[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 01821081.3

[51] Int. Cl.
C07D 233/90 (2006.01)
C07D 235/24 (2006.01)
C07D 473/00 (2006.01)
C07D 471/04 (2006.01)
C07K 5/02 (2006.01)
A61K 31/4164 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 2 月 7 日

[11] 授权公告号 CN 1298707C

[51] Int. Cl. (续)
A61P 29/00 (2006.01)
[22] 申请日 2001.11.19 [21] 申请号 01821081.3
[30] 优先权
[32] 2000.11.21 [33] US [31] 60/252,252
[86] 国际申请 PCT/US2001/047688 2001.11.19
[87] 国际公布 WO2002/042278 英 2002.5.30
[85] 进入国家阶段日期 2003.6.20
[73] 专利权人 沃泰克斯药物股份有限公司
地址 美国马萨诸塞
[72] 发明人 D·凯 J·戈雷克
[56] 参考文献
WO9811129A1 1998.3.19
US5716929A 1998.2.10
审查员 王勤耕

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所
代理人 唐晓峰

权利要求书 4 页 说明书 26 页

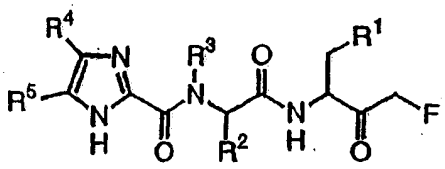
[54] 发明名称

咪唑和苯并咪唑天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂及其用途

[57] 摘要

本发明提供了式 I 天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂：其中，R^1 是 CO_2H、CH_2CO_2H 或其酯、酰胺或等排物；R^2 和 R^3 各自独立地选自氢或任选被取代的 C_1-C_6 脂族基；R^4 和 R^5 各自独立地选自氢、任选被取代的 C_1-C_6 脂族基，或者 R^4 和 R^5 与它们连接的环一起形成任选被取代的双环。 该天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂用于治疗多种疾病，例如，癌、急性炎、自身免疫疾病、局部缺血 疾病和某些神经变性疾病。

1. 式 I 化合物:



I

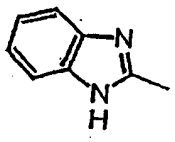
其中:

R^1是 CO_2H、CH_2CO_2H 或其酯或酰胺;

R^2是氢或 C_1-C_6脂族基;

R^3是氢或 C_1-C_6脂族基; 和

R^4和 R^5各自独立地选自氢、C_1-C_6脂族基,或者 R^4和 R^5与它们连接的环一起形成双环,所述双环为



(a)

2. 权利要求 1 的化合物,其中,R^2是 C_1-C_6 直链或支链烷基。

3. 权利要求 1 的化合物,具有下述一个或多个特征:

(a) R^1是 CO_2H 或其酯或酰胺;

(b) R^2是 C_1-C_6直链或支链烷基;

(c) R^3是氢; 和

(d) R^4和 R^5各自是氢,或者 R^4和 R^5与它们连接的环一起形成苯并咪唑环。

4. 权利要求 3 的化合物,具有下述特征:

(a) R^1是 CO_2H 或其酯或酰胺;

(b) R^2是 C_1-C_6直链或支链烷基;

(c) R^3是氢；和

(d) R^4和 R^5各自是氢，或者 R^4和 R^5与它们连接的环一起形成苯并咪唑环。

5. 选自下述的化合物或其加成盐：

[3S/R,(2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰基氨基}-4-氧代-戊酸；

[3S/R,(2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰基氨基}-4-氧代-戊酸叔丁酯；

[3S/R,(2S)]-3-{2-[(1H-苯并咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰基氨基}-5-氟-4-氧代-戊酸；

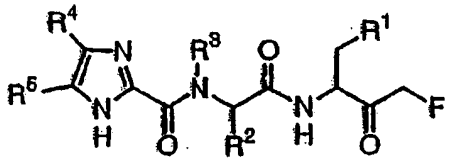
[3S/R,(2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丁酰基氨基}-4-氧代-戊酸；

[3S/R,(2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-3-甲基丁酰基氨基}-4-氧代-戊酸；

[3S/R,(2S)]-3-{2-[(1H-苯并咪唑-2-羰基)-氨基]-3-甲基丁酰基氨基}-5-氟-4-氧代-戊酸。

6. 一种药物组合物，含有权利要求 1－5 中任一权利要求的化合物和可药用载体。

7. 式 I 化合物在制备用于治疗天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶相关疾病的药物中的用途，



I

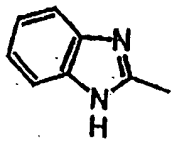
其中：

R^1是 CO_2H、CH_2CO_2H 或其酯或酰胺；

R^2是氢或 C_1-C_6脂族基；

R^3是氢或C_1-C_6脂族基；和

R^4和R^5各自独立地选自氢、C_1-C_6脂族基，或者R^4和R^5与它们连接的环一起形成双环，所述双环选自：



(a)

。

8. 权利要求7的用途，其中，R^2是C_1-C_6直链或支链烷基。

9. 权利要求7的用途，其中式I化合物具有下述一个或多个特征：

(a) R^1是CO_2H或其酯或酰胺；

(b) R^2是C_1-C_6直链或支链烷基；

(c) R^3是氢；和

(d) R^4和R^5各自是氢，或者R^4和R^5与它们连接的环一起形成苯并咪唑环。

10. 权利要求9的用途，具有下述特征：

(a) R^1是CO_2H或其酯或酰胺；

(b) R^2是C_1-C_6直链或支链烷基；

(c) R^3是氢；和

(d) R^4和R^5各自是氢，或者R^4和R^5与它们连接的环一起形成苯并咪唑环。

11. 权利要求7的用途，其中式I化合物选自下述的化合物：

[3S/R,(2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰基氨基}-4-氧代-戊酸；

[3S/R,(2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰基氨基}-4-氧代-戊酸叔丁酯;

[3S/R,(2S)]-3-{2-[(1H-苯并咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰基氨基}-5-氟-4-氧代-戊酸;

[3S/R,(2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丁酰基氨基}-4-氧代-戊酸;

[3S/R,(2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-3-甲基丁酰基氨基}-4-氧代-戊酸;

[3S/R,(2S)]-3-{2-[(1H-苯并咪唑-2-羰基)-氨基]-3-甲基丁酰基氨基}-5-氟-4-氧代-戊酸。

12. 权利要求 7-11 中任一项的用途，其中疾病选自：IL-1 介导的疾病、编程性细胞凋亡介导的疾病或炎性疾病。

咪唑和苯并咪唑天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂及其用途

相关申请的相互参考

本申请要求 2000 年 11 月 21 日提交的美国临时专利申请 60/252,252 的优先权。

发明领域

本发明属于药物化学领域，并涉及能抑制介导编程性细胞凋亡和炎症的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶的新化合物和其药物组合物。本发明还涉及使用本发明化合物和药物组合物治疗天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶活性相关疾病的方法。

发明背景

编程性细胞凋亡或细胞程序死亡是生物体消除不需要细胞的重要历程。编程性细胞凋亡的解控（过度编程性细胞凋亡或编程性细胞凋亡衰退）与例如癌、急性炎和自身免疫疾病、局部缺血疾病和一些神经变性疾病的诸多疾病有关(参见 Science, 1998, 281, 1283-1312; Ellis 等人, Ann. Rev. Cell. Biol., 1991, 7, 663)。

天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶是一组半胱氨酸蛋白酶家族，并是编程性细胞凋亡和细胞解体的信号通路中的关键介导者(Thornberry, Chem. Biol., 1998, 5, R97-R103)。这些信号通路随细胞类型和刺激而改变，但所有编程性细胞凋亡通路似乎都会聚于导致关键蛋白质蛋白水解的共同效应通路。天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶存在于信号通路的效应期和其启动的上游。参与启动事件的上游天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶被激活，并依次激活其它参与编程性细胞凋亡后期的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶。

天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1，最先被识别的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶，也称为白介素转化酶或“ICE.”。通过在 Asp-116 和 Ala-117 之间特异切割 pIL-1β，天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白

酶-1 将前体白介素-1β(“pIL-1β”)转化为促炎活性形式。除天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 之外，还存在其它 11 种已知的人类天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶，所有天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶均在天冬氨酸残基上特异切割。还观察到，天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶严格要求在切割位点的 N-端侧有至少 4 个氨基酸残基。

根据优先或主要被识别的氨基酸序列，已将天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶分成三族。已表明，包括天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1、4 和 5 的一族天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶在切割位点 N-端侧的 4 位点上提供疏水芳香氨基酸。包括天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 2、3 和 7 的另一族天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶在切割位点 N-端侧的 1 和 4 位点上识别天冬氨酸残基，优选识别 Asp-Glu-X-Asp 序列。包括天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 6、8、9 和 10 的第三族天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶在主要识别序列中存在许多氨基酸，但似乎优选在 4 位点上存在带有诸如缬氨酸和亮氨酸的支链脂族侧链的残基。

还可以根据天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶的公认功能进行分族。第一亚族由天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1(ICE)、4 和 5 组成。现已表明，这些天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶参与加工促炎细胞因子，因此，在炎症中起着重要作用。天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 是这类天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶中被研究最多的一种酶，并通过蛋白水解切割来活化 IL-1β 前体。因此，该酶在炎症反应中起关键作用。天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 还参与加工干扰素-γ诱导因子(IGIF 或 IL-18)，干扰素-γ诱导因子刺激产生干扰素-γ(一种调节抗原呈递、T-细胞活化和细胞粘着的关键免疫调节剂)。

其余的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶构成第二或第三亚族。这些酶在导致编程性细胞凋亡的细胞内信号通路中起核心作用。其中一个亚族由参与编程性细胞凋亡通路中启动事件的酶组成，所述启动事件包括转导来自质膜的信号。该亚族成员包括天冬氨酸特异性半胱氨

酸蛋白酶-2、8、9 和 10。另一个亚族由效应天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3、6 和 7 组成，参与最后的通过编程性细胞凋亡导致系统崩溃和细胞死亡的下游切割事件。参与上游信号转导的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶激活下游天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶，被激活的下游天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶使 DNA 修复机制失效、DNA 片段化、细胞骨架解体并最终使细胞成为碎片。

有关被天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶主要识别的四种氨基酸序列的认识已被用于设计天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂。现已制得具有 CH_3CO-[P4]-[P3]-[P2]-CH(R)CH_2CO_2H 结构的可逆四肽抑制剂，其中，P2－P4 表示最优氨基酸识别序列，R 是能与天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶半胱氨酸巯基结合的醛、腈或酮(Rano 和 Thornberry, Chem. Biol. 4, 149-155 (1997)；Mjalli 等人，Bioorg. Med. Chem. Lett. 3, 2689-2692 (1993)；Nicholson 等人，Nature 376, 37-43 (1995))。现已制得基于类似四肽识别序列的不可逆抑制剂，其中 R 是酰氧基甲基酮-$COCH_2OCOR'$。R'的实例是任选被取代的苯基，例如，2,6-二氯苯甲酰氧基，和其中 R 是 $COCH_2X$，其中 X 是诸如 F 或 Cl 的离去基团(Thornberry 等人，Biochemistry 33, 3934 (1994)；Dolle 等人，J Med. Chem. 37, 563-564 (1994))。

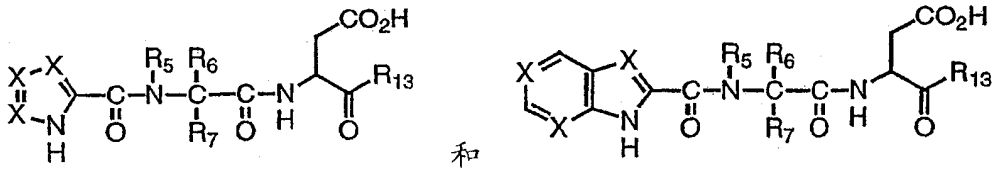
通过使用肽天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂，证明了，天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂可用于治疗各种与细胞内编程性细胞凋亡增加有关的哺乳动物疾病。例如，在啮齿动物模型中，已证实，天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂可减小心肌梗死导致的梗塞体积并抑制心肌细胞编程性细胞凋亡，减少中风导致的损害容积和神经缺损，减少创伤性脑损伤中的创伤后编程性细胞凋亡和神经缺损并可有效治疗暴发性肝破坏和提高内毒素休克后存活率(Yaoita 等人，Circulation, 97, 276 (1998)；Endres 等人，J Cerebral Blood Flow 和 Metabolism, 18, 238, (1998)；Cheng 等人，J. Clin. Invest., 101, 1992 (1998)；Yakovlev 等人，J

Neuroscience, 17, 7415 (1997); Rodriquez 等人, J. Exp. Med., 184, 2067 (1996); Grobmyer 等人, Mol. Med., 5, 585 (1999))。

一般，上述肽抑制剂是某些天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶的高效抑制剂。然而，在编程性细胞凋亡的细胞模型内，未必总能反映出该效能。此外，肽抑制剂通常具有不良药理学特性，例如，口服吸收性差、不稳定且代谢快(Plattner 和 Norbeck, Drug Discovery Technologies, Clark 和 Moos 编辑(Ellis Horwood, Chichester, England, 1990))。

现已认识到需要改进肽天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂的药理学性质，并公开了一些肽模拟和非天然氨基酸肽抑制剂。

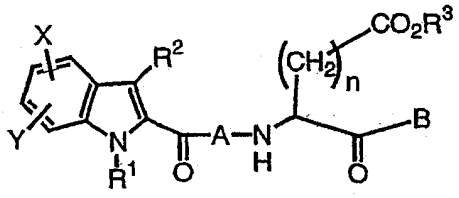
WO 95/35308 公开了尤其包括下式化合物的白介素-1β转化酶抑制剂，



和

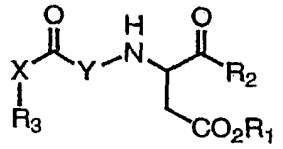
其中，X 独立地选自=N-或=CH-；R_5 包括氢；R_7 是氢；R_6 包括α-氨基酸侧链；R_{13} 包括氢、芳环或杂芳环、任选被 F 单或多取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。WO 95/35308 公开了这些化合物具有抗 ICE 活性，但并未报道这些化合物具有抗其它天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶活性。

WO 98/10778 公开了使用下式白介素-1β-转化酶(ICE)/CED-3 家族抑制剂对编程性细胞凋亡的抑制作用，



其中，n = 1 或 2；R^1、R^2 和 R^3 是各种基团；A 是天然或非天然氨基酸；B 尤其包括卤代甲基；X 和 Y 是各种取代基。

WO 00/061542 公开了下式二肽编程性细胞凋亡抑制剂，

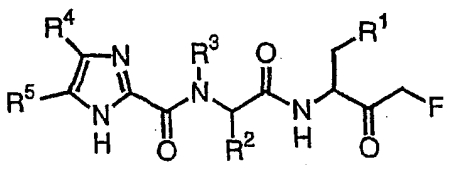


其中，R_1是任选被取代的烷基或氢；R_2是氢或任选被取代的烷基；Y 是天然或非天然氨基酸残基；R_3是烷基、饱和碳环、部分饱和碳环、芳基、饱和杂环、部分饱和杂环或杂芳基，其中所述基团任选被取代；X 是 O、S、NR_4或$(CR_4R_5)_n$，其中，在各种情况下，R_4和R_5独立地选自氢、烷基和环烷基，n = 0、1、2 或 3；或者，X 是 NR_4，并且 R_3和 R_4与连接它们的氮原子一起形成饱和杂环、部分饱和杂环或杂芳环，其中所述基团任选被取代；或者，X 是 CR_4R_5，且 R_3和 R_4与连接它们的碳原子一起形成饱和碳环、部分饱和碳环、芳基、饱和杂环、部分饱和杂环或含氧杂芳基，其中所述基团任选被取代；前体条件是，当 X 是 O 时，R_3不是未取代的苄基或叔丁基；当 X 是 CH_2时，R_3不是 H。

虽然已公开了许多天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂，但尚不清楚它们是否具有用于治疗的合适药理学性质。因此，仍然需要小分子天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂，该抑制剂有效、稳定并能穿透膜进而能有效抑制体内编程性细胞凋亡。所述化合物在上述天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶相关疾病的治疗中非常有效。

发明概述

现已发现，本发明化合物和其药物组合物是特别有效的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂和编程性细胞凋亡抑制剂。所述化合物具有通式 I 结构：



I

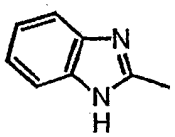
其中，

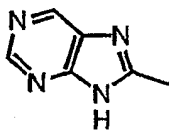
R^1是 CO_2H、CH_2CO_2H或其酯、酰胺或等排物；

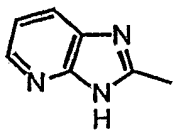
R^2是氢或任选被取代的C_1-C_6脂族基;

R^3是氢或任选被取代的C_1-C_6脂族基; 和

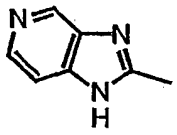
R^4和R^5各自独立地选自氢、任选被取代的C_1-C_6脂族基，或者R^4和R^5与它们连接的环一起形成任选被取代的双环，所述双环选自:


(a)


(b)


(c)

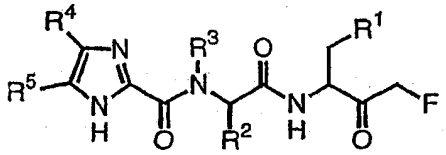
或


(d).

在编程性细胞凋亡的细胞模型中，本发明化合物对许多靶天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶具有有效抑制性能并且效能优良。另外，预期本发明化合物具有改进的细胞穿透性和药物动力学性质，进而提高了对天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶相关疾病的效力。

发明详述

本发明提供了能特别有效地用作天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂的新化合物及其可药用衍生物。本发明还提供了使用上述化合物治疗天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶介导的哺乳动物疾病的方法。所述化合物具有通式I结构:


I

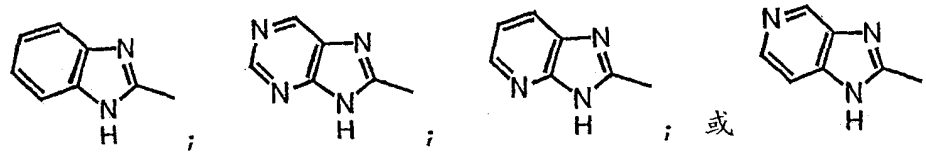
其中,

R^1是CO_2H、CH_2CO_2H或其酯、酰胺或等排物;

R^2是氢或任选被取代的C_1-C_6 脂族基;

R^3是氢或任选被取代的C_1-C_6 脂族基; 和

R^4和R^5各自独立地选自氢、任选被取代的C_1-C_6脂族基，或者R^4和R^5与它们连接的环一起形成任选被取代的双环，所述双环选自:



(a) (b) (c) (d).

本发明术语“脂族”是指直链、支链或环状 C_1-C_{12} 烃，所述烃完全饱和或含有一个或多个不饱和单元但不是芳香烃。例如，合适的脂族基包括取代或未取代的直链、支链或环状烷基、烯基、炔基及其诸如(环烷基)烷基、(环烯基)烷基或(环烷基)烯基的组合基团。本发明单独使用或作为大基团的一部分使用的术语“烷基”、“烷氧基”、“羟烷基”、“烷氧基烷基”和“烷氧基羰基”包括含有 1-12 个碳原子的直链和支链基团。本发明单独使用或作为大基团的一部分使用的术语“烯基”和“炔基”包括含有 2-12 个碳原子的直链和支链基团。本发明单独使用或作为大基团的一部分使用的术语“环烷基”包括环状 C_{3-12} 烃基，该烃基完全饱和或含有一个或多个不饱和单元但不是芳香烃基。

术语“卤代烷基”、“卤代烯基”和“卤代烷氧基”是指在可能的情况下被一个或多个卤原子取代的烷基、烯基或烷氧基。术语“卤素”是指 F、Cl、Br 或 I。

术语“杂原子”是指氮、氧或硫，且包括氮和硫的任何氧化形式和任何碱性氮的季铵形式。术语“氮”还包括杂环上可取代的氮。例如，在含有 0-3 个选自氧、硫或氮杂原子的饱和或部分饱和环上，氮可以是 N(如在 3,4-二氢-2H-吡咯基中)、NH(如在吡咯烷基中)或 NR^+(如在 N-取代的吡咯烷基中)。

本发明术语“碳环”是指具有 3-14 个环原子的脂环系。饱和或部分饱和的术语“碳环”还指任选被取代的环。术语“碳环”还包括与一个或多个芳香或非芳香环稠合的脂族环，例如，十氢萘基、四氢萘基或 2,3-二氢化茚基，其中连接基团或连接点位于脂族环上。

单独使用或作为诸如“芳烷基”、“芳烷氧基”或“芳氧基烷基”的大基团的一部分使用的术语“芳基”是指具有 5-14 个环原子

的芳环基团，例如，苯基、苄基、苯乙基、1-萘基、2-萘基、1-蒽基和2-蒽基。术语“芳基”还指任选被取代的环。术语“芳基”可与术语“芳环”互换使用。“芳基”还包括稠合多环芳环体系，其中芳环与一个或多个环稠合。其实例包括1-萘基、2-萘基、1-蒽基和2-蒽基。在本发明使用的术语“芳基”的范围内，还包括其中芳环与一个或多个非芳香环稠合的基团，例如，2,3-二氢化茚基、菲啶基或四氢萘基，其中连接基团或连接点位于芳环上。

本发明术语“杂环”包括具有5－14个环原子，优选含有5－10个环原子的非芳香环系，其中一个或多个环碳原子，优选1－4个环碳原子分别被诸如N、O或S的杂原子代替。杂环的实例包括3-1H-苯并咪唑-2-酮、(1-取代的)-2-氧代-苯并咪唑-3-基、2-四氢呋喃基、3-四氢呋喃基、2-四氢吡喃基、3-四氢吡喃基、4-四氢吡喃基、[1,3]-二氧戊环基、[1,3]-二硫戊环基、[1,3]-二噁烷基、2-四氢噻吩基、3-四氢噻吩基、2-吗啉基、3-吗啉基、4-吗啉基、2-硫代吗啉基、3-硫代吗啉基、4-硫代吗啉基、1-吡咯烷基、2-吡咯烷基、3-吡咯烷基、1-哌嗪基、2-哌嗪基、1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基、4-哌啶基、4-噻唑烷基、二氮杂环戊二烯酮基（diazolonyl）、N-取代的二氮杂环戊二烯酮基（diazolonyl）、1-苯并[c]吡咯酮基、苯并噁烷基（benzoxanyl）、苯并吡咯烷基、苯并哌啶基、苯并氧戊环基、苯并硫戊环基和苯并噻己环基。在本发明使用的术语“杂环”的范围内，还包括是其中含杂原子的非芳香环与一个或多个芳香环或非芳香环稠合的基团，例如，二氢吲哚、苯并二氢吡喃基、菲啶基、四氢喹啉基或四氢异喹啉基，其中连接基团或连接点位于含杂原子的非芳香环上。饱和或部分饱和的术语“杂环”还指任选被取代的环。

单独使用或作为诸如“杂芳烷基”或“杂芳烷氧基”的大基团的一部分使用的本发明术语“杂芳基”是指具有5－14个环原子的杂芳环基。杂芳基环的实例包括2-呋喃基、3-呋喃基、N-咪唑基、2-咪唑基、4-咪唑基、5-咪唑基、3-吡咯基、3-异噁唑基、4-异噁唑基、5-异噁唑基、2-噁二唑基、5-噁二唑基、2-噁唑基、4-噁唑基、5-噁

唑基、1-吡咯基、2-吡咯基、3-吡咯基、1-吡唑基、3-吡唑基、4-吡唑基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-嘧啶基、3-哒嗪基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、5-四唑基、2-三唑基、5-三唑基、2-噻吩基、3-噻吩基、吲唑基、苯并咪唑基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、吲哚基、喹啉基、苯并三唑基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、苯并咪唑基、异喹啉基、吲哚基、异吲哚基、吖啶基或苯并异噁唑基。在本发明使用的术语“杂芳基”的范围内，还包括其中杂芳环与一个或多个芳香环或非芳香环稠合的基团，其中连接基团或连接点位于杂芳环上。其实例包括四氢喹啉基、四氢异喹啉基和吡啶并[3,4-d]嘧啶基。术语“杂芳基”还指任选被取代的环。术语“杂芳基”可与术语“杂芳环”互换使用。

芳基(包括芳烷基、芳烷氧基和芳氧基烷基等)或杂芳基(包括杂芳烷基和杂芳基烷氧基等)可含有一个或多个取代基。在芳基、杂芳基、芳烷基或杂芳烷基的不饱和碳原子上的合适取代基的实例包括卤素、$-R^0$、$-OR^0$、$-SR^0$、1,2-亚甲基-二氧基、1,2-亚乙基二氧基、被保护的OH(例如，酰氧基)、苯基(Ph)、取代的Ph、-O(Ph)、取代的-O(Ph)、$-CH_2(Ph)$、取代的$-CH_2(Ph)$、$-CH_2CH_2(Ph)$、取代的$-CH_2CH_2(Ph)$、$-NO_2$、-CN、$-N(R^0)_2$、$-NR^0C(O)R^0$、$-NR^0C(O)N(R^0)_2$、$-NR^0CO_2R^0$、$-NR^0NR^0C(O)R^0$、$-NR^0NR^0C(O)N(R^0)_2$、$-NR^0NR^0CO_2R^0$、$-C(O)C(O)R^0$、$-C(O)CH_2C(O)R^0$、$-CO_2R^0$、$-C(O)R^0$、$-C(O)N(R^0)_2$、$-OC(O)N(R^0)_2$、$-S(O)_2R^0$、$-SO_2N(R^0)_2$、$-S(O)R^0$、$-NR^0SO_2N(R^0)_2$、$-NR^0SO_2R^0$、$-C(=S)N(R^0)_2$、$-C(=NH)-N(R^0)_2$、$-(CH_2)_yNHC(O)R^0$、$-(CH_2)_yNHC(O)CH(V-R^0)(R^0)$，其中，$R^0$是氢、取代的或未取代的脂族基、未取代的杂芳基或杂环、苯基(Ph)、取代的Ph、-O(Ph)、取代的-O(Ph)、$-CH_2(Ph)$或取代的$-CH_2(Ph)$，y=0-6，和V是连接基团。在脂族基R^0或R^0的苯环上的取代基的实例包括氨基、烷基氨基、二烷基氨基、氨基羰基、卤素、烷基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基氨基羰基氧基、二烷基氨基羰基氧基、烷氧基、硝基、氰基、羧基、烷氧基羰基、烷基羰基、羟基、卤代烷氧基或卤代烷基。

脂族基或非芳香杂环可含有一个或多个取代基。在脂族基或非芳香杂环的饱和碳上的合适取代基的实例包括上述列举的那些在芳基或杂芳基的不饱和碳原子上的取代基和下述取代基：=O、=S、=NNHR*、$=NN(R^*)_2$、=N-、$=NNHC(O)R^*$、$=NNHCO_2$(烷基)、$=NNHSO_2$(烷基)或$=NR^*$，其中，R*各自独立地选自氢、未取代的脂族基或取代的脂族基。脂族基上的取代基实例包括氨基、烷基氨基、二烷基氨基、氨基羰基、卤素、烷基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基氨基羰基氧基、二烷基氨基羰基氧基、烷氧基、硝基、氰基、羧基、烷氧基羰基、烷基羰基、羟基、卤代烷氧基或卤代烷基。

在非芳香杂环的氮上的合适取代基包括$-R^+$、$-N(R^+)_2$、$-C(O)R^+$、$-CO_2R^+$、$-C(O)C(O)R^+$、$-C(O)CH_2C(O)R^+$、$-SO_2R^+$、$-SO_2N(R^+)_2$、$-C(=S)N(R^+)_2$、$-C(=NH)-N(R^+)_2$和$-NR^+SO_2R^+$，其中，R^+是氢、脂族基、取代的脂族基、苯基(Ph)、取代的Ph、-O(Ph)、取代的-O(Ph)、CH_2(Ph)、取代的CH_2(Ph)或未取代的杂芳基或杂环。在脂族基或苯环上的取代基实例包括氨基、烷基氨基、二烷基氨基、氨基羰基、卤素、烷基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基氨基羰基氧基、二烷基氨基羰基氧基、烷氧基、硝基、氰基、羧基、烷氧基羰基、烷基羰基、羟基、卤代烷氧基或卤代烷基。

可以将取代基或可变因数进行组合，只要这种组合能够产生稳定的或化学上可行的化合物。稳定的或化学上可行的化合物是指，在40℃或更低温度下，在没有湿气或其它化学反应条件的情况下保存该化合物，其化学结构至少一周基本上不改变。

当基团R^1为酯或酰胺形式时，本发明化合物在哺乳动物体内代谢裂解成相应的羧酸，该羧酸是具有活性的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂。由于进行代谢裂解，因此，酯或酰胺基团本身的性质对实现本发明并不关键。基团R^1的结构可以从相对简单的二乙基酰胺直到变为甾族酯。羧酸酯R^1的实例包括，但不限于，C_{1-12}脂族基酯，如C_{1-6}烷基酯或C_{3-10}环烷基酯，芳基酯，如苯基酯，芳烷基酯，如苄基酯或苯乙基酯，杂环基酯、杂环基烷基酯、杂芳基酯和杂芳烷基酯。

合适的杂环 R^1 的实例包括，但不限于，具有 1 或 2 个杂原子的 5-6 员杂环，例如，哌啶基、哌嗪基或吗啉基。合适的杂芳基环 R^1 的实例包括，但不限于，具有 1 或 2 个杂原子的 5-6 员杂芳基环，例如，吡啶基、嘧啶基、呋喃基和噻吩基。

羧酸 R^1 的酰胺可以是伯、仲或叔酰胺。酰胺氮上的合适取代基包括，但不限于，一个或两个独立地选自上文描述的用于酯醇 R^1 的脂族基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环基烷基、杂芳基和杂芳烷基的基团。同样，其它前药也包括在本发明范围内。参见 Bradley D. Anderson, "Prodrugs for Improved CNS Delivery", Advanced Drug Delivery Reviews (1996), 19, 171-202。

羧酸、酯和酰胺 R^1 的等排物或生物等排物是通过一个或多个原子的交换产生，以形成与母体羧酸或酯具有相似生物学特性的新化合物。生物等排替换可以是基于物理化学或拓扑。羧酸的等排替换的实例是 $CONHSO_2$(烷基)，例如，$CONHSO_2Me$。

其中 R^1 分别是 CO_2H 或 CH_2CO_2H、γ-酮酸或 δ-酮酸的本发明化合物可以以开放形式(a)或以环状半缩酮形式(b)(对于 γ-酮酸，y=1，对于 δ-酮酸，y=2)存在于溶液中。本发明示出的一种异构形式化合物当然包括其另一种异构形式的化合物。



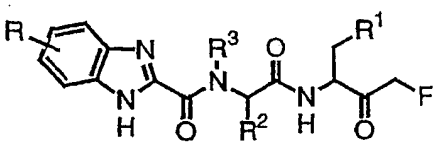
(a) (b)

同样，对本领域技术人员而言，本发明的某些化合物显然可以互变异构体形式或水合物形式存在。上述所有形式的化合物都包括在本发明范围内。除非另有说明，本发明描述的结构还应当包括该结构的所有立体化学形式，即，各个不对称中心的 R 和 S 构型。因此，本发明化合物的单一立体化学异构体以及对映异构体和非对映异构体混合物都属于本发明范围。除非另有说明，本发明所描述的结构还应当包括区别仅在于有一个或多个同位素富集原子的化合物。例如，氢被氘

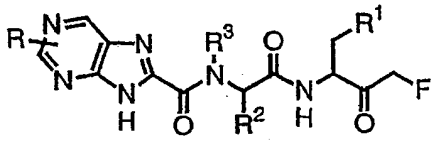
或氚置换或碳被 ^{13}C-或 ^{14}C-富集的碳原子置换并具有本发明结构的化合物包括本发明范围内。

WO 95/35308 中从种属上描述的许多二肽 ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂被用于下述基于酶和细胞的试验中，检测其抗天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶活性。在试验化合物中，发现式 I 新化合物具有出乎意料的抗多种天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶的优良活性。

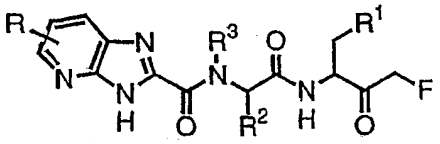
当 R^4 和 R^5 一起形成与咪唑稠合的环时，本发明提供了下述实施方案:



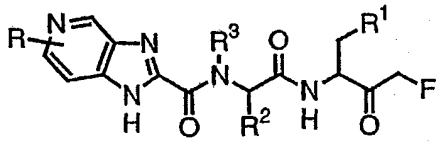
I-A



I-B



I-C



I-D

其中，R^1、R^2 和 R^3 定义同上，R 表示一个或多个任选的取代基。当 R 连接在环氮原子的非相邻位置上时，R 的实例包括 C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 烷氧基、卤素、烷基氨基、二烷基氨基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基和烷基羰基。当 R 连接在环氮原子的邻位时，R 的实例包括 C_{1-6} 烷基、烷基氨基和二烷基氨基。

本发明优选的化合物是具有一个或多个下述特性的式 I 化合物，更优选具有下述所有特征的式 I 化合物:

(a) R^1 是 CO_2H 或其酯、酰胺或等排物;

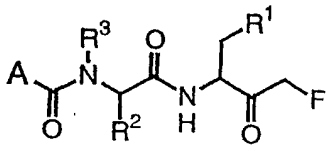
(b) R^2 是 C_1-C_6 直链或支链烷基;

(c) R^3 是氢; 和

(d) R^4 和 R^5 各自独立地选自氢，或 R^4 和 R^5 与它们连接的环一起形成苯并咪唑环。

如果 R^2 是被取代的，优选的取代基包括羟基、硫代、氨基或卤素。

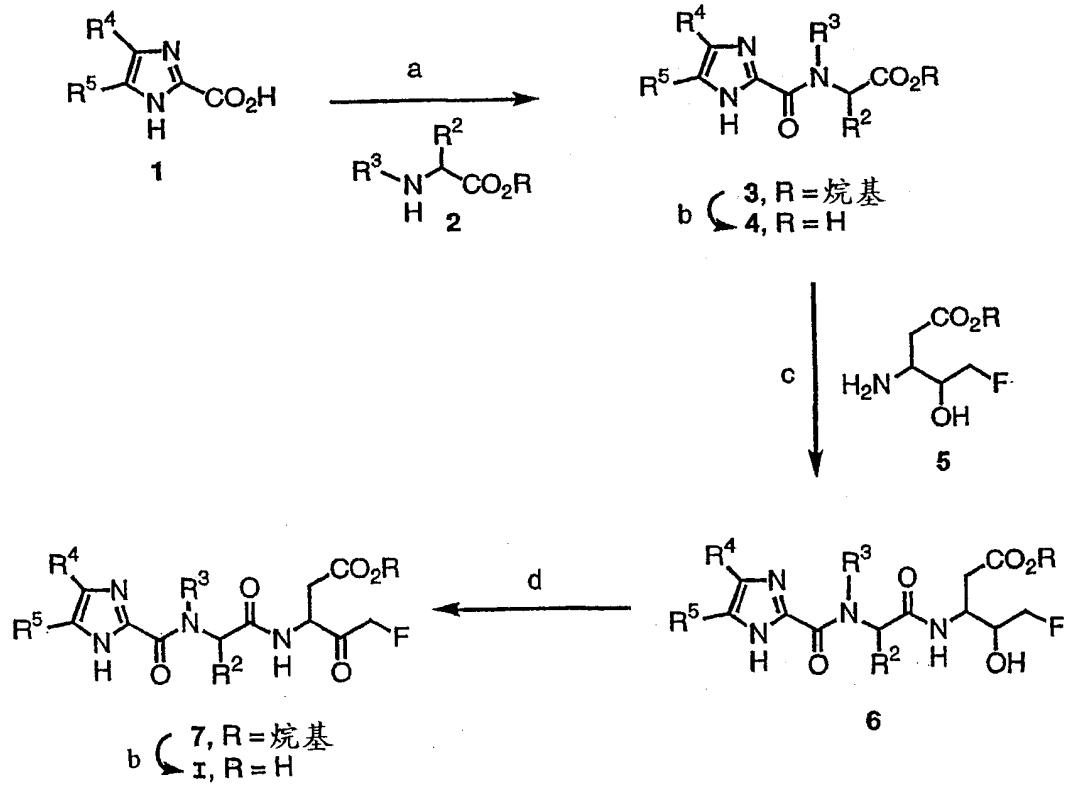
式 I 化合物具体的代表性化合物见下表 1。



序号	A 环	R^1	R^2	R^3
1	咪唑-2-基	CO_2H	CH_3-	H
2	苯并咪唑-2-基	CO_2H	CH_3-	H
3	咪唑-2-基	CO_2H	CH_3CH_2-	H
4	咪唑-2-基	CO_2H	$(CH_3)_2CH$-	H
5	苯并咪唑-2-基	CO_2H	$(CH_3)_2CH$-	H
6	9H-嘌呤-8-基	CO_2H	$(CH_3)_2CH$-	H
7	3H-咪唑[4,5-b]吡啶-2-基	CO_2H	$(CH_3)_2CH$-	H

采用本领域技术人员已知的制备类似化合物的方法，根据下列基本反应图解 I 的描述并通过下文制备实施例，一般可制得本发明化合物。

反应图解 I



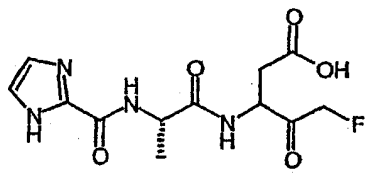
试剂：(a) EDC，二异丙基乙胺，HOBt，2；(b) 水解或TFA/DCM；(c) DMAP，EDC，二异丙基乙胺，HOBt，4；(d) Dess-Martin periodinane

反应图解 I 表示了制备本发明化合物的一般路径。使用了下述缩写：EDC 是 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺；HOBT 是 1-羟基苯并三唑；TFA 是三氟乙酸；DCM 是二氯甲烷；DMAP 是 4-二甲基氨基吡啶。已知的咪唑-2-甲酸或已知的苯并咪唑-2-甲酸(由通式 1 表示)与氨基酯衍生物 2 反应，得到酰胺 3。如果酯 3 是叔丁基酯，则使用 TFA 的 DCM 溶液得到酸 4。对于其它 R 基团，则可使用标准水解方法。然后，将酸 4 与氨基醇 5 偶合，得到 6。根据 R 的性质，可使用氨基酮代替氨基醇 5，以避免随后的氧化反应步骤。当使用氟甲基酮时，其中，CO_2R 是 CO_2tBu，根据 Revesz 等人在 Tetrahedron Lett.，1994，35，9693 中公开的方法可制得氨基醇 5。最后将化合物 6 的羟基氧化，并根据 R^1 的性质适当处理化合物。例如，如果产物 I 需要 R^1 为羧酸，选 7 中的 R^1 优选为酯，并且反应图解中的最后步骤为水解。

实施例

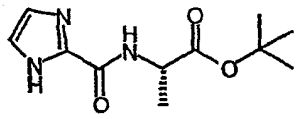
实施例 1

[3S/R,(2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰基氨基}-4-氧代-戊酸三氟乙酸盐(化合物 1)



方法 A:

(2S)-2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酸叔丁酯

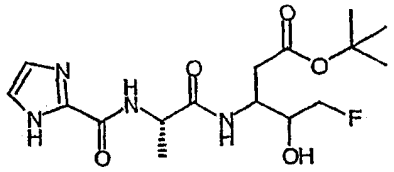


向 1H-咪唑-2-甲酸(0.17g)的 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)(3mL)溶液

中加入丙氨酸叔丁酯盐酸盐(0.22g)、二异丙基乙胺(0.27mL)和HOBT(0.41g)，然后冷却至 0℃，并用 EDC.HCl(0.32g)处理反应混合物。除去冷却浴，室温搅拌反应混合物 18 小时，然后用乙酸乙酯稀释，用水和盐水洗涤，干燥($MgSO_4$)，并减压浓缩。用硅胶色谱(30%乙酸乙酯的己烷溶液)法提纯残余物，得到无色油状附标题化合物(0.263g, 73%)，^1H NMR 400 MHz $CDCl_3$ 1.50 (9H, s), 1.51 (3H, d, J 7.2), 3.70 (1H, m), 7.28 (2H, s), 7.78 (1H, d, J 7.6), 11.49 (1H, br s)。

方法 B:

[3S/R,4S/R,(2S)]-5-氟-4-羟基-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰基氨基}-戊酸叔丁酯



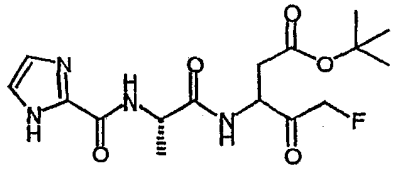
将(2S)-2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酸叔丁酯(0.257g)的二氯甲烷(2mL)溶液冷却至 0℃，然后滴加三氟乙酸，使反应混合物升至室温，搅拌 2 小时，然后减压蒸发。将残余物与二氯甲烷(两次)和甲苯(两次)共蒸发，得到所需的(2S)-2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酸(0.40g)，该化合物无需进一步提纯。

将(2S)-2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酸和 3-氨基-5-氟-4-羟基-戊酸叔丁酯(0.254g)在 THF(7mL)中的溶液冷却至 0℃，加入 DMAP(0.151g)、二异丙基乙胺(0.56mL)、HOBT(0.16g)和 EDC.HCl(0.23g)。室温搅拌反应混合物 18 小时，并减压浓缩。用硅胶色谱(5%甲醇的二氯甲烷溶液)法提纯残余物，得到无色固体附标题化合物(0.386g, 97%): ^1H NMR 400MHz $CDCl_3/CD_3OD$ 1.40 (12H, m), 3.92 (1H, m), 4.20-4.55 (4H, m), 7.11 (2H, d, J 15); ^{19}F NMR $CDCl_3$ -229.74 (m), -229.84 (m), -230.54 (m), -230.87 (m)。

方法 C:

[3S/R,(2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰基氨

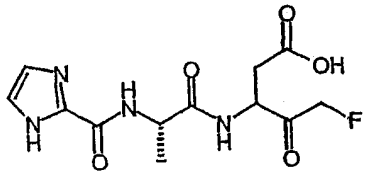
基}-4-氧代-戊酸叔丁酯



将[3S/R,(2S)]-5-氟-4-羟基-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰基氨基}-戊酸叔丁酯(0.381g)的二氯甲烷溶液冷却至 0℃，然后加入 1,1,1-三乙酰氧基-1,1-二氢-1,2-benziodoxol-3(1H)-酮(0.476g)。室温搅拌反应混合物 2 小时，然后加入另外一份 1,1,1-三乙酰氧基-1,1-二氢-1,2-benziodoxol-3(1H)-酮(0.05g)。搅拌反应混合物 90 分钟，然后减压浓缩。用乙酸乙酯溶解残余物，并用含水 $NaHSO_4$ 和含水 $Na_2S_2O_3$ 的 1 : 1 混合物洗涤。收集有机层，干燥($MgSO_4$)并浓缩。用闪蒸色谱(5%甲醇的二氯甲烷溶液)法提纯残余物，得到无色泡沫状附标题化合物(319mg，84%)：^{1}H NMR 400MHz $CDCl_3$ 1.37+1.43 (9H, 2xs), 1.54 (3H, m), 2.85 (1H, m), 3.03 (1H, m), 4.85-5.30 (4H, m), 7.18 (2H, d, J 16), 7.90 (1H, m), 7.98 (1H, m), 11.37+11.45 (1H, 2xs)；^{19}F NMR 376 MHz $CDCl_3$ -231.85 (t, J 48), -232.12 (t, J 48)。

方法 D:

化合物 1

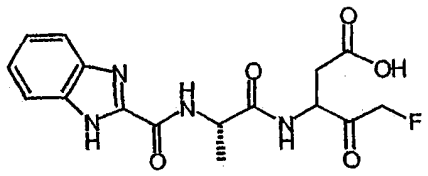


将[3S/R,(2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰基氨基}-4-氧代-戊酸叔丁酯(0.31g)的二氯甲烷(2mL)溶液冷却至 0℃，然后滴加三氟乙酸，使反应混合物升至室温，并搅拌 2 小时。然后减压蒸发。将残余物与二氯甲烷共蒸发(两次)，并在乙醚中研磨，得到无色固体标题化合物(0.35g)：IR 1785.7, 1730.1, 1653.7, 1538.1, 1458.2, 1384.2, 1268.7, 1188.4, 1150.9, 1053.3, 992.13, 931.8, 867.9, 847.0, 768.5 cm^{-1}；^{1}H NMR 400MHz DMSO

D_6 1.37 (3H, d), 2.40-2.85 (2H, m, asp CH_2); 4.34-4.75 (2.5H, m, 2xCH+0.5CH_2F); 5.13-5.41 (1.5H, m, CH_2F); 7.50 (2H, s, 咪唑 CHs); 8.58-8.79 (2H, m, NHs); ^{13}C NMR 100 MHz DMSO D_6 18.13, 18.85 (ala CH_3); 33.13, 34.75 (asp CH_2); 48.68, 52.41 (CHs); 83.46, 85.21 (CH_2F); 123.67 (CH 咪唑); 139.57, 158.86, 172.35 (m) (C=Os); 202.70 (5 峰酮); ^{19}F NMR 376 MHz DMSO D_6 去耦 -75.19 (3F, s, CF3COOH); -226.89, 226.96, 230.80, 231.59, 232.95, 233.06 (1F, 6xs, $COCH_2F$ 开环和闭环)。

实施例 2

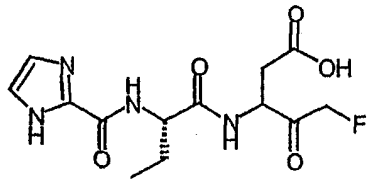
[3S/R,(2S)]-3-{2-[(1H-苯并咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰基氨基}-5-氟-4-氧代-戊酸三氟乙酸盐(化合物 2)



采用类似于上述 A-D 的方法，由 1H-苯并咪唑-2-甲酸制得标题化合物(142mg，最后一步收率为 90%)：(以 TFA 盐形式分离出的化合物)黄白色固体；IR(固体，cm^1) 3277.9, 1654.6, 1526.6, 1188.6, 1142.5, 1050.4, 927.5, 748.2, 712.4; ^1H NMR (DMSO-D^6) 1.42 (3H, d), 2.51-2.95 (2H, m), 4.21-4.75 (2H, m), 4.76-5.60 (3H, brm), 7.41 (2H, m), 7.65 (2H, m), 8.21-9.05 (2H, m); ^{13}C NMR (DMSO-D^6) 18.0, 18.7, 18.8 (Ala CH_3), 37.2, 34.6, 34.7 (Asp CH_2), 47.6, 48.8, 48.85, 49.1 (Asp CH), 52.0, 52.5 (Ala CH), 83.5, 85.2, 85.3, 103.8, 106.0 (CH_2F), 116.6, 123.9 (Aryl CH), 145.3, 145.4, (Aryl C), 158.4, 158.7, 158.8, 172.1, 172.2, 172.4, 172.5, 172.6, 172.7, 173.2 (NC=O), 202.6, 202.7, 202.8, 202.9 (C=O)；M^+ 测定值：364.1177，$C_{16}H_{17}FN_4O_5$ M^+理论值 364.1183 (1.8 ppm)。

实施例 3

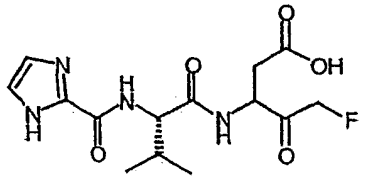
[3S/R,(2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丁酰基氨基}-4-氧代-戊酸三氟乙酸盐(化合物 3)



采用类似于上述 A-D 的方法，由 1H-苯并咪唑-2-甲酸制得标题化合物(147mg，最后一步的收率为 64%)：IR 3280.0，1659.5，157.9，1192.5，1141.6，784.7，721.1cm^{-1}；^{1}H NMR 400MHz DMSO D_6 0.95 (3H，m)，1.78 (2H，m)，2.58-2.98 (2H，m)，4.30-4.78 (2.5H，m)，5.10-5.42 (1.5H，m)，7.41 (2H，s)，8.44+8.75 (2H，2xm)；^{13}C NMR 100 MHz DMSO D_6 10.19，10.29，15.52(CH_3)，25.42，25.49，26.03，33.06，33.13，34.65，34.80 (CH_2)，47.45，47.53，52.0，53.96，54.13 (CH) 65.27 (CH_2)，84.36 (d，J 177，CH_2F)，103.81，104.00 (C)，123.89 (CH)，139.74 (C=O)，156.90，158.39，158.74，171.51，171.80，171.83，172.02，173.11 (C=O)，202.51，202.66，202.76，202.90 (CH_2FC=O)；^{19}F NMR 376 MHz DMSO D_6 -226.82 (t，J 45)，-226.84 (t，J 45)，-230.67 (t，J 45)，-231.43 (t，J 45)，-232.79 (t，J 45)，-232.82 (t，J 45)。

实施例 4

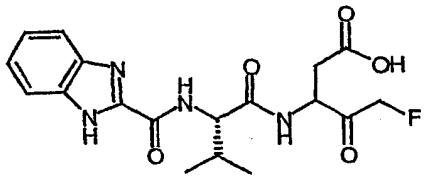
[3S/R,(2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-3-甲基丁酰基氨基}-4-氧代-戊酸(化合物 4)



采用类似于上述 A-D 的方法，由 1H-苯并咪唑-2-甲酸制得标题化合物(80g，最后一步收率为 85%)：白色粉末，IR(固体，cm^{-1}) 1736, 1649, 1557, 1511, 1455, 1434, 1393; ^{1}H NMR (DMSO+TFA) 0.92-0.95 (6H, m), 2.06-2.15 (1H, m), 2.56-2.90 (2H, m), 4.33-5.36 (4H, m), 7.79 (2H, s), 8.58-8.90 (2H, m)；$^{19}FNMR$ (DMSO+TFA) -226.8 (t), -230.6 (t), -231.0 (t), -232.5 (t), -232.6 (t)；^{13}C NMR (DMSO+TFA) 18.1/18.4 (CH_3), 19.2/19.3 (CH_3), 34.5/34.8 (CH2), 51.9/52.2 (CH), 58.5/58.8 (CH), 84.3/84.4 (2d, J 178.7/178.7, CH_2F), 122.0 (CH), 137.5 (C), 153.7 (C), 170.6 (C), 171.9/172.0 (C), 202.5/202.8 (2d, J 14.6/14.6, CO)。

实施例 5

[3S/R,(2S)]-3-{2-[(1H-苯并咪唑-2-羰基)-氨基]-3-甲基丁酰基氨基}-5-氟-4-氧代-戊酸(化合物 5)



采用类似于上述 A-D 的方法，由 1H-苯并咪唑-2-甲酸制得标题化合物(90mg，最后一步收率为 87%)：白色粉末，IR(固体，cm^{-1}) 1737, 1665, 1527, 1373, 1194, 1137; ^{1}H NMR (DMSO) 0.90-0.95 (6H, m), 2.15-2.18 (1H, m), 2.59-2.92 (2H, m), 4.33-4.76 和 5.12-5.38 (4H, 2m), 7.31-7.35 (2H, m), 7.66-7.68 (2H, m), 8.36-8.82 (2H, m); $^{19}FNMR$ (DMSO+TFA) -226.7 (t), -226.9 (t), -232.4 (t), -232.6 (t); ^{13}C NMR (DMSO) 18.3/18.4/18.5/18.7 (CH_3), 19.4/19.5 (CH_3), 31.0/31.1/31.6 (CH), 34.7/34.8 (CH_2), 51.8/52.1 (CH), 57.9/58.3/58.6 (CH), 84.3/84.4 (2d, J

178.7/178.7, CH_2F), 124.0 (CH), 145.2/145.2 (C), 158.4/158.5/158.7/158.8 (C), 170.9/171.1/171.2 (C), 172.0/172.0 (C), 173.1 (C), 173.9 (C), 202.06/202.6 (2d, J 13.8, CO)。

本发明化合物设计用于抑制天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶。因此，可检测本发明化合物直接抑制编程性细胞凋亡或抑制 IL-1β 释放或天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶活性的能力。各种活性试验是本领域已知的，并在下文试验部分进行了详细描述。

根据另一实施方案，本发明提供了含有上述本发明化合物或其可用药盐和可药用载体的组合物。

如果在上述组合物中使用本发明化合物的可用药盐，优选所述可用药盐是衍生于无机或有机酸和碱的盐。其中，所述酸加成盐包括：乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、酸式硫酸盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、延胡索酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、草酸盐、扑酸盐（pamoate）、果胶酯酸盐、过硫酸盐、3-苯基-丙酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐和十一酸盐。碱加成盐包括铵盐、诸如钠盐和钾盐的碱金属盐、诸如钙盐和镁盐的碱土金属盐、与诸如二环己胺和 N-甲基-D-葡糖胺的有机碱形成的盐和与诸如精氨酸和赖氨酸的氨基酸形成的盐等。

此外，用例如下述试剂将碱性含氮基团季铵化：低级烷基卤，如甲基、乙基、丙基和丁基氯化物、溴化物和碘化物；硫酸二烷基酯，如硫酸二甲酯、硫酸二乙酯、硫酸二丁酯和硫酸二戊酯；长链卤化物，如癸基、月桂基、十四烷基和十八烷酰氯化物、溴化物和碘化物；芳烷基卤化物，如苄基溴和苯乙基溴化物等。由此得到水溶或油溶或水或油分散性产物。

通过添加适当的官能度，可以改性本发明组合物和方法中使用的

化合物，以提高其选择性生物学特性。所述改性是本领域已知的并包括那些增加对给定生物系统(例如，血液、淋巴系统和中枢神经系统)的生物穿透性、增加口服有效性、增加溶解度以实现注射给药、改变代谢和改变排泄速率的改性。

可用于所述组合物的可药用载体包括，但不限于，离子交换剂，氧化铝，硬脂酸铝，卵磷脂，诸如人类血清白蛋白的血清蛋白质，诸如磷酸盐的缓冲物质，甘氨酸，山梨酸，山梨酸钾，饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物，水，诸如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶态二氧化硅和三硅酸镁的盐或电解质，聚乙烯吡咯烷酮，纤维素物质，聚乙二醇，羧甲基纤维素钠，聚丙烯酸酯，蜡，聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物，聚乙二醇和羊毛脂。

根据优选的实施方案，配制本发明组合物，用于对患者，优选对人类给药。本发明的一方面涉及对需要治疗患者治疗天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶相关疾病的方法，该方法包括对患者施用治疗有效量的式Ⅰ化合物或其药物组合物。术语“患者”包括人类和兽医治疗对象。

本发明的上述药物组合物可以经口、肠胃外、吸入喷雾、局部、直肠、鼻内、颊内、阴道或经植入贮器给药。本发明术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、肌内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病灶内和颅内注射或输注技术。优选进行口服给药或静脉内给药。

无菌注射剂型的本发明组合物可以是水性或油性悬浮液。这些悬浮液可以根据本领域已知技术，使用合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂来配制。所述无菌注射制剂还可以是存在于肠胃外可接受的无毒稀释剂或溶剂（例如，1,3-丁二醇）中的无菌注射液或悬浮液。在可接收的载体和溶剂中，可以使用的是水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。另外，无菌不挥发油通常被用作溶剂或悬浮介质。为此，可以使用任何温和的不挥发油，包括合成的单或二甘油酯。如同天然可药用油（例如，橄榄油或蓖麻油，尤其是聚氧乙烯橄榄油或蓖麻油）一样，脂肪酸（如，油酸及其甘油酯衍生物）被用于配制注射剂。所述油溶

液或悬浮液还可以含有长链醇稀释剂或分散剂，例如，经常用于配制包括乳剂和悬浮液的可药用剂型的羧甲基纤维素或类似分散剂。其它经常用于制备可药用固体、液体或其它剂型的常用表面活性剂（如吐温、司盘和其它乳化剂或生物可利用率增强剂）也可用于配制本发明药剂。

本发明药物组合物可以以任何口服可接受的剂型口服给药，口服可接受剂型包括，但不限于，胶囊、片剂、水性悬浮液或溶液。对于口服用片剂，通常使用的载体包括乳糖和玉米淀粉。通常，还加入诸如硬脂酸镁的润滑剂。对于口服给药用胶囊剂型，有用的稀释剂包括乳糖和无水玉米淀粉。当需要用水性悬浮液进行口服给药时，将活性组分与乳化剂和悬浮剂混合。如果需要，还可加入某些甜味剂、调味料或着色剂。

另外，本发明药物组合物可以以栓剂形式经直肠给药。通过将试剂与合适的非刺激性赋形剂混合可制得上述栓剂，所述赋形剂在室温是固体，但在直肠温度下是液体，因而可在直肠中熔化释放药物。所述赋形剂包括可可脂、蜂蜡和聚乙二醇。

本发明药物组合物也可局部给药，特别是当需要治疗的靶域包括通过局部给药易于进入的区域或器官时，包括眼部疾病、皮肤疾病或下肠道疾病。用于上述各区域或器官的合适的局部给药制剂是易于制得的制剂。

可以使用直肠栓剂(参见上文)或合适的灌肠剂进行下肠道局部给药。也可使用局部-经眼贴剂。

为了进行局部给药，可将药物组合物配制成合适的软膏，所述软膏含有悬浮或溶解在一种或多种载体中的活性组分。用于本发明化合物局部给药制剂的载体包括，但不限于，矿物油、液体石蜡、白矿脂、丙二醇、聚氧乙烯、聚氧丙烯化合物、乳化蜡和水。或者，可将药物组合物配制成合适的洗剂或乳膏，所述洗剂或乳膏含有悬浮或溶解在一种或多种可药用载体中的活性组分。合适载体包括，但不限于，矿物油、脱水山梨糖醇单硬脂酸酯、吐温 60、鲸蜡酯蜡、鲸蜡

硬脂醇（cetearyl alcohol）、2-辛基十二烷醇、苄醇和水。

为了眼部给药，可将药物组合物配制成在调节了 pH 的等渗无菌盐水中的微粒化悬浮液，或者，优选配制成调节了 pH 的等渗无菌盐水溶液，药剂中含或不含诸如氯化苄基三烷基铵的防腐剂。或者，为了眼部给药，可将药物组合物配制成诸如矿脂的软膏。

本发明药物组合物还可使用鼻内气雾剂或吸入剂给药。根据药物制剂领域的公知技术可制得所述组合物，并且可以使用苄醇或其它合适的防腐剂、提高生物利用度的吸收助剂、碳氟化合物和/或其它常规增溶剂或分散剂，制成盐水溶液制剂。

上述组合物对于治疗天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶相关疾病特别有用。术语“天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶相关疾病”是指 IL-1 介导的疾病、编程性细胞凋亡介导的疾病、炎性疾病、自身免疫疾病、破坏性骨病、增生性疾病、传染病、变性疾病、细胞死亡相关疾病、酗酒相关疾病、病毒介导的疾病、葡萄膜炎、炎性腹膜炎、骨关节炎、胰腺炎、哮喘、成人呼吸窘迫综合征、肾小球性肾炎、类风湿性关节炎、全身性红斑狼疮、硬皮病、慢性甲状腺炎、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症、血小板减少症、慢性活动性肝炎、重症肌无力、炎性肠疾病、 局限性回肠炎、牛皮癣、特应性皮炎、结癍、移植物抗宿主病、器官移植排异、骨质疏松症、白血病及相关疾病、脊髓发育不良综合征、多发性骨髓瘤相关骨疾病、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、转移黑素瘤、卡波济氏肉瘤、多发性骨髓瘤、出血性休克、败血症、脓毒性休克、灼伤、志贺氏菌病、阿耳茨海默氏病、帕金森氏病、杭廷顿氏舞蹈病、肯尼迪病、沅病毒病、大脑局部缺血、癫痫症、心肌局部缺血、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、冠状动脉旁路移植、脊柱肌肉萎缩、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、HIV 相关脑炎、衰老、脱发、中风导致的神经损害、溃疡性结膜炎、创伤性脑损伤、脊髓损伤、乙型肝炎、丙型肝炎、庚型肝炎、黄热病、登革热或日本脑炎、各种肝疾病、肾病、

polyaptic 肾疾病、H.幽门相关胃溃疡和十二指肠溃疡、HIV 感染、结核病和脑膜炎。

本发明组合物的优选用途包括 IL-1 介导的疾病、编程性细胞凋亡介导的疾病、炎性疾病、自身免疫疾病、破坏性骨病、传染病、变性疾病、细胞死亡相关疾病、酗酒相关疾病、病毒介导的疾病、葡萄膜炎、炎性腹膜炎、骨关节炎、胰腺炎、成人呼吸窘迫综合征、肾小球性肾炎、类风湿性关节炎、糖尿病、血小板减少症、炎性肠疾病、局限性回肠炎、牛皮癣、结痂、器官移植排异、骨质疏松症、出血性休克、败血症、脓毒性休克、灼伤、志贺氏菌病、阿耳茨海默氏病、帕金森氏病、杭廷顿氏舞蹈病、肯尼迪病、沅病毒病、大脑局部缺血、癫痫、急性和慢性心脏病、冠状动脉旁路移植、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、脱发、溃疡性结膜炎、创伤性脑损伤、脊髓损伤、各种肝疾病、肾病、H.幽门相关胃溃疡和十二指肠溃疡和脑膜炎。

本发明化合物和组合物还可用于治疗冠状动脉旁路移植相关并发症。如果单独使用或与诸如化学疗法或放射疗法的其它疗法联合使用本发明化合物和组合物，则本发明化合物和组合物尤其还可用于治疗癌。本发明化合物和组合物还可用作免疫疗法的一种组分用于治疗各种癌。

正如实施例描述的任一试验所测定的那样，上述组合物中的本发明化合物的用量应足以减轻病症严重程度或降低天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶活性和/或编程性编程性细胞凋亡，并且这种减轻或降低是可察觉的。

根据另一实施方案，本发明组合物可含有其它治疗剂。所述治疗剂包括，但不限于，诸如组织纤溶酶原激活物和链激酶的血栓溶解剂。当使用其它试剂时，该试剂可以作为单独剂型给药，或者，作为与本发明化合物或组合物一起形成的单一剂型的一部分给药。

当然，对任何特定患者的具体剂量和治疗方案将取决于多种因素改变，包括所用具体化合物的活性、年龄、体重、整体健康状况、性别、饮食、给药时间、排泄速率、药物联合和主治医师的判断以及所

治疗具体疾病的严重程度。活性组份的用量还取决于组合物中的具体化合物和其它治疗剂(如果存在的话)。

在优选的实施方案中，本发明提供了一种治疗患有一种上述疾病的哺乳动物的方法，该方法包括向所述哺乳动物施用上述可药用组合物的步骤。在该实施方案中，如果还对患者施用其它治疗剂或天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂，则所述其它治疗剂或天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂可与本发明化合物一起以单一剂型递送，或者，以单独剂型递送。如果以单独剂型施用其它天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制剂或治疗剂，则它们可以在施用含有本发明化合物的可药用组合物之前、同时或之后施用。

为了更充分理解本发明，给出了下述制备实施例和试验实施例。这些实施例仅用于说明本发明，而不以任何方式限制本发明范围。

实施例 6

酶测定

使用纯化的重组人类天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1、-3 或-8，基于萤光基质的裂解，测定天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶抑制作用。基本上按 WO 0142216 公开的方法进行上述测定。

分别对于天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3 和天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-8，化合物 1-5 的 k_{inact} 值均大于 $20000M^{-1}s^{-1}$。

实施例 7

抑制外周血液单核细胞(PBMC)的混合群体分泌 IL-1β

使用多种细胞源，在细胞培养物中测定天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 加工前体 IL-1β。来自健康供体的人类 PBMC 提供了淋巴细胞和单核细胞的混合群体，该混合群体产生一系列白介素和细胞因子，响应各类生理刺激质。抑制外周血液单核细胞(PBMC)混合群体分泌 IL-1β 的试验条件可参见 WO 0142216。

化合物的抑制能力可以用 IC_{50} 值表示，IC_{50} 值是指，相对于正对照组，在上清液中测得 50%成熟 IL-1β 时的抑制剂浓度。对于抑制 PBMC 分泌 IL-1β，发现试验化合物的 IC_{50} 值小于 1μM。

实施例 8

抗 Fas 诱导的编程性细胞凋亡试验

通过 Fas 配体(FasL)与其受体 CD95 (Fas)的结合，可诱导细胞的编程性细胞凋亡。测定化合物对天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-8 介导的编程性细胞凋亡通路的抑制作用的试验条件参见 WO 0142216。

对于在 FAS 诱导的编程性细胞凋亡试验中的活性，发现化合物 1-5 各自的 IC_{50} 值小于 200nM 。

虽然我们已描述了本发明的一些实施方案，但显然，可以改变我们的基本实施例，得到使用本发明化合物和方法的其它实施方案。因此，应当理解，本发明的范围是通过所附权利要求来定义，而不是由实施例体现的具体实施方案定义。