 5.10(q, 2H, $J = 12.73\text{Hz}$); 4.94-4.90(m, 1H); 4.56(t, 1H, $J = 6.75\text{Hz}$); 4.10(d, 1H, $J = 7.07\text{Hz}$); 2.95(s, 3H); 2.98-2.88(m, 1H); 2.76-2.60(m, 3H); 2.21-2.01(m, 1H); 0.98(t, 6H, $J = 6.3\text{Hz}$)。

[0748] LCMS($\text{M}-\text{H}^+$) = 673.7

[0749] 实施例 26: 合成化合物 54 (Z-Asp(β -叔丁基)-Al(2'-喹啉基)-Val-Asp(β -叔丁基)甲基乙烯基砒)

[0750]

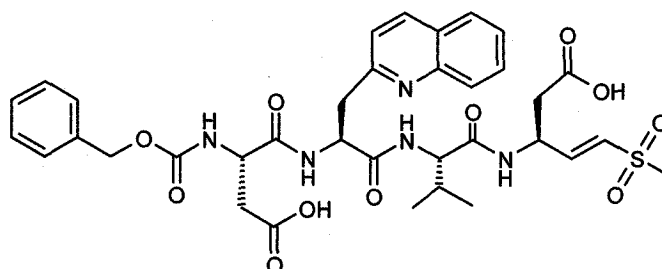


[0751] 将 Z-Asp(β -叔丁基)-Al(2'-喹啉基)-Val-OH (19mg, 0.0306mmol) 溶解在二氯甲烷和 DMF 混合物 (0.4ml/0.14ml) 中。使混合物达到 $-15/-20^{\circ}\text{C}$, 之后加入 N-甲基吗啉 ($9\mu\text{l}$), 3min 后加入氯甲酸异丁酯 ($9\mu\text{l}$)。将混合物在 -15°C 搅拌 10 分钟。接着, 一次性加入 Asp(β -叔丁基)甲基乙烯基砒甲苯磺酰基盐 (13.1mg, 1eq), 接着加入 N-甲基吗啉 ($9\mu\text{l}$)。将混合物在 $-15/-20^{\circ}\text{C}$ 搅拌 35 分钟, 然后用 5ml 的二氯甲烷稀释并且用 1.5ml 的碳酸氢钠饱和溶液猝灭。之后, 将有机层用碳酸氢钠洗涤并且用硫酸镁干燥。将溶剂蒸发至

干燥。将获得的残余物在硅胶上（梯度：乙酸乙酯 / 己烷：5 至 100%）纯化，得到 13.1mg 的 Z-Asp(β-叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β-叔丁基)-甲基乙烯基砒。

[0752] 实施例 27：合成化合物 55(Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp 甲基乙烯基砒)

[0753]



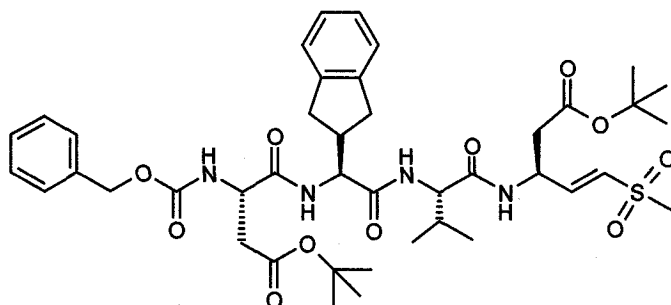
[0754] 将 Z-Asp(β-叔丁基)-Phg-Val-Asp(β-叔丁基)-甲基乙烯基砒 (13.1mg) 溶解在二氯甲烷 (0.32ml) 中，接着加入三氟乙酸 (0.44ml)。将混合物在室温搅拌过夜 (15h)。然后将其用二乙醚 (5ml) 猝灭，然后在真空下除去溶剂。将获得的残余物再次用乙醚稀释并且将该过程重复两次。将沉淀物用 2*1ml 乙醚洗涤，干燥，得到 12mg 的所需化合物。

[0755] NMR ^1H (CD₃OD, 400MHz) δ : 8.68(m, 1H); 8.17(d, 1H, J = 8.9Hz); 8.1(d, 1H, J = 8.2Hz); 7.93(t, 1H, J = 7.85Hz); 7.78(m, 2H); 7.34-7.29(m, 5H); 6.88(dd, 1H, J = 15.20 和 4.75Hz); 6.7(d, 1H, J = 15.20Hz); 5.03-4.83(m, 4H); 4.44(t, 1H, J = 6.45Hz); 4.1(d, 1H, J = 7.15Hz); 3.70(m, 1H); 3.52(m, 1H); 2.98(s, 3H); 2.90-2.68(m, 4H); 0.92(d, 3H, J = 6.9Hz), 0.89(d, 3H, J = 6.7Hz)。

[0756] LCMS(M-H⁺) = 738.3

[0757] 实施例 28：合成化合物 56(Z-Asp(β-叔丁基)-茚满基甘氨酸-Val-Asp(β-叔丁基)-甲基乙烯基砒)

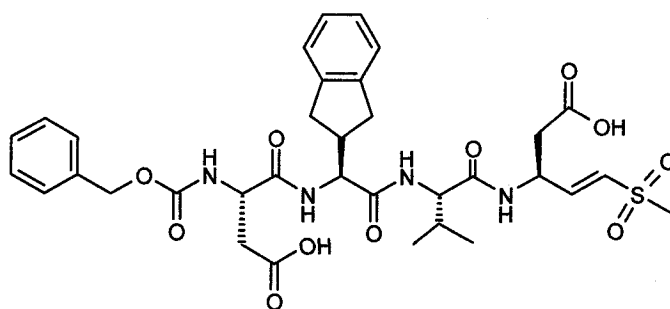
[0758]



[0759] 将 Z-Asp(β-叔丁基)-茚满基甘氨酸-Val-OH(21mg, 0.0353mmol) 溶解在二氯甲烷和 DMF 混合物 (0.44ml/0.15ml) 中。使混合物达到 -15/-20℃，之后加入 N-甲基吗啉 (10 μl)，接着加入氯甲酸异丁酯 (9 μl)。将混合物在 -15℃ 搅拌 10 分钟。接着，一次性加入 Asp(β-叔丁基)-甲基乙烯基砒-甲苯磺酰基盐 (15mg, 1eq)，接着加入 N-甲基吗啉 (10 μl)。将混合物在 -15/-20℃ 搅拌 35 分钟，然后用 5ml 的二氯甲烷稀释并且用 1.5ml 的碳酸氢钠饱和溶液猝灭。之后，将有机层用碳酸氢钠洗涤并且用硫酸镁干燥。将溶剂蒸发至干燥。将获得的残余物在硅胶上（乙酸乙酯 / 己烷：40% 然后二氯甲烷 / 甲醇：5 至 15%）纯化，得到 10mg 的 Z-Asp(β-叔丁基)-茚满基甘氨酸-Val-Asp(β-叔丁基)-甲基乙烯基砒。

[0760] 实施例 30：合成化合物 57(Z-Asp-茚满基甘氨酸-Val-Asp 甲基乙烯基砒)

[0761]

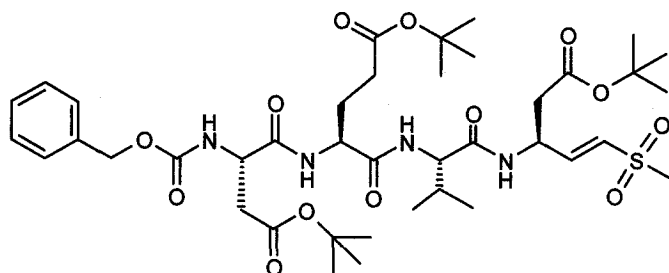


[0762] 将 Z-Asp(β -叔丁基)-茚满基甘氨酸-Val-Asp(β -叔丁基)-甲基乙烯基砒(11mg)溶解在二氯甲烷(0.26ml)中,接着加入三氟乙酸(0.36ml)。将混合物在室温搅拌过夜(15h)。然后将其用二乙醚(5ml)猝灭并且在真空下除去溶剂。将获得的残余物再次用乙醚稀释并且将该过程重复两次。将沉淀物用 2*1ml 乙醚洗涤,干燥,得到 9mg 的所需化合物。

[0763] NMR ^1H (DMSO, 400MHz) δ : 12.35(bs, 2H, 2*CO₂H); 8.21(d, 1H, J = 7.78Hz); 8.06(m, 1H); 7.89(d, 1H, J = 7.34Hz); 7.61(d, 1H, J = 7.10Hz); 7.34-7.31(m, 5H); 7.17-6.95(m, 4H); 6.75(dd, 1H, J = 15.33Hz, J = 4.8Hz); 6.64(d, 1H, J = 15.58Hz); 4.99(s, 2H); 4.81(m, 1H); 4.46-4.40(m, 2H); 4.12(t, 1H, J = 6.28Hz); 2.97(s, 3H); 2.82-2.44(m, 9H); 0.85(t, 6H, J = 5.95Hz)。

[0764] 实施例 32:合成化合物 58(Z-Asp(β -叔丁基)-Glu(β -叔丁基)-Val-Asp(β -叔丁基)-甲基乙烯基砒)

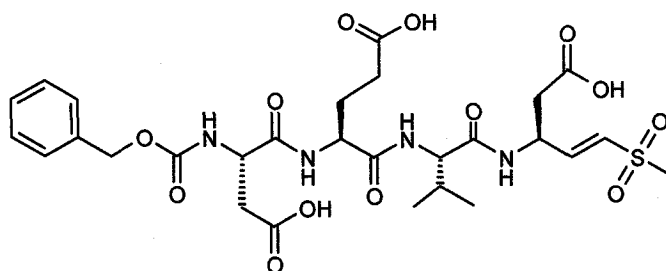
[0765]



[0766] 将 Z-Asp(β -叔丁基)-Glu(β -叔丁基)-Val-OH(18mg, 0.029mmol)溶解在二氯甲烷和 DMF 混合物(0.39ml/0.13ml)中。使混合物达到 -15/-20°C,之后加入 N-甲基吗啉(8 μ l), 3min 后加入氯甲酸异丁酯(7 μ l)。将混合物在 -15°C 搅拌 10 分钟。接着,一次性加入 Asp(β -叔丁基)-甲基乙烯基砒-甲基磺酰基盐(13mg),接着加入 N-甲基吗啉(8 μ l)。将混合物在 -15/-20°C 搅拌 35 分钟,然后用 5ml 的二氯甲烷稀释并且用 1.5ml 的碳酸氢钠饱和溶液猝灭。之后,将有机层用硫酸镁干燥。将溶剂蒸发至干燥。将获得的残余物在硅胶上(乙酸乙酯/己烷:40%然后二氯甲烷/甲醇:5至15%)纯化,得到 24mg 的所需化合物。

[0767] 实施例 33:合成化合物 59(Z-Asp-Glu-Val-Asp-甲基乙烯基砒)

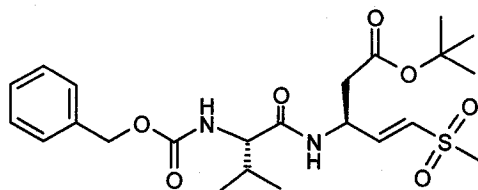
[0768]



[0769] 将 Z-Asp(β-叔丁基)-Glu(β-叔丁基)-Val-Asp(β-叔丁基)-甲基乙烯基砒 (22.7mg) 溶解在二氯甲烷 (0.55ml) 中,接着加入三氟乙酸 (0.7ml)。将混合物在室温搅拌过夜 (15h)。然后将其用二乙醚 (7ml) 猝灭并且在真空下除去溶剂。将获得的残余物再次用乙醚 (5ml) 稀释并且将该过程重复两次。将沉淀物用 2*1ml 乙醚洗涤,干燥,得到 19mg 的所需化合物。

[0770] 实施例 34:合成化合物 60 Z-Val-Asp(β-叔丁基)-甲基乙烯基砒

[0771]

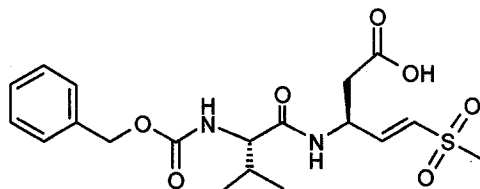


[0772] 将 Z-Val-OH(15mg, 0.059mmol) 溶解在二氯甲烷和 DMF 混合物 (0.5ml/0.2ml) 中。使混合物达到 -15/-20℃,之后加入 N-甲基吗啉 (10 μl),接着加入氯甲酸异丁酯 (9 μl)。将混合物在 -15℃搅拌 10 分钟。接着,一次性加入 Asp(β-叔丁基)-甲基乙烯基砒甲苯磺酰基盐 (25mg, 1eq),接着加入 N-甲基吗啉 (10 μl)。将混合物在 -15/-20℃搅拌 35 分钟,然后用 5ml 的二氯甲烷稀释并且用 1.5ml 的碳酸氢钠饱和溶液猝灭。之后,将有机层用硫酸镁干燥。将溶剂蒸发至干燥。将获得的残余物在硅胶上(梯度:甲醇/二氯甲烷:0 至 15%)纯化,得到 24mg 的 Z-Val-Asp-甲基乙烯基砒。

[0773] NMR ¹H(CD₃OD, 400MHz) δ :7.38-7.29 (m, 5H) ;6.82 (m, 1H) ;6.69 (m, 1H) ;5.10 (m, 2H) ;4.96 (m, 1H) ;3.91 (m, 1H) ;2.94 (s, 3H) ;2.8-2.6 (m, 2H) ;2.1-2.0 (m, 1H) ;1.43 (s, 9H) ;0.95 (t, 6H, J = 6.7Hz)。

[0774] 实施例 35:合成化合物 61 (Z-Val-Asp-甲基乙烯基砒)

[0775]



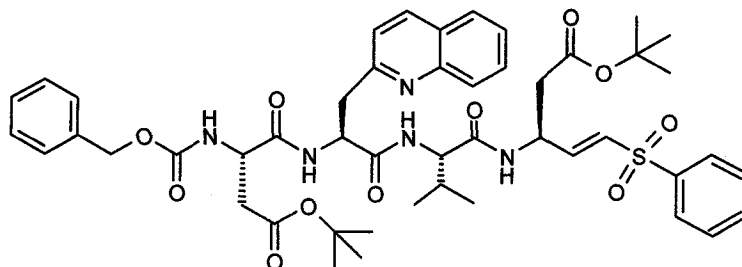
[0776] 将 Z-Val-Asp(β-叔丁基)-甲基乙烯基砒 (25mg) 溶解在二氯甲烷 (0.6ml) 中,接着加入三氟乙酸 (0.45ml)。将混合物在室温搅拌过夜 (15h)。然后将其用二乙醚 (7ml) 猝灭,在真空下除去溶剂。将获得的残余物再次用乙醚稀释并且将该过程重复两次。将沉淀物用 2*1ml 乙醚洗涤,干燥,得到 22mg 的所需化合物。

[0777] NMR ¹H(CD₃OD, 400MHz) δ :7.38-7.27 (m, 5H) ;6.86 (m, 1H) ;6.68 (m, 1H) ;5.11 (m,

2H) ;5.03 (m, 1H) ;3.92 (m, 1H) ;2.94 (s, 3H) ;2.88-2.59 (m, 2H) ;2.09-2.01 (m, 1H) ;0.95 (t, 6H, $J = 6.49\text{Hz}$)。

[0778] 实施例 36 :合成化合物 62 (Z-Asp(β -叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β -叔丁基) 苯基乙烯基砒)

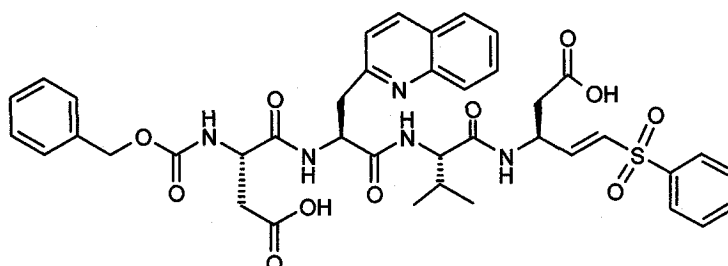
[0779]



[0780] 将 Z-Asp(β -叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-OH(19mg, 0.0306mmol) 溶解在二氯甲烷和 DMF 混合物 (0.39ml/0.13ml) 中。使混合物达到 $-15/-20^{\circ}\text{C}$, 之后加入 N-甲基吗啉 ($8\mu\text{l}$), 接着加入氯甲酸异丁酯 ($7\mu\text{l}$)。将混合物在 -15°C 搅拌 10 分钟。接着, 一次性加入 Asp(β -叔丁基) 苯基乙烯基砒甲苯磺酰基盐 (11mg), 接着加入 N-甲基吗啉 ($8\mu\text{l}$)。将混合物在 $-15/-20^{\circ}\text{C}$ 搅拌 35 分钟, 然后用 5ml 的二氯甲烷稀释并且用 1.5ml 的碳酸氢钠饱和溶液猝灭。之后, 将有机层用硫酸镁干燥。将溶剂蒸发至干燥。将获得的残余物在硅胶上 (梯度: 乙酸乙酯/己烷: 5 至 100%) 纯化, 得到 13.7mg 的所需化合物。

[0781] 实施例 37 :合成化合物 63 (Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp 苯基乙烯基砒)

[0782]



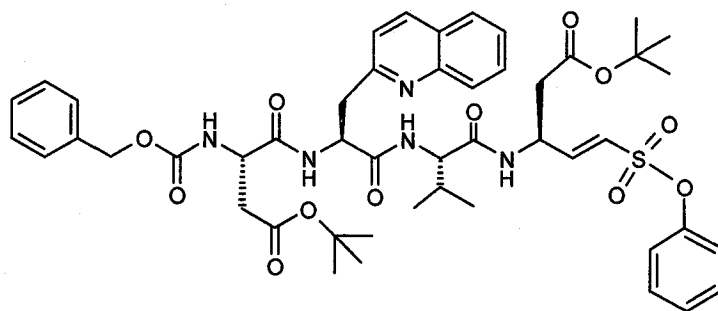
[0783] 将 Z-Asp(β -叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β -叔丁基)-苯基乙烯基砒 (13.7mg) 溶解在二氯甲烷 (0.3ml) 中, 接着加入三氟乙酸 (0.4ml)。将混合物在室温搅拌过夜 (15h)。然后将其用二乙醚 (5ml) 猝灭, 在真空下除去溶剂。将获得的残余物再次用乙醚稀释并且将该过程重复两次。将沉淀物用 $2\times 1\text{ml}$ 乙醚洗涤, 干燥, 得到 10mg 的所需化合物。

[0784] NMR ^1H (CD_3OD , 400MHz) δ :8.58 (m, 1H) ;8.11 (d, 1H, $J = 8.75\text{Hz}$) ;8.04 (d, 1H, $J = 7.99\text{Hz}$) ;7.85 (d, 3H, $J = 7.25\text{Hz}$) ;7.72-7.6 (m, 3H) ;7.56 (t, 2H, $J = 7.83\text{Hz}$) ;7.31-7.28 (m, 5H) ;6.93 (dd, 1H, $J = 15.24\text{Hz}$, $J = 5.15\text{Hz}$) ;6.65 (d, 1H, $J = 14.87\text{Hz}$) ;4.97-4.80 (m, 4H) ;4.40 (m, 1H) ;4.21-4.02 (m, 1H) ;3.63-3.50 (m, 1H) ;3.47-3.44 (m, 1H) ;2.82-2.6 (m, 4H) ;2.15-1.98 (m, 1H) ;0.81 (t, 6H, $J = 6.38\text{Hz}$)。

[0785] LCMS(M-H $^{+}$) = 800.5

[0786] 实施例 38 :合成化合物 64 (Z-Asp(β -叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β -叔丁基) 苯氧基乙烯基砒)

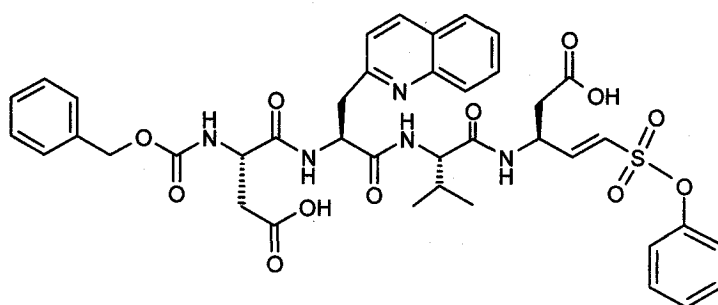
[0787]



[0788] 将 Z-Asp(β-叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-OH(10mg, 0.016mmol) 溶解在二氯甲烷和 DMF 混合物 (0.24ml/0.080ml) 中。使混合物达到 -15/-20℃, 之后加入 N-甲基吗啉 (5 μl), 3min 后加入氯甲酸异丁酯 (5 μl)。将混合物在 -15℃ 搅拌 10 分钟。接着, 一次性加入 Asp(β-叔丁基) 苯氧基乙烯基磺甲磺酰基盐 (11.3mg, 0.023mmol), 将小瓶用 DMF (0.04ml) 洗涤, 接着加入 N-甲基吗啉 (5 μl)。将混合物在 -15/-20℃ 搅拌 35 分钟, 然后用 5ml 的二氯甲烷稀释并且用 1.5ml 的碳酸氢钠饱和溶液猝灭。之后, 将有机层用硫酸镁干燥。将溶剂蒸发至干燥。将获得的残余物在硅胶上 (梯度: 乙酸乙酯/己烷: 12 至 100%) 纯化, 得到 4.7mg 的所需化合物。

[0789] 实施例 39: 合成化合物 65 (Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp 苯氧基乙烯基磺)

[0790]

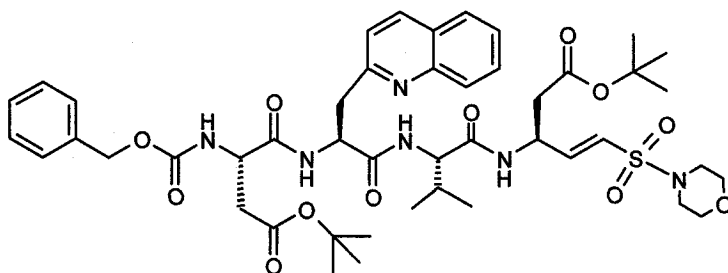


[0791] 将 Z-Asp(β-叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β-叔丁基)-苯氧基乙烯基磺 (4.7mg) 溶解在二氯甲烷 (0.15ml) 中, 接着加入三氟乙酸 (0.2ml)。将混合物在室温搅拌过夜 (15h)。然后将其用二乙醚 (5ml) 猝灭并且在真空下除去溶剂。将获得的残余物再次用乙醚 (5ml) 稀释并且将该过程重复两次。将沉淀物用 2*1ml 乙醚洗涤, 干燥, 得到 4mg 的所需化合物。

[0792] NMR ^1H (CD_3OD , 400MHz) δ : 8.25(d, 1H, $J = 7.9\text{Hz}$); 8.05(d, 1H, $J = 8.66\text{Hz}$); 7.88(d, 1H, $J = 8.25\text{Hz}$); 7.63(d, 1H, $J = 6.82\text{Hz}$); 7.53(t, 1H, $J = 7.46\text{Hz}$); 7.45-7.33(m, 3H); 7.33-7.20(m, 8H); 6.75(dd, 1H, $J = 15.33\text{Hz}$, $J = 4.33\text{Hz}$); 6.65(d, 1H, $J = 15.55\text{Hz}$); 5.1-4.8(m, 4H); 4.49(t, 1H, $J = 6.17\text{Hz}$); 4.06(d, 1H, $J = 6.45\text{Hz}$); 3.6-3.4(m, 2H); 2.9(dd, 1H, $J = 17.02\text{Hz}$, $J = 5.39\text{Hz}$); 2.73(dd, 1H, $J = 16.57\text{Hz}$, $J = 6.53\text{Hz}$); 2.59(d, 2H, $J = 6.97\text{Hz}$); 2.08(m, 1H); 0.75(m, 6H)。

[0793] 实施例 40: 合成化合物 66 (Z-Asp(β-叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β-叔丁基) 吗啉乙烯基磺)

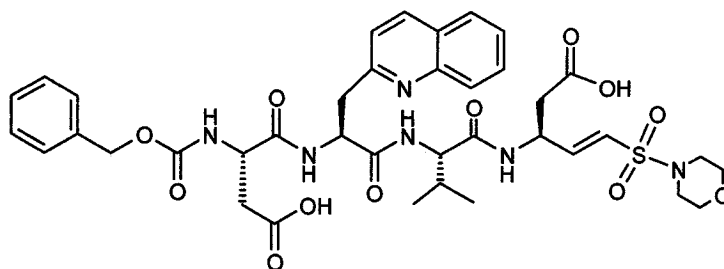
[0794]



[0795] 将 Z-Asp(β-叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-OH(13mg, 0.0209mmol) 溶解在二氯甲烷和 DMF 混合物 (0.28/0.094ml) 中。使混合物达到 -15/-20℃, 之后加入 N-甲基吗啉 (6 μl), 接着加入氯甲酸异丁酯 (5 μl)。将混合物在 -15℃ 搅拌 10 分钟。接着, 一次性加入 Asp(β-叔丁基) 吗啉乙烯基磺甲磺酰基盐 (10.2mg, 1eq), 接着加入 N-甲基吗啉 (6 μl)。将混合物在 -15/-20℃ 搅拌 35 分钟, 然后用 5ml 的二氯甲烷稀释并且用 1.5ml 的碳酸氢钠饱和溶液猝灭。之后, 将有机层用碳酸氢钠洗涤并且用硫酸镁干燥。将溶剂蒸发至干燥。将获得的残余物在硅胶上 (梯度: 乙酸乙酯/己烷: 12 至 100%) 纯化, 得到 10mg 的所需化合物。

[0796] 实施例 41: 合成化合物 67 (Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp 吗啉乙烯基磺)

[0797]



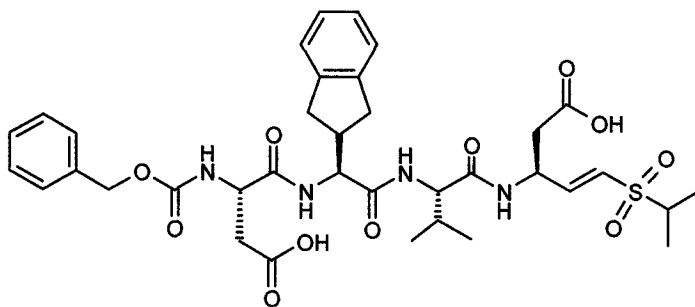
[0798] 将 Z-Asp(β-叔丁基)-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp(β-叔丁基)-吗啉乙烯基磺 (4.7mg) 溶解在二氯甲烷 (0.15ml) 中, 接着加入三氟乙酸 (0.2ml)。将混合物在室温搅拌过夜 (15h)。然后将其用二乙醚 (5ml) 猝灭并且在真空下除去溶剂。将获得的残余物再次用乙醚稀释并且将该过程重复两次。将沉淀物用 2*1ml 乙醚洗涤, 干燥, 得到 4mg 的所需化合物。

[0799] NMR ^1H (CD_3OD , 400MHz) δ : 8.39(s, 1H); 8.08(d, 1H, $J = 8.56\text{Hz}$); 7.94(d, 1H, $J = 8.29\text{Hz}$); 7.74(m, 1H); 7.66-7.55(m, 2H); 7.31-7.29(m, 5H); 6.69(dd, 1H, $J = 14.98\text{Hz}$, $J = 4.59\text{Hz}$); 6.41(d, 1H, $J = 14.86\text{Hz}$); 5.0-4.7(m, 4H); 4.45(m, 1H); 4.05(d, 1H, $J = 6.65\text{Hz}$); 3.70-3.64(m, 4H); 3.55-3.44(m, 2H); 3.16-3.08(m, 4H); 2.89-2.70(m, 4H); 2.17-2.07(m, 1H); 0.85-0.81(m, 6H)。

[0800] LCMS(M-H⁺) = 809.6

[0801] 实施例 42: 合成化合物 68 (Z-Asp-茚满基甘氨酸-Val-Asp 异丙基乙烯基磺)

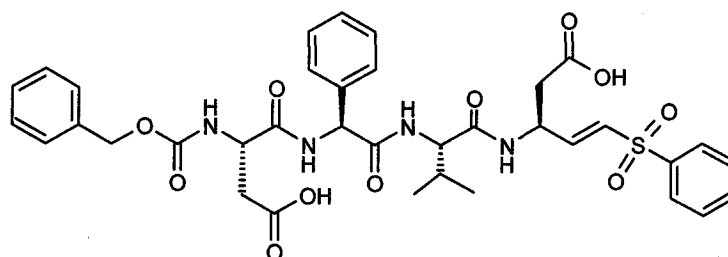
[0802]



[0803] 从 Asp(β-叔丁基)异丙基乙烯基砒甲苯磺酰基盐 (43) 和 Cbz-Asp(O-tBu) 茚满基甘氨酸-Val-OH(12), 通过如用于 Z-Asp-茚满基甘氨酸-Val-Asp 甲基乙烯基砒 (57) 的酸酐混合物方法, 合成该化合物。

[0804] 实施例 43 : 合成化合物 69 (Z-Asp-Phg-Val-Asp-苯基乙烯基砒)

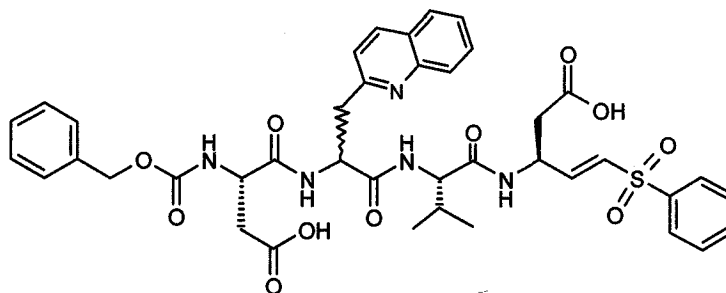
[0805]



[0806] 从 Z-Asp(β-叔丁基)-Phg-Val-OH(16) 和 Asp(OtBu)-乙烯基苯基砒甲苯磺酰基盐 (37), 通过如用于 Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp 苯基乙烯基砒 (63) 的酸酐混合物方法, 合成该化合物。

[0807] 实施例 44 : 合成化合物 70 (Z-Asp-(D, L Ala(2'-喹啉基)))-Val-Asp 苯基乙烯基砒)

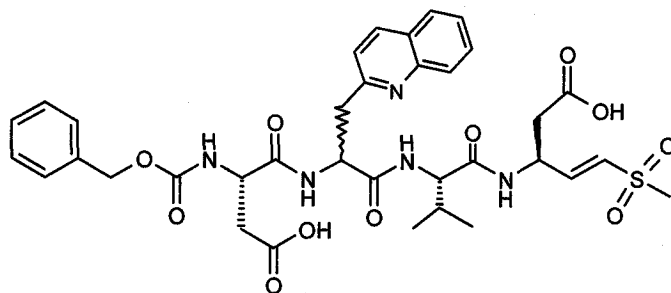
[0808]



[0809] 如相应的 Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp 苯基乙烯基砒 (63) 合成该化合物。

[0810] 实施例 45 : 合成化合物 71 (Z-Asp-(D, L Ala(2'-喹啉基)))-Val-Asp 甲基乙烯基砒)

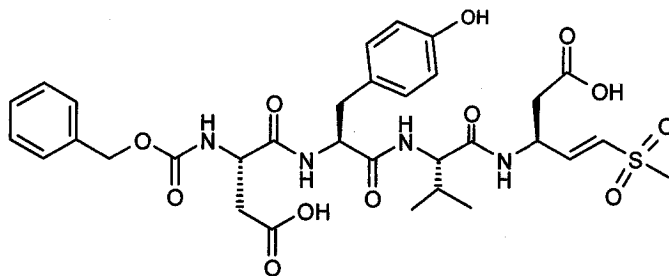
[0811]



[0812] 如相应的 Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp 甲基乙烯基砒 (55) 合成该化合物。

[0813] 实施例 46 :合成化合物 76 (Z-Asp-Tyr-Val-Asp 甲基乙烯基砒)

[0814]

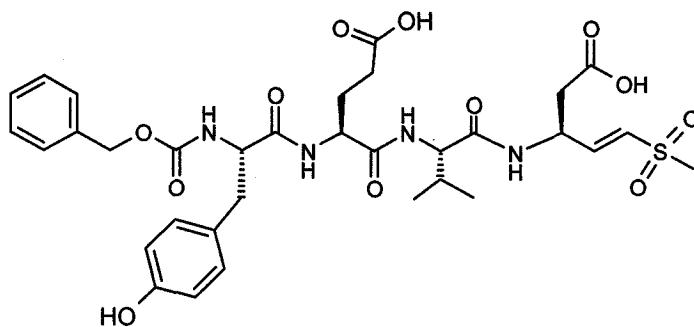


[0815] 从 Z-Asp-Tyr(OtBu)-Val-OH(75) 和 Asp(OtBu)-乙烯基甲基砒甲苯磺酰基盐 (33), 通过如用于 Z-Asp-Phg-Val-Asp 甲基乙烯基砒 (53) 的酸酐混合物方法, 合成该化合物。

[0816] 如 Cbz-Asp(O-tBu)-Glu(O-tBu)-Val-OH(20) 合成 Z-Asp-Tyr(OtBu)-Val-OH。

[0817] 实施例 47 :合成化合物 82 (Z-Tyr-Glu-Val-Asp 甲基乙烯基砒)

[0818]

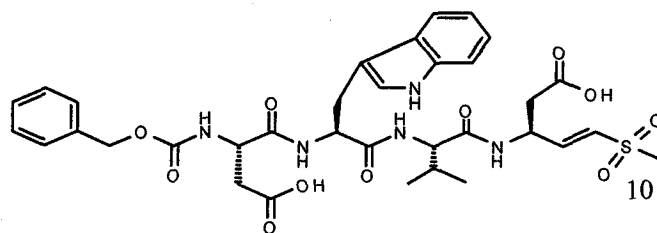


[0819] 从 Z-Tyr(OtBu)-Glu(OtBu)-Val-OH(80) 和 Asp(OtBu)-乙烯基甲基砒甲苯磺酰基盐 (33), 通过如用于 Z-Asp-Phg-Val-Asp 甲基乙烯基砒 (53) 的酸酐混合物方法, 合成该化合物。

[0820] 如 Cbz-Asp(O-tBu)-Glu(O-tBu)-Val-OH(20) 合成 Z-Tyr(OtBu)-Glu(OtBu)-Val-OH(80)。

[0821] 实施例 48 :合成化合物 88 (Z-Asp-Trp-Val-Asp 甲基乙烯基砒)

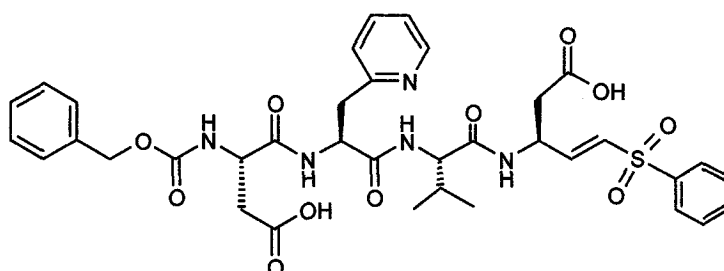
[0822]



[0823] 从 Z-Asp(OtBu)-Trp-Val-OH(86) 和 Asp(OtBu)-乙烯基甲基砜甲苯磺酰基盐(33), 通过如用于 Z-Asp-Phg-Val-Asp 甲基乙烯基砜(53) 的酸酐混合物方法, 合成该化合物。

[0824] 实施例 49 : 合成化合物 85 (Z-Asp-Ala(2'-吡啶基)-Val-Asp 甲基乙烯基砜)

[0825]



[0826] 从 Z-Asp(OtBu)-Ala(2'-吡啶基)-Val-OH(83) 和 Asp(OtBu)-乙烯基苯基砜甲苯磺酰基盐(37), 通过如用于 Z-Asp-Ala(2'-喹啉基)-Val-Asp 苯基乙烯基砜(63) 的酸酐混合物方法, 合成该化合物。

[0827] 实施例 50 : 相对于胰天蛋白酶 -1, 胰天蛋白酶 -5, 胰天蛋白酶 -7 和胰天蛋白酶 -9, 示例性化合物对于胰天蛋白酶 -3 的选择性

[0828] 使用胰天蛋白酶 -1, -3, -5, -7, -9 抑制剂药物筛选试剂盒™(目录#分别为: K151-100, K153-100, K155-100, K157-100, K159-100, BioVision™), 通过荧光法评价化合物 55, 化合物 63, 化合物 48, 化合物 57, 化合物 88 对胰天蛋白酶 -1(促炎组), 胰天蛋白酶 -5(组 I), 胰天蛋白酶 -9(组 II) 和胰天蛋白酶 -3 和胰天蛋白酶 -7(组 III) 的选择性。简言之, 采用制造商的用法说明, 将宽范围的不同浓度的化合物: 3333, 1000, 333, 100, 33, 10, 3 和 1nM(最终浓度) 直接加入到含有底物和酶的反应混合物中, 最终体积为 10 μl。在 37℃ 温育 30- 分钟后, 使用 Flexstation3™(Molecular Devices), 用 400nm 的激发波长和 505nm 的发射波长, 以终点分析法测量 AFC 的释放。对胰天蛋白酶 -1, -3, -5, -7, -9 活性的抑制水平是通过比较采用化合物的样品或不采用化合物的样品中的相对荧光强度而确定的。结果总结在下面的表 2 中。

[0829] 如表 2 中所示, 化合物 55 对胰天蛋白酶 -3 和 -7 活性都显示出抑制效果。然而, 基于计算的 IC₅₀ 值, 其对胰天蛋白酶 -3 的选择性超过胰天蛋白酶 -7 约 200 倍(见表 2)。在测试的剂量范围内没有观察到该化合物对胰天蛋白酶 -1, -5 和 -9 的明显抑制活性。实现了对胰天蛋白酶 -1, -5 和 -9 的抑制(分别 25%, 21% 和 57%), 但是在极高的浓度(约 10,000nM)。

[0830] 类似于化合物 55, 化合物 63 也在胰天蛋白酶 -3 活性抑制方面显示出相对于胰天蛋白酶 -1, -5, -7 和 -9 的高选择性。化合物 63 也对胰天蛋白酶 -3 和 -7 显示抑制效果, 对胰天蛋白酶 -3 的选择性超过胰天蛋白酶 -7 约 50 倍。在化合物 63 的测试剂量范围没有观

察到对胱天蛋白酶-1, -5 和 -9 的明显抑制活性。数据显示, 化合物 55 和化合物 63 对于胱天蛋白酶-3 活性抑制是高效的和选择性的化合物。

[0831] 化合物 48 能够抑制特定的胱天蛋白酶组。该化合物能够以约 8-30nM, 0.4-0.9 μ M 和 1-1.8 μ M 的 IC₅₀ 值分别抑制胱天蛋白酶-3, -7 和 -9。因此, 化合物 48 以高效力显示组 III 胱天蛋白酶 (胱天蛋白酶-3 和 -7) 的抑制, 并且以更低的但还明显的效力抑制组 II 胱天蛋白酶 (胱天蛋白酶-9)。

[0832] 从化合物 57 对胱天蛋白酶-1, -3, -5, -7 和 -9 活性的抑制曲线可以理解, 化合物 57 是组 III 胱天蛋白酶 (胱天蛋白酶-3 和 -7) 的有效抑制剂。化合物 57 以约 30-90nM 的 IC₅₀ 值和约 180-300nM 的 IC₅₀ 值分别抑制胱天蛋白酶-3 和 -7 活性。因此, 数据显示化合物 48 和化合物 57 不是胱天蛋白酶-3 活性的特异性抑制剂, 而实际上是靶向特定胱天蛋白酶组的抑制剂。

[0833] 化合物 88 对胱天蛋白酶-1 和胱天蛋白酶-3 活性具有双重抑制效果。其是胱天蛋白酶-3 活性的有效抑制剂, IC₅₀ 值为约 30-90nM。其还抑制胱天蛋白酶-1 活性, IC₅₀ 值为约 0.6-1.2 μ M。

[0834] 实施例 51: 胱天蛋白酶-3 抑制剂的体外抑制活性

[0835] 为了测试胱天蛋白酶-3 抑制剂在细胞水平的效力, 在活海拉 (HeLa) 细胞中评价所选择的化合物抑制 PARP (聚 ADP-核糖聚合酶) 的蛋白酶剪切的能力。

[0836] 简言之, 在该试验中, 将海拉细胞接种在 96 孔板上, 并且与单独的星形孢菌素 (一种充分表征的凋亡诱导剂) 或者与星形孢菌素和不同浓度的化合物 (50, 25, 10 和 3 μ M) 一起温育 4 小时。在甲醛-基的固定后, 将细胞用荧光素标记的抗剪切的 PARP 抗体 (Cell signaling, 目录 #: 9547) 染色并且用 Hoechst33342 (Invitrogen, 目录 #: H3570) 复染色以标记所有核。在 Cellomics™ 显微镜系统 (Thermo Scientific, Pittsburgh, USA) 上拍摄荧光图像, 其中 Hoechst 染色剂在蓝色信道并且剪切的 PARP 抗体染色剂在绿色信道。剪切的 PARP 阳性细胞的百分比是通过计算具有染色超过某一阈值的剪切的 PARP 抗体的核与所有 (Hoechst 阳性) 核之间的比例而确定的。胱天蛋白酶-3 抑制效力是通过计算在星形孢菌素与化合物一起温育后的和在没有化合物的情况下星形孢菌素温育后的剪切的 PARP 阳性细胞之间的比例而确定的。结果总结在表 2 中。

[0837] 如表 2 中所示, 该试验的结果显示, 在酶试验中以低于 100nM 的 IC₅₀ 抑制胱天蛋白酶-3 活性的化合物通常在体外抑制 PARP 剪切中也有效, 尽管在此试验中对化合物活性/功效有贡献的主要因素是化合物的细胞膜透性系数 (透性系数越高, 在达到细胞内部的介质中化合物的量越大)。在化合物分子组成中的某些改性进一步改善了抑制活性; 例如, 化合物 51、化合物 53、化合物 57 和化合物 76 将星形孢菌素处理后的 PARP 阳性细胞的百分比降低超过 50%, 其中化合物 51 和化合物 57 是最有效的化合物, 达到约 65% 的抑制值, 化合物 53 相对于 DEVD-fmk (阳性对照化合物, 其具有低的胱天蛋白酶-3 选择性, 但是在普通胱天蛋白酶抑制活性的情况下具有高度的细胞膜透过性) 也是高度有效的, 并且化合物 48, 55 和 59 也特别相对于 DEVD-fmk 显示出功效。这些结果表明, 在初步酶试验筛选中识别的抑制性化合物在细胞环境中保留了它们的活性, 并且分子改性允许进一步改善它们作为胱天蛋白酶-3 抑制剂的活性。

[0838]

表 2: 胰天蛋白酶抑制剂的活性试验。给出的值是从试验获得的平均值的近似值。

化合物		胰天蛋白酶活性, IC50 (uM)					在50uM化合物的抑制%	在50uM DEVDFMK (阳性对照)的PARP剪切的抑制%	化合物相对于DEVDFMK的抑制%	IC50 (uM) Glo3 /7
编号	名称	胰天蛋白酶 1	胰天蛋白酶 3	胰天蛋白酶 5	胰天蛋白酶 7	胰天蛋白酶 9				
48	Z-Asp-Ala(2'-噻唑基)-Val-Asp α氯乙酯基甲	>3.33	0.01	>3.33	0.4	1.2	45	70	65	0.1
50	甲基磺酰基-Ala(2'-噻唑基)-Val-Asp α氯乙酯基甲	>3.33	>3.33							
36	Boc-Asp(O-tBu)VS苯基		>2							
37	Asp(O-tBu)VS苯基盐		>2							
16	Z-Asp(O-tBu)-Phg-Val-OH		>2							
51	Z-Asp(O-甲基)-β-酮基甘氨酸-Val-Asp(O-甲基)VS甲基	>3.0	1	>3.0	>3.0	>3.0	65	80	80	
53	Z-Asp-Phg-Val-AspVS甲基	2	0.06	>10	0.8	>10	55	70	80	0.1
93	AspVS甲基盐		>10							
33	Asp(O-tBu)VS甲基盐		>10							
71	Z-Asp-d,l Ala(2'-噻唑基)-Val-AspVS甲基	>10	0.1	>10	8.9	>10				
55	Z-Asp-Ala(2'-噻唑基)-Val-AspVS甲基	>10	0.01	>10	1.4	>3.33	40	65	60	0.1
65	Z-Asp-Ala(2'-噻唑基)-Val-AspVS苯氧基	1.2	0.01	>3.33	0.4	0.3	30	75	40	0.2
70	Z-Asp-d,l Ala(2'-噻唑基)-Val-AspVS苯基		0.3	>10	>10	>10				
63	Z-Asp-Ala(2'-噻唑基)-Val-AspVS苯基	>3.33	0.04	>3.33	1.8	>3.33	10	70	15	0.9
66	Z-Asp-Ala(2'-噻唑基)-Val-AspVS吗啉		0.2				25			
85	Z-Asp-Ala(2'-吡啶基)-Val-AspVS苯基	>3.33	0.03	>3.33	1.0	>3.33	40			
69	Z-Asp-Phg-Val-AspVS苯基		0.1							
76	Z-Asp-Tyr-Val-AspVS甲基	>3.33	0.03	>3.33	0.7	>3.33	55	90	60	0.04
57	Z-Asp-β-酮基甘氨酸-Val-AspVS甲基	0.9	0.03	>3.33	0.2	>3.33	65	90	70	0.1
88	Z-Asp-Trp-Val-AspVS甲基	0.7	0.04	>3.33	1.1	>3.33	45	90	50	
59	Z-Asp-Glu-Val-AspVS甲基	1.4	0.02	>3.33	0.04	0.5	45	65	70	

[0839]

61	Z-Val-AspVS甲基	>3.33	>3.33	>3.33	>3.33	>3.33	>3.33	5	70	5	
68	Z-Asp-苄基甘氨酸-Val-AspVS异丙基	>3.33	0.2	>3.33	1.5	>3.33	>3.33	30	60	50	
96	Z-Tyr-Val-Ala-AspVS苯基	1.3	>10	>3.33	>10	>10	>10				
82	Z-Tyr-Glu-Val-AspVS甲基	0.5	0.3	>3	>5	1.6	0.5	85 (20 uM IC50)			
	DEVD-fmk (阳性对照化合物)	0.4	0.6	>3.33	1	0.5					

[0840] 从上述应理解, 尽管本文中为了说明目的已经描述了本发明的具体实施方案, 但是可以在不偏离本发明精神和范围的情况下进行各种修改。因此, 本发明除了后附权利要求外不受限制。