(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116284404 A
(43)申请公布日 2023.06.23

(21)申请号 202310239004.4

(22)申请日 2017.06.07

(30)优先权数据
62/347476 2016.06.08 US
62/366511 2016.07.25 US

(62)分案原申请数据
201780048009.1 2017.06.07

(71)申请人 艾伯维公司
地址 美国伊利诺伊州

(72)发明人 L.贝纳图伊尔 M.布伦科 D.晁
K.伊泽拉詹妮 A.S.朱德
A.C.菲利普斯 A.J.索尔斯
A.萨库尔

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 任晓华 杨思捷

(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)

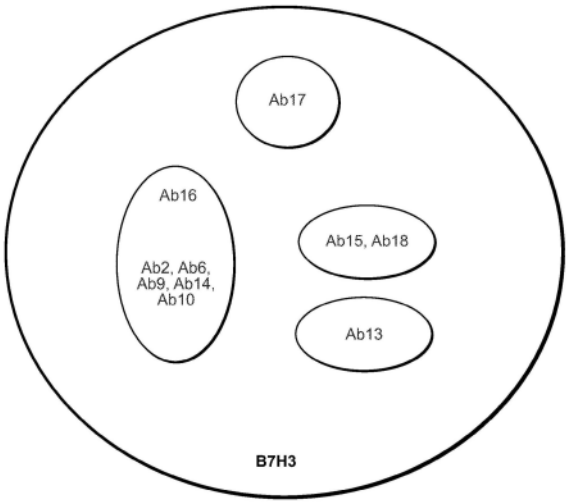
权利要求书1页 说明书649页
序列表（电子公布） 附图5页

(54)发明名称

抗B7-H3抗体和抗体药物偶联物

(57)摘要

本发明涉及B7同源性3蛋白(B7homology3protein,B7-H3)抗体及抗体药物偶联物(ADC),包括使用所述抗体和ADC的组合物和方法。



CN 116284404 A

1.一种分离的抗体或其抗原结合部分,与人B7-H3(hB7-H3)结合,其中该抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR3,该轻链可变区包含具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR3。

2.如权利要求1所述的抗体或其抗原结合部分,其中该抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含具有SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR2,该轻链可变区包含具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR2。

3.如权利要求1或2所述的抗体或其抗原结合部分,其中该抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR1,该轻链可变区包含具有SEQ ID NO:136或138的氨基酸序列的CDR1。

4.一种分离的抗体或其抗原结合部分,与人B7-H3结合,其中该抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的CDR3,该轻链可变区包含具有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的CDR3。

5.如权利要求4所述的抗体或其抗原结合部分,其中该抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR2,该轻链可变区包含具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的CDR2。

6.如权利要求4或5所述的抗体或其抗原结合部分,其中该抗体或其抗原结合部分包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR1,该轻链可变区包含具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的CDR1。

7.如前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中该抗体或其抗原结合部分为IgG同种型。

8.如权利要求7所述的抗体或其抗原结合部分,其中该抗体或其抗原结合部分是IgG1或IgG4同种型。

9.如前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中如通过表面等离子体共振所测定的,该抗体或其抗原结合部分具有1.5×10^{-8}或更低的K_D。

10.一种抗体或其抗原结合部分,与hB7-H3结合,所述抗体或其抗原结合部分包含

包含SEQ ID NO:10、11和12的CDR组的重链可变区以及包含SEQ ID NO:14、7和15的CDR组的轻链可变区,或

包含SEQ ID NO:33、34、和35的CDR组的重链可变区以及包含SEQ ID NO:37、38和39的CDR组的轻链可变区。

抗B7-H3抗体和抗体药物偶联物

[0001] 本申请是申请日为2017年6月7日，申请号为201780048009.1，发明名称为“抗B7-H3抗体和抗体药物偶联物”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 本申请要求于2016年6月8日提交的美国临时申请号62/347,476的、和于2016年7月25日提交的美国临时申请号62/366,511的优先权。以上文献的全部内容通过引用明确地并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有序列表，该序列表已以ASCII格式以电子方式提交且其全部内容通过引用并入本文。所述ASCII复本创建于2017年6月7日，命名为117813-12620_ST25.txt且大小为159,744字节。

背景技术

[0005] B7同源性3蛋白(B7homology 3 protein,B7-H3)(也称为CD276和B7RP-2,在本文中称为“B7-H3”)是免疫球蛋白超家族的I型跨膜糖蛋白。人B7-H3含有推定的信号肽、V样和C样Ig结构域、跨膜区和细胞质结构域。人体中的外显子重复导致含若干个保守半胱氨酸残基的两种B7-H3同种型的表达，这两种B7-H3同种型具有单个IgV-IgC样结构域(2IgB7-H3同种型)或具有IgV-IgC-IgV-IgC样结构域(4IgB7-H3同种型)。人组织和细胞系中主要的B7-H3同种型是4IgB7-H3同种型(Steinberger等人,J.Immunol.[免疫学杂志]172(4):2352-9(2004))。

[0006] 已报道B7-H3具有共刺激和共抑制信号传导功能(参见，例如Chapoval等人,Nat.Immunol.[自然免疫学]2:269-74(2001);Suh等人,Nat.Immunol.[自然免疫学]4:899-906(2003);Prasad等人,J.Immunol.[免疫学杂志]173:2500-6(2004);和Wang等人,Eur.J.Immunol.[欧洲免疫学杂志]35:428-38(2005))。例如，体外研究已显示了B7-H3的共刺激功能，因为B7-H3能够增加细胞毒性T淋巴细胞(CTL)的增殖并在抗CD3抗体存在下上调干扰素γ(IFN-γ)的产生，从而模拟T细胞受体信号(Chapoval等人,2001)。此外，在B7-H3-/-小鼠中使用心脏同种异体移植物的体内研究显示，与野生型对照相比，关键细胞因子、趋化因子和趋化因子受体mRNA转录物(例如，IL-2、IFN-γ、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)和IFN诱导蛋白(IP)-10)的产生减少(Wang等人,2005)。相反，例如，已经在小鼠中观察到了B7-H3共抑制功能，其中B7-H3蛋白抑制T细胞活化和效应细胞因子产生(Suh等人,2003)。尽管尚未鉴定出人B7-H3的配体，但已发现鼠B7-H3与髓样细胞触发受体(TREM-)样转录因子2(TLT-2)结合，TLT-2是一种适应性先天免疫细胞响应的调节剂。鼠B7-H3与$CD8^+$T-细胞上的TLT-2的结合增强了T细胞效应子功能，例如增殖、细胞毒性和细胞因子产生(Hashiguchi等人,Proc.Nat'l.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊]105(30):10495-500(2008))。

[0007] B7-H3在很多免疫细胞(例如，自然杀伤(NK)细胞、T细胞、和抗原呈递细胞(APC))中不是组成型表达的，但是可以诱导其表达。此外，B7-H3的表达不限于免疫细胞。B7-H3转录物在多种人体组织(包括结肠、心脏、肝脏、胎盘、前列腺、小肠、睾丸、和子宫)以及成骨细胞、成纤维细胞、上皮细胞和可能表明免疫和非免疫功能的其他非淋巴谱系细胞中表达

(Nygren等人FrontBiosci.[生物科学的前沿]3:989-93(2011))。然而,正常组织中的蛋白质表达通常维持在低水平,因此可能受到转录后调节。

[0008] B7-H3也在多种人类癌症中表达,包括前列腺癌、透明细胞肾细胞癌、胶质瘤、黑色素瘤、肺癌、非小细胞肺癌(NSCLC)、小细胞肺癌、胰腺癌、胃癌、急性髓性白血病(AML)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、卵巢癌、结肠直肠癌、结肠癌、肾脏癌、肝细胞癌、肾癌、头颈癌、下咽鳞状细胞癌、胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、乳腺癌、子宫内膜癌和尿路上皮细胞癌。尽管B7-H3在癌细胞中的作用尚不清楚,但其表达可能协调可能保护癌细胞免受先天和适应性免疫反应的信号事件。例如,B7-H3在高级别前列腺上皮内瘤变和前列腺腺癌中过表达,并且这些癌细胞中B7-H3的高表达水平与手术后癌症进展的风险增加相关(Roth等人CancerRes.[癌症研究]67(16):7893-900(2007))。此外,NSCLC中肿瘤B7-H3表达与肿瘤浸润性淋巴细胞的数量呈负相关,并且与淋巴结转移显著相关(Sun等人Lung Cancer[肺癌]53(2):143-51(2006))。NSCLC患者中循环可溶性B7-H3的水平也与较高的肿瘤分期、肿瘤大小、淋巴结转移、和远处转移相关(Yamato等人,Br.J.Cancer[英国癌症杂志]101(10):1709-16(2009))。

[0009] B7-H3还能以背景依赖方式在T细胞介导的抗肿瘤响应中发挥重要作用。例如,B7-H3的胃癌肿瘤细胞表达与存活时间、浸润深度和组织类型正相关(Wu等人,World J.Gastroenterol.[世界胃肠病学杂志]12(3):457-9(2006))。此外,胰腺肿瘤细胞中B7-H3的高表达与手术切除后患者的存活率相关,并且与肿瘤浸润性$CD8^+$ T细胞的数量显著相关(Loos等人,BMC Cancer[BMC癌症]9:463(2009)。

[0010] 抗体药物偶联物(ADC)代表一类相对较新的治疗剂,其包含通过化学接头与细胞毒性药物偶联的抗体。ADC的治疗概念是组合抗体与药物的结合能力,其中抗体用于通过结合靶表面抗原(包括在肿瘤细胞中过表达的靶表面抗原)将药物递送至肿瘤细胞。

[0011] 本领域仍然存在对可在癌症治疗中用于治疗目的的抗B7-H3抗体和抗B7-H3 ADC的需求。

发明内容

[0012] 在某些方面,本发明提供了特异性结合人B7-H3的抗体和抗体药物偶联物(ADC)。在某些方面,本发明提供了新颖的ADC,其可以选择性地将Bcl-xL抑制剂递送至靶癌细胞,例如,B7-H3表达细胞。

[0013] 一方面,本发明提供了与人B7-H3(hB7-H3)结合的抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其中该抗体或其抗原结合部分包含重链可变区(包含具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR3)和轻链可变区(包含具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR3)。

[0014] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体或其抗原结合部分包含重链可变区(包含具有SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR2)和轻链可变区(包含具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR2)。

[0015] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体或其抗原结合部分包含重链可变区(包含具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR1)和轻链可变区(包含具有SEQ ID NO:136或138的氨基酸序列的CDR1)。

[0016] 一方面,本发明提供了与人B7-H3(hB7-H3)结合的抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其中该抗体或其抗原结合部分包含重链可变区(包含具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列

的CDR3)和轻链可变区(包含具有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的CDR3)。

[0017] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体或其抗原结合部分包含重链可变区(包含具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR2)和轻链可变区(包含具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的CDR2)。

[0018] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体或其抗原结合部分包含重链可变区(包含具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR1)和轻链可变区(包含具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的CDR1)。

[0019] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体或其抗原结合部分是IgG同种型。

[0020] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体或其抗原结合部分是IgG1或IgG4同种型。

[0021] 在一个实施例中,如通过表面等离子体共振所测定的,抗B7-H3抗体或其抗原结合部分具有1.5×10^{-8}或更低的K_D。

[0022] 一方面,本发明提供了与hB7-H3结合的抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分包含(i)重链可变区(包含SEQ ID NO:10、11、和12的CDR组)和轻链可变区(包含SEQ ID NO:14、7、和15的CDR组),或(ii)重链可变区(包含SEQ ID NO:33、34、和35的CDR组)和轻链可变区(包含SEQ ID NO:37、38、和39的CDR组)。

[0023] 一方面,本发明提供了与人B7-H3(hB7-H3)结合的抗B7-H3抗体,其中该抗体包含重链可变区(包含具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR3)和轻链可变区(包含具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR3)。

[0024] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体包含重链可变区(包含具有SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR2)和轻链可变区(包含具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR2)。

[0025] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体包含重链可变区(包含具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR1)和轻链可变区(包含具有SEQ ID NO:136或138的氨基酸序列的CDR1)。

[0026] 一方面,本发明提供了与人B7-H3(hB7-H3)结合的抗B7-H3抗体,其中该抗体或其抗原结合部分包含重链可变区(包含具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的CDR3)和轻链可变区(包含具有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的CDR3)。

[0027] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体包含重链可变区(包含具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR2)和轻链可变区(包含具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的CDR2)。

[0028] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体包含重链可变区(包含具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR1)和轻链可变区(包含具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的CDR1)。

[0029] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体是IgG同种型。

[0030] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体是IgG1或IgG4同种型。

[0031] 在一个实施例中,如通过表面等离子体共振所测定的,抗B7-H3抗体具有1.5×10^{-8}或更低的K_D。

[0032] 一方面,本发明提供了与hB7-H3结合的抗B7-H3抗体,所述抗体包含(i)重链可变区(包含SEQ ID NO:10、11、和12的CDR组)和轻链可变区(包含SEQ ID NO:14、7、和15的CDR组),或(ii)重链可变区(包含SEQ ID NO:33、34、和35的CDR组)和轻链可变区(包含SEQ ID NO:37、38、和39的CDR组)。

[0033] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体或其抗原结合部分是人源化的。

[0034] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体或其抗原结合部分进一步包含人受体框架。在一个

实施例中，人受体框架包含选自下组的氨基酸序列，该组由以下组成：SEQ ID NO:155、156、164、165、166、和167。在一个实施例中，人受体框架包含至少一个框架区氨基酸取代。在一个实施例中，该框架的氨基酸序列与所述人受体框架的序列具有至少65％同一性且包含至少70个与所述人受体框架同一的氨基酸残基。

[0035] 在一个实施例中，人受体框架包含至少一个在关键残基处的框架区氨基酸取代，所述关键残基选自由以下组成的组：与CDR相邻的残基；糖基化位点残基；稀有残基；能够与人B7-H3相互作用的残基；能够与CDR相互作用的残基；典型残基(canonical residue)；介于重链可变区与轻链可变区之间的接触残基；游标区(Vernier zone)内的残基；和在Chothia定义的可变重链CDR1与Kabat定义的第一重链框架之间重叠的区域中的残基。在一个实施例中，关键残基选自下组，该组由以下组成：48H、67H、69H、71H、73H、94H、和2L。在一个实施例中，关键残基取代位于该可变重链区内并且选自下组，该组由以下组成：M48I、V67A、I69L、A71V、K73R、和R94G。在一个实施例中，关键残基取代位于该可变轻链区内并且是I2V。

[0036] 一方面，本发明提供了抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，与hB7-H3结合，包含重链可变区和轻链可变区，该重链可变区包含SEQ ID NO:25、26、和27的CDR组，该轻链可变区包含SEQ ID NO:29、30、和31的CDR组。在一个实施例中，抗B7-H3抗体或其抗原结合部分是人源化的。在一个实施例中，抗B7-H3抗体或其抗原结合部分进一步包含人受体框架。

[0037] 在一个实施例中，人受体框架包含选自由SEQ ID NO:155至158组成的组的氨基酸序列。在一个实施例中，人受体框架包含至少一个框架区氨基酸取代。在一个实施例中，该框架的氨基酸序列与所述人受体框架的序列具有至少65％同一性且包含至少70个与所述人受体框架同一的氨基酸残基。在一个实施例中，该框架的氨基酸序列与人受体框架的序列具有至少85％同一性、90％同一性、95％同一性、96％同一性、97％同一性、98％同一性、或99％同一性且包含至少70、至少75、至少80、或至少85个与人受体框架同一的氨基酸残基。

[0038] 在一个实施例中，人受体框架包含至少一个在关键残基处的框架区氨基酸取代，所述关键残基选自由以下组成的组：与CDR相邻的残基；糖基化位点残基；稀有残基；能够与人B7-H3相互作用的残基；能够与CDR相互作用的残基；典型残基；介于重链可变区与轻链可变区之间的接触残基；游标区内的残基；和在Chothia定义的可变重链CDR1与Kabat定义的第一重链框架之间重叠的区域中的残基。在一个实施例中，关键残基选自下组，该组由以下组成：69H、46L、47L、64L、和71L。在一个实施例中，关键残基取代位于该可变重链区内并且是L69I。在一个实施例中，关键残基取代位于该可变轻链区内并且选自下组，该组由以下组成：L46P、L47W、G64V、和F71H。

[0039] 一方面，本发明提供了抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分，包含含有如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的重链CDR1、含有如SEQ ID NO:140所示的氨基酸序列的重链CDR2、含有如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的重链CDR3、含有如SEQ ID NO:136或138所示的氨基酸序列的轻链CDR1、含有如SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列的轻链CDR2、以及含有如SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的轻链CDR3。

[0040] 另一方面，本发明提供了抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分，包含含有如SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列的重链CDR1、含有如SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列的重链CDR2、

含有如SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的重链CDR3、含有如SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的轻链CDR1、含有如SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的轻链CDR2、以及含有如SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的轻链CDR3。

[0041] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分包含含有如SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列的重链可变域以及含有如SEQ ID NO:135所示的氨基酸序列的轻链可变域。

[0042] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分包含重链和/或轻链，该重链包含与SEQ ID NO:139具有至少90％、95％、96％、97％、98％、或99％同一性的氨基酸序列，该轻链包含与SEQ ID NO:135具有至少90％、95％、96％、97％、98％、或99％同一性的氨基酸序列。

[0043] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分包含含有如SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列的重链可变域以及含有如SEQ ID NO:137所示的氨基酸序列的轻链可变域。

[0044] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分包含重链和/或轻链，该重链包含与SEQ ID NO:139具有至少90％、95％、96％、97％、98％、或99％同一性的氨基酸序列，该轻链包含与SEQ ID NO:137具有至少90％、95％、96％、97％、98％、或99％同一性的氨基酸序列。

[0045] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分包含含有如SEQ ID NO:147所示的氨基酸序列的重链可变域以及含有如SEQ ID NO:144所示的氨基酸序列的轻链可变域。

[0046] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分包含重链和/或轻链，该重链包含与SEQ ID NO:147具有至少90％、95％、96％、97％、98％、或99％同一性的氨基酸序列，该轻链包含与SEQ ID NO:144具有至少90％、95％、96％、97％、98％、或99％同一性的氨基酸序列。

[0047] 一方面，本发明提供了抗hB7-H3抗体，包含含有如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的重链CDR1、含有如SEQ ID NO:140所示的氨基酸序列的重链CDR2、含有如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的重链CDR3、含有如SEQ ID NO:136或138所示的氨基酸序列的轻链CDR1、含有如SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列的轻链CDR2、以及含有如SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的轻链CDR3。

[0048] 另一方面，本发明提供了抗hB7-H3抗体，包含含有如SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列的重链CDR1、含有如SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列的重链CDR2、含有如SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的重链CDR3、含有如SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的轻链CDR1、含有如SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的轻链CDR2、以及含有如SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的轻链CDR3。

[0049] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体包含含有如SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列的重链可变域以及含有如SEQ ID NO:135所示的氨基酸序列的轻链可变域。

[0050] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体包含重链和/或轻链，该重链包含与SEQ ID NO:139具有至少90％、95％、96％、97％、98％、或99％同一性的氨基酸序列，该轻链包含与SEQ ID NO:135具有至少90％、95％、96％、97％、98％、或99％同一性的氨基酸序列。

[0051] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体包含含有如SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列的重链可变域以及含有如SEQ ID NO:137所示的氨基酸序列的轻链可变域。

[0052] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体包含重链和/或轻链，该重链包含与SEQ ID NO:139具有至少90％、95％、96％、97％、98％、或99％同一性的氨基酸序列，该轻链包含与SEQ ID NO:137具有至少90％、95％、96％、97％、98％、或99％同一性的氨基酸序列。

[0053] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体包含含有如SEQ ID NO:147所示的氨基酸序列的重链可变域以及含有如SEQ ID NO:144所示的氨基酸序列的轻链可变域。

[0054] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体包含重链和/或轻链，该重链包含与SEQ ID NO:147具有至少90％、95％、96％、97％、98％、或99％同一性的氨基酸序列，该轻链包含与SEQ ID NO:144具有至少90％、95％、96％、97％、98％、或99％同一性的氨基酸序列。

[0055] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分包含对应于抗体huAb13v1的重链CDR集，和对应于抗体huAb13v1的轻链CDR集。在一个实施例中，抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分包含对应于抗体huAb13v1的重链可变区，和对应于抗体huAb13v1的轻链可变区。

[0056] 在一个实施例中，抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分包含对应于抗体huAb3v2.5的重链CDR集，和对应于抗体huAb3v2.5的轻链CDR集。在一个实施例中，抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分包含对应于抗体huAb3v2.5的重链可变区，和对应于抗体huAb3v2.5的轻链可变区。

[0057] 在一个实施例中，抗体或其抗原结合部分结合食蟹猴B7-H3。

[0058] 在一个实施例中，抗体或其抗原结合部分与hB7-H3具有选自下组的解离常数(K_D)，该组由以下组成：最高约10^{-7}M；最高约10^{-8}M；最高约10^{-9}M；最高约10^{-10}M；最高约10^{-11}M；最高约10^{-12}M；以及最高约10^{-13}M。

[0059] 在一个实施例中，抗体或其抗原结合部分包含人IgM恒定域、人IgG1恒定域、人IgG2恒定域、人IgG3恒定域、人IgG4恒定域、人IgA恒定域或人IgE恒定域的重链免疫球蛋白恒定域。

[0060] 在一个实施例中，抗体是具有四条多肽链的IgG，该四条多肽链是两条重链和两条轻链。

[0061] 在一个实施例中，抗体或其抗原结合部分包含重链免疫球蛋白恒定区结构域，其是人IgG1恒定域。在一个实施例中，人IgG1恒定域包含SEQ ID NO:159或SEQ ID NO:160的氨基酸序列。

[0062] 一方面，本发明提供了与人B7-H3(hB7-H3)结合的分离的抗体或其抗原结合部分，其中该抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:168的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的轻链。

[0063] 一方面，本发明提供了与人B7-H3(hB7-H3)结合的分离的抗体或其抗原结合部分，其中该抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:170的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:171的氨基酸序列的轻链。

[0064] 一方面，本发明提供了与人B7-H3(hB7-H3)结合的分离的抗体或其抗原结合部分，其中该抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:172的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:173的氨基酸序列的轻链。

[0065] 在一个实施例中，抗体或其抗原结合部分进一步包含含有人Igκ恒定域或人Igλ恒

定域的轻链免疫球蛋白恒定域。

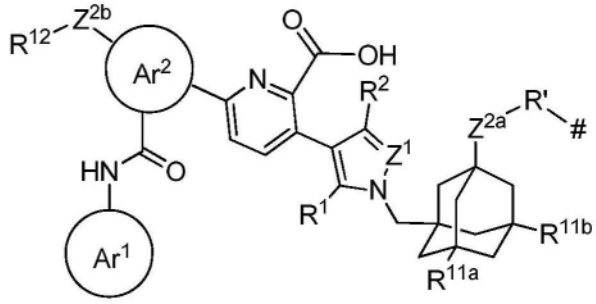
[0066] 在一个实施例中,抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分与本文披露的抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分中的任一者的抗体或其抗原结合部分竞争。

[0067] 一方面,本发明提供了药物组合物,其包含如本文披露的抗hB7-H3抗体或其抗原结合部分,以及药学上可接受的载体。

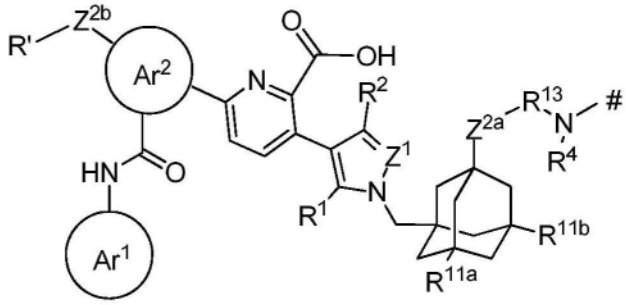
[0068] 另一方面,本发明提供了抗hB7-H3抗体药物偶联物(ADC),其包含通过接头与药物偶联的如本文披露的抗hB7-H3抗体。在一个实施例中,药物是澳瑞他汀(auristatin)或吡咯并苯并二氮杂䓬(PBD)。在一个实施例中,药物是Bcl-xL抑制剂。

[0069] 一方面,本发明提供了抗hB7-H3抗体药物偶联物(ADC),其包含经由接头与抗-人B7-H3(hB7-H3)抗体连接的药物,其中该药物是根据结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)、或(IId)的Bcl-xL抑制剂:

(IIa)

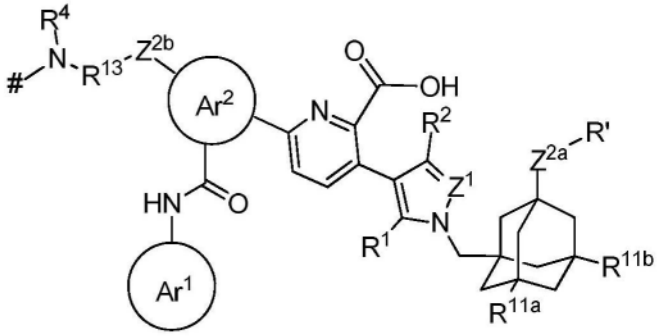


(IIb)

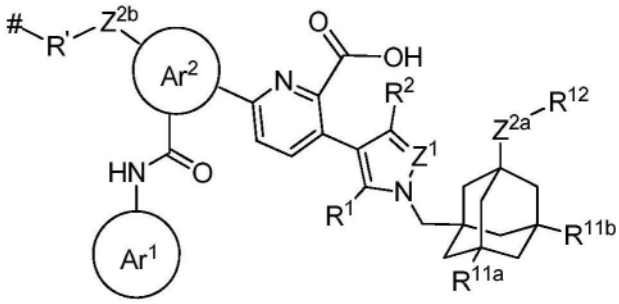


[0070]

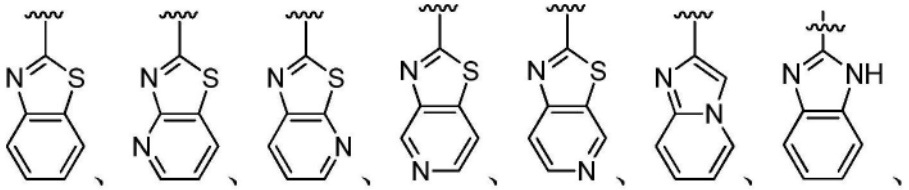
(IIc)

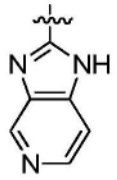
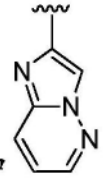


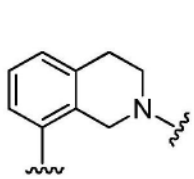
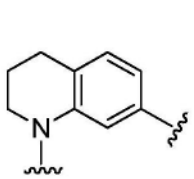
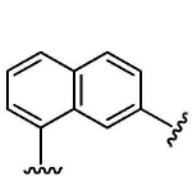
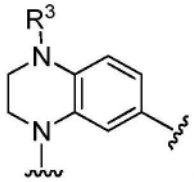
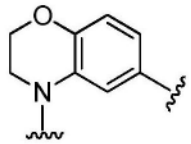
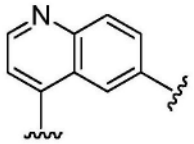
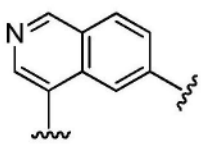
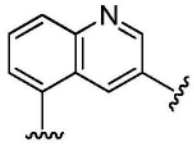
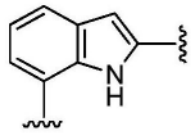
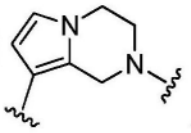
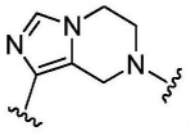
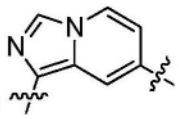
(IId)

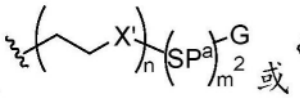
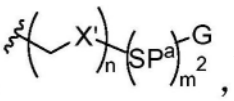


[0071] 其中：

[0072] Ar^1 选自  、、、、、、、

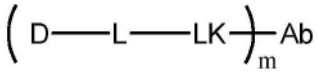

、和

，并且任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代：卤基、羟基、硝基、低级烷基、低级杂烷基、C_{1-4}烷氧基、氨基、氰基和卤代甲基；

[0073] Ar^2选自

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、和

或其N-氧化物，并且任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代：卤基、羟基、硝基、低级烷基、低级杂烷基、C_{1-4}烷氧基、氨基、氰基和卤代甲基，其中R^{12}-Z^{2b}-、R'-Z^{2b}-、#-N(R^4)-R^{13}-Z^{2b}-、或#-R'-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能够被取代的原子处附接至Ar^2；Z^1选自N、CH、C-卤基、C-CH_3和C-CN；Z^{2a}和Z^{2b}各自彼此独立地选自键、NR^6、$CR^{6a}R^{6b}$、O、S、S(O)、$S(O)_2$、-NR^6C(O)-、-NR^{6a}C(O)NR^{6b}-、和-NR^6C(O)O-；

[0074] R'是

或

，其中在附接至R'的情况下，#在R'的任何能够被取代的原子处附接至R'；X'在每次出现时选自-N(R^{10})-、-N(R^{10})C(O)-、-N(R^{10})$S(O)_2$-、-$S(O)_2$N(R^{10})-、和-O-；n选自0-3；R^{10}在每次出现时独立地选自氢、低级烷基、杂环、氨基烷基、G-烷基、和-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH_2；G在每次出现时独立地选自多元醇、具有4至30个之间的重复单元的聚乙二醇、盐、和在生理pH下带电的部分；SP^a在每次出现时独立地选自氧、-$S(O)_2$N(H)-、-N(H)$S(O)_2$-、-N(H)C(O)-、-C(O)N(H)-、-N(H)-、亚芳基、亚杂环、和任选地取代的亚甲基；其中亚甲基任选地被-$NH(CH_2)_2$G、NH_2、C_{1-8}烷基、和羰基中的一个或多个取代；m^2选自0-12；R^1选自氢、甲基、卤基、卤代甲基、乙基、和氰基；R^2选自氢、甲基、卤基、卤代甲基和氰基；R^3选自氢、甲基、乙基、卤代甲基和卤代乙基；R^4选自氢、低级烷基和低级杂烷基，或与R^{13}的原子一起形成具有3至7个之间的环原子的环烷基环或杂环基环；R^6、R^{6a}和R^{6b}各自彼此独立地选自氢、任选地取代的低级烷基、任选地取代的低级杂烷基、任选地取代的环烷基和任选地取代的杂环基，或与来自R^4的原子和来自R^{13}的原子一起形成具有3至7之间的环原子的环烷基环或杂环基环；R^{11a}和R^{11b}各自彼此独立地选自氢、卤基、甲基、乙基、卤代甲基、羟基、甲氧基、CN、和SCH_3；R^{12}任选地是R'或是选自氢、卤基、氰基、任选地取代的烷基、任选地取代的杂烷基、任选地取代的杂环基、和任选地取代的环烷基；R^{13}选自任选地取代的C_{1-8}亚烷基、任选地取代的杂亚烷基、任选地取代的亚杂环、和任选地取代的亚环烷

基;并且#代表与接头的附接点;并且其中抗hB7-H3抗体与B7-H3(SEQ ID NO:149)结合,解离常数(Kd)为约1×10^{-6}M或更低。在又一个实施例中,抗体包含含有SEQ ID NO:147中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列的轻链可变区;该抗体与B7-H3(SEQ ID NO:149)结合,解离常数(Kd)为约1×10^{-6}M或更低,如通过表面等离子体共振所测量的;和/或该抗体在体内人小细胞肺癌(SCLC)异种移植测定中抑制肿瘤生长,相对于对B7-H3不具有特异性的人IgG抗体(其中人IgG抗体以与抗hB7-H3抗体相同的剂量和频率在SCLC异种移植测定中给予),肿瘤生长抑制%(TGI%)至少约为50%。

[0075] 在一个实施例中,ADC是根据结构式(I)的化合物:

[0076] (I) 

[0077] 其中D是式(IIa)、(IIb)、(IIc)或(IId)的Bcl-xL抑制剂药物;L是接头;Ab是抗hB7-H3抗体;LK代表将接头(L)连接至抗hB7-H3抗体(Ab)的共价键;并且m是范围从1至20的整数。

[0078] 在一个实施例中,G在每次出现时是盐或在生理pH下带电的部分。

[0079] 在一个实施例中,G在每次出现时是羧酸盐、磺酸盐、膦酸盐、或铵盐。

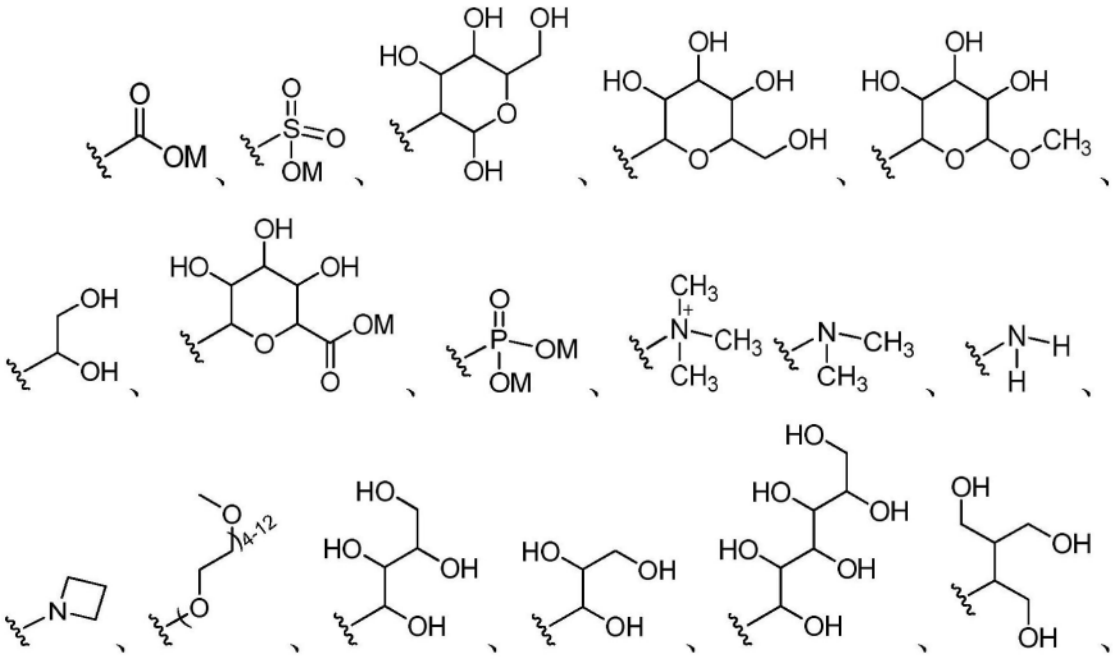
[0080] 在一个实施例中,G在每次出现时是选自下组的在生理pH下带电的部分,该组由以下组成:羧酸盐、磺酸盐、膦酸盐、和胺。

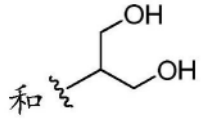
[0081] 在一个实施例中,G在每次出现时是包含具有4和30个之间的重复单元的聚乙二醇的部分或是包含多元醇的部分。

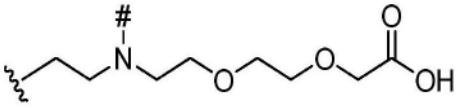
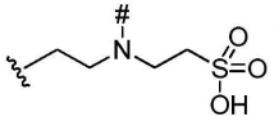
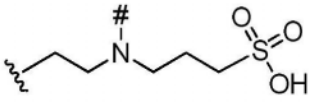
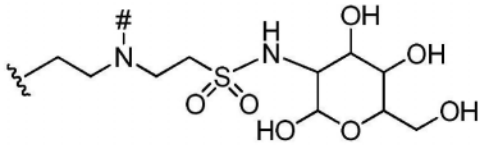
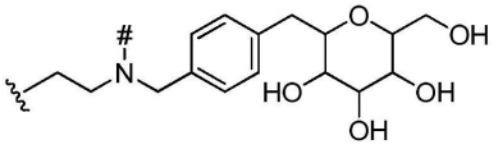
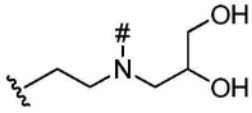
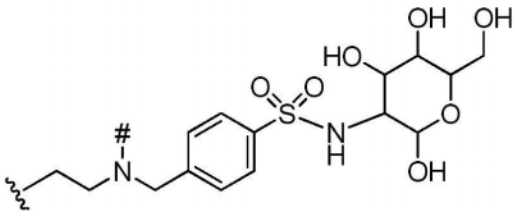
[0082] 在一个实施例中,多元醇是糖。

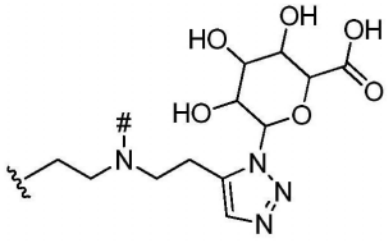
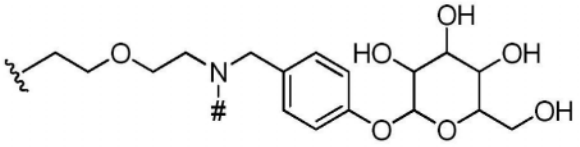
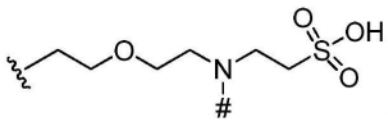
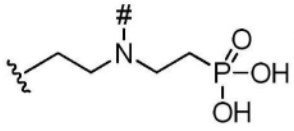
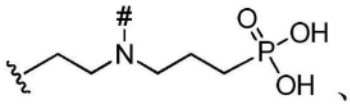
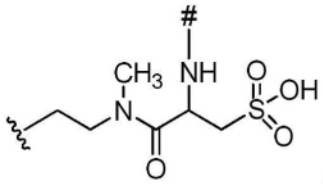
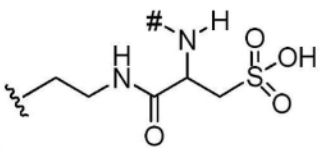
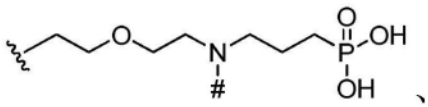
[0083] 在一个实施例中,ADC是具有式(IIa)或式(IId)的ADC,并且R'包括适合于附接至接头的至少一个可取代的氮。

[0084] 在一个实施例中,G在每次出现时选自:

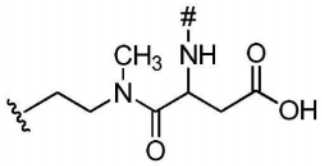
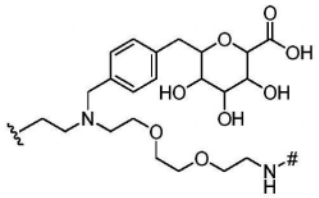
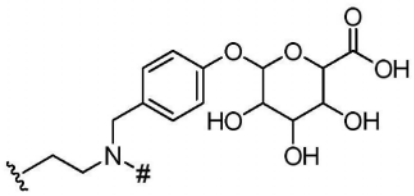
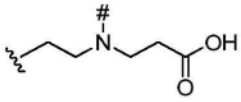
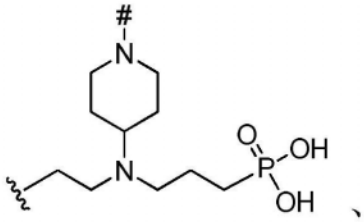
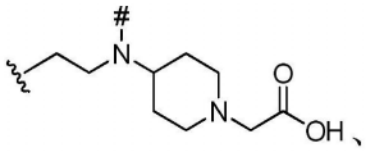
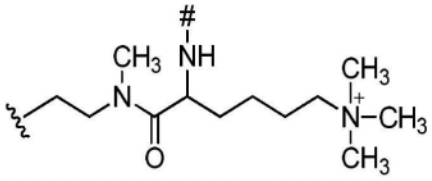
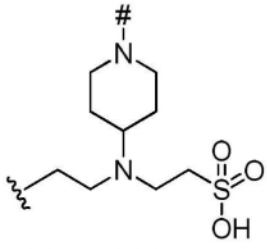
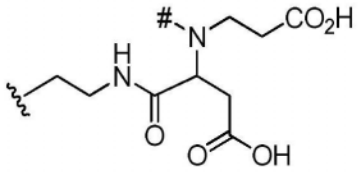
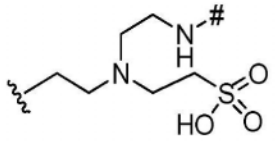
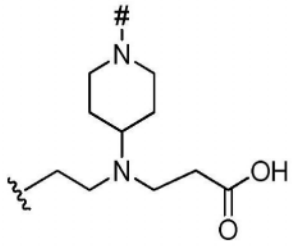
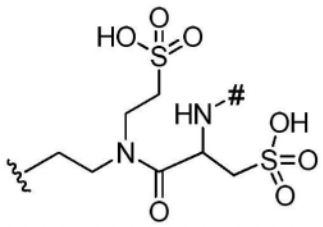
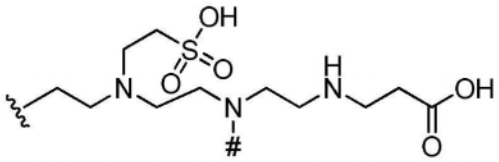
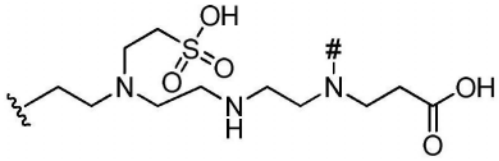
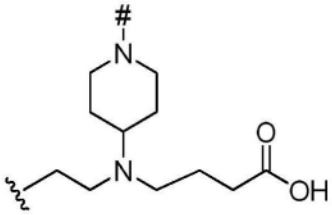
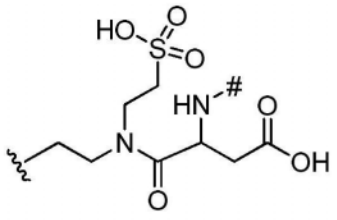
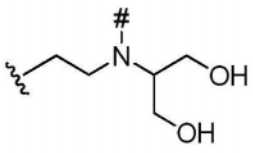
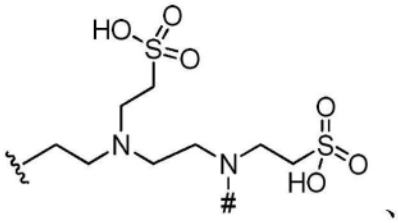
[0085] 

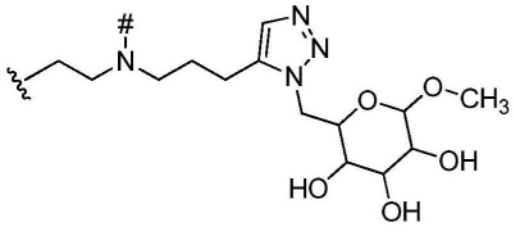
和  ，其中M是氢或带正电的反离子。

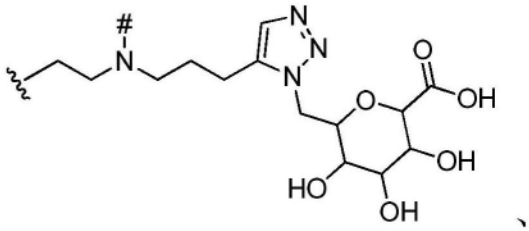
[0086] 在一个实施例中，R’选自  、  、  、  、  、  、  、

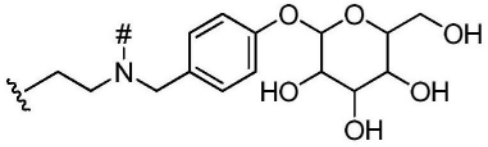
[0087]  、  、  、  、  、  ，  、  、

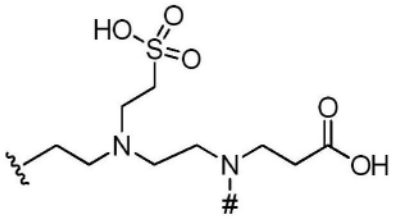
[0088]

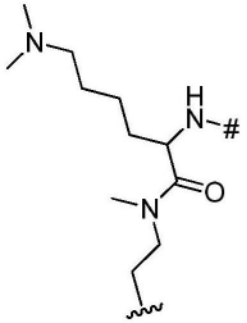

、

、


、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

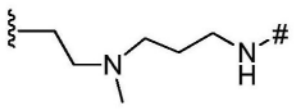


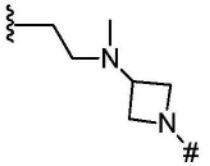




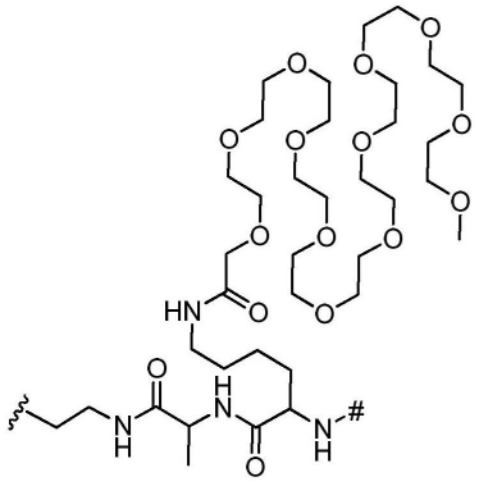


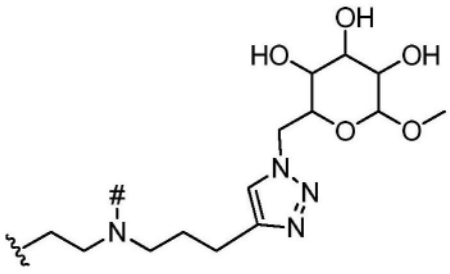


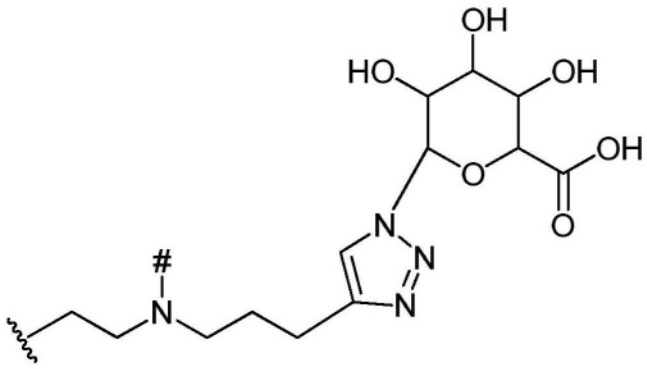


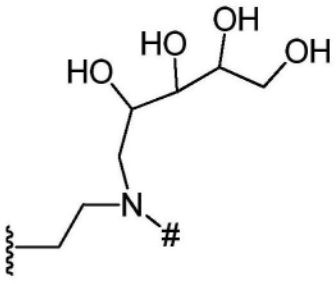


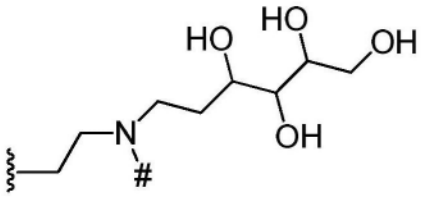
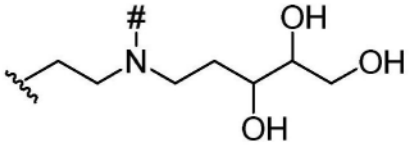
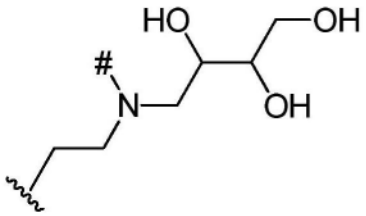
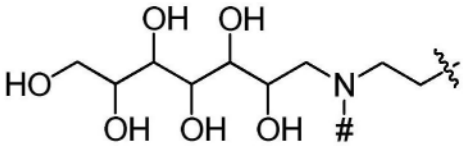
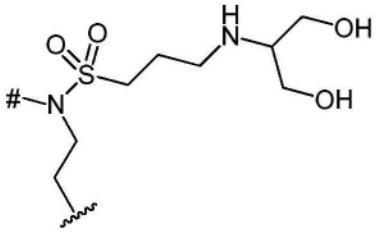
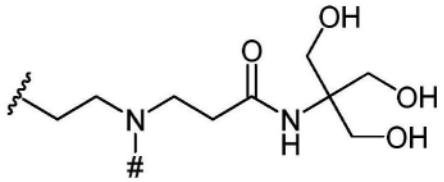
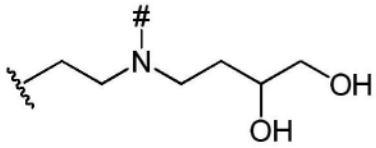
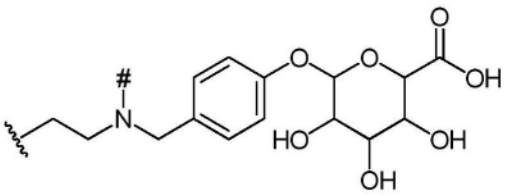
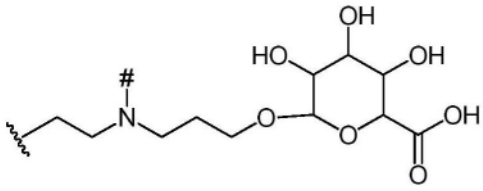
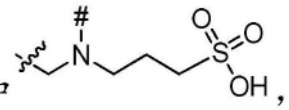
[0089]



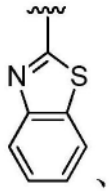
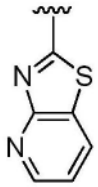
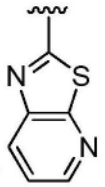


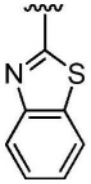


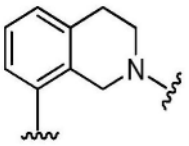


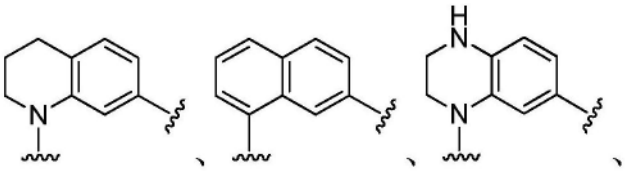
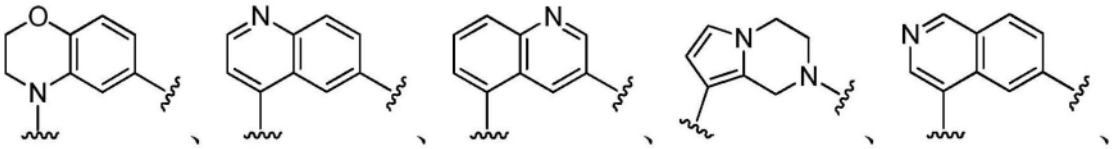
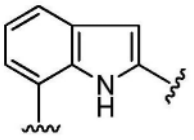
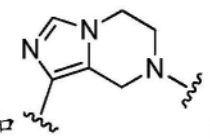











其中#代表具有式(IIb)或(IIc)的ADC的Bcl-xL抑制剂药物中的氢原子或具有式(IIa)或(IId)的ADC的Bcl-xL抑制剂药物中与接头L的附接点。

[0090] 在一个实施例中，Ar^1选自  、  、和  ，并且任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代：卤基、氰基、甲基、和卤代甲基。

[0091] 在一个实施例中，Ar^1是  。

[0092] 在一个实施例中，Ar^2是任选地被一个或多个取代基取代的  。

[0093] 在一个实施例中，Ar^2选自  、  、  、  并且任选地被一个或多个取代基取代。

[0094] 在一个实施例中，Ar^2被一个或多个增溶基团取代。

[0095] 在一个实施例中，每个增溶基团彼此独立地选自包含多元醇、具有4至30个之间的重复单元的聚乙二醇、盐的部分，或在生理pH下带电的部分。

[0096] 在一个实施例中，Ar^2被一个或多个增溶基团取代。

[0097] 在一个实施例中，每个增溶基团彼此独立地选自包含多元醇、具有4至30个之间的重复单元的聚乙二醇、盐的部分，或在生理pH下带电的部分。

[0098] 在一个实施例中，Z^1是N。

[0099] 在一个实施例中，Z^{2a}是O。

[0100] 在一个实施例中，R^1是甲基或氯。

[0101] 在一个实施例中，R^2是氢或甲基。

[0102] 在一个实施例中，R^2是氢。

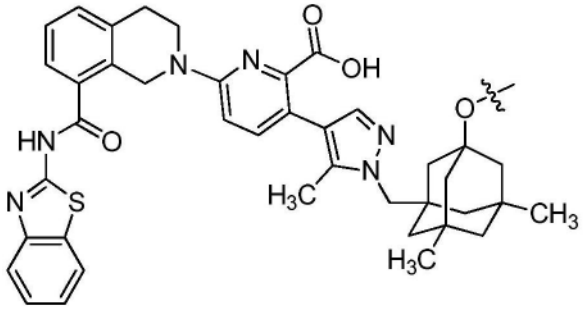
[0103] 在一个实施例中，Z^{2b}是O。

[0104] 在一个实施例中，Z^{2b}是NH或CH_2。

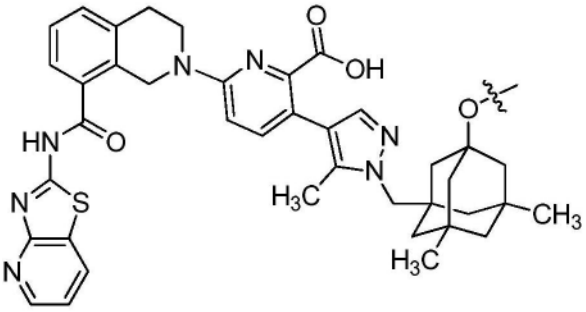
[0105] 在一个实施例中，ADC是根据结构式(IIa)的化合物。

[0106] 在一个实施例中，ADC是根据结构式(IIa)的化合物，其包含选自结构(C.1)-(C.21)的核：

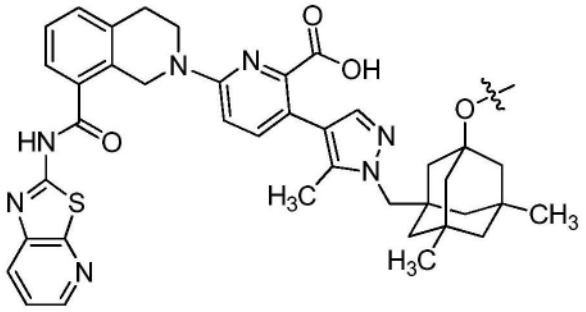
(C.1)



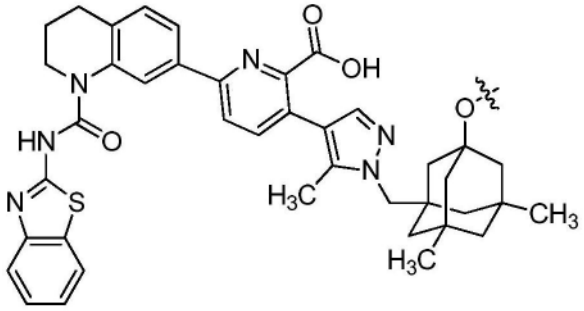
[0107] (C.2)



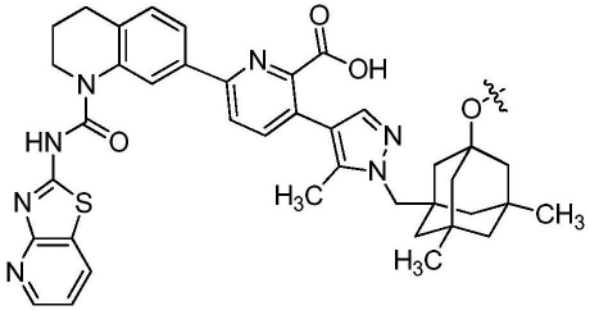
(C.3)



(C.4)

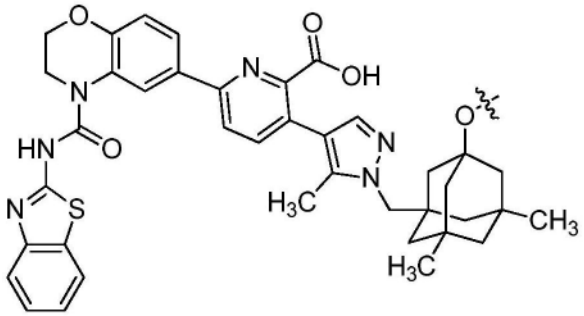


(C.5)

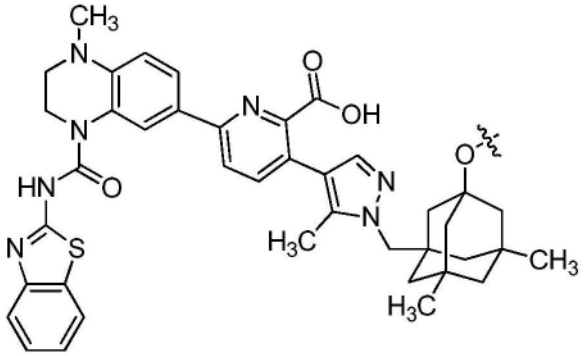


[0108]

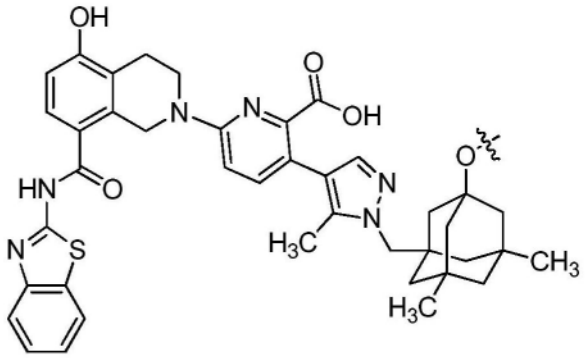
(C.6)



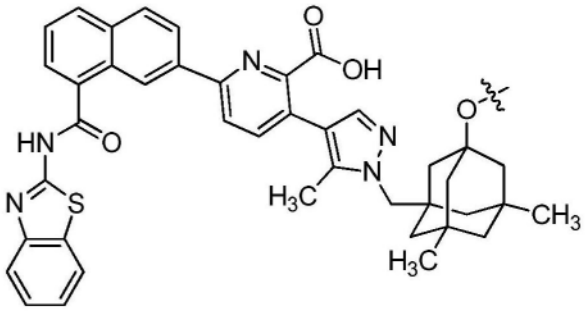
(C.7)



(C.8)

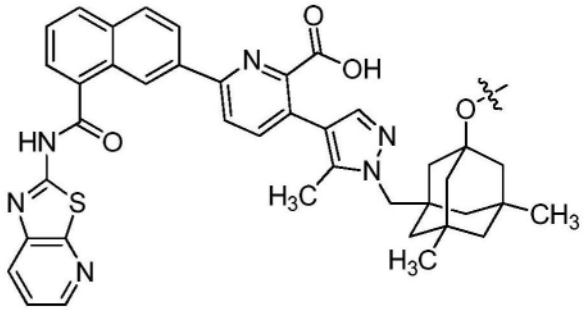


(C.9)

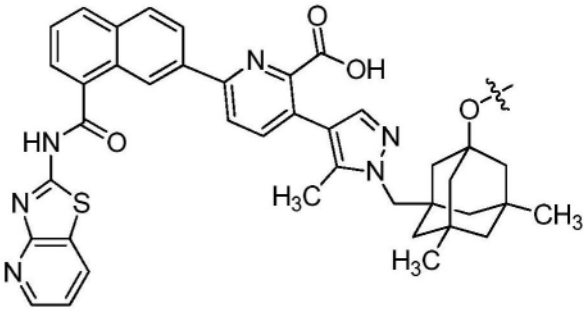


[0109]

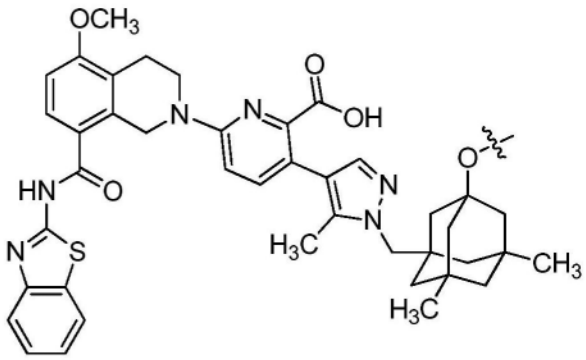
(C.10)



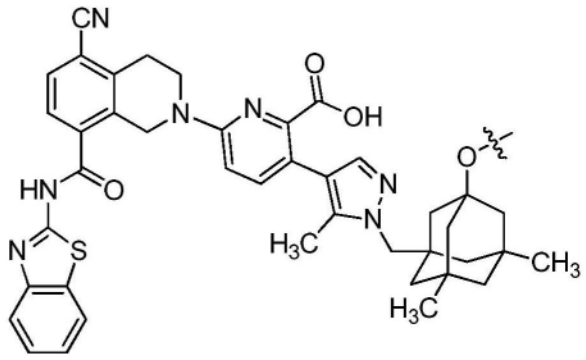
(C.11)



(C.12)

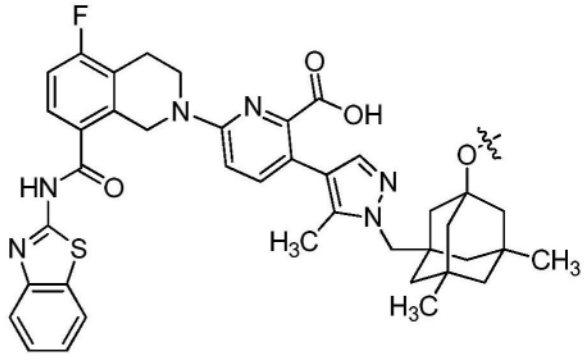


(C.13)

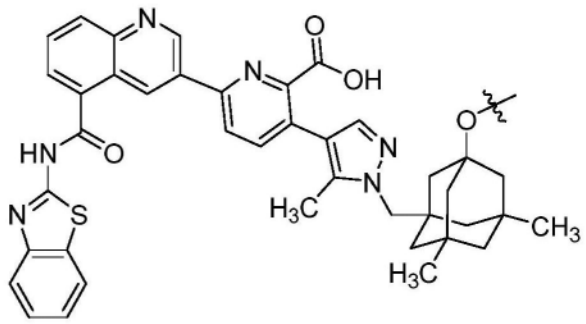


[0110]

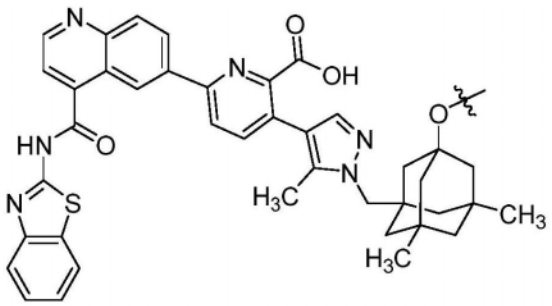
(C.14)



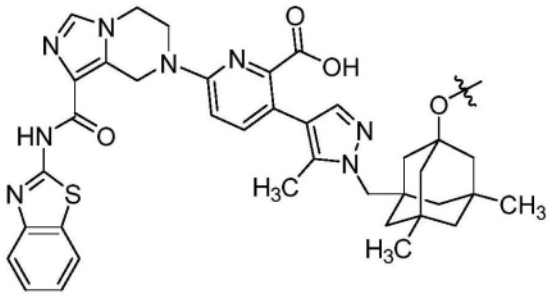
(C.15)



(C.16)

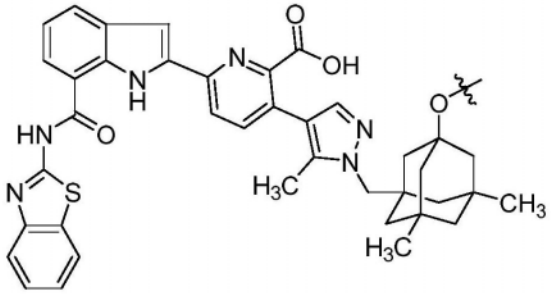


(C.17)

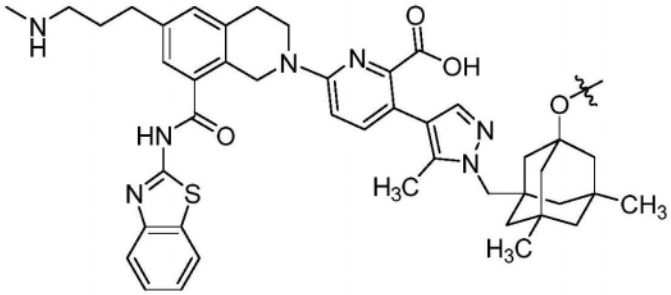


[0111]

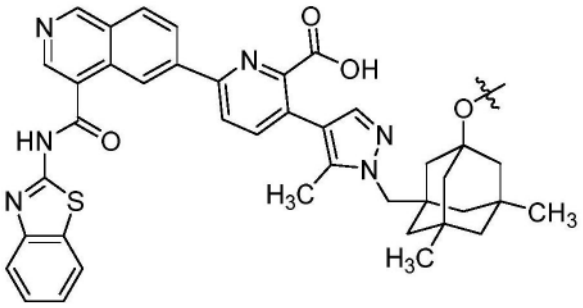
(C.18)



(C.19)

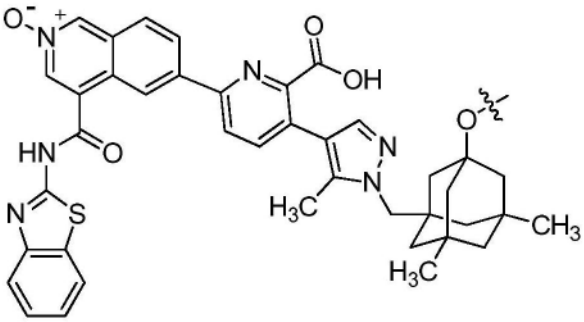


(C.20)



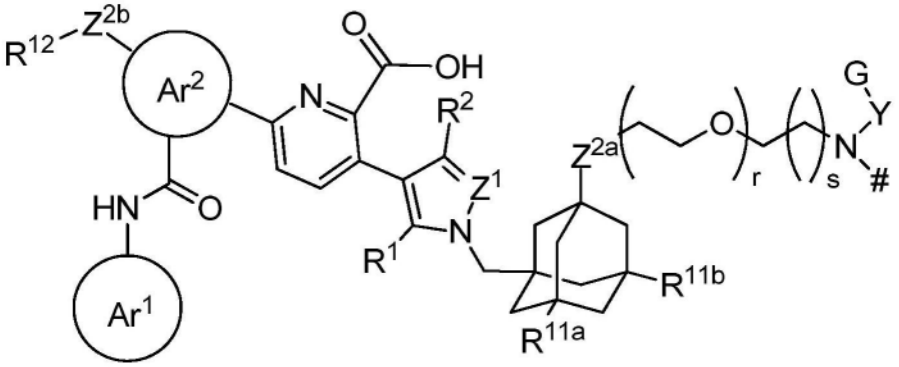
[0112]

(C.21)



[0113] 在一个实施例中,ADC是根据结构式(IIa.1)的化合物:

[0114]

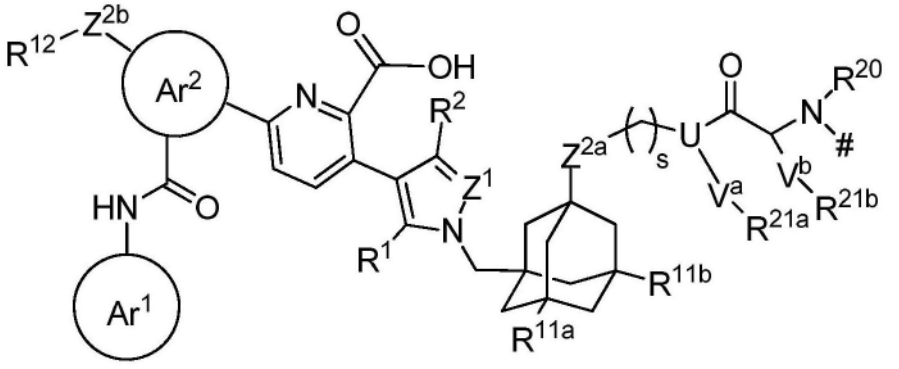


(IIa.1)

[0115] 其中Y是任选地取代的C_1-C_8亚烷基;r是0或1;并且s是1、2或3。

[0116] 在一个实施例中,ADC是根据结构式(IIa.2)的化合物:

[0117]

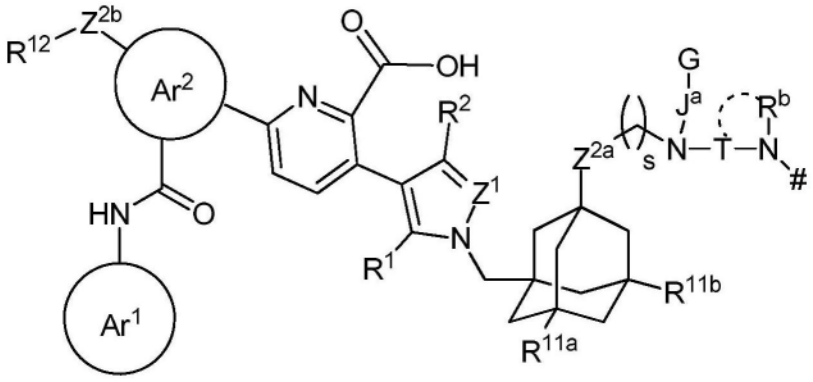


(IIa.2)

[0118] 其中U选自N、O和CH,其条件是当U是O时,则V^a和R^{21a}不存在;R^{20}选自H和C_1-C_4烷基;R^{21a}和R^{21b}各自彼此独立地是不存在或是选自H、C_1-C_4烷基和G,其中G选自多元醇、PEG4-30、

盐、和在生理pH下带电的部分；V^a和V^b各自彼此独立地是不存在或是选自键和任选地取代的亚烷基；R^{20}选自H和C_1-C_4烷基；并且s是1、2或3。

[0119] 在一个实施例中，ADC是根据结构式(IIa.3)的化合物：

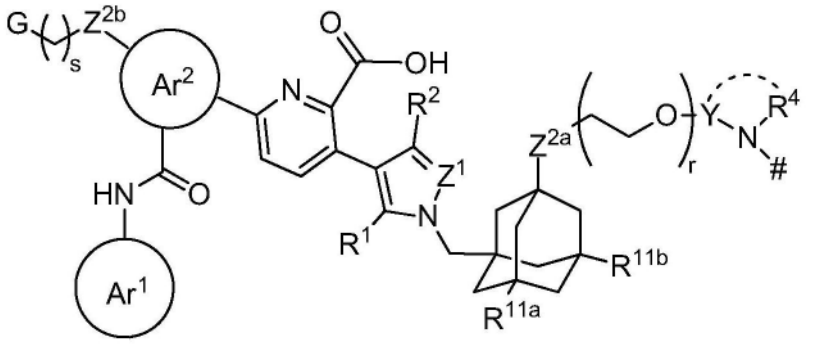
[0120] 

(IIa.3)

[0121] 其中R^b选自H、C_1-C_4烷基和J^b-G或任选地与T的原子一起形成具有3至7个之间的原子的环；J^a和J^b各自彼此独立地选自任选地取代的C_1-C_8亚烷基和任选地取代的亚苯基；T选自任选地取代的C_1-C_8亚烷基、$CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2$、$CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2$和包含从4至10个乙二醇单元的聚乙二醇；G选自多元醇、PEG4-30、盐、和在生理pH下带电的部分；并且s是1、2或3。

[0122] 在一个实施例中，ADC是根据结构式(IIb)的化合物。

[0123] 在一个实施例中，ADC是根据结构式(IIb.1)的化合物：

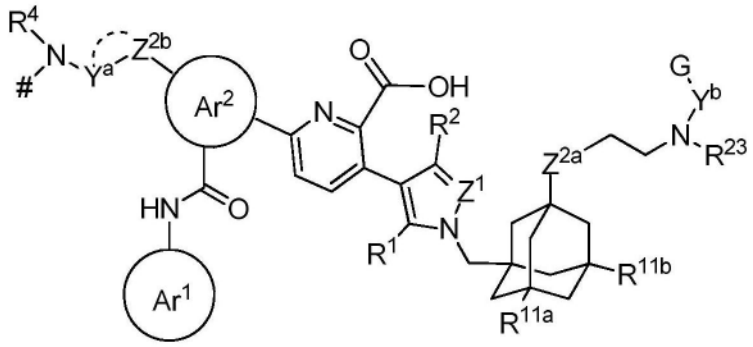
[0124] 

(IIb.1)

[0125] 其中Y是任选地取代的C_1-C_8亚烷基；G选自多元醇、PEG4-30、盐、和在生理pH下带电的部分；r是0或1；并且s是1、2或3。

[0126] 在一个实施例中，ADC是根据结构式(IIc)的化合物。

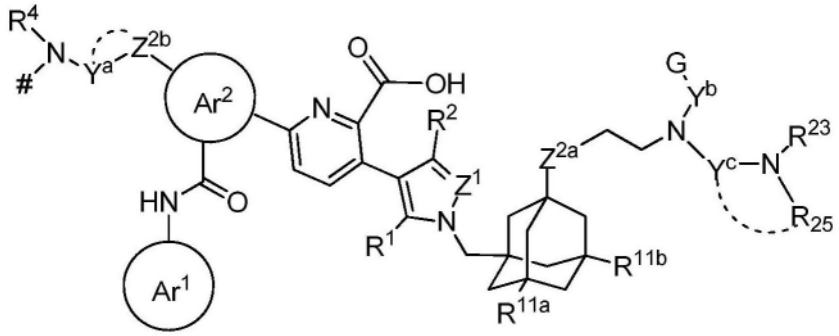
[0127] 在一个实施例中，ADC是根据结构式(IIc.1)的化合物：

[0128] 

(IIc.1)

[0129] 其中Y^a是任选地取代的C_1-C_8亚烷基;Y^b是任选地取代的C_1-C_8亚烷基;R^{23}选自H和C_1-C_4烷基;并且G选自多元醇、PEG4-30、盐、和在生理pH下带电的部分。

[0130] 在一个实施例中,ADC是根据结构式(IIc.2)的化合物:

[0131] 

(IIc.2)

[0132] 其中Y^a是任选地取代的C_1-C_8亚烷基;Y^b是任选地取代的C_1-C_8亚烷基;Y^c是任选地取代的C_1-C_8亚烷基;R^{23}选自H和C_1-C_4烷基;R^{25}是Y^b-G或与Y^c的原子一起形成具有4-6个环原子的环;并且G选自多元醇、PEG4-30、盐、和在生理pH下带电的部分。

[0133] 在一个实施例中,Bcl-xL抑制剂选自由以下化合物组成的组,对这些化合物的修饰在于:对应于结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)、或(IId)的#位置的氢不存在,从而形成单价基团:

[0134] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({2-[2-(羧基甲氧基)乙氧基]乙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;

[0135] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0136] 2-{[(2-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}乙基)磺酰基]氨基}-2-脱氧-D-吡喃葡萄糖;

[0137] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(4-{[(3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基]甲基}苄基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-

甲酸；

[0138] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0139] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2,3-二羟基丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0140] 2-({[4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}甲基)苯基]磺酰基}氨基)-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖；

[0141] 8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-{6-羧基-5-[1-({3-[2-({2-[1-(β-D-吡喃葡糖醛酸基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]乙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-基}-1,2,3,4-四氢异喹啉；

[0142] 3-[1-({3-[2-(2-{[4-(β-D-别吡喃糖基氧基)苄基]氨基}乙氧基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸；

[0143] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-(2-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸；

[0144] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-膦酰基乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0145] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0146] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0147] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0148] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-(2-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸；

[0149] 3-{1-[(3-{2-[L-α-天冬氨酰(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸；

[0150] 6-{4-[({2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙基}[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻

唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基)甲基]苄基}-2,6-脱水-L-古洛糖酸;

[0151] 4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}甲基)苯基己吡喃糖醛酸;

[0152] 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-膦酰基乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0153] 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0154] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0155] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0156] 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0157] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0158] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0159] 3-{1-[(3-{2-[D-α-天冬氨酰(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0160] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[1-(羧甲基)哌啶-4-基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[0161] N-[(5S)-5-氨基-6-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基}-6-氧代己基]-N,N-二甲基甲铵;

[0162] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[哌啶-4-基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0163] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;

[0164] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[N-(2-羧乙基)-L-α-天冬氨酰]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[0165] 3-{1-[(3-{2-[(2-氨乙基)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0166] 6-[5-(2-氨基乙氧基)-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;

[0167] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0168] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0169] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺基-L-丙氨酰)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0170] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[{2-[(2-羧乙基)氨基]乙基}(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0171] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0172] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0173] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;

[0174] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-羧基丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0175] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0176] 3-{1-[(3-{2-[L-α-天冬氨酰(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0177] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(1,3-二羟基丙烷-2-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0178] 6-[5-(2-氨基乙氧基)-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0179] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0180] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基){2-[(2-磺乙基)氨基]乙基}氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0181] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0182] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0183] 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-1,4-苯并噁嗪-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0184] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-磺基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;

[0185] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸;

[0186] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]吡啶-2-甲酸;

[0187] (1ξ)-1-({2-[5-(1-{[3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-羧基吡啶-2-基]-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基}甲基)-1,5-脱水-D-葡萄糖醇;

[0188] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-羧基丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0189] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0190] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[4-(β-D-吡喃葡糖基氧基)苄基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[0191] 3-(1-{[3-(2-{[4-(β-D-别吡喃糖基氧基)苄基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0192] 3-{1-[(3-{2-[氮杂环丁-3-基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0193] 3-{1-[(3-{2-[(3-氨基丙基)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0194] 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0195] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(N^6,N^6-二甲基-L-赖氨酰基)(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0196] 3-{1-[(3-{2-[(3-氨基丙基)(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸;

[0197] 3-{1-[(3-{2-[氮杂环丁-3-基(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸;

[0198] N^6-(37-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-L-赖氨酰基-N-[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]-L-丙氨酰胺;

[0199] 甲基6-[4-(3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}丙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]-6-脱氧-β-L-吡喃葡萄糖苷;

[0200] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0201] 6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-

[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0202] 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0203] 6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0204] 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0205] 8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-{6-羧基-5-[1-({3-[2-({3-[1-(β-D-吡喃葡糖醛酸基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-基}-1,2,3,4-四氢异喹啉；

[0206] 6-[7-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吲哚-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0207] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-6-[3-(甲氨基)丙基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0208] 5-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-5-脱氧-D-阿拉伯糖醇；

[0209] 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-1,2-双脱氧-D-阿拉伯-己糖醇；

[0210] 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)异喹啉-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0211] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[3-羟基-2-(羟甲基)丙基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸；

[0212] 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-1,2-双脱氧-D-赤-戊五醇；

[0213] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-(2-{[(2S,3S)-2,3,4-三羟基丁基]氨基}乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸；

[0214] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-

(2-{[(2S,3S,4R,5R,6R)-2,3,4,5,6,7-六羟基庚基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[0215] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[({3-[(1,3-二羟基丙烷-2-基)氨基]丙基}磺酰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0216] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-{[1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙烷-2-基]氨基}-3-氧丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0217] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[0218] 4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}甲基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸;

[0219] 3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}丙基β-D-吡喃葡糖苷酸;

[0220] 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-氧化异喹啉-6-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;

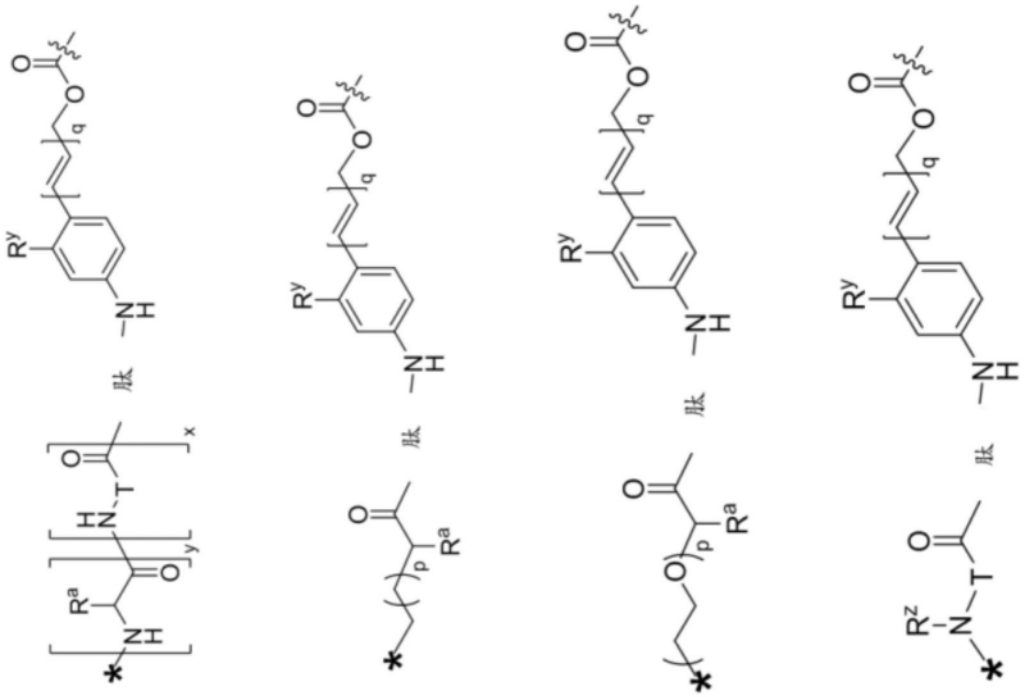
[0221] 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙酰胺基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0222] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-({2-[(2-磺乙基)氨基]乙基}硫烷基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;以及

[0223] 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{3-[(2-磺乙基)氨基]丙基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸。

[0224] 在一个实施例中,接头是可被溶酶体酶裂解的。在一个实施例中,溶酶体酶是组织蛋白酶B。

[0225] 在一个实施例中,接头包含根据结构式(IVa)、(IVb)、(IVc)、或(IVd)的区段:

[0226] 

(IVa) (IVb) (IVc) (IVd)

[0227] 其中肽代表可被溶酶体酶裂解的肽(示例为N→C,其中肽包括氨基和羧基“末端”);T代表包含一个或多个乙二醇单元或亚烷基链或其组合的聚合物;

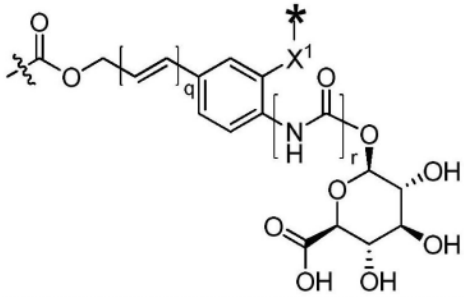
[0228] R^a选自氢、C_{1-6}烷基、SO_3H和CH_2SO_3H;R^y是氢或C_{1-4}烷基-(O)$_r$-(C_{1-4}亚烷基)$_s$-G^1或C_{1-4}烷基-(N)-[(C_{1-4}亚烷基)-G^1]$_2$;R^z是C_{1-4}烷基-(O)$_r$-(C_{1-4}亚烷基)$_s$-G^2;G^1是SO_3H、CO_2H、PEG4-32、或糖部分;G^2是SO_3H、CO_2H、或PEG4-32部分;r是0或1;s是0或1;p是范围从0至5的整数;q是0或1;x是0或1;y是0或1;~代表该接头与该Bcl-xL抑制剂的附接点;并且*代表与该接头的其余部分的附接点。

[0229] 在一个实施例中,肽选择下组,该组由以下组成:Val-Cit;Cit-Val;Ala-Ala;Ala-Cit;Cit-Ala;Asn-Cit;Cit-Asn;Cit-Cit;Val-Glu;Glu-Val;Ser-Cit;Cit-Ser;Lys-Cit;Cit-Lys;Asp-Cit;Cit-Asp;Ala-Val;Val-Ala;Phe-Lys;Lys-Phe;Val-Lys;Lys-Val;Ala-Lys;Lys-Ala;Phe-Cit;Cit-Phe;Leu-Cit;Cit-Leu;Ile-Cit;Cit-Ile;Phe-Arg;Arg-Phe;Cit-Trp;和Trp-Cit。

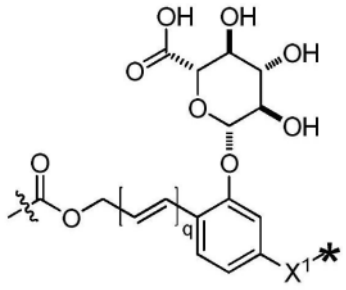
[0230] 在一个实施例中,溶酶体酶是β-葡糖醛酸糖苷酶或β-半乳糖苷酶。

[0231] 在一个实施例中,接头包含根据结构式(Va)、(Vb)、(Vc)、(Vd)、或(Ve)的区段:

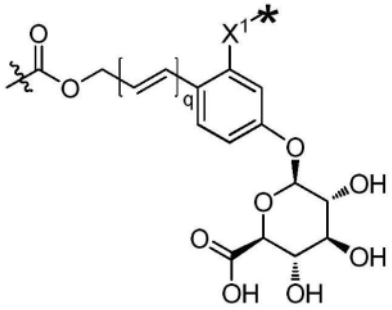
[0232] (Va)



(Vb)

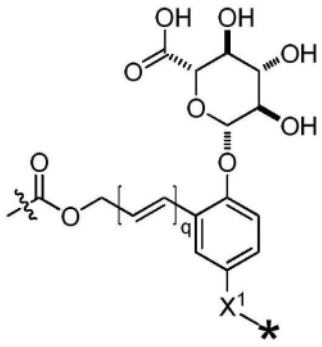


(Vc)

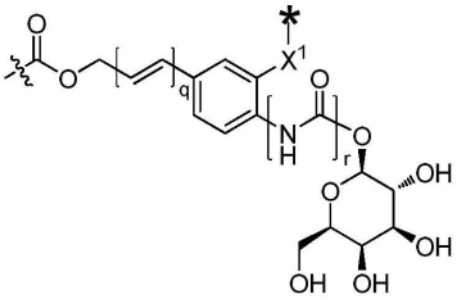


[0233]

(Vd)

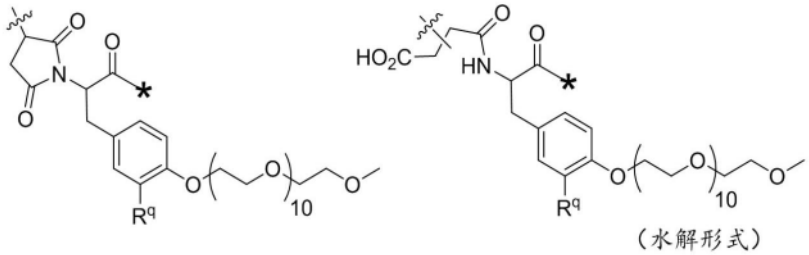


(Ve)



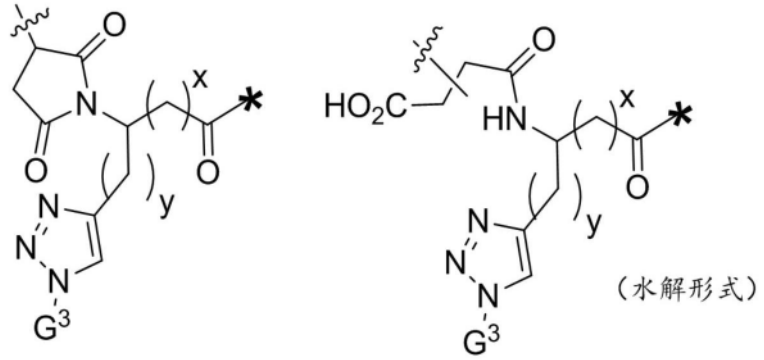
[0234] 其中q是0或1;r是0或1;X^1是CH_2、O或NH;代表该接头与该药物的附接点;并且*代表与该接头的其余部分的附接点。

[0235] 在一个实施例中,接头包含根据结构式(VIIIa)、(VIIIb)、或(VIIIc)的区段:

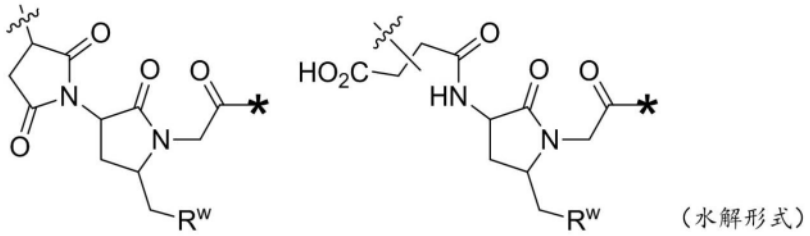


(VIIIa)

[0236]



(VIIIb)



(VIIIc)

[0237] 或其水解衍生物,其中:R^q是H或-O-$(CH_2CH_2O)_{11}$-CH_3;x是0或1;y是0或1;G^3是-$CH_2CH_2CH_2SO_3H$或-CH_2CH_2O-$(CH_2CH_2O)_{11}$-CH_3;R^w是-O-$CH_2CH_2SO_3H$或-NH(CO)-CH_2CH_2O-$(CH_2CH_2O)_{12}$-CH_3;*代表与该接头的其余部分的附接点;并且代表该接头与该抗体的附接点。

[0238] 在一个实施例中,接头包含具有从1至6个乙二醇单元的聚乙二醇区段。

[0239] 在一个实施例中,m是2、3或4。

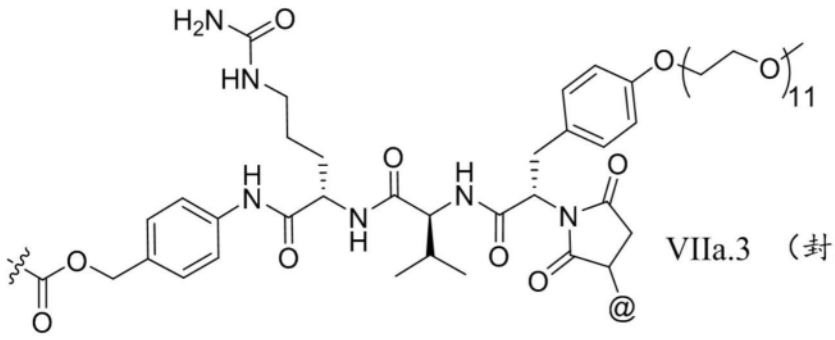
[0240] 在一个实施例中,接头L选自IVa或IVb。

[0241] 在一个实施例中,接头L选自下组,该组由以下组成:处于封闭或开放形式的IVa.1-IVa.8、IVb.1-IVb.19、IVc.1-IVc.7、IVd.1-IVd.4、Va.1-Va.12、Vb.1-Vb.10、Vc.1-Vc.11、Vd.1-Vd.6、Ve.1-Ve.2、VIa.1、VIc.1-Vlc.2、VId.1-VId.4、VIIa.1-VIIa.4、VIIb.1-VIIb.8、VIIc.1-VIIc.6。

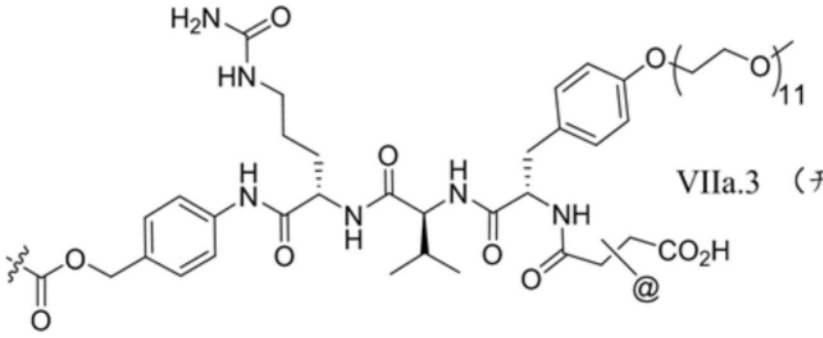
[0242] 在一个实施例中,接头L选自下组,该组由以下组成:IVb.2、IVc.5、IVc.6、IVc.7、IVd.4、Vb.9、VIIa.1、VIIa.3、VIIc.1、VIIc.4、和VIIc.5,其中每个接头的马来酰亚胺与抗体Ab反应形成呈琥珀酰亚胺(封闭形式)或琥珀酰胺(开放形式)的共价附接。

[0243] 在一个实施例中，接头L选自下组，该组由以下组成：IVb.2、IVc.5、IVc.6、IVd.4、VIIa.1、VIIa.3、VIIc.1、VIIc.4、VIIc.5，其中每个接头的马来酰亚胺与抗体Ab反应形成呈琥珀酰亚胺(封闭形式)或琥珀酰胺(开放形式)的共价附接。

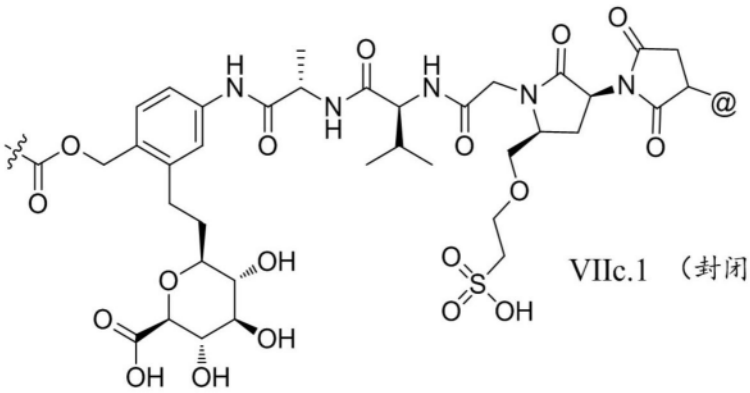
[0244] 在一个实施例中，接头L选自下组，该组由以下组成：IVb.2、VIIa.3、IVc.6、和VIIc.1，其中～是与药物D的附接点，并且@是与LK的附接点，其中当接头处于如以下所示的开放形式时，@可以位于其紧邻的羧酸的α位或β位：

[0245] 

VIIa.3 （封闭形式）

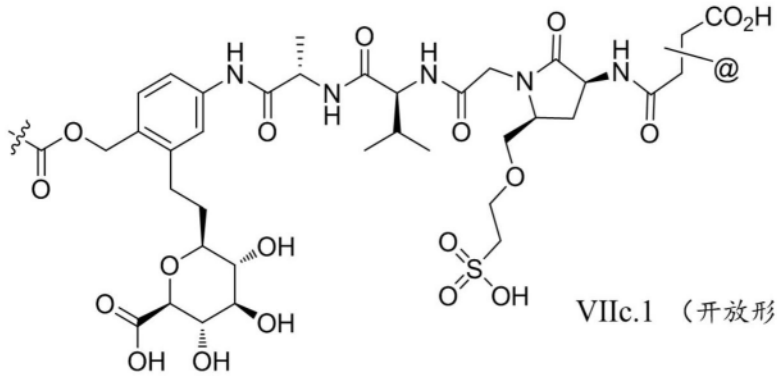


VIIa.3 （开放形式）

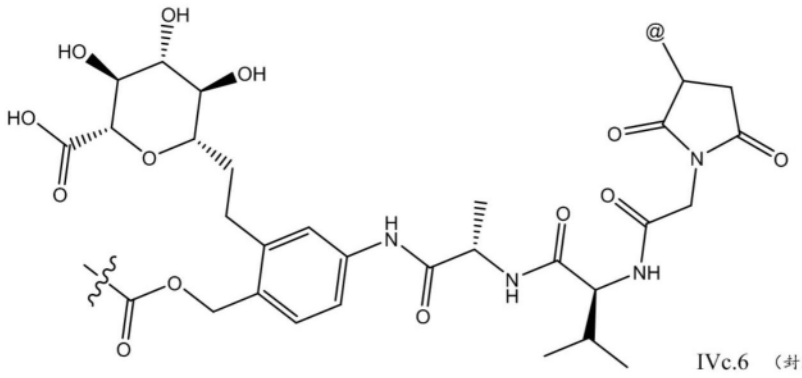


VIIc.1 （封闭形式）

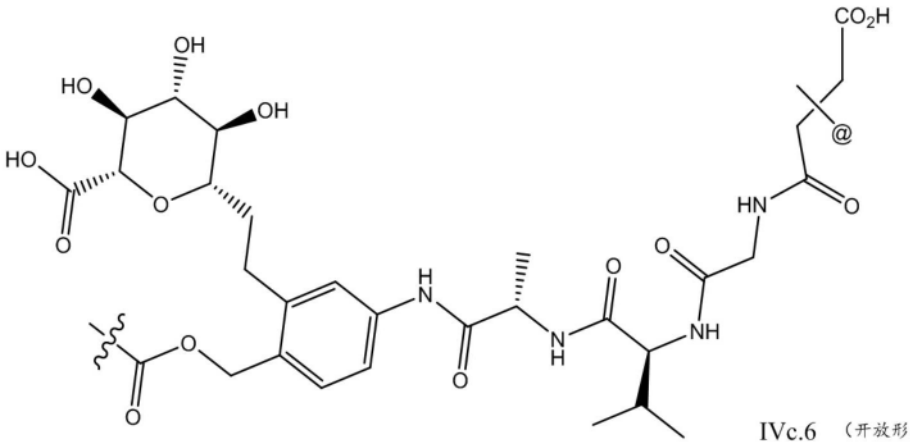
[0246]



VIIc.1 （开放形式）



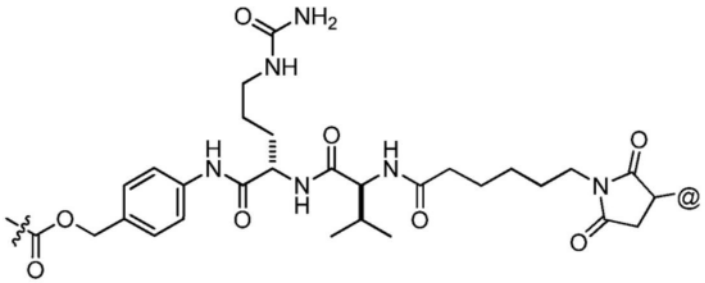
IVc.6 （封闭形式）



IVc.6 （开放形式）

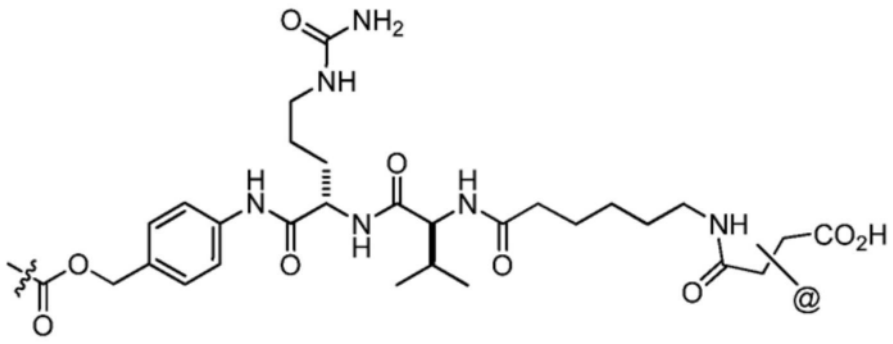
、

[0247]



IVb.2（封闭形式）

、和



IVb.2（开放形式）。

[0248] 在一个实施例中，LK是与在抗-hB7H3抗体Ab上的氨基基团形成的键。

[0249] 在一个实施例中，LK是酰胺或硫脲。

[0250] 在一个实施例中，LK是与在抗hB7-H3抗体Ab上的巯基基团形成的键。

[0251] 在一个实施例中，LK是硫醚。

[0252] 在一个实施例中，LK选自下组，该组由以下组成：酰胺、硫脲和硫醚；并且m是范围从1至8的整数。

[0253] 在一个实施例中，D是如本文描述的Bcl-xL抑制剂；L选自下组，该组由以下组成：接头IVa.1-IVa.8、IVb.1-IVb.19、IVc.1-IVc.7、IVd.1-IVd.4、Va.1-Va.12、Vb.1-Vb.10、Vc.1-Vc.11、Vd.1-Vd.6、Ve.1-Ve.2、VIa.1、VIc.1-Vlc.2、VId.1-VId.4、VIIa.1-VIIa.4、VIIb.1-VIIb.8、和VIIc.1-VIIc.6，其中每个接头已与该抗体Ab反应形成共价附接；LK是硫

醚;并且m是范围从1至8的整数。

[0254] 在一个实施例中,D是选自由以下化合物组成的组的Bcl-xL抑制剂,对这些化合物的修饰在于:对应于结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)、或(IId)的#位置的氢不存在,从而形成单价基团:

[0255] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0256] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0257] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0258] 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-1,2-双脱氧-D-阿拉伯-己糖醇;

[0259] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[3-羟基-2-(羟甲基)丙基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;以及

[0260] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[0261] L选自下组,该组由以下组成:处于封闭或开放形式的接头IVb.2、IVc.5、IVc.6、IVc.7、IVd.4、Vb.9、Vc.11、VIIa.1、VIIa.3、VIIc.1、VIIc.4、和VIIc.5;

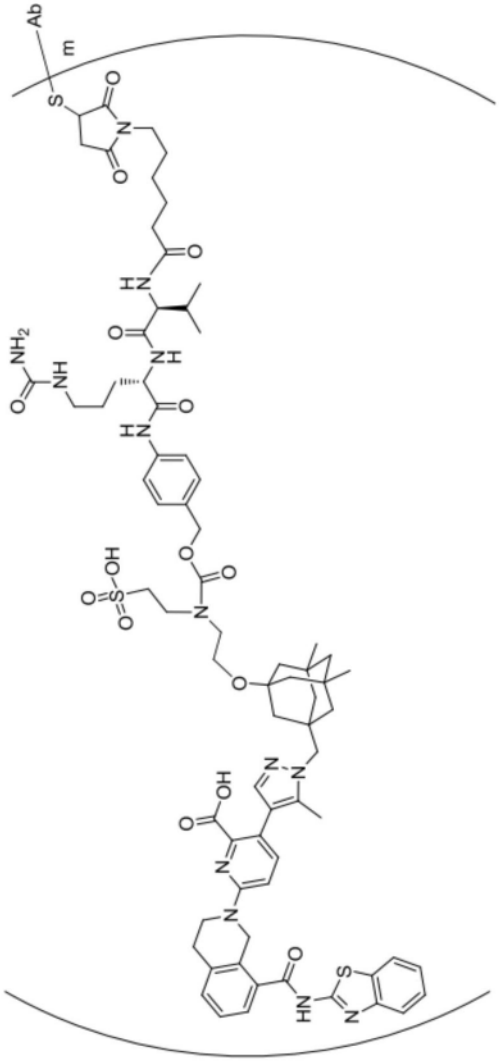
[0262] LK是硫醚;并且

[0263] m是范围从2至4的整数。

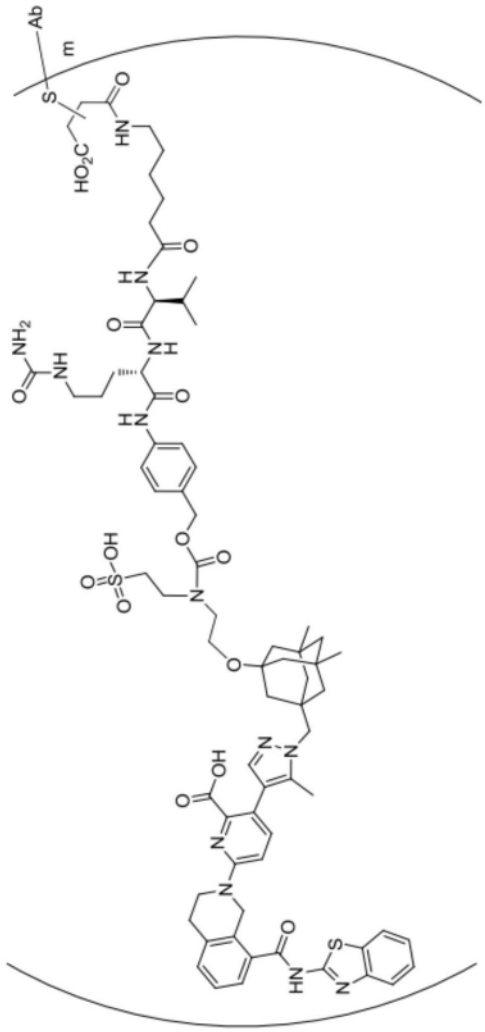
[0264] 在一个实施例中,ADC选自下组,该组由以下组成:式i-vi:

[0265]

(i)、

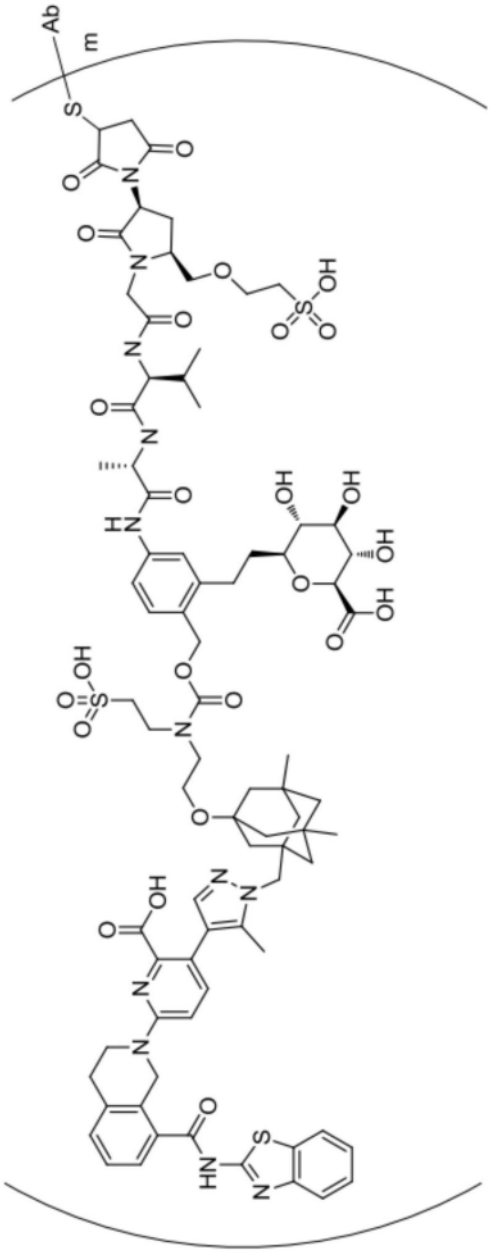


(ii)、

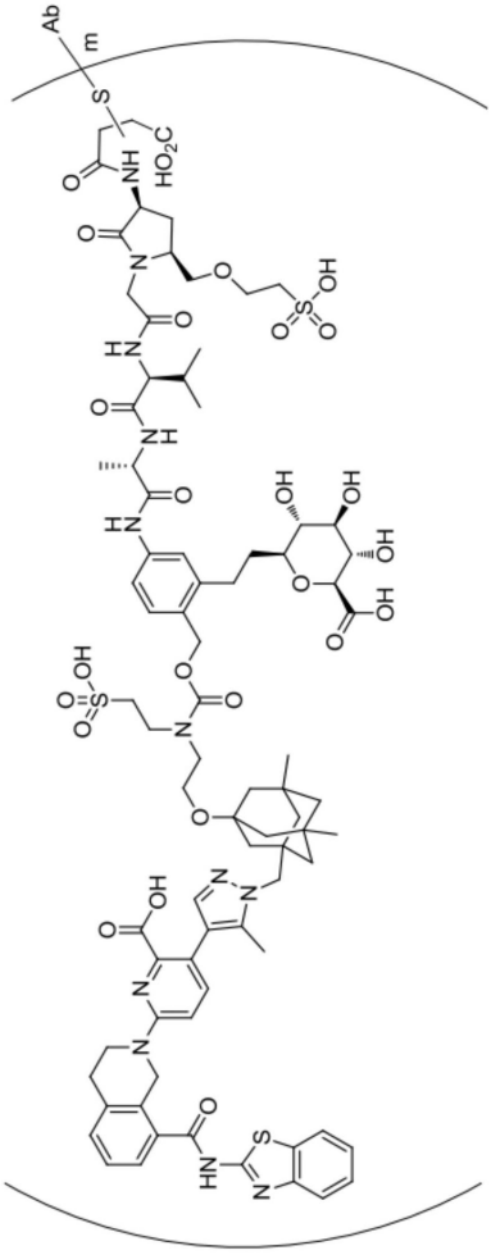


[0266]

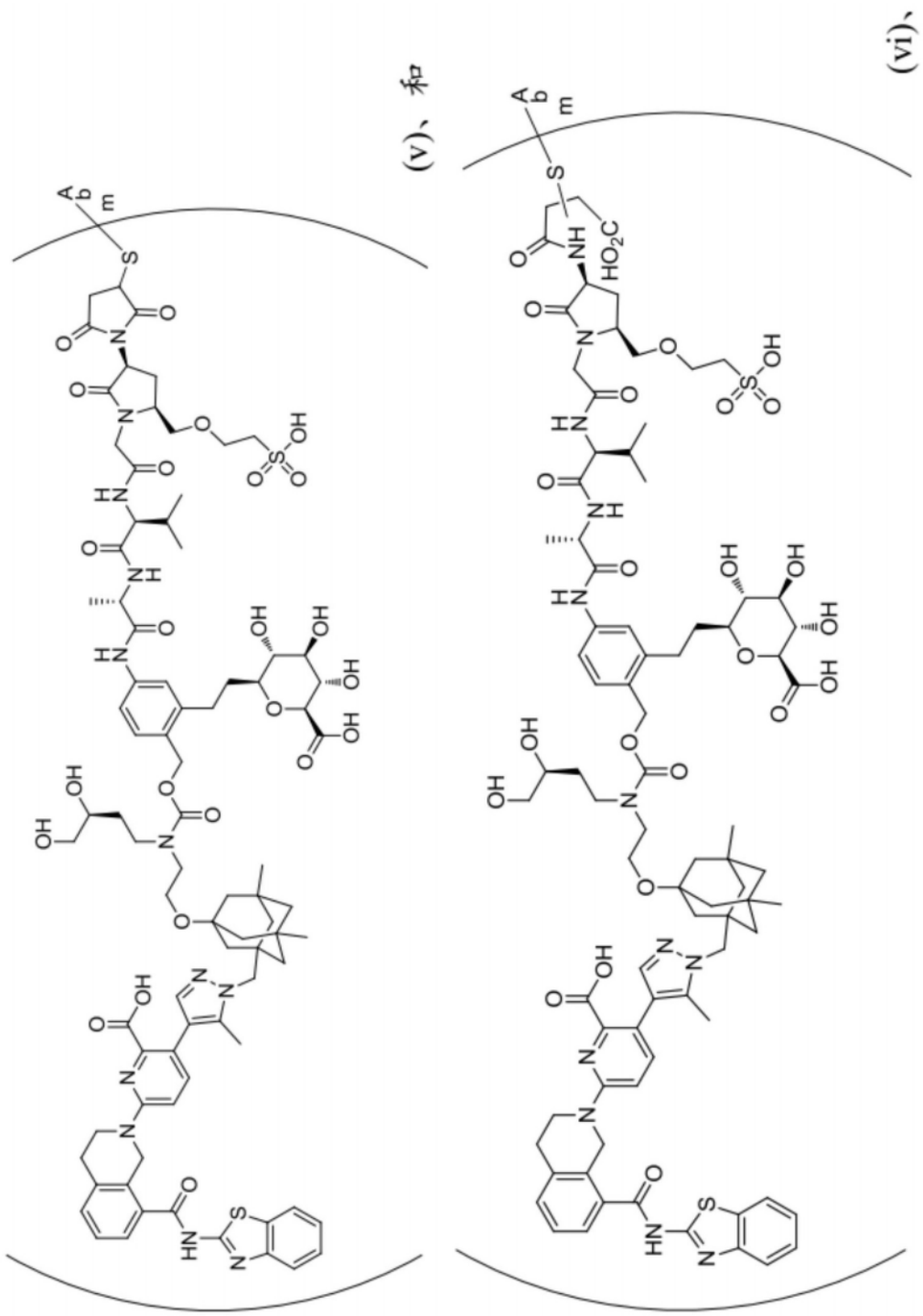
(iii)、



(iv)、



[0267]



[0268] 其中m是从1到6的整数。在一个实施例中，Ab是抗hB7-H3抗体，其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:35中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:34中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:33中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域；以及含有SEQ ID NO:39中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:38中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:37中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域。在一个实施例中，Ab是抗hB7-H3抗体，其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:147中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列的轻链可变区。在一个实施例中，Ab是抗hB7-H3抗体，其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:160中所示氨基

酸序列的重链恒定区和/或含有SEQ ID NO:161中所示氨基酸序列的轻链恒定区。在一个实施例中,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:168中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:169中所示氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:12中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:140中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:10中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域;以及含有SEQ ID NO:15中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:7中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:136中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域。在一个实施例中,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:139中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:135中所示氨基酸序列的轻链可变区。在一个实施例中,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:160中所示氨基酸序列的重链恒定区和/或含有SEQ ID NO:161中所示氨基酸序列的轻链恒定区。在一个实施例中,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:170中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:171中所示氨基酸序列的轻链。

[0269] 在一个实施例中,m是从2至6的整数。在一个实施例中,m是2。

[0270] 在一个实施例中,ADC包含抗hB7-H3抗体,该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:12中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:140中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:10中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域;含有SEQ ID NO:15中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:7中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:136或138中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域。

[0271] 在一个实施例中,ADC包含抗体,该抗体包含重链可变区(包含SEQ ID NO:139中所示氨基酸序列)和轻链可变区(包含SEQ ID NO:135中所示氨基酸序列)。

[0272] 在一个实施例中,ADC包含抗体,该抗体包含重链可变区(包含SEQ ID NO:139中所示氨基酸序列)和轻链可变区(包含SEQ ID NO:137中所示氨基酸序列)。

[0273] 在一个实施例中,ADC包含抗体,该抗体包含含有SEQ ID NO:39中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:38中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:37中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域;以及含有SEQ ID NO:35中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:34中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:33中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域。

[0274] 在一个实施例中,ADC包含抗体,该抗体包含重链可变区(包含SEQ ID NO:147中所示氨基酸序列)和轻链可变区(包含SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列)。

[0275] 在一个实施例中,ADC选自由以下组成的组:huAb3v2.5-CZ、huAb3v2.5-TX、huAb3v2.5-TV、huAb3v2.5-YY、huAb3v2.5-AAA、huAb3v2.5-AAD、huAb3v2.6-CZ、huAb3v2.6-TX、huAb3v2.6-TV、huAb3v2.6-YY、huAb3v2.6-AAD、huAb13v1-CZ、huAb13v1-TX、huAb13v1-TV、huAb13v1-YY、huAb13v1-AAA、huAb13v1-AAD,其中CZ、TX、TV、YY、AAA、和AAD是表B中披露的合成子,并且其中偶联合成子处于开放或封闭形式。

[0276] 一方面,本发明提供了包含有效量的本文所述的ADC和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0277] 另一方面,本发明提供了药物组合物,所述药物组合物包含含有本文所述的ADC中的多种的ADC混合物、和药学上可接受的载体。

[0278] 在一个实施例中,ADC混合物具有1.5至4的平均药物/抗体比率(DAR)。

[0279] 在一个实施例中,该ADC混合物包含多种ADC,每种ADC的DAR为1.5至8。

[0280] 一方面,本发明提供了用于治疗癌症的方法,该方法包括向有需要的受试者给予治疗有效量的本文描述的ADC。

[0281] 在一个实施例中,癌症选自下组,该组由以下组成:小细胞肺癌、非小细胞肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胶质母细胞瘤、前列腺癌、胰腺癌、结肠癌、胃癌、黑色素瘤、肝细胞癌、头颈癌、肾癌、白血病(例如,急性髓性白血病(AML))、和淋巴瘤(例如,非霍奇金淋巴瘤(NHL))。

[0282] 在一个实施例中,癌症是鳞状细胞癌。在一个实施例中,鳞状细胞癌是鳞状肺癌或鳞状头颈癌。

[0283] 在一个实施例中,癌症是三阴性乳腺癌。

[0284] 在一个实施例中,癌症是非小细胞肺癌。

[0285] 在一个实施例中,该癌症的特征在于具有激活性EGFR突变。在一个实施例中,激活性EGFR突变选自下组,该组由以下组成:外显子19缺失突变、外显子21中的单点取代突变L858R、T790M点突变、及其组合。

[0286] 一方面,本发明提供了用于抑制或减少患有实体瘤的受试者中实体瘤生长的方法,所述方法包括向该患有实体瘤的受试者给予有效量的本文所述的ADC,使得该实体瘤生长被抑制或减少。

[0287] 在一个实施例中,实体瘤是非小细胞肺癌。

[0288] 在一个实施例中,将该ADC与额外的药剂或额外的治疗组合给予。

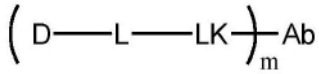
[0289] 在一个实施例中,额外的药剂选择下组,该组由以下组成:抗PD1抗体(例如派立珠单抗)、抗PD-L1抗体(例如阿特唑单抗)、抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)、MEK抑制剂(例如曲美替尼)、ERK抑制剂、BRAF抑制剂(例如达拉菲尼)、奥斯替尼、埃罗替尼、吉非替尼、索拉非尼、CDK9抑制剂(例如迪那西利)、MCL-1抑制剂、替莫唑胺、Bcl-xL抑制剂、Bcl-2抑制剂(例如维奈托克)、依鲁替尼、mTOR抑制剂(例如依维莫司)、PI3K抑制剂(例如布帕利昔)、度维利塞、艾代拉里斯、AKT抑制剂、HER2抑制剂(例如拉帕替尼)、紫杉烷(例如多西他赛、紫杉醇、纳米白蛋白结合型紫杉醇(nab-paclitaxel))、包含澳瑞他汀的ADC、包含PBD(例如罗武匹妥珠-特西林(rovalpituzumab tesirine))的ADC、包含美登木素生物碱(例如TDM1)的ADC、TRAIL激动剂、蛋白酶体抑制剂(例如硼替佐米)、和烟酰胺磷酸核糖基转移酶(NAMPT)抑制剂。

[0290] 在一个实施例中,将本发明的抗B7-H3 ADC与维奈托克(venetoclax)组合向人类受试者给予,用于治疗小细胞肺癌(SCLC)。

[0291] 在一个实施例中,额外的治疗是辐射。

[0292] 在一个实施例中,额外的药剂是化学治疗剂。

[0293] 一方面,本发明提供了用于制备根据结构式(I)的ADC的方法:

[0294] (I) 

[0295] 其中:

[0296] D是如本文披露的式(IIa)、(IIb)、(IIc)或(IId)的Bcl-xL抑制剂药物;

[0297] L是如本文披露的接头;

[0298] Ab是hB7-H3抗体,其中该hB7-H3抗体包含huAb3v2.5、huAb3v2.6、或huAb13v1的重链和轻链CDR;

[0299] LK代表将接头L连接至抗体Ab的共价键;并且

[0300] m是范围从1至20的整数;

[0301] 该方法包括:

[0302] 将水溶液中的抗体用有效量的二硫化物还原剂在30℃-40℃处理至少15分钟,并且然后将该抗体溶液冷却至20℃-27℃;

[0303] 向所还原的抗体溶液中添加水/二甲基亚砜的溶液,该水/二甲基亚砜的溶液包含选自2.1至2.176的组的合成子(表B);

[0304] 将该溶液的pH调节为pH 7.5至8.5;

[0305] 允许该反应运行48至80小时,以形成ADC;

[0306] 其中如通过电喷雾质谱法测量的,对于琥珀酰亚胺每次水解为琥珀酰胺,质量偏移18±2amu;并且

[0307] 其中任选地将该ADC通过疏水作用色谱纯化。

[0308] 在一个实施例中,m是2。

[0309] 另一方面,本发明提供了通过如上所述方法制备的ADC。

附图说明

[0310] 图1是通过成对结合测定法测量的鼠抗B7-H3杂交瘤抗体的表位分组的图示。

[0311] 图2描绘了抗体还原、用马来酰亚胺衍生物修饰以得到硫代琥珀酰亚胺中间体,随后水解硫代琥珀酰亚胺部分

[0312] 图3描绘了抗体-马来酰亚胺基己酰基-vc-PABA-MMAE ADC的结构。

[0313] 图4描绘了通过马来酰亚胺基己酰基-缬氨酸-丙氨酸接头(统称为SGD-1910)与抗体(Ab)偶联的PBD二聚体(SGD-1882)的结构。

[0314] 图5描述了1)偶联之前,2)与马来酰亚胺衍生物偶联以得到硫代琥珀酰亚胺中间体之后,和3)硫代琥珀酰亚胺环的pH 8-介导的水解后,huAb13v1的轻链和重链的MS表征。

具体实施方式

[0315] 本发明的各个方面涉及抗B7-H3抗体和抗体片段,抗B7-H3 ADC及其药物组合物,以及用于制备此类抗体和片段的核酸、重组表达载体和宿主细胞。本发明还包括使用本文所述的抗体、片段和ADC检测人B7-H3,从而抑制人B7-H3活性(体外或体内)并治疗癌症的方法。在某些实施例中,本发明提供了抗B7-H3 ADC(包括包含Bcl-xL抑制剂的ADC)、用于合成ADC的合成子、包含ADC的组合物、制备ADC的方法、以及使用ADC的各种方法。

[0316] 如本领域技术人员所理解的,本文披露的ADC本质上是“模块化的(modular)”。在整个披露中,描述了包含ADC的各种“模块”的各种具体实施例,以及用于合成ADC的合成子。作为具体的非限制性实例,描述了可包含ADC和合成子的抗体、接头和Bcl-xL抑制剂的具体实施例。旨在将所描述的所有具体实施例彼此组合,就好像每个具体组合被单独地明确描述一样。

[0317] 本领域技术人员还将理解,本文所述的各种ADC和/或ADC合成子可以是盐的形式,

并且在某些实施例中，具体地是药学上可接受的盐。具有足够的酸性官能团、足够的碱性官能团或两种官能团的本披露化合物可与多种无机碱、以及无机酸和有机酸中的任一种反应形成盐。可替代地，本身带电的化合物(例如具有季氮的化合物)可与适当的反离子形成盐，例如卤化物，像溴化物、氯化物或氟化物。

[0318] 通常用于形成酸加成盐的酸是无机酸，例如盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、磷酸等，和有机酸，例如对甲苯磺酸、甲磺酸、草酸、对溴苯磺酸、碳酸、琥珀酸、柠檬酸等。碱加成盐包括衍生自无机碱的那些，例如铵和碱金属或碱土金属氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐等。

[0319] 在下文的披露内容中，如果包括结构图和命名法，并且如果命名法与结构图冲突，则以结构图为准。

[0320] 下面提供了具体实施方式的梗概：

[0321] I.定义

[0322] II.抗B7-H3抗体

[0323] II.A.抗B7-H3嵌合抗体

[0324] II.B.人源化抗B7-H3抗体

[0325] III.抗B7-H3抗体药物偶联物(ADC)

[0326] III.A.抗B7-H3/Bcl-xL抑制剂ADC

[0327] III.A.1.Bcl-xL抑制剂

[0328] III.A.2 Bcl-xL接头

[0329] 可裂解接头

[0330] 不可裂解的接头

[0331] 用于将接头附接至抗B7-H3抗体的基团接头选择注意事项

[0332] III.A.3.Bcl-xL ADC合成子

[0333] III.A.4 Bcl-xL ADC的合成方法

[0334] III.A.5.合成Bcl-xL抑制剂的通用方法

[0335] III.A.6.合成合成子的通用方法

[0336] III.A.7.合成抗B7-H3 ADC的通用方法

[0337] III.B.抗B7-H3 ADC:用于偶联的其他示例性药物

[0338] III.C.抗B7-H3 ADC:其他示例性接头

[0339] IV.抗B7-H3 ADC的纯化

[0340] V.抗B7-H3抗体及抗B7-H3 ADC的用途

[0341] VI.药物组合物

[0342] I.定义

[0343] 为了更容易理解本发明，首先定义某些术语。另外，应当注意，每当列举参数的值或值范围时，所列举值中间的值和范围也旨在成为本发明的一部分。

[0344] 术语“抗B7-H3抗体”是指特异性结合B7-H3的抗体。“结合”目的抗原(即B7-H3)的抗体是能够以足够的亲和力结合该抗原的抗体，使得该抗体可用于靶向表达抗原的细胞。在优选的实施例中，该抗体与人B7-H3(hB7-H3)特异性结合。在下文的实例中披露了抗B7-H3抗体的实例。除非另有说明，术语“抗B7-H3抗体”意指结合野生型B7-H3(例如，B7-H3的4IgB7-H3同种型)或B7-H3的任何变体的抗体。野生型人B7-H3的氨基酸序列在下面作为SEQ

ID NO:149提供,其中信号肽(氨基酸残基1-28)加下划线。

[0345] MLRRRGSPGMGVHVGAALGALWFCLTGALEVQVPEDPVVALVGTDATLCCSFSPEPGFSLAQLNLIWQ LTDTKQLVHSFAEGQDQGSAYANRTALFPDLLAQGNASLRLQRVRVADEGSFTCFVSIRDFGSAAVSL QVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYQGYPEAEVFWQDGQGVPLTGNVTTSQMANEQGLFDV HSILRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQDAHSSVTITPQRSPTGAVEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFSP EPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFPDLLAQGNASLRLQRVRVADEGSFTC FVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYRGYPEAEVFWQDGQGVPLTGNV TTSQMANEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQDAHGSVTITGQPMTFPPEALWVTVGLSVC LIALLVALAFVCWRKIKQSCEEENAGAEDQDGEGEGSKTALQPLKHSDSKEDDGQEIA (SEQ ID NO: 149)

[0346] 因此,在本发明的一个实施例中,抗体或ADC结合如SEQ ID NO:149中所定义的人B7-H3。人B7-H3的细胞外结构域(ECD)在SEQ ID NO:152中提供(包含His标签)。因此,在本发明的一个实施例中,ADC的抗体结合人B7-H3的ECD,如SEQ ID NO:152的ECD中所述的。

[0347] 如本文关于抗体或ADC与第二化学物质的相互作用所用的术语“特异性结合”或“特异性地结合”意指该相互作用视化学物质上特定结构(例如,抗原决定簇或表位)的存在而定;例如,抗体识别且与特定蛋白质结构结合而不是一般地与蛋白质结合。若抗体或ADC对表位“A”具有特异性,则在含经标记“A”及该抗体的反应中,含表位A(或未经标记的游离A)的分子的存在将减少结合至该抗体或ADC的经标记A的量。举例来说,如果抗体在被标记时可以通过相应的非标记抗体与其靶标竞争分离,则抗体“特异性结合”靶标。在一个实施例中,如果抗体对靶标的K_D为至少约10^{-4}M、10^{-5}M、10^{-6}M、10^{-7}M、10^{-8}M、10^{-9}M、10^{-10}M、10^{-11}M、10^{-12}M、或更低(更低意指小于10^{-12}的数,例如10^{-13}),则抗体特异性结合靶标,例如,B7-H3。在一个实施例中,本文使用的术语“与B7-H3特异性结合”或“特异性结合至B7-H3”是指与B7-H3结合且如通过表面等离子体共振所测定的,解离常数(K_D)为1.0×10^{-7}M或更低的抗体或ADC。然而,应该理解,抗体或ADC能够特异性结合序列上相关的两种或更多种抗原。例如,在一个实施例中,抗体可以特异性结合B7-H3的人和非人(例如,小鼠或非人灵长类动物)直系同源物。

[0348] 术语“抗体”是指与抗原特异性结合的、并包含一条或多条重(H)链和一条或多条轻(L)链的免疫球蛋白分子。每个重链由重链可变区(在此缩写成HCVR或VH)和重链恒定区构成。重链恒定区由三个域(CH1、CH2及CH3)构成。各轻链由轻链可变区(本文中简写为LCVR或VL)及轻链恒定区构成。轻链恒定区由一个结构域CL构成。VH及VL区可进一步再分成高变区,称为互补决定区(CDR),穿插有称为框架区(FR)的较保守区。各VH及VL由三个CDR及四个FR构成,自氨基端至羧基端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。抗体可为任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及IgY)和类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)或子类。

[0349] 虽然术语“抗体”不旨在包括抗体(以下定义的)的抗原结合部分,但在某些实施例中其旨在包含自一条或多条重链的羧基端缺失少量氨基酸的抗体。在一个实施例中,抗体包含在重链的羧基端具有1-5个氨基酸缺失的重链。在一个实施例中,抗体是结合hB7-H3的、为IgG的单克隆抗体,具有四条多肽链,该四条多肽链为两条重(H)链和两条轻(L)链。在一个实施例中,抗体是包含λ或κ轻链的单克隆IgG抗体。

[0350] 如本文使用的,术语抗体的“抗原结合部分”或“抗原结合片段”(或简称为“抗体部分”或“抗体片段”)是指抗体中保留与抗原(例如,hB7-H3)特异性结合的能力的一或多个片段。已显示,抗体的抗原结合功能可由全长抗体的片段来执行。此类抗体实施例还可为双特

异性、双重特异性或多特异性形式;特异性结合至两个或更多个不同抗原。术语抗体的“抗原结合部分”内所涵盖的结合片段的实例包括(i)Fab片段,这是一种由VL、VH、CL及CH1域组成的单价片段;(ii)$F(ab')_2$片段,这是一种包含两个通过铰链区的二硫桥键连接的Fab片段的二价片段;(iii)由VH及CH1域组成的Fd片段;(iv)由抗体单臂的VL及VH域组成的Fv片段;(v)dAb片段(Ward等人,(1989)Nature[自然]341:544-546;Winter等人,PCT公开号WO 90/05144A1,其以引用的方式并入本文中),其包含单一可变域;及(vi)经分离互补决定区(CDR)。此外,尽管Fv片段的两个结构域(VL及VH)由独立基因编码,但其可使用重组方法通过合成接头连接,合成接头能够将其制造成VL与VH区配对形成单价分子的单一蛋白质链(称为单链Fv(scFv);参见例如Bird等人(1988)Science[科学]242:423-426;和Huston等人(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]85:5879-5883)。此类单链抗体还意欲涵盖在术语抗体的“抗原结合部分”内。在本发明的某些实施例中,scFv分子可以掺入融合蛋白中。还涵盖其他形式的单链抗体,诸如双功能抗体。双功能抗体为二价双特异性抗体,其中VH及VL域在单一多肽链上表达,但使用过短以致于不允许同一条链上的两个结构域之间进行配对的接头,由此迫使该结构域与另一条链的互补结构域配对且产生两个抗原结合位点(参见例如,Holliger,P.等人(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]90:6444-6448;Poljak,R.J.,等人,(1994)Structure[结构]2:1121-1123)。此类抗体结合部分为本领域中已知的(Kontermann及Dubel编,Antibody Engineering[抗体工程化](2001)Springer-Verlag.[施普林格出版社]纽约.第790页.(ISBN3-540-41354-5))。

[0351] IgG是包含以Y形排列的两条重链和两条轻链的抗体的类别。IgG恒定域是指重链或轻链恒定域。示例性人IgG重链及轻链恒定域氨基酸序列为本领域中已知的且呈现于下表A中。

[0352] 表A:人IgG重链恒定域及轻链恒定域的序列

[0353]

蛋白质	序列识别符	序列
Ig γ-1 恒定区	SEQ ID NO:159	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Ig γ-1 恒定区突变体	SEQ ID NO:160	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Ig K 恒定区	SEQ ID NO:161	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC

[0354]

蛋白质	序列识别符	序列
Igλ 恒定区	SEQ ID NO:162	QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF YPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS

[0355] 如本文使用的,“分离的抗体”意指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体(例如,特异性结合B7-H3的分离的抗体基本上不含特异性结合除B7-H3以外的抗原的抗体)。然而,特异性结合B7-H3的分离的抗体可以与其他抗原,诸如来自其他物种的B7-H3分子具有交叉反应性。另外,分离的抗体可以基本上不含其他细胞物质和/或化学物质。

[0356] 术语“人源化抗体”是指包含来自非人物种(例如小鼠)的重链和轻链可变区序列的抗体,但其中至少一部分VH和/或VL序列已被改变为更“类人的”,即更类似于人种系可变序列。特别地,术语“人源化抗体”为免疫特异性结合至相关抗原且包含基本上具有人类抗体的氨基酸序列的框架(FR)区及基本上具有非人类抗体的氨基酸序列的互补决定区(CDR)的抗体或其变异体、衍生物、类似物或片段。如本文使用的,术语“基本上”在CDR的情况下是指CDR的氨基酸序列与非人类抗体CDR的氨基酸序列至少80%、优选至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同一。人源化抗体基本上包含所有至少一个且通常两个可变

域(Fab、Fab'、$F(ab')_2$、FabC、Fv),其中所有或基本上所有CDR区对应于非人类免疫球蛋白(即,供体抗体)的CDR区且所有或基本上所有框架区为具有人类免疫球蛋白共有序列的框架区。优选地,人源化抗体还包含至少一部分免疫球蛋白恒定区(Fc),通常为人类免疫球蛋白的恒定区。在一些实施例中,人源化抗体含有轻链以及重链的至少可变域。抗体还可包括重链的CH1、铰链、CH2、CH3及CH4区。在一些实施例中,人源化抗体仅含人源化轻链。在其他实施例中,人源化抗体仅含人源化重链。在特定实施例中,人源化抗体仅含轻链和/或人源化重链的人源化可变域。

[0357] 人源化抗体可选自任何类别的免疫球蛋白,包括IgM、IgG、IgD、IgA及IgE;及任何同种型,包括但不限于IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。人源化抗体可以包含来自一种以上类别或同种型的序列,且可以使用本领域中熟知的技术选择特定恒定域以使所需效应功能优化。

[0358] 术语"Kabat编号"、"Kabat定义"及"Kabat标记"在本文中可互换地使用。这些术语为本领域中公认的,是指给比抗体或其抗原结合部分的重链及轻链可变区中的其他氨基酸残基可变(即,高变)的氨基酸残基编号的系统(Kabat等人(1971)Ann.NYAcad,Sci.[纽约科学院年报]190:382-391和,Kabat,E.A.,等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学重要性蛋白质序列],第五版,U.S.Department of Health and Human Services[美国健康与公共事业部],NIH出版编号91-3242)。就重链可变区而言,高变区范围就CDR1而言是自氨基酸位置31至35,就CDR2而言是自氨基酸位置50至65,且就CDR3而言是自氨基酸位置95至102。就轻链可变区而言,高变区范围就CDR1而言是自氨基酸位置24至34,就CDR2而言是自氨基酸位置50至56,且就CDR3而言是自氨基酸位置89至97。

[0359] 如本文使用的,术语"CDR"是指在抗体可变序列内的互补决定区。重链(HC)及轻链(LC)的可变区中各自存在三个CDR,针对各可变区,命名为CDR1、CDR2及CDR3(或具体地,HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3、LC CDR1、LC CDR2、和LC CDR3)。如本文所用的术语"CDR组"是指存在于能够结合抗原的单一可变区中的一组三个CDR。这些CDR的精确边界已根据不同系统不同地加以限定。由Kabat(Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学重要性蛋白质序列](National Institutes of Health,Bethesda,Md.[国立卫生研究院,马里兰州贝塞斯达](1987)及(1991))所述的系统不仅提供适用于抗体的任何可变区的明确的残基编号系统,且还提供限定三个CDR的精确残基边界。这些CDR可称为Kabat CDR。Chothia及同事(Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]196:901-917(1987)及Chothia等人,Nature[自然]342:877-883(1989))发现,Kabat CDR内的某些子部分采用几乎相同的肽主链构象,即使在氨基酸序列层面具有极大差异。这些子部分称为L1、L2及L3或H1、H2及H3,其中"L"及"H"分别表示轻链区及重链区。这些区可称为Chothia CDR,其具有与Kabat CDR重叠的边界。限定与Kabat CDR重叠的CDR的其他边界已由Padlan(FASEB J.9:133-139(1995))及MacCallum(J Mol Biol[分子生物学杂志]262(5):732-45(1996))描述。其他CDR边界限定可不严格遵循以上系统中的一者,但仍然将与Kabat CDR重叠,但其可根据特定残基或残基组或甚至全部CDR不显著影响抗原结合的预测或实验发现而缩短或延长。本文中所用的方法可利用根据这些系统中任一者限定的CDR,但优选实施例使用Kabat或Chothia限定的CDR。

[0360] 如本文使用的,术语"框架"或"框架序列"是指可变区减去CDR后剩余的序列。因为

CDR序列的精确限定可通过不同系统确定,所以框架序列的含义相对应地需要不同解释。六个CDR(轻链的CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3及重链的CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3)还将轻链及重链上的框架区在各链上分成四个子区(FR1、FR2、FR3及FR4),其中CDR1位于FR1与FR2之间,CDR2位于FR2与FR3之间,且CDR3位于FR3与FR4之间。在不指定具体子区为FR1、FR2、FR3或FR4的情况下,如通过其他所提及的框架区表示单一天然产生的免疫球蛋白链的可变区内的组合的FR。如本文所用,FR表示四个子区之一,且FRs表示构成框架区的四个子区中的两者或两者以上。

[0361] 人源化抗体的框架区及CDR区不必准确对应于亲本序列,例如供体抗体CDR或共有框架可通过至少一个氨基酸残基的取代、插入和/或缺失而突变诱发,使得该位点的CDR或框架残基不对应于供体抗体或共有框架。然而,在一个优选实施例中,此类突变不多。通常,至少80%、优选至少85%、更优选至少90%且最优选至少95%的人源化抗体残基将对应于亲本FR及CDR序列的那些残基。如本文使用的,术语“共有框架”是指共有免疫球蛋白序列中的框架区。如本文使用的,术语“共有免疫球蛋白序列”是指由相关免疫球蛋白序列家族中最频繁出现的氨基酸(或核苷酸)形成的序列(参见例如,Winnaker,From Genes to Clones[从基因到克隆](Verlagsgesellschaft,Weinheim,德国1987))。在免疫球蛋白家族中,共有序列中的各位置由该家族中最频繁出现于该位置的氨基酸占据。若两个氨基酸同等频繁地出现,则共有序列中可包括任一个。

[0362] 如本文使用的,术语“人受体框架”意指抗体或其抗体片段的框架,其包含衍生自人抗体或其抗体片段或人共有序列框架的VH或VL框架的氨基酸序列,其中可以并入来自非人物种的CDR。

[0363] 相对于肽或多肽序列的“百分比(%)氨基酸序列同一性”被定义为在比对序列并引入空位(必要的话)以实现最大百分比序列同一性之后,并且不考虑作为序列同一性的一部分的任何保守取代,候选序列中与特定肽或多肽序列中的氨基酸残基同一的氨基酸残基的百分比。为了确定百分比氨基酸序列同一性的目的,可以用本领域技术中的多种方式来实现比对,例如使用公众可得的计算机软件,如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域普通技术人员能确定用于测定比对的适当参数,包括在所比较的序列的全长范围内实现最大比对所需的任何算法。在一个实施例中,本发明包括与SEQ ID NO:1至148中所示氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或至少99%同一性的氨基酸序列。

[0364] 术语“多价抗体”在本文中用于表示包含两个或更多个抗原结合位点的抗体。在某些实施例中,多价抗体可以被工程化为具有三个或三个以上抗原结合位点,且一般不为天然产生的抗体。

[0365] 术语“多特异性抗体”是指能够结合两个或更多个不相关抗原的抗体。在一个实施例中,多特异性抗体是双特异性抗体是能够结合两个不相关抗原的抗体,例如,结合B7-H3和CD3的双特异性抗体或其抗原结合部分。

[0366] 如本文中可互换地使用的术语“双重可变域”或“DVD”为包含两个或更多个抗原结合位点且为四价或多价结合蛋白的抗原结合蛋白。此类DVD可为单特异性的,即,能够结合一个抗原;或多特异性的,即,能够结合两个或更多个抗原。包含两个重链DVD多肽及两个轻链DVD多肽的DVD结合蛋白称为DVD Ig。DVD Ig的每一半包含重链DVD多肽及轻链DVD多肽及

两个抗原结合位点。各结合位点包含重链可变域及轻链可变域，且每抗原结合位点在抗原结合时涉及总共6个CDR。在一个实施例中，在抗B7-H3 DVD中使用本文所述的CDR。

[0367] 术语“嵌合抗原受体”或“CAR”是指重组蛋白，其包含至少(1)抗原结合区，例如抗体的可变重链或轻链，(2)锚定CAR进入T细胞的跨膜域，和(3)一个或多个胞内信号传导域。

[0368] 术语“活性”包括以下活性：诸如抗体或ADC对抗原的结合特异性/亲和力，例如结合至hB7-H3抗原的抗hB7-H3抗体，和/或抗体的中和效能，例如与hB7-H3的结合抑制hB7-H3的生物活性(例如，抑制B7-H3表达细胞系，例如人H146肺癌细胞、人H1650肺癌细胞或人EBC1肺癌细胞的增殖)的抗hB7-H3抗体。

[0369] 如本文使用的，术语“非小细胞肺癌(NSCLC)异种移植测定”是指用于确定抗B7-H3抗体或ADC是否能抑制肿瘤生长(例如，进一步生长)和/或减少由NSCLC细胞移植到免疫缺陷小鼠中引起的肿瘤生长的体内测定。NSCLC异种移植测定包括将NSCLC细胞移植到免疫缺陷小鼠中，使得肿瘤生长至期望的大小，例如200-250mm^3，随后向小鼠给予抗体或ADC以确定抗体或ADC是否可以抑制和/或减少肿瘤生长。在某些实施例中，相对于不与肿瘤细胞特异性结合的对照抗体(例如，例如，人IgG抗体(或其集合))，根据肿瘤生长抑制百分比(%TGI)来确定抗体或ADC的活性，例如，所述对照抗体针对与癌症无关的或是从非癌症来源(例如，正常人血清)获得的抗原。在此类实施例中，抗体(或ADC)和对照抗体以相同剂量、相同频率且通过相同途径施用于小鼠。在一个实施例中，NSCLC异种移植测定中使用的小鼠是严重联合免疫缺陷(SCID)小鼠和/或无胸腺CD-1裸鼠。可以在NSCLC异种移植测定中使用的NSCLC细胞的实例包括但不限于H1299细胞(NCI-H1299[H-1299](ATCC® CRL-5803))、H1975细胞(NCI-H1975细胞[H1975](ATCC® CRL-5908™))、和EBC-1细胞。

[0370] 如本文使用的，术语“小细胞肺癌(SCLC)异种移植测定”是指用于确定抗B7-H3抗体或ADC是否能抑制肿瘤生长(例如，进一步生长)和/或减少由SCLC细胞移植到免疫缺陷小鼠中引起的肿瘤生长的体内测定。SCLC异种移植测定包括将SCLC细胞移植到免疫缺陷小鼠中，使得肿瘤生长至期望的大小，例如200-250mm^3，随后向小鼠给予抗体或ADC以确定抗体或ADC是否可以抑制和/或减少肿瘤生长。在某些实施例中，相对于不与肿瘤细胞特异性结合的对照抗体(例如，例如，人IgG抗体(或其集合))，根据肿瘤生长抑制百分比(%TGI)来确定抗体或ADC的活性，例如，所述对照抗体针对与癌症无关的或是从非癌症来源(例如，正常人血清)获得的抗原。在此类实施例中，抗体(或ADC)和对照抗体以相同剂量、相同频率且通过相同途径施用于小鼠。在一个实施例中，NSCLC异种移植测定中使用的小鼠是严重联合免疫缺陷(SCID)小鼠和/或无胸腺CD-1裸鼠。可以在SCLC异种移植测定中使用的SCLC细胞的实例包括但不限于H146细胞(NCI-H146细胞[H146](ATCC® HTB-173™))、和H847细胞(NCI-H847[H847](ATCC® CRL-5846™))。术语“表位”是指由抗体或ADC结合的抗原区。在某些实施例中，表位决定子包括分子的化学活性表面基团(诸如氨基酸、糖侧链、磷酰基或磺酰基)，且在某些实施例中，可具有特定三维结构特征和/或荷质比特征。在某些实施例中，当抗体在蛋白和/或大分子复杂混合物中优先识别其靶抗原时，它被认为是特异性结合抗原。

[0371] 如本文所用的术语“表面等离子共振”指允许通过例如使用BIAcore系统(药物生物传感器公司，瑞典乌普萨拉和新泽西州皮斯卡塔韦(Pharmacia Biosensor AB,Uppsala,

Sweden andPiscataway,N.J.))在生物传感器矩阵内检测蛋白浓度变化来分析实时生物特异性相互作用的光学现象。有关进一步的说明，参见Jönsson,U.,等人(1993)Ann.Biol.Clin.[临床生物学年鉴]51:19-26;Jönsson,U.,等人(1991)Biotechniques[生物技术]11:620-627;Johnsson,B.,等人(1995)J.Mol.Recognit.[分子识别杂志]8:125-131;和Johnnson,B.,等人(1991)Anal.Biochem.[分析生物化学]198:268-277。在一个实施例中，根据实例2中所述方法测量表面等离子体共振。

[0372] 如本文所用的术语“k_{on}”或“k_a”意指抗体与抗原结合形成抗体/抗原复合物的结合速率常数。

[0373] 如本文中所用的术语“k_{off}”或“k_d”意指抗体从抗体/抗原复合物解离的解离速率常数。

[0374] 如本文所用的术语“K_D”意指特定抗体-抗原相互作用(例如，huAb13抗体和B7-H3)的平衡解离常数。K_D是由k_a/k_d计算。

[0375] 如本文使用的，术语“竞争性结合”是指第一抗体与第二抗体竞争第三分子(例如抗原)上的结合位点的情况。在一个实施例中，使用FACS分析确定两种抗体之间的竞争性结合。

[0376] 术语“竞争性结合测定”是用于确定两种或更多种抗体是否结合相同表位的测定。在一个实施例中，竞争性结合测定是竞争性荧光激活细胞分选(FACS)测定，其用于通过确定标记抗体的荧光信号是否由于引入非标记抗体而减少来确定两种或更多种抗体是否结合相同的表位，其中相同表位的竞争将降低荧光水平。

[0377] 如本文使用的，术语“标记抗体”指具有掺入的标记的抗体或其抗原结合部分，所述标记为结合蛋白(例如，抗体)的鉴定作准备。优选地，标记是可检测标记，例如，掺入放射性标记的氨基酸或使生物素基(biotinyl)部分与多肽附接，所述生物素基部分可以通过标记的抗生物素蛋白(例如包含可以通过光学或比色法检测的荧光标记或酶促活性的链霉抗生物素蛋白)进行检测。关于多肽的标记的实例包括但不限于以下：放射性同位素或放射性核素(例如，^{3}H、^{14}C、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I、^{177}Lu、^{166}Ho、或^{153}Sm)；荧光标记(例如，FITC、罗丹明、镧系元素荧光粉)，酶标记(例如辣根过氧化物酶、荧光素酶、碱性磷酸酶)；化学发光标记；生物素基基团；由次级报道子识别的预定多肽表位(例如，亮氨酸拉链对序列、关于第二抗体的结合位点、金属结合结构域、附加表位)；和磁性试剂，例如钆螯合物。

[0378] 术语“抗体-药物-偶联物”或“ADC”是指与一个或多个化学药物(本文也称为一种或多种试剂、一种或多种弹头、和一种或多种有效负载)化学连接的结合蛋白(如抗体或其抗原结合片段)，其可以任选地为治疗剂或细胞毒性剂。在优选的实施例中，ADC包括抗体，药物(例如细胞毒性药物)和能够使药物与抗体附接或偶联的接头。ADC通常在任何地方都具有与抗体偶联的1至8种药物，包括2、4、6、或8的载药种类(drug loaded species)。可包含在ADC中的药物的非限制性实例是有丝分裂抑制剂、抗肿瘤抗生素、免疫调节剂、用于基因治疗的载体、烷化剂、抗血管生成剂、抗代谢物、含硼剂、化学保护剂、激素、抗激素剂、皮质类固醇、光活性治疗剂、寡核苷酸、放射性核素剂、拓扑异构酶抑制剂、激酶抑制剂(例如，TEC-家族激酶抑制剂和丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂)和放射增敏剂。在一个实施例中，药物是Bcl-xL抑制剂。

[0379] 本文可互换使用的术语“抗B7-H3抗体药物偶联物”或“抗B7-H3 ADC”是指包含特

异性结合B7-H3的抗体的ADC，其中抗体与一种或多种化学试剂偶联。在一个实施例中，抗B7-H3 ADC包含与澳瑞他汀(例如，MMAE或MMAF)偶联的抗体huAb13v1、huAb3v2.5、或huAb3v2.6。在一个实施例中，抗B7-H3 ADC包含与Bcl-xL抑制剂偶联的抗体huAb13v1、huAb3v2.5、或huAb3v2.6。在优选的实施例中，抗B7-H3 ADC与人B7-H3(hB7-H3)结合。

[0380] 如本文使用的，术语“Bcl-xL抑制剂”是指拮抗细胞中Bcl-xL活性的化合物。在一个实施例中，Bcl-xL抑制剂通过抑制Bcl-xL活性促进细胞凋亡。

[0381] 如本文使用的，术语“澳瑞他汀”是指抗有丝分裂试剂家族。澳瑞他汀衍生物也包含在术语“澳瑞他汀”的定义中。奥瑞他汀的实例包括但不限于澳瑞他汀E(AE)、一甲基澳瑞他汀E(MMAE)、一甲基澳瑞他汀F(MMAF)、以及多拉司他汀的合成类似物。在一个实施例中，本文所述的抗B7-H3抗体与澳瑞他汀偶联形成抗B7-H3ADC。

[0382] 如本文使用的，术语“Ab-vcMMAE”用于指通过马来酰亚胺基己酰基缬氨酸瓜氨酸对氨基苄基氧基氯基甲酰基(PABA)接头与一甲基澳瑞他汀(MMAE)偶联的抗体的ADC。

[0383] 如本文使用的，术语“mcMMAF”用于指马来酰亚胺基己酰基-一甲基澳瑞他汀F(MMAF)的接头/药物组合。

[0384] 术语“药物与抗体比率”或“DAR”是指ADC的与抗体附接的药物(例如，Bcl-xL抑制剂)的数量。ADC的DAR可以在1到8的范围内，但是取决于抗体上的连接位点的数量，更高的负载(例如20)也是可能的。提及负载到单个抗体上的药物的数量时，或可替代地，提及一组ADC的平均或均值DAR时，可以使用术语DAR。

[0385] 如本文使用的，术语“不希望的ADC种类”是指任何载药种类，其将与具有不同药物负荷的ADC种类分离。在一个实施例中，术语不希望的ADC种类可以指6或更高的载药种类，即，DAR为6或更高的ADC，包括DAR6、DAR7、DAR8和DAR大于8(即载药种类为6、7、8或大于8)。在一个独立的实施例中，术语不希望的ADC种类可以指8或更高的载药种类，即，DAR为8或更高的ADC，包括DAR8和DAR大于8(即载药种类为8或大于8)。

[0386] 如本文使用的，术语“ADC混合物”是指包含ADC的异质DAR分布的组合物。在一个实施例中，ADC混合物含有具有1至8的DAR的分布的ADC，例如，1.5、2、4、6、和8(即，2、4、6、和8的载药种类)。值得注意的是，可以产生降解产物，使得混合物中也可以包含1、3、5和7的DAR。此外，混合物中的ADC也可具有大于8的DAR。ADC混合物由链间二硫化物还原然后偶联产生。在一个实施例中，ADC混合物包含如下两者：DAR为4或更低(即，载药种类为4或更低)的ADC以及DAR为6或更高(即，载药种类为6或更高)的ADC。

[0387] 如本文使用的，术语“异种移植测定”是指人肿瘤异种移植测定，其中将人肿瘤细胞移植到不排斥人细胞的免疫受损小鼠中(移植到皮肤下或肿瘤起源的器官类型中)。

[0388] 术语“癌症”意指或意在描述哺乳动物的生理状态，其典型特征是细胞生长失控。癌症的实例包括但不限于癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤和白血病或淋巴恶性肿瘤。此类癌症的更具体实例包括胶质母细胞瘤、急性髓性白血病(AML)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、非小细胞肺癌、肺癌、结肠癌、结肠直肠癌、头颈癌、乳腺癌(例如三阴性乳腺癌)、胰腺癌、鳞状细胞肿瘤、鳞状细胞癌(例如鳞状细胞肺癌或鳞状细胞头颈癌)、肛门癌、皮肤癌、和外阴癌。在一个实施例中，将本发明的抗体或ADC给予至患有一种或多种肿瘤的患者，该患者过表达B7-H3。在一个实施例中，将本发明的抗体或ADC给予至患有实体瘤的患者，该患者可能过表达B7-H3。在一个实施例中，向患有鳞状细胞非小细胞肺癌(NSCLC)的患者给予本发明的抗体或

ADC。在一个实施例中,向患有实体瘤(包括晚期实体瘤)的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有前列腺癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有非小细胞肺癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有胶质母细胞瘤的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有结肠癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有头颈癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有肾癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有透明细胞肾细胞癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有胶质瘤的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有黑色素瘤的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有胰腺癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有胃癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有卵巢癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有结肠直肠癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有肾脏癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有小细胞肺癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有肝细胞癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有下咽鳞状细胞癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有神经母细胞瘤的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有乳腺癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有子宫内膜癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有尿路上皮细胞癌的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有急性髓性白血病(AML)的患者给予本发明的抗体或ADC。在一个实施例中,向患有非霍奇金淋巴瘤(NHL)的患者给予本发明的抗体或ADC。

[0389] 如本文使用的,术语“B7-H3表达肿瘤”是指表达B7-H3蛋白的肿瘤。在一个实施例中,使用肿瘤细胞膜的免疫组织化学染色测定肿瘤中的B7-H3表达,其中肿瘤样品中高于背景水平的任何免疫组织化学染色表明肿瘤是表达B7-H3的肿瘤。检测肿瘤中B7-H3表达的方法是本领域已知的,并且包括免疫组织化学测定法。相反,“B7-H3阴性肿瘤”定义为通过免疫组织化学技术测定的在肿瘤样品中缺乏高于背景的B7-H3膜染色的肿瘤。

[0390] 术语“过表达(overexpress)”、“过表达(overexpression)”或“过表达的(overexpressed)”可互换地指一种基因,与正常细胞相比,其通常在癌细胞中以可检测到的更高水平的转录或翻译。因此,过表达指的是蛋白质和RNA的过表达(由于增加的转录,转录后加工,翻译,翻译后加工,改变的稳定性和改变的蛋白质降解),以及蛋白质运输模式改变导致的局部过表达(核定位增加)和增强的功能活性,例如,如增加底物的酶水解。因此,过表达指蛋白质或RNA水平。与正常细胞或比较细胞相比,过表达也可以是50%、60%、70%、80%、90%或更多。在某些实施例中,本发明的抗B7-H3抗体或ADC用于治疗可能过表达B7-H3的实体瘤。

[0391] 如本文使用的,术语“基因扩增”是指细胞过程,其特征在于产生任何特定DNA片段的多个拷贝。例如,肿瘤细胞可以扩增或复制染色体片段,作为细胞信号和有时环境事件的结果。基因扩增过程导致另外的基因拷贝的产生。在一个实施例中,该基因是B7-H3,即“B7-H3扩增”。在一个实施例中,本文公开的组合物和方法用于治疗患有B7-H3扩增的癌症的受试者。

[0392] 如本文所用的术语“给予”意指递送物质(例如,抗B7-H3抗体或ADC)以实现治疗目的(例如,治疗B7-H3相关失调)。给予方式可以是肠胃外、肠内和局部。肠胃外给予通常是通

过注射，并且包括但不限于静脉、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、以及胸骨内注射和输注。

[0393] 在治疗的方法(therapeutic method)(例如，治疗方法(treatment method))的上下文中，如本文所用，术语“组合疗法”或“组合”是指给予两种或更多种治疗物质，例如，抗B7-H3抗体或ADC和另外的治疗试剂。另外的治疗剂可以与抗B7-H3抗体或ADC同时给予、在其之前给予或在其之后给予。

[0394] 如本文所用，术语“有效量”或“治疗有效量”是指药物，例如抗体或ADC的量，该量足以降低或改善病症(例如癌症)或其一种或多种症状的严重程度和/或持续时间；预防病症进展；引起病症消退；预防与病症相关的一种或多种症状复发、发展、发作或进展；检测病症；或增强或改善另一疗法(例如预防剂或治疗剂)的预防或治疗效果的量。例如，抗体或ADC的有效量可以抑制肿瘤生长(例如，抑制肿瘤体积的增加)；减少肿瘤生长(例如，减小肿瘤体积)；减少癌细胞的数量；和/或在一定程度上缓解与癌症相关的一种或多种症状。例如，有效量可以改善无病生存(DFS)、改善总体存活(OS)或降低复发的可能性。

[0395] 各种化学取代基如下定义。在一些情况下，取代基(例如，烷基、链烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、杂芳基、和芳基)中碳原子的数量由前缀“C_x-C_y”或“C_{x-y}”指示，其中x是碳原子的最小值并且y是碳原子的最大值。因此，例如，“C_1-C_6烷基”是指含有从1至6个碳原子的烷基。进一步说明，“C_3-C_8环烷基”意指含有从3至8个碳环原子的饱和烃基环。如果取代基被描述为“被取代的”，则碳或氮上的氢原子被非氢基团取代。例如，被取代的烷基取代基是烷基取代基，其中烷基上的至少一个氢原子被非氢基团替代。用于说明，单氟烷基是被氟基取代的烷基，并且二氟烷基是被两个氟基取代的烷基。应该认识到，如果在取代基上存在一个以上的取代，则每个取代可以是相同的或不同的(除非另有说明)。如果取代基被描述为“任选地被取代”，则取代基可以是(1)未被取代的或(2)被取代的。可能的取代基包括但不限于C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、芳基、环烷基、杂环基、杂芳基、卤素、C_1-C_6卤代烷基、氧代、-CN、NO_2、$-OR^{xa}$、$-OC(O)R^{xz}$、$-OC(O)N(R^{xa})_2$、$-SR^{xa}$、$-S(O)_2R^{xa}$、$-S(O)_2N(R^{xa})_2$、$-C(O)R^{xa}$、$-C(O)OR^{xa}$、$-C(O)N(R^{xa})_2$、$-C(O)N(R^{xa})S(O)_2R^{xz}$、$-N(R^{xa})_2$、$-N(R^{xa})C(O)R^{xz}$、$-N(R^{xa})S(O)_2R^{xz}$、$-N(R^{xa})C(O)O(R^{xz})$、$-N(R^{xa})C(O)N(R^{xa})_2$、$-N(R^{xa})S(O)_2N(R^{xa})_2$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)-CN、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-OR^{xa}$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-OC(O)R^{xz}$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-OC(O)N(R^{xa})_2$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-SR^{xa}$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-S(O)_2R^{xa}$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-S(O)_2N(R^{xa})_2$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-C(O)R^{xa}$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-C(O)OR^{xa}$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-C(O)N(R^{xa})_2$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-C(O)N(R^{xa})S(O)_2R^{xz}$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-N(R^{xa})_2$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-N(R^{xa})C(O)R^{xz}$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-N(R^{xa})S(O)_2R^{xz}$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-N(R^{xa})C(O)O(R^{xz})$、-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-N(R^{xa})C(O)N(R^{xa})_2$、或-($C_1$-$C_6$亚烷基)$-N(R^{xa})S(O)_2N(R^{xa})_2$；其中$R^{xa}$每次出现时独立地是氢、芳基、环烷基、杂环基、杂芳基、C_1-C_6烷基、或C_1-C_6卤代烷基；并且R^{xz}在每次出现时独立地是芳基、环烷基、杂环基、杂芳基、C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基。

[0396] 在本文的一些实施例中，通过参考包括取代基的结构式描述了各种ADC、合成子和包含ADC和/或合成子的Bcl-xL抑制剂。应理解，包含取代基的各种基团可以以化合价和稳定性允许的方式组合。本披露所设想的取代基和变量的组合仅是导致形成稳定化合物的那些。如本文所用，术语“稳定的”是指具有足以允许制造的稳定性并且将化合物的完整性保持足够长的时间以用于本文详述的目的的化合物。

[0397] 如本文使用的,以下术语旨在具有以下含义:

[0398] 术语“烷氧基”是指具有式-OR^{xa}的基团,其中R^{xa}是烷基基团。代表性的烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基等等。

[0399] 术语“烷氧基烷基”是指被烷氧基取代的烷基,并且可以由通式-$R^{b}OR^{xa}$表示,其中R^{b}是亚烷基基团并且R^{xa}是烷基基团。术语“烷基”本身或作为另一取代基的一部分是指饱和或不饱和的支链、直-链或环状单价烃基,其通过从母链烷、烯或炔的单个碳原子上除去一个氢原子而得到。典型的烷基包括但不限于甲基;乙基(如乙烷基、乙烯基、乙炔基);丙基(如丙-1-基、丙-2-基、环丙-1-基、丙-1-烯-1-基、丙-1-烯-2-基、丙-2-烯-1-基、环丙-1-烯-1-基;环丙-2-烯-1-基、丙-1-炔-1-基、丙-2-炔-1-基等);丁基(如丁烷-1-基、丁烷-2-基、2-甲基-丙烷-1-基、2-甲基-丙烷-2-基、环丁烷-1-基、丁-1-烯-1-基、丁-1-烯-2-基、2-甲基-丙-1-烯-1-基、丁-2-烯-1-基、丁-2-烯-2-基、丁-1,3-二烯-1-基、丁-1,3-二烯-2-基、环丁-1-烯-1-基、环丁-1-烯-3-基、环丁-1,3-二烯-1-基、丁-1-炔-1-基、丁-1-炔-3-基、丁-3-炔-1-基等);等。在预期具体的饱和水平的情况下,使用术语“链烷基”、“烯基”和/或“炔基”,如下所定义。术语“低级烷基”是指具有1至6个碳的烷基。

[0400] 术语“链烷基”本身或作为另一取代基的一部分是指通过从母烷烃的单个碳原子上除去一个氢原子而得到的饱和支链、直-链或环状烷基。典型的链烷基包括但不限于甲基;乙烷基;丙烷基(如丙烷-1-基、丙烷-2-基(异丙基)、环丙烷-1-基,等);丁烷基(如丁烷-1-基、丁烷-2-基(仲丁基)、2-甲基-丙烷-1-基(异丁基)、2-甲基-丙烷-2-基(叔-丁基)、环丁烷-1-基,等);等。

[0401] 术语“烯基”本身或作为另一取代基的一部分是指具有至少一个碳-碳双键的不饱和支链、直-链或环状烷基,双键通过从母体烯烃的单个碳原子上除去一个氢原子而得到。典型的烯基包括但不限于乙烯基;丙烯基(如丙-1-烯-1-基、丙-1-烯-2-基、丙-2-烯-1-基、丙-2-烯-2-基、环丙-1-烯-1-基);环丙-2-烯-1-基;丁烯基(如丁-1-烯-1-基、丁-1-烯-2-基、2-甲基-丙-1-烯-1-基、丁-2-烯-1-基、丁-2-烯-2-基、丁-1,3-二烯-1-基、丁-1,3-二烯-2-基、环丁-1-烯-1-基、环丁-1-烯-3-基、环丁-1,3-二烯-1-基,等);等。

[0402] 术语“炔基”本身或作为另一取代基的一部分是指具有至少一个碳-碳三键的不饱和支链、直-链或环状烷基,三键通过从母体炔烃的单个碳原子上除去一个氢原子而得到。典型的炔基包括但不限于乙炔基;丙炔基(如丙-1-炔-1-基、丙-2-炔-1-基,等);丁炔基(如丁-1-炔-1-基、丁-1-炔-3-基、丁-3-炔-1-基,等);等。

[0403] 术语“烷基胺”是指式-NHR^{xa}的基团,并且“二烷基胺”是指式-$NR^{xa}R^{xa}$的基团,其中每个R^{xa}独立地是烷基。

[0404] 术语“亚烷基”是指具有两个末端单价基团中心的烷烃,烯烃或炔烃基团,其通过从两个末端碳原子中的每一个中除去一个氢原子而得到。典型的亚烷基包括但不限于亚甲基;以及饱和或不饱和的亚乙基;亚丙基;亚丁基;等。术语“低级亚烷基”是指具有1至6个碳的亚烷基。

[0405] 术语“杂亚烷基”是指具有一个或多个-CH_2-基团的二价的亚烷基,所述-CH_2-基团被硫、氧基、或-NR^{x3}-(其中R^{x3}选自氢、低级烷基和低级杂烷基)替换。杂亚烷基可以是直链、支链、环状、双环或其组合,并且可以包括多达10个碳原子和多达4个杂原子。术语“低级杂亚烷基”是指具有1至4个碳原子和1至3个杂原子的亚烷基。

[0406] 术语“芳基”是指含有6至14个碳环原子的芳族碳环基。芳基可以是单环或多环的(即,可以含有多于一个环)。在多环芳族环的情况下,仅需要多环系统中的一个环是芳族的,而剩余的一个或多个环可以是饱和的、部分饱和的或不饱和的。芳基的实例包括苯基、萘基、茚基、芴满基、和四氢萘基。

[0407] 术语“亚芳基”是指具有两个单价基团中心的芳基基团,该单价基团中心通过从两个环碳中的每个中去除一个氢原子而得到。示例性的亚芳基是亚苯基。

[0408] 烷基可以被“羰基”取代,这意味着来自单个亚烷基碳原子的两个氢原子被除去并被双键取代成氧原子。

[0409] 前缀“卤代”表示包括前缀的取代基被一个或多个独立选择的卤素基团取代。例如,卤代烷基意指其中至少一个氢基被卤素基团置换的烷基取代基。典型的卤素基包括氯、氟、溴和碘。卤代烷基的实例包括氯甲基、1-溴乙基、氟甲基、二氟甲基、三氟甲基以及1,1,1-三氟乙基。应该认识到,如果取代基被一个以上的卤素基团取代,则那些卤素基团可以相同或不同(除非另有说明)。

[0410] 术语“卤代烷氧基”是指式-OR^c的基团,其中R^c是卤代烷基。

[0411] 术语“杂烷基”、“杂链烷基”、“杂烯基”、“杂炔基”和“杂亚烷基”分别指烷基、链烷基、链烯基、炔基和亚烷基,其中一个或多个碳原子,例如,1、2或3个碳原子,各自独立地被相同或不同的杂原子或杂原子基团取代。可以替代碳原子的典型杂原子和/或杂原子基团包括但不限于-O-、-S-、-S-O-、-NR^c-、-PH、-S(O)-、-$S(O)_2$-、-S(O)NR^c-、-$S(O)_2NR^c$-等,包括其组合,其中每个R^c独立地是氢或C_1-C_6烷基。术语“低级杂烷基”是指在1和4个之间的碳原子和在1和3个之间的杂原子。

[0412] 术语“环烷基”和“杂环基”分别指“烷基”和“杂烷基”的环状形式。对于杂环基,杂原子可以占据与分子其余部分附接的位置。环烷基环或杂环基环可以是单环(单环的)或具有两个或更多个环(双环的或多环的)。

[0413] 单环环烷基和杂环基基团将典型地含有从3至7个环原子、更典型地从3至6个环原子、以及甚至更典型地5至6个环原子。环烷基基团的实例包括但不限于环丙基;环丁基(如环丁烷基和环丁烯基);环戊基(如环戊烷基和环戊烯基);环己基(如环己烷基和环己烯基);等。单环杂环基的实例包括但不限于:氧杂环丁烷、呋喃基、二氢呋喃基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、噻吩基(硫代呋喃基)、二氢噻吩基、四氢噻吩基、吡咯基、吡咯啉基、吡咯烷基、咪唑基、咪唑啉基、咪唑烷基、吡唑基、吡唑啉基、吡唑烷基、三唑基、四唑基、噁唑基、噁唑烷基、异噁唑烷基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、噻唑啉基、异噻唑啉基、噻唑烷基、异噻唑烷基、噻二唑基、噁二唑基(包括1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基(呋咱基)、或1,3,4-噁二唑基)、噁三唑基(包括1,2,3,4-噁三唑基或1,2,3,5-噁三唑基)、二噁唑基(包括1,2,3-二噁唑基、1,2,4-二噁唑基、1,3,2-二噁唑基、或1,3,4-二噁唑基)、1,4-二噁烷基、二氧代硫代吗啉基、氧杂噻唑基、氧杂硫醇基、氧杂四氢噻吩基、吡喃基、二氢吡喃基、噻喃基、四氢噻喃基、吡啶基(吖嗪基)、哌啶基、二嗪基(包括哒嗪基(1,2-二嗪基)、嘧啶基(1,3-二嗪基)或吡嗪基(1,4-二嗪基))、哌嗪基、三嗪基(包括1,3,5-三嗪基、1,2,4-三嗪基和1,2,3-三嗪基))、噁嗪基(包括1,2-噁嗪基、1,3-噁嗪基或1,4-噁嗪基))、氧杂噻嗪基(包括1,2,3-氧杂噻嗪基、1,2,4-氧杂噻嗪基、1,2,5-氧杂噻嗪基、或1,2,6-氧杂噻嗪基))、噁二嗪基(包括1,2,3-噁二嗪基、1,2,4-噁二嗪基、1,4,2-噁二嗪基或1,3,5-噁二嗪基))、

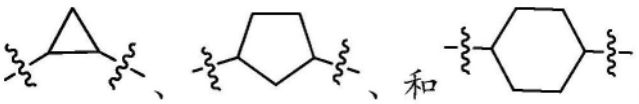
吗啉基、氮杂萜基、氧杂萜基、硫杂萜基、二氮杂萜基、吡啶酮基(包括吡啶-2(1H)-酮基和吡啶-4(1H)-酮基)、呋喃-2(5H)-酮基、嘧啶酮基(包括嘧啶-2(1H)-酮基和嘧啶-4(3H)-酮基)、噁唑-2(3H)-酮基、1H-咪唑-2(3H)-酮基、哒嗪-3(2H)-酮基和吡嗪-2(1H)-酮基。

[0414] 多环环烷基和杂环基含有一个以上的环,并且双环环烷基和杂环基含有两个环。环可以处于桥联、稠合或螺旋方向。多环环烷基和杂环基可包括桥环、稠合环和/或螺环的组合。在螺环环烷基或杂环基中,一个原子是两个不同环所共有的。螺环烷基的实例是螺[4.5]癸烷并且螺杂环基的实例是螺吡唑啉。

[0415] 在桥接的环烷基或杂环基中,环共有至少两个共同的不相邻的原子。桥联环烷基的实例包括但不限于金刚烷基和降莰烷基环。桥联杂环的实例包括但不限于2-氧杂三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸基。

[0416] 在稠环环烷基或杂环基中,两个或更多个环稠合在一起,使得两个环共享一个共同键。稠环环烷基的实例包括十氢化萘、亚萘基、四氢化萘、和蒽。含有两个或三个环的稠环杂环基的实例包括咪唑并吡嗪基(包括咪唑并[1,2-a]吡嗪基)、咪唑并吡啶基(包括咪唑并[1,2-a]吡啶基)、咪唑并哒嗪基(包括咪唑并[1,2-b]哒嗪基)、噻唑并吡啶基(包括噻唑并[5,4-c]吡啶基、噻唑并[5,4-b]吡啶基、噻唑并[4,5-b]吡啶基、和噻唑并[4,5-c]吡啶基)、吲嗪基、吡喃并吡咯基、4H-喹嗪基、嘌呤基、萘啶基、吡啶并吡啶基(包括吡啶并[3,4-b]-吡啶基、吡啶并[3,2-b]-吡啶基、或吡啶并[4,3-b]-吡啶基)、和蝶啶基。稠环杂环基的其他实例包括苯并稠合的杂环基,例如二氢色满基、四氢异喹啉基、吲哚基、异吲哚基(氮茚基、假异吲哚基)、假吲哚基(异氮杂茚基)、异吲唑基(苯并吡唑基)、苯并吖嗪基(包括喹啉基(1-苯并吖嗪基)或异喹啉基(2-苯并吖嗪基))、酞嗪基、喹喔啉基、喹唑啉基、苯并二嗪基(包括噌啉基(1,2-苯并二嗪基)或喹唑啉基(1,3-苯并二嗪基))、苯并吡喃基(包括苯并二氢吡喃基或异苯并二氢吡喃基)、苯并噁嗪基(包括1,3,2-苯并噁嗪基、1,4,2-苯并噁嗪基、2,3,1-苯并噁嗪基或3,1,4-苯并噁嗪基)、苯并[d]噻唑基和苯并异噁嗪基(包括1,2-苯并异噁嗪基或1,4-苯并异噁嗪基)。

[0417] 术语“亚环烷基”是指具有两个单价基团中心的环烷基基团,该单价基团中心通过从两个环碳中的每个中去除一个氢原子而得到。示例性的亚环烷基基团包括:



[0418] 术语“杂芳基”是指含有5至14个环原子的芳族杂环基。杂芳基可以是单环或2或3个稠环。杂芳基的实例包括6元环(如吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基和1,3,5-、1,2,4-或1,2,3-三嗪基);5元环取代基,如三唑基、吡咯基、咪唑基、呋喃基、噻吩基、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、1,2,3-、1,2,4-、1,2,5-或1,3,4-噁二唑基和异噻唑基;6/5元稠环取代基,如咪唑并吡嗪基(包括咪唑并[1,2-a]吡嗪基)、咪唑并吡啶基(包括咪唑并[1,2-a]吡啶基)、咪唑并哒嗪基(包括咪唑并[1,2-b]哒嗪基)、噻唑并吡啶基(包括噻唑并[5,4-c]吡啶基、噻唑并[5,4-b]吡啶基、噻唑并[4,5-b]吡啶基、和噻唑并[4,5-c]吡啶基)、苯并[d]噻唑基、苯并硫代呋喃基、苯并异噁唑基、苯并噁唑基、嘌呤基和氨茴基;以及6/6元稠环(如苯并吡喃基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、喹唑啉基、以及苯并噁嗪基)。杂芳基还可以是具有芳香族(4N+2π电子)共振贡献物的杂环,如吡啶酮基(包括吡啶-2(1H)-酮基和吡啶-4(1H)-酮

基)、嘧啶酮基(包括嘧啶-2(1H)-酮基和嘧啶-4(3H)-酮基)、哒嗪-3(2H)-酮基和吡嗪-2(1H)-酮基。

[0419] 本文所用的术语“磺酸化物”是指磺酸的盐或酯。

[0420] 如本文使用的,术语“甲基磺酸酯”意指磺酸基团的甲基酯。

[0421] 本文所用的术语“羧酸化物”是指羧酸的盐或酯。

[0422] 如本文所用,术语“多元醇”是指独立地或作为单体单元的一部分含有多于两个羟基的基团。多元醇包括但不限于还原的C_2-C_6碳水化合物、乙二醇和甘油。

[0423] 当在“G^1”的背景下使用时,术语“糖”包括单糖和二糖类的O-糖苷、N-糖苷、S-糖苷和C-糖苷(C-糖基)碳水化合物衍生物,并且可以源自天然来源或可能是合成的。例如,当在“G^1”的上下文中使用时,“糖”包括衍生物,例如但不限于衍生自葡糖醛酸、半乳糖醛酸、半乳糖和葡萄糖等的衍生物。合适的糖取代包括但不限于羟基、胺、羧酸、磺酸、膦酸、酯和醚。

[0424] 术语“NHS酯”是指羧酸的N-羟基琥珀酰亚胺酯衍生物。

[0425] 术语“胺”包括伯、仲和叔脂族胺(包括环状胺)。

[0426] 当在“或其盐”的上下文中使用时,术语盐包括盐,其通常用于形成碱金属盐和形成游离酸或游离碱的加成盐。通常,这些盐通常可以通过常规方法通过使例如适当的酸或碱与本发明化合物反应来制备。

[0427] 当打算向患者给予盐时(例如,与在体外相反的环境中使用),盐优选是药学上可接受的和/或生理学相容的。术语“药学上可接受的”在本专利申请中以形容词的形式使用,意指修饰的名词适合用作药物产品或作为药物产品的一部分。术语“药学上可接受的盐”包括盐,其通常用于形成碱金属盐和形成游离酸或游离碱的加成盐。通常,这些盐通常可以通过常规方法通过使例如适当的酸或碱与本发明化合物反应来制备。

[0428] 在以下小节中更详细地描述了本发明的各个方面。

[0429] II.抗B7-H3抗体

[0430] 本发明的一个方面提供了抗B7-H3抗体或其抗原结合部分。在一个实施例中,本发明提供了嵌合抗B7-H3抗体或其抗原结合部分。在又另一个实施例中,本发明提供了人源化抗B7-H3抗体或其抗原结合部分。另一方面,本发明的特征在于抗体药物偶联物(ADC),其包含本文所述的抗B7-H3抗体和至少一种药物,例如但不限于Bcl-xL抑制剂或澳瑞他汀。本发明的抗体或ADC具有包括但不限于与野生型人B7-H3体外结合、与表达B7-H3的肿瘤细胞上的野生型人B7-H3结合、以及减少或抑制小鼠模型中异种移植肿瘤生长的特征。

[0431] 本发明的一个方面的特征在于抗人B7-H3(抗hB7-H3)抗体药物偶联物(ADC),其包含通过接头与药物偶联的抗hB7-H3抗体,其中所述药物是Bcl-xL抑制剂。本文描述了可以用于ADC中的示例性抗B7-H3抗体(及其序列)。

[0432] 本文所述的抗B7-H3抗体为本发明的ADC提供了结合B7-H3的能力,使得附着于抗体的细胞毒性Bcl-xL药物可以被递送至表达B7-H3的细胞,特别是表达B7-H3的癌细胞。

[0433] 尽管始终使用术语抗体,但应注意抗体片段(即,抗B7-H3抗体的抗原结合部分)也包括在本发明中,并且可包括在全篇所述的实施例(方法和组合物)中。例如,抗B7-H3抗体片段可以与本文所述的Bcl-xL抑制剂偶联。因此,在某些实施例中,本文所述的抗B7-H3抗体的抗体片段通过接头(包括下面III.A部分中描述的那些)与Bcl-xL抑制剂(包括下面III.A部分中描述的那些)偶联,这也在本发明的范围内。在某些实施例中,抗B7-H3抗体结

合部分是Fab、Fab'、F(ab')2、Fv、二硫键连接的Fv、scFv、单结构域抗体或双抗体。

[0434] II.A.抗B7-H3嵌合抗体

[0435] 嵌合抗体为抗体的不同部分衍生自不同动物物种的分子,诸如具有衍生自鼠单克隆抗体的可变区及人类免疫球蛋白恒定区的抗体。用于制造嵌合抗体的方法为本领域中已知的。参见,例如:Morrison,Science[科学]229:1202(1985);Oi等人,BioTechniques[生物技术]4:214(1986);Gillies等人,(1989)J.Immunol.Methods[免疫学方法期刊]125:191-202;美国专利号5,807,715;4,816,567;和4,816,397,其通过引用整体并入本文。另外,可以使用通过将来自具有适当抗原特异性的小鼠抗体分子的基因与来自具有适当生物活性的人抗体分子的基因剪接而产生用于产生"嵌合抗体"的技术(Morrison等人,1984,Proc.Natl.Acad.Sci.[美国国家科学院院刊]81:851-855;Neuberger等人,1984,Nature[自然]312:604-608;Takeda等人,1985,Nature[自然]314:452-454,全部通过引用整体并入本文)。

[0436] 如实例3中所述,鉴定了十八种抗B7-H3鼠抗体,其具有针对人和食蟹猴B7-H3的高特异性结合活性。在人免疫球蛋白恒定区的背景下,由这十八种抗体产生嵌合抗体。

[0437] 因此,一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有包含SEQ ID NO:1、9、16、24、32、40、48、56、64、72、80、87、95、101或108所示的氨基酸序列的重链可变区。和/或包含SEQ ID NO:5、13、20、28、36、44、52、60、68、76、84、91、98、105或112中所示的氨基酸序列的轻链可变区。

[0438] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:1中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:5中所示氨基酸序列)。

[0439] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:2所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:3所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:4所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:6所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:8所示氨基酸序列的CDR3)。

[0440] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:9中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:13中所示氨基酸序列)。

[0441] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:11所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:14所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0442] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:16中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:20中所示氨基酸序列)。

[0443] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:17所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:18所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:19所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具

有SEQ ID NO:21所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:22所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:23所示氨基酸序列的CDR3)。

[0444] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:24中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:28中所示氨基酸序列)。

[0445] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:25所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:26所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:27所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:29所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:30所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:31所示氨基酸序列的CDR3)。

[0446] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:32中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:36中所示氨基酸序列)。

[0447] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:33所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:34所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:35所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:37所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:38所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:182所示氨基酸序列的CDR3)。

[0448] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:40中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:44中所示氨基酸序列)。

[0449] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:41所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:42所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:43所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:45所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:46所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:47所示氨基酸序列的CDR3)。

[0450] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:48中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:52中所示氨基酸序列)。

[0451] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:49所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:50所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:51所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:53所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:54所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:55所示氨基酸序列的CDR3)。

[0452] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:56中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:60中所示氨基酸序列)。

[0453] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:57所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:58所示氨基酸

序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:59所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:61所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:62所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:63所示氨基酸序列的CDR3)。

[0454] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:64中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:68中所示氨基酸序列)。

[0455] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:65所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:66所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:67所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:69所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:70所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:71所示氨基酸序列的CDR3)。

[0456] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:76中所示氨基酸序列)。

[0457] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:73所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:74所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:75所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:77所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:78所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:79所示氨基酸序列的CDR3)。

[0458] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:80中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:84中所示氨基酸序列)。

[0459] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:81所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:82所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:83所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:85所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:86所示氨基酸序列的CDR3)。

[0460] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:87中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:91中所示氨基酸序列)。

[0461] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:88所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:89所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:90所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:92所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:93所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:94所示氨基酸序列的CDR3)。

[0462] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:95中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:98中所示氨基酸序列)。

[0463] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域

区(包括(a)具有SEQ ID NO:49所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:96所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:97所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:99所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:93所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:100所示氨基酸序列的CDR3)。

[0464] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:101中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:105中所示氨基酸序列)。

[0465] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:102所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:103所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:104所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:106所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:46所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:107所示氨基酸序列的CDR3)。

[0466] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:108中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:112中所示氨基酸序列)。

[0467] 另一方面,本发明涉及抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:109所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:110所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:111所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:113所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:114所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:115所示氨基酸序列的CDR3)。

[0468] II.B.人源化抗B7-H3抗体

[0469] 本文公开的嵌合抗体可用于产生人源化抗B7-H3抗体。例如,在嵌合抗B7-H3抗体chAb1-chAb18的产生和表征之后,选择抗体chAb3、chAb13和chAb18用于人源化。具体地,基于chAb3产生六种不同的人源化抗体(在本文中称为huAb3v1、huAb3v2、huAb3v3、huAb3v4、huAb3v5和huAb3v6(参见实例12和13)),基于chAb13产生九种不同的人源化抗体(在本文中称为huAb13v1、huAb13v2、huAb13v3、huAb13v4、huAb13v5、huAb13v6、huAb13v7、huAb13v8、huAb13v9),并且基于chAb18产生十种不同的人源化抗体(在本文中称为huAb18v1、huAb18v2、huAb18v3、huAb18v4、huAb18v5、huAb18v6、huAb18v7、huAb18v8、huAb18v9和huAb18v10(参见实施例9和10))。表8、12、16、18和19分别提供了人源化chAb3、chAb13和chAb18的CDR、VH和VL区的氨基酸序列。

[0470] 通常,人源化抗体是来自非人物种抗体的、结合希望的抗原的抗体分子,所述抗原具有来自非人物种的一个或多个互补决定区(CDR)和来自人免疫球蛋白分子的框架区。已知的人Ig序列披露于,例如,www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez-/query.fcgi;www.atcc.org/phage/hdb.html;www.sciquest.com/;www.abcam.com/;www.antibodyresource.com/onlinecomp.html;www.public.iastate.edu/.about.pedro/research_tools.html;www.mgen.uni-heidelberg.de/SD/IT/IT.html;www.whfreeman.com/immunology/CH-05/kuby05.htm;www.library.thinkquest.org/12429/Immune/Antibody.html;www.hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab/;www.path.cam.ac.uk/.about.mrc7/m-ikeimages.html;www.antibodyresource.com/;mcb.harvard.edu/BioLinks/Immuno-lo

gy.html.www.immunologylink.com/;pathbox.wustl.edu/.about.hcenter/index.-html;www.biotech.ufl.edu/.about.hcl/;www.pebio.com/pa/340913/340913.html-;www.nal.usda.gov/awic/pubs/antibody/;www.m.ehime-u.acjp/.about.yasuhito-/Elisa.html;www.biodesign.com/table.asp;www.icnet.uk/axp/facs/davies/links.html;www.biotech.ufl.edu/.about.fccl/protocol.html;www.isac-net.org/sites_geo.html;aximtl.imt.uni-marburg.de/.about.rek/AEP-Start.html;baserv.uci.kun.nl/.about.jraats/linksl.html;www.recab.uni-hd.de/immuno.bme.nwu.edu/;www.mrc-cpe.cam.ac.uk/imt-doc/pu-blic/INTRO.html;www.ibt.unam.mx/vir/V_mice.html;imgt.cnusc.fr:8104/;www.biochem.ucl.ac.uk/.about.martin/abs/index.html;antibody.bath.ac.uk/;abgen.cvm.tamu.edu/lab/wwwabgen.html;www.unizh.ch/.about.honegger/AHOsem-inar/Slide01.html;www.cryst.bbk.ac.uk/.about.ubcg07s/;www.nimr.mrc.ac.uk/CC/ccaewg/ccaewg.htm;www.path.cam.ac.uk/.about.mrc7/h-umanisation/TAHHP.html;www.ibt.unam.mx/vir/structure/stat_aim.html;www.biosci.missouri.edu/smithgp/index.html;www.cryst.bioc.cam.ac.uk/.abo-ut.fmolina/Web-pages/Pept/spottech.html;www.jerini.de/frroducts.htm;www.patents.ibm.com/ibm.html.Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学重要性蛋白质序列],U.S.Dept.Health[美国卫生部](1983),每个都通过引用整体并入本文。如本领域中所知,如此导入的序列可用于降低免疫原性或降低、增强或修改结合、亲和力、结合速率、解离速率、亲合力、特异性、半衰期或任何其他适合特征。

[0471] 人类框架区中的框架残基可经来自CDR供体抗体的相应残基取代,以更改、优选地改善抗原结合。这些框架取代是通过本领域中熟知的方法来鉴别,例如通过模拟CDR与框架残基的相互作用以便鉴别对于抗原结合重要的框架残基、和用于鉴别具体位置的不寻常框架残基的序列比较。(参见,例如Queen等人,美国专利号5,585,089;Riechmann等人,Nature[自然]332:323(1988),这些文献通过引用以其全文结合在此。)三维免疫球蛋白模型通常可获得,且为本领域中的熟练技术人员所熟悉。可利用说明且显示所选候选免疫球蛋白序列的可能三维构象结构的计算机程序。对这些显示结果的检验允许分析残基在候选免疫球蛋白序列的功能中的可能作用,即,分析影响候选免疫球蛋白结合其抗原的能力的残基。以此方式,可自共有序列及导入序列选择FR残基且组合以便达成所需抗体特征,诸如对目标抗原的亲和力增加。一般而言,CDR残基直接且最显著参与影响抗原结合。可以使用本领域已知的多种技术将抗体人源化,例如但不限于在以下中描述的那些:Jones等人,Nature[自然]321:522(1986);Verhoeyen等人,Science[科学]239:1534(1988)),Sims等人,J.Immunol.[免疫学杂志]151:2296(1993);Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]196:901(1987),Carter等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊]89:4285(1992);Presta等人,J.Immunol.[免疫学杂志]151:2623(1993),Padlan,Molecular Immunology[分子免疫学]28(4/5):489-498(1991);Studnicka等人,Protein Engineering[蛋白质工程]7(6):805-814(1994);Roguska.等人,PNAS 91:969-973(1994);PCT公开WO91/09967,PCT/:US98/16280、US96/18978、US91/09630、US91/05939、US94/01234、GB89/01334、GB91/01134、GB92/01755;WO90/14443、WO90/14424、WO90/14430、EP 229246、EP

592,106;EP 519,596、EP 239,400,美国专利号5,565,332、5,723,323、5,976,862、5,824,514、5,817,483、5814476、5763192、5723323、5,766886、5,714,352、6,204,023、6,180,370、5,693,762、5,530,101、5,585,089、5,225,539;4,816,567,每个都通过引用整体并入本文,其中引用的参考文献包括在内。

[0472] 衍生自chAb3的人源化抗B7-H3抗体

[0473] 生产了基于chAb3的六种人源化抗体。各自的序列如下:

[0474] A)huAb3v1(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:125中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、11、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:128中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:14、7、和15中);

[0475] B)huAb3v2(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:127中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、11、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:128中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:14、7、和15中);

[0476] C)huAb3v3(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:126中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、11、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:129中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:14、7、和15中);

[0477] D)huAb3v4(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:125中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、11、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:130中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:14、7、和15中);

[0478] E)huAb3v5(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:127中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、11、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:130中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:14、7、和15中);以及

[0479] F)huAb3v6(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:126中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、11、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:130中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:14、7、和15中)。

[0480] 在六种人源化版本的chAb3中,选择huAb3v2用于进一步修饰以除去轻链CDR1或重链CDR2中的潜在脱酰胺或异构化位点。产生了人源化抗体huAb3v2的九种变体,并且在本文中称为huAb3v2.1、huAb3v2.2、huAb3v2.3、huAb3v2.4、huAb3v2.5、huAb3v2.6、huAb3v2.7、huAb3v2.8、和huAb3v2.9(表16中提供了CDR和可变域序列)。huAb3v2抗体的九种变体包括以下:

[0481] A)huAb3v2.1(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:131中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、132、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:133中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:134、7、和15中);

[0482] B)huAb3v2.2(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:131中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、132、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:135中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:136、7、和15中);

[0483] C)huAb3v2.3(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:131中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、132、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:137中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:138、7、和15中);

[0484] D)huAb3v2.4(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:139中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨

基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、140、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:133中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:134、7、和15中);

[0485] E)huAb3v2.5(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:139中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、140、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:135中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:136、7、和15中);

[0486] F)huAb3v2.6(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:139中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、140、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:137中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:138、7、和15中);

[0487] G)huAb3v2.7(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:141中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、142、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:133中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:134、7、和15中);

[0488] H)huAb3v2.8(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:141中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、142、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:135中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:136、7、和15中);以及

[0489] I)huAb3v2.9(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:141中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10、142、和12中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:137中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:138、7、和15中)。

[0490] 因此,一方面,本发明提供了包含来自chAb3的人源化抗体的可变和/或CDR序列的抗体。如下文实例所描述,在一个实施例中,本发明的特征在于衍生自Ab3的抗B7-H3抗体具有改善的特征,例如改善的对分离的B7-H3蛋白的结合亲和力,和改善的与B7-H3表达细胞的结合。这些新型抗体在本文中统称为“Ab3变体抗体”。通常,Ab3变体抗体保留与Ab3相同的表位特异性。在各种实施例中,本发明的抗B7-H3抗体或其抗原结合片段能够调节B7-H3的生物学功能。

[0491] 一方面,本发明提供了人源化抗体或其抗原结合部分,其具有包含SEQ ID NO:125、126、127、131、139、或141所示的氨基酸序列的重链可变区;和/或包括SEQ ID NO:128、129、130、133、135或137中所示的氨基酸序列的轻链可变区。

[0492] 另一方面,本发明涉及本发明的抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其包含:重链可变区(该重链可变区包含:含有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR1结构域;含有SEQ ID NO:11、132、140或142所示的氨基酸序列的CDR2结构域;和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的CDR3结构域);和轻链可变区(该轻链可变区包含:含有SEQ ID NO:14、134、136和138所示的氨基酸序列的CDR1结构域;含有SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列的CDR2结构域;和含有SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的CDR3结构域)。

[0493] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:125中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:128中所示氨基酸序列)。

[0494] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:127中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:128中所示氨基酸序列)。

[0495] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如

SEQ ID NO:126中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:129中所示氨基酸序列)。

[0496] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:125中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:130中所示氨基酸序列)。

[0497] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:127中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:130中所示氨基酸序列)。

[0498] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:126中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:130中所示氨基酸序列)。

[0499] 另一方面,本发明针对人源化抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:11所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:14所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0500] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:131中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:133中所示氨基酸序列)。

[0501] 另一方面,本发明针对人源化抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:132所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:134所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0502] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:131中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:135中所示氨基酸序列)。

[0503] 另一方面,本发明针对人源化抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:132所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:136所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0504] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:131中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:137中所示氨基酸序列)。

[0505] 另一方面,本发明针对人源化抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:132所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:138所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的

CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0506] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:139中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:133中所示氨基酸序列)。

[0507] 另一方面,本发明针对人源化抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:140所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:134所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0508] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:139中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:135中所示氨基酸序列)。

[0509] 另一方面,本发明针对人源化抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:140所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:136所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0510] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链(包括SEQ ID NO:170的氨基酸序列)、和轻链(包括SEQ ID NO:171的氨基酸序列)。

[0511] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:139中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:137中所示氨基酸序列)。

[0512] 另一方面,本发明针对人源化抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:140所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:138所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0513] 另一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链(包括SEQ ID NO:172的氨基酸序列)、和轻链(包括SEQ ID NO:173的氨基酸序列)。一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:141中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:133中所示氨基酸序列)。

[0514] 另一方面,本发明针对人源化抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:142所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:134所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0515] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:141中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:135中所示氨基酸序列)。

[0516] 另一方面，本发明针对人源化抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，其具有：重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的CDR1；(b)具有SEQ ID NO:142所示氨基酸序列的CDR2；和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3)；和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:136所示氨基酸序列的CDR1；(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2；和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0517] 一方面，本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:141中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:137中所示氨基酸序列)。

[0518] 另一方面，本发明针对人源化抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，其具有：重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的CDR1；(b)具有SEQ ID NO:142所示氨基酸序列的CDR2；和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3)；和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:138所示氨基酸序列的CDR1；(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2；和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0519] 衍生自chAb13的人源化抗B7-H3抗体

[0520] 基于chAb13创建的九种不同的人源化抗体包括以下：

[0521] A)huAb13v1(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:147中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:33、34、和35中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:144中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:37、38、和39中)；

[0522] B)huAb13v2(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:146中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:33、34、和35中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:143中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:37、38、和39中)；

[0523] C)huAb13v3(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:146中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:33、34、和35中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:144中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:37、38、和39中)；

[0524] D)huAb13v4(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:146中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:33、34、和35中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:145中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:37、38、和39中)；

[0525] E)huAb13v5(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:147中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:33、34、和35中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:143中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:37、38、和39中)；

[0526] F)huAb13v6(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:147中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:33、34、和35中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:145中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:37、38、和39中)；

[0527] G)huAb13v7(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:148中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:33、34、和35中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:143中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:37、38、和39中)；

[0528] H)huAb13v8(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:148中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:33、34、和35中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:144中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:37、38、和39中)；

[0529] I)huAb13v9(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:148中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:33、34、和35中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:145中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:37、38、和39中)。

[0530] 因此,一方面,本发明提供了包含来自chAb13的人源化抗体的可变和/或CDR序列的抗体。如下文实例所描述,在一个实施例中,本发明的特征在于衍生自chAb13的抗B7-H3抗体具有改善的特征,例如改善的对分离的B7-H3蛋白的结合亲和力,和改善的与B7-H3表达细胞的结合。这些新型抗体在本文中统称为“Ab13变体抗体”。通常,Ab13变体抗体保留与Ab13相同的表位特异性。在各种实施例中,本发明的抗B7-H3抗体或其抗原结合片段能够调节B7-H3的生物学功能。

[0531] 一方面,本发明提供了人源化抗体或其抗原结合部分,其具有包含SEQ ID NO:146、147、或148所示的氨基酸序列的重链可变区;和/或包括SEQ ID NO:143、144或145中所示的氨基酸序列的轻链可变区。

[0532] 另一方面,本发明涉及本发明的抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其包含:重链可变区(该重链可变区包含:含有SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列的CDR1结构域;含有SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列的CDR2结构域;和含有SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的CDR3结构域);和轻链可变区(该轻链可变区包含:含有SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的CDR1结构域;含有SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的CDR2结构域;和含有SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的CDR3结构域)。

[0533] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:147中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列)。在一个实施例中,本发明提供了抗-B7H3抗体,其包含huAb13v1的可变区中所示的CDR序列(SEQ ID NO.144和147)。

[0534] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链(包括SEQ ID NO:168的氨基酸序列)、和轻链(包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列)。

[0535] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:146中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:143中所示氨基酸序列)。

[0536] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:146中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列)。

[0537] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:146中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:145中所示氨基酸序列)。

[0538] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:147中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:143中所示氨基酸序列)。

[0539] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:147中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:145中所示氨基酸序列)。

[0540] 一方面，本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:148中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:143中所示氨基酸序列)。

[0541] 一方面，本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:148中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列)。

[0542] 一方面，本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:148中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:145中所示氨基酸序列)。

[0543] 衍生自chAb18的人源化抗B7-H3抗体

[0544] 基于chAb18创建的十种不同的人源化抗体包括以下：

[0545] A)huAb18v1(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:116中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:25、26、和27中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:120中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:29、30、和31中)；

[0546] B)huAb18v2(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:118中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:25、119、和27中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:120中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:29、30、和31中)；

[0547] C)huAb18v3(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:117中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:25、26、和27中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:121中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:29、30、和31中)；

[0548] D)huAb18v4(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:118中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:25、119、和27中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:121中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:29、30、和31中)；

[0549] E)huAb18v5(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:116中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:25、26、和27中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:123中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:29、30、和31中)；

[0550] F)huAb18v6(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:118中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:25、119、和27中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:123中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:29、30、和31中)；

[0551] G)huAb18v7(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:118中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:25、119、和27中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:124中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:29、30、和31中)；

[0552] H)huAb18v8(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:117中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:25、26、和27中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:122中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:29、30、和31中)；

[0553] I)huAb18v9(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:117中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:25、26、和27中；和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:124中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:29、30、和31中)；以及

[0554] J)huAb18v10(VH氨基酸序列示于SEQ ID NO:118中并且VH CDR1、CDR2、和CDR3氨

基酸序列分别示于SEQ ID NO:25、119、和27中;和VL氨基酸序列示于SEQ ID NO:122中并且VL CDR1、CDR2、和CDR3氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:29、30、和31中)。

[0555] 因此,一方面,本发明提供了包含来自chAb18的人源化抗体的可变和/或CDR序列的抗体。如下文实例所描述,在一个实施例中,本发明的特征在于衍生自Ab18的抗B7-H3抗体具有改善的特征,例如改善的对分离的B7-H3蛋白的结合亲和力,和改善的与B7-H3表达细胞的结合。这些新型抗体在本文中统称为“Ab18变体抗体”。通常,Ab18变体抗体保留与Ab18相同的表位特异性。在各种实施例中,本发明的抗B7-H3抗体或其抗原结合片段能够调节B7-H3的生物学功能。

[0556] 一方面,本发明提供了人源化抗体或其抗原结合部分,其具有包含SEQ ID NO:116、117、或118所示的氨基酸序列的重链可变区;和/或包括SEQ ID NO:120、121、122、123或124中所示的氨基酸序列的轻链可变区。

[0557] 另一方面,本发明涉及本发明的抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其包含:重链可变区(该重链可变区包含:含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的CDR1结构域;含有SEQ ID NO:26或119所示的氨基酸序列的CDR2结构域;和含有SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列的CDR3结构域);和轻链可变区(该轻链可变区包含:含有SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的CDR1结构域;含有SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列的CDR2结构域;和含有SEQ ID NO:31所示的氨基酸序列的CDR3结构域)。

[0558] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:116中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:120中所示氨基酸序列)。

[0559] 另一方面,本发明针对人源化抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:25所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:26所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:27所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:29所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:30所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:31所示氨基酸序列的CDR3)。

[0560] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:118中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:120中所示氨基酸序列)。

[0561] 另一方面,本发明针对人源化抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有:重链可变结构域区(包括(a)具有SEQ ID NO:25所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:119所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:27所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:29所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:30所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:31所示氨基酸序列的CDR3)。

[0562] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:117中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:121中所示氨基酸序列)。

[0563] 一方面,本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分,其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:118中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:121中所示氨基酸序列)。

[0564] 一方面，本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:116中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:123中所示氨基酸序列)。

[0565] 一方面，本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:118中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:123中所示氨基酸序列)。

[0566] 一方面，本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:118中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:124中所示氨基酸序列)。

[0567] 一方面，本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:117中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:122中所示氨基酸序列)。

[0568] 一方面，本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:117中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:124中所示氨基酸序列)。

[0569] 一方面，本发明针对抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，其具有重链可变区(包括如SEQ ID NO:118中所示氨基酸序列)、和轻链可变区(包括SEQ ID NO:122中所示氨基酸序列)。

[0570] 一方面，本发明提供了人源化抗体或其抗原结合部分，其具有包含SEQ ID NO:116、117、118、146、147、148、125、126、127、131、139、或141所示的氨基酸序列的重链可变区；和/或包含SEQ ID NO:120、121、122、123、124、143、144、145、128、129、130、133、135、或137中所示的氨基酸序列的轻链可变区。

[0571] 另一方面，本发明涉及本发明的抗B7-H3抗体或其抗原结合部分，其包含：重链可变区(该重链可变区包含：含有SEQ ID NO:10、25、或33所示的氨基酸序列的CDR1结构域；含有SEQ ID NO:11、26、34、119、132、140或142所示的氨基酸序列的CDR2结构域；和含有SEQ ID NO:12、27或35所示的氨基酸序列的CDR3结构域)；和轻链可变区(该轻链可变区包含：含有SEQ ID NO:14、29、37、134、136和138所示的氨基酸序列的CDR1结构域；含有SEQ ID NO:7、30或38所示的氨基酸序列的CDR2结构域；和含有SEQ ID NO:15、31或39所示的氨基酸序列的CDR3结构域)。

[0572] 另一方面，本发明提供了抗B7-H3抗体、或其抗原结合片段，其与本文描述的抗B7-H3抗体、或其片段特异性竞争，其中所述竞争可以使用所述抗体、人B7-H3多肽、和抗B7-H3抗体或其片段在竞争性结合测定中来检测。

[0573] 在特定实施例中，竞争抗体或其抗原结合部分是与huAb3v2.5、huAb3v2.6、或huAb13v1竞争的抗体或其抗原结合部分。

[0574] 在一个实施例中，如通过表面等离子体共振所测定的，本发明的抗B7-H3抗体或其抗原结合部分与人B7-H3(SEQ ID NO:152)的胞外域结合，解离常数(K_D)为约1×10^{-6}M或更低。可替代地，如通过表面等离子体共振所测定的，抗体或其抗原结合部分与人B7-H3结合，K_D在约1×10^{-6}M和约1×10^{-11}M之间。在另一个替代方案中，如通过表面等离子体共振所测定的，抗体或其抗原结合部分与人B7-H3结合，K_D在约1×10^{-6}M和约1×10^{-7}M之间。可替代地，如

通过表面等离子体共振所测定的，本发明的抗体或其抗原结合部分与人B7-H3结合，K_D在约1×10^{-6}M和约5×10^{-11}M，约1×10^{-6}M和约5×10^{-10}M之间；K_D在约1×10^{-6}M和约1×10^{-9}M之间；K_D在约1×10^{-6}M和约5×10^{-9}M之间；K_D在约1×10^{-6}M和约1×10^{-8}M之间；K_D在约1×10^{-6}M和约5×10^{-8}M之间；K_D在约1×10^{-7}M和约3.4×10^{-11}M之间；K_D为约5.9×10^{-7}M；和约2.2×10^{-7}M。

[0575] 在一个实施例中，如通过表面等离子体共振所测定的，本发明的抗体或其抗原结合部分与人B7-H3(SEQ ID NO:149)结合，Kd为约1×10^{-6}M或更低。可替代地，如通过表面等离子体共振所测定的，本发明的抗体或其抗原结合部分与人B7-H3(SEQ ID NO:149)结合，KD在约8.2×10^{-9}M和约6.3×10^{-10}M之间；K_D在约8.2×10^{-9}M和约2.0×10^{-9}M之间；K_D在约2.3×10^{-9}M和约1.5×10^{-10}M之间。

[0576] 前述内容建立了根据本发明分离的新的B7-H3结合蛋白家族，并且包含抗原结合多肽，所述多肽包括本文提供的序列表中列出的CDR序列。

[0577] 本文提供的抗B7-H3抗体可包含：含有CDR1、CDR2和CDR3序列的重链可变区和含有CDR1、CDR2和CDR3序列的轻链可变区，其中这些CDR序列中的一个或多个包含基于本文所述抗体(例如，huAb13v1或huAb3v2.5)或其保守修饰的特定氨基酸序列，并且其中所述抗体保留了本文所述抗B7-H3抗体的希望的功能特性。因此，抗B7-H3抗体或其抗原结合部分可包含：含有CDR1、CDR2和CDR3序列的重链可变区和含有CDR1、CDR2和CDR3序列的轻链可变区，其中：(a)重链可变区CDR3序列包含SEQ ID NO:12或35及其保守修饰，例如1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4或1-5个保守氨基酸取代；(b)轻链可变区CDR3序列包含SEQ ID NO:15或39及其保守修饰，例如1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4或1-5个保守氨基酸取代；(c)抗体特异性结合B7-H3，和(d)抗体表现出本文所述的1、2、3、4、5、6或全部以下功能特性，例如与可溶性人B7-H3的结合。在一个实施例中，重链可变区CDR2序列包含SEQ ID NO:140或34及其保守修饰，例如1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4或1-5个保守氨基酸取代；轻链可变区CDR2序列包含SEQ ID NO:7或38及其保守修饰，例如1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4或1-5个保守氨基酸取代。在另一个优选实施例中，重链可变区CDR1序列包含SEQ ID NO:10或33及其保守修饰，例如1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4或1-5个保守氨基酸取代；轻链可变区CDR1序列包含SEQ ID NO:136、138或37及其保守修饰，例如1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4或1-5个保守氨基酸取代。

[0578] 还可以在除了CDR之外或者不同于CDR的抗体部分中进行保守氨基酸取代。例如，可以在框架区或Fc区中进行保守氨基酸修饰。相对于本文提供的抗B7-H3抗体序列，可变区或重链或轻链可包含1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4、1-5、1-10、1-15、1-20、1-25或1-50个保守氨基酸取代。在某些实施例中，抗B7-H3抗体包含保守和非保守氨基酸修饰的组合。

[0579] 为了产生和选择相对于hB7-H3具有优选的B7-H3结合和/或中和活性的CDR，可以使用本领域已知的用于产生抗体或其抗原结合部分，以及评估那些抗体或其抗原结合部分的B7-H3结合和/或中和特征的标准方法，包括但不限于本文具体描述的那些。

[0580] 在某些实施例中，抗体包含重链恒定区，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM或IgD恒定区。在某些实施例中，抗B7-H3抗体或其抗原结合部分包含选自人IgG恒定结构域、人IgM恒定结构域、人IgE恒定结构域和人IgA恒定结构域的重链免疫球蛋白恒定结构域。在进一步的实施例中，抗体或其抗原结合部分具有IgG1重链恒定区、IgG2重链恒定区、IgG3恒定区或IgG4重链恒定区。优选地，重链恒定区为IgG1重链恒定区或IgG4重链恒定区。此外，抗体可包含轻链恒定区，κ轻链恒定区或λ轻链恒定区。优选地，抗体包含κ轻链恒定

区。可替代地,抗体部分可为例如Fab片段或单链Fv片段。

[0581] 在某些实施例中,抗B7-H3抗体结合部分是Fab、Fab'、F(ab')2、Fv、二硫键连接的Fv、scFv、单结构域抗体或双抗体。

[0582] 在某些实施例中,抗B7-H3抗体或其抗原结合部分是多特异性抗体(例如,双特异性抗体)。

[0583] 已经描述了Fc部分中氨基酸残基的替换以改变抗体效应子功能(Winter等人美国专利号5,648,260和5,624,821,其通过引入并入本文)。抗体的Fc部分介导若干种重要的效应功能(例如,细胞因子诱导、ADCC、吞噬作用、补体依赖性细胞毒性(CDC)和抗体和抗原-抗体复合物的半衰期/清除率)。在一些情况下,这些效应功能为治疗性抗体所需的,但在其他情况下,视治疗目标而定,可能为不必要的或甚至有害的。某些人IgG同种型,尤其IgG1及IgG3,分别经由结合至FcγRs及补体C1q来介导ADCC及CDC。新生的Fc受体(FcRn)为决定抗体的循环半衰期的关键组分。在另一实施例中,抗体恒定区(例如抗体的Fc区)中的至少一个氨基酸残基发生置换,使得抗体的效应功能更改。

[0584] 本发明的一个实施例包括重组嵌合抗原受体(CAR),其包含本文所述抗体的结合区,例如huAb13v1的重链和/或轻链CDR。如本文所述,重组CAR可用于以人白细胞抗原(HLA)依赖性方式将T细胞特异性重定向至抗原。因此,本发明的CAR可用于免疫疗法,以帮助设计人受试者自身免疫细胞识别和攻击受试者肿瘤(例如,参见,美国专利号6,410,319;8,389,282;8,822,647;8,906,682;8,911,993;8,916,381;8,975,071;和美国专利申请公布号US20140322275,其各自相对于CAR技术以全文引用的方式并入本文)。这种类型的免疫疗法称为过继性细胞转移(ACT),并且可用于治疗有此需要的受试者的癌症。

[0585] 本发明的抗B7-H3CAR优选含有对B7-H3特异的细胞外抗原结合结构域,用于将CAR锚定到T细胞中的跨膜结构域,以及一个或多个细胞内信号传导结构域。在本发明的一个实施例中,CAR包括跨膜结构域,其包含选自下组的蛋白质的跨膜结构域,该组有以下组成:T细胞受体的α、β或ζ链、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137和CD154。在本发明的一个实施例中,CAR包含共刺激结构域(例如,包含选自下组的蛋白质的功能信号传导结构域的共刺激结构域,该组由以下组成:OX40、CD2、CD27、CD28、CD5、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、ICOS(CD278)和4-1BB(CD137))。在本发明的某些实施例中,CAR包含scFv,所述scFv包含本文所述的CDR或可变区,例如来自huAb13v1抗体的CDR或可变区,跨膜结构域,共刺激结构域(例如,来自CD28或4-1BB的功能性信号传导结构域),和包含来自CD3(例如,CD3-ζ)的功能性信号传导结构域的信号传导结构域。

[0586] 在某些实施例中,本发明包括T细胞,其包含CAR(也称为CAR T细胞),所述CAR包含本文所述抗体的抗原结合区(例如,CDR)或本文所述的scFv。

[0587] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(该重链可变区包含:含有SEQ ID NO:10、25或33所示的氨基酸序列的CDR1结构域;含有SEQ ID NO:11、26、34、119、132、140或142所示的氨基酸序列的CDR2结构域;和含有SEQ ID NO:12、27或35所示的氨基酸序列的CDR3结构域);和轻链可变区(该轻链可变区包含:含有SEQ ID NO:14、29、37、134、136和138所示的氨基酸序列的CDR1结构域;含有SEQ ID NO:7、30或38所示的氨基酸序列的CDR2结构域;和含有SEQ ID NO:15、31或39所示的氨基酸序列的CDR3结构域)。

[0588] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:11所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:14所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0589] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:132所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:134所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0590] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:132所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:136所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0591] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:132所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:138所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0592] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:140所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:134所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0593] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:140所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:136所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0594] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:140所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:138所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0595] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:142所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:134所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基

酸序列的CDR3)。

[0596] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:142所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:136所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0597] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:142所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:12所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:138所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR3)。

[0598] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(该重链可变区包含:含有SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列的CDR1结构域;含有SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列的CDR2结构域;和含有SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的CDR3结构域);和轻链可变区(该轻链可变区包含:含有SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的CDR1结构域;含有SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的CDR2结构域;和含有SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的CDR3结构域)。

[0599] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(该重链可变区包含:含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的CDR1结构域;含有SEQ ID NO:26或119所示的氨基酸序列的CDR2结构域;和含有SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列的CDR3结构域);和轻链可变区(该轻链可变区包含:含有SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的CDR1结构域;含有SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列的CDR2结构域;和含有SEQ ID NO:31所示的氨基酸序列的CDR3结构域)。

[0600] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:26所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:27所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:29所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:30所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:31所示氨基酸序列的CDR3)。

[0601] 在本发明的某些实施例中,CAR包含重链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:119所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:27所示氨基酸序列的CDR3);和轻链可变区(包括(a)具有SEQ ID NO:29所示氨基酸序列的CDR1;(b)具有SEQ ID NO:30所示氨基酸序列的CDR2;和(c)具有SEQ ID NO:31所示氨基酸序列的CDR3)。

[0602] 本发明的一个实施例包括标记的抗B7-H3抗体或其抗体部分,其中抗体衍生或连接于一种或多种功能分子(例如,另一种肽或蛋白质)。例如,经标记抗体可以通过将本发明抗体或抗体部分(通过化学偶联、基因融合、非共价结合或以其他方式)功能上连接至一种或多种其他分子实体来衍生,该一种或多种其他分子实体诸如另一种抗体(例如双特异性抗体或双功能抗体)、可检测试剂、药物制剂、可以介导抗体或抗体部分与另一种分子(诸如链霉抗生物素蛋白核心区或聚组氨酸标签)的结合的蛋白质或肽和/或选自由以下组成的组的细胞毒性剂或治疗剂:有丝分裂抑制剂、抗肿瘤抗生素、免疫调节剂、基因治疗用载体、烷化剂、抗血管生成剂、抗代谢产物、含硼剂、化学保护剂、激素、抗激素剂、皮质类固醇、光

敏性治疗剂、寡核苷酸、放射性核素剂、拓扑异构酶抑制剂、激酶抑制剂、放射增敏剂及其组合。

[0603] 可适用于衍生化抗体或其抗体部分的可检测试剂包括荧光化合物。例示性荧光可检测剂包括荧光素、异硫氰酸荧光素、若丹明、5-二甲胺-1-萘磺酰氯、藻红素及其类似物。还可用可检测酶，诸如碱性磷酸酶、辣根过氧化酶、葡萄糖氧化酶及其类似者衍生化抗体。当抗体用可检测酶衍生化时，其是通过添加酶用于产生可检测反应产物的其他试剂来检测。例如，当存在可检测剂辣根过氧化酶时，添加过氧化氢及二氨基联苯胺产生可检测的着色反应产物。抗体还可用生物素衍生化，且经由抗生素蛋白或链霉抗生物素蛋白结合的间接量测来检测。

[0604] 在一个实施例中，本发明的抗体与显像剂偶联。可用于本文所述组合物和方法的显像剂的实例包括但不限于放射性标记(例如，铟)、酶、荧光标记、发光标记、生物发光标记、磁性标签和生物素。

[0605] 在一个实施例中，将抗体或ADC与放射性标记连接，例如但不限于铟(^{111}In)。^{111}铟可用于标记本文所述的抗体和ADC，用于鉴定B7-H3阳性肿瘤。在某个实施例中，本文所述的抗B7-H3抗体(或ADC)通过双功能螯合剂用^{111}I进行标记，该双功能螯合剂是双功能环已基二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)螯合物(参见美国专利号5,124,471;5,434,287;和5,286,850，其各自通过引用并入本文)。

[0606] 本发明的另一个实施例提供糖基化的结合蛋白，其中抗B7-H3抗体或其抗原结合部分包含一个或多个碳水化合物残基。新生活体内蛋白质产生可以经历进一步加工，称为转译后修饰。具体而言，可以酶促方式(称为糖基化的过程)添加糖(糖基)残基。所得蛋白质携带共价连接的寡醣侧链，称为糖基化蛋白质或糖蛋白。抗体为在Fc域以及可变域中含有一或多个碳水化合物残基的糖蛋白。Fc结构域中的碳水化合物残基对Fc结构域的效应功能具有重要影响，且对抗体的抗原结合或半衰期影响极小(R.Jefferis,Biotechnol.Prog.[生物技术进展]21(2005)，第11-16页)。相比之下，可变域的糖基化会对抗体的抗原结合活性产生影响。可变结构域中的糖基化可能由于位阻对抗体结合亲和力具有不利影响(Co,M.S.等人,Mol.Immunol.[分子免疫](1993)30:1361-1367)，或造成对抗原的亲和力增加(Wallick,S.C.等人,Exp.Med.[实验医学](1988)168:1099-1109;Wright,A.等人,EMBOJ.[欧洲分子生物学杂志](1991)10:2717-2723)。

[0607] 本发明的一个方面涉及产生糖基化位点突变体，其中结合蛋白的O或N连接的糖基化位点已经突变。本领域中的熟练技术人员可以使用标准熟知技术产生此类突变体。保留生物活性，但具有增加或降低的结合活性的糖基化位点突变体为本发明的另一目标。

[0608] 在另一实施例中，修饰本发明的抗B7-H3抗体或抗原结合部分的糖基化。例如，可以制备去糖基化的抗体(即，该抗体缺乏糖基化)。可更改糖基化以例如增加抗体对抗原的亲和力。此类碳水化合物修饰可通过例如更改抗体序列内的一或多个糖基化位点来完成。举例而言，可进行一或多个氨基酸取代，从而消除一或多个可变区糖基化位点，以借此消除该位点的糖基化。此类去糖基化可增加抗体对抗原的亲和力。此类方法进一步详细描述于PCT公开案WO 2003016466 A2及美国专利5,714,350及6,350,861中，其各自以全文引用之方式并入本文中。

[0609] 另外地或可替代地，可以制备糖基化类型改变的经修饰的本发明抗B7-H3抗体，诸

如具有降低量的海藻糖基残基的低海藻糖基化抗体或具有增加的等分GlcNAc结构的抗体。已证明这些改变的糖基化模式可增加抗体的ADCC能力。此类碳水化合物修饰可通过例如在糖基化机制更改的宿主细胞中表达抗体来实现。糖基化机制更改的细胞在本领域中已有描述且可用作表达本发明的重组抗体以借此产生糖基化更改的抗体的宿主细胞。参见例如Shields,R.L.等人,(2002)J.Biol.Chem.[生物化学杂志]277:26733-26740;Umana等人(1999)Nat.Biotech.[自然生物技术]17:176-1,以及欧洲专利号:EP 1,176,195;PCT公开WO 03/035835;WO 99/5434280,其各自以全文引用的方式并入本文中。

[0610] 蛋白质糖基化视相关蛋白质的氨基酸序列以及表达蛋白质的宿主细胞而定。不同生物体可以产生不同糖基化酶(例如,糖基转移酶及醣苷酶),且具有不同的可用底物(核苷酸糖)。归因于此类因素,蛋白质糖基化模式及糖基残基的组成可以视表达特定蛋白质的宿主系统而不同。适用于本发明的糖基残基可以包括但不限于葡萄糖、半乳糖、甘露糖、海藻糖、N-乙酰葡萄糖胺及唾液酸。优选地,糖基化蛋白质包含糖基残基,使得糖基化模式是人。

[0611] 不同的蛋白质糖基化可能导致不同的蛋白质特征。举例而言,在诸如酵母的微生物宿主中产生且利用酵母内源性路径糖基化的治疗蛋白的功效相比于在诸如CHO细胞系的哺乳动物细胞中表达的相同蛋白质的功效而言会降低。此类糖蛋白还可在人类中具有免疫原性且在投与之后显示降低的活体内半衰期。人类及其他动物中的特定受体可以识别特定糖基残基且促进自血流中快速清除蛋白质。其他不良影响可以包括在蛋白质折叠、溶解度、对蛋白酶的易感性、移行、转运、区室化、分泌、由其他蛋白质或因子识别、抗原性或过敏原性方面的改变。因此,医师可能偏爱具有特定组成及糖基化模式的治疗蛋白,例如与在人类细胞中或在既定受试者动物的物种特异性细胞中产生的糖基化组成及模式相同或至少类似的糖基化组成及模式。

[0612] 表达不同于宿主细胞的蛋白质的糖基化蛋白质可通过对宿主细胞进行遗传修饰以表达异源糖基化酶来达成。使用重组体技术,医师可以产生展现人蛋白质糖基化的抗体或其抗原结合部分。举例而言,已对酵母菌株进行遗传修饰以表达非天然存在的糖基化酶,使得在这些酵母菌株中产生的糖基化蛋白质(糖蛋白)展现与动物细胞、尤其人类细胞的蛋白质糖基化相同的蛋白质糖基化(美国专利公开案第20040018590号及第20020137134号及PCT公开案WO2005100584A2)。

[0613] 抗体可以通过许多技术中的任何一种产生。举例而言,自宿主细胞表达,其中编码重链及轻链的表达运载体通过标准技术转染至宿主细胞中。术语“转染”的各种形式意欲涵盖常用于引入外源性DNA至原核或真核宿主细胞中的各种技术,例如电穿孔、磷酸钙沈淀、DEAE-聚葡萄糖转染及其类似技术。尽管有可能在原核或真核宿主细胞中表达抗体,但抗体在真核细胞中的表达为优选的,且在哺乳动物宿主细胞中为最优选的,因为此类真核细胞(且尤其哺乳动物细胞)与原核细胞相比更可能组装且分泌经适当折叠且具免疫活性的抗体。

[0614] 用于表达本发明的重组抗体的优选哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(CHO细胞)(包括Urlaub及Chasin,(1980)Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]77:4216-4220中所述的dhfr-CHO细胞,其与例如如R.J.Kaufman及P.A.Sharp(1982)Mol.Biol.[分子生物学]159:601-621中所述的DHFR可选择标志物一起使用)、NS0骨髓瘤细胞、COS细胞及SP2细胞。当将编码抗体基因的重组表达运载体引入哺乳动物宿主细胞中时,通过培养

宿主细胞持续足以允许抗体在宿主细胞中表达或更优选地,将抗体分泌至宿主细胞生长的培养基中的时间段产生抗体。可使用标准蛋白质纯化方法自培养基回收抗体。

[0615] 宿主细胞还可用于产生功能性抗体片段,诸如Fab片段或scFv分子。应了解,以上程序的变化在本发明的范畴内。举例而言,可能需要用编码本发明抗体的轻链和/或重链的功能片段的DNA转染宿主细胞。还可使用重组DNA技术来移除一些或所有并非结合至相关抗原所需的编码轻链及重链中的任一者或两者的DNA。本发明抗体还涵盖自此类截短的DNA分子表达的分子。此外,可通过标准化学交联方法使本发明抗体与第二抗体交联而产生双功能抗体,其中一条重链及一条轻链为本发明抗体且另一条重链及轻链对除相关抗原以外的抗原具有特异性。

[0616] 在用于重组表达抗体或其抗原结合部分的优选系统中,通过磷酸钙介导的转染将编码抗体重链及抗体轻链的重组表达运载体引入dhfr-CHO细胞中。在重组表达运载体内,将抗体重链及轻链基因各自可操作地连接至CMV强化子/AdMLP启动子调控组件以驱动高水平的基因转录。重组表达运载体亦携带DHFR基因,其允许使用氨甲蝶呤选择/扩增来选择已经运载体转染的CHO细胞。培养所选转化体宿主细胞以允许表达抗体重链及轻链,且自培养基回收完整抗体。使用标准分子生物学技术来制备重组表达运载体、转染宿主细胞、选择转化体、培养宿主细胞及自培养基回收抗体。再者,本发明提供一种通过在适合培养基中培养宿主细胞直至合成重组抗体来合成本发明的重组抗体的方法。可以使用对应于本文公开的氨基酸序列的核酸分子产生本发明的重组抗体。该方法可以进一步包含自培养基分离重组抗体。

[0617] 由于通常观察到的翻译后修饰,本发明的抗体多肽链的N-和C-末端可能与预期的序列不同。例如,抗体重链中通常缺少C末端赖氨酸残基。Dick等人(2008)Biotechnol.Bioeng.[生物技术和生物工程]100:1132。N-末端谷氨酰胺残基和较小程度的谷氨酸残基经常在治疗性抗体的轻链和重链上转化为焦谷氨酸残基。Dick等人(2007)Biotechnol.Bioeng.[生物技术和生物工程]97:544;Liu等人(2011)JBC28611211;Liu等人(2011)J.Biol.Chem.[生物化学杂志]286:11211。

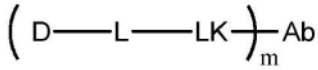
[0618] III.抗B7-H3抗体药物偶联物(ADC)

[0619] 本文所述的抗B7-H3抗体可与药物部分偶联以形成抗B7-H3抗体药物偶联物(ADC)。由于ADC能够选择性地将一种或多种药物部分递送至靶组织(例如肿瘤相关抗原,例如,表达B7-H3的肿瘤),抗体-药物偶联物(ADC)可以增加抗体在治疗疾病(例如癌症)中的治疗功效。因此,在某些实施例中,本发明提供抗B7-H3 ADC用作治疗用途(例如,治疗癌症)。

[0620] 本发明的抗B7-H3 ADC包含抗B7-H3抗体,即与一个或多个药物部分连接的特异性结合B7-H3的抗体。ADC的特异性由抗体(即抗B7-H3)的特异性定义。在一个实施例中,该抗B7-H3抗体与一种或多种细胞毒性药物连接,所述细胞毒性药物被内部递送至表达B7-H3的转化的癌细胞。

[0621] 以下提供可用于本发明的抗B7-H3 ADC的药物的实例,以及可用于偶联抗体和一种或多种药物的接头。术语“药物”、“药剂”和“药物部分”在本文中可互换使用。术语“连接的”和“偶联的”在本文中也可互换使用,表明抗体和部分是共价连接的。

[0622] 在一些实施例中,ADC具有以下式(式I):

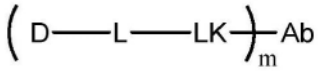
[0623] (I) 

[0624] 其中Ab是抗体，例如，抗B7-H3抗体huAb13v1、huAb3v2.5、或huAb3v2.6，并且(L)是接头，(D)是药物，且LK代表连接接头L与抗体Ab的共价键；并且m是范围从1至20的整数。D是药物部分，其例如对靶细胞(例如，表达B7-H3的细胞)具有细胞抑制、细胞毒性或其他治疗活性；在一些实施例中，m的范围为从1至8、1至7、1至6、2至6、1至5、1至4、1至3、1至2、1.5至8、1.5至7、1.5至6、1.5至5、1.5至4、2至6、1至5、1至4、1至3、1至2、或2至4。ADC的DAR等于式I中提到的“m”。在一个实施例中，ADC具有式Ab-(LK-L-D)$_m$，其中Ab是抗B7-H3抗体，例如huAb13v1、huAb3v2.5、或huAb3v2.6，L是接头，D是药物(例如，Bcl-xL抑制剂或澳瑞他汀如MMAF或MMAE)，并且m是2至4(等同于DAR为2-4)。下面描述可以在本发明的ADC中使用的药物(式I的D)和接头(式I的L)的其他细节，以及可替代的ADC结构。

[0625] III.A.抗B7-H3 ADC:Bcl-xL抑制剂、接头、合成子和制备其的方法

[0626] 调节异常的凋亡途径也与癌症的病理学有关。下调细胞凋亡(更具体地说是Bcl-2蛋白家族)与癌症恶性肿瘤的发病有关的暗示已经揭示了针对这种仍然难以捉摸的疾病的新方法。例如，研究表明，抗凋亡蛋白Bcl 2和Bcl-xL在许多癌细胞类型中过表达。参见Zhang，2002，Nature Reviews/Drug Discovery[自然评论/药物发现]1:101;Kirkin等人，2004，Biochimica Biophysica Acta[生物化学和生物物理学报]1644:229-249;和Amundson等人，2000，Cancer Research[癌症研究]60:6101-6110。这种调节异常的作用是改变的细胞的存活，否则细胞会在正常条件下发生细胞凋亡。与不受调节的增殖相关的这些缺陷的重复被认为是癌症进化的起点。

[0627] 本披露的内容涉及抗hB7-H3 ADC，其包含经由接头与药物偶联的抗hB7-H3抗体，其中该药物是Bcl-xL抑制剂。在特定的实施例中，ADC是根据以下结构式(I)的化合物、或其药学上可接受的盐，其中Ab代表抗hB7-H3抗体，D代表Bcl-xL抑制剂药物(即，如以下所示具有式(IIa)、(IIb)、(IIc)、或(IId)的化合物)，L代表接头，LK代表将接头(L)与抗hB7-H3抗体(Ab)连接的共价键，并且m代表与抗体连接的D-L-LK单元的数量(其是从1至20的整数)。在某些实施例中，m是2、3或4。在一些实施例中，m范围是从1至8、1至7、1至6、2至6、1至5、1至4、2至4、1至3、1至2、或是1。

[0628] (I) 

[0629] 各种Bcl-xL抑制剂本身的特定实施例，以及各种Bcl-xL抑制剂(D)、接头(L)和可包含本文所述的ADC的抗B7-H3抗体(Ab)还有与ADC连接的Bcl-xL抑制剂的数目在下文更详细地描述。

[0630] 以下提供可用于本发明的抗B7-H3 ADC的Bcl-xL抑制剂的实例，以及可用于偶联抗体和一种或多种Bcl-xL抑制剂的接头。术语“连接的”和“偶联的”在本文中也可互换使用，表明抗体和部分是共价连接的。

[0631] III.A.1.Bcl-xL抑制剂

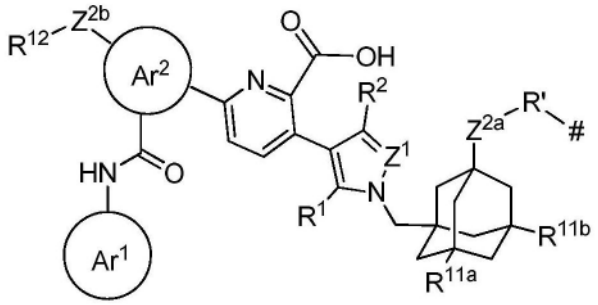
[0632] 本公开内容的一个方面涉及具有低细胞渗透性的Bcl-xL抑制剂。该化合物通常是杂环的并且包括一个或多个增溶基团，其赋予化合物高水溶性和低细胞渗透性。增溶基团通常是能够形成氢键，形成偶极-偶极相互作用的基团、和/或包括含有1至30个单元的聚乙

二醇聚合物、一种或多种多元醇、一种或多种盐、或一种或多种在生理pH下带电的基团。

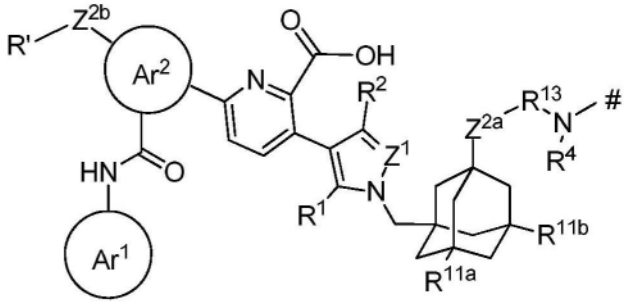
[0633] Bcl-xL抑制剂可以在本文描述的各种方法中用作化合物或盐本身，或者可以作为ADC的组成部分被包括。

[0634] 能以非偶联形式使用或可以作为ADC的部分被包括的Bcl-xL抑制剂的特定实施例包括根据结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)、或(IId)的化合物。在本发明中，当Bcl-xL抑制剂作为ADC的部分被包括时，以下结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)、或(IId)中所示的#代表与接头的附接点，这指示这些抑制剂以单价基团形式：

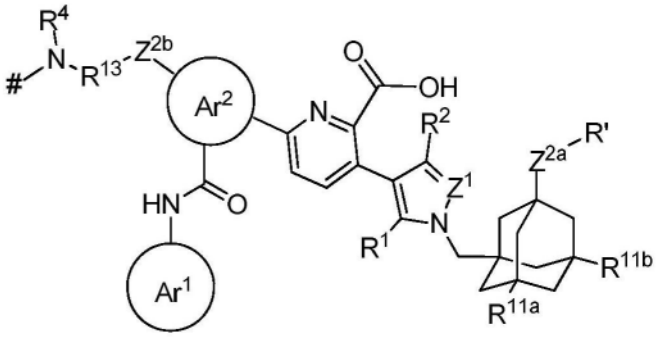
[0635] (IIa)



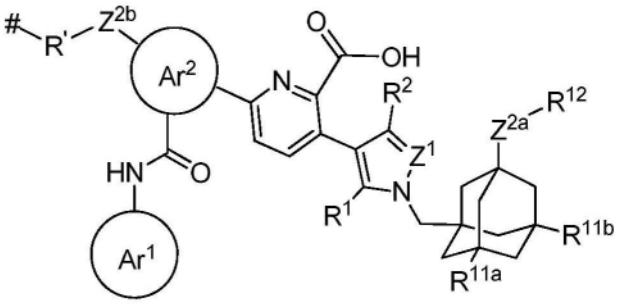
(IIb)



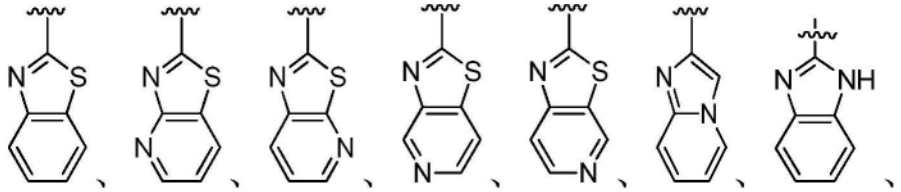
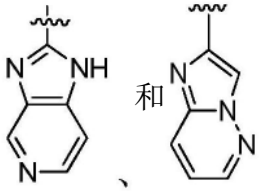
[0636] (IIc)

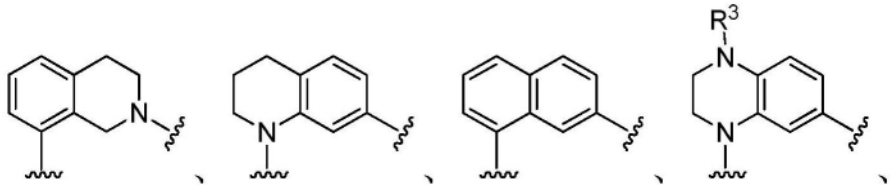
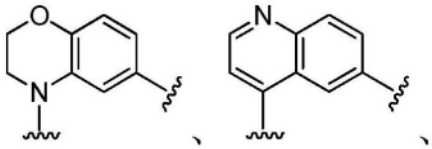
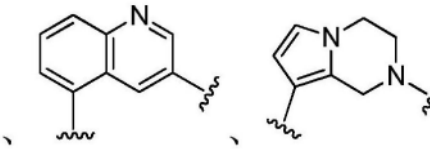
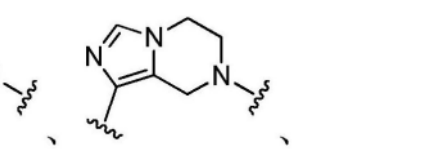
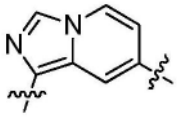
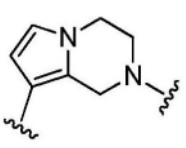


(IId)



[0637] 或其药学上可接受的盐，其中：

[0638] Ar^1选自  、  和，并且任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代：卤基、羟基、硝基、低级烷基、低级杂烷基、C_{1-4}烷氧基、氨基、氰基和卤代甲基；

[0639] Ar^2选自  、  、  、  、  、、、  、、，并且任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代：卤基、羟基、硝基、低级烷基、低级杂烷基、C_{1-4}烷氧基、氨基、氰基和卤代甲基，其中R^{12}-Z^{2b}-、R'-Z^{2b}-、#-N(R^4)-R^{13}-Z^{2b}-、或#-R'-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能够被取代的原子处附接至Ar^2；

[0640] Z^1选自N、CH、C-卤基、C-CH_3和C-CN；

[0641] Z^{2a}和Z^{2b}各自彼此独立地选自键、NR^6、$CR^{6a}R^{6b}$、O、S、S(O)、$S(O)_2$、-NR^6C(O)-、-NR^{6a}C(O)NR^{6b}-、和-NR^6C(O)O-；

[0642] R'是在一个或多个碳或杂原子上独立地被增溶部分取代的亚烷基、亚杂烷基、亚环烷基、杂环烯基、芳基或杂芳基，该增溶部分含有选自多元醇、含有4至30个乙二醇单元的聚乙二醇、盐和在生理pH下带电的基团及其组合的组，其中在附接至R'的情况下，#在R'的任何能够被取代的原子处附接至R'；

[0643] R^1选自氢、甲基、卤基、卤代甲基、乙基、和氰基；

[0644] R^2选自氢、甲基、卤基、卤代甲基和氰基；

[0645] R^3选自氢、甲基、乙基、卤代甲基和卤代乙基；

[0646] R^4选自氢、低级烷基和低级杂烷基，或与R^{13}的原子一起形成具有3至7个之间的环原子的环烷基环或杂环基环；

[0647] R^6、R^{6a}和R^{6b}各自彼此独立地选自氢、任选地取代的低级烷基、任选地取代的低级杂烷基、任选地取代的环烷基和任选地取代的杂环基，或与来自R^4的原子和来自R^{13}的原子一起形成具有3至7之间的环原子的环烷基环或杂环基环；

[0648] R^{11a}和R^{11b}各自彼此独立地选自氢、卤基、甲基、乙基、卤代甲基、羟基、甲氧基、CN、

和SCH_3；

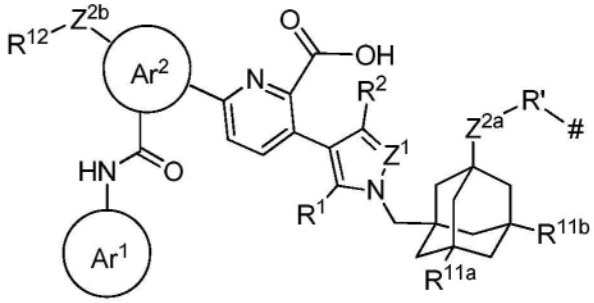
[0649] R^{12}任选地是R’或是选自氢、卤基、氰基、任选地取代的烷基、任选地取代的杂烷基、任选地取代的杂环基、和任选地取代的环烷基；

[0650] R^{13}选自任选地取代的C_{1-8}亚烷基、任选地取代的杂亚烷基、任选地取代的亚杂环、和任选地取代的亚环烷基；以及

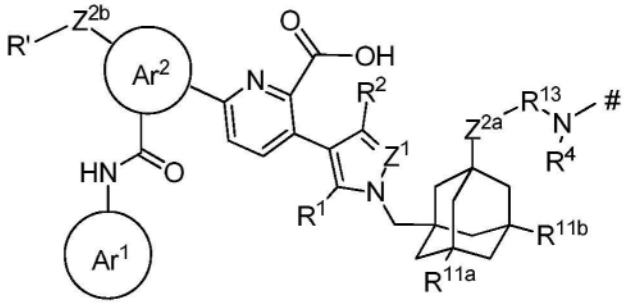
[0651] #代表与接头L的附接点。

[0652] 能以非偶联形式使用或可以作为ADC的部分被包括的Bcl-xL抑制剂的一个实施例包括根据结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)、或(IId)的化合物：

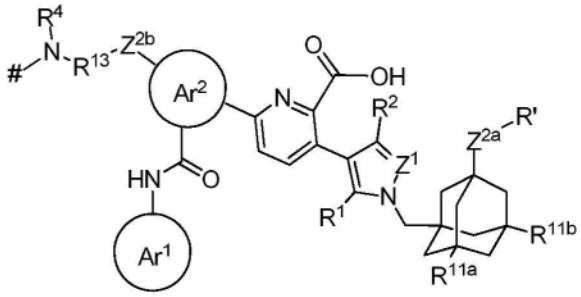
(IIa)



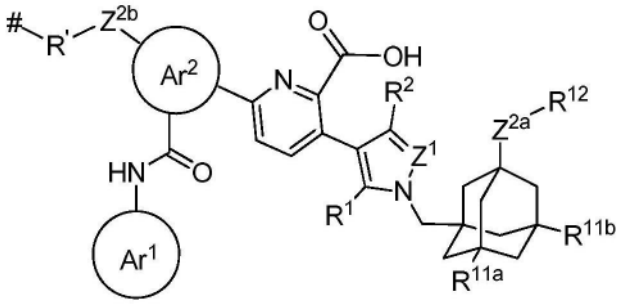
[0653] (IIb)



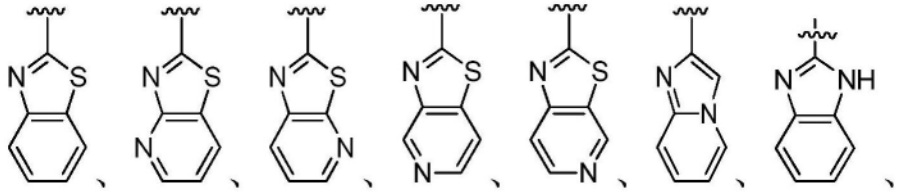
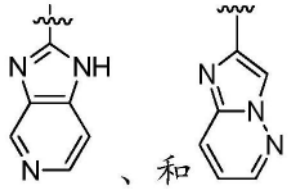
(IIc)

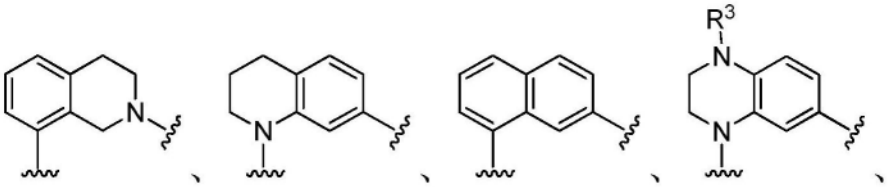
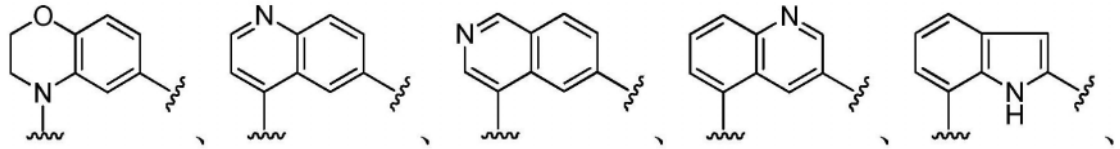
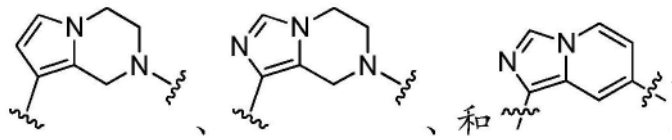


[0654] (IId)



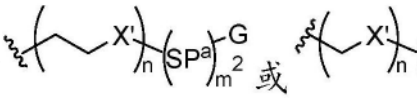
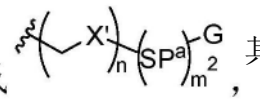
[0655] 或其药学上可接受的盐，其中：

[0656] Ar^1选自  、  、和，并且任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代：卤基、羟基、硝基、低级烷基、低级杂烷基、C_{1-4}烷氧基、氨基、氰基和卤代甲基；

[0657] Ar^2选自  、  、  、和或其N-氧化物，并且任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代：卤基、羟基、硝基、低级烷基、低级杂烷基、C_{1-4}烷氧基、氨基、氰基和卤代甲基，其中R^{12}-Z^{2b}-、R'-Z^{2b}-、#-N(R^4)-R^{13}-Z^{2b}-、或#-R'-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能够被取代的原子处附接至Ar^2；

[0658] Z^1选自N、CH、C-卤基、C-CH_3和C-CN；

[0659] Z^{2a}和Z^{2b}各自彼此独立地选自键、NR^6、$CR^{6a}R^{6b}$、O、S、S(O)、$S(O)_2$、-NR^6C(O)-、-NR^{6a}C(O)NR^{6b}-、和-NR^6C(O)O-；

[0660] R'是  或  ，其中在附接至R'的情况下，#在R'的任何能够被取代的原子处附接至R'；

[0661] X'在每次出现时选自-N(R^{10})-、-N(R^{10})C(O)-、-N(R^{10})$S(O)_2$-、-$S(O)_2$N(R^{10})-、和-O-；

[0662] n选自0-3；

[0663] R^{10}在每次出现时独立地选自氢、低级烷基、杂环、氨基烷基、G-烷基、和-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH_2；

[0664] G在每次出现时独立地选自多元醇、具有4至30个之间的重复单元的聚乙二醇、盐、和在生理pH下带电的部分；

[0665] SP^a在每次出现时独立地选自氧、-$S(O)_2$N(H)-、-N(H)$S(O)_2$-、-N(H)C(O)-、-C(O)N(H)-、-N(H)-、亚芳基、亚杂环、和任选地取代的亚甲基；其中亚甲基任选地被-NH$(CH_2)_2$G、

NH_2、C_{1-8}烷基、和羰基中的一个或多个取代；

[0666] m^2选自0-12；

[0667] R^1选自氢、甲基、卤基、卤代甲基、乙基、和氰基；

[0668] R^2选自氢、甲基、卤基、卤代甲基和氰基；

[0669] R^3选自氢、甲基、乙基、卤代甲基和卤代乙基；

[0670] R^4选自氢、低级烷基和低级杂烷基，或与R^{13}的原子一起形成具有3至7个之间的环原子的环烷基环或杂环基环；

[0671] R^6、R^{6a}和R^{6b}各自彼此独立地选自氢、任选地取代的低级烷基、任选地取代的低级杂烷基、任选地取代的环烷基和任选地取代的杂环基，或与来自R^4的原子和来自R^{13}的原子一起形成具有3至7之间的环原子的环烷基环或杂环基环；

[0672] R^{11a}和R^{11b}各自彼此独立地选自氢、卤基、甲基、乙基、卤代甲基、羟基、甲氧基、CN、和SCH_3；

[0673] R^{12}任选地是R'或是选自氢、卤基、氰基、任选地取代的烷基、任选地取代的杂烷基、任选地取代的杂环基、和任选地取代的环烷基；

[0674] R^{13}选自任选地取代的C_{1-8}亚烷基、任选地取代的杂亚烷基、任选地取代的亚杂环、和任选地取代的亚环烷基；以及

[0675] #代表与接头L的附接点。

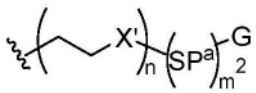
[0676] 当具有结构式(IIa)-(IId)的Bcl-xL抑制剂不是ADC的组分时，式(IIa)-(IId)中的#代表与氢原子的附接点。当Bcl-xL抑制剂不是ADC的组分时，式(IIa)-(IId)中的#代表与接头的附接点。当Bcl-xL抑制剂是ADC的组分时，ADC可以包含一种或多种Bcl-xL抑制剂，它们可以相同或不同，但通常是相同的。

[0677] 在某些实施例中，R'是被一个或多个含有在生理pH下带电的盐和/或基团的部分取代的C_2-C_8杂亚烷基。例如，盐可以选自羧酸盐、磺酸盐、膦酸盐和铵离子的盐。例如，盐可以是羧酸盐、磺酸盐或膦酸盐的钠盐或钾盐或铵离子的氯化盐。在生理pH下带电的基团可以是在生理pH下带电的任何基团，包括例如但不限于两性离子基团。在某些实施例中，作为盐的基团是偶极部分，例如但不限于胺的N-氧化物，包括某些杂环基，例如但不限于吡啶和喹啉。在具体的实施例中，在生理pH下带电荷的基团在每次出现时独立地选自羧酸盐、磺酸盐、膦酸盐和胺。

[0678] 在某些实施例中，R'是被一个或多个含有聚乙二醇或多元醇(例如二醇或糖部分)的部分取代的C_2-C_8杂亚烷基。

[0679] 在某些实施例中，R'还可以被除了增溶部分之外的基团取代。例如，R'可以被一个或多个相同或不同的烷基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基或卤基基团取代。

[0680] 在某些实施例中，R'由下式表示：

[0681] 

[0682] 或其药学上可接受的盐，其中：

[0683] X'在每次出现时选自-N(R^{10})-和-O-；

[0684] n选自1-3；

[0685] R^{10}每次出现时单独地选自氢、烷基、杂环、氨基烷基、G-烷基、杂环、和-$(CH_2)_2$-O-

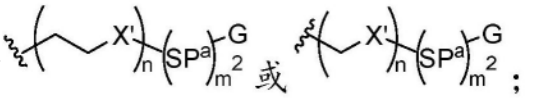
$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH_2；

[0686] G每次出现时独立地选自多元醇，具有4至30个重复单元的聚乙二醇(在本文中称为PEG4-30)，盐和在生理pH下带电的部分；

[0687] SP^a在每次出现时独立地选自氧、磺酰胺、亚芳基、杂环烯和任选取代的亚甲基；其中亚甲基任选被-NH$(CH_2)_2$G、胺和羰基中的一种或多种取代；以及

[0688] m^2选自0-6；

[0689] 其中R'中存在至少一个可取代的氮，其与R'的可取代的氮原子上的接头或氢原子附接。

[0690] 在某些实施例中，R'是  ；

[0691] X'在每次出现时选自-N(R^{10})-、-N(R^{10})C(O)-、-N(R^{10})S(O)$_2$-、-S(O)$_2$N(R^{10})-、和-O-；

[0692] n选自0-3；

[0693] R^{10}在每次出现时独立地选自氢、烷基、杂环、氨基烷基、G-烷基、杂环、和-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH_2；

[0694] G在每次出现时独立地选自多元醇、具有4至30个之间的重复单元的聚乙二醇、盐、和在生理pH下带电的部分；

[0695] SP^a在每次出现时独立地选自氧、-S(O)$_2$N(H)-、-N(H)S(O)$_2$-、-N(H)C(O)-、-C(O)N(H)-、-N(H)-、亚芳基、亚杂环、和任选地取代的亚甲基；其中亚甲基任选被-NH$(CH_2)_2$G、胺、烷基、和羰基中的一种或多种取代；

[0696] m^2选自0-12，并且

[0697] 在附接至R'的情况下，#在R'的任何能够被取代的原子处附接至R'。

[0698] 在某些实施例中，G在每次出现时是盐或在生理pH下带电的部分。

[0699] 在某些实施例中，G在每次出现时是羧酸盐、磺酸盐、膦酸盐、或铵盐。

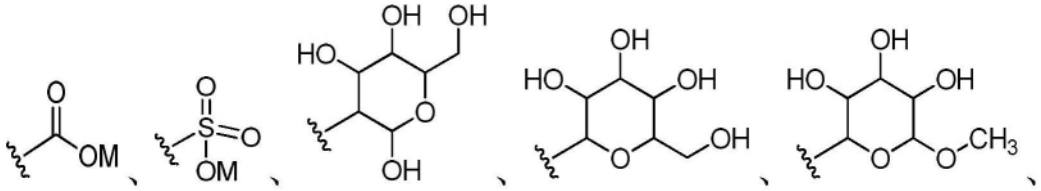
[0700] 在某些实施例中，G在每次出现时是选自下组的在生理pH下带电的部分，该组由以下组成：羧酸盐、磺酸盐、膦酸盐、和胺。

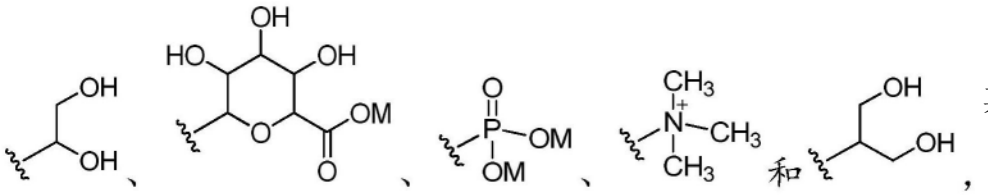
[0701] 在某些实施例中，G在每次出现时是包含具有4和30个之间的重复单元的聚乙二醇的部分或是包含多元醇的部分。

[0702] 在某些实施例中，该多元醇是糖。

[0703] 在某些实施例中，式(IIa)或(IId)的R'包括至少一个适于附接到接头的可取代的氮。

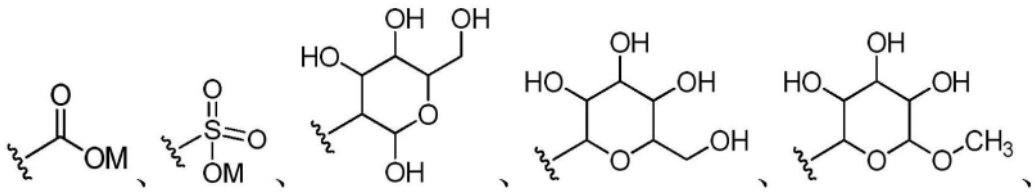
[0704] 在某些实施例中，G在每次出现时独立地选自：

[0705] 

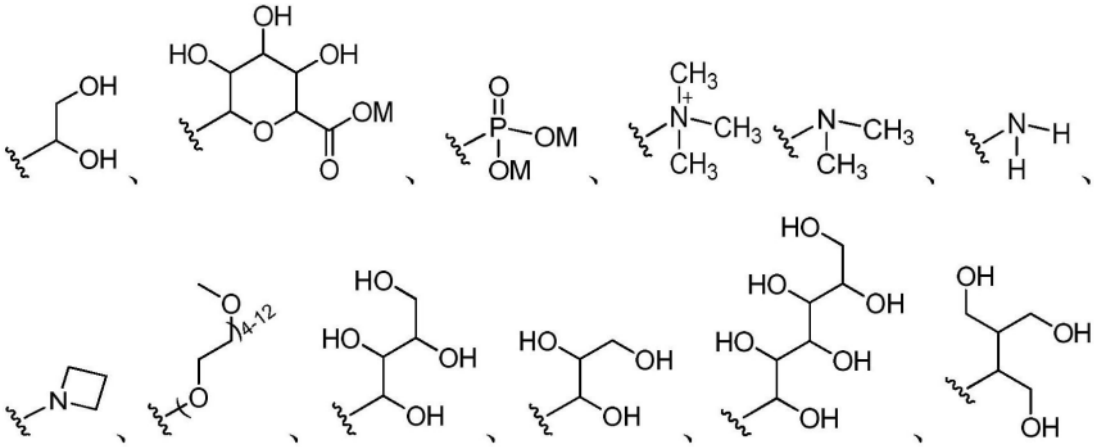


其中M是氢或带正电的反离子。在某些实施例中，M是Na^+、K^+或Li^+。在某些实施例中，M是氢。在特定实施例中，G是SO_3H。

[0706] 在某些实施例中，G在每次出现时独立地选自：



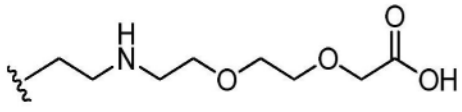
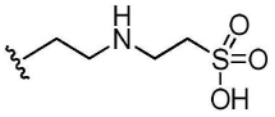
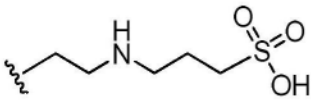
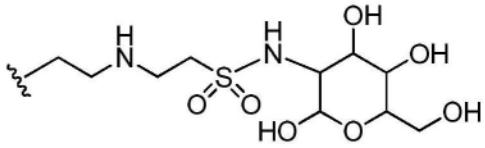
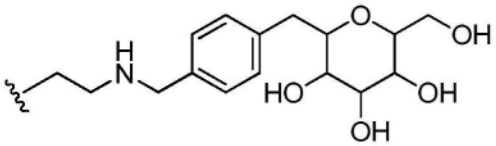
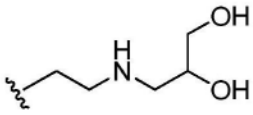
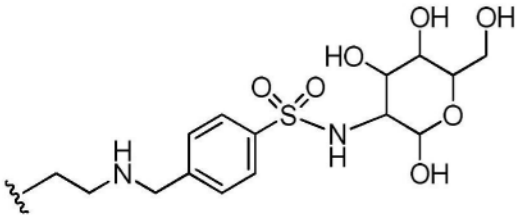
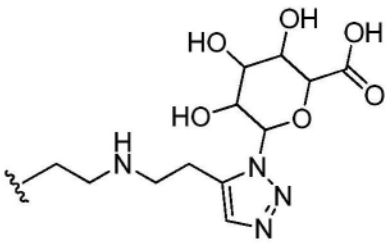
[0707]

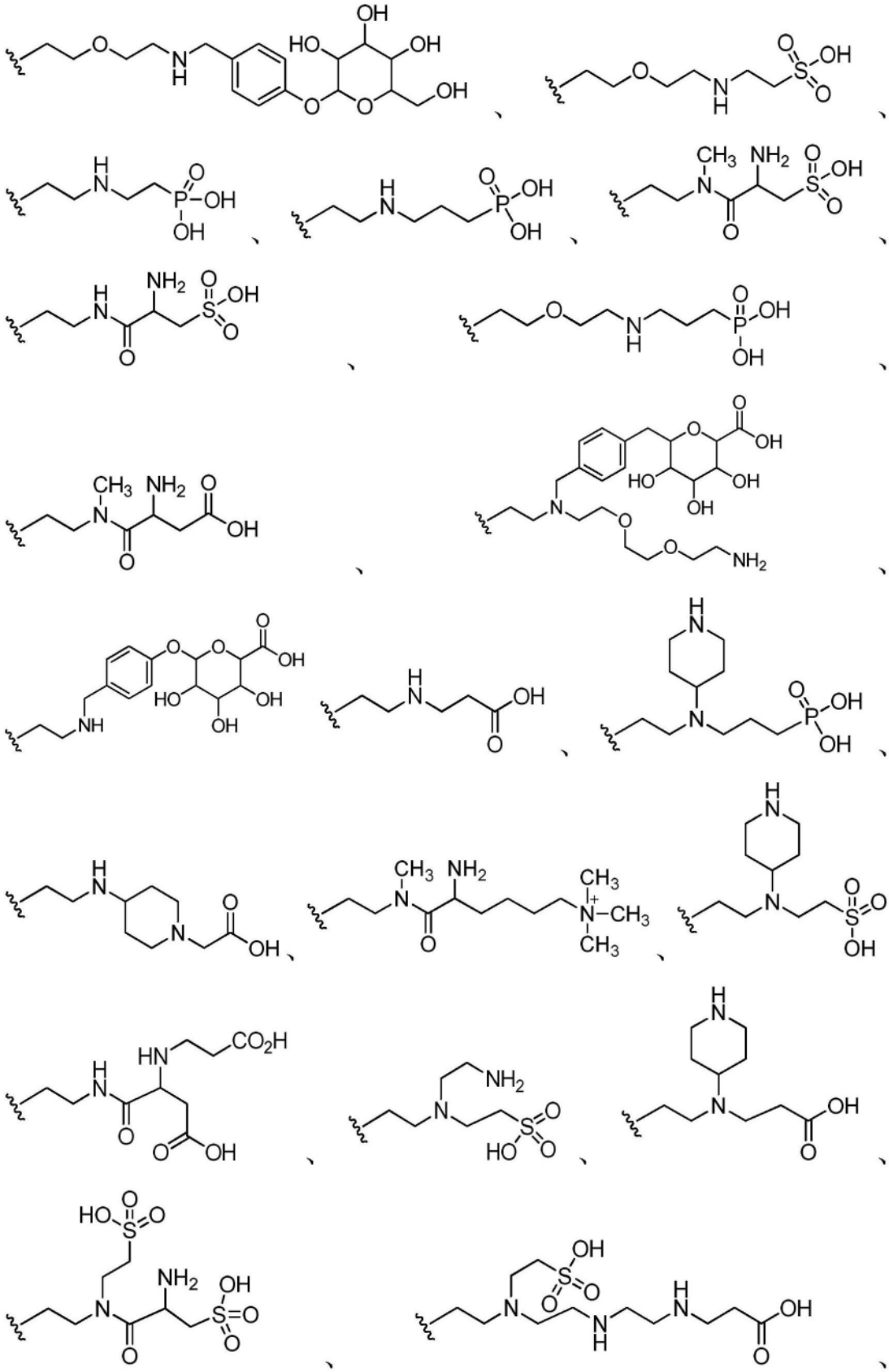


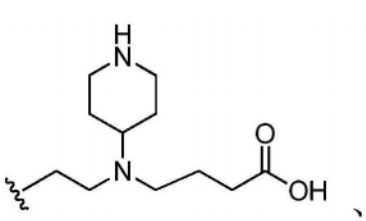
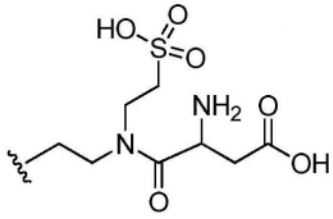
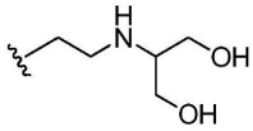
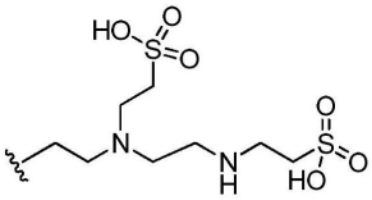
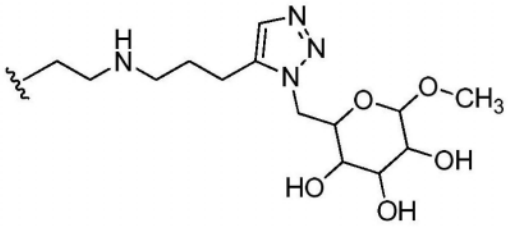
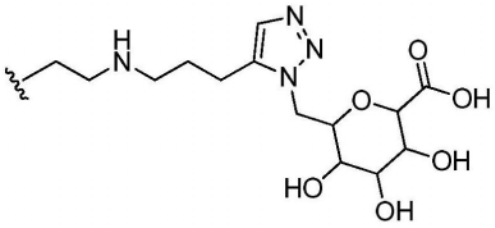
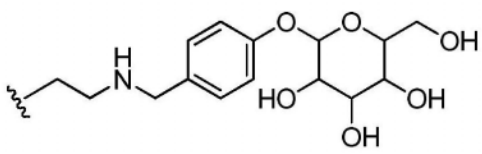
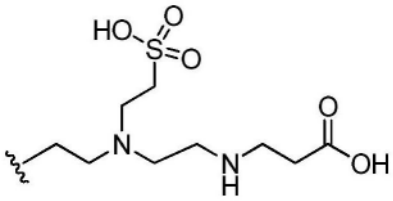
，其中M是氢或带正电的反离子。在某些实施例中，M是氢。在特定实施例中，G是SO_3H。

[0708] 在某些实施例中，R’选自：

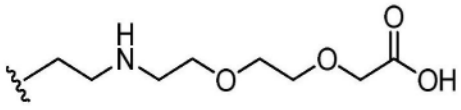
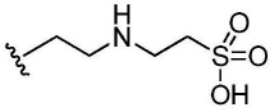
[0709]

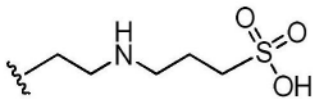
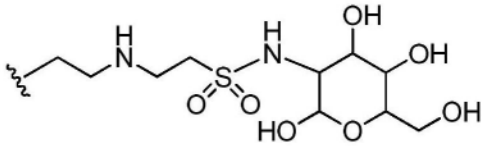
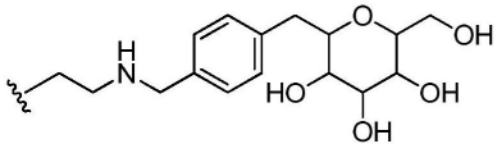
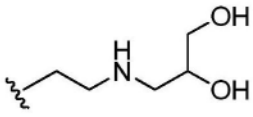









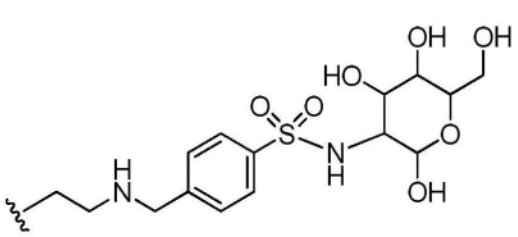
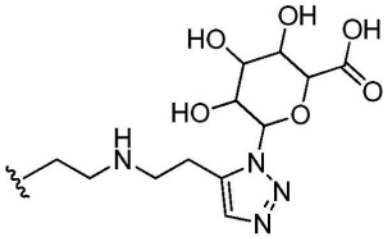
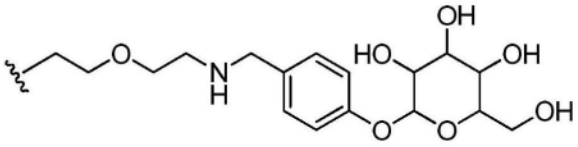
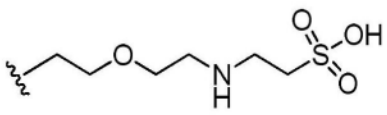
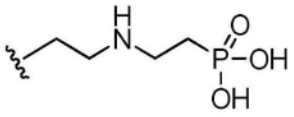
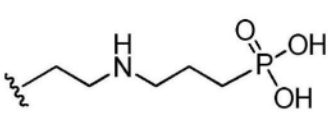
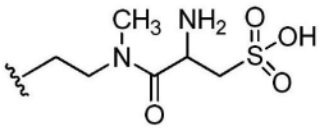
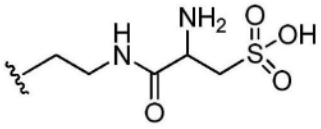
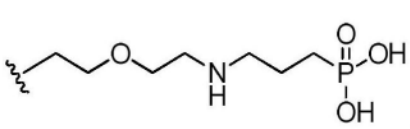
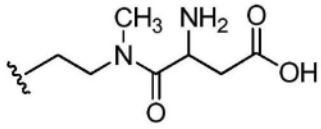
[0710] 


、 
、 
、 
、 
、 
、 
、和 
或其盐。当该实施例的Bcl-xL抑制剂包括在ADC中时，ADC的接头与可用的伯或仲胺基团的氮原子连接。

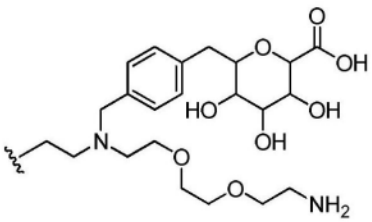
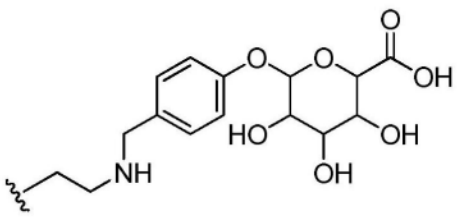
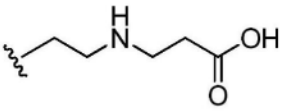
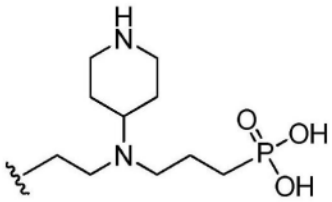
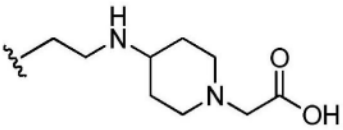
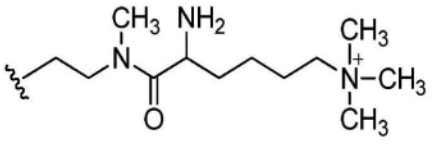
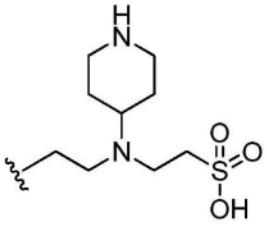
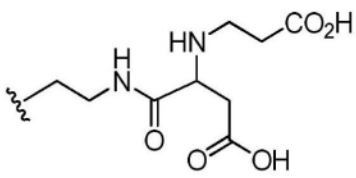
[0711] 在某些实施例中，R’选自：

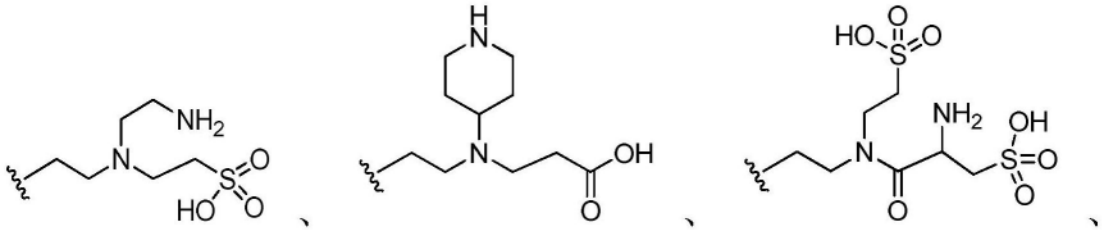
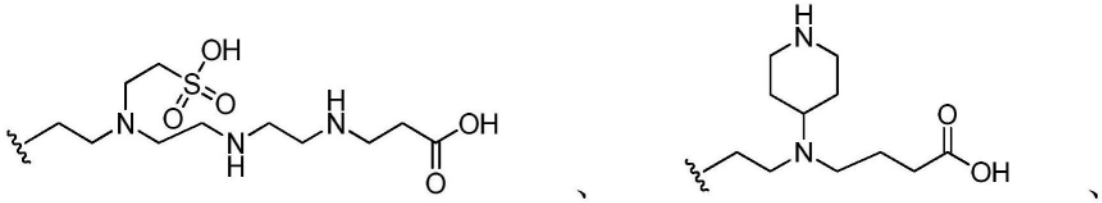
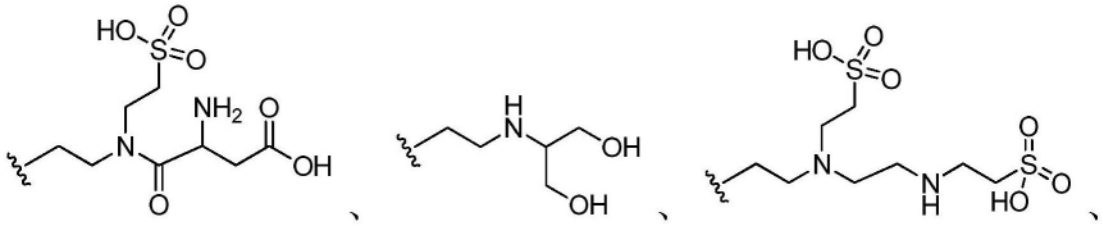

、 
、

[0712] 

、 
、 
、

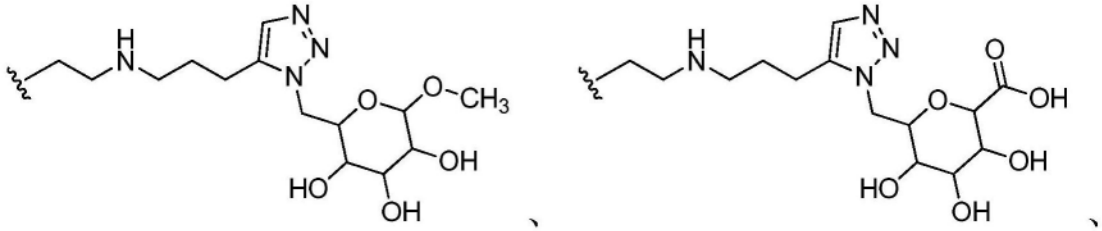
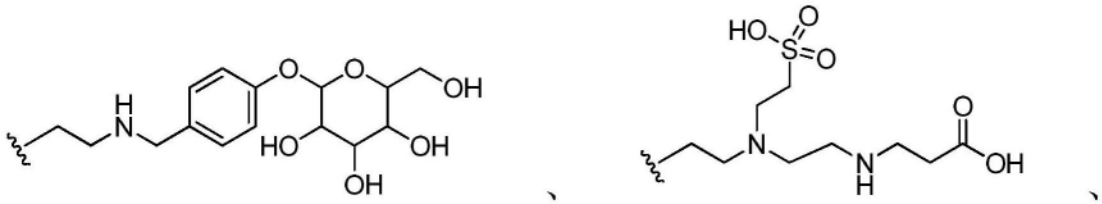
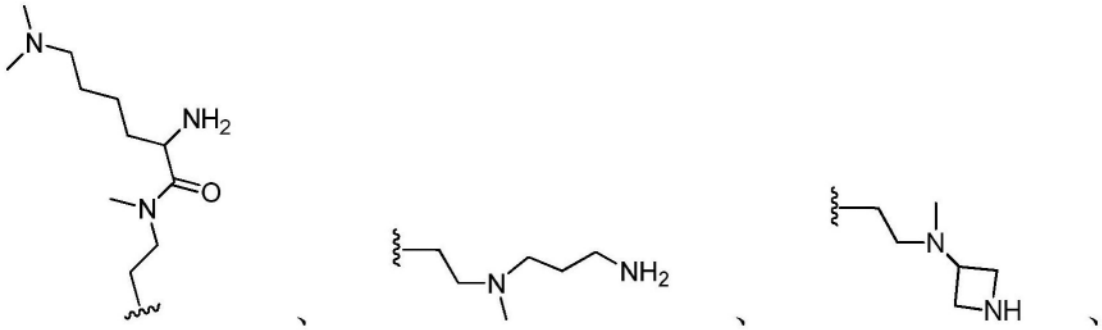











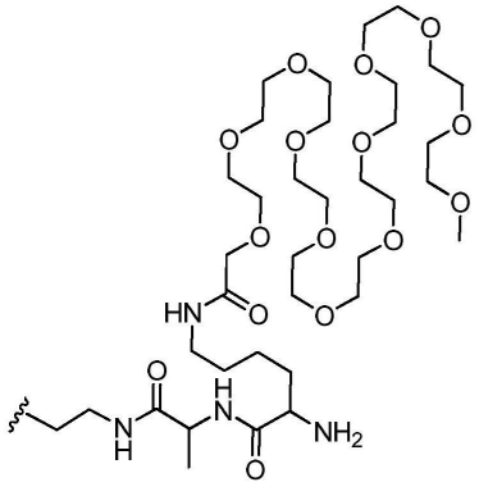
[0713]

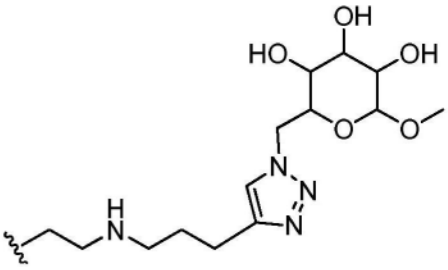









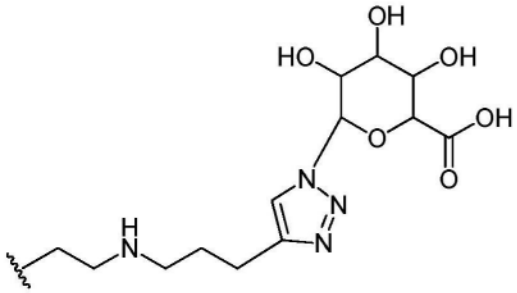




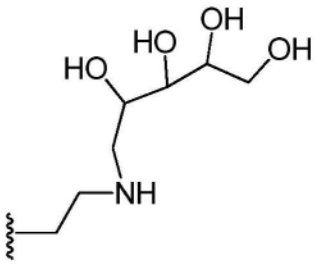
[0714]

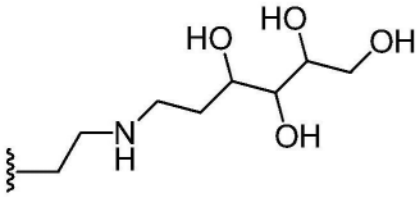


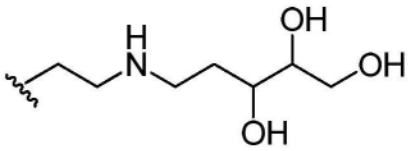


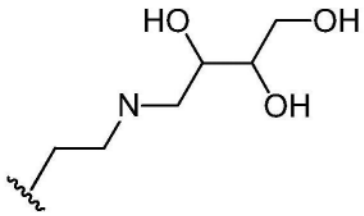


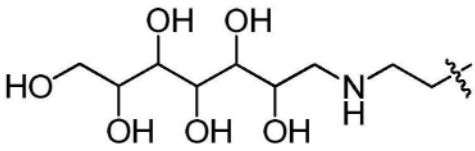


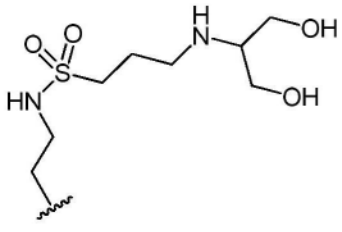
[0715]

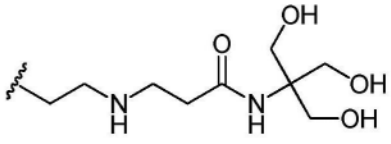


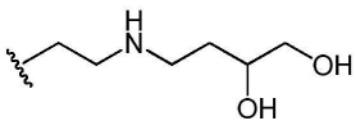


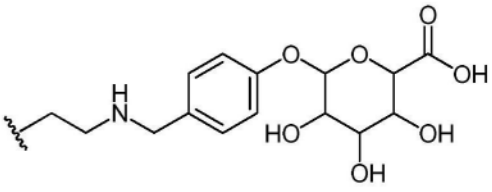


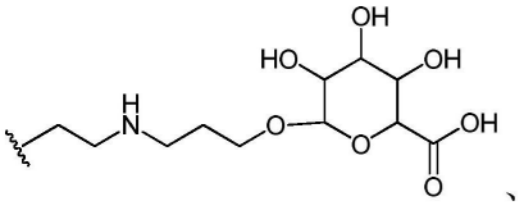
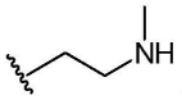
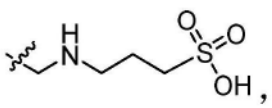




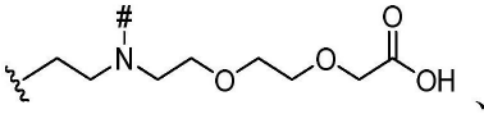


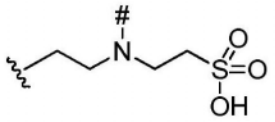
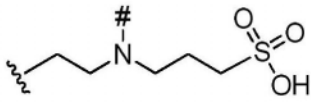
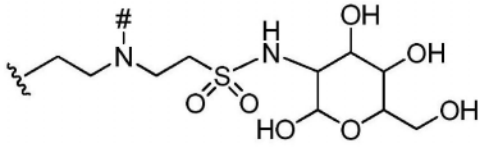
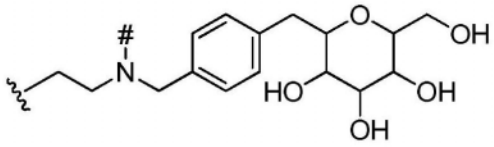
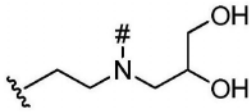
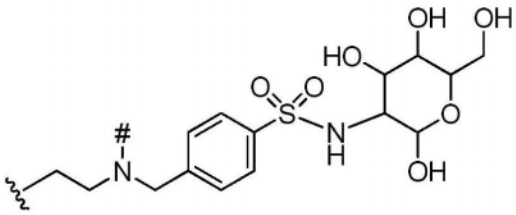
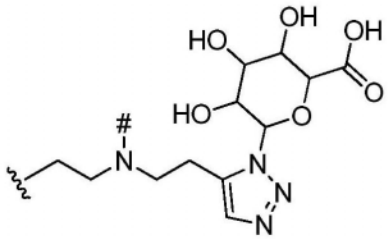
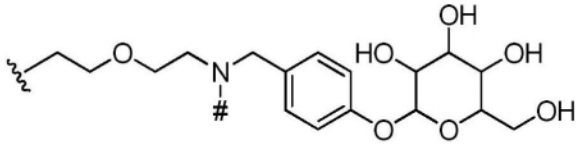
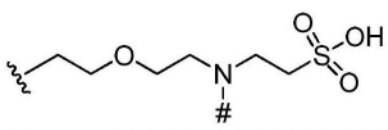
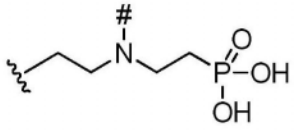
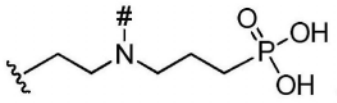
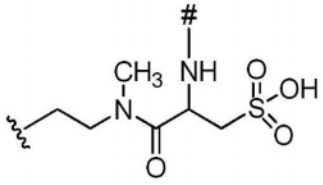
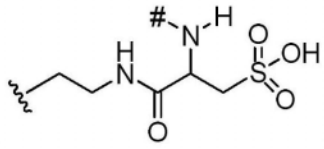
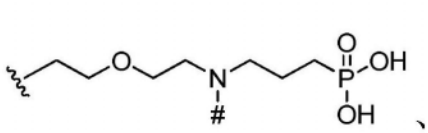


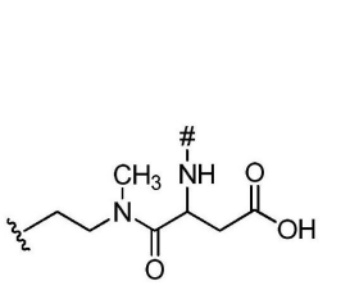
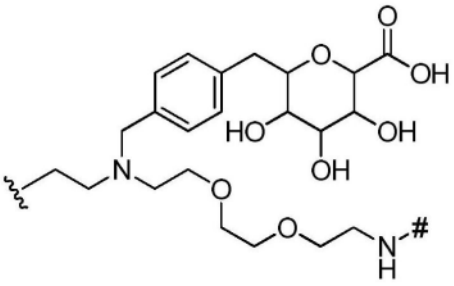
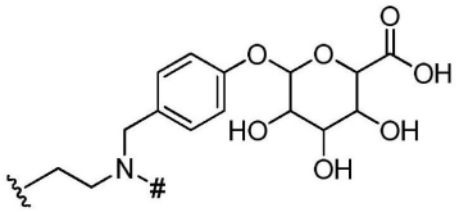
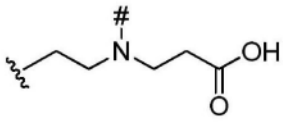
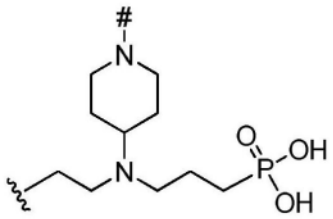
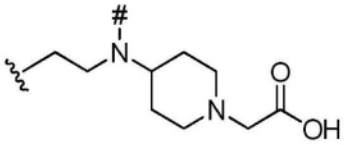


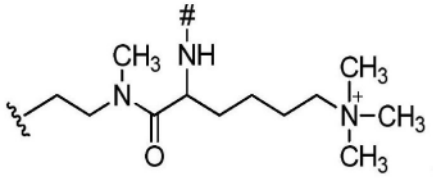
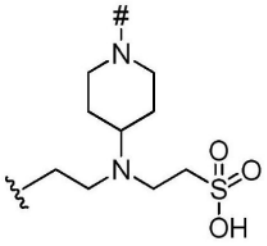
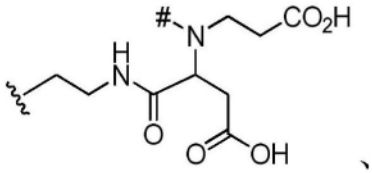
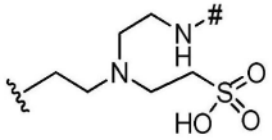
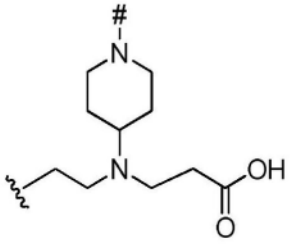
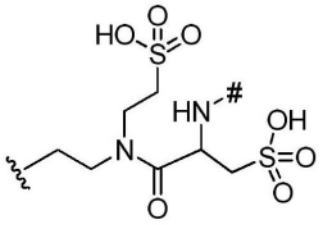
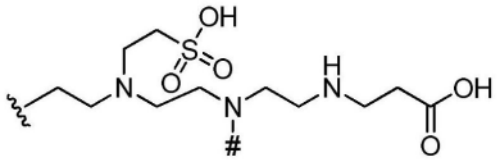
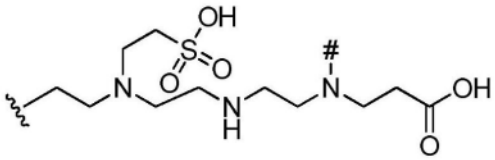
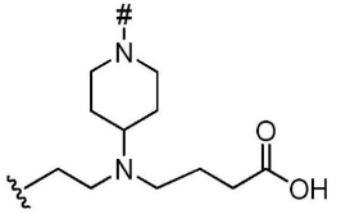
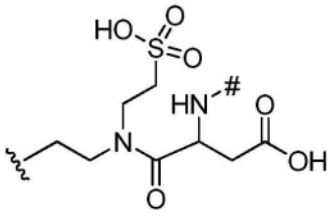
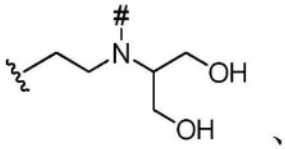
或其盐。当该实施例的Bcl-xL抑制剂包括在ADC中时，ADC的接头与可用的伯或仲胺基团的氮原子连接。

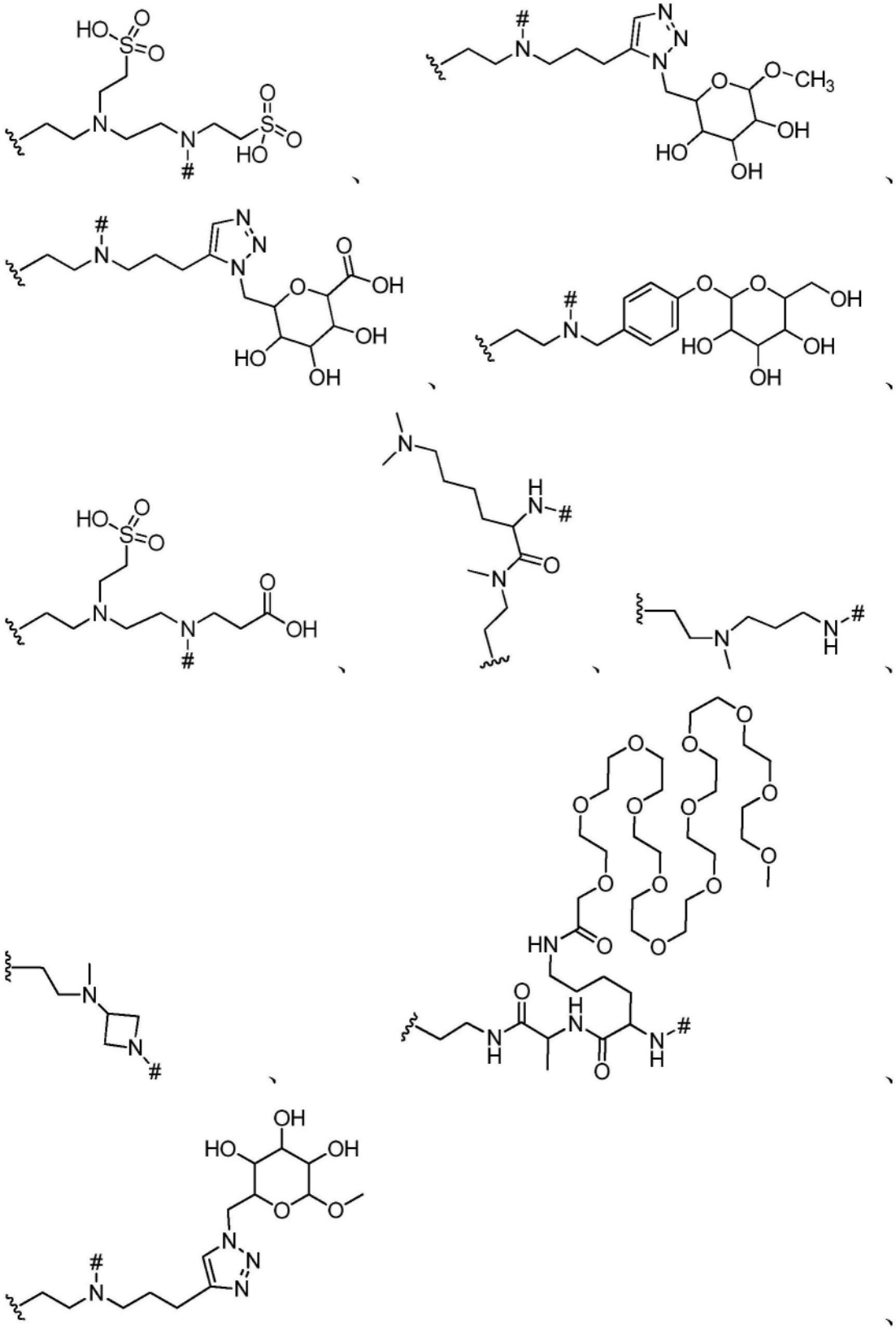
[0716] 在某些实施例中，R’选自  、

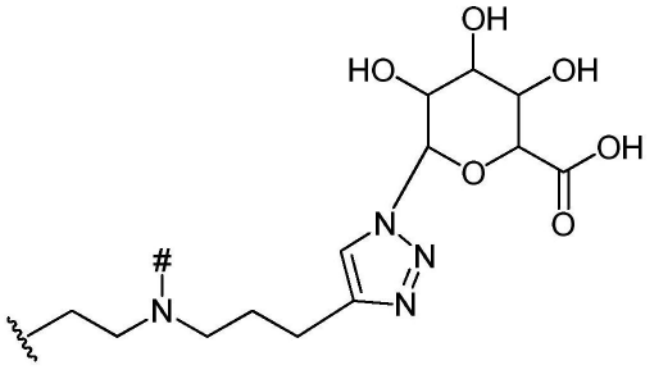
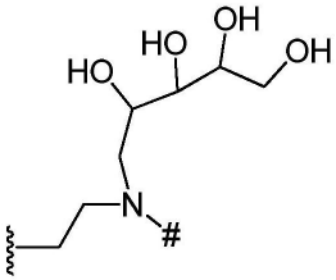
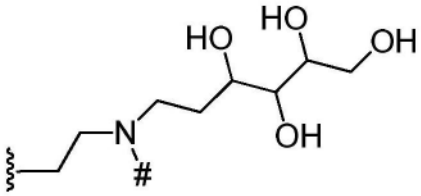
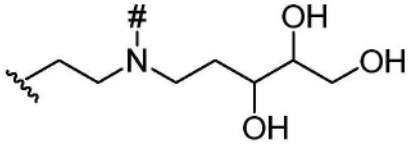
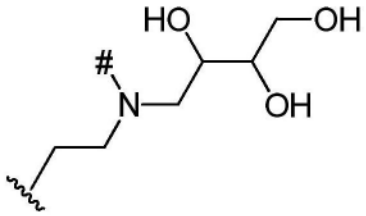
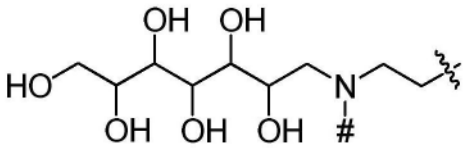
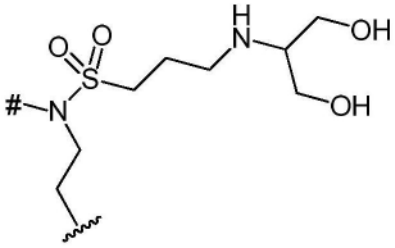
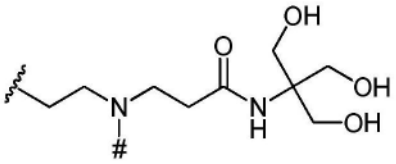
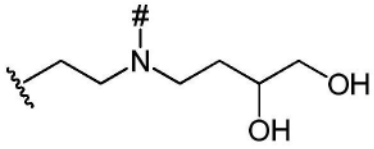
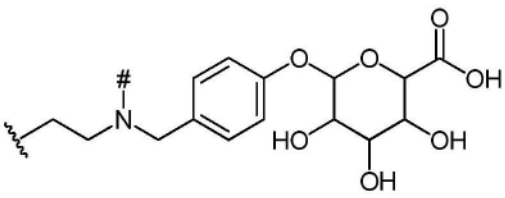
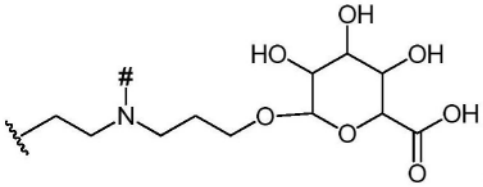
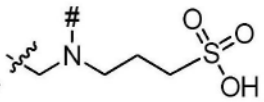















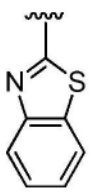
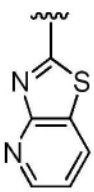
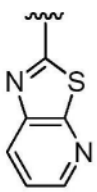

、

、

、

、

、

、

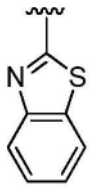
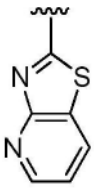
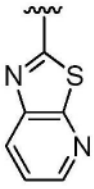
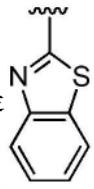
[0717]

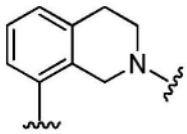

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

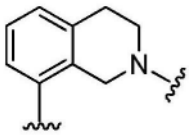
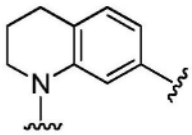
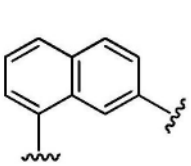
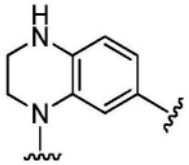
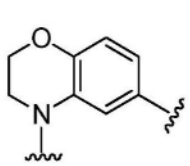
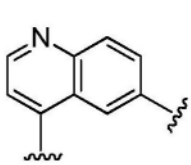
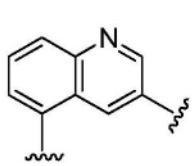
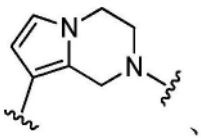
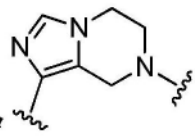
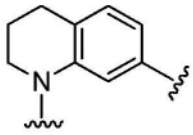
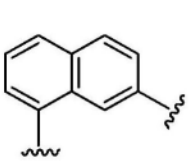
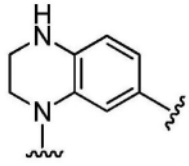
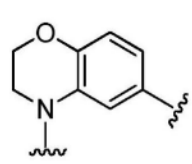
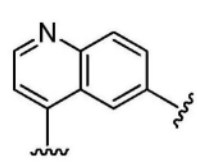
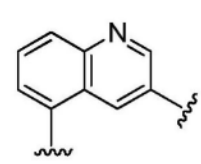
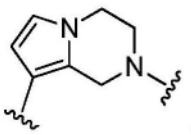
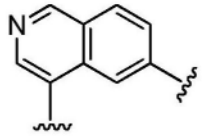
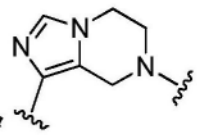
[0718] 


、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、和

，其中#代表具有式(IIb)或(IIc)的ADC的Bcl-xL抑制剂药物中的氢原子或具有式(IIa)或(IId)的ADC的Bcl-xL抑制剂药物中与接头L的附接点。

[0719] 在某些实施例中，式(IIa)-(IId)的Ar^1选自

、

、和

。在某些实

施例中，式(IIa)-(IId)的Ar^1选自  、  、和  ，并且任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代：卤基、氰基、甲基、和卤代甲基。在特定实施例中，Ar^1是  。

[0720] 在某些实施例中，Ar^2是任选地被一个或多个取代基取代的  ，其中R^{12}-Z^{2b}-、R'-Z^{2b}-、#-N(R^4)-R^{13}-Z^{2b}-、或#-R'-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能够被取代的原子处附接至Ar^2。

[0721] 在某些实施例中，Ar^2选自：  、  、  、  、  、  、  、  、  并且任选地被一个或多个取代基取代，其中R^{12}-Z^{2b}-、R'-Z^{2b}-、#-N(R^4)-R^{13}-Z^{2b}-或#-R'-Z^{2b}-取代基在任何能被取代的Ar^2原子上与Ar^2附接。在某些实施例中，Ar^2选自：  、  、  、  、  、  、  、  、  并且任选地被一个或多个取代基取代，其中R^{12}-Z^{2b}-、R'-Z^{2b}-、#-N(R^4)-R^{13}-Z^{2b}-、或#-R'-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能够被取代的原子处附接至Ar^2。在某些实施例中，Ar^2被一个或多个增溶基团取代。在某些实施例中，每个增溶基团彼此独立地选自包含多元醇、具有4至30个之间的重复单元的聚乙二醇、盐的部

分，或在生理pH下带电的部分。

[0722] 在某些实施例中，式(IIa)-(IId)的Z^1是N。

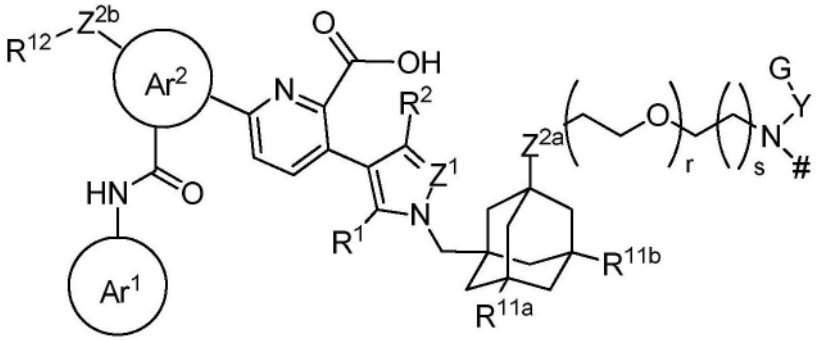
[0723] 在某些实施例中，式(IIa)-(IId)的Z^{2a}是O。在某些实施例中，式(IIa)-(IId)的Z^{2a}是$CR^{6a}R^{6b}$。在某些实施例中，式(IIa)-(IId)的Z^{2a}是S。在某些实施例中，式(IIa)-(IId)的Z^{2a}是$-NR^6C(O)-$。在特定的实施例中，R^6是氢。

[0724] 在某些实施例中，具有式(IIa)-(IId)的Z^{2b}是O。在某些实施例中，具有式(IIa)-(IId)的Z^{2b}是NH或CH_2。

[0725] 在某些实施例中，式(IIa)-(IId)的R^1选自甲基和氯。

[0726] 在某些实施例中，式(IIa)-(IId)的R^2选自氢和甲基。在特定实施例中，R^2是氢。

[0727] 在某些实施例中，Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa)的化合物。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa)的化合物的某些实施例中，该化合物具有结构式(IIa.1)，

[0728] 

(IIa.1)

[0729] 或其盐表示，其中：

[0730] Ar^1、Ar^2、Z^1、Z^{2a}、Z^{2b}、R^1、R^2、R^{11a}、R^{11b}、R^{12}、G和#是如上定义的；

[0731] Y是任选地取代的C_1-C_8亚烷基；

[0732] r是0或1；以及

[0733] s是1、2或3。

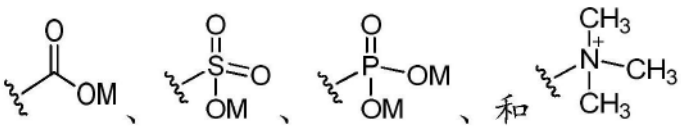
[0734] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.1)的化合物的某些实施例中，r是0并且s是1。

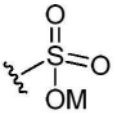
[0735] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.1)的化合物的某些实施例中，r是0并且s是2。

[0736] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.1)的化合物的某些实施例中，r是1并且s是2。

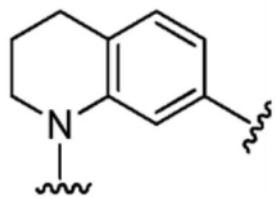
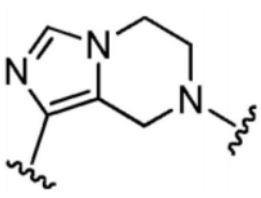
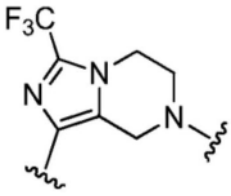
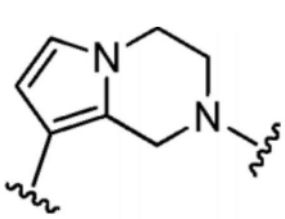
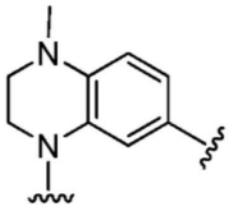
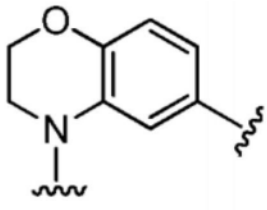
[0737] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.1)的化合物的某些实施例中，Z^{2a}选自O、NH、CH_2和S。在特定实施例中，Z^{2a}是O。在某些实施例中，式(IIa.1)的Z^{2a}是$-CR^{6a}R^{6b}-$。在某些实施例中，式(IIa.1)的Z^{2a}是CH_2。在某些实施例中，式(IIa.1)的Z^{2a}是S。在某些实施例中，式(IIa.1)的Z^{2a}是$-NR^6C(O)-$。

[0738] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.1)的化合物的某些实施例中，Y选自亚乙基、亚丙基和亚丁基。在特定实施例中，Y选自亚乙基和亚丙基。

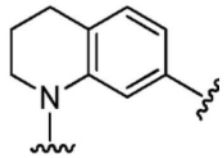
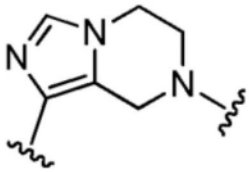
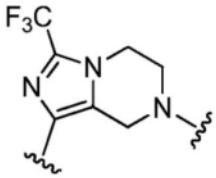
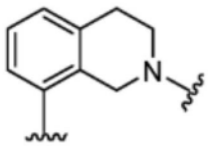
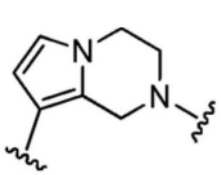
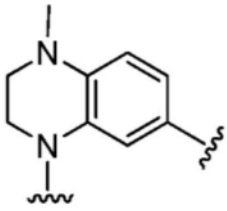
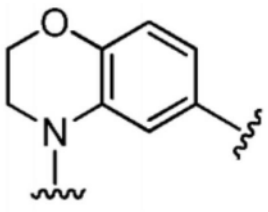
[0739] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.1)的化合物的某些实施例中，G选自  其中M是氢或带正电的反离子。在特定

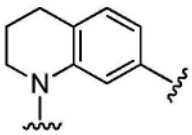
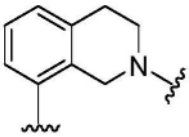
实施例中，G是  在特定实施例中，G是SO_3H。

[0740] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.1)的化合物的某些实施例中，Ar^2选自

[0741]  、  、  、  、  、和  ，其中R^{12}-Z^{2b}-取代基在任何能被取代的Ar^2原子上与Ar^2附接。

[0742] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.1)的化合物的某些实施例中，Ar^2选自

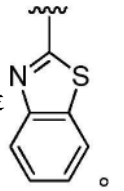
[0743]  、  、  、  、  、  、和  ，其中R^{12}-Z^{2b}-取代基在任何能被取代的Ar^2原子上与Ar^2附接。

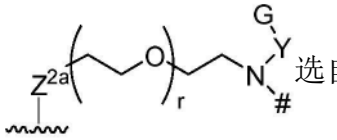
[0744] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.1)的化合物的特定实施例中，Ar^2是  。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.1)的化合物的特定实施例中，Ar^2是  。

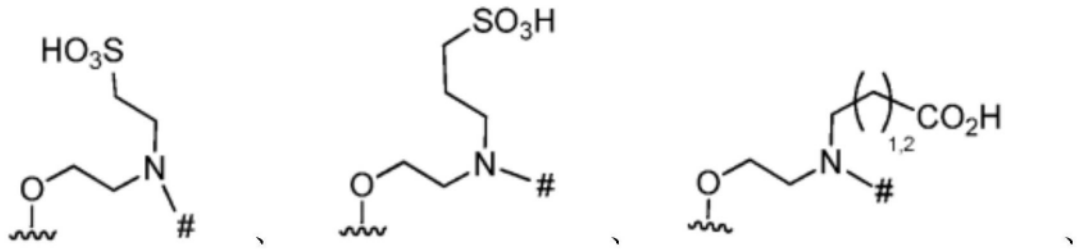
[0745] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.1)的化合物的某些实施例中，Z^{2b}-R^{12}选自H、F、CN、OCH_3、OH、NH_2、$OCH_2CH_2OCH_3$、$N(CH_3)C(=O)CH_3$、$CH_2N(CH_3)C(=O)CH_3$、SCH_3、$C(=O)N(CH_3)_2$和$OCH_2CH_2N(CH_3)(C(=O)CH_3)$。在特定实施例中，$Z^{2b}$-$R^{12}$选自H、F和CN。在特定实施例中，$Z^{2b}$-$R^{12}$是H。

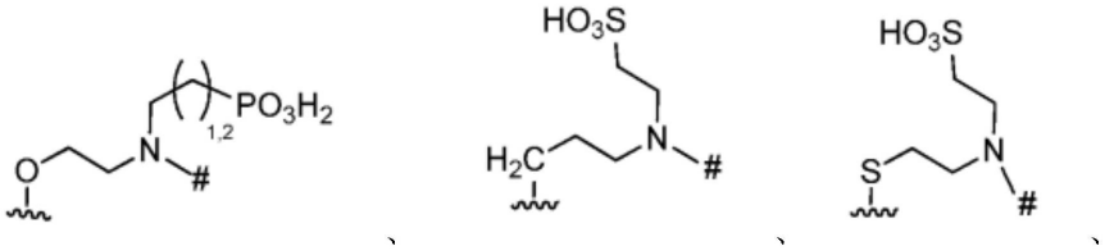
[0746] 在实施例中，其中Z^{2b}-R^{12}被羟基(OH)取代，氧可以作为连接基团的附接点(参见

4.4.1.1部分)。

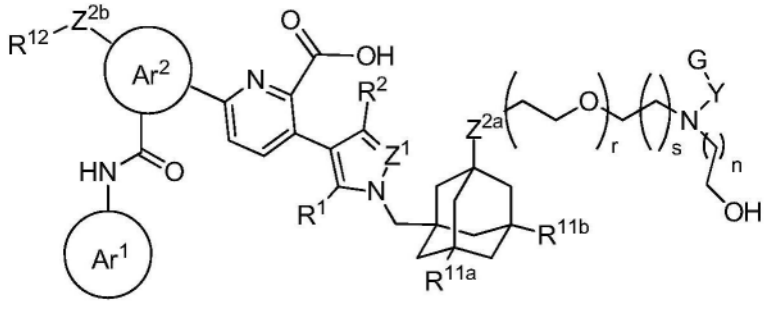
[0747] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.1)的化合物的某些实施例中,Ar^1是  。

[0748] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.1)的化合物的某些实施例中,键联至金刚烷环的基团  选自:



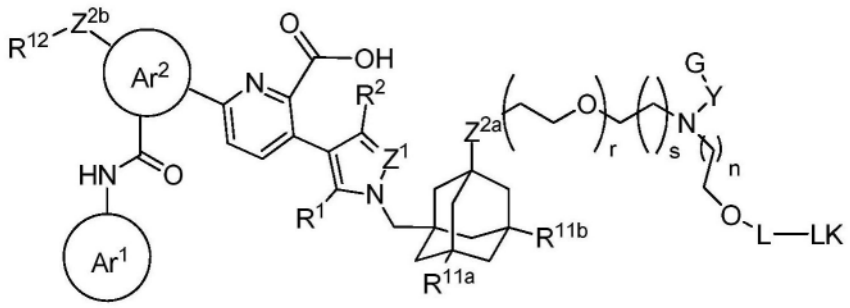
[0749] 

[0750] 在某些实施例中,具有式(IIa.1)化合物可以转化为具有式IIa.1.1化合物,其中n选自1-3:

[0751] 

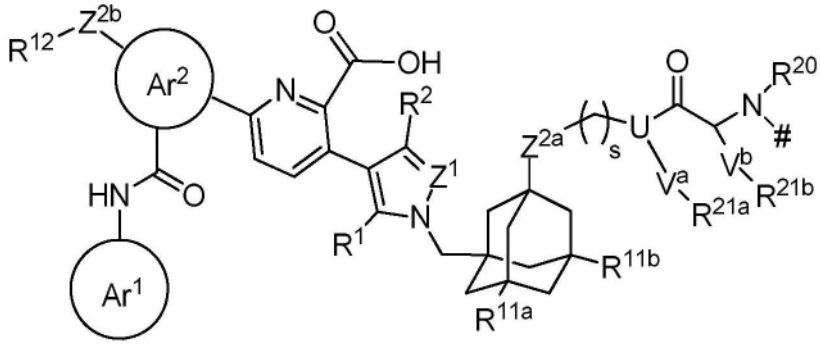
IIa.1.1

[0752] 在某些实施例中,具有式IIa.1.1化合物可以转化为具有式IIa.1.2化合物,其中L代表接头,并且LK代表在接头L上的反应性官能团和抗体上的互补官能团之间形成的键。

[0753] 

IIa.1.2

[0754] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa)的化合物的某些实施例中,该化合物具有结构式(IIa.2),

[0755] 

(IIa.2)

[0756] 或其盐表示,其中:

[0757] Ar^1、Ar^2、Z^1、Z^{2a}、Z^{2b}、R^1、R^2、R^{11a}、R^{11b}、R^{12}和#如上所定义;

[0758] U选自N、O和CH,其条件是当U是O时,则V^a和R^{21a}不存在;

[0759] R^{20}选自H和C_1-C_4烷基;

[0760] R^{21a}和R^{21b}各自彼此独立地是不存在或是选自H、C_1-C_4烷基和G,其中G选自多元醇、PEG4-30、盐、和在生理pH下带电的部分;

[0761] V^a和V^b各自彼此独立地是不存在或是选自键和任选地取代的亚烷基;

[0762] R^{20}选自H和C_1-C_4烷基;以及

[0763] s是1、2或3。

[0764] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.2)的化合物的某些实施例中,s是2。

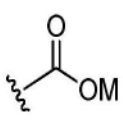
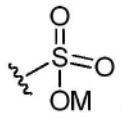
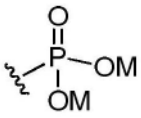
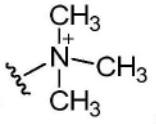
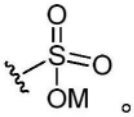
[0765] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.2)的化合物的某些实施例中,Z^{2a}选自O、NH、CH_2和S。在特定实施例中,Z^{2a}是O。在某些实施例中,式(IIa.2)的Z^{2a}是$CR^{6a}R^{6b}$。在某些实施例中,式(IIa.2)的Z^{2a}是CH_2。在某些实施例中,式(IIa.2)的Z^{2a}是S。在某些实施例中,式(IIa.2)的Z^{2a}是-$NR^6C(O)$-。

[0766] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.2)的化合物的某些实施例中,U选自N和O。在特定实施例中,U是O。

[0767] 在其中该Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.2)的化合物的某些实施例中,V^a是键,R^{21a}是C_1-C_4烷基基团,V^b选自亚甲基和亚乙基并且R^{21b}是G。在特定实施例中,V^a是键,R^{21a}是甲基基团并且V^b选自亚甲基和亚乙基并且R^{21b}是G。

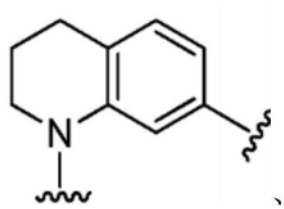
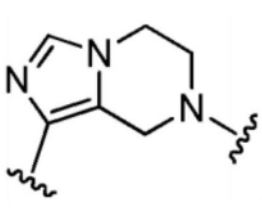
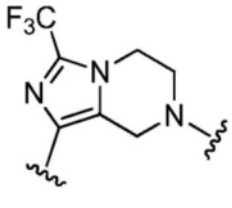
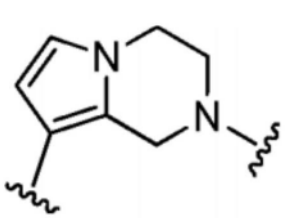
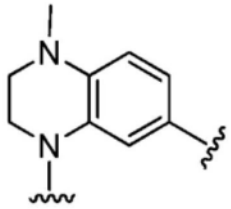
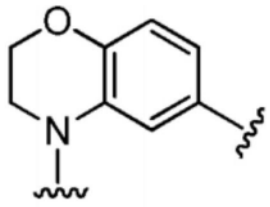
[0768] 在其中该Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.2)的化合物的某些实施例中,V^a选自亚甲

基和亚乙基，R^{21a}是G，V^b选自亚甲基和亚乙基并且R^{21b}是G。在特定实施例中，V^a是亚乙基、R^{21a}是G、V^b选自亚甲基和亚乙基并且R^{21b}是G。

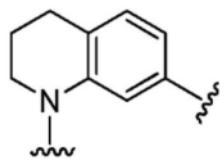
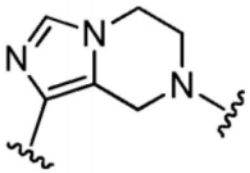
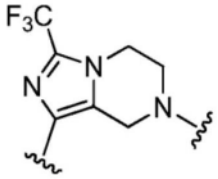
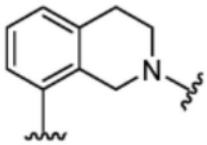
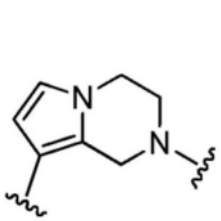
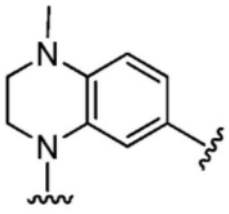
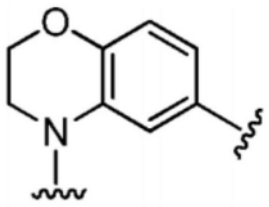
[0769] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.2)的化合物的某些实施例中，G选自  、  、  、和  ，其中M是氢或带正电的反离子。在特定实施例中，G是  。在特定实施例中，G是SO_3H。

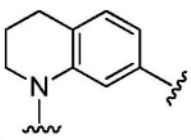
[0770] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.2)的化合物的某些实施例中，R^{20}选自氢和甲基基团。

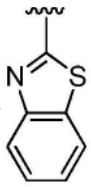
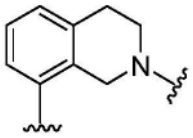
[0771] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.2)的化合物的某些实施例中，Ar^2选自

[0772]  、  、  、  、  、和  ，其中R^{12}-Z^{2b}-取代基在任何能被取代的Ar^2原子上与Ar^2附接。

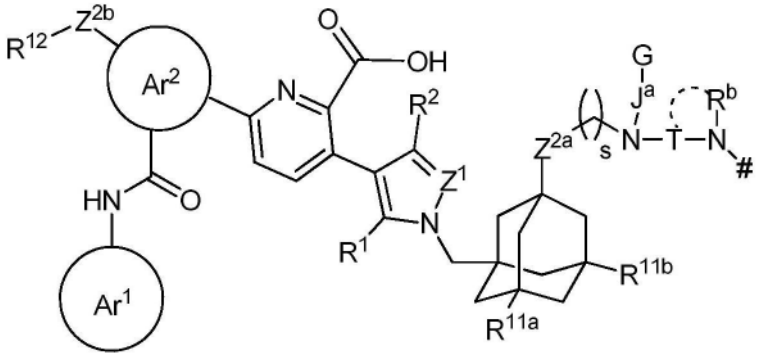
[0773] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.2)的化合物的某些实施例中，Ar^2选自

[0774]  、  、  、  、  、  、和  ，其中R^{12}-Z^{2b}-取代基在任何能被取代的Ar^2原子上与Ar^2附接。

[0775] 在其中该Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.2)的化合物的特定实施例中，Ar^2是  ，其中R^{12}-Z^{2b}-取代基在任何能被取代的Ar^2原子上与Ar^2附接。

[0776] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.2)的化合物的某些实施例中，Z^{2b}-R^{12}选自H、F、CN、OCH_3、OH、NH_2、$OCH_2CH_2OCH_3$、$N(CH_3)C(=O)CH_3$、$CH_2N(CH_3)C(=O)CH_3SCH_3$、$C(=O)N(CH_3)_2$和$OCH_2CH_2N(CH_3)(C(=O)CH_3)$。在特定实施例中，$Z^{2b}$-$R^{12}$选自H、F和CN。在特定实施例中，$Z^{2b}$-$R^{12}$是H。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.2)的化合物的某些实施例中，Ar^1是  在其中该Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.2)的化合物的特定实施例中，Ar^2是  其中R^{12}-Z^{2b}-取代基在任何能被取代的Ar^2原子上与Ar^2附接。

[0777] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa)的化合物的某些实施例中，该化合物具有结构式(IIa.3)，

[0778] 

(IIa.3)

[0779] 或其盐表示，其中：

[0780] Ar^1、Ar^2、Z^1、Z^{2a}、Z^{2b}、R^1、R^2、R^{11a}、R^{11b}、R^{12}和#如上所定义；

[0781] R^b选自H、C_1-C_4烷基和J^b-G或任选地与T的原子一起形成具有3至7个之间的原子的环；

[0782] J^a和J^b各自彼此独立地选自任选地取代的C_1-C_8亚烷基和任选地取代的亚苯基；

[0783] T选自任选地取代的C_1-C_8亚烷基、$CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2$、$CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2$和包含从4至10个乙二醇单元的聚乙二醇；

[0784] G选自多元醇、PEG4-30、盐、和在生理pH下带电的部分；以及

[0785] s是1、2或3。

[0786] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，s是1。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，s是2。

[0787] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，Z^{2a}选自O、CH_2和S。在特定实施例中，Z^{2a}是O。在某些实施例中，式(IIa.3)的Z^{2a}是-$CR^{6a}R^{6b}$-。在某些实施例中，式(IIa.3)的Z^{2a}是CH_2。在某些实施例中，式(IIa.3)的Z^{2a}是S。在某些实施例中，式(IIa.3)的Z^{2a}是-$NR^6C(O)$-。

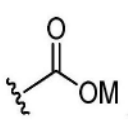
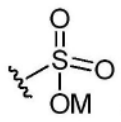
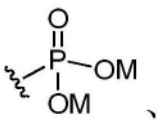
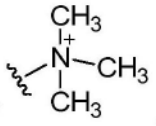
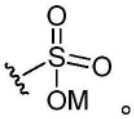
[0788] 在其中该Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，J^a选自亚甲

基和亚乙基并且R^b是J^b-G，其中J^b是亚甲基或亚乙基。在一些这样的实施例中，T是亚乙基。在其他这样的实施例中，T是$CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2$。在其他这样的实施例中，T是含有4至10乙二醇单元的聚乙二醇。

[0789] 在其中该Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，J^a选自亚甲基和亚乙基并且R^b与T原子一起形成具有4-6个环原子的环。

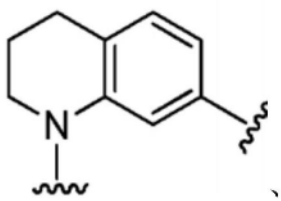
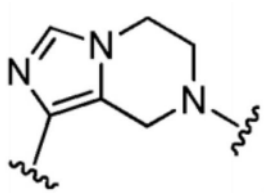
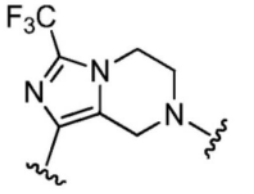
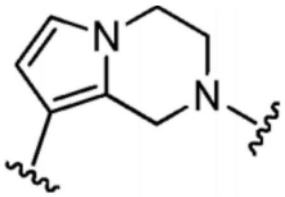
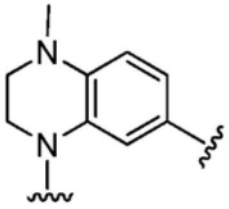
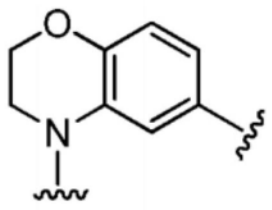
[0790] 在其中该Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，J^a选自亚甲基和亚乙基并且R^b是H或烷基。在一些这样的实施例中，T是亚乙基。在其他这样的实施例中，T是$CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2$。

[0791] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，G选自

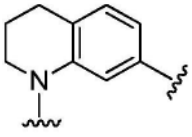
 、  、  、和  ，其中M是氢或带正电的反离子。在特定实施例中，G是  。在特定实施例中，G是SO_3H。

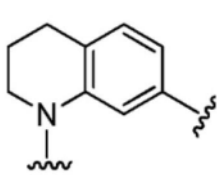
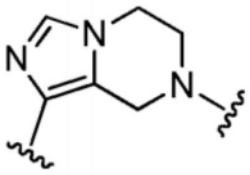
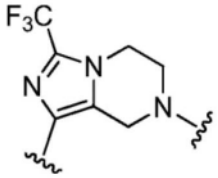
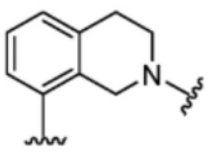
[0792] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，R^{20}选自氢和甲基基团。

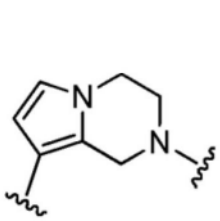
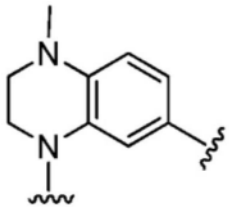
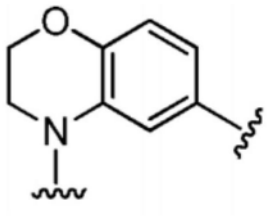
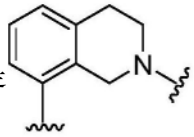
[0793] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，Ar^2选自

[0794]  、  、  、  、  、和  ，其中R^{12}-Z^{2b}-取代基在任何能被取代的Ar^2原子上与Ar^2附接。

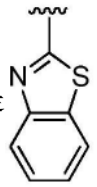
[0795] 在其中该Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的特定实施例中，Ar^2是

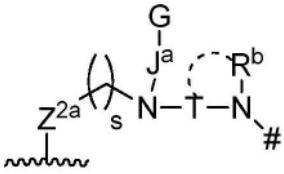
 ，其中R^{12}-Z^{2b}-取代基在任何能被取代的Ar^2原子上与Ar^2附接。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，Ar^2选自

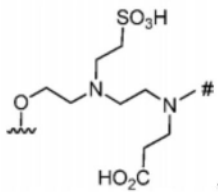
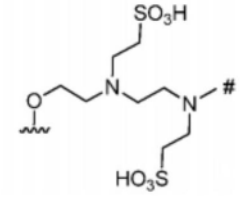
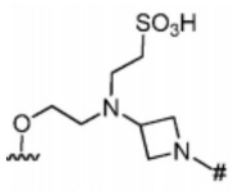
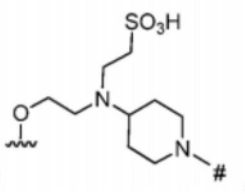
[0796]  、  、  、  、

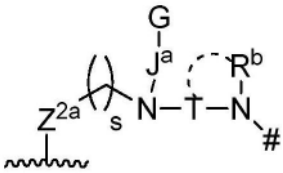

、

、和

，其中R^{12}-Z^{2b}-取代基在任何能被取代的Ar^2原子上与Ar^2附接。在其中该Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的特定实施例中，Ar^2是

，其中R^{12}-Z^{2b}-取代基在任何能被取代的Ar^2原子上与Ar^2附接。

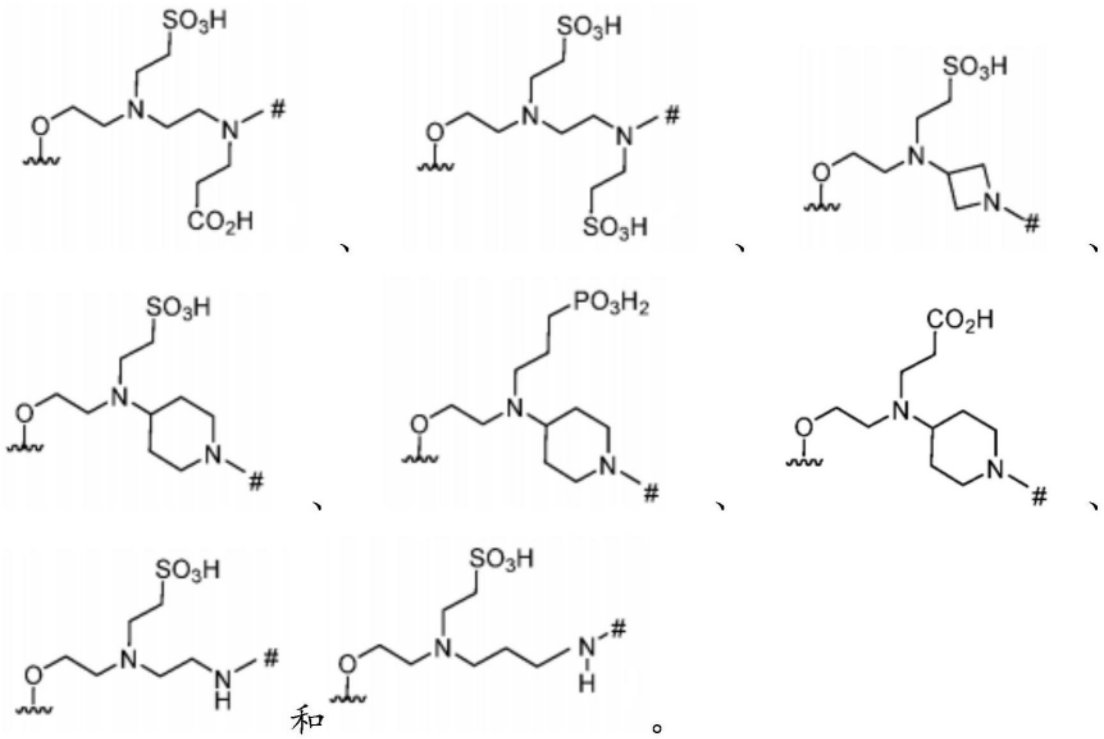
[0797] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，Z^{2b}-R^{12}选自H、F、CN、OCH_3、OH、NH_2、$OCH_2CH_2OCH_3$、$N(CH_3)C(=O)CH_3$、$CH_2N(CH_3)C(=O)CH_3$、SCH_3、$C(=O)N(CH_3)_2$和$OCH_2CH_2N(CH_3)(C(=O)CH_3)$。在特定实施例中，$Z^{2b}$-$R^{12}$选自H、F和CN。在特定实施例中，$Z^{2b}$-$R^{12}$是H。

[0798] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，Ar^1是

。

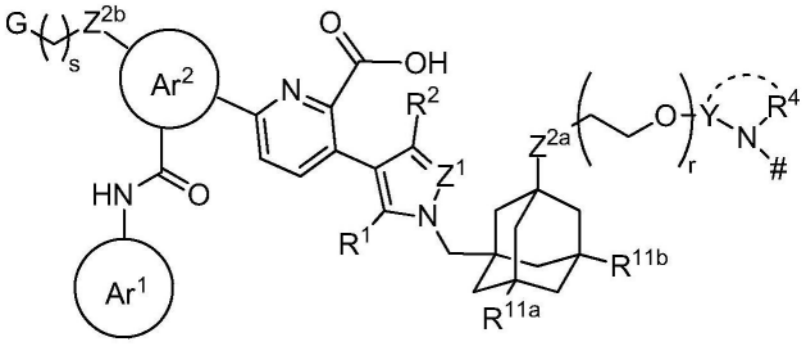
[0799] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，基团

选自：

[0800]

、

、

、和

。

[0801] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIa.3)的化合物的某些实施例中，基团

选自：

[0802] 

[0803] 在某些实施例中，Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb)的化合物。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb)的化合物的某些实施例中，该化合物具有结构式(IIb.1)，

[0804] 

(IIb.1)

[0805] 或其盐表示，其中：

[0806] Ar^1、Ar^2、Z^1、Z^{2a}、Z^{2b}、R^1、R^2、R^4、R^{11a}、R^{11b}和#如上所定义；

[0807] Y是任选地取代的C_1-C_8亚烷基；

[0808] G选自多元醇、PEG4-30、盐、和在生理pH下带电的部分；

[0809] r是0或1；以及

[0810] s是1、2或3。

[0811] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，s是1。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，s是2。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，s是3。

[0812] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，Z^{2a}选自O、CH_2、NH和S。在特定实施例中，Z^{2a}是O。在某些实施例中，式(IIb.1)的Z^{2a}是$CR^{6a}R^{6b}$。在某些实施例中，式(IIb.1)的Z^{2a}是CH_2。在某些实施例中，式(IIb.1)的Z^{2a}是S。在某些实施例中，式

(IIb.1)的Z^{2a}是-$NR^6C(O)$-。

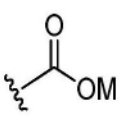
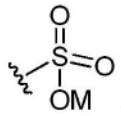
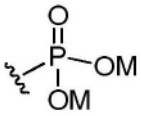
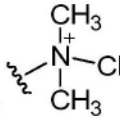
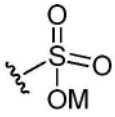
[0813] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，Z^{2b}选自O、CH_2、NH、NCH_3和S。在特定实施例中，Z^{2b}是O。在特定实施例中，Z^{2b}是NH。在特定实施例中，Z^{2b}是NCH_3。

[0814] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，Y是亚乙基且r是0。

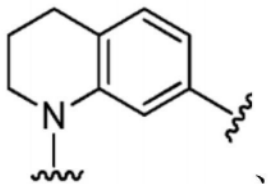
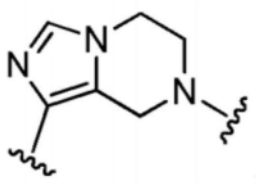
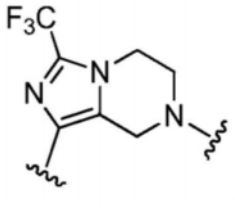
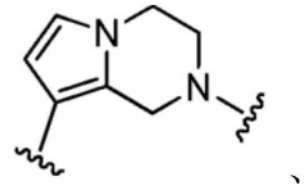
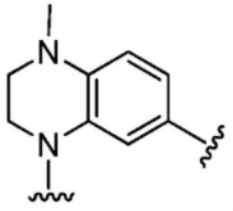
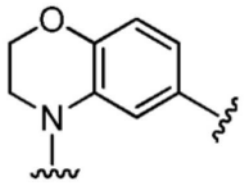
[0815] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，Y是亚乙基且r是1。

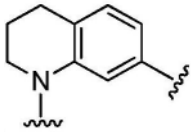
[0816] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，R^4是H或甲基。在特定实施例中，R^4是甲基。在其他实施例中，R^4是H。

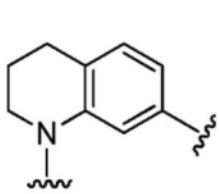
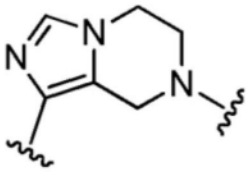
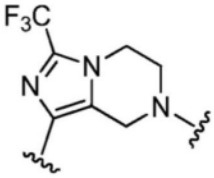
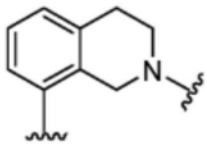
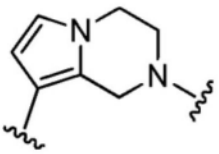
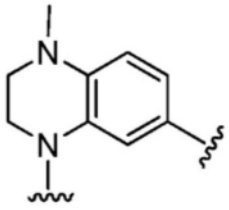
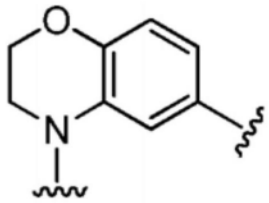
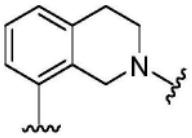
[0817] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，R^4与Y的原子一起形成具有4-6个环原子的环。在特定实施例中，该环是环丁烷环。在其他实施例中，该环是哌嗪环。在其他实施例中，该环是吗啉环。

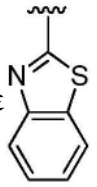
[0818] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，G选自  、  、  、和  ，其中M是氢或带正电的反离子。在特定实施例中，G是  。在其他实施例中，G是SO_3H。在特定实施例中，G是NH_2。在其他实施例中，G是PO_3H_2。在特定实施例中，G是NH_2。在特定实施例中，G是C(O)OH。在特定实施例中，G是多元醇。

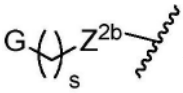
[0819] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，Ar^2选自

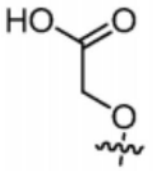
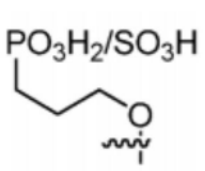
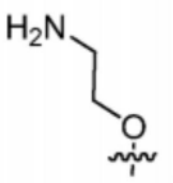
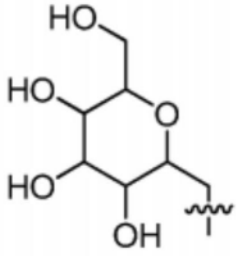
[0820]  、  、  、  、  、和  ，其中G-$(CH_2)_s$-Z^{2b}-取代基在任何能被取代的Ar^2原子上与Ar^2附接。

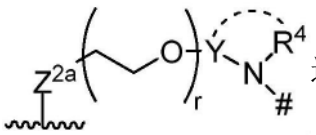
[0821] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的特定实施例中，Ar^2是  ，其中G-$(CH_2)_s$-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能够被取代的原子处附接至Ar^2。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，Ar^2选自

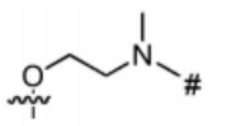
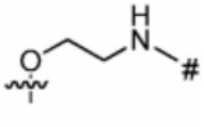
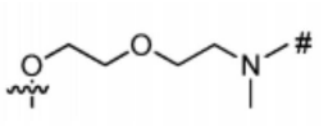
[0822]  、  、  、  、  、  、  和，其中G-$(CH_2)_s$-Z^{2b}-取代基在任何能被取代的Ar^2原子上与Ar^2附接。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的特定实施例中，Ar^2是  ，其中G-$(CH_2)_s$-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能够被取代的原子处附接至Ar^2。

[0823] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，Ar^1是  。

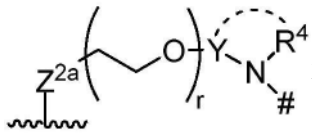
[0824] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，基团  选自：

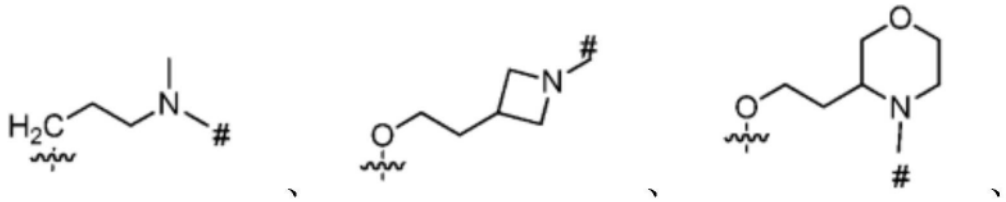
[0825]  、  、  、和  。

[0826] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，基团  选自：

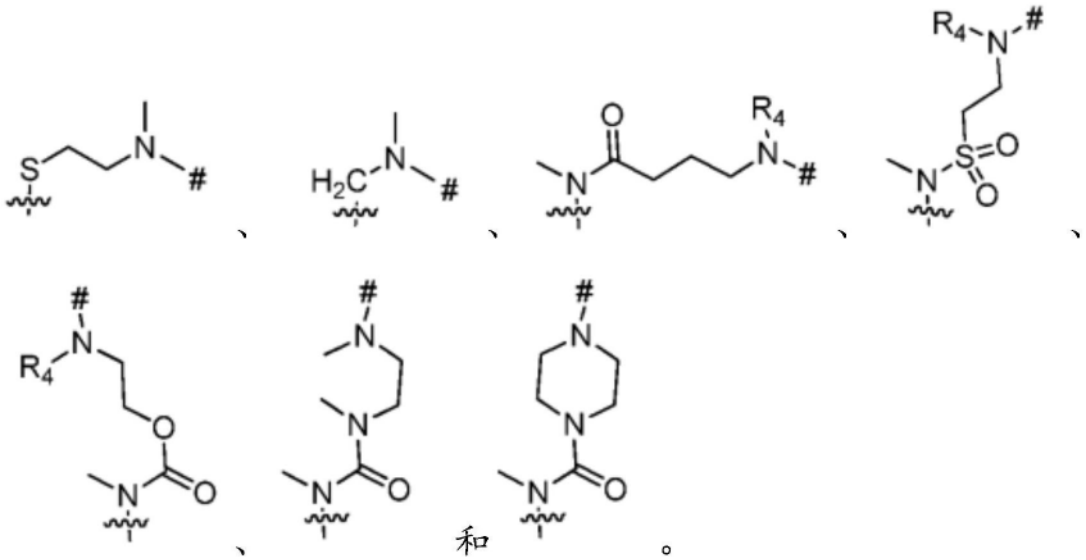
[0827]  、  和  。

[0828] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIb.1)的化合物的某些实施例中，基团


选自：

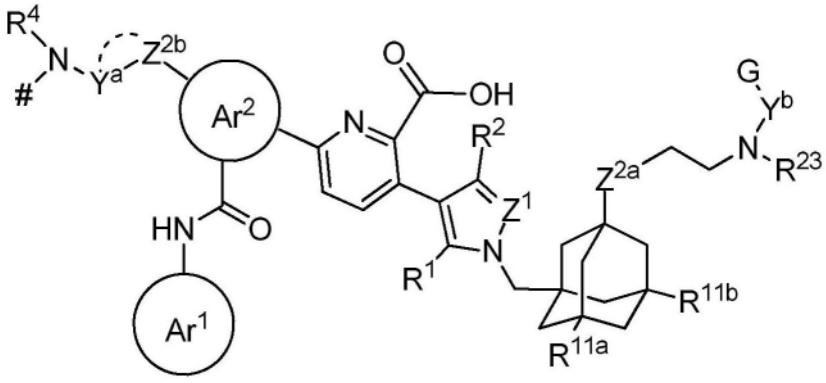


[0829]



[0830] 在某些实施例中，Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc)的化合物。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc)的化合物的某些实施例中，该化合物具有结构式(IIc.1)

[0831]



(IIc.1)

[0832] 或其盐表示，其中：

[0833] Ar^1、Ar^2、Z^1、Z^{2a}、Z^{2b}、R^1、R^2、R^4、R^{11a}、R^{11b}和#如上所定义；

[0834] Y^a是任选地取代的C_1-C_8亚烷基；

[0835] Y^b是任选地取代的C_1-C_8亚烷基；

[0836] R^{23}选自H和C_1-C_4烷基；以及

[0837] G选自多元醇、PEG4-30、盐、和在生理pH下带电的部分；

[0838] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，Z^{2a}选自O、CH_2、

NH和S。在特定实施例中，Z^{2a}是O。在某些实施例中，式(IIc.1)的Z^{2a}是$CR^{6a}R^{6b}$。在某些实施例中，式(IIc.1)的Z^{2a}是S。在某些实施例中，式(IIc.1)的Z^{2a}是$-NR^{6}C(O)-$。

[0839] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，Z^{2b}选自O、CH_2、NH、NCH_3和S。在特定实施例中，Z^{2b}是O。在特定实施例中，Z^{2b}是NH。在特定实施例中，Z^{2b}是NCH_3。

[0840] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，Z^{2b}是键。在一些这样的实施例中，Y^{a}是亚甲基或亚乙基。

[0841] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，Z^{2b}是O。在一些此类实施例中，Y^{a}是亚甲基、亚乙基、或亚丙基。

[0842] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，Z^{2b}是NR^{6}，其中R^{6}是如上定义的。在一些这样的实施例中，R^{6}与Y^{a}的原子一起形成具有3至7之间的环原子的环烷基环或杂环基环。在一些这样的实施例中，该环具有5个原子。

[0843] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，Y^{a}是亚乙基。

[0844] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，Y^{a}是亚甲基。

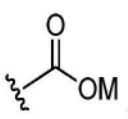
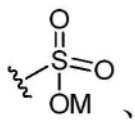
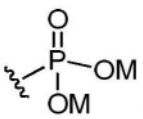
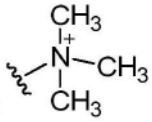
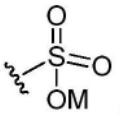
[0845] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，Y^{a}是亚丙基。

[0846] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，R^{4}是H或甲基。在特定实施例中，R^{4}是H。

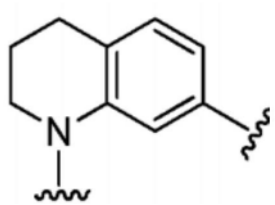
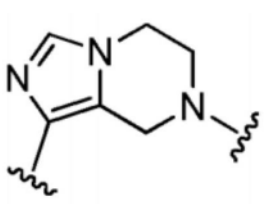
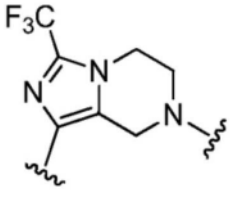
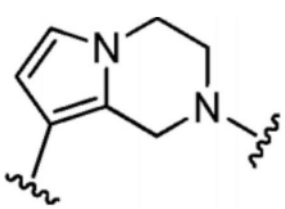
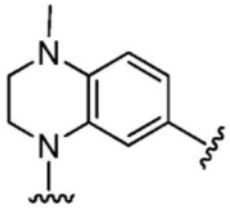
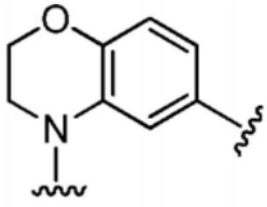
[0847] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，Y^{b}是亚乙基或亚丙基。在特定实施例中，Y^{b}是亚乙基。

[0848] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，R^{23}是甲基。

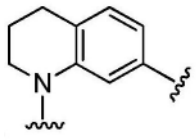
[0849] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，R^{23}是H。

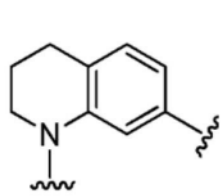
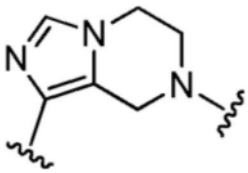
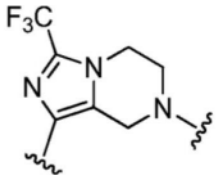
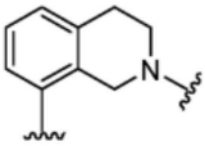
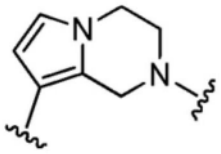
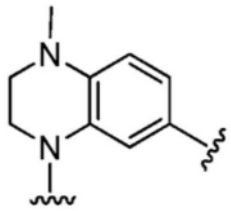
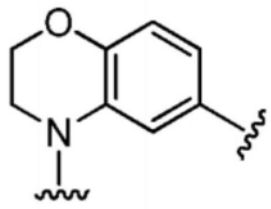
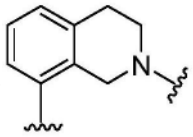
[0850] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，G选自  、  、  、和  ，其中M是氢或带正电的反离子。在特定实施例中，G是  。在特定实施例中，G是SO_3H。

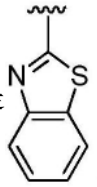
[0851] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，Ar^{2}选自

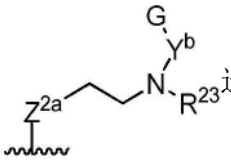
[0852]  、  、  、  、  、和  ，其中#-N(R^{4})-Y^{a}-

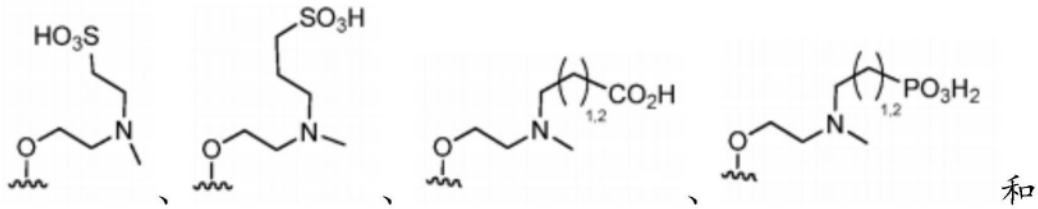
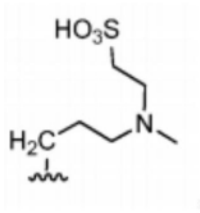
Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能被取代的原子处附接至Ar^2。

[0853] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的特定实施例中，Ar^2是  ，其中#-N(R^4)-Y^a-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能够被取代的原子处附接至Ar^2。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，Ar^2选自

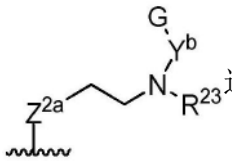
[0854]  、  、  、  、  、  、和  ，其中#-N(R^4)-Y^a-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能被取代的原子处附接至Ar^2。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的特定实施例中，Ar^2是  ，其中#-N(R^4)-Y^a-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能够被取代的原子处附接至Ar^2。

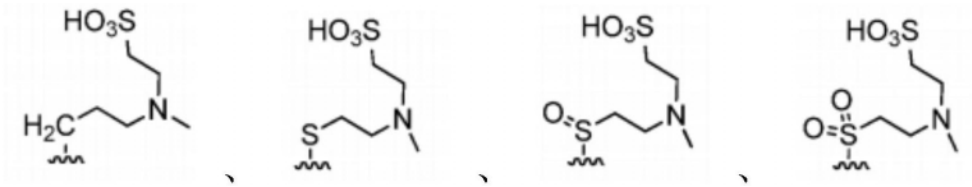
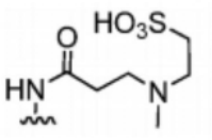
[0855] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，Ar^1是  。

[0856] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的某些实施例中，基团  选自：

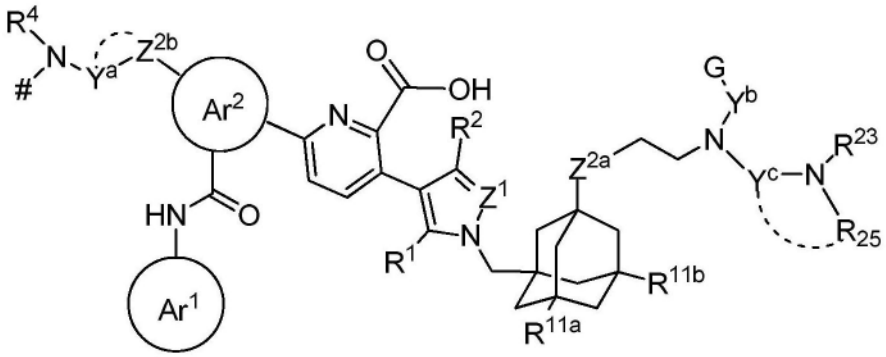
[0857] 

。

[0858] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.1)的化合物的其他实施例中，基团


选自：

[0859] 

。

[0860] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc)的化合物的某些实施例中，该化合物具有结构式(IIc.2)，

[0861] 

(IIc.2)

[0862] 或其盐表示，其中：

[0863] Ar^1、Ar^2、Z^1、Z^{2a}、Z^{2b}、R^1、R^2、R^4、R^{11a}、R^{11b}和#如上所定义；

[0864] Y^a是任选地取代的C_1-C_8亚烷基；

[0865] Y^b是任选地取代的C_1-C_8亚烷基；

[0866] Y^c是任选地取代的C_1-C_8亚烷基；

[0867] R^{23}选自H和C_1-C_4烷基；

[0868] R^{25}是Y^b-G或与Y^c的原子一起形成具有4-6个环原子的环;以及G选自多元醇、PEG4-30、盐、和在生理pH下带电的部分。

[0869] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中,Z^{2a}选自O、CH_2、NH和S。在特定实施例中,Z^{2a}是O。在某些实施例中,式(IIc.2)的Z^{2a}是$CR^{6a}R^{6b}$。在某些实施例中,式(IIc.2)的Z^{2a}是S。在某些实施例中,式(IIc.2)的Z^{2a}是-$NR^6C(O)$-。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中,Z^{2b}选自O、CH_2、NH、NCH_3和S。在特定实施例中,Z^{2b}是O。在特定实施例中,Z^{2b}是NH。在特定实施例中,Z^{2b}是NCH_3。

[0870] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中,Z^{2b}是键。在一些这样的实施例中,Y^a是亚甲基或亚乙基。

[0871] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中,Z^{2b}是NR^6,其中R^6是如上定义的。在一些这样的实施例中,R^6与Y^a的原子一起形成具有3至7之间的环原子的环烷基环或杂环基环。在一些这样的实施例中,该环具有5个原子。

[0872] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中,Y^a是亚乙基。

[0873] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中,Y^a是亚甲基。

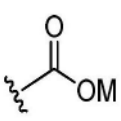
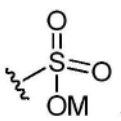
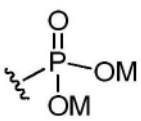
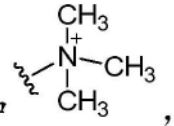
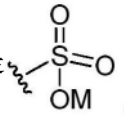
[0874] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中,R^4是H或甲基。

[0875] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中,Y^b是亚乙基或亚丙基。在特定实施例中,Y^b是亚乙基。

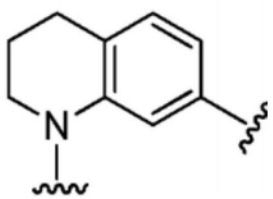
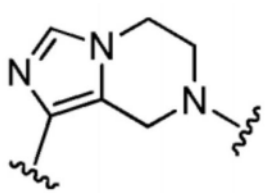
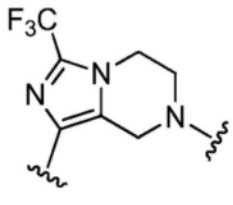
[0876] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中,Y^c是亚乙基或亚丙基。在特定实施例中,Y^b是亚乙基。

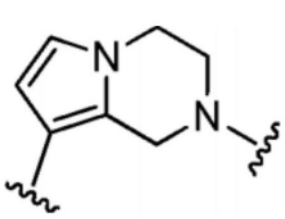
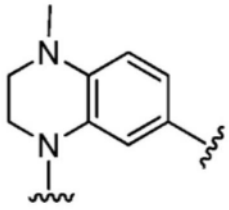
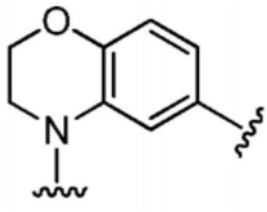
[0877] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中,R^{25}与Y^c的原子一起形成具有4或5个环原子的环。

[0878] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中,R^{23}是甲基。

[0879] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中,G选自  、  、  、和  ,其中M是氢或带正电的反离子。在特定实施例中,G是  。在特定实施例中,G是SO_3H。

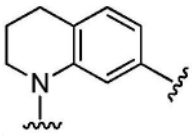
[0880] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中,Ar^2选自

[0881]  、  、  、

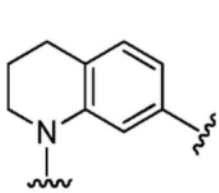
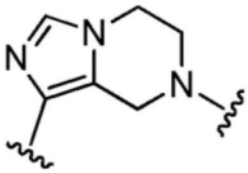
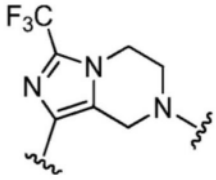
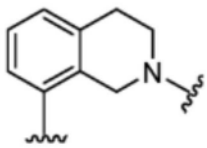
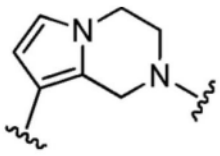
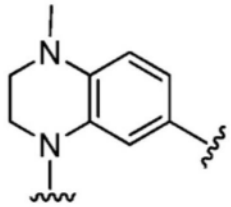
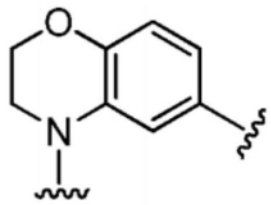
其中#-N(R^4)-Y^a-Z^{2b}-取代基在Ar^{2}的任何能被取代的原子处附接至Ar^2。

[0882] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的特定实施例中，Ar^{2}是

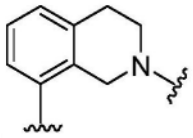


其中#-N(R^4)-Y^a-Z^{2b}-取代基在Ar^{2}的任何能够被取代的原子处附接至Ar^2。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中，Ar^{2}选自

[0883]

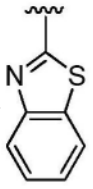








其中#-N(R^4)-Y^a-Z^{2b}-取代基在Ar^{2}的任何能被取代的原子处附接至Ar^2。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的特定实施例中，Ar^{2}是



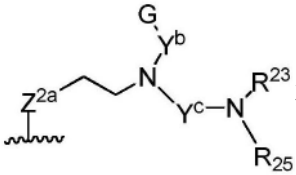
其中#-N(R^4)-Y^a-Z^{2b}-取代基在Ar^{2}的任何能够被取代的原子处附接至Ar^2。

[0884] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中，Ar^{1}是

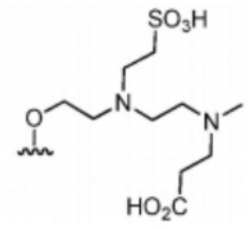


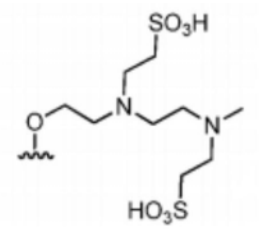
。

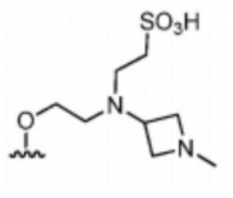
[0885] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IIc.2)的化合物的某些实施例中，基团

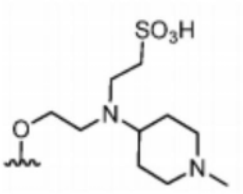


选自：

[0886] 

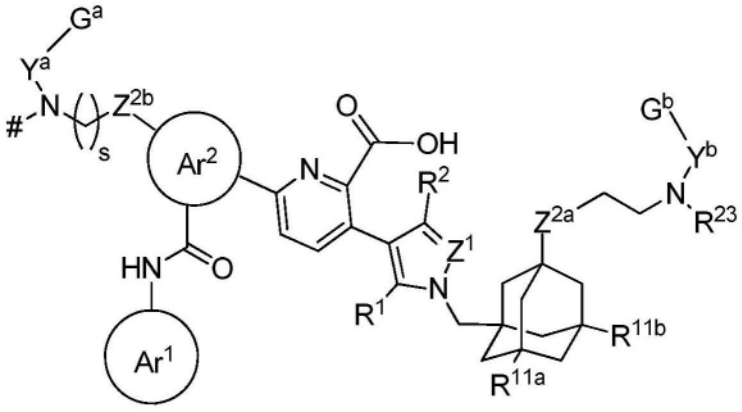
、 

、 

和 

。

[0887] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId)的化合物的某些实施例中,该化合物具有结构式(IId.1),

[0888] 

(IId.1)

[0889] 或其盐表示,其中:

[0890] Ar^1、Ar^2、Z^1、Z^{2a}、Z^{2b}、R^1、R^2、R^{11a}、R^{11b}和#如上所定义;

[0891] Y^a是任选地取代的亚烷基;

[0892] Y^b是任选地取代的亚烷基;

[0893] R^{23}选自H和C_1-C_4烷基;

[0894] G^a选自多元醇、PEG4-30、盐、和在生理pH下带电的部分;

[0895] G^b选自多元醇、PEG4-30、盐、和在生理pH下带电的部分;

[0896] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的某些实施例中,s是1。

[0897] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的某些实施例中,s是2。

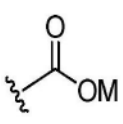
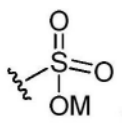
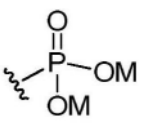
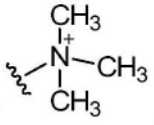
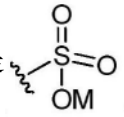
[0898] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的某些实施例中,Z^{2a}选自O、NH、CH_2和S。在特定实施例中,Z^{2a}是O。在某些实施例中,式(IId.1)的Z^{2a}是$CR^{6a}R^{6b}$。在某些实施例中,式(IId.1)的Z^{2a}是S。在某些实施例中,式(IId.1)的Z^{2a}是-$NR^6C(O)$-。

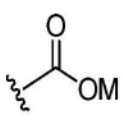
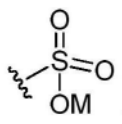
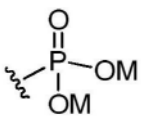
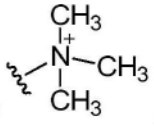
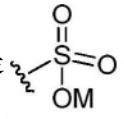
[0899] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的某些实施例中,Z^{2b}选自O、NH、CH_2和S。在特定实施例中,Z^{2b}是O。

[0900] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的某些实施例中,Y^a选自亚乙基、亚丙基和亚丁基。在特定实施例中,Y是亚乙基。

[0901] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的某些实施例中,Y^a选自亚乙基、

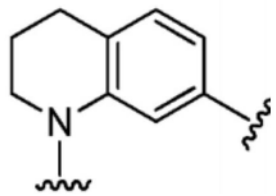
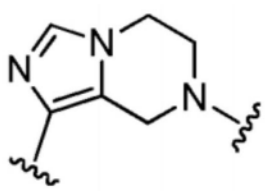
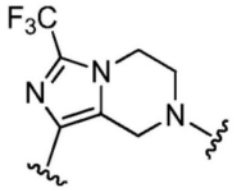
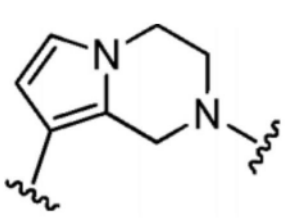
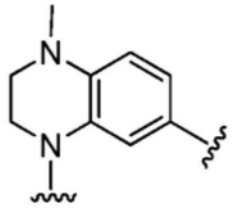
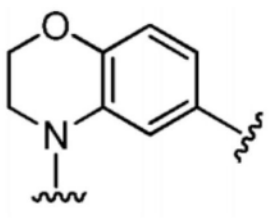
亚丙基和亚丁基。在特定实施例中，Y是亚乙基。

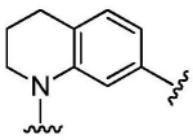
[0902] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的某些实施例中，G^a选自    和  ，其中M是氢或带正电的反离子。在特定实施例中，G^a是  。在特定实施例中，G^a是SO_3H。在特定实施例中，G^a是CO_2H。

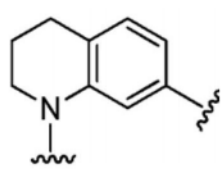
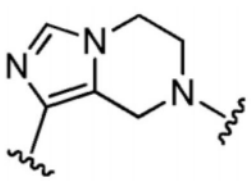
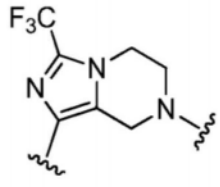
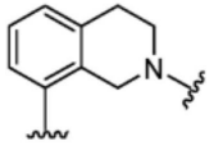
[0903] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的某些实施例中，G^b选自    和  ，其中M是氢或带正电的反离子。在特定实施例中，G^b是  。在特定实施例中，G^b是SO_3H。在特定实施例中，G^b是CO_2H。

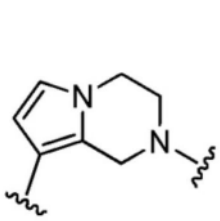
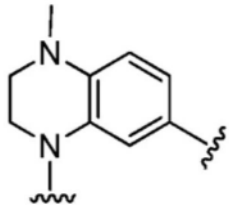
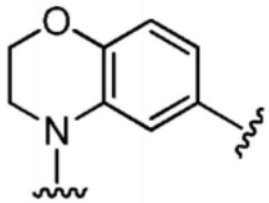
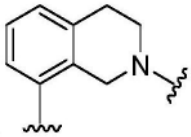
[0904] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的某些实施例中，R^{23}是甲基。

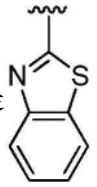
[0905] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的某些实施例中，Ar^2选自

[0906]      和  ，其中G^a-Y^a-N(#)-$(CH_2)_s$-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能被取代的原子处附接至Ar^2。

[0907] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的特定实施例中，Ar^2是  ，其中G^a-Y^a-N(#)-$(CH_2)_s$-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能够被取代的原子处附接至Ar^2。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的某些实施例中，Ar^2选自

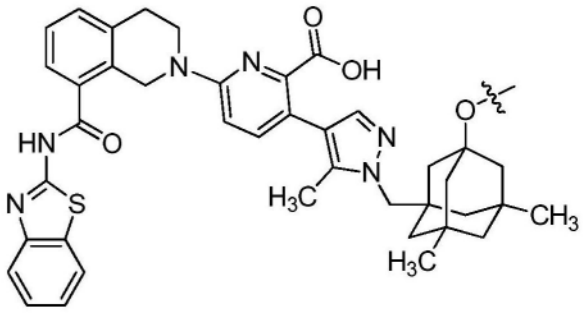
[0908]    


、

、和

，其中G^a-Y^a-N(#)-$(CH_2)_s$-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能被取代的原子处附接至Ar^2。在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的特定实施例中，Ar^2是

其中G^a-Y^a-N(#)-$(CH_2)_s$-Z^{2b}-取代基在Ar^2的任何能够被取代的原子处附接至Ar^2。

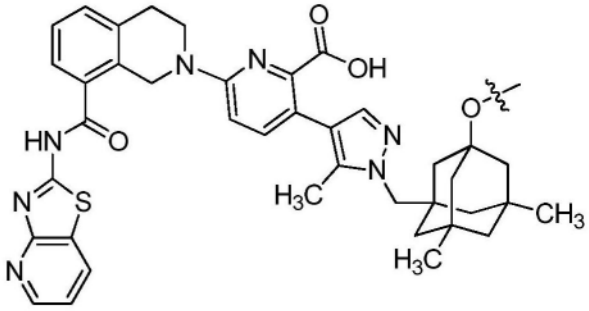
[0909] 在其中Bcl-xL抑制剂是具有式(IId.1)的化合物的某些实施例中，Ar^1是

。

[0910] 在某些实施例中，式(IIa)-(IId)的R^{11a}和R^{11b}是相同的。在特定的实施例中，R^{11a}和R^{11b}各自是甲基。

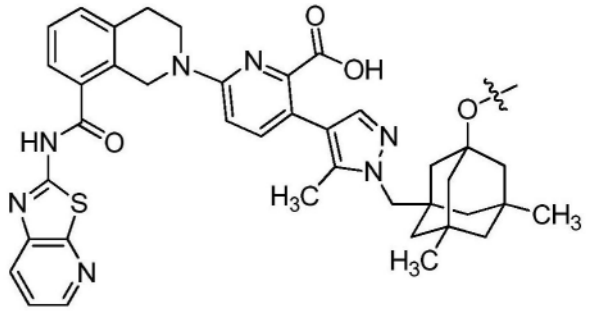
[0911] 在某些实施例中，具有式(IIa)-(IId)的化合物包括下列核心(C.1)-(C.21)之一：

[0912] (C.1)


(C.2)

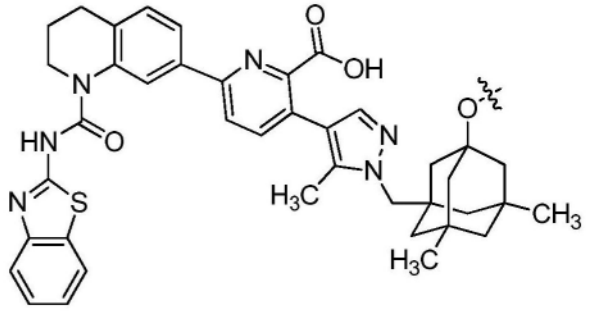


(C.3)

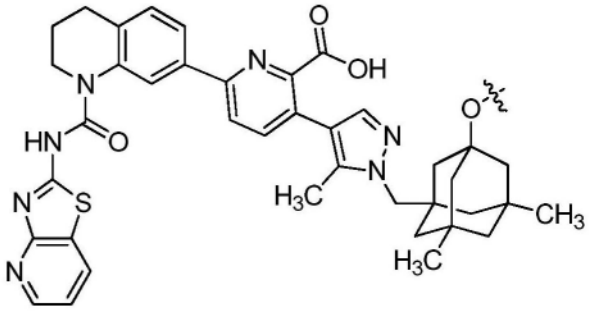


[0913]

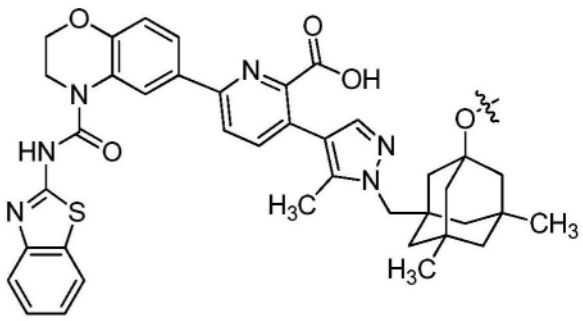
(C.4)



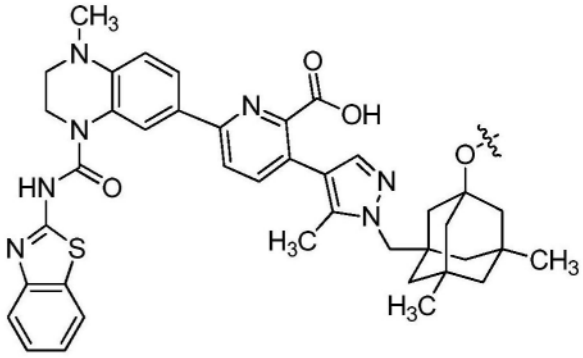
(C.5)



(C.6)

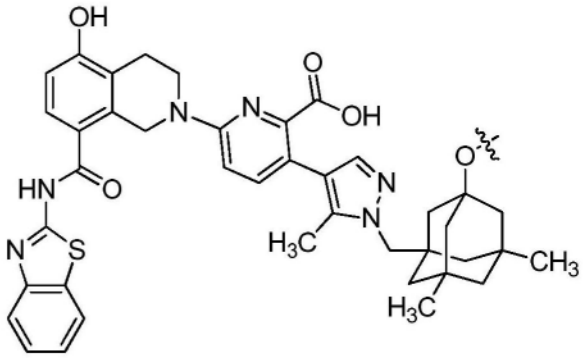


(C.7)

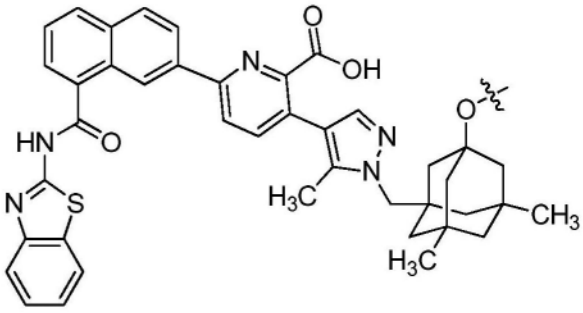


[0914]

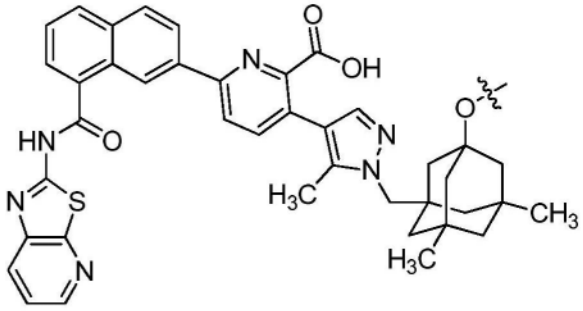
(C.8)



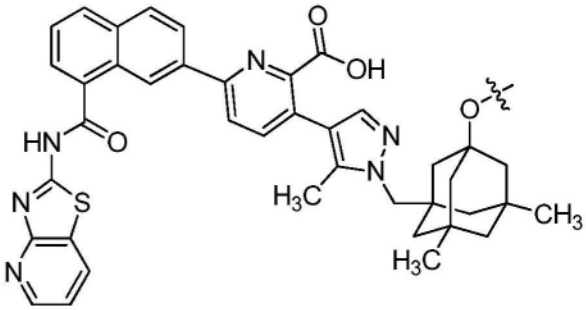
(C.9)



(C.10)

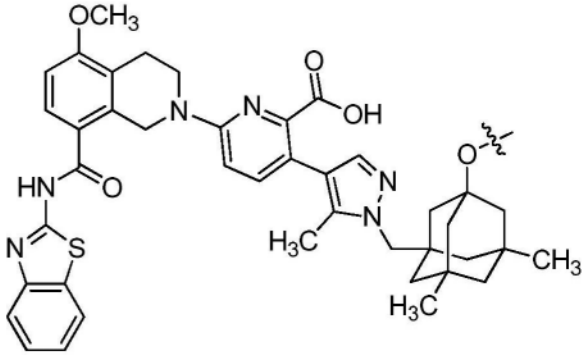


(C.11)

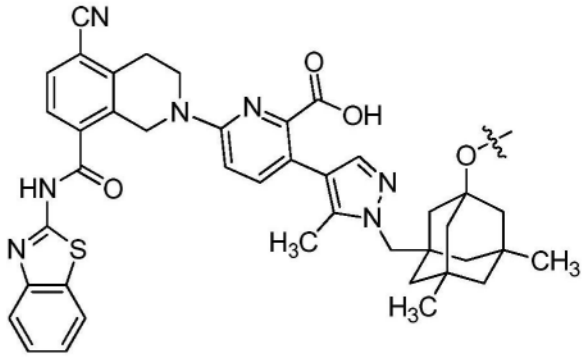


[0915]

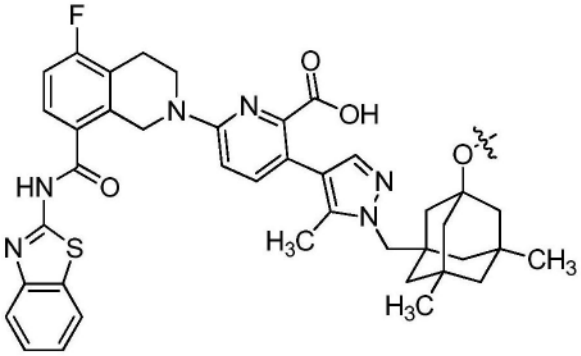
(C.12)



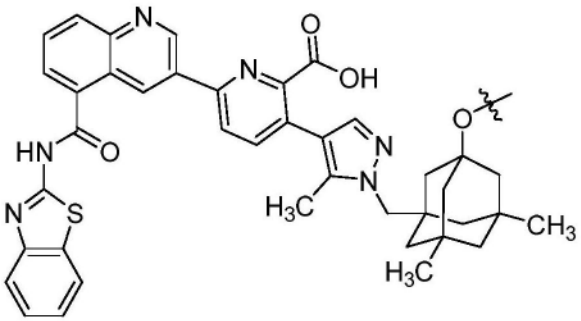
(C.13)



(C.14)

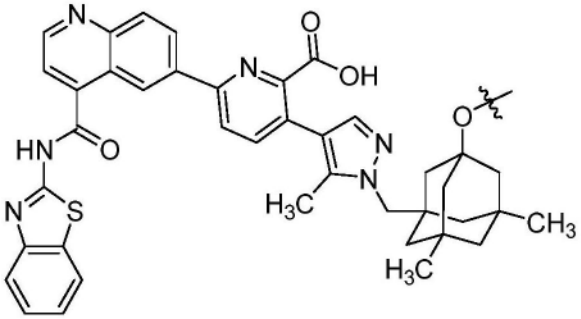


(C.15)

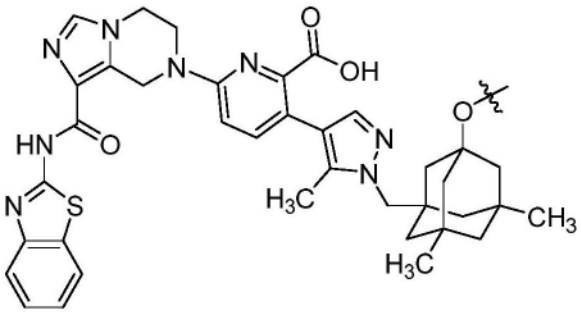


[0916]

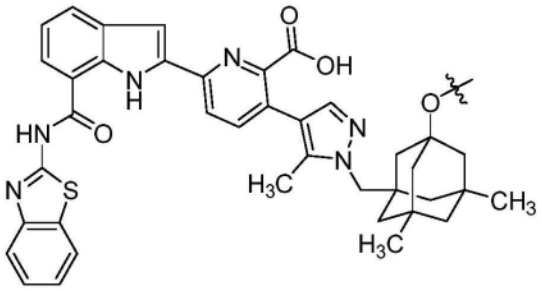
(C.16)



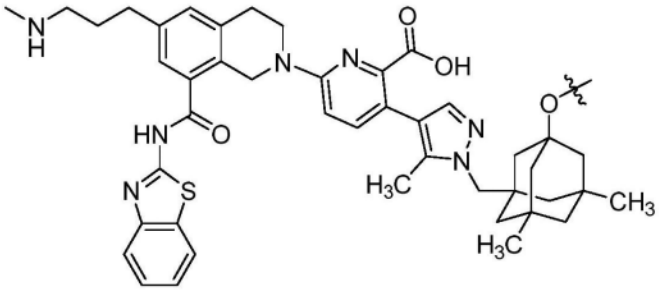
(C.17)



(C.18)

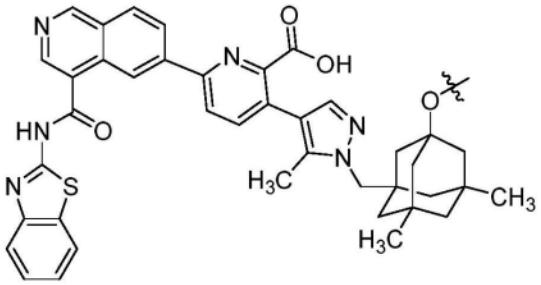


(C.19)

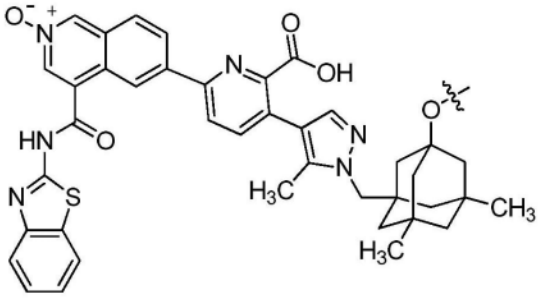


[0917]

(C.20)



(C.21)



[0918] 可以在本文描述的方法中以非偶联形式使用和/或包括在本文描述的ADC中的根据结构式(IIa)-(IId)的示例性Bcl-xL抑制剂包括以下化合物、和/或其盐：

[0919]

应用实例编号	Bcl-xL抑制剂化合物编号
1.1	W2.01
1.2	W2.02
1.3	W2.03
1.5	W2.05
1.6	W2.06
1.7	W2.07

1.8	W2.08
1.9	W2.09
1.10	W2.10
1.11	W2.11
1.12	W2.12
1.13	W2.13
1.14	W2.14
1.15	W2.15
1.16	W2.16
1.17	W2.17
1.18	W2.18
1.19	W2.19
1.20	W2.20
1.21	W2.21
1.22	W2.22
1.23	W2.23
1.24	W2.24
1.25	W2.25
1.26	W2.26
1.27	W2.27
1.28	W2.28
1.29	W2.29
1.30	W2.30
1.31	W2.31
1.32	W2.32
1.33	W2.33
1.34	W2.34

应用实例编号	Bcl-xL抑制剂化合物编号
1.35	W2.35
1.36	W2.36
1.37	W2.37
1.38	W2.38
1.39	W2.39
1.40	W2.40
1.41	W2.41
1.42	W2.42
1.43	W2.43
1.44	W2.44
1.45	W2.45

1.46	W2.46
1.47	W2.47
1.48	W2.48
1.49	W2.49
1.50	W2.50
1.51	W2.51
1.52	W2.52
1.53	W2.53
1.54	W2.54
1.55	W2.55
1.56	W2.56
1.57	W2.57
1.58	W2.58
1.59	W2.59
1.60	W2.60
1.61	W2.61
1.62	W2.62
1.63	W2.63
1.64	W2.64
1.65	W2.65
1.66	W2.66
1.67	W2.67

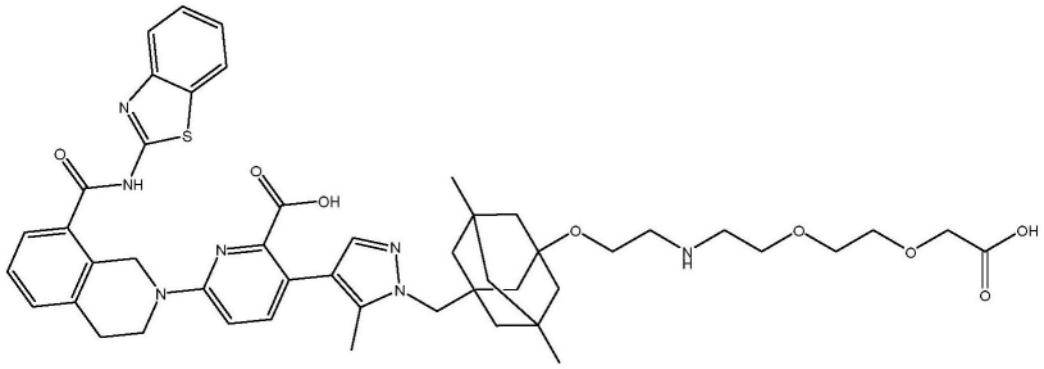
[0920]

应用实例编号	Bcl-xL抑制剂化合物编号
1.68	W2.68
1.69	W2.69
1.70	W2.70
1.71	W2.71
1.72	W2.72
1.73	W2.73
1.74	W2.74
1.75	W2.75
1.76	W2.76
1.77	W2.77
1.78	W2.78
1.79	W2.79
1.80	W2.80
1.81	W2.81
1.82	W2.82
1.83	W2.83

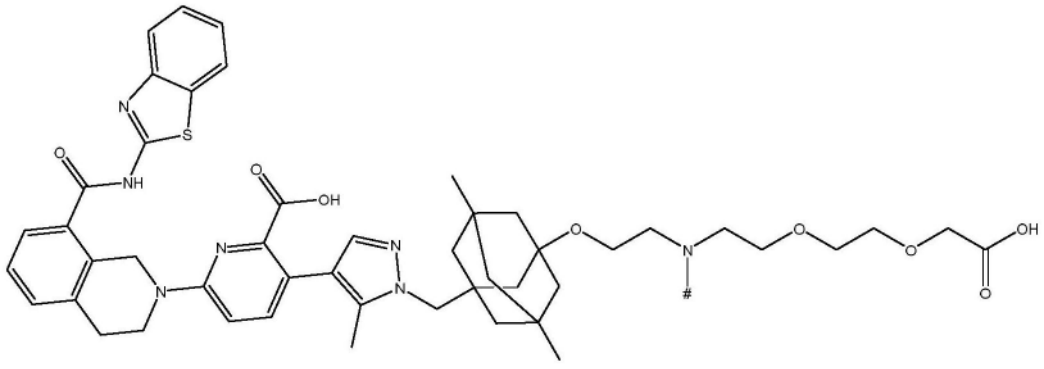
1.84	W2.84
1.85	W2.85
1.86	W2.86
1.87	W2.87
1.88	W2.88
1.89	W2.89
1.90	W2.90
1.91	W2.91

[0921] 值得注意的是，当本申请的Bcl-xL抑制剂呈偶联形式时，对应于结构式(IIa)-(IId)的#位置的氢不存在，形成单价基团。例如，化合物W2.01(实例1.1)是6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({2-[2-(羧基甲氧基)乙氧基]乙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸。

[0922] 当它是非偶联形式时，它具有以下结构：

[0923] 

[0924] 当如结构式(IIa)或(IIb)中所示的ADC中包含相同化合物时，不存在对应于#位的氢，形成单价基团。

[0925] 

[0926] 在某些实施例中，根据结构式(IIa)-(IId)的Bcl-xL抑制剂选自下组，该组由以下组成:W2.01、W2.02、W2.03、W2.04、W2.05、W2.06、W2.07、W2.08、W2.09、W2.10、W2.11、W2.12、W2.13、W2.14、W2.15、W2.16、W2.17、W2.18、W2.19、W2.20、W2.21、W2.22、W2.23、W2.24、W2.25、W2.26、W2.27、W2.28、W2.29、W2.30、W2.31、W2.32、W2.33、W2.34、W2.35、W2.36、W2.37、W2.38、W2.39、W2.40、W2.41、W2.42、W2.43、W2.44、W2.45、W2.46、W2.47、W2.48、W2.49、W2.50、W2.51、W2.52、W2.53、W2.54、W2.55、W2.56、W2.57、W2.58、W2.59、W2.60、W2.61、W2.62、W2.63、W2.64、W2.65、W2.66、W2.67、W2.68、W2.69、W2.70、W2.71、W2.72、

W2.73、W2.74、W2.75、W2.76、W2.77、W2.78、W2.79、W2.80、W2.81、W2.82、W2.83、W2.84、W2.85、W2.86、W2.87、W2.88、W2.89、W2.90、和W2.91，或其药学上可接受的盐。

[0927] 在某些实施例中，ADC或其药学上可接受的盐包含通过接头与抗体连接的药物，其中该药物是选自下组的Bcl-xL抑制剂，该组由以下组成：W2.01、W2.02、W2.03、W2.04、W2.05、W2.06、W2.07、W2.08、W2.09、W2.10、W2.11、W2.12、W2.13、W2.14、W2.15、W2.16、W2.17、W2.18、W2.19、W2.20、W2.21、W2.22、W2.23、W2.24、W2.25、W2.26、W2.27、W2.28、W2.29、W2.30、W2.31、W2.32、W2.33、W2.34、W2.35、W2.36、W2.37、W2.38、W2.39、W2.40、W2.41、W2.42、W2.43、W2.44、W2.45、W2.46、W2.47、W2.48、W2.49、W2.50、W2.51、W2.52、W2.53、W2.54、W2.55、W2.56、W2.57、W2.58、W2.59、W2.60、W2.61、W2.62、W2.63、W2.64、W2.65、W2.66、W2.67、W2.68、W2.69、W2.70、W2.71、W2.72、W2.73、W2.74、W2.75、W2.76、W2.77、W2.78、W2.79、W2.80、W2.81、W2.82、W2.83、W2.84、W2.85、W2.86、W2.87、W2.88、W2.89、W2.90、和W2.91。

[0928] 在某些实施例中，ADC、或其药学上可接受的盐，Bcl-xL抑制剂选自由以下化合物组成的组，对这些化合物的修饰在于：在对应于结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)或(IId)的#位置的氢不存在，从而形成单价基团：

[0929] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({2-[2-(羧基甲氧基)乙氧基]乙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸；

[0930] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0931] 2-{[(2-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}乙基)磺酰基]氨基}-2-脱氧-D-吡喃葡萄糖；

[0932] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(4-{[(3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基]甲基}苄基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[0933] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0934] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2,3-二羟基丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0935] 2-({[4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}甲基)苯基]磺酰基}氨基)-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖；

[0936] 8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-{6-羧基-5-[1-({3-[2-({2-[1-(β-D-吡

喃葡糖醛酸基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]乙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-基}-1,2,3,4-四氢异喹啉;

[0937] 3-[1-({3-[2-(2-{[4-(β-D-别吡喃糖基氧基)苄基]氨基}乙氧基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0938] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-(2-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[0939] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-膦酰基乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0940] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0941] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0942] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0943] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-(2-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[0944] 3-{1-[(3-{2-[L-α-天冬氨酰(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0945] 6-{4-[({2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙基}[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基)甲基]苄基}-2,6-脱水-L-古洛糖酸;

[0946] 4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}甲基)苯基己吡喃糖醛酸;

[0947] 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-膦酰基乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0948] 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0949] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0950] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0951] 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0952] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0953] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0954] 3-{1-[(3-{2-[D-α-天冬氨酰(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0955] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[1-(羧甲基)哌啶-4-基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[0956] N-[(5S)-5-氨基-6-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基}-6-氧代己基]-N,N-二甲基甲铵;

[0957] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[哌啶-4-基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0958] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;

[0959] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[N-(2-羧乙基)-L-α-天冬氨酰]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[0960] 3-{1-[(3-{2-[(2-氨乙基)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0961] 6-[5-(2-氨基乙氧基)-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;

[0962] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0963] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0964] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺基-L-丙氨酰)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0965] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[{2-[(2-羧乙基)氨基]乙基}(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0966] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸；

[0967] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸；

[0968] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸；

[0969] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-羧基丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0970] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0971] 3-{1-[(3-{2-[L-α-天冬氨酰(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸；

[0972] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(1,3-二羟基丙烷-2-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0973] 6-[5-(2-氨基乙氧基)-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0974] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0975] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基){2-[(2-磺乙基)氨基]乙基}氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0976] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0977] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸；

[0978] 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-1,4-苯并噁嗪-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0979] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-磺基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸；

[0980] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸；

[0981] 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]吡啶-2-甲酸；

[0982] (1ξ)-1-({2-[5-(1-{[3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-羧基吡啶-2-基]-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基}甲基)-1,5-脱水-D-葡萄糖醇；

[0983] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-羧基丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0984] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[0985] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[4-(β-D-吡喃葡糖基氧基)苄基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸；

[0986] 3-(1-{[3-(2-{[4-(β-D-别吡喃糖基氧基)苄基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸；

[0987] 3-{1-[(3-{2-[氮杂环丁-3-基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸；

[0988] 3-{1-[(3-{2-[(3-氨基丙基)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸;

[0989] 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0990] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(N^6,N^6-二甲基-L-赖氨酰基)(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0991] 3-{1-[(3-{2-[(3-氨基丙基)(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸;

[0992] 3-{1-[(3-{2-[氮杂环丁-3-基(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸;

[0993] N^6-(37-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-L-赖氨酰基-N-[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]-L-丙氨酰胺;

[0994] 甲基6-[4-(3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}丙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]-6-脱氧-β-L-吡喃葡萄糖苷;

[0995] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0996] 6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0997] 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0998] 6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[0999] 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[1000] 8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-{6-羧基-5-[1-({3-[2-({3-[1-(β-D-吡

喃葡糖醛酸基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-基}-1,2,3,4-四氢异喹啉;

[1001] 6-[7-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吲哚-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[1002] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-6-[3-(甲氨基)丙基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[1003] 5-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-5-脱氧-D-阿拉伯糖醇;

[1004] 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-1,2-双脱氧-D-阿拉伯-己糖醇;

[1005] 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)异喹啉-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[1006] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[3-羟基-2-(羟甲基)丙基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[1007] 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-1,2-双脱氧-D-赤-戊五醇;

[1008] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-(2-{[(2S,3S)-2,3,4-三羟基丁基]氨基}乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[1009] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(2S,3S,4R,5R,6R)-2,3,4,5,6,7-六羟基庚基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[1010] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[({3-[(1,3-二羟基丙烷-2-基)氨基]丙基}磺酰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[1011] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-{[1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙烷-2-基]氨基}-3-氧丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[1012] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;

[1013] 4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2

(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}甲基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸;

[1014] 3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}丙基β-D-吡喃葡糖苷酸;

[1015] 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-氧化异喹啉-6-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;

[1016] 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙酰胺基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[1017] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-({2-[(2-磺乙基)氨基]乙基}硫烷基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸;以及

[1018] 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{3-[(2-磺乙基)氨基]丙基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[1019] 及其药学上可接受的盐。

[1020] Bcl-xL抑制剂结合并抑制抗凋亡Bcl-xL蛋白,诱导细胞凋亡。根据结构式(IIa)-(IId)的特异性Bcl-xL抑制剂结合并抑制Bcl-xL活性的能力可以在标准结合和活性测定(包括例如描述在Tao等人,2014,ACS Med.Chem.Lett.[ACS药物化学快报],5:1088-1093中的TR-FRET Bcl-xL结合测定)中证实。可用于证实Bcl-xL结合的特异性TR-FRET Bcl-xL结合测定提供于以下实例4中。典型地,作为抑制剂本身以及在本文描述的ADC中是有用的Bcl-xL抑制剂在实例5的结合测定中将展现小于约1nM的K_i,但可以展现显著更低的K_i,例如小于约1、0.1、或甚至0.01nM的K_i。

[1021] Bcl-xL抑制活性还可以在基于细胞的标准细胞毒性测定(例如描述于Tao等人,2014,ACS Med.Chem.Lett.[ACS药物化学快报],5:1088-1093中的FL5.12细胞和Molt-4细胞毒性测定)中证实。可以用于确认能够渗透细胞膜的特异性Bcl-xL抑制剂的Bcl-xL抑制活性的特异性Molt-4细胞细胞毒性测定在下面的实例5和6中提供。通常,这种细胞可渗透的Bcl-xL抑制剂在实施例5和6的Molt-4细胞毒性测定中将表现为小于约500nM的EC_{50},但可显示出显著更低的EC_{50},例如EC_{50}小于约250、100、50、20、10或甚至5nM。

[1022] 由于存在增溶基团,预期本文所述的许多Bcl-xL抑制剂表现出低或非常低的细胞渗透性,因此,由于化合物不能穿过细胞膜,因此在某些细胞试验中不会产生显著活性,包括实施例5和6的Molt-4细胞毒性试验。不能自由穿过细胞膜的化合物的Bcl-xL抑制活性可以在具有透化细胞的细胞试验中得到证实。线粒体外膜透化(MOMP)的过程由Bcl-2家族蛋白控制。具体而言,MOMP由促凋亡Bcl-2家族蛋白Bax和Bak促进,其在活化后在线粒体外膜上寡聚化并形成孔,导致细胞色素c(cyt c)的释放。细胞色素c的释放触发了凋亡小体的形成,其反过来导致胱天蛋白酶活化和使细胞经历程序性细胞死亡的其他事件(参见,Goldstein等人,2005,Cell Death and Differentiation[细胞死亡与分化]12:453-462)。

Bax和Bak的寡聚化作用被抗凋亡Bcl-2家族成员(包括Bcl-2和Bcl-xL)拮抗。在依赖Bcl-xL存活的细胞中,Bcl-xL抑制剂可以引起Bax和/或Bak、MOMP的激活,细胞色素c的释放并导致细胞凋亡的下游事件。细胞色素c释放的过程可以通过细胞的线粒体和细胞质级分的蛋白质印迹来测量,并用作细胞凋亡的代理测量。

[1023] 作为检测具有低细胞渗透性的Bcl-xL抑制剂的Bcl-xL抑制活性和随后释放细胞色素c的手段,可以用在血浆而不是线粒体膜中引起选择性孔形成的试剂处理细胞。具体而言,质膜中的胆固醇/磷脂比率比线粒体膜高得多。结果,用低浓度的胆固醇指导的洗涤剂洋地黄皂苷短暂孵育选择性地使质膜透化而不显著影响线粒体膜。该试剂与胆固醇形成不溶性复合物,导致胆固醇从其正常的磷脂结合位点分离。反过来,这种作用导致在脂质双层中形成约40Å-50Å宽的孔。一旦质膜透化,能够通过洋地黄皂苷啶形成的孔的细胞溶质成分就会被洗掉,包括细胞凋亡细胞中从线粒体释放到胞质溶胶中的细胞色素C(Campos,2006,Cytometry A[血细胞计数A]69(6):515-523)。

[1024] 通常,在实例5和6的Molt-4细胞透化细胞色素c测定中,Bcl-xL抑制剂将产生小于约10nM的EC_{50},尽管这些化合物可显示出显著更低的EC_{50}(例如,小于约5、1或甚至0.5nM)。如实例6中所证明的,具有低或极低细胞渗透性的Bcl-xL抑制剂(在具有非透性细胞的标准Molt-4细胞毒性测定中不显示活性)表现出有效的功能活性,如通过在具有透化细胞的细胞毒性测定中cyt c释放所测量的。除细胞色素c释放外,经历凋亡的线粒体经常丧失其跨膜线粒体膜电位(Bouchier-Hayes等人.,2008,Methods[方法]44(3):222-228)。JC-1是一种阳离子羰花青染料,当线粒体健康时会积聚在线粒体中并发出红色荧光,当线粒体膜受损时会消失(去极化百分比;Smiley等人,1991,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊],88:3671-3675;Reers等人,1991:Biochemistry[生物化学],30:4480-4486)。可以使用荧光计(激发545nm和590nm的发射)在透化细胞中检测到信号损失,因此该信号损失是完全定量的,增强了再现性和通量。通常,在实例5和6的Molt-4细胞透化JC-1测定中,Bcl-xL抑制剂将产生小于约10nM的EC_{50},尽管这些化合物可显示出显著更低的EC_{50}(例如,小于约5、1、0.5或甚至0.05nM)。如实例6中所证明的,具有低或极低细胞渗透性的Bcl-xL抑制剂(在具有非透性细胞的标准Molt-4细胞毒性测定中不显示活性)表现出有效的功能活性,如通过在具有透化细胞的细胞毒性测定中其在JC-1测定中的跨膜线粒体膜电位的损失所测量的。当以ADC形式给予细胞时,低渗透性Bcl-xL抑制剂也显示出有效的活性(参见例如实例8)。

[1025] 尽管许多具有结构式(IIa)-(IId)的Bcl-xL抑制剂选择性地或特异性地抑制Bcl-xL而不是其他抗凋亡Bcl-2家族蛋白,但是对Bcl-xL的选择性和/或特异性抑制不是必需的。除抑制Bcl-xL外,Bcl-xL抑制剂和包含所述化合物的ADC还可以抑制一种或多种其他抗凋亡Bcl-2家族蛋白(例如Bcl-2)。在一些实施例中,Bcl-xL抑制剂和/或ADC对Bcl-xL具有选择性和/或特异性。特异性或选择性是指特定Bcl-xL抑制剂和/或ADC在相同的测定条件下比Bcl-2更大程度地结合或抑制Bcl-xL。在具体的实施例中,Bcl-xL抑制剂和/或ADC在结合测定中表现出对Bcl-xL相比于对Bcl-2约10倍,100倍或甚至更高的特异性或选择性。

[1026] III.A.2.Bcl-xL接头

[1027] 在本文描述的ADC中,将Bcl-xL抑制剂通过接头的方式与抗体连接。将Bcl-xL抑制剂与ADC的抗体连接的接头可以是短的、长的、疏水的、亲水的、柔性的或刚性的,或者可以

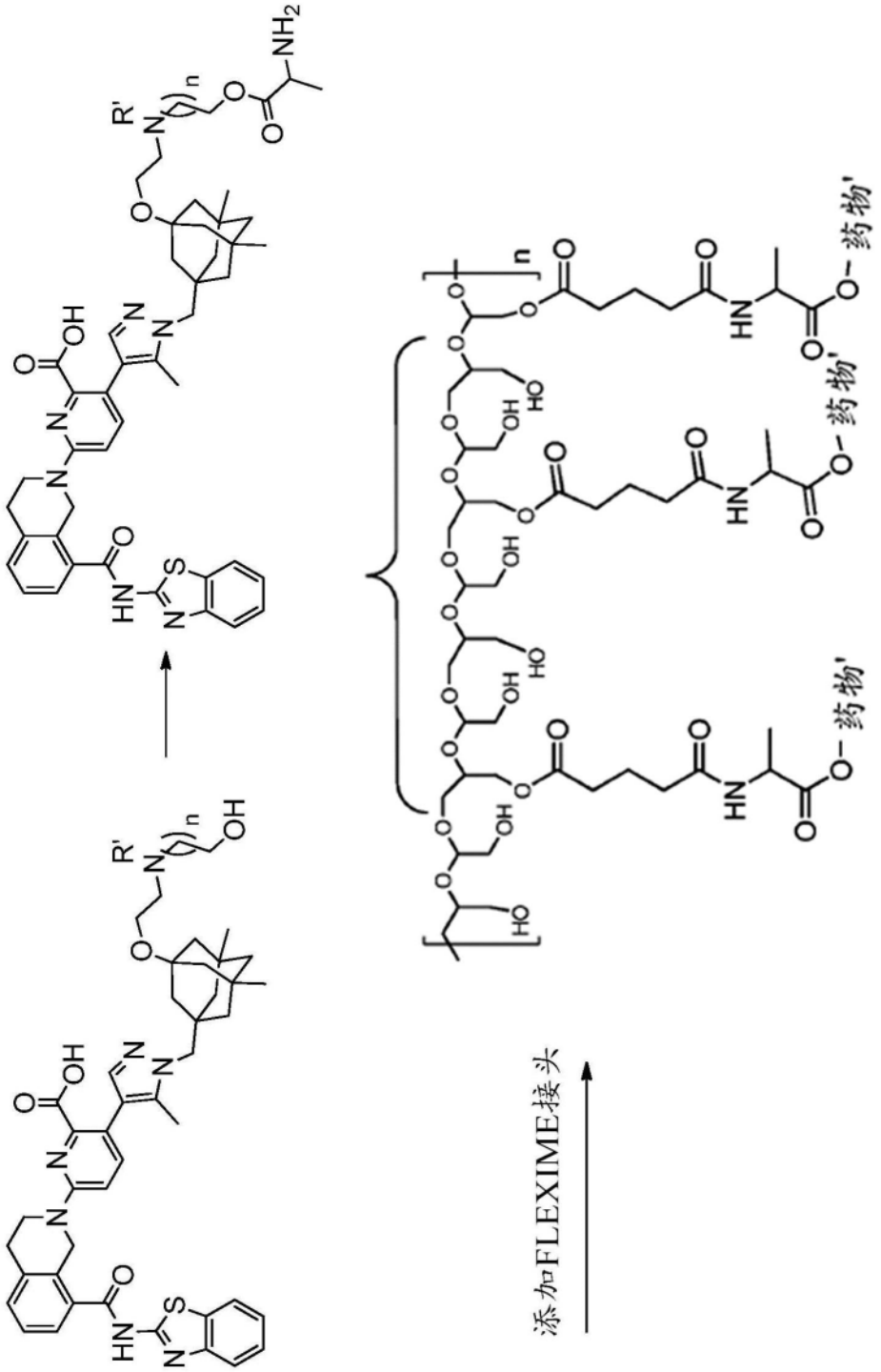
由各自独立地具有一种或多种上述性质的区段组成，使得该接头可包括具有不同特性的区段。接头可以是多价的，使得它们将多于一种Bcl-xL抑制剂共价连接至抗体上的单个位点，或是单价的，使得它们共价地将单个Bcl-xL抑制剂连接至抗体上的单个位点。

[1028] 如技术人员所理解的，接头通过在一个位置与Bcl-xL抑制剂形成共价连接并在另一个位置与抗体形成共价连接来将该Bcl-xL抑制剂与该抗体连接。通过接头上的官能团与抑制剂和抗体上的官能团之间的反应形成共价键。如本文所用，表达“接头”旨在包括(i)该接头的非偶联形式，其包括能够将该接头与Bcl-xL抑制剂共价连接的官能团、和能够将该接头与抗体共价连接的官能团；(ii)接头的部分偶联形式，其包括能够使接头与抗体共价连接并且与Bcl-xL抑制剂共价连接的官能团，或反之亦然；(iii)与Bcl-xL抑制剂和抗体共价连接的完全偶联形式的接头。在本文所述的中间合成子和ADC的一些具体实施例中，在接头上包含官能团的部分和在接头和抗体之间形成的共价键分别具体地说明为R^x和LK。

[1029] 接头优选但不必是对细胞外的条件化学稳定，并且可以设计成在细胞内裂解，消毁和/或以其他方式特异性降解。可替代地，可以使用未设计为在细胞内特异性裂解或降解的接头。在ADC的背景下用于将药物与抗体连接的多种接头是本领域已知的。任何这些接头以及其他接头可用于将Bcl-xL抑制剂与本文所述的ADC的抗体连接。

[1030] 例如，可用于将许多Bcl-xL抑制剂与抗体连接的示例性多价接头描述于，美国专利号8,399,512；美国公开申请号2010/0152725；美国专利号8,524,214；美国专利号8,349,308；美国公开申请号2013/189218；美国公开申请号2014/017265；WO 2014/093379；WO 2014/093394；WO 2014/093640，其各自的内容以全文引用的方式并入本文中。例如，由Mersana等人开发的Fleximer®接头技术有可能使高DAR ADC具有良好的物理化学性质。如下所示，Fleximer®接头技术基于通过一系列酯键将药物分子掺入增溶的聚缩醛主链中。该方法使高负载ADC(DAR高达20)同时保持良好的物理化学性质。该方法可与Bcl-xL抑制剂一起使用，如以下方案中所示。

[1031]



[1032] 为了利用上述方案中描述的Fleximer®接头技术,可以在Bcl-xL抑制剂中存在或引入脂族醇。然后将醇部分与丙氨酸部分偶联,然后将其合成地掺入Fleximer®接头中。体外ADC的脂质体加工释放含母体醇的药物。

[1033] 树枝状接头的其他实例可以在下组中找到,该组由下列各项组成:US 2006/116422;US 2005/271615;de Groot等人,(2003)Angew.Chem.Int.Ed.[应用化学国际版]42:4490-4494;Amir等人,(2003)Angew.Chem.Int.Ed.[应用化学国际版]42:4494-4499;Shamis等人,(2004)J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]126:1726-1731;Sun等人,(2002)Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters[生物有机化学与医药化学通讯]12:2213-

2215;Sun等人,(2003)Bioorganic&Medicinal Chemistry[生物有机化学与医药化学]11:1761-1768;King等人,(2002)Tetrahedron Letters[四面体通讯]43:1987-1990。

[1034] 可以使用的示例性单价接头描述于例如Nolting,2013,Antibody-Drug Conjugates[抗体-药物偶联物],Methods in Molecular Biology[分子生物学方法]1045:71-100;Kitson等人,2013,CROs/CMOs-Chemica Oggi-Chemistry Today[今日化学]31(4):30-36;Ducry等人,2010,Bioconjugate Chem.[生物共轭化学]21:5-13;Zhao等人,2011,J.Med.Chem.[医学化学期刊]54:3606-3623;美国专利号7,223,837;美国专利号8,568,728;美国专利号8,535,678;和WO2004010957,其各自的内容以全文引用的方式并入本文中。

[1035] 作为实例而非限制,下文描述了可包括在本文所述的ADC中的一些可裂解和不可裂解的接头。

[1036] 可裂解接头

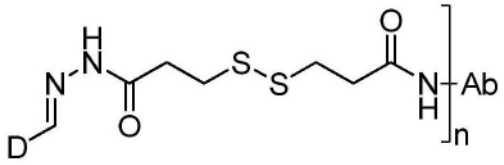
[1037] 在某些实施例中,所选择的接头在体外或体内是可裂解的。可裂解接头可包括化学或酶促不稳定或可降解的键。可裂解接头通常依赖于细胞内的过程来释放药物,例如细胞质中的还原,溶酶体中暴露于酸性条件,或细胞内特定蛋白酶或其他酶的裂解。可裂解接头通常包含一个或多个化学键,其化学或酶促可裂解,而接头的其余部分是不可裂解的。

[1038] 在某些实施例中,接头包含化学不稳定基团,例如腙和/或二硫化物基团。包含化学不稳定基团的接头利用血浆和一些细胞质区室之间的差异性质。促进含腙的接头的药物释放的细胞内条件是内体和溶酶体的酸性环境,而含有二硫化物的接头在含有高硫醇浓度例如谷胱甘肽的细胞溶质中被还原。在某些实施例中,可以通过使用化学不稳定基团附近的取代基引入空间位阻来增加包含化学不稳定基团的接头的血浆稳定性。

[1039] 酸性不稳定基团,如腙,在血液中性pH环境(pH 7.3-7.5)的全身循环过程中保持完整,并在ADC内化进入细胞的轻度酸性内体(pH 5.0-6.5)和溶酶体(pH 4.5-5.0)隔室后进行水解并释放药物。这种pH依赖性释放机制与药物的非特异性释放有关。为了增加接头的腙基团的稳定性,可以通过化学修饰,例如取代改变接头,允许调节以在溶酶体中实现更有效的释放,同时使循环损失最小化。

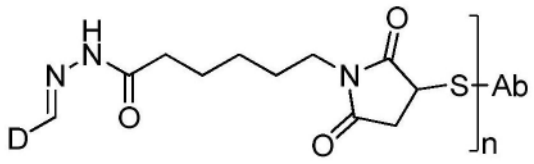
[1040] 含腙的接头可含有另外的裂解位点,例如另外的酸不稳定裂解位点和/或酶促不稳定的裂解位点。包括示例性含腙的接头的ADC包括以下结构:

(Ig)

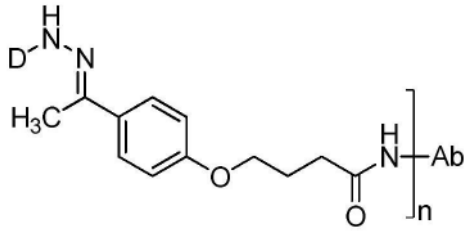


[1041]

(Ih)



[1042] (Ii)



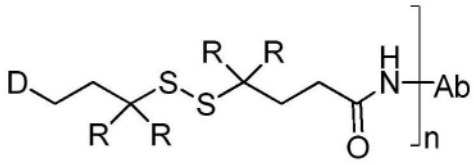
[1043] 其中D和Ab分别代表药物和Ab，并且n代表与抗体连接的药物-接头的数量。在某些接头(如接头(Ig))中，接头包含两个可裂解的基团-二硫化物和腙部分。对于这样的接头，未经修饰的游离药物的有效释放需要酸性pH或二硫化物还原和酸性pH。如(Ih)和(Ii)的接头已经显示出对单个腙裂解位点有效。

[1044] 可以包括在接头中的其他酸不稳定基团包括含有顺式-乌头草基的接头。顺式-乌头草基化学物使用与酰胺键并置的羧酸以加速酰胺在酸性条件下的水解。

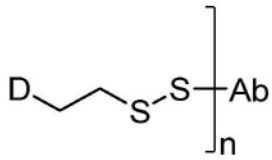
[1045] 可裂解接头也可包括二硫化物基团。二硫化物在生理pH下是热力学稳定的，并且被设计成在细胞中内化后释放药物，其中细胞质提供与细胞外环境相比显著更具还原性的环境。二硫键的断裂通常需要存在细胞质硫醇辅因子，例如(还原的)谷胱甘肽(GSH)，使得含二硫化物的接头在循环中合理稳定，选择性地释放细胞溶质中的药物。细胞内酶蛋白质二硫化物异构酶或能够裂解二硫键的类似酶也可能有助于优先裂解细胞内的二硫键。据报道，GSH在浓度范围为0.5-10mM的细胞中存在，而循环中的GSH或半胱氨酸(最丰富的低分子量硫醇)的浓度显著更低，为约5μM。肿瘤细胞，其中不规则的血流导致缺氧状态，导致还原酶的活性增强，因此甚至更高的谷胱甘肽浓度。在某些实施例中，含二硫化物的接头的体内稳定性可以通过接头的化学修饰来增强，例如，使用与二硫键相邻的空间位阻。

[1046] 包括示例性含二硫化物的接头的ADC包括以下结构：

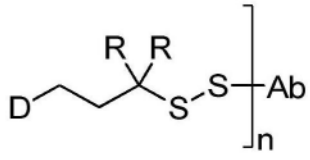
(Ij)



[1047] (Ik)



(Il)



[1048] 其中D和Ab分别代表药物和抗体，n代表与抗体连接的药物-接头的数量，并且R在每次出现时独立地选自，例如氢或烷基。在某些实施例中，增加与二硫键相邻的空间位阻增加了接头的稳定性。当一个或多个R基团选自低级烷基如甲基时，诸如(Ij)和(Il)的结构显示出增加的体内稳定性。

[1049] 可以使用的另一种类型的接头是被酶特异性裂解的接头。此类接头通常是基于肽的或包括充当酶的底物的肽区域。与化学不稳定的接头相比，基于肽的接头在血浆和细胞外环境中往往更稳定。肽键通常具有良好的血清稳定性，因为溶酶体蛋白水解酶由于内源性抑制剂与溶酶体相比血液的不利的高pH值而在血液中具有非常低的活性。发生从抗体释放药物，特别是由于溶酶体蛋白酶(例如组织蛋白酶和纤溶酶)的作用。这些蛋白酶可以在某些肿瘤组织中以升高的水平存在。在某些实施例中，接头可被溶酶体酶裂解。在某些实施例中，接头可被溶酶体酶裂解，并且该溶酶体酶是组织蛋白酶B。在某些实施例中，接头可被溶酶体酶裂解，并且该溶酶体酶是β-葡糖醛酸糖苷酶或β-半乳糖苷酶。在某些实施例中，接头可被溶酶体酶裂解，并且该溶酶体酶是β-葡糖醛酸糖苷酶。在某些实施例中，接头可被溶酶体酶裂解，并且该溶酶体酶是β-半乳糖苷酶。

[1050] 本领域技术人员认识到可裂解接头的重要性，所述接头对血浆稳定，但易被溶酶体酶裂解。在某些实施例中，本文公开了能被溶酶体酶(β-葡糖醛酸糖苷酶或β-半乳糖苷酶)裂解的接头，其显示出改善的血浆稳定性和小分子药物的减少的非特异性释放。

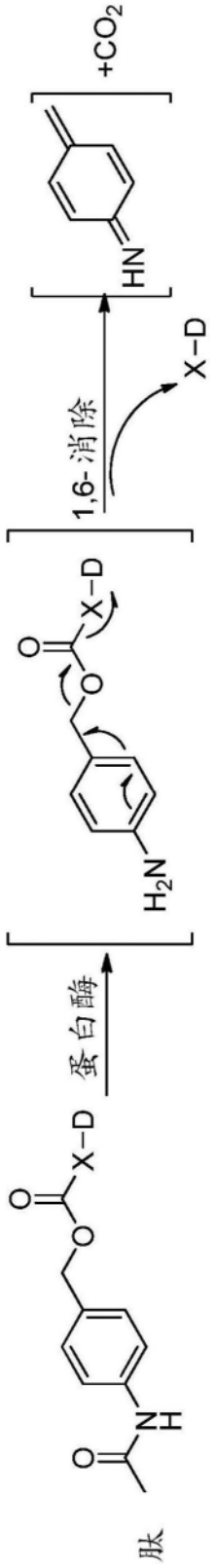
[1051] 在示例性实施例中，可裂解肽选自四肽，例如Gly-Phe-Leu-Gly、Ala-Leu-Ala-Leu，或二肽，例如Val-Cit、Val-Ala、和Phe-Lys。在某些实施例中，由于较长肽的疏水性，二肽优于较长的多肽。

[1052] 已经描述了多种基于二肽的可裂解接头，其用于将诸如阿霉素、丝裂霉素、喜树碱、他利霉素和澳瑞他汀(auristatin/auristatin)家族成员的药物连接到抗体上(参见，Dubowchik等人，1998，J.Org.Chem.[有机化学杂志]67:1866-1872；Dubowchik等人，1998，Bioorg.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学]8:3341-3346；Walker等人，2002，Bioorg.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学]12:217-219；Walker等人，2004，Bioorg.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学]14:4323-4327；和Francisco等人，2003，Blood[血液]102:1458-1465，特此将它们各自的全部内容通过引用结合在此)。所有这些二肽接头或这些二肽接头的修饰形式可用于本文所述的ADC中。可以使用的其他二肽接头包括在以下ADC中发现的那些，例如西雅图遗传本妥昔单抗(Seattle Genetics' Brentuximab)Vendotin SGN-35(Adcetris™)、西雅图遗传(Seattle Genetics)SGN-75(抗CD-70，MC-一甲基澳瑞他汀F(MMAF)、Celldex Therapeutics glembatumumab(CDX-011)(抗NMB、Val-Cit-一甲基澳瑞他汀E(MMAE)和细胞分裂素PSMA-ADC(PSMA-ADC-1301)(抗-PSMA，Val-Cit-MMAE)。

[1053] 酶促可裂解的接头可包括自消间隔子，以在空间上将药物与酶促裂解位点分开。药物与肽接头的直接附接可导致药物的氨基酸加合物的蛋白水解释放，从而损害其活性。使用自消的间隔子允许在酰胺键水解后消除完全活性的化学未修饰的药物。

[1054] 一种自消间隔子是双功能对位-氨基苄醇基团，其通过氨基与肽连接，形成酰胺键，而含胺的药物可通过氨基甲酸酯官能团连接至接头的苄基羟基(得到p-酰胺基苄基氨基甲酸酯(PABC))。所得前药在蛋白酶介导的裂解后被激活，导致1,6-消除反应，释放未经修饰的药物、二氧化碳和接头基团的剩余物。以下方案描述了p-氨基苄基氨基甲酸酯的片段化和药物的释放：

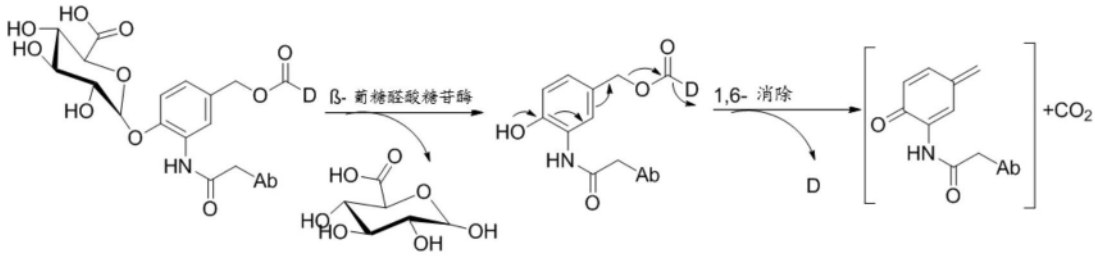
[1055]



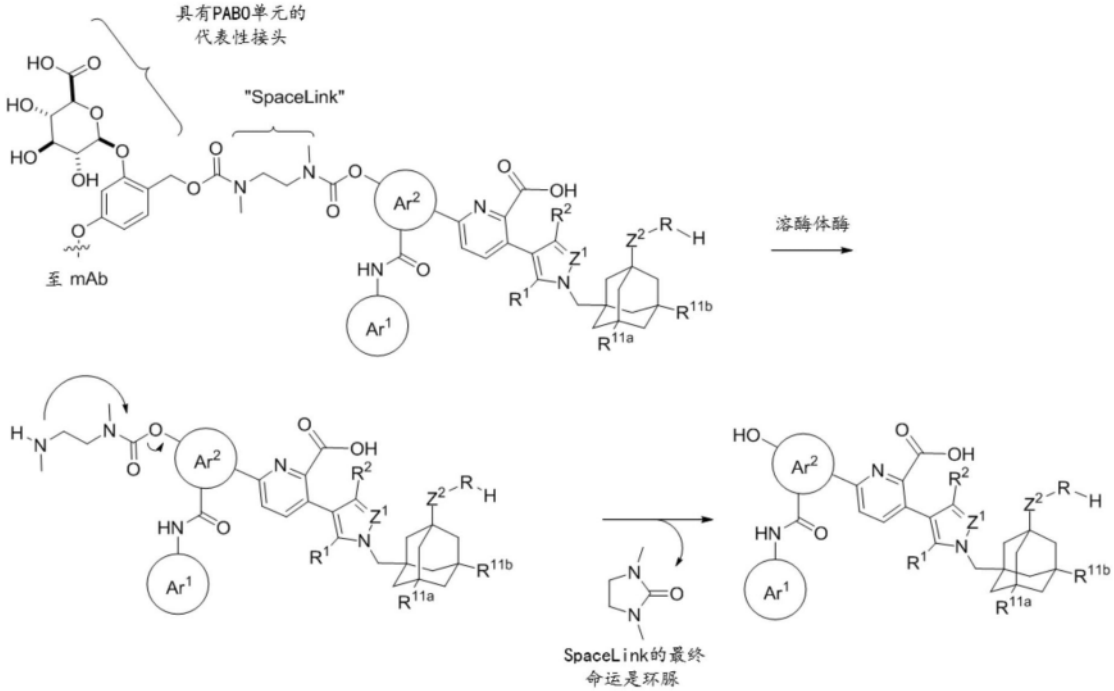
[1056] 其中X-D代表未修饰的药物。还描述了这种自消基团的杂环变体。参见美国专利号7,989,434。

[1057] 在某些实施例中,酶促可裂解的接头是基于β-葡糖醛酸的接头。通过溶酶体酶β-葡糖醛酸糖苷酶裂解β-葡糖苷酸糖苷键可以实现药物的轻松释放。该酶大量存在于溶酶体内,并且在一些肿瘤类型中过表达,而细胞外的酶活性低。基于β-葡萄糖醛酸的接头可用于

避免由于β-葡糖苷酸的亲水性而导致ADC发生聚集的趋势。在某些实施例中，基于β-葡糖醛酸的接头优选作为与疏水性药物连接的ADC的接头。以下方案描述了含有基于β-葡萄糖醛酸的接头的药物和ADC的释放：

[1058] 

[1059] 已经描述了多种可裂解的基于β-葡萄糖醛酸的接头，用于将诸如澳瑞他汀、喜树碱和多柔比星类似物、CBI小沟结合物和普赛博林(psymberin)等药物与抗体连接(参见Jeffrey等人，2006，Bioconjug.Chem.[生物共轭化学]17:831-840；Jeffrey等人，Bioorg.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学]17:2278-2280；和Jiang等人，2005，J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]127:11254-11255，其中的每一个的内容通过引用并入本文)。所有这些基于β-葡糖醛酸的接头均可用于本文所述的ADC中。在某些实施例中，酶促可裂解的接头是基于β-半乳糖苷的接头。β-半乳糖苷大量存在于溶酶体内，而细胞外的酶活性很低。此外，含有苯酚基团的Bcl-xL抑制剂可以通过酚羟基氧共价地键合至接头。一个此类接头(描述在美国专利申请号2009/0318668中)依赖于一种方法，其中二氨基乙烷“空间连接”与传统的基于“PABO”自身免疫基团一起使用以递送酚。下文使用本公开的Bcl-xL抑制剂示意性地描绘了接头的裂解。

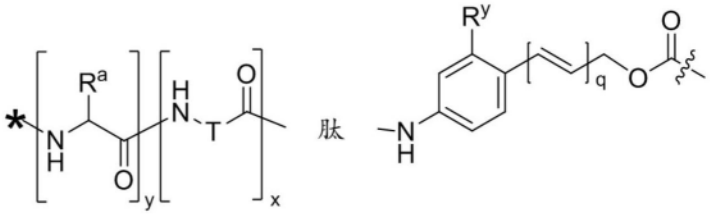
[1060] 

[1061] 可裂解接头可包括不可裂解的部分或区段，和/或可裂解的区段或部分可包含在否则不可裂解的接头中以使其可裂解。仅举例来说，聚乙二醇(PEG)和相关聚合物可包括聚合物主链中的可裂解基团。例如，聚乙二醇或聚合物接头可包括一个或多个可裂解基团，例如二硫化物、腙或二肽。

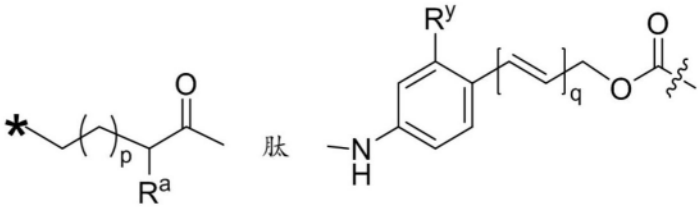
[1062] 可以包括在接头中的其他可降解键包括通过PEG羧酸或激活的PEG羧酸与生物活性剂上的醇基反应形成的酯键，其中这些酯基通常在生理条件下水解以释放生物活性剂。可水解降解的键包括但不限于碳酸酯键；由胺和醛反应得到的亚胺键；通过醇与磷酸基团反应形成的磷酸酯键；作为醛和醇的反应产物的缩醛键；作为甲酸酯和醇的反应产物的原酸酯键；和由亚磷酰胺基团(包括但不限于在聚合物末端)和寡核苷酸的5'羟基形成的寡核苷酸键。

[1063] 在某些实施例中，接头包含酶促可裂解的肽部分，例如，包含结构式(IVa)、(IVb)、(IVc)、或(IVd)的接头：

(IVa)

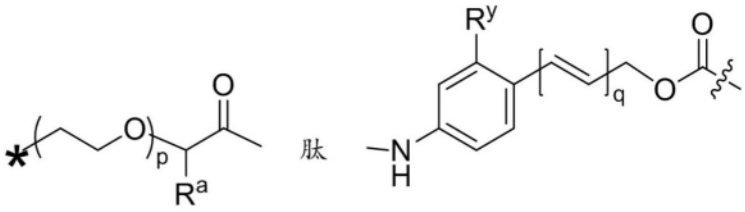


(IVb)

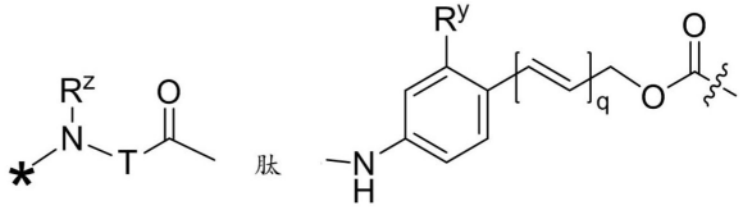


[1064]

(IVc)



(IVd)



[1065] 或其药学上可接受的盐，其中：

[1066] 肽代表可被溶酶体酶裂解的肽(示例为N→C，其中肽包括氨基和羧基"末端")；

[1067] T代表包含一个或多个乙二醇单元或亚烷基链或其组合的聚合物；

[1068] R^a选自氢、C_{1-6}烷基、SO_3H和CH_2SO_3H；

[1069] R^y是氢或C_{1-4}烷基-(O)$_r$-(C_{1-4}亚烷基)$_s$-G^1或C_{1-4}烷基-(N)-[(C_{1-4}亚烷基)-G^1]$_2$；

[1070] R^z是C_{1-4}烷基-(O)$_r$-(C_{1-4}亚烷基)$_s$-G^2；

[1071] G^1是SO_3H、CO_2H、PEG 4-32、或糖部分；

[1072] G^2是SO_3H、CO_2H、或PEG 4-32部分；

[1073] r是0或1；

[1074] s是0或1；

[1075] p是范围从0至5的整数；

[1076] q是0或1；

[1077] x是0或1；

[1078] y是0或1；

[1079] 代表该接头与该Bcl-xL抑制剂的附接点；以及

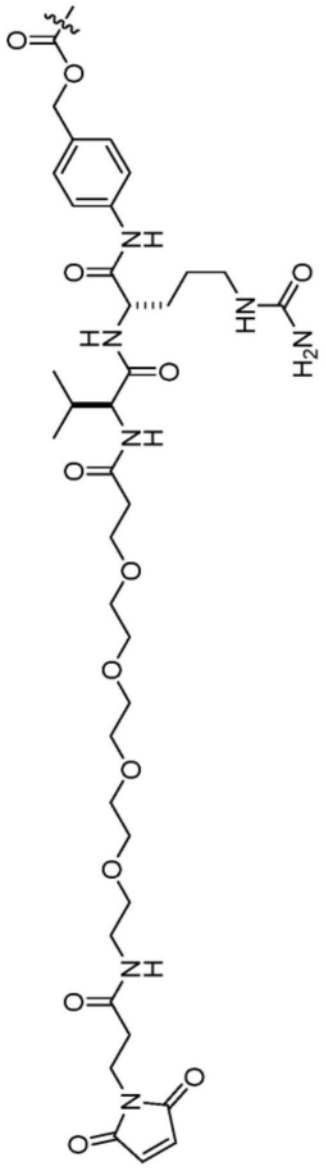
[1080] *代表与该接头的其余部分的附接点。

[1081] 在某些实施例中，接头包含酶促可裂解的肽部分，例如，包含结构式(IVa)、(IVb)、(IVc)、或(IVd)的接头或其药学上可接受的盐。

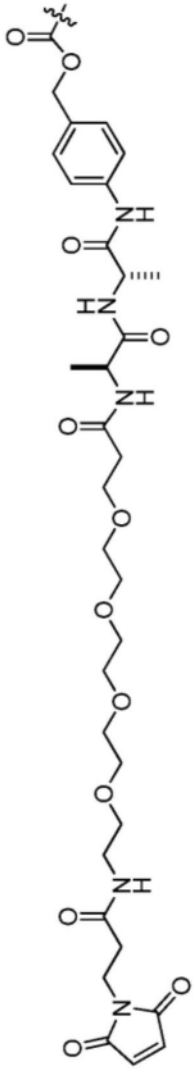
[1082] 在某些实施例中，肽选自三肽或二肽。在特定实施例中，二肽选自：Val-Cit；Cit-Val；Ala-Ala；Ala-Cit；Cit-Ala；Asn-Cit；Cit-Asn；Cit-Cit；Val-Glu；Glu-Val；Ser-Cit；Cit-Ser；Lys-Cit；Cit-Lys；Asp-Cit；Cit-Asp；Ala-Val；Val-Ala；Phe-Lys；Lys-Phe；Val-Lys；Lys-Val；Ala-Lys；Lys-Ala；Phe-Cit；Cit-Phe；Leu-Cit；Cit-Leu；Ile-Cit；Cit-Ile；Phe-Arg；Arg-Phe；Cit-Trp；和Trp-Cit；或其药学上可接受的盐。

[1083] 可以包括在本文描述的ADC中的根据结构式(IVa)的接头的示例性实施例包括以下说明的接头(如所示，这些接头包括适合于将接头与抗体共价连接的基团)：

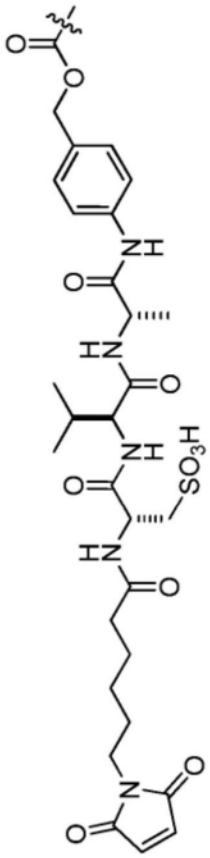
[1084]



(IVa.1)

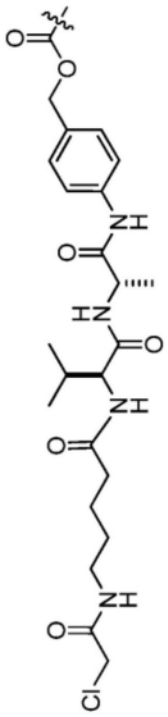


(IVa.2)

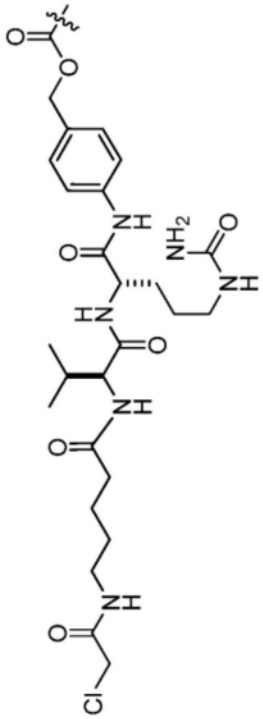


(IVa.3)

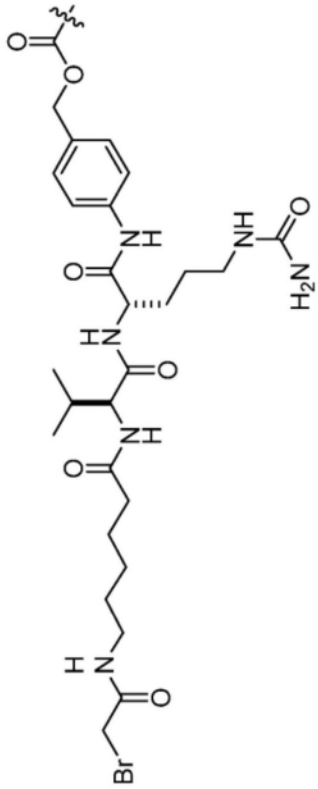
[1085]



(IVa.4)

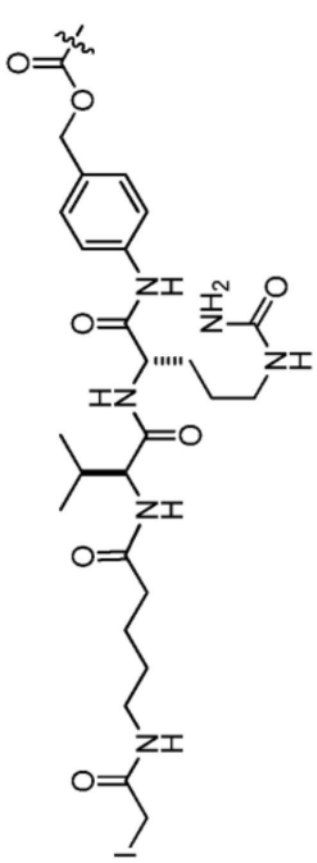


(IVa.5)

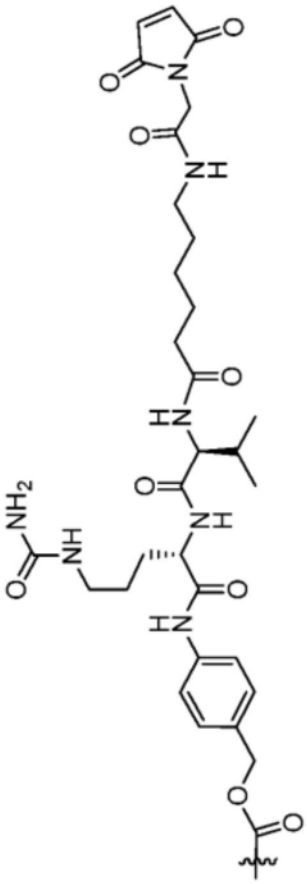


(IVa.6)

[1086]



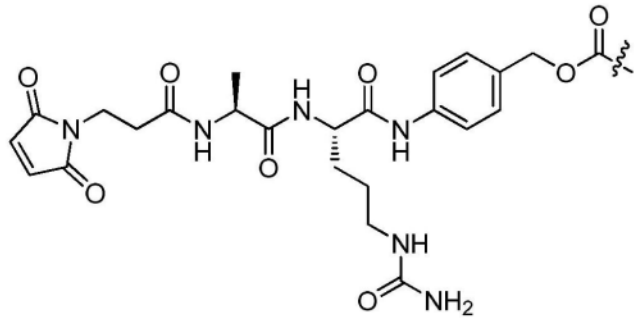
(IVa.7)



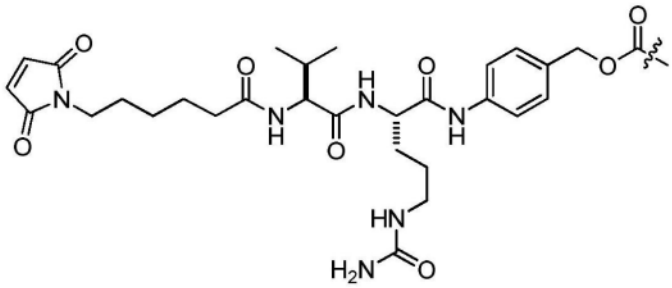
(IVa.8)

[1087] 可以包括在本文描述的ADC中的根据结构式(IVb)、(IVc)、或(IVd)的接头的示例性实施例包括以下说明的接头(如所示,这些接头包括适合于将接头与抗体共价连接的基团):

(IVb.1)

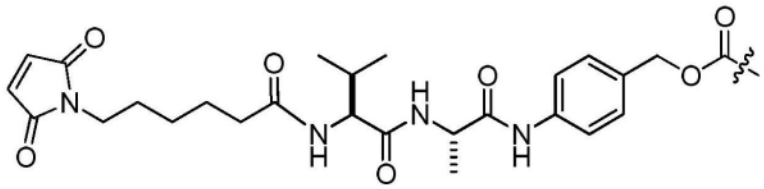


(IVb.2)

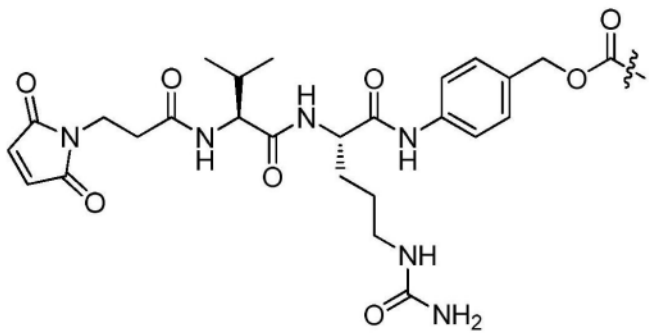


[1088]

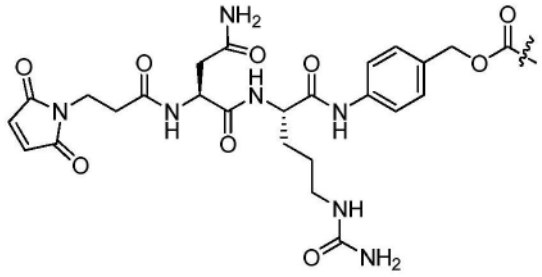
(IVb.3)



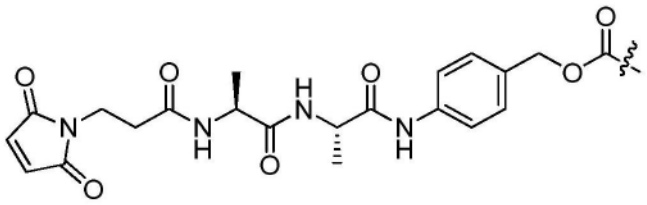
(IVb.4)



(IVb.5)

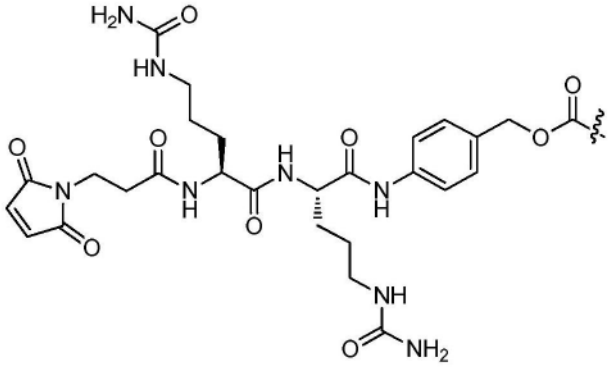


(IVb.6)

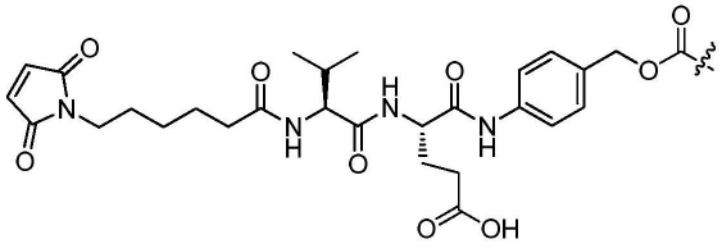


[1089]

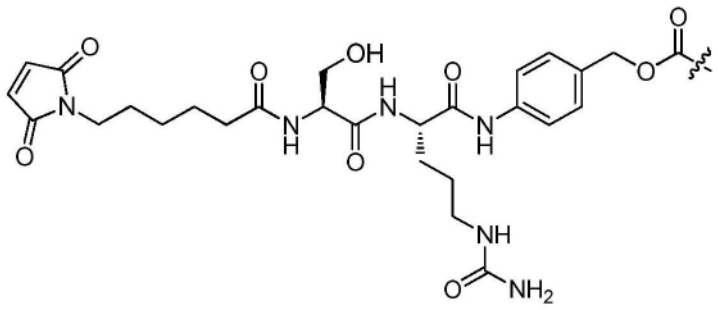
(IVb.7)



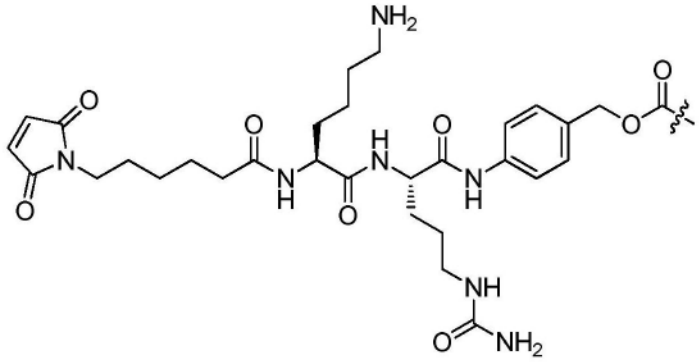
(IVb.8)



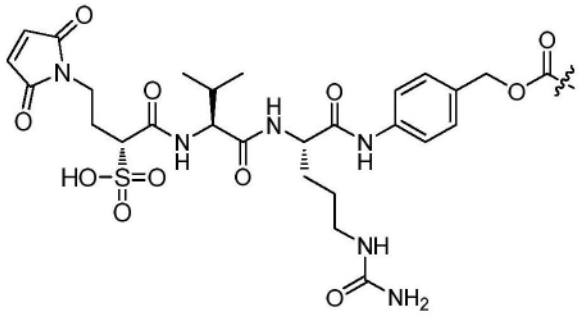
(IVb.9)



(IVb.10)

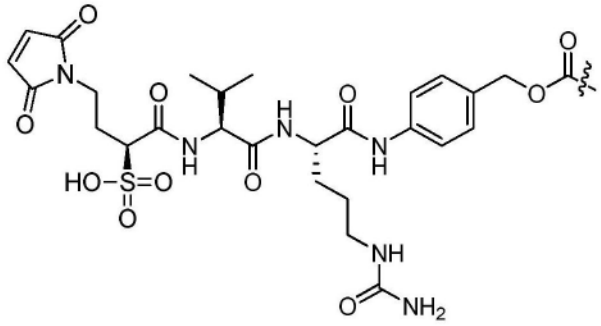


(IVb.11)

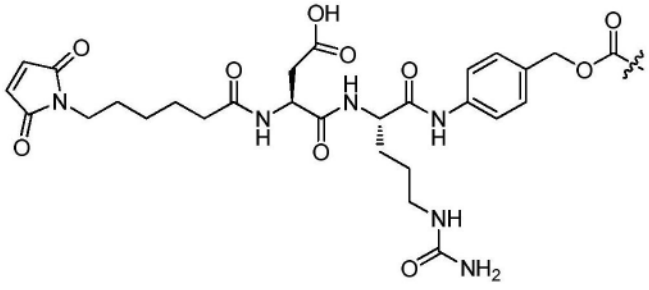


[1090]

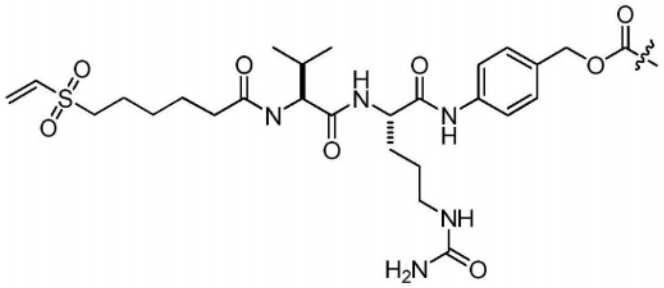
(IVb.12)



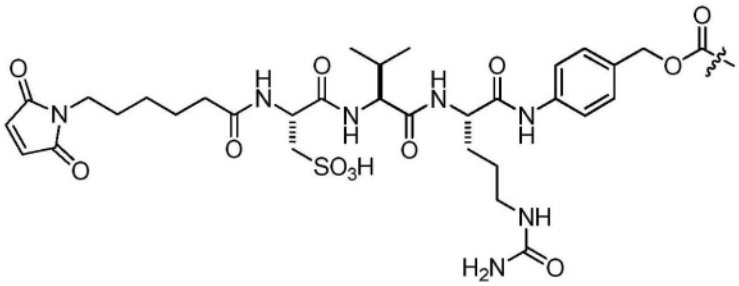
(IVb.13)



(IVb.14)

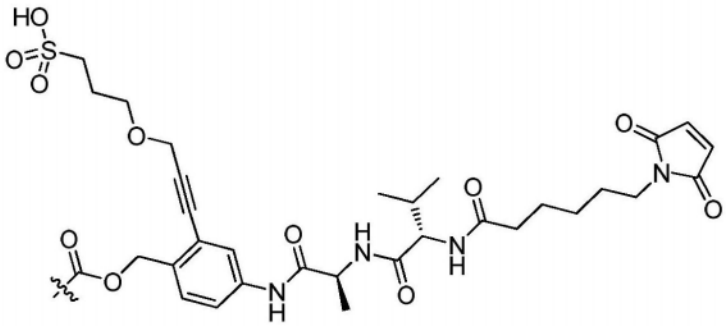


(IVb.15)

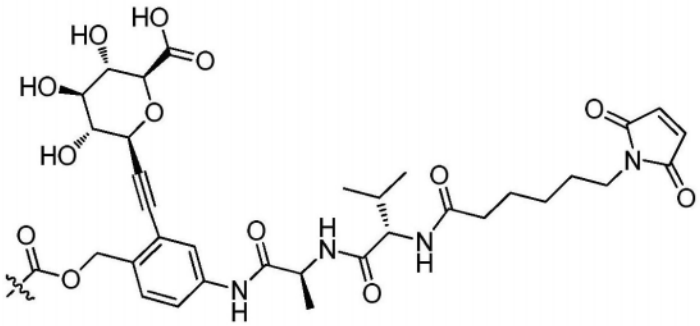


[1091]

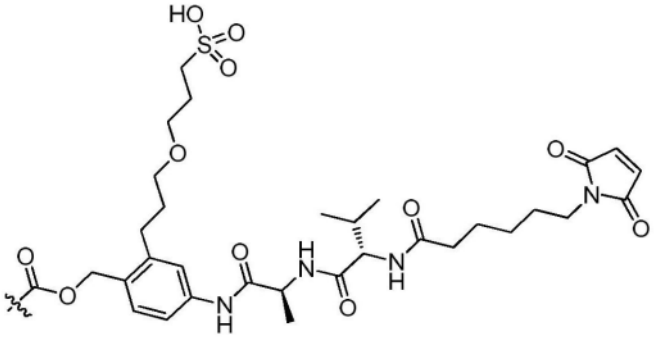
(IVb.16)



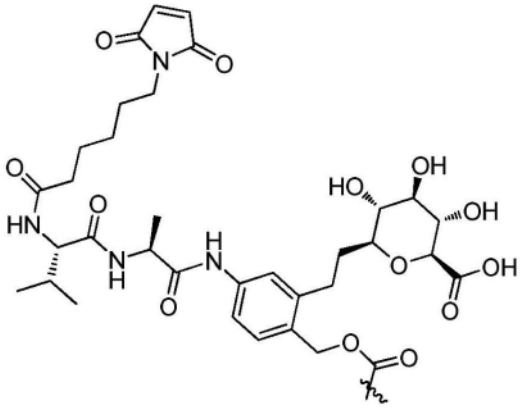
(IVb.17)



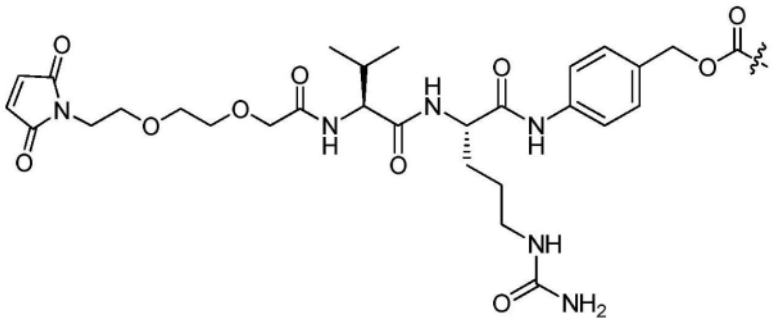
(IVb.18)



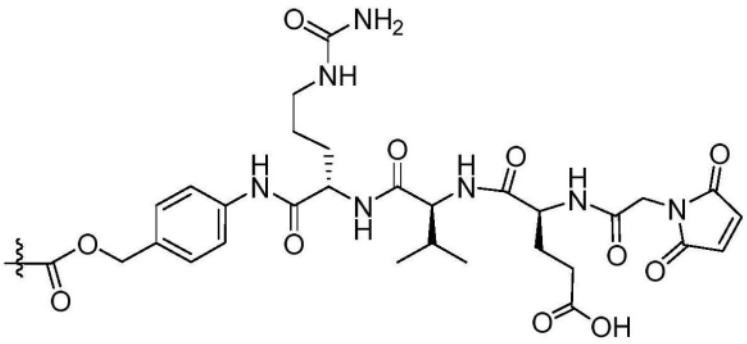
[1092] (IVb.19)



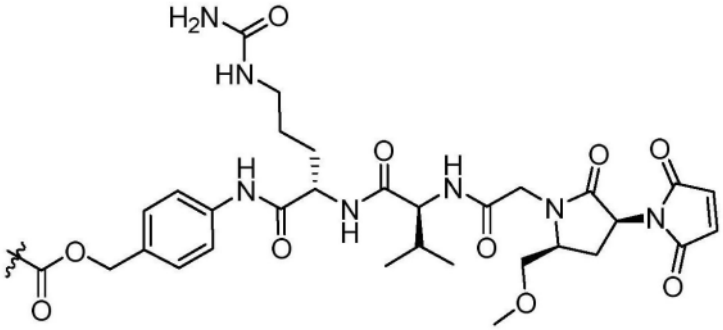
(IVc.1)



(IVc.2)

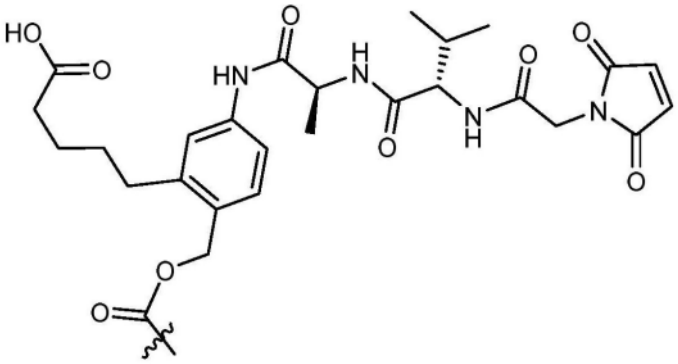


(IVc.3)

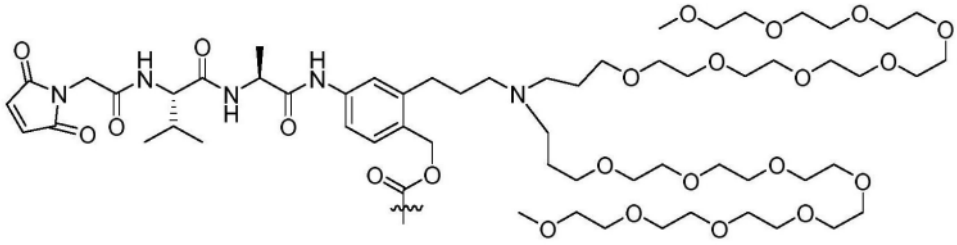


[1093]

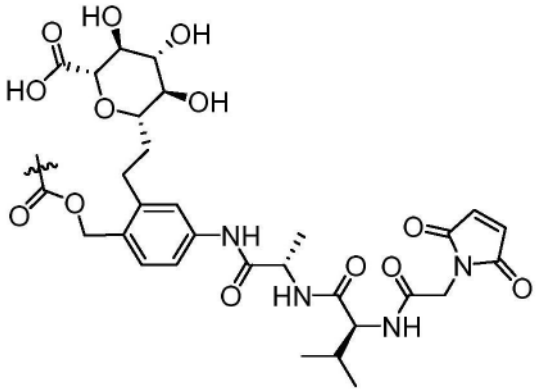
(IVc.4)



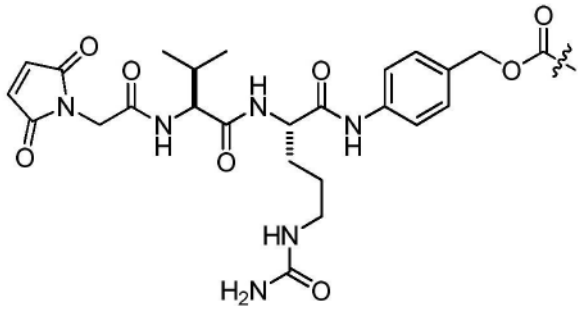
(IVc.5)



(IVc.6)

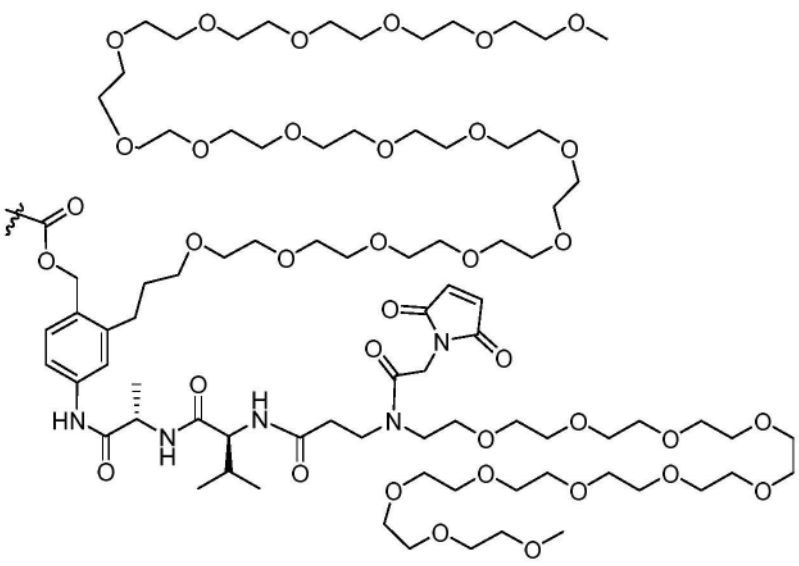


(IVc.7)

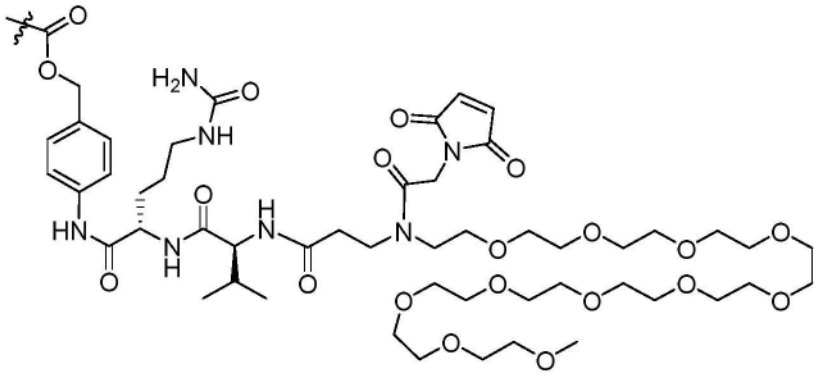


[1094]

(IVd.1)

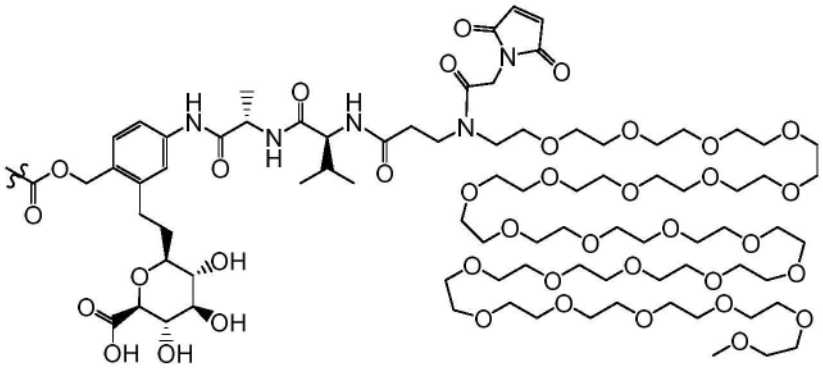


(IVd.2)

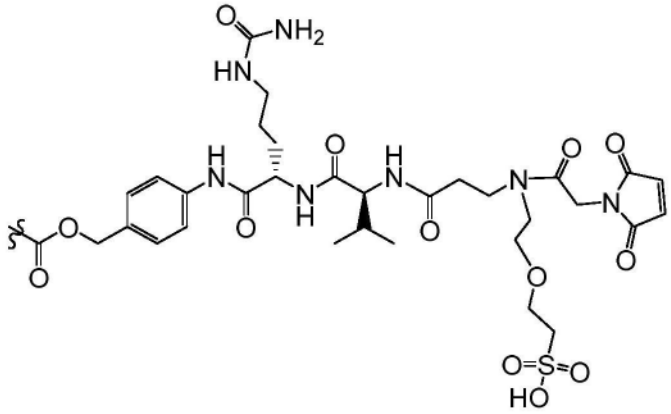


[1095]

(IVd.3)

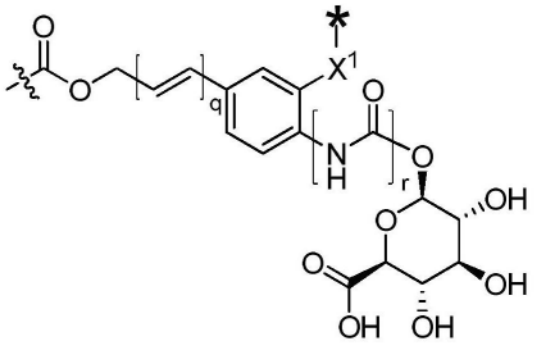


(IVd.4)

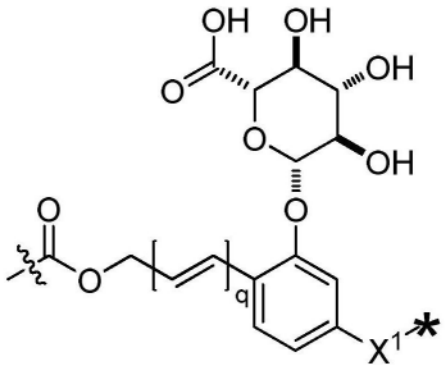


[1096] 在某些实施例中,接头包含酶促可裂解的糖部分,例如,包含结构式(Va)、(Vb)、(Vc)、(Vd)、或(Ve)的接头:

(Va)

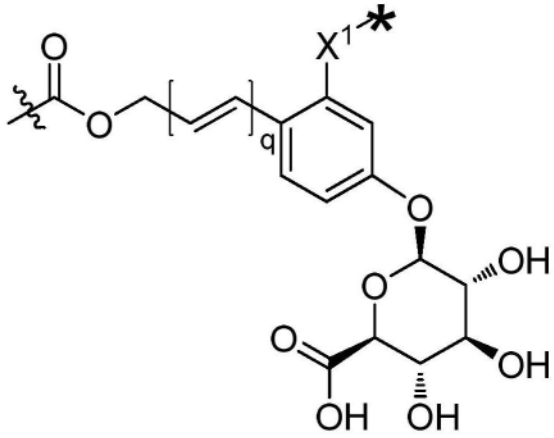


(Vb)

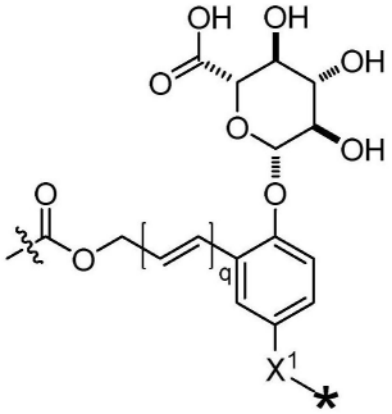


[1097]

(Vc)

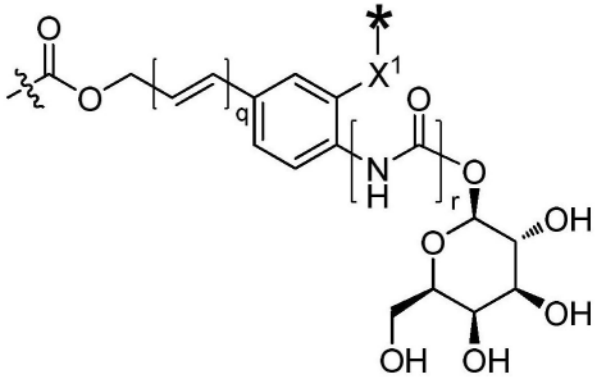


(Vd)



[1098]

(Ve)



[1099] 或其药学上可接受的盐,其中:

[1100] q是0或1;

[1101] r是0或1;

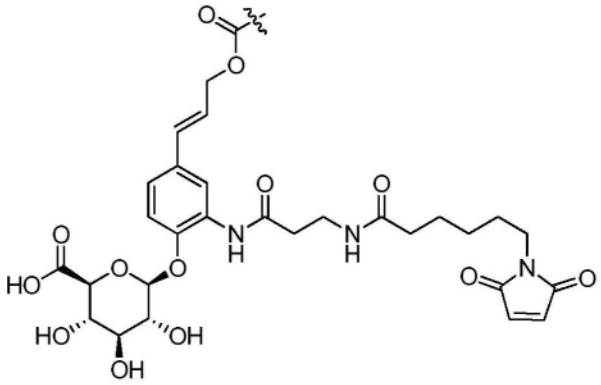
[1102] X^1是CH_2、O或NH;

[1103] 代表该接头与该药物的附接点;以及

[1104] *代表与该接头的其余部分的附接点。

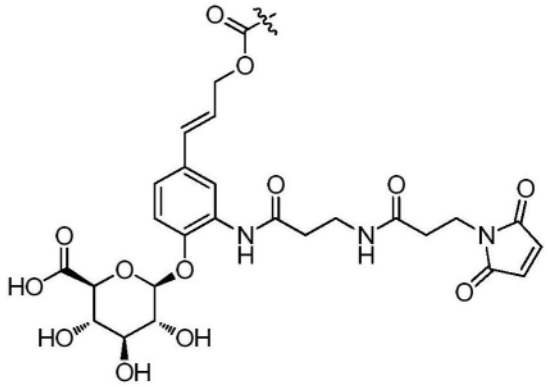
[1105] 可以包括在本文描述的ADC中的根据结构式(Va)的接头的示例性实施例包括以下说明的接头(如所示,这些接头包括适合于将接头与抗体共价连接的基团):

(Va.1)

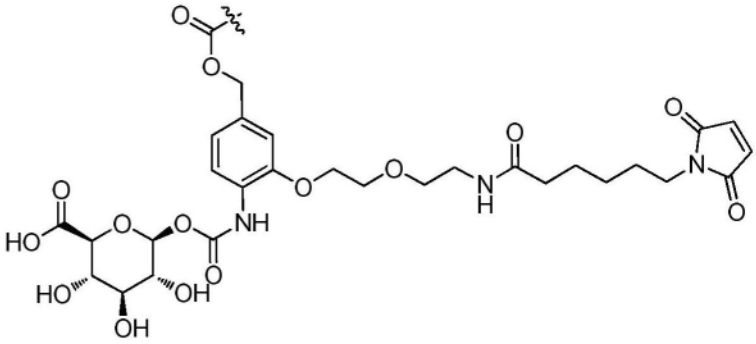


[1106]

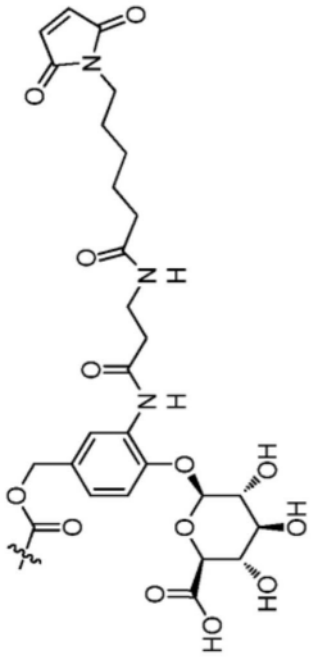
(Va.2)



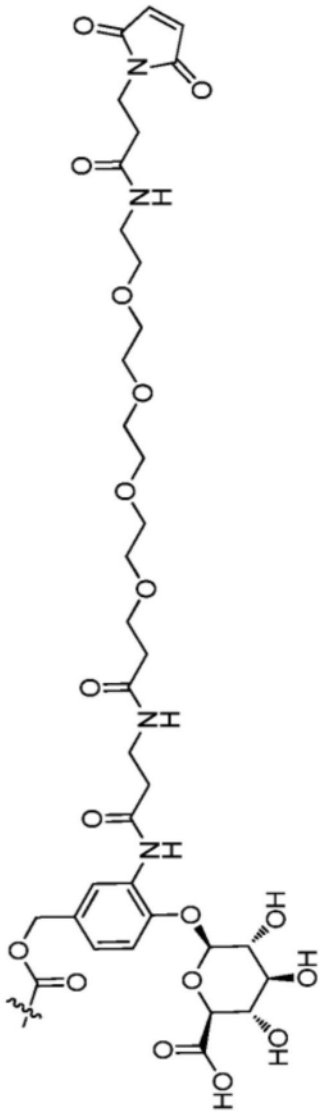
(Va.3)



[1107]

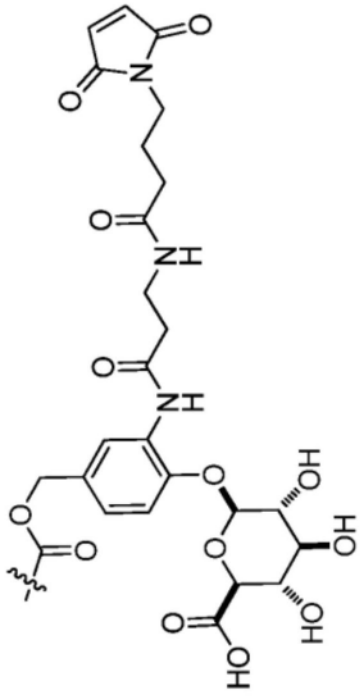


(Va.4)

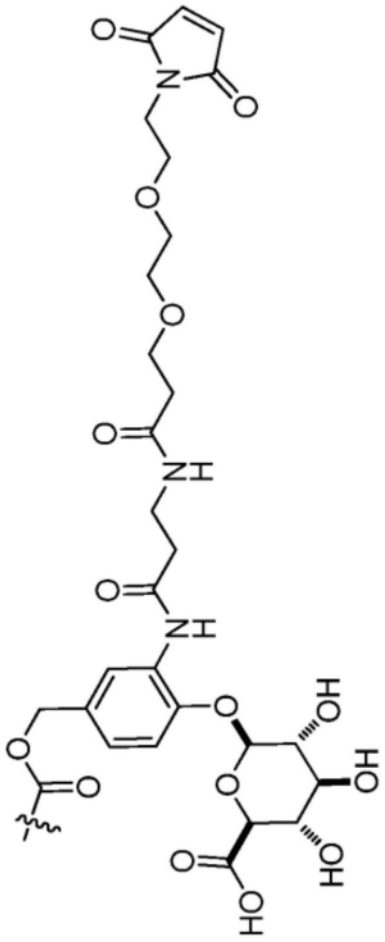


(Va.5)

[1108]

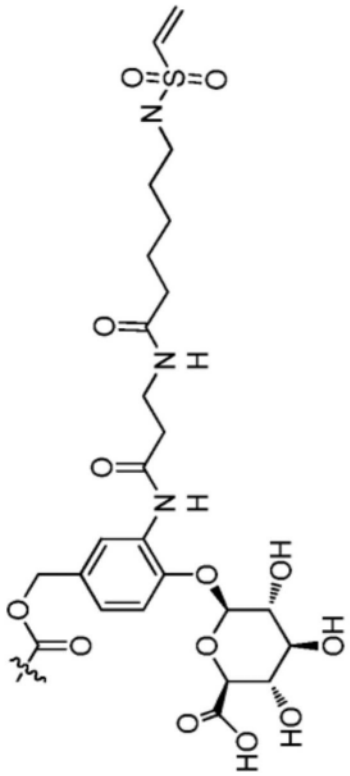


(Va.6)

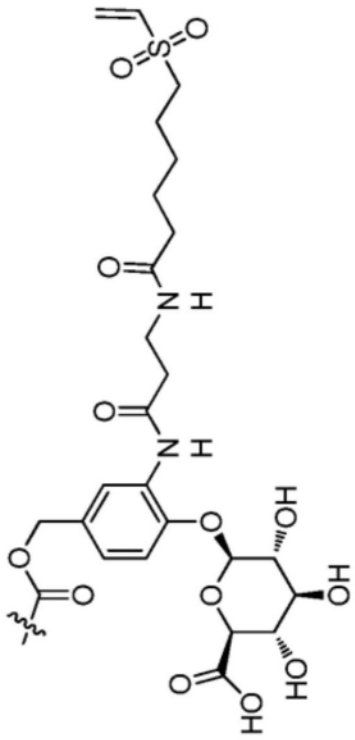


(Va.7)

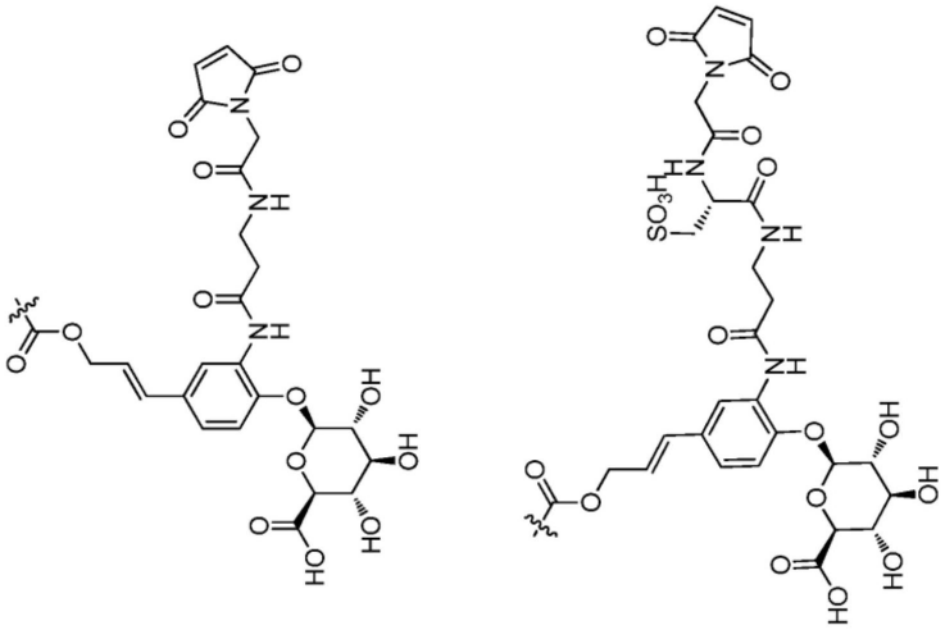
[1109]



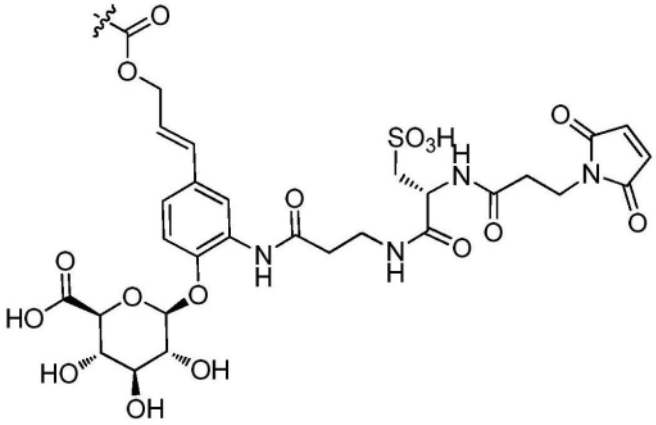
(Va.8)



(Va.9)

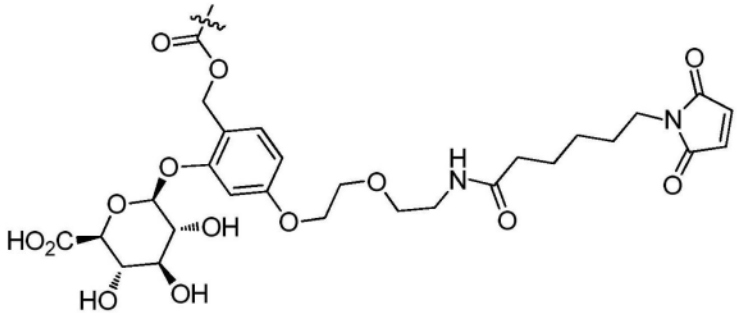
[1110] 

(Va.10) (Va.11)

[1111] (Va.12) 

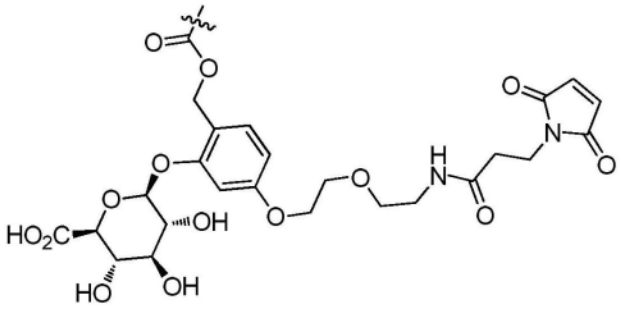
[1112] 可以包括在本文描述的ADC中的根据结构式(Vb)的接头的示例性实施例包括以下说明的接头(如所示,这些接头包括适合于将接头与抗体共价连接的基团):

(Vb.1)

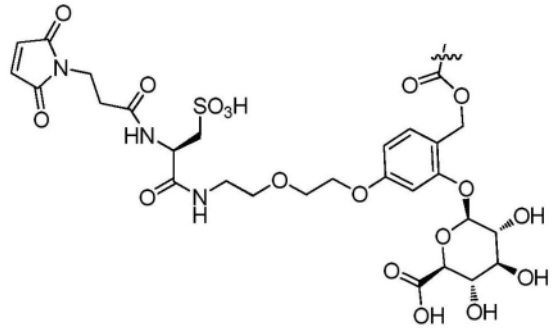


[1113]

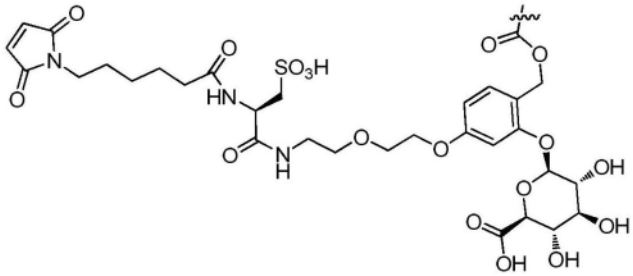
(Vb.2)



(Vb.3)

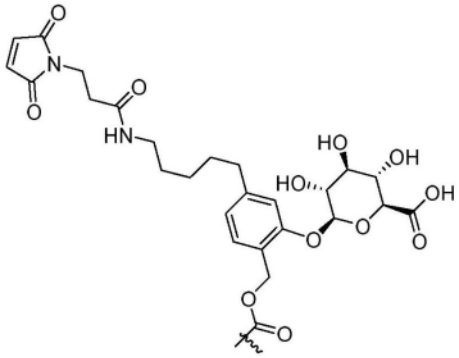


(Vb.4)

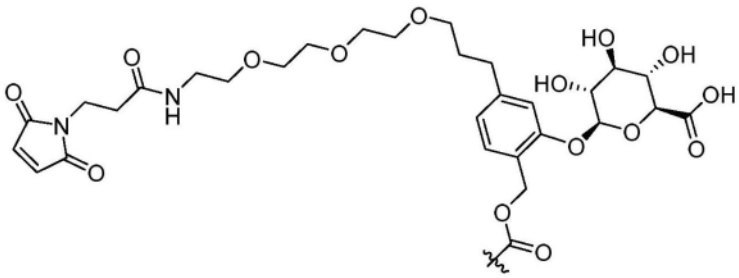


[1114]

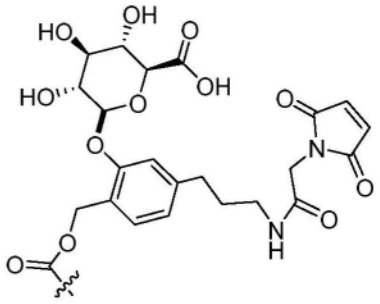
(Vb.5)



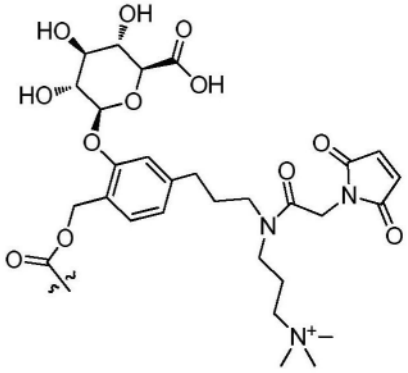
(Vb.6)



(Vb.7)

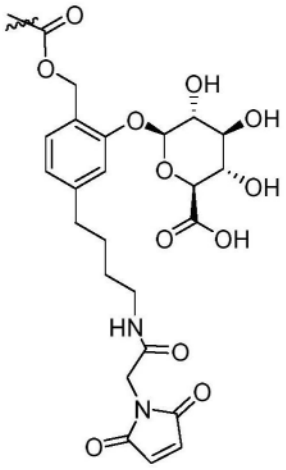


(Vb.8)

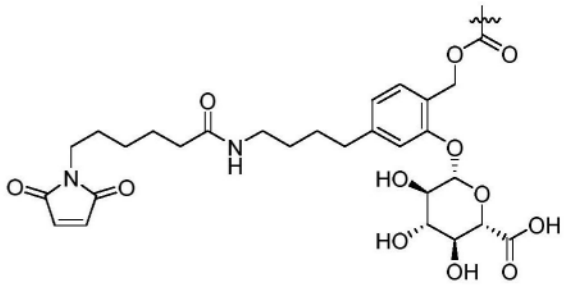


[1115]

(Vb.9)

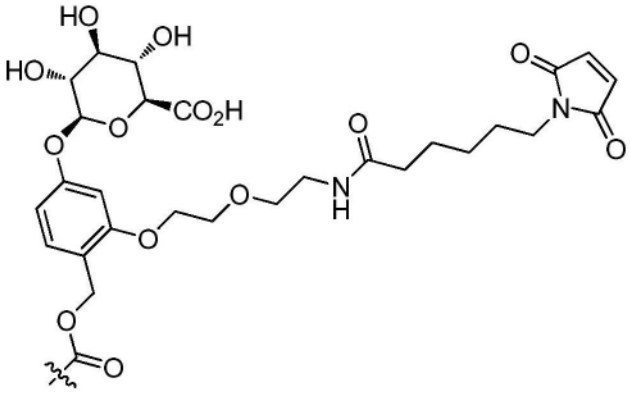


(Vb.10)

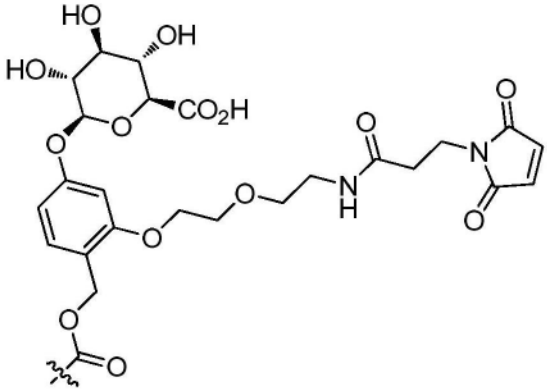


[1116] 可以包括在本文描述的ADC中的根据结构式(Vc)的接头的示例性实施例包括以下说明的接头(如所示,这些接头包括适合于将接头与抗体共价连接的基团):

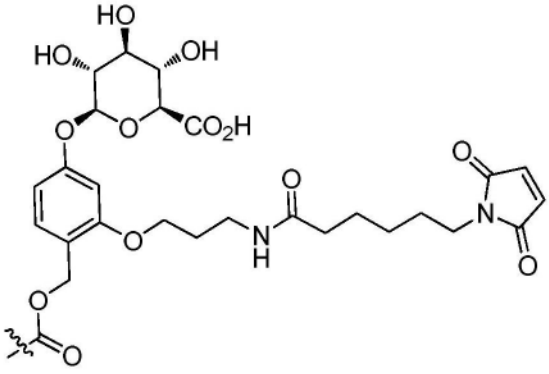
(Vc.1)



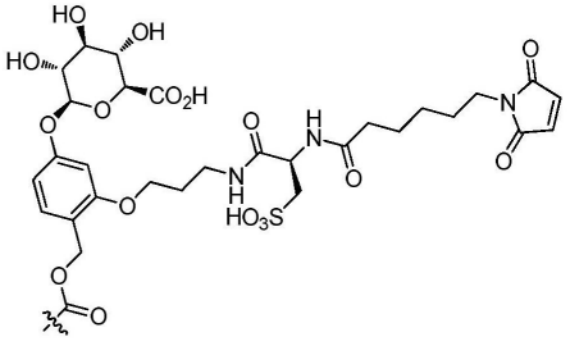
[1117] (Vc.2)



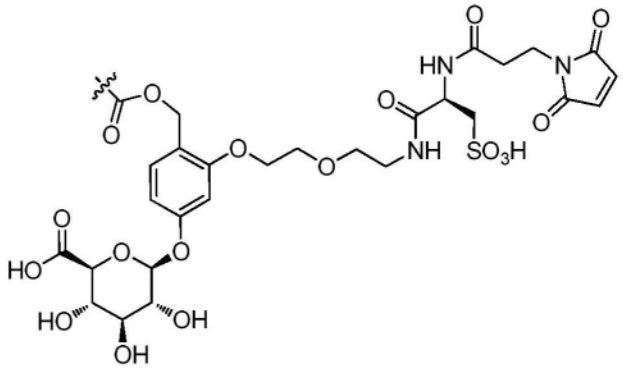
(Vc.3)



(Vc.4)

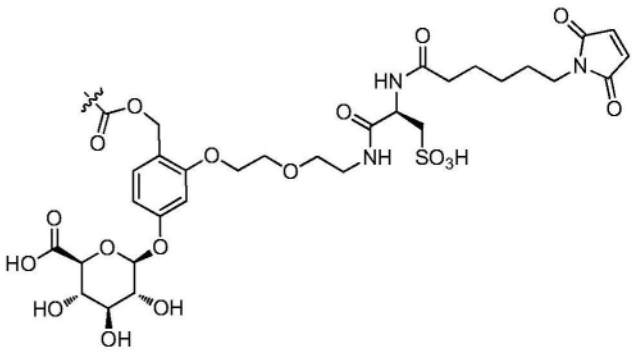


(Vc.5)

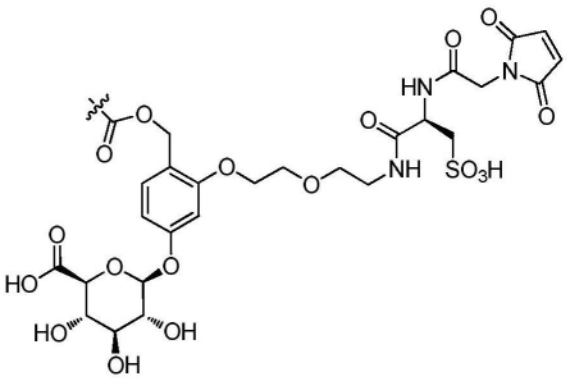


[1118]

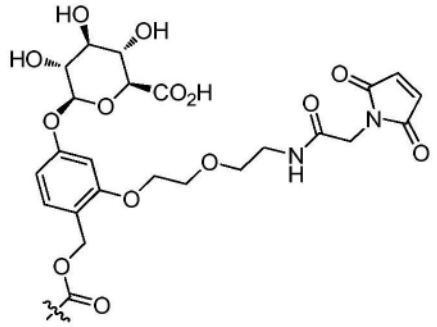
(Vc.6)



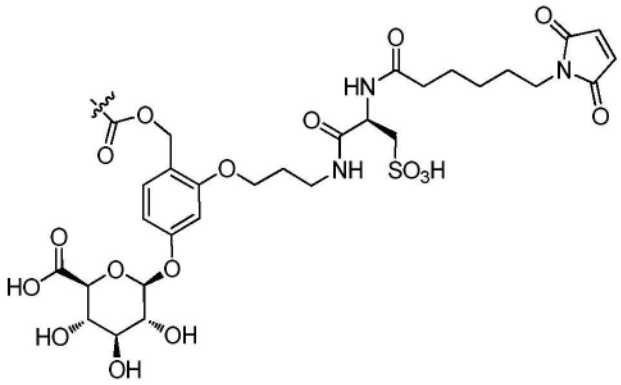
(Vc.7)



(Vc.8)

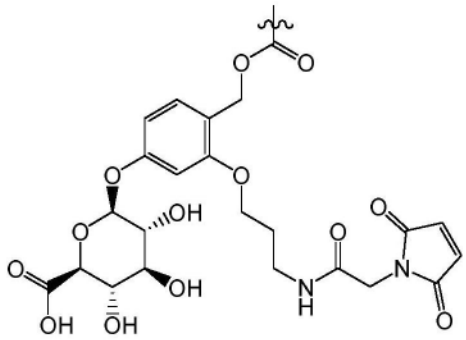


(Vc.9)

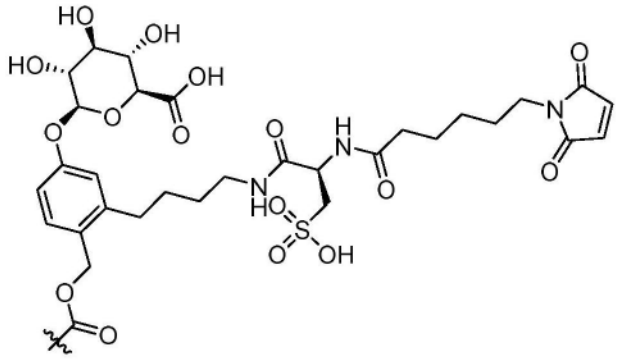


[1119]

(Vc.10)

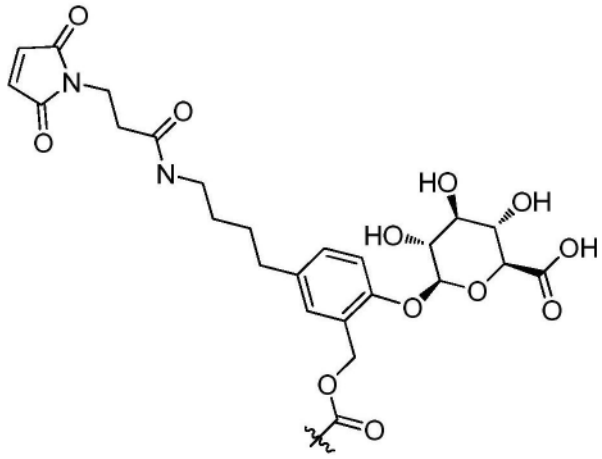


(Vc.11)

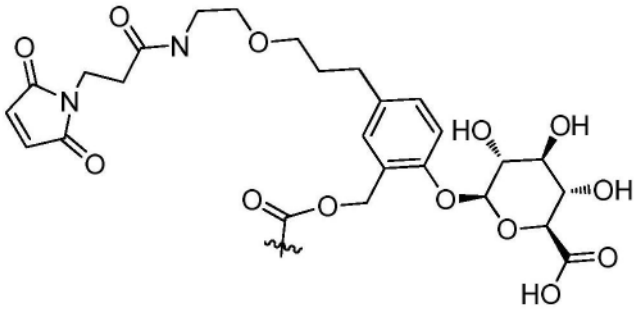


[1120] 可以包括在本文描述的ADC中的根据结构式(Vd)的接头的示例性实施例包括以下说明的接头(如所示,这些接头包括适合于将接头与抗体共价连接的基团):

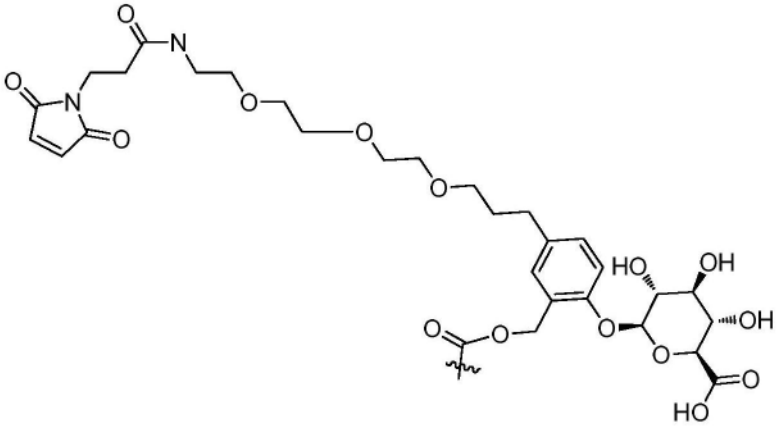
(Vd.1)



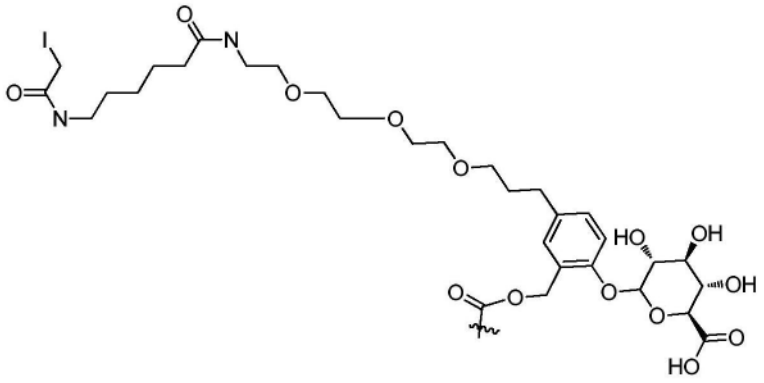
[1121] (Vd.2)



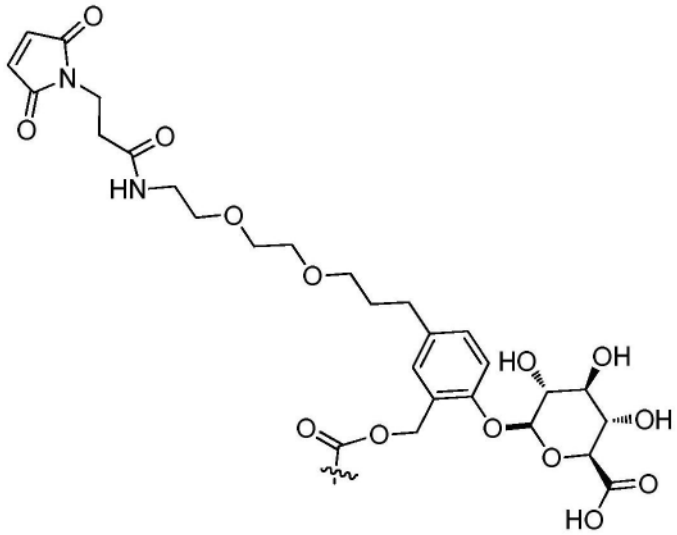
(Vd.3)



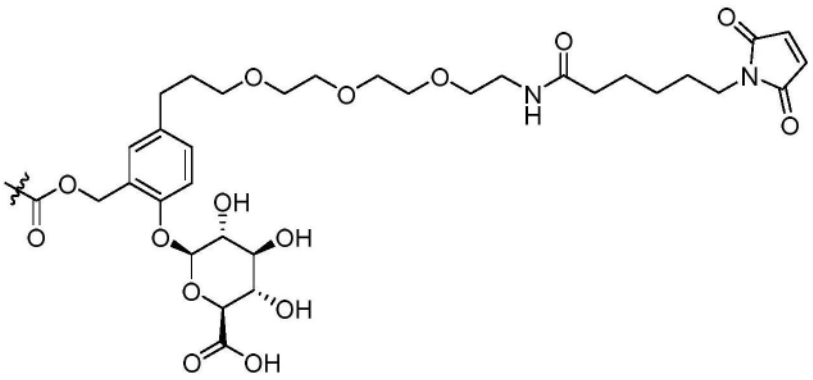
(Vd.4)



[1122] (Vd.5)

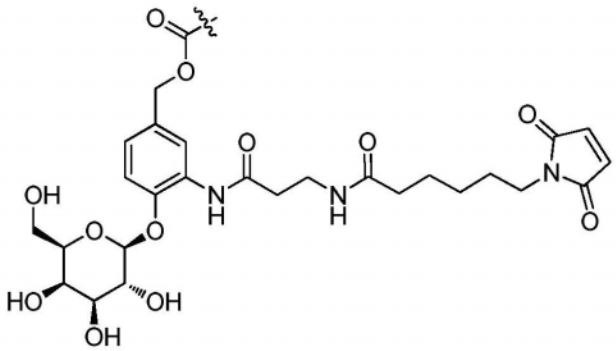


(Vd.6)



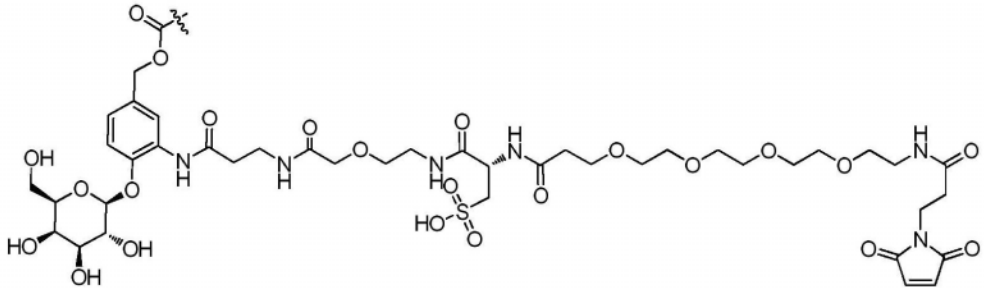
[1123] 可以包括在本文描述的ADC中的根据结构式(Ve)的接头的示例性实施例包括以下说明的接头(如所示,这些接头包括适合于将接头与抗体共价连接的基团):

(Ve.1)



[1124]

(Ve.2)

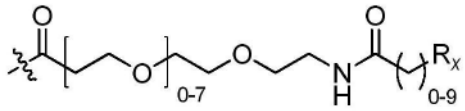


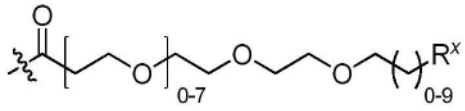
[1125] 不可裂解的接头

[1126] 尽管可裂解接头可提供某些优点,但包含本文所述ADC的接头不需要是可裂解的。对于不可裂解接头,药物释放不依赖于血浆和一些细胞质区室之间的差异性质。假定在经由抗原介导的胞吞作用将ADC内化并递送至溶酶体隔室后发生药物释放,其中该抗体通过细胞内蛋白降解被降解至氨基酸水平。该过程释放药物衍生物,其由接头共价连接的药物、接头和氨基酸残基形成。来自具有不可裂解接头的偶联物的氨基酸药物代谢物更亲水并且通常膜渗透性更低,与具有可裂解接头的偶联物相比,这导致更少的旁观者效应和更低的非特异性毒性。通常,具有不可裂解接头的ADC比具有可裂解接头的ADC具有更高的循环稳定性。不可裂解的接头可以是亚烷基链,或者可以是天然的聚合物,例如基于聚亚烷基二醇聚合物,酰胺聚合物,或可以包括亚烷基链,聚亚烷基二醇和/或酰胺聚合物的区段。在某些实施例中,接头包含具有从1至6个乙二醇单元的聚乙二醇区段。

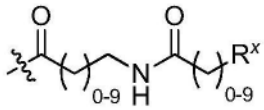
[1127] 已经描述了用于将药物与抗体连接的多种不可裂解接头。(See,Jeffrey等人,2006,Bioconjug.Chem.[生物共轭化学]17;831-840;Jeffrey等人,2007,Bioorg.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学]17:2278-2280;和Jiang等人,2005,J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]127:11254-11255,其中的每一个的内容通过引用并入本文)。所有这些接头可以包括在本文所述的ADC中。

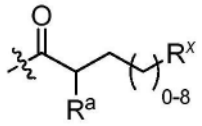
[1128] 在某些实施例中,接头是体内不可裂解的,例如是根据结构式(VIa)、(VIb)、(VIc)或(VId)的接头(如所示,这些接头包括适合将接头与抗体共价连接的基团):

(VIa) 

(VIb) 

[1129]

(VIc) 

(VId) 

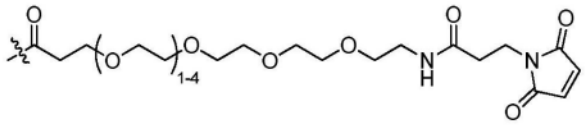
[1130] 或其药学上可接受的盐，其中：

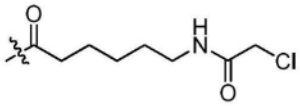
[1131] R^a选自氢、烷基、磺酸酯和甲基磺酸酯；

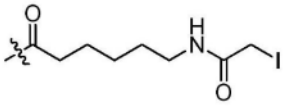
[1132] R^x是包含能够将接头与抗体共价连接的官能团的部分；以及

[1133] 代表该接头与该Bcl-xL抑制剂的附接点。

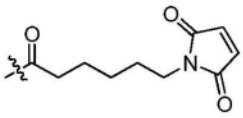
[1134] 可以包括在本文描述的ADC中的根据结构式(VIa)-(VId)的接头的示例性实施例包括以下所示的接头(如所示，这些接头包括适合于将该接头与抗体共价连接的基团，并且“”代表与Bcl-xL抑制剂的附接点)：

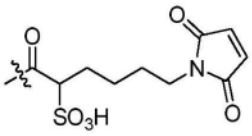
(VIa.1) 

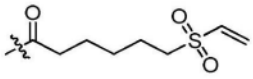
(VIc.1) 

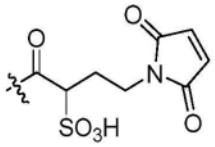
(VIc.2) 

[1135]

(VId.1) 

(VId.2) 

(VId.3) 

[1136] (VId.4) 

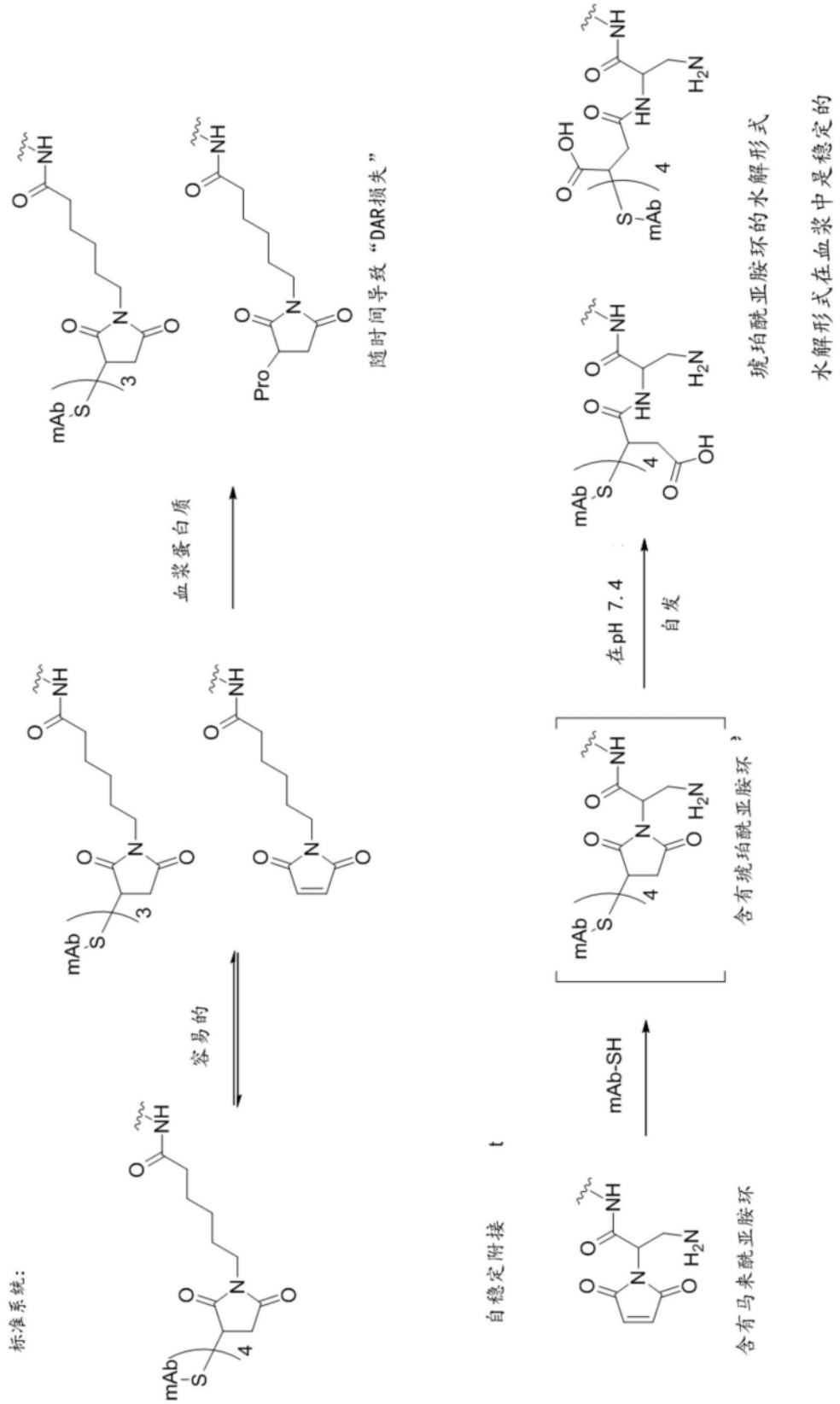
[1137] 用于将接头附接至抗B7-H3抗体的基团

[1138] 附接基团本质上可以是亲电子的，包括：马来酰亚胺基团、激活的二硫化物、活性酯如NHS酯和HOBt酯、卤代甲酸酯、酰卤、烷基和苄基卤化物如卤代乙酰胺。如下所述，还存在与“自稳定”马来酰亚胺和“桥联二硫化物”相关的新兴技术，其可以根据本公开内容使用。

[1139] 由于与白蛋白，半胱氨酸或谷胱甘肽的马来酰亚胺交换过程，已经观察到来自ADC的药物-接头的损失(Alley等人，2008，Bioconjugate Chem[生物偶联化学].19:759-769)。这在高度溶剂可接近的偶联位点中尤其普遍，而部分可接近且具有带正电荷的环境的位点促进马来酰亚胺环水解(Junutula等人，2008，Nat.Biotechnol.[自然生物技术]26:925-932)。公认的解决方案是水解由偶联形成的琥珀酰亚胺，因为这样可以抵抗抗体的去偶联，从而使ADC在血清中稳定。先前已经报道过琥珀酰亚胺环将在碱性条件下进行水解(Kalia等人，2007，Bioorg.Med.Chem.Lett[生物有机化学与医药化学]17:6286-6289)。在下面的示意图中描绘了在抗体偶联条件下自发水解以产生具有改善的稳定性的ADC物质的“自稳定”马来酰亚胺基团的一个实例。参见美国公开申请号2013/0309256，国际申请公开号WO

2013/173337,Tumey等人,2014,Bioconjugate Chem.[生物偶联化学]25:1871-1880,以及Lyon等人,2014,Nat.Biotechnol.[自然生物技术]32:1059-1062。因此,马来酰亚胺附接基团与抗体的巯基反应,得到中间体琥珀酰亚胺环。附接基团的水解形式在血浆蛋白质存在下对去偶联具有抗性。

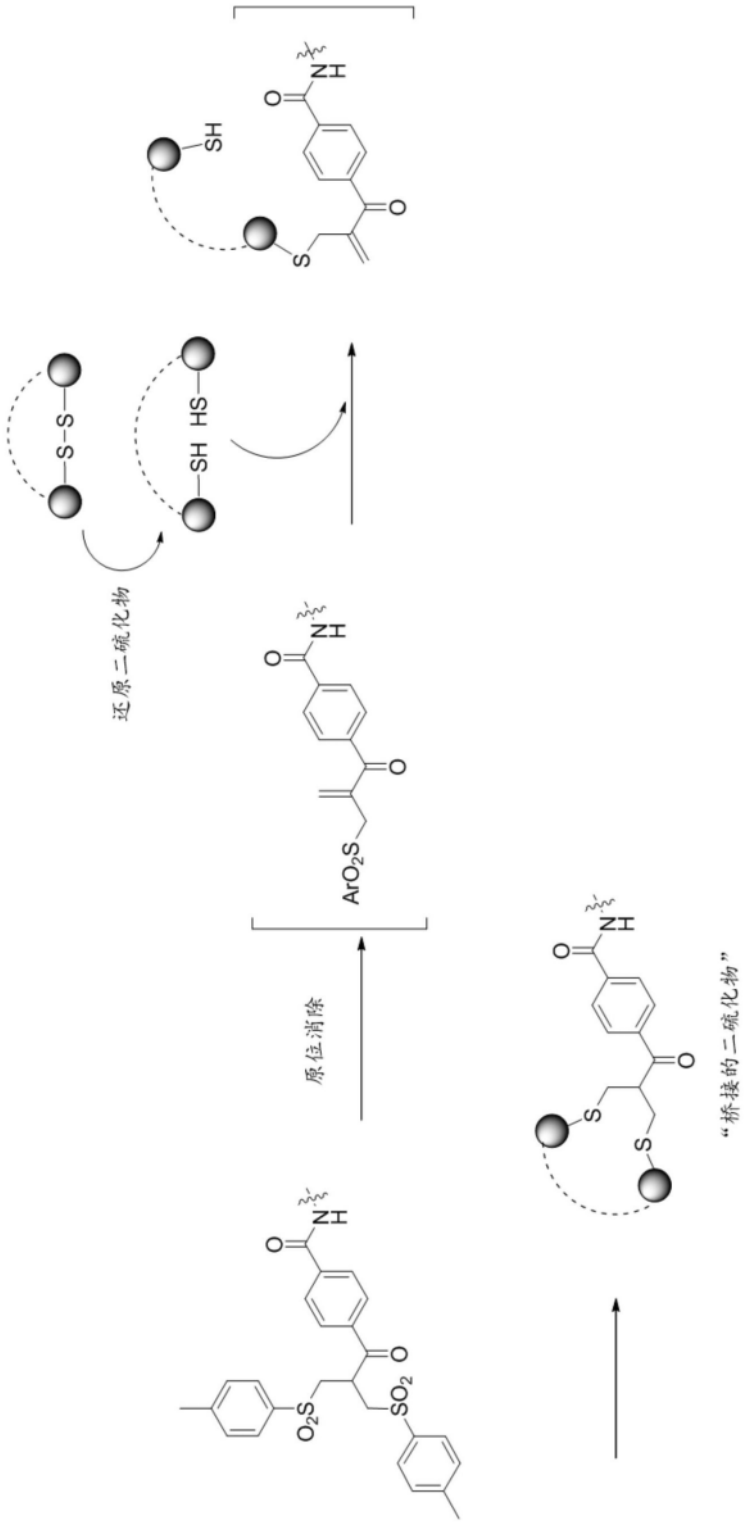
[1140]



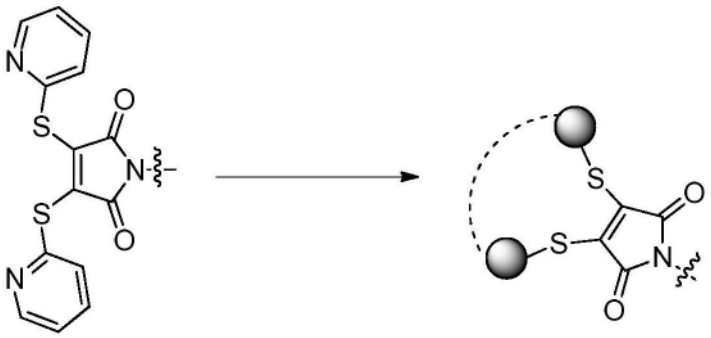
[1141] 如上所示，接头的马来酰亚胺环可以与抗体Ab反应，形成琥珀酰亚胺(封闭形式)或琥珀酰胺(开放形式)的共价附接。

[1142] Polytherics公开了一种桥联一对巯基的方法，这些巯基衍生自天然铰链二硫键的还原。参见，Badescu等人，2014，Bioconjugate Chem.[生物共轭化学]25:1124-1136。该反应描述于下面的示意图中。该方法的一个优点是能够通过完全还原IgG(得到4对巯基)然后与4当量的烷化剂反应来合成均相DAR4 ADC。据称含有“桥联二硫化物”的ADC具有增加的稳定性。

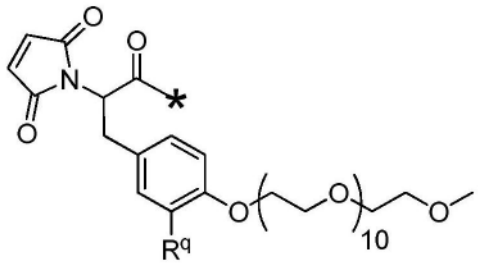
[1143]

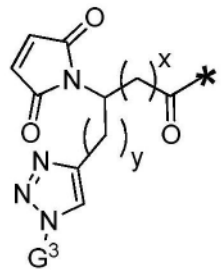


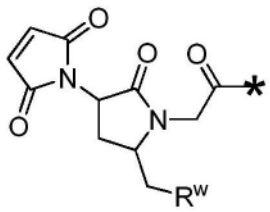
[1144] 类似地，如下所述，已经开发了能够桥联一对巯基的马来酰亚胺衍生物。参见美国公开申请号2013/0224228。

[1145] 

[1146] 在某些实施例中，附接部分包含结构式(VIIa)、(VIIb)、或(VIIc)：

(VIIa) 

[1147] (VIIb) 

(VIIc) 

[1148] 或其药学上可接受的盐，其中：

[1149] R^q是H或-O-$(CH_2CH_2O)_{11}$-CH_3；

[1150] x是0或1；

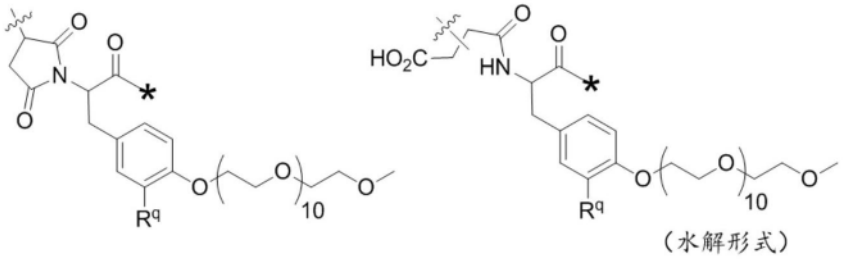
[1151] y是0或1；

[1152] G^3是-$CH_2CH_2CH_2SO_3H$或-CH_2CH_2O-$(CH_2CH_2O)_{11}$-CH_3；

[1153] R^w是-O-$CH_2CH_2SO_3H$或-NH(CO)-CH_2CH_2O-$(CH_2CH_2O)_{12}$-CH_3；以及

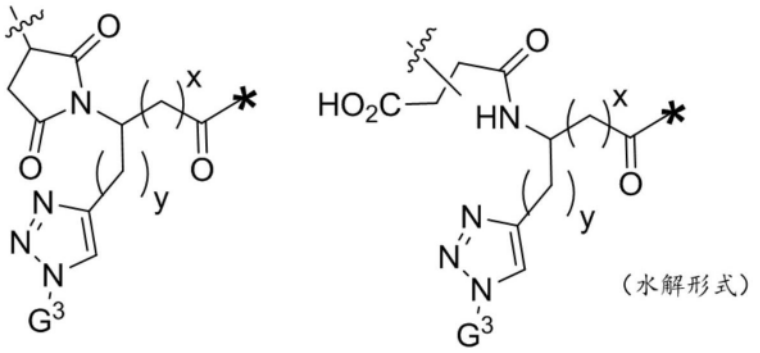
[1154] *代表与该接头的其余部分的附接点。

[1155] 在某些实施例中，接头包含根据结构式(VIIIa)、(VIIIb)、或(VIIIc)的区段：

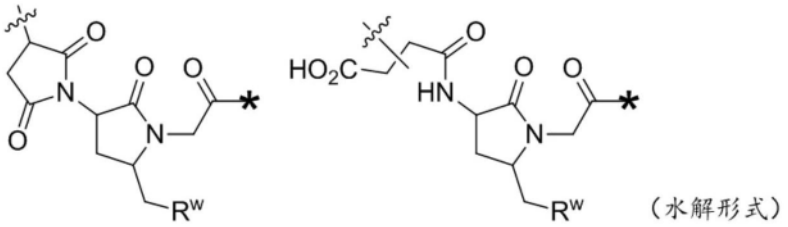


(VIIIa)

[1156]



(VIIIb)



(VIIIc)

[1157] 或其水解的衍生物或药学上可接受的盐,其中:

[1158] R^q是H或-O-$(CH_2CH_2O)_{11}$-CH_3;

[1159] x是0或1;

[1160] y是0或1;

[1161] G^3是-$CH_2CH_2CH_2SO_3H$或-CH_2CH_2O-$(CH_2CH_2O)_{11}$-CH_3;

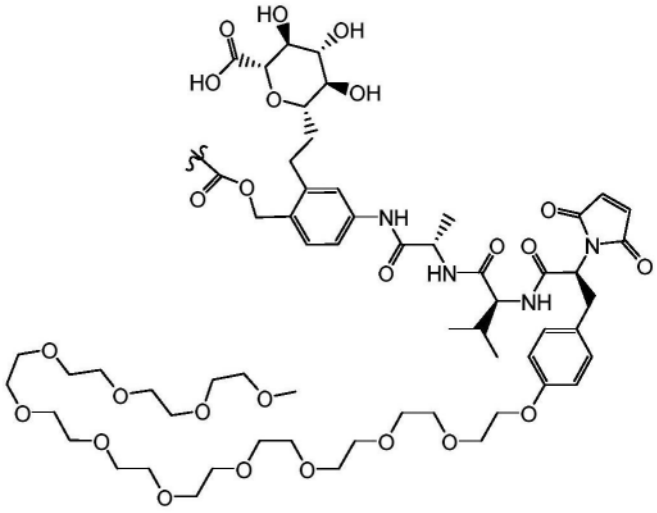
[1162] R^w是-O-$CH_2CH_2SO_3H$或-NH(CO)-CH_2CH_2O-$(CH_2CH_2O)_{12}$-CH_3;

[1163] *代表与该接头的其余部分的附接点;以及

[1164] 代表该接头与该抗体的附接点。

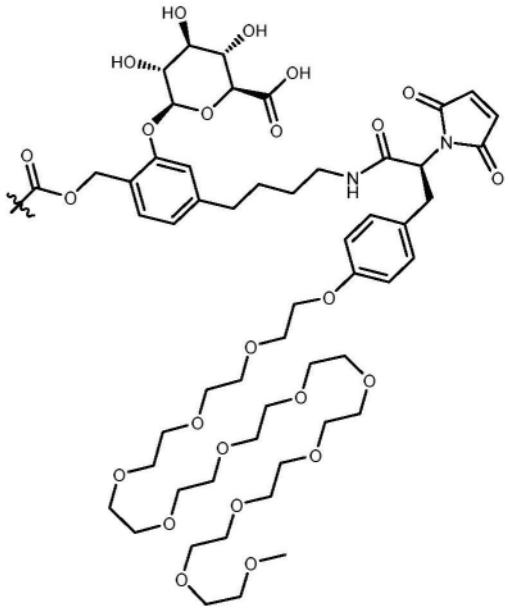
[1165] 可以包括在本文描述的ADC中的根据结构式(VIIa)和(VIIb)的接头的示例性实施例包括以下说明的接头(如所示,这些接头包括适合于将接头与抗体共价连接的基团):

(VIIa.1)

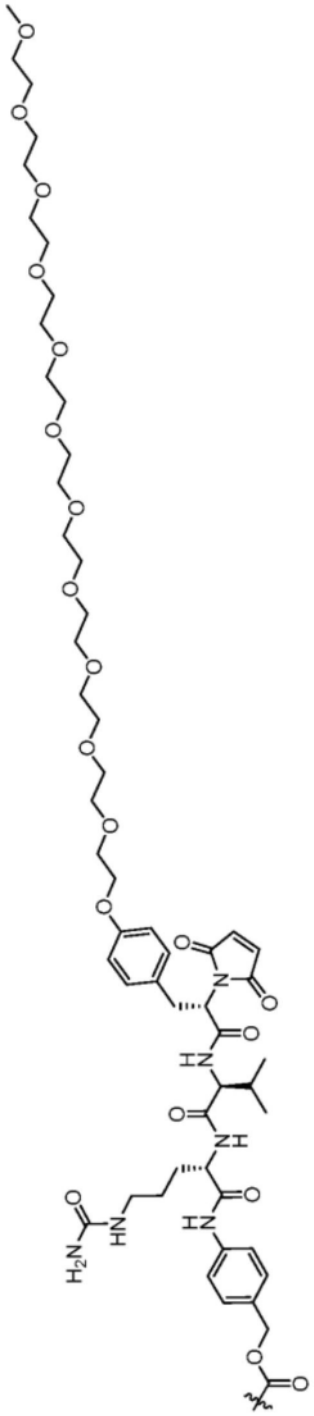


[1166]

(VIIa.2)

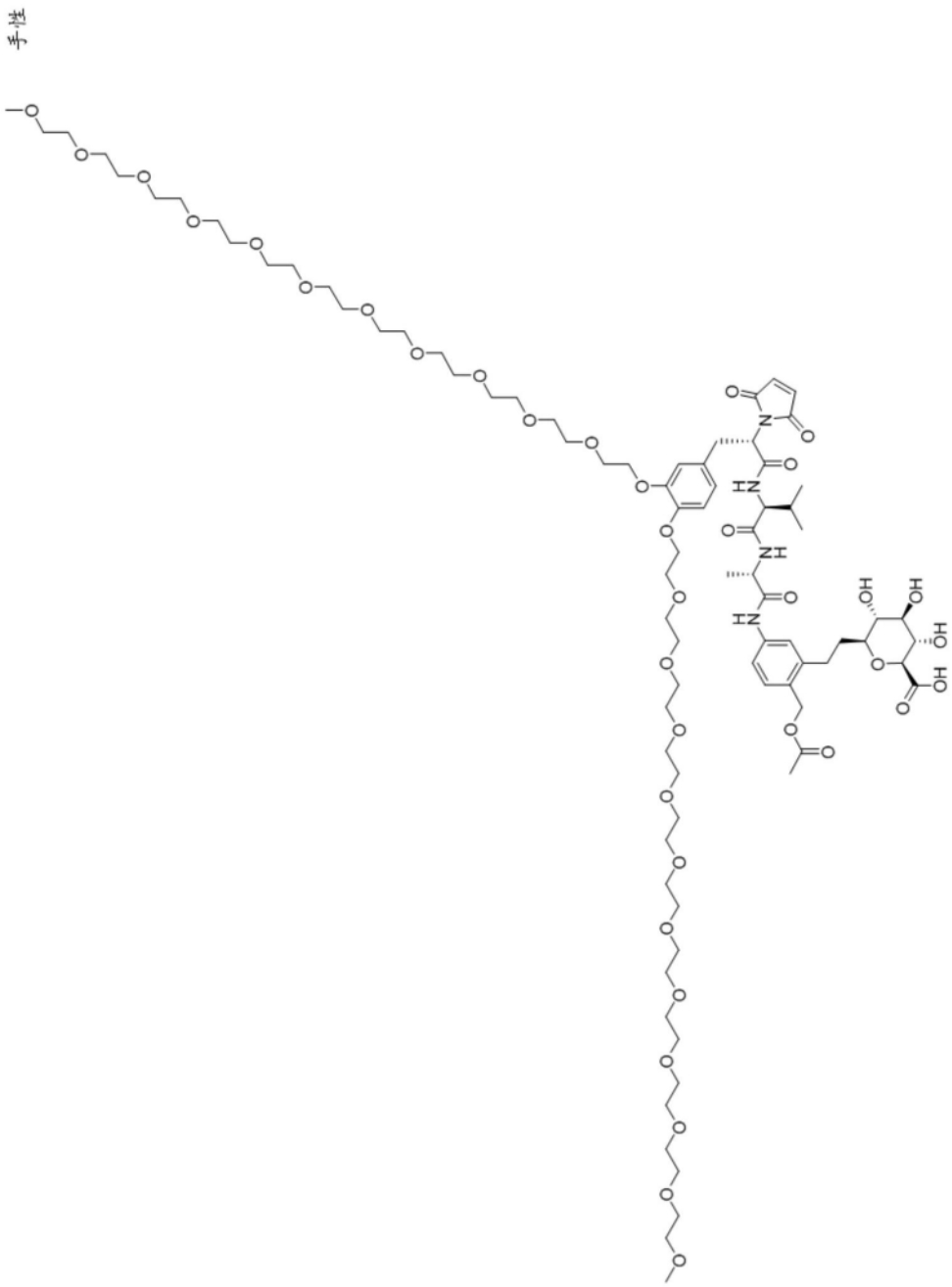


[1167]



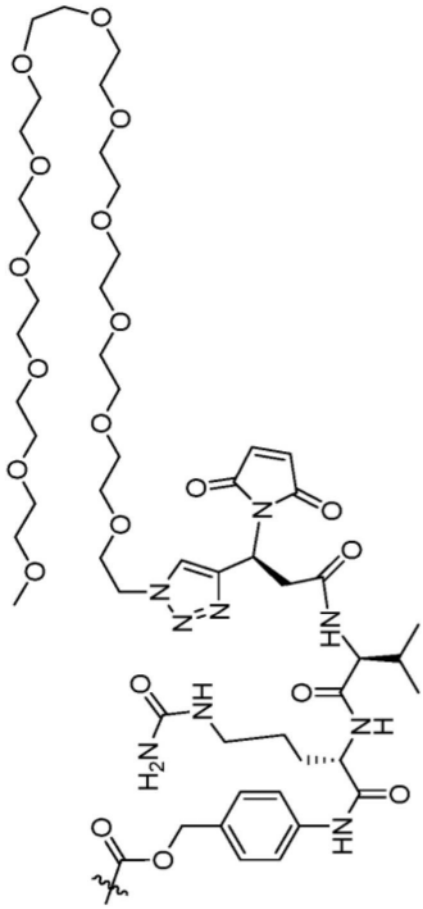
(VIIa.3)

[1168]

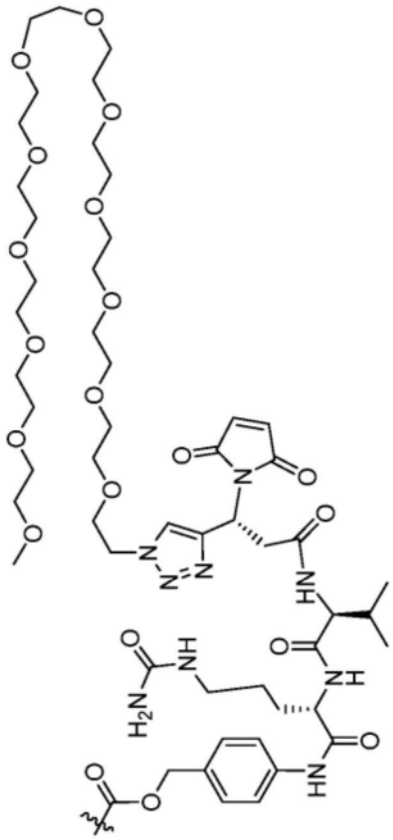


(VIIa.4)

[1169]

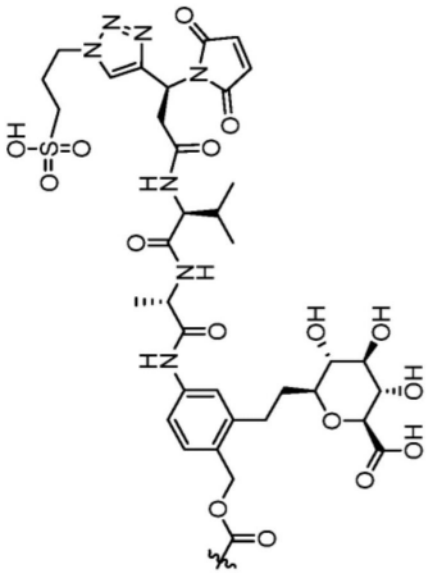


(VIIb.1)

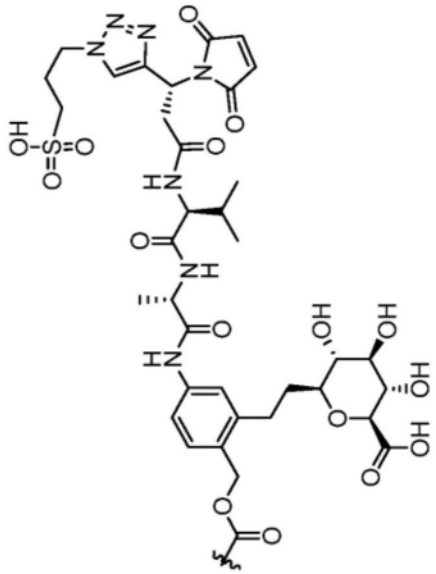


(VIIb.2)

[1170]

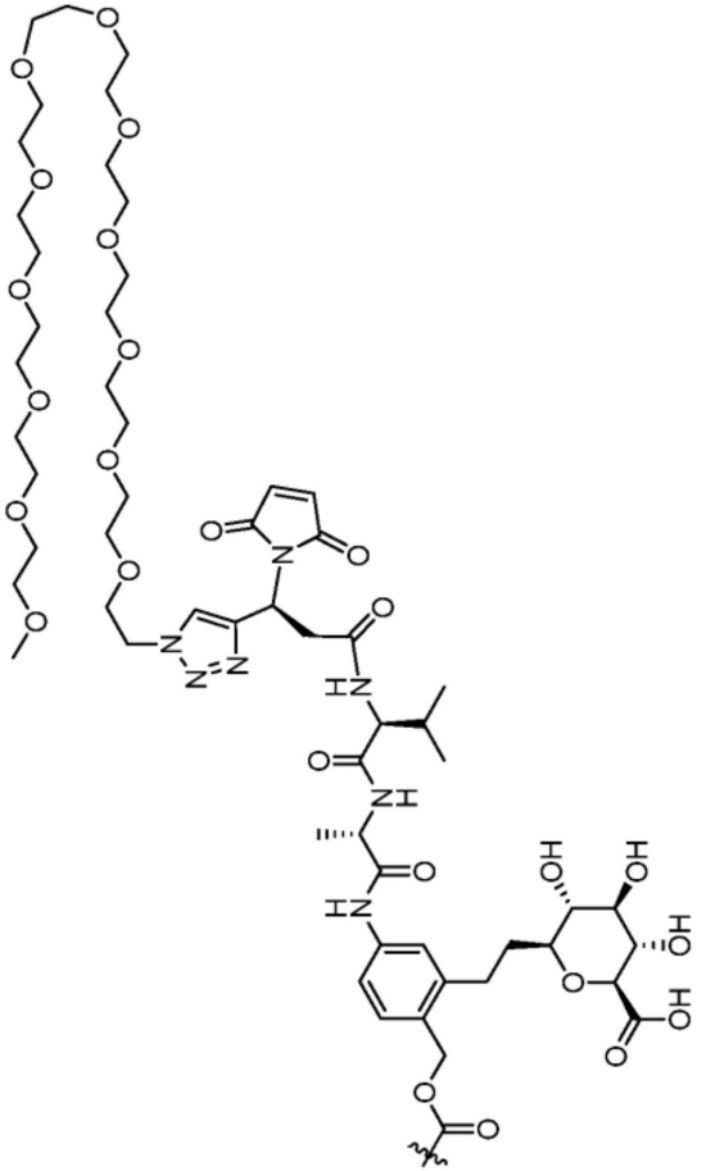


(VIIb.3)



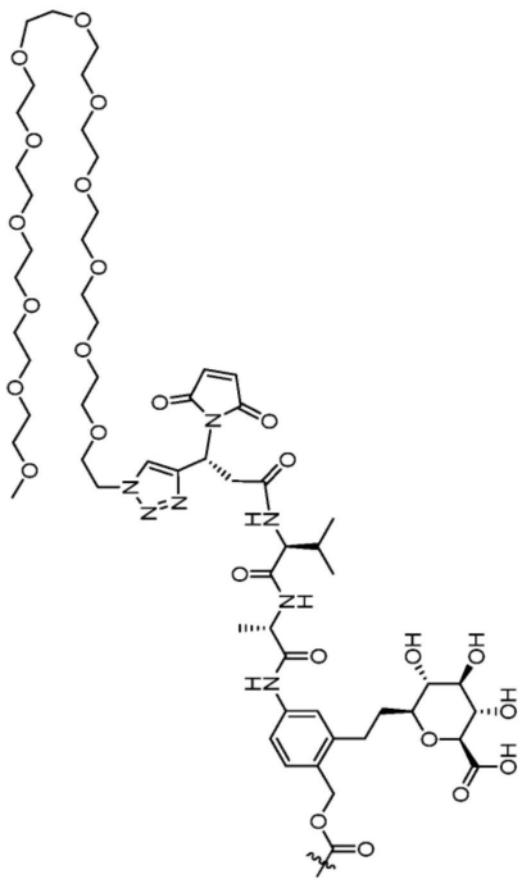
(VIIb.4)

[1171]

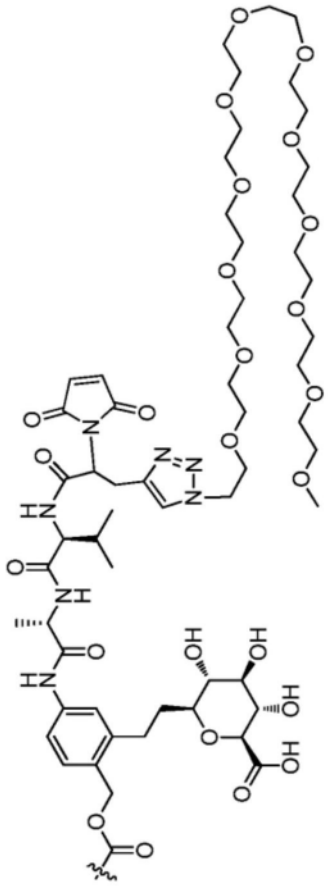


(VIIb.6)

[1172]



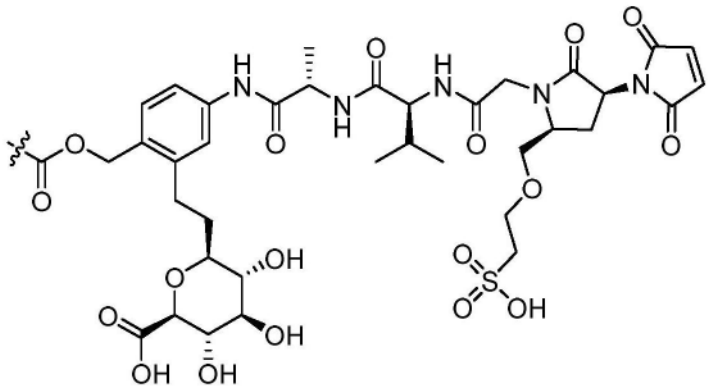
(VIIb.7)



(VIIb.8)

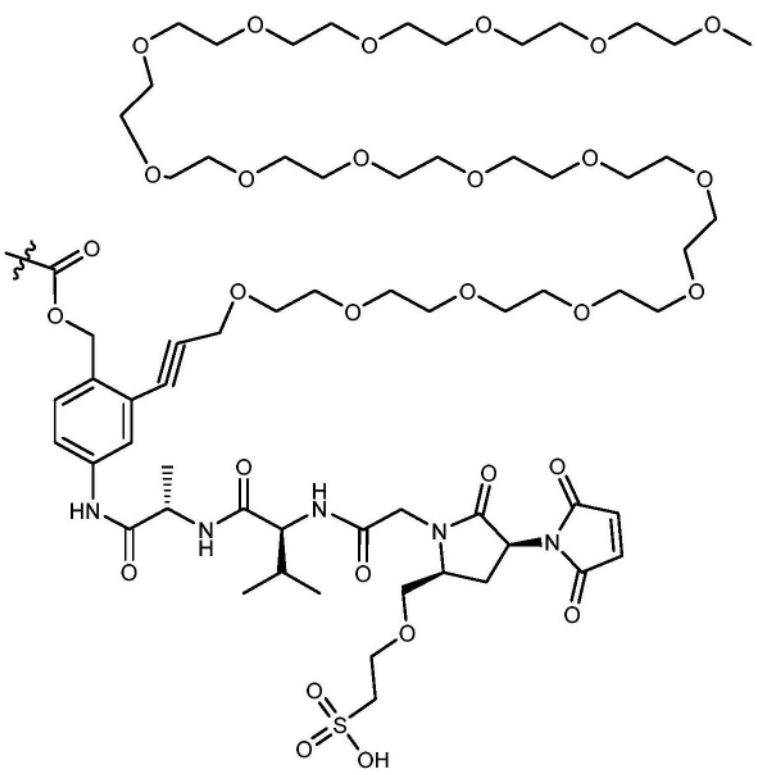
[1173] 可以包括在本文描述的ADC中的根据结构式(VIIc)的接头的示例性实施例包括以下说明的接头(如所示,这些接头包括适合于将接头与抗体共价连接的基团):

(VIIc.1)

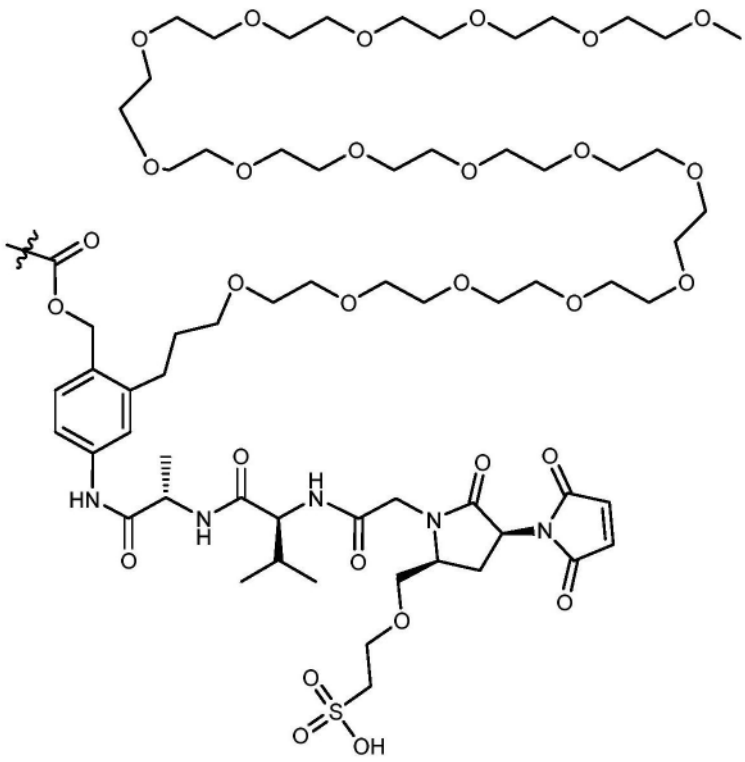


[1174]

(VIIc.2)

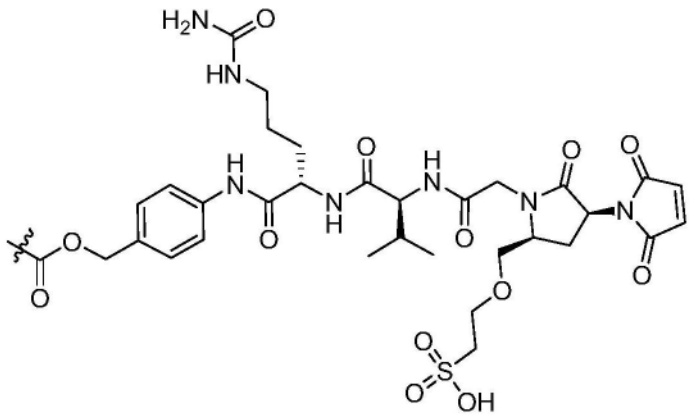


(VIIc.3)

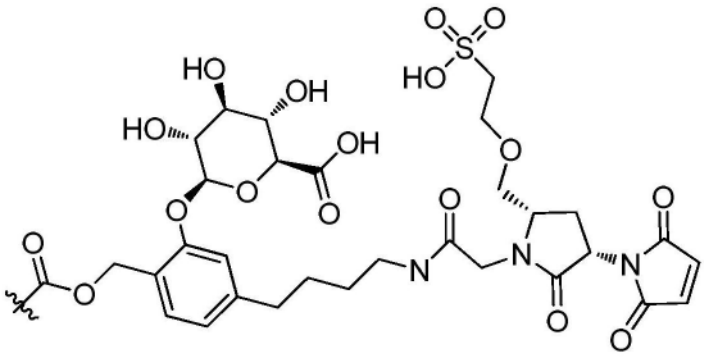


[1175]

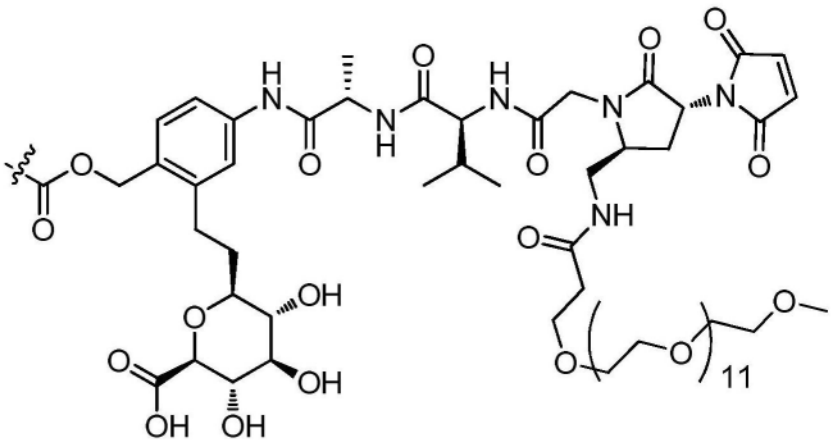
(VIIc.4)



(VIIc.5)



[1176] (VIIc.6)

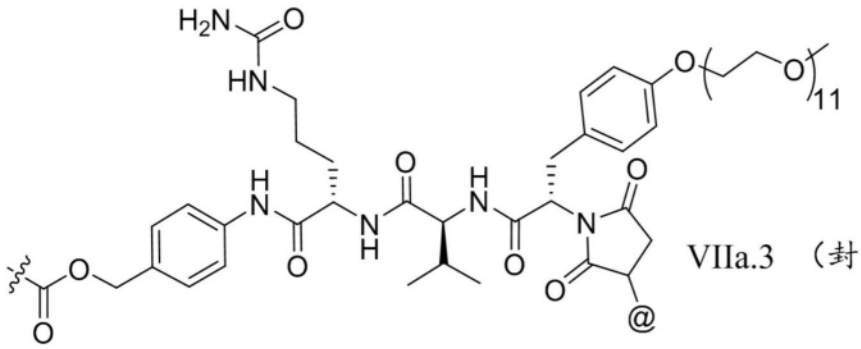


[1177] 在某些实施例中,L选自下组,该组由以下组成:处于封闭或开放形式的IVa.1-IVa.8、IVb.1-IVb.19、IVc.1-IVc.7、IVd.1-IVd.4、Va.1-Va.12、Vb.1-Vb.10、Vc.1-Vc.11、Vd.1-Vd.6、Ve.1-Ve.2、VIa.1、VIc.1-V1c.2、VId.1-VId.4、VIIa.1-VIIa.4、VIIb.1-VIIb.8、VIIc.1-VIIc.6,及其药学上可接受的盐。

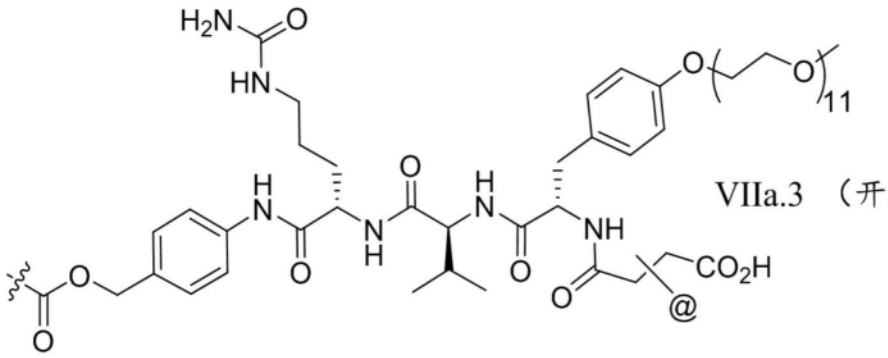
[1178] 在某些实施例中,L选自下组,该组由以下组成:IVb.2、IVc.5、IVc.6、IVc.7、IVd.4、Vb.9、VIIa.1、VIIa.3、VIIc.1、VIIc.4、和VIIc.5,及其药学上可接受的盐,其中每个接头的马来酰亚胺与抗体Ab反应形成呈琥珀酰亚胺(封闭形式)或琥珀酰胺(开放形式)的共价附接。

[1179] 在某些实施例中,L选自下组,该组由以下组成:IVb.2、IVc.5、IVc.6、IVd.4、VIIa.1、VIIa.3、VIIc.1、VIIc.4、和VIIc.5,及其药学上可接受的盐,其中每个接头的马来酰亚胺与抗体Ab反应形成呈琥珀酰亚胺(封闭形式)或琥珀酰胺(开放形式)的共价附接。

[1180] 在某些实施例中,L选自下组,该组由以下组成:IVb.2、VIIa.3、IVc.6、和VIIc.1,其中 $\sim$ 是与药物D的附接点,并且@是与LK的附接点,其中当该接头处于如以下所示的开放形式时,@可以位于其旁的羧酸的α位或β位:

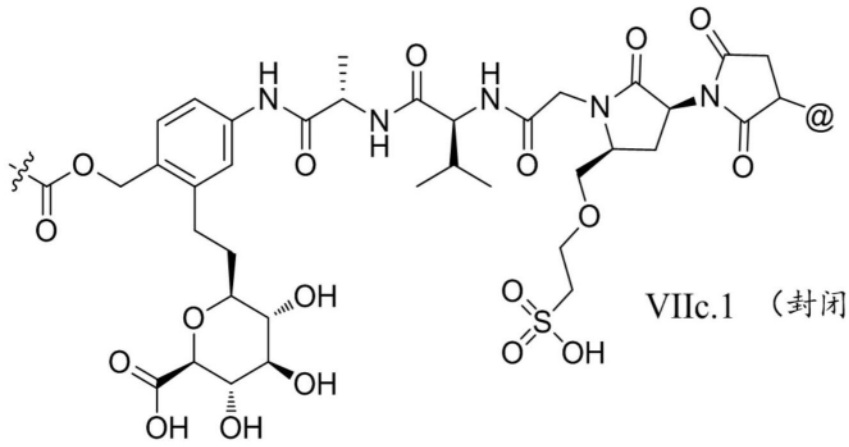


VIIa.3 （封闭形式）

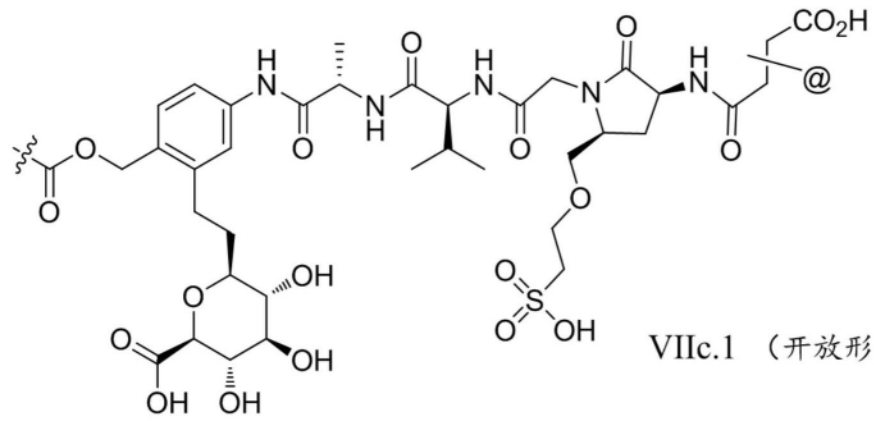


VIIa.3 （开放形式）

[1181]

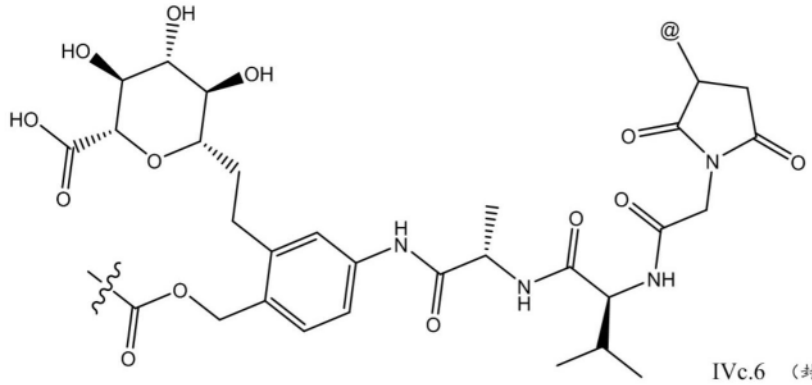


VIIc.1 （封闭形式）

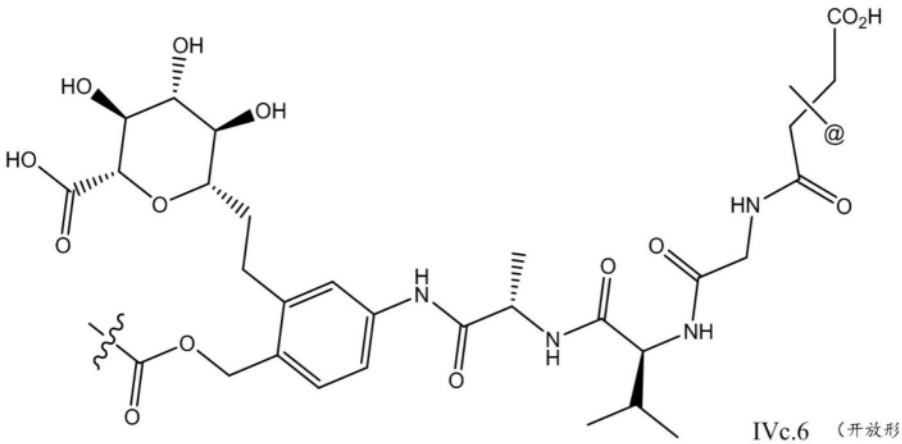


VIIc.1 （开放形式）

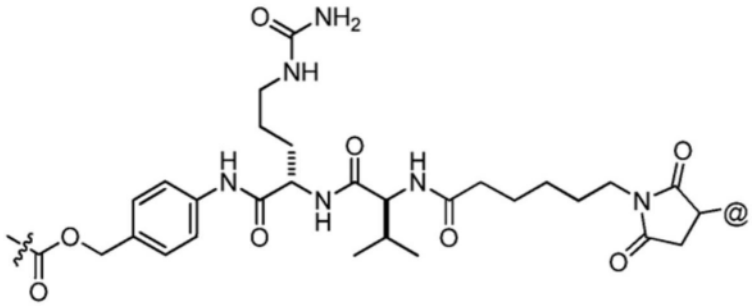
[1182]



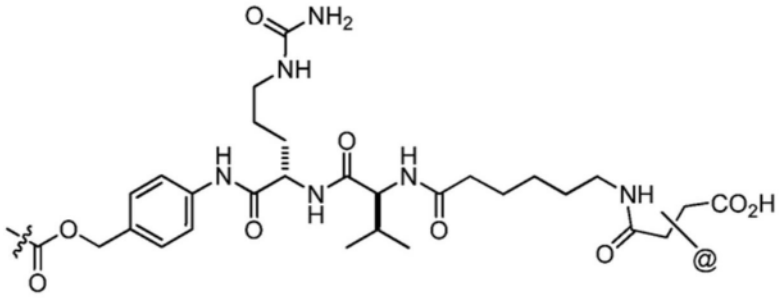
IVc.6 （封闭形式）、



IVc.6 （开放形式）、



IVb.2（封闭形式）、和



IVb.2（开放形式）。

[1183] Bcl-xL接头选择注意事项

[1184] 如本领域技术人员所知，为特定ADC选择的接头可能受多种因素的影响，包括但不

限于与抗体附接的位点(例如,lys、cys或其他氨基酸残基)、药物药效团的结构限制和药物的亲脂性。为ADC选择的特异性接头应寻求平衡特定抗体/药物组合的这些不同因素。关于受ADC中接头选择影响的因素的综述,请参见Nolting,第5章"Linker Technology in Antibody-Drug Conjugates[抗体-药物偶联物中的接头技术]",在:Antibody-Drug Conjugates:Methods in Molecular Biology[抗体-药物偶联物:分子生物学方法],第1045卷,第71-100页,Laurent Ducry(编),Springer Science&Business Medica,LLC(施普林格科学与商业医学有限责任公司),2013。

[1185] 例如,已经观察到ADC影响存在于抗原阳性肿瘤细胞附近的旁观者抗原阴性细胞的杀伤。ADC对旁观者细胞的杀伤机制表明,在ADC的细胞内加工过程中形成的代谢产物可能起作用。通过抗原阳性细胞中的ADC代谢产生的中性细胞毒性代谢物似乎在旁观者细胞杀伤中起作用,同时可以防止带电的代谢物扩散穿过膜进入培养基,因此不会影响旁观者杀伤。在某些实施例中,选择接头以减弱由ADC的细胞代谢物引起的旁观者杀伤作用。在某些实施例中,选择接头以增加旁观者杀伤效果。

[1186] 接头的性质也可能在使用和/或储存条件下影响ADC的聚集。通常,文献中报道的ADC每个抗体分子含有不超过3-4个药物分子(参见,例如Chari,2008,Acc Chem Res[化学研究报告]41:98-107)。由于ADC的聚集,试图获得更高的药物-抗体比率("DAR")经常失败,特别是如果该药物和接头都是疏水的(King等人,2002,J Med Chem[药物化学杂志]45:4336-4343;Hollander等人,2008,Bioconjugate Chem[生物共轭化学]19:358-361;Burke等人,2009Bioconjugate Chem[生物共轭化学]20:1242-1250)。在许多情况下,高于3-4的DAR作为增加效力的手段是有益的。在Bcl-xL抑制剂本质上是疏水的情况下,希望的是选择相对亲水的接头作为减少ADC聚集的手段,尤其是在希望大于3-4的DARS的情况下。因此,在某些实施例中,接头掺入化学部分,其在储存和/或使用期间减少ADC的聚集。接头可以掺入极性或亲水基团,例如带电基团或在生理pH下变为带电的基团,以减少ADC的聚集。例如,接头可以掺入带电基团,例如在生理pH下去离子化的盐或基团例如羧酸盐或质子化,或质子化的盐或基团例如胺。

[1187] 已报道可产生高达20的DAR的可用于将许多Bcl-xL抑制剂与抗体连接的示例性多价接头描述于美国专利号8,399,512;美国公开申请号2010/0152725;美国专利号8,524,214;美国专利号8,349,308;美国公开申请号2013/189218;美国公开申请号2014/017265;WO 2014/093379;WO 2014/093394;WO 2014/093640,其各自的内容以全文引用的方式并入本文中。

[1188] 在特定实施例中,如通过尺寸排阻色谱法(SEC)测定,在储存或使用期间ADC的聚集少于约40%。在特定实施例中,如尺寸排阻色谱法(SEC)测定,ADC在储存或使用期间的聚集少于35%、例如少于约30%、例如少于约25%、例如少于约20%、例如少于约15%、例如少于约10%、例如少于约5%、例如少于约4%、或甚至更少。

[1189] III.A.3.Bcl-xL ADC合成子

[1190] 抗体-药物偶联物合成子是用于形成ADC的合成中间体。这些合成子通常是根据结构式(III)的化合物:

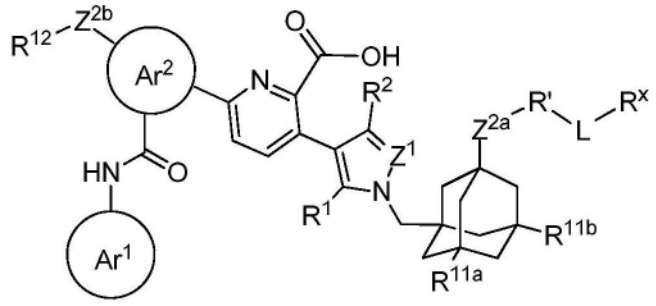
[1191] (III)D-L-R^x

[1192] 或其药学上可接受的盐,其中D是如先前所述的Bcl-xL抑制剂,L是如先前所述的

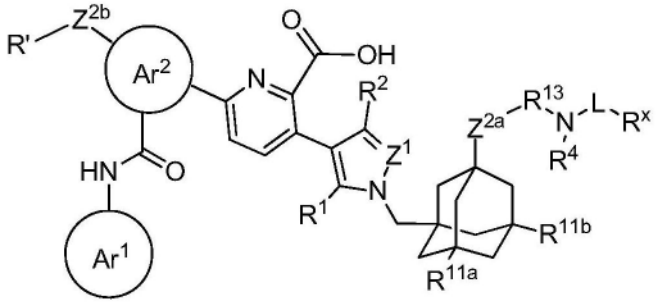
接头，并且R^x是适合于将该合成子与抗体连接的反应基团。

[1193] 在具体的实施例中，中间合成子是根据以下结构式(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)的化合物或其药学上可接受的盐，其中各种取代基Ar^1、Ar^2、Z^1、Z^{2a}、Z^{2b}、R'、R^1、R^2、R^4、R^{11a}、R^{11b}、R^{12}和R^{13}分别如前面对结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)和(IId)所定义，L是如前所述的接头并且R^x是如上所述的官能团：

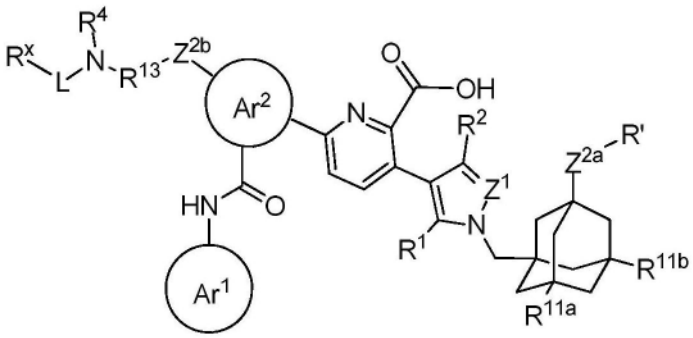
(IIIa)



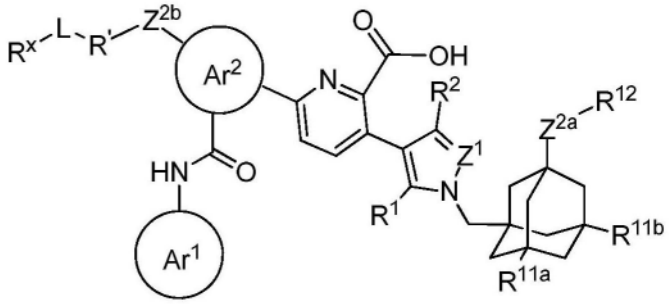
[1194] (IIIb)



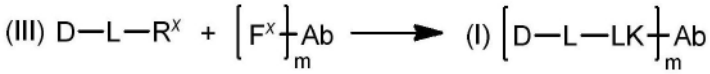
(IIIc)



[1195] (IIId)



[1196] 为了合成ADC，在功能基团R^x与抗体上的“互补”官能团反应的条件下，使根据结构式(III)的中间体合成子或其盐与目标抗体F^x接触，形成共价键。

[1197] 

[1198] 基团R^x和F^x的同一性将取决于用于将合成子与抗体连接的化学物质。通常,所用的化学物质不应改变抗体的完整性,例如其结合其靶标的能力。优选地,偶联抗体的结合特性与未偶联抗体的结合特性非常相似。用于将分子与生物分子例如抗体偶联的各种化学物质和技术是本领域已知的,本期特别是与抗体偶联,是众所周知的。参见,例如,Amon等人,"Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy[用于癌症治疗中药物免疫靶向的单克隆抗体],"在Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy[单克隆抗体和癌症疗法]中,Reisfeld等人编辑,Alan R.Liss公司,1985;Hellstrom等人,"Antibodies For Drug Delivery[用于药物递送的抗体]",在Controlled Drug Delivery[控制药物输送]中,Robinson等人编辑,Marcel Dekker公司,第2版.1987;Thorpe,"Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy:A Review[细胞毒剂在癌症治疗中的抗体载体:综述],"在Monoclonal Antibodies'84:Biological And ClinicalApplications[单克隆抗体'84:生物与临床应用],Pinchera等人编辑,1985;"Analysis,Results,and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy[放射性标记的抗体在癌症治疗中的治疗用途的分析、结果和未来前景],"在Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy[用于癌症检测和治疗的单克隆抗体],Baldwin等人编辑,Academic Press[学术出版社],1985;Thorpe等人,1982,Immunol.Rev.[免疫综述]62:119-58;PCT公开WO 89/12624。这些化学物质中的任何一种都可用于将合成子与抗体连接。

[1199] 典型地,将合成子连接至抗体的氨基酸残基的侧链,包括例如易接近的赖氨酸残基的伯氨基基团、或易接近的半胱氨酸残基的巯基基团。通过还原链间二硫键可以获得游离的巯基。在某些实施例中,LK是与抗hB7-H3抗体Ab上的氨基基团形成的键。在某些实施例中,LK是酰胺、硫醚或硫脲。在某些实施例中,LK是酰胺或硫脲。在某些实施例中,LK是与抗hB7-H3抗体Ab上的巯基基团形成的键。在某些实施例中,LK是硫醚。在某些实施例中,LK是酰胺、硫醚或硫脲;并且m是范围从1至8的整数。

[1200] 许多官能团R^x和用于将合成子与可接近的赖氨酸残基连接的化学物质是已知的,并且包括例如但不限于NHS-酯和异硫氰酸酯。

[1201] 许多官能团R^x和用于将合成子连接到半胱氨酸残基的可接近的游离巯基上的化学物质是已知的,并且包括例如但不限于卤代乙酰基和马来酰亚胺。

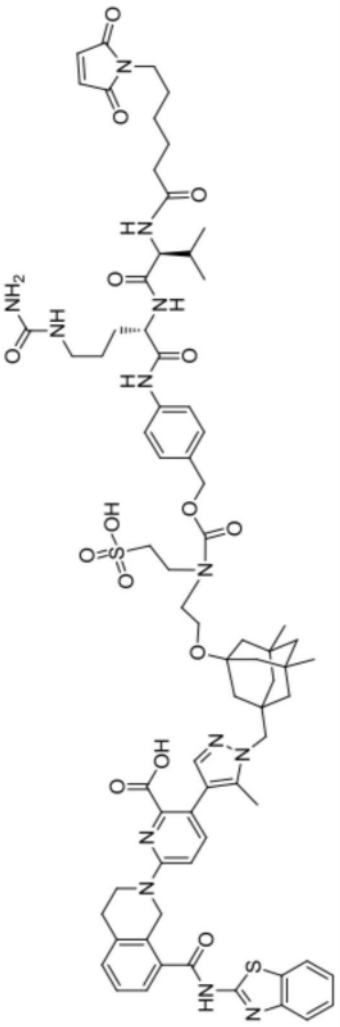
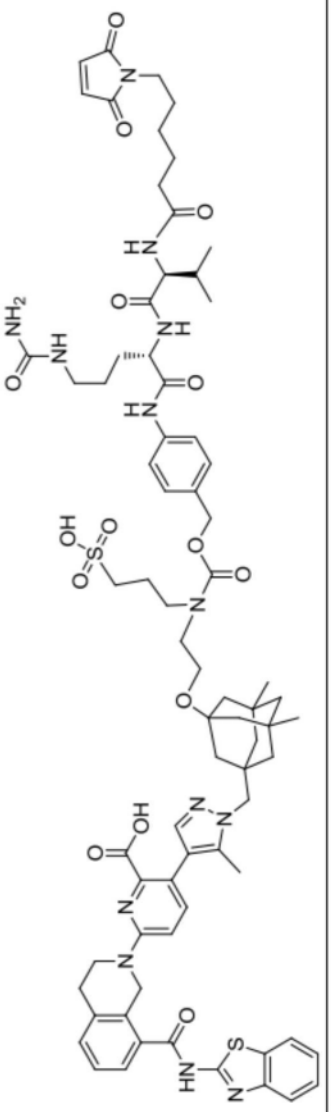
[1202] 然而,偶联物质不限于可用的侧链基团。通过将适当的小分子与胺连接,可以将侧链如胺类转化为其他有用的基团,例如羟基。该策略可用于通过将多功能小分子与抗体的可接近的氨基酸残基的侧链偶联来增加抗体上可用的连接位点的数量。然后,将合成子与这些"转化的"官能团共价连接的官能团R^x包括在合成子中。

[1203] 还可以将抗体工程化以包括用于偶联的氨基酸残基。Axup等人,2003,Proc Natl Acad Sci[美国国家科学院院刊]109:16101-16106和Tian等人,2014,Proc Natl Acad Sci[美国国家科学院院刊]111:1776-1771中描述了用于工程化抗体以包括非遗传编码的氨基酸残基(其可用于在ADC的背景下的偶联药物)的方法,也描述了用于将合成子连接到非编码氨基酸的化学过程和官能团。

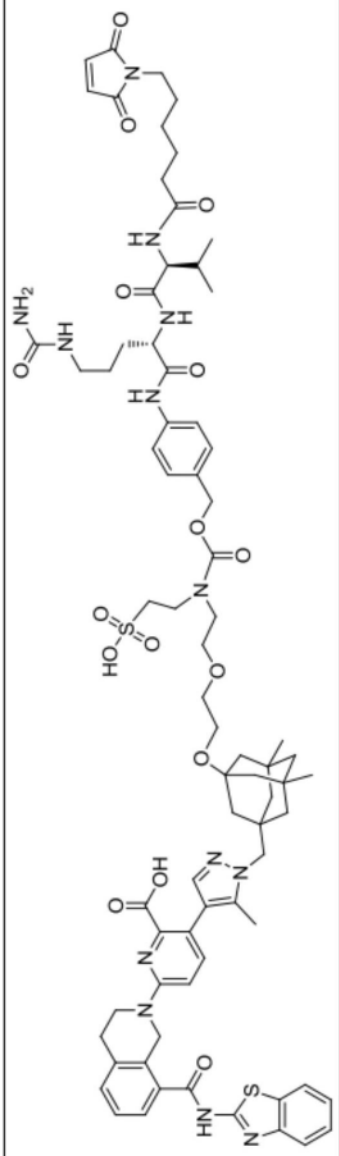
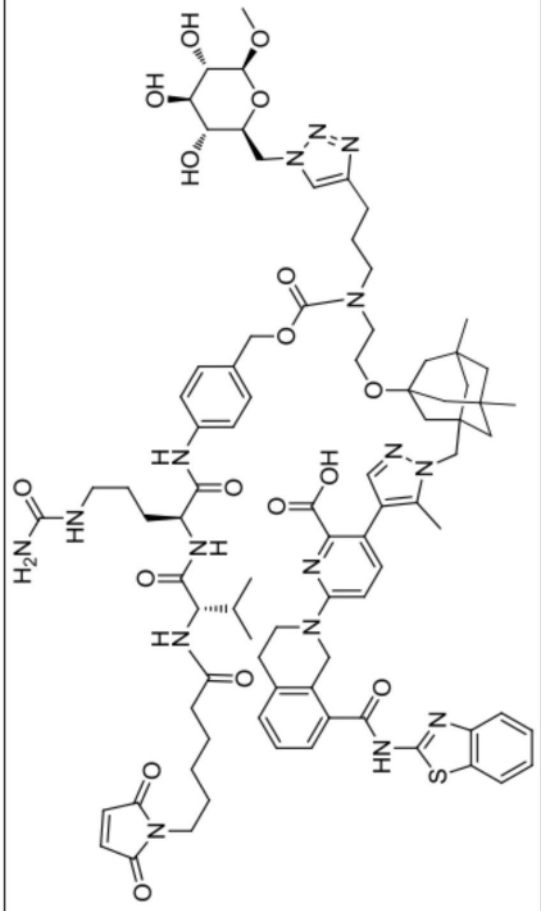
[1204] 可用于制备本文所述的ADC的示例性合成子包括但不限于下表B中列出的以下合成子。

[1205]

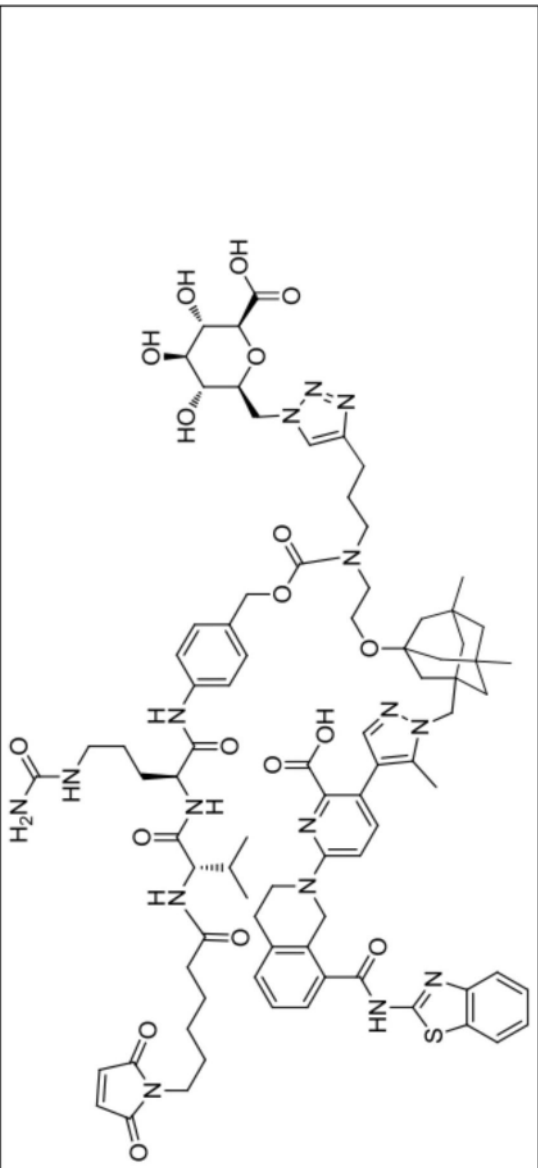
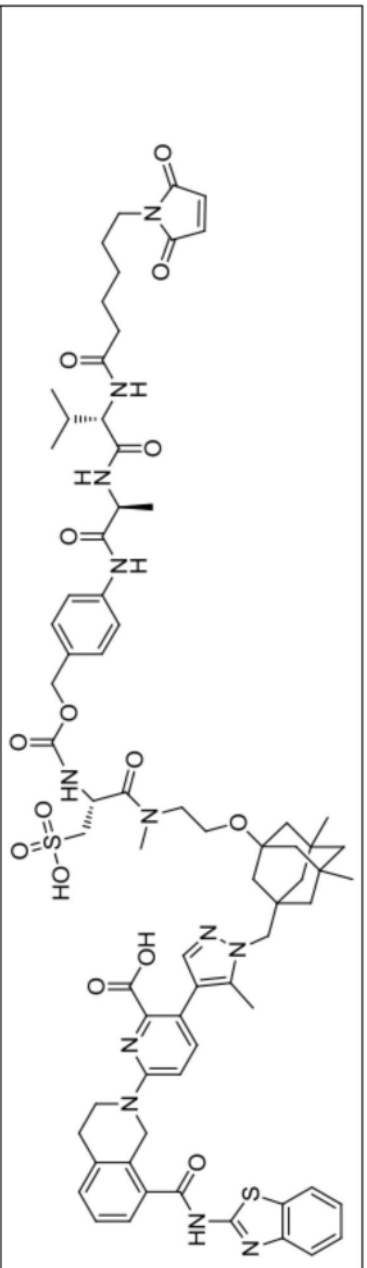
表 B

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.1	CZ	
2.2	DH	

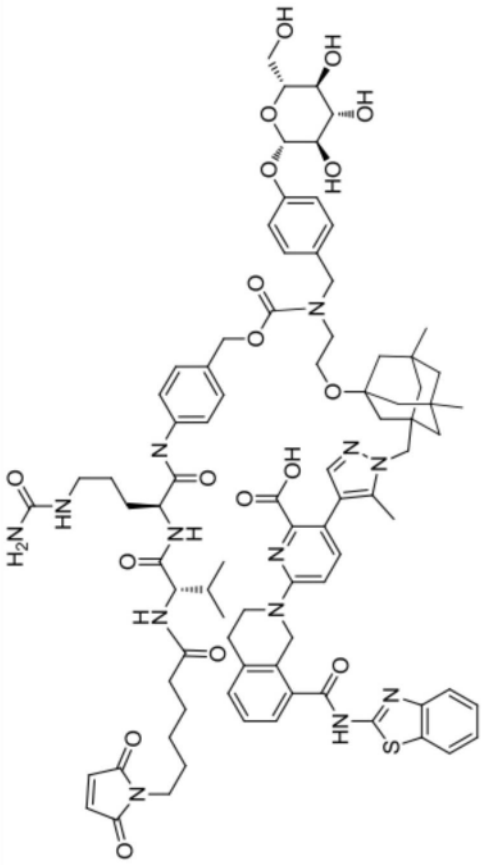
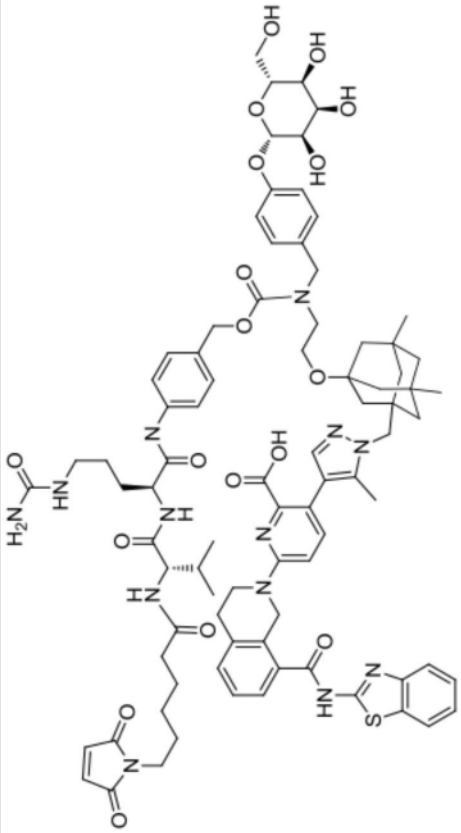
[1206]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.4	EP	
2.5	EF	

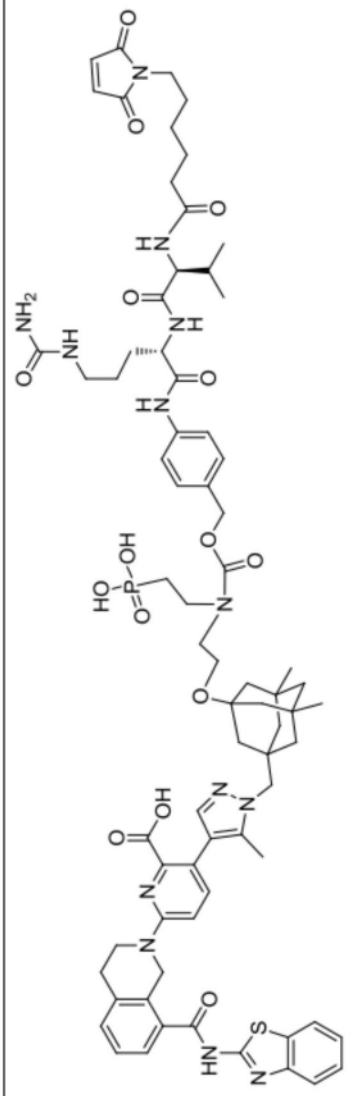
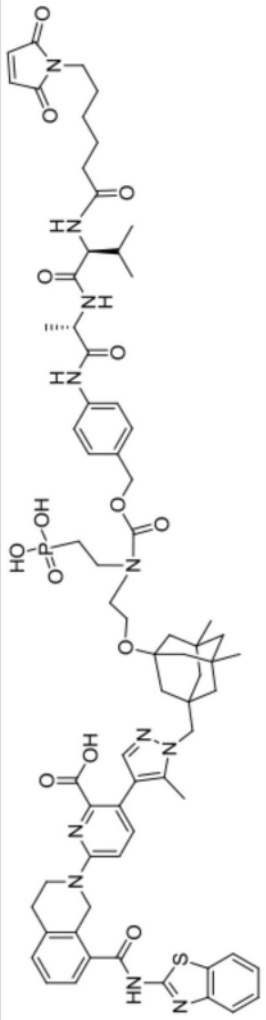
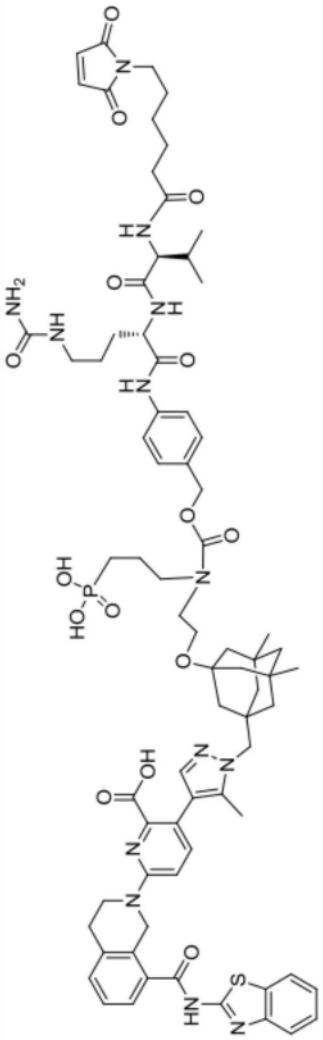
[1207]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.6	EG	
2.7	EH	

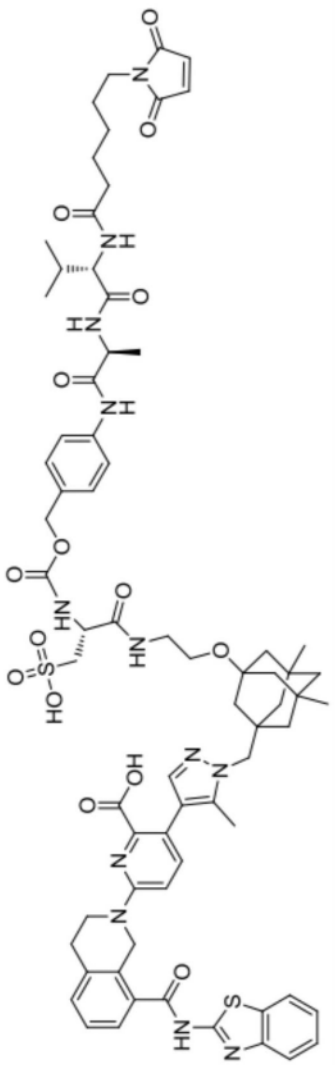
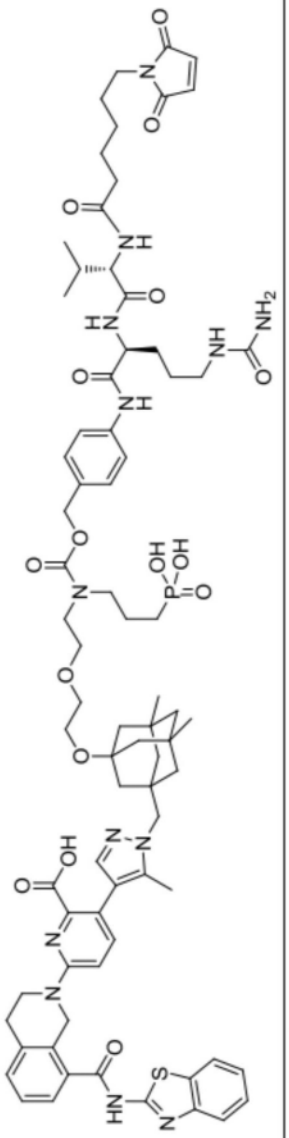
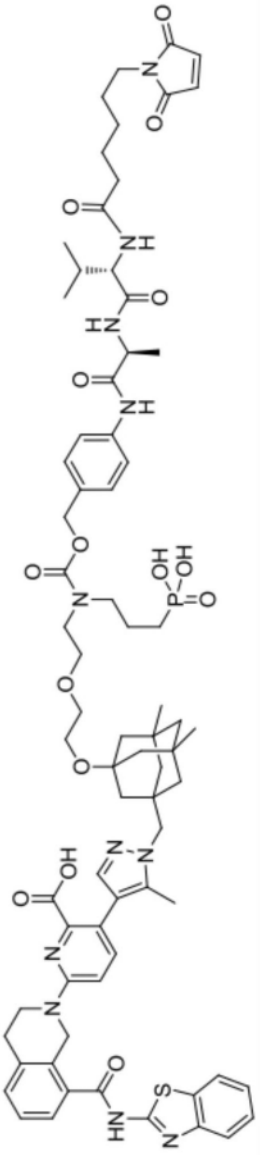
[1208]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.8	ER	
2.9	ES	

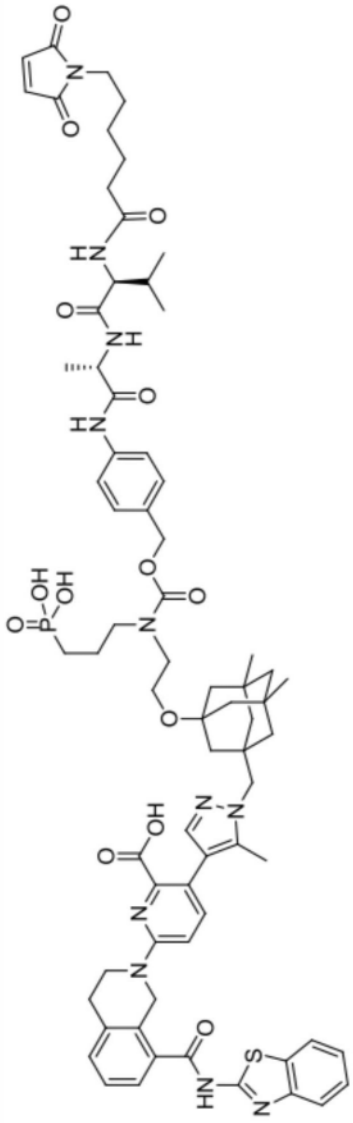
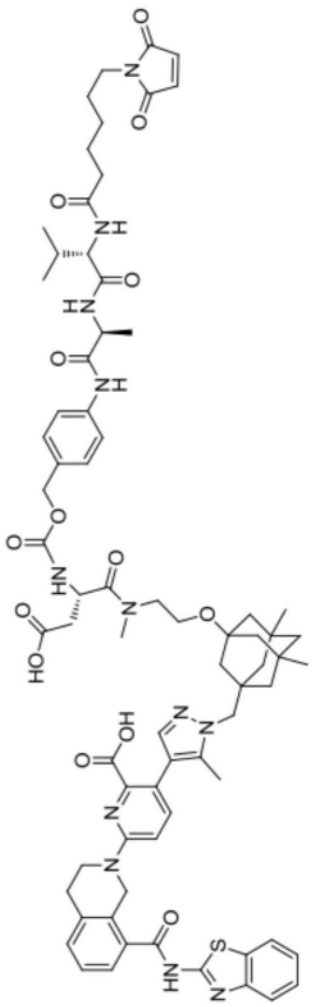
[1209]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.10	EQ	
2.11	EU	
2.12	EV	

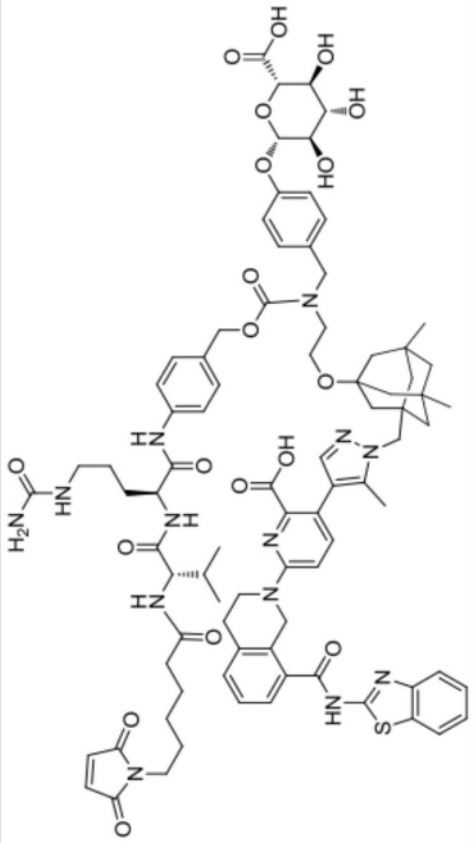
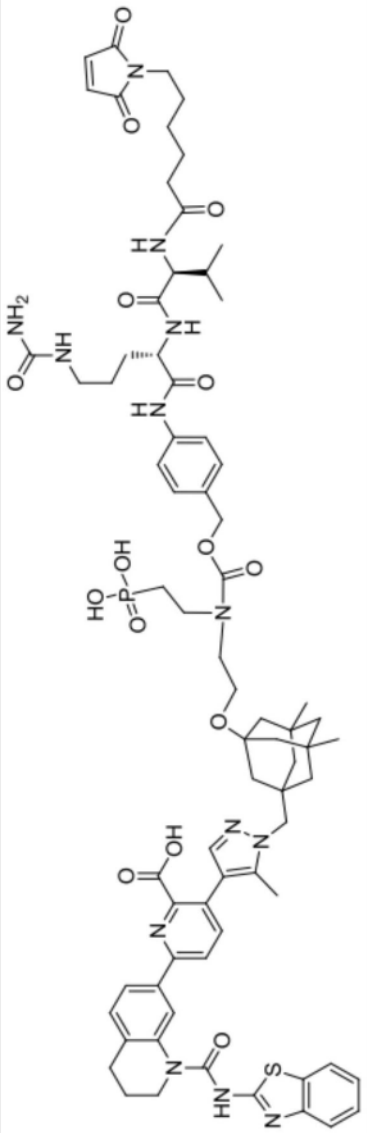
[1210]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.13	EW	
2.14	EX	
2.15	EY	

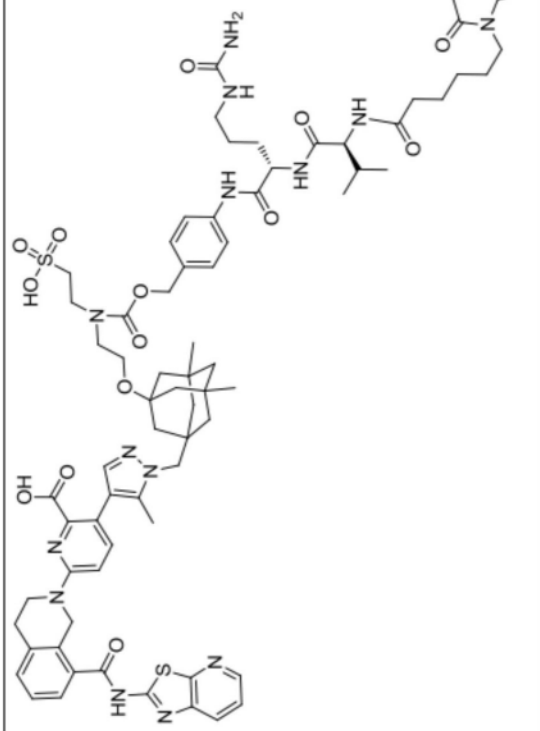
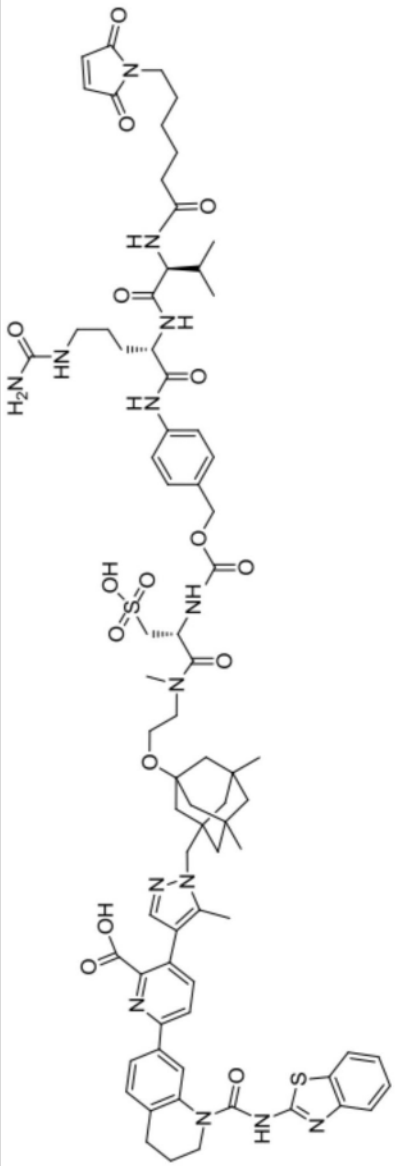
[1211]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.16	EZ	
2.17	FD	

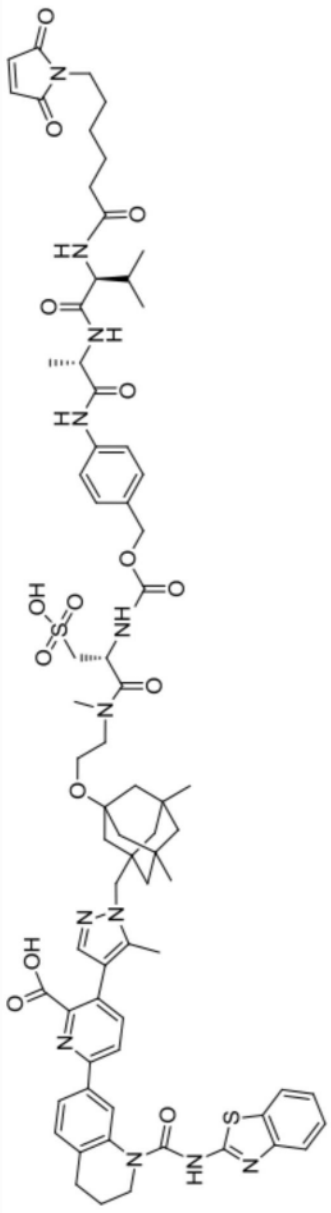
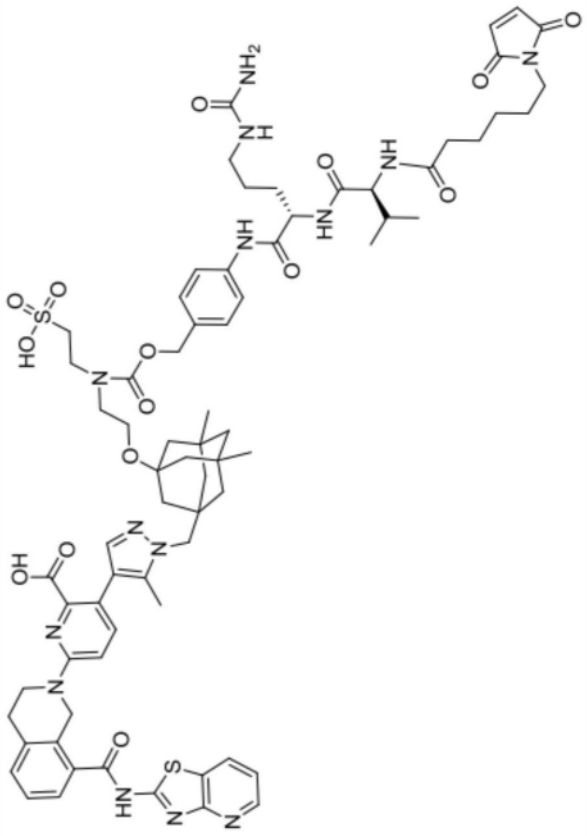
[1212]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.18	FS	
2.19	FI	

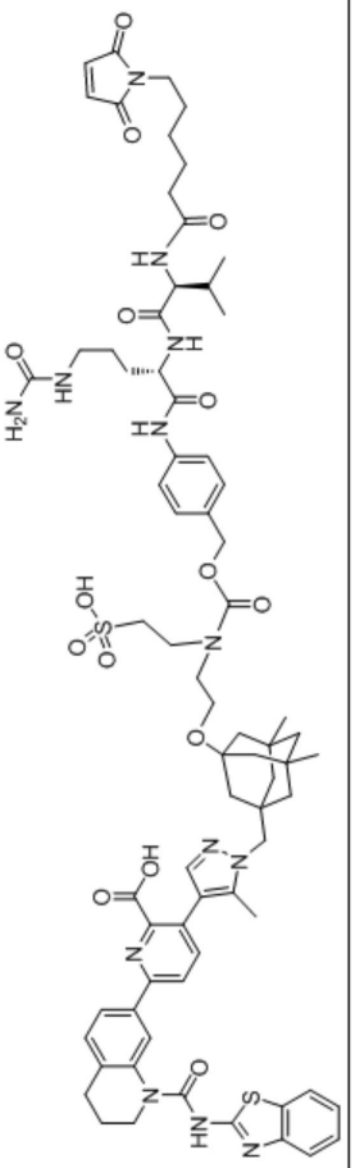
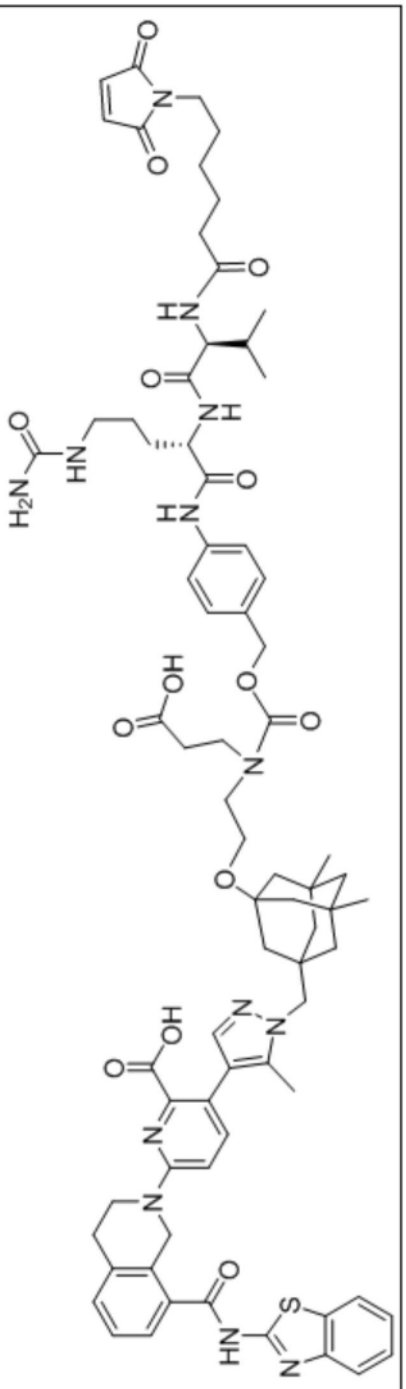
[1213]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.20	FV	
2.21	GC	

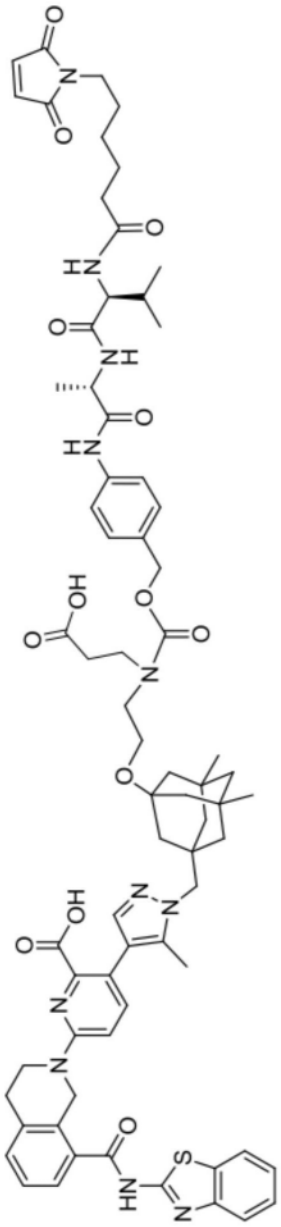
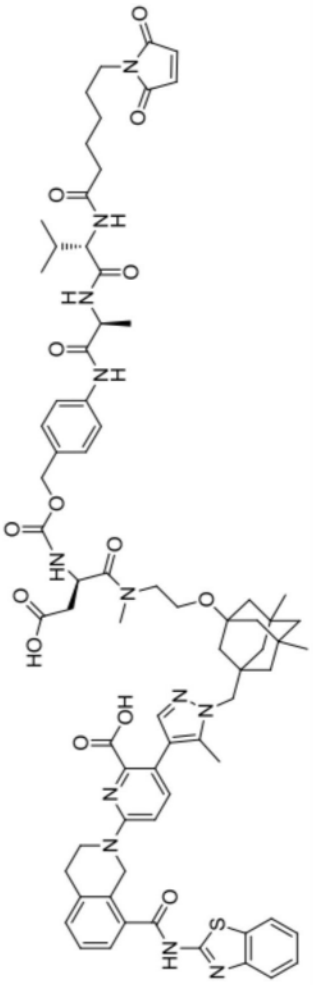
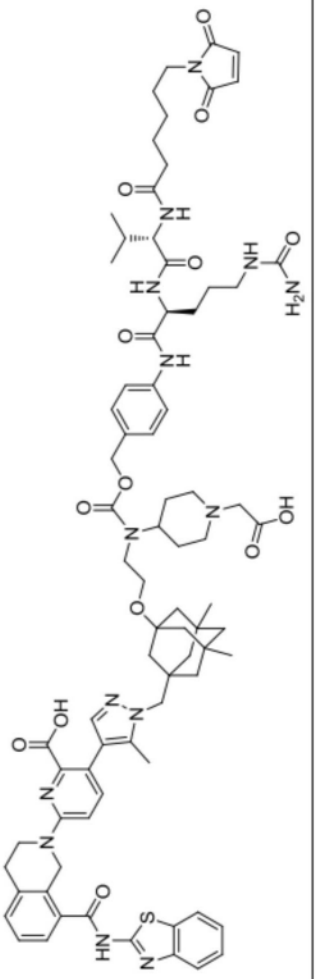
[1214]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.22	GB	
2.23	FW	

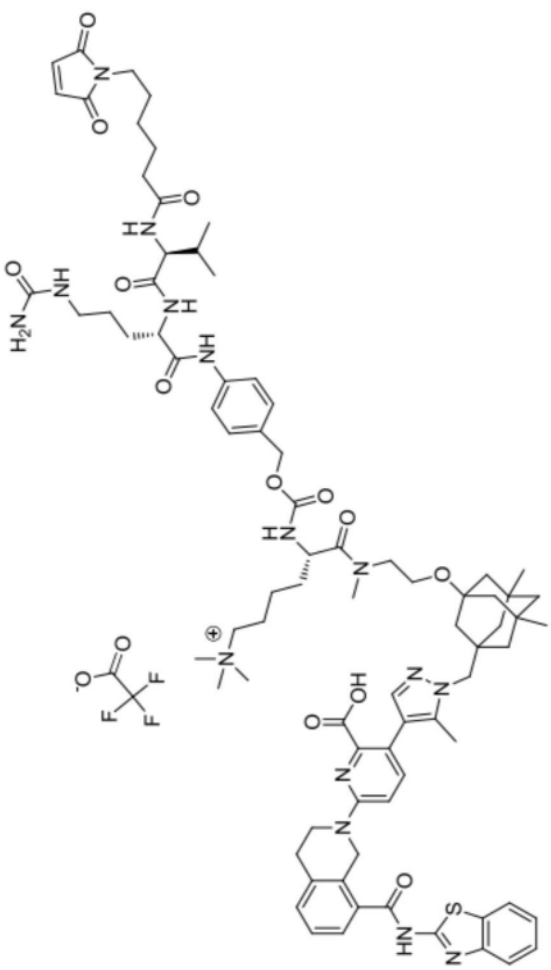
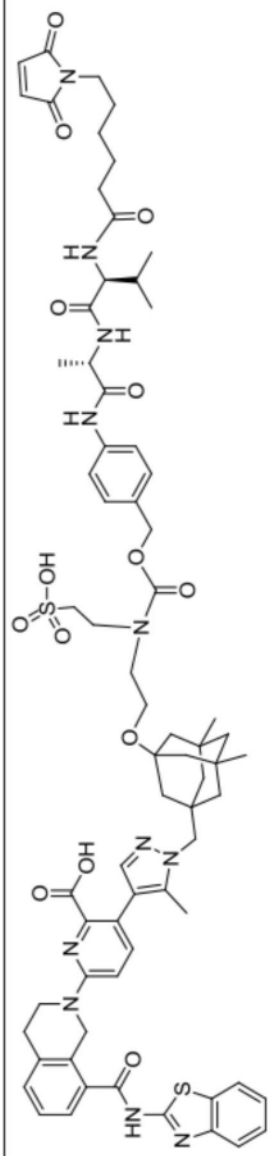
[1215]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.24	GD	
2.25	GK	

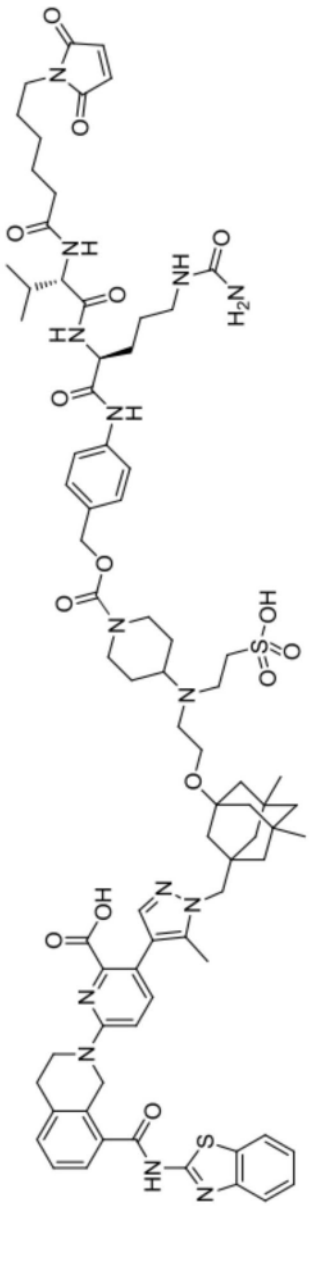
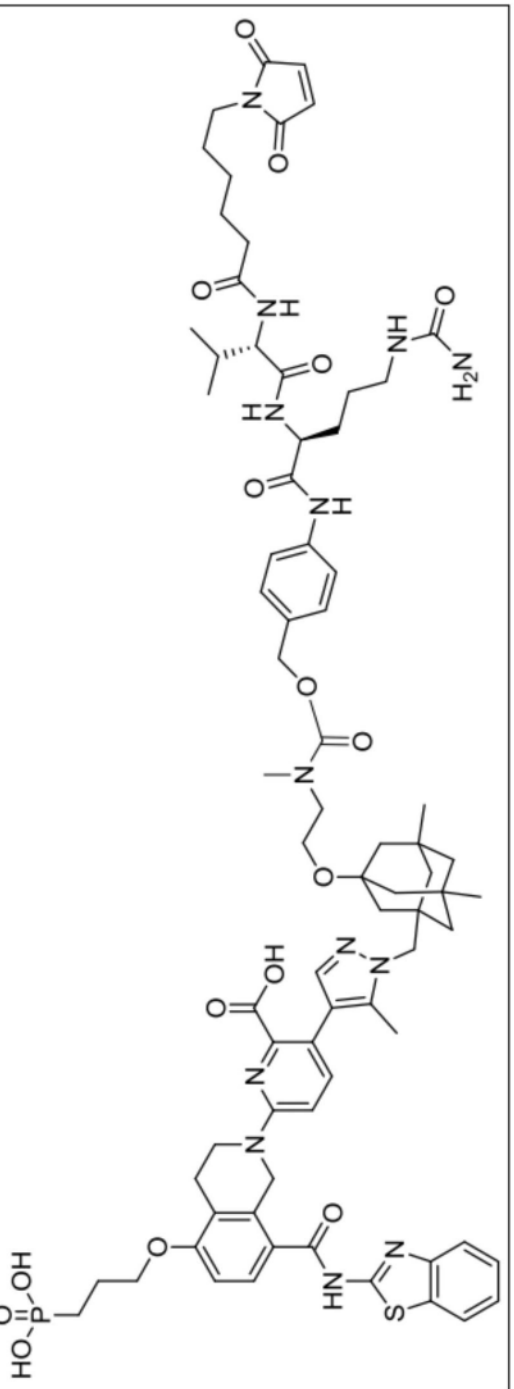
[1216]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.26	GJ	
2.27	GW	
2.28	HF	

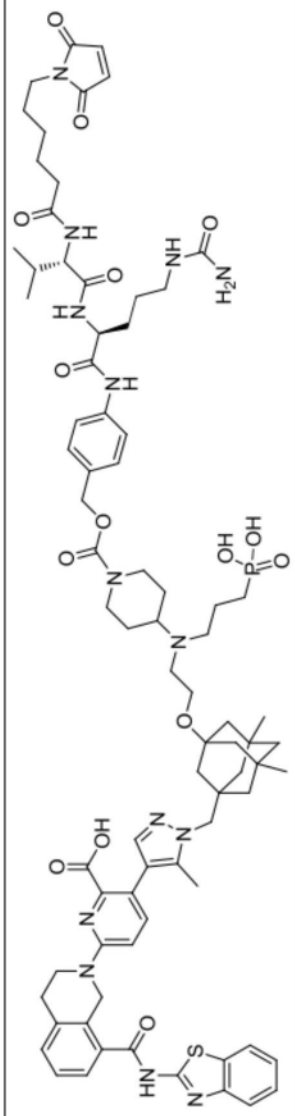
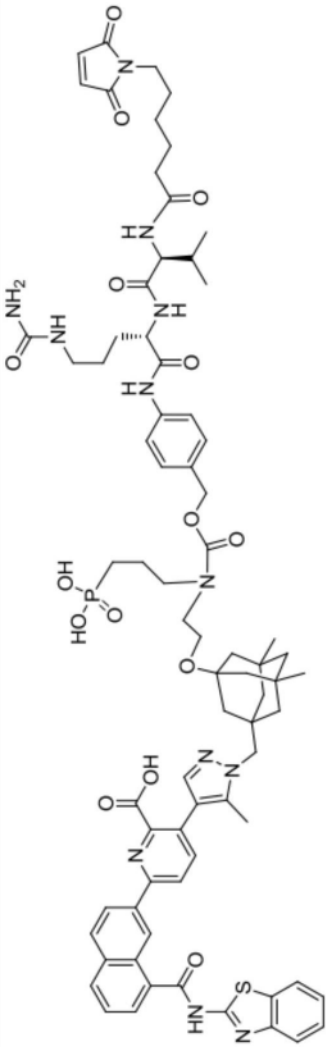
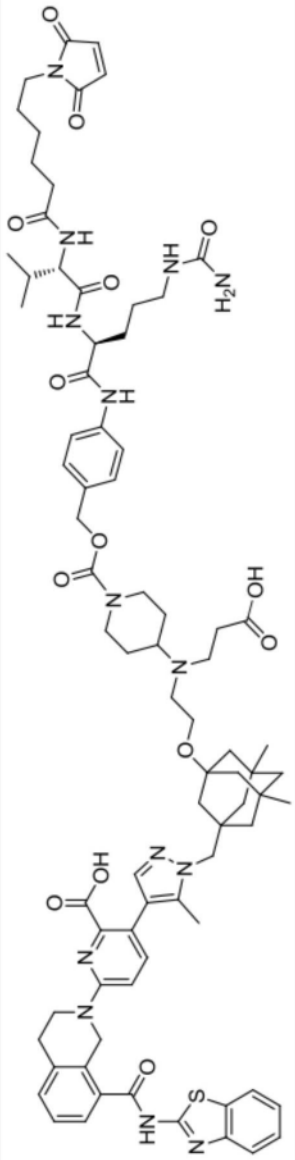
[1217]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.29	HG	
2.30	HP	

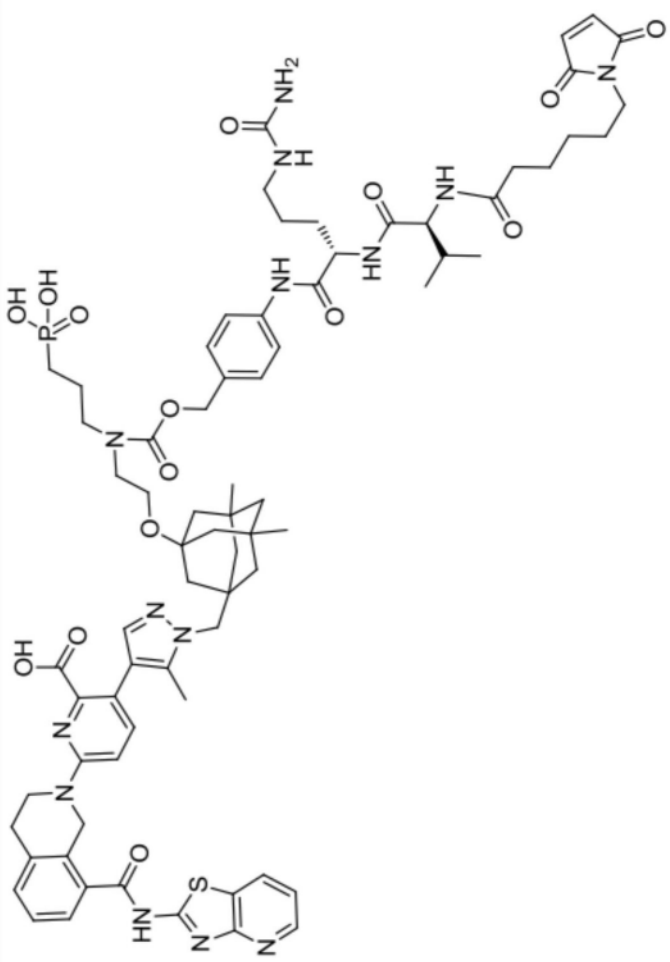
[1218]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.31	HR	
2.32	HU	

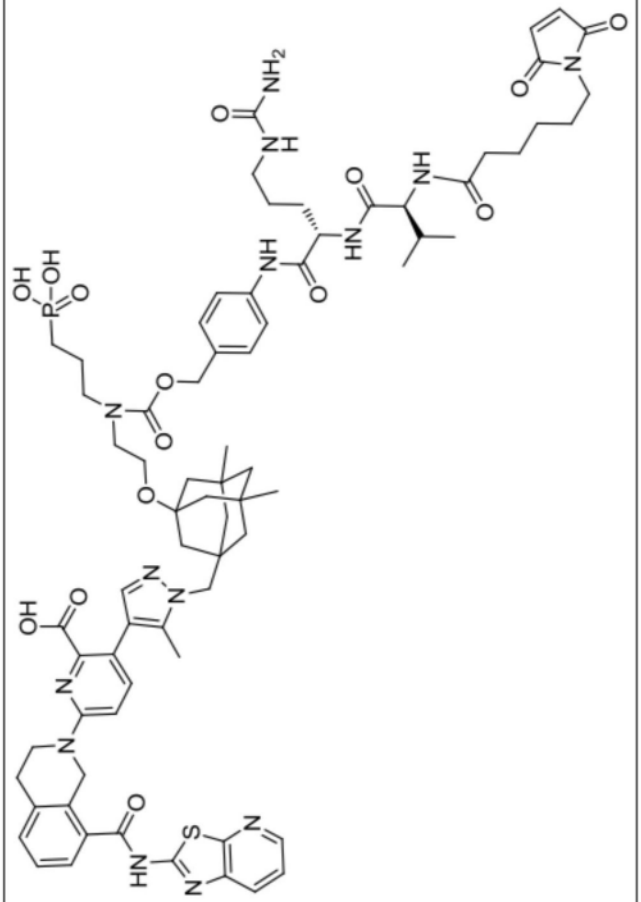
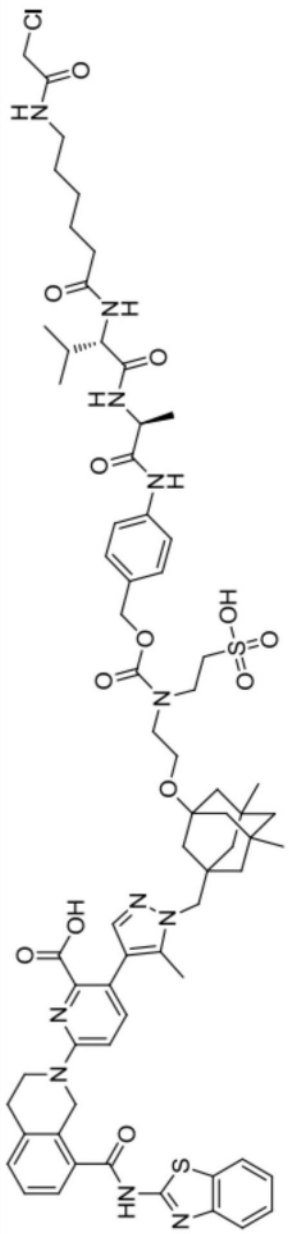
[1219]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.33	HT	
2.34	HV	
2.35	HZ	

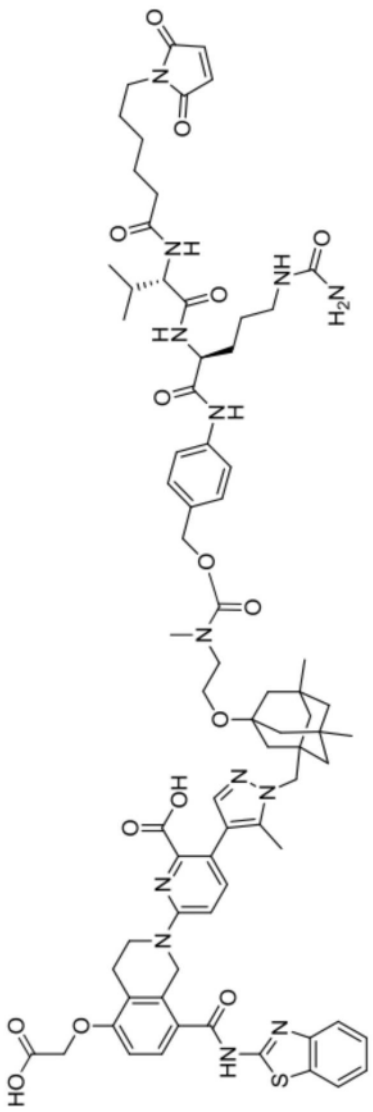
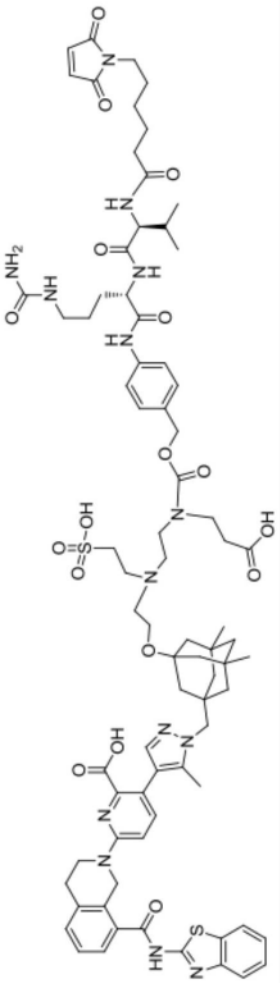
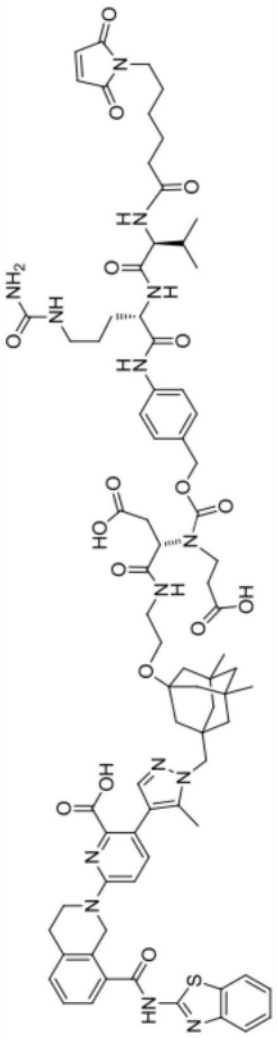
[1220]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.36	IA	

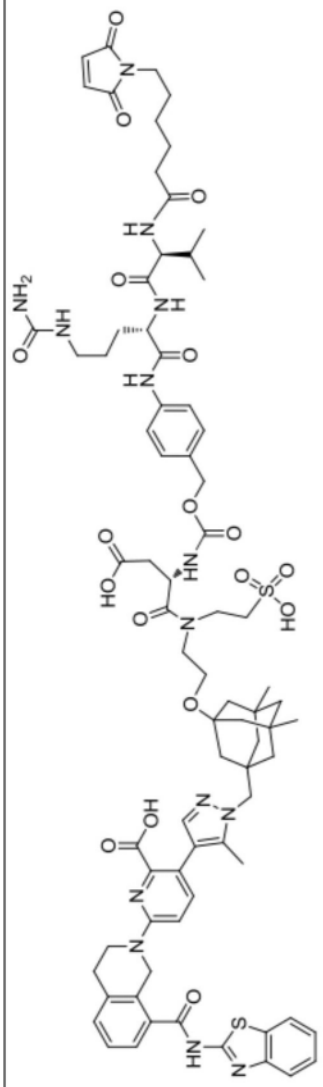
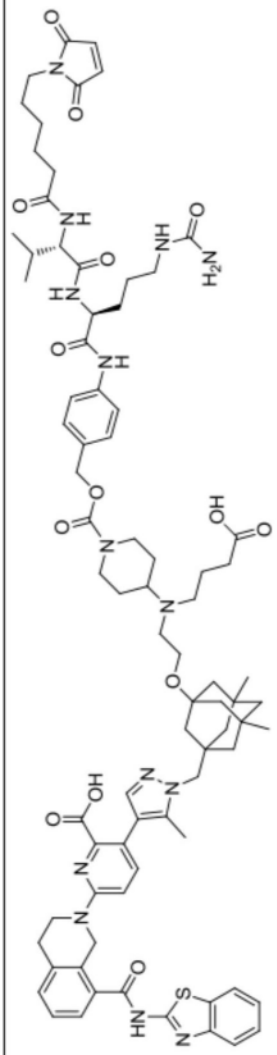
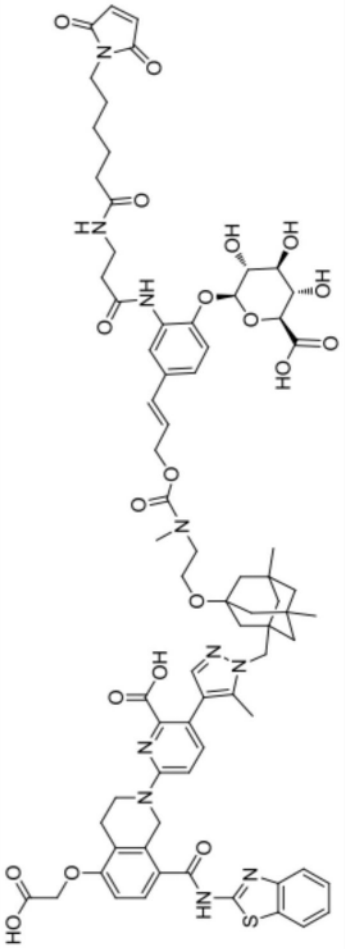
[1221]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.37	IF	
2.38	IG	

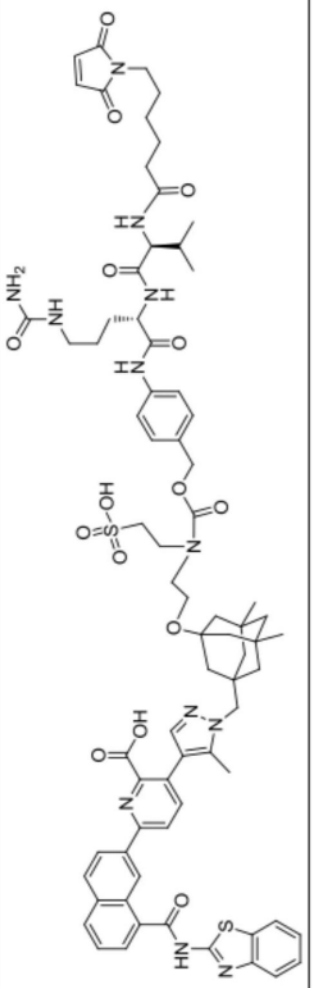
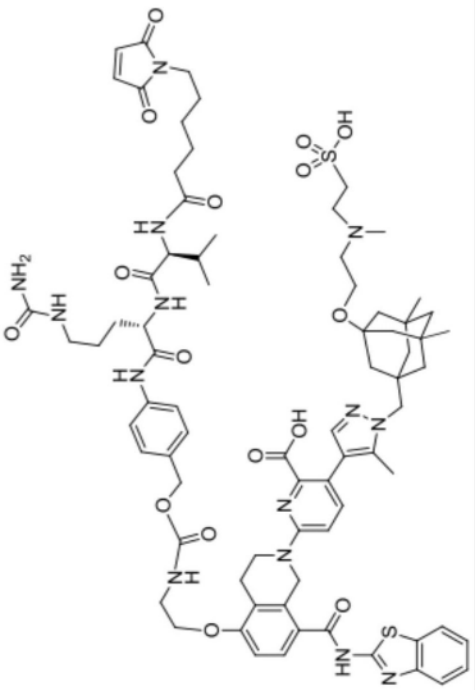
[1222]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.39	IH	
2.40	IJ	
2.41	IK	

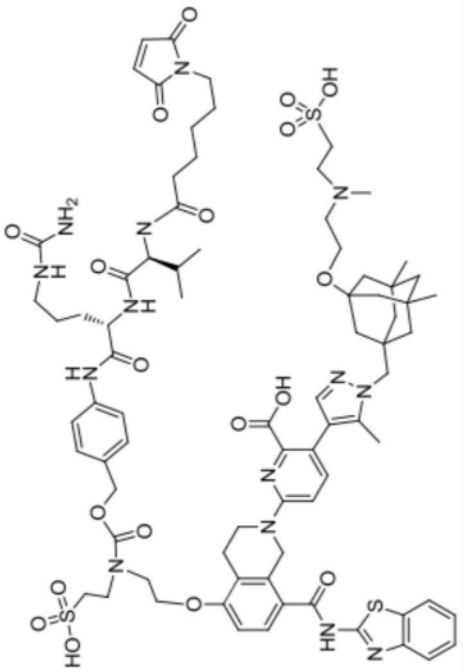
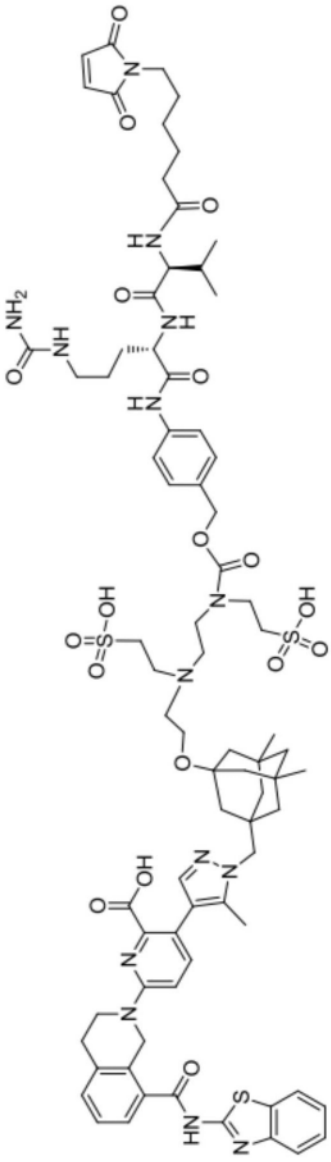
[1223]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.42	IL	
2.43	IM	
2.44	IO	

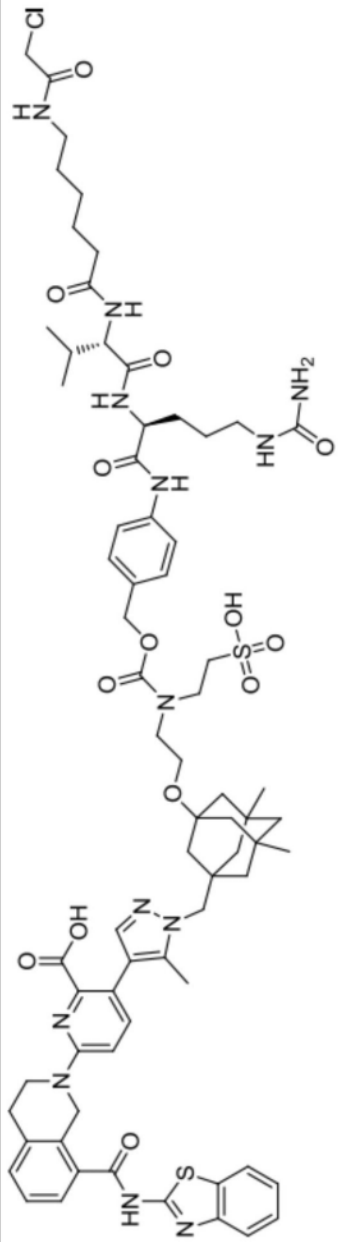
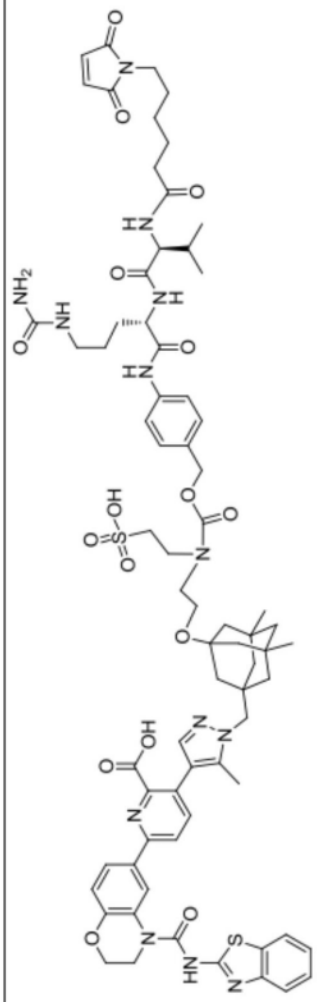
[1224]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.45	IP	
2.46	IS	

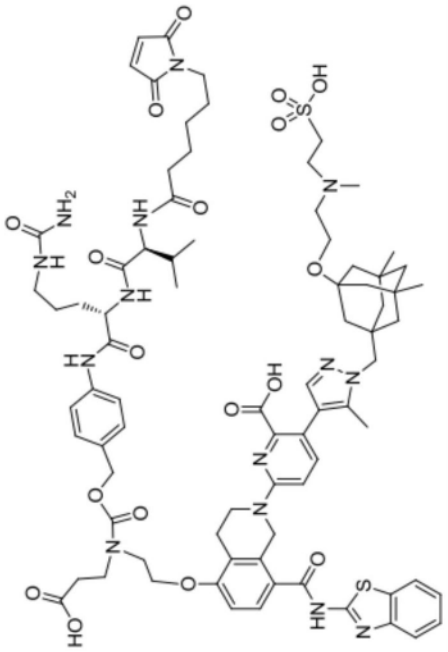
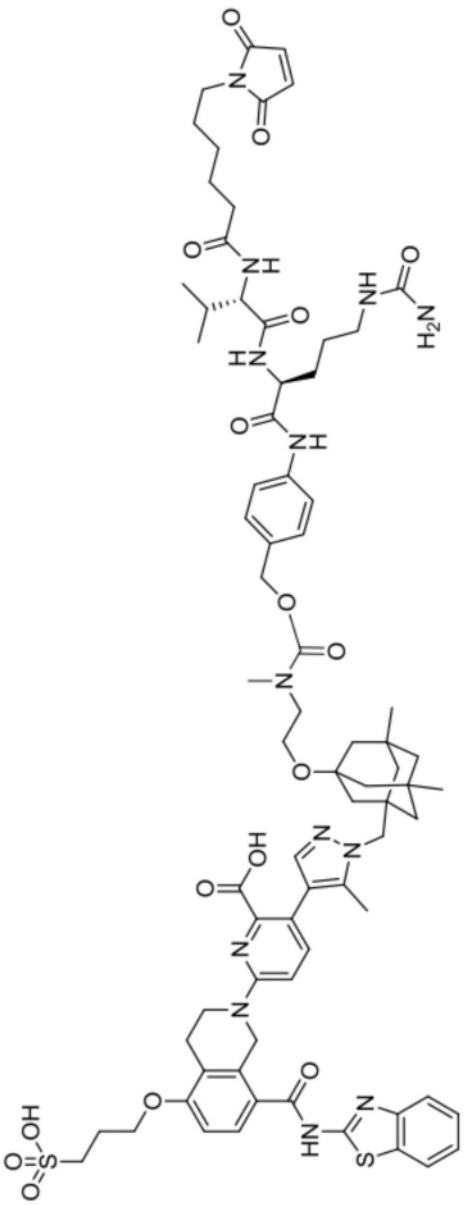
[1225]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.47	IU	
2.48	IV	

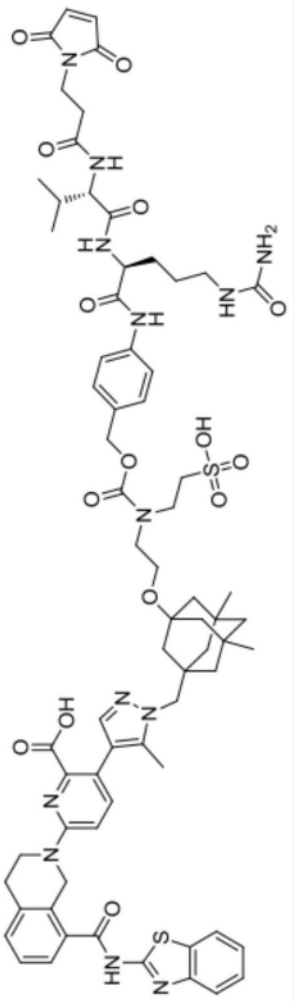
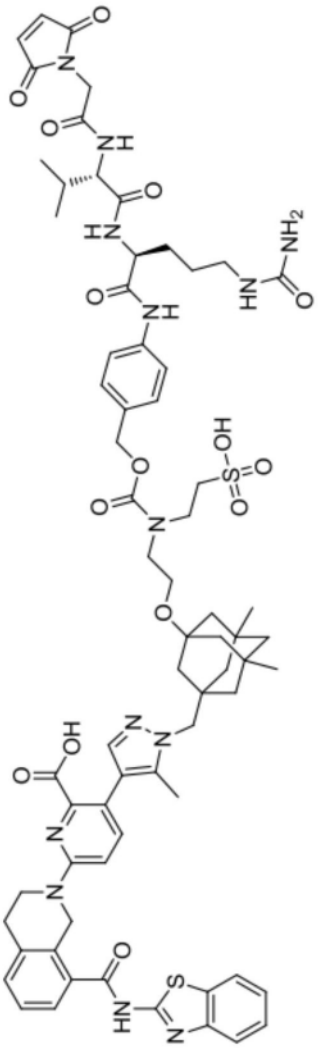
[1226]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.49	IZ	
2.50	JD	

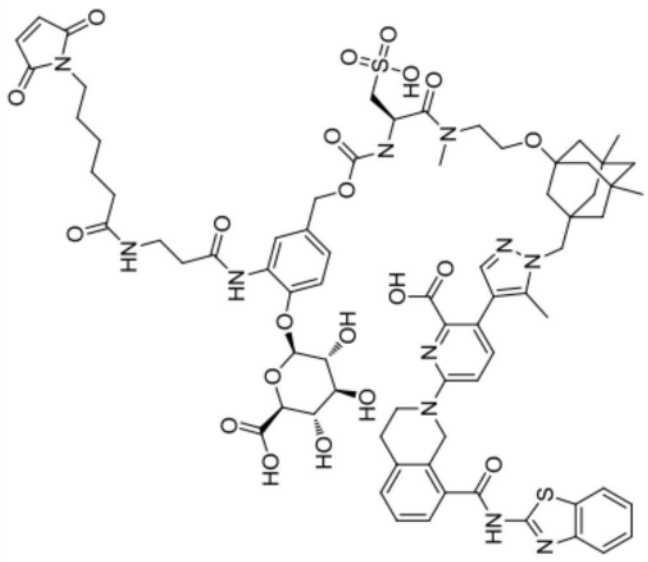
[1227]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.51	JF	
2.52	JK	

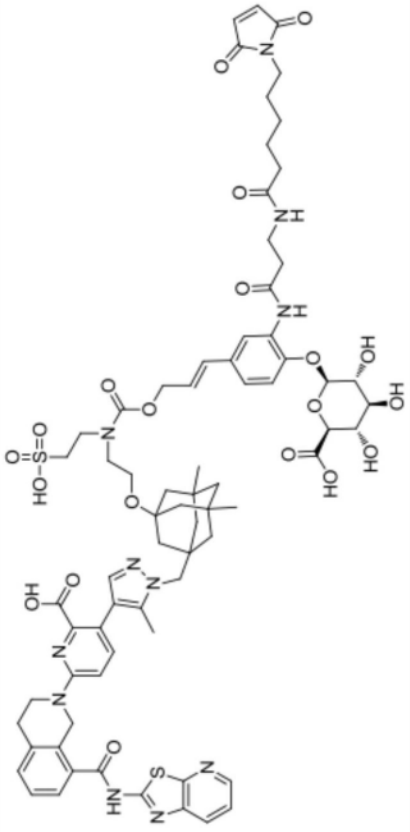
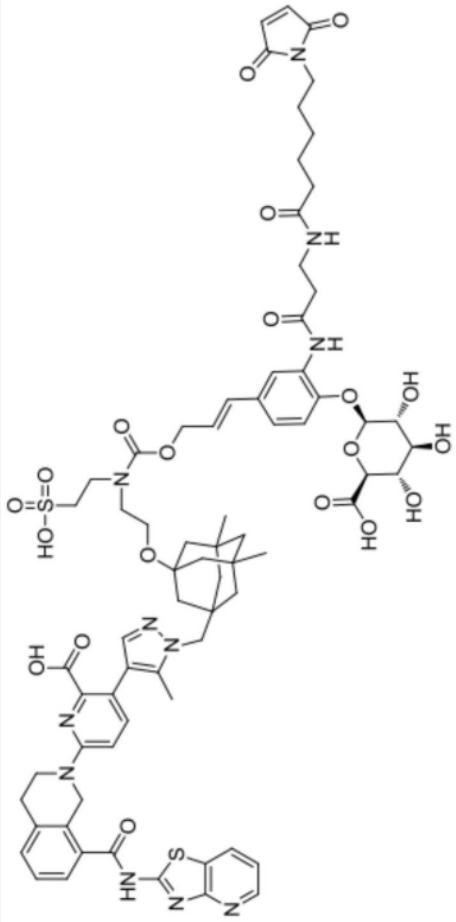
[1228]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.53	JJ	
2.54	JL	

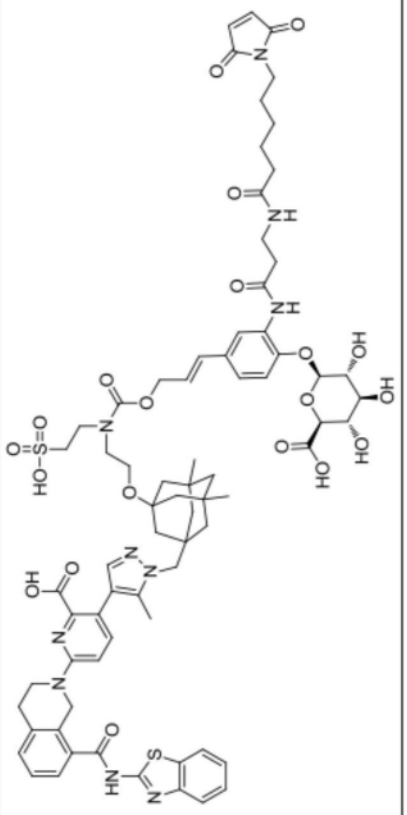
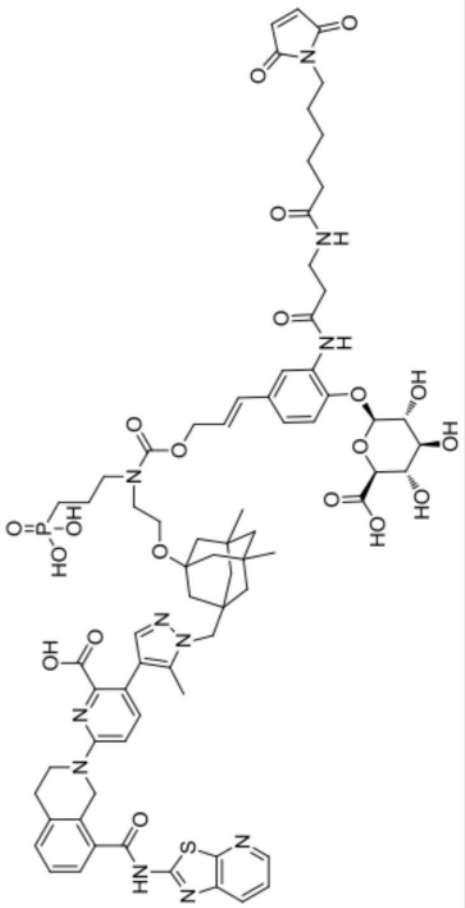
[1229]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.55	FE	

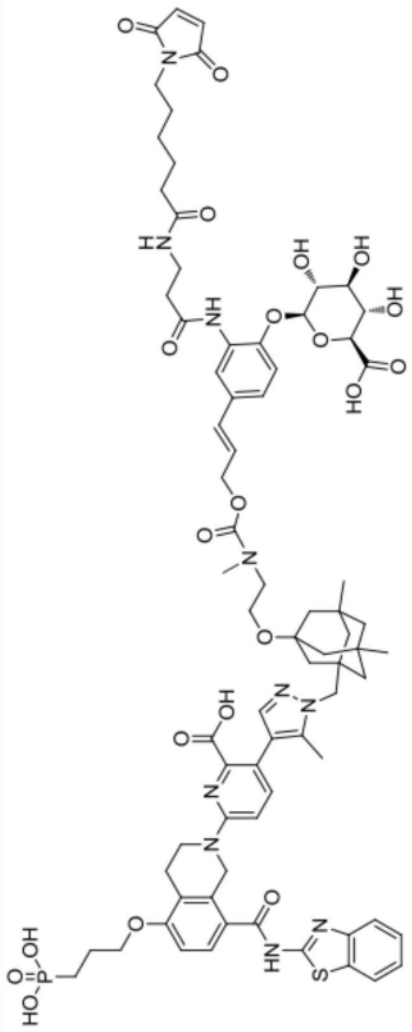
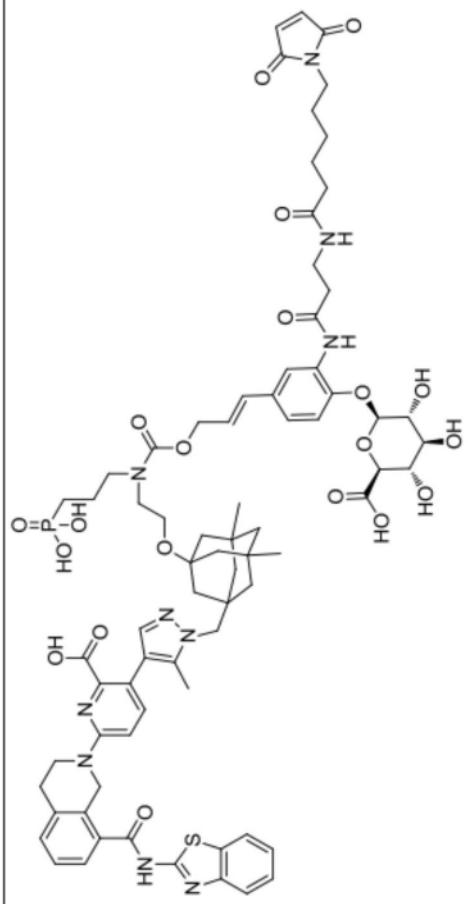
[1230]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.56	GG	
2.57	GM	

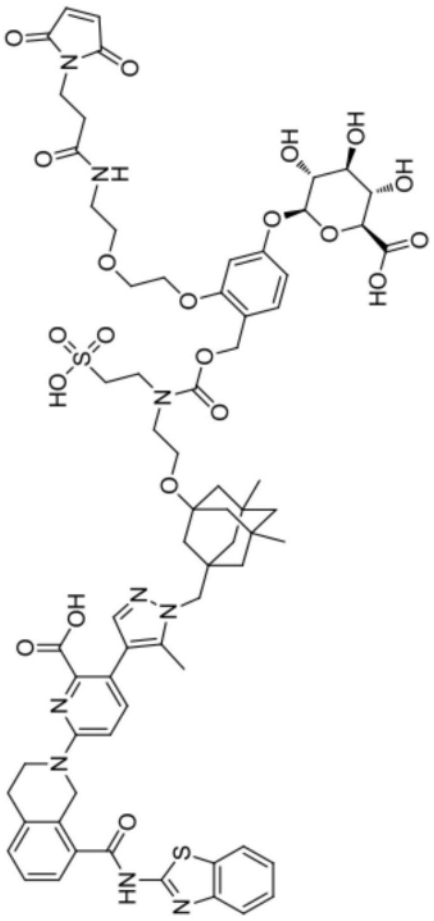
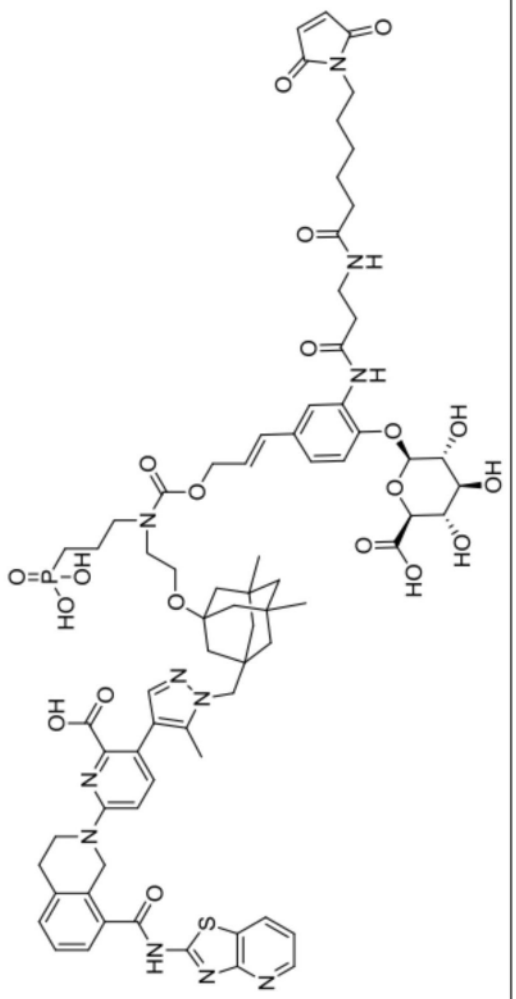
[1231]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.58	HD	
2.59	HS	

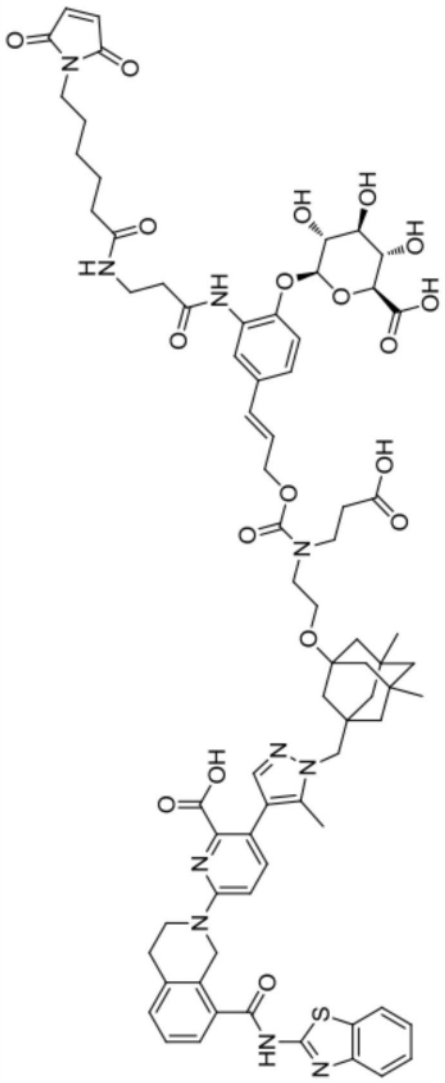
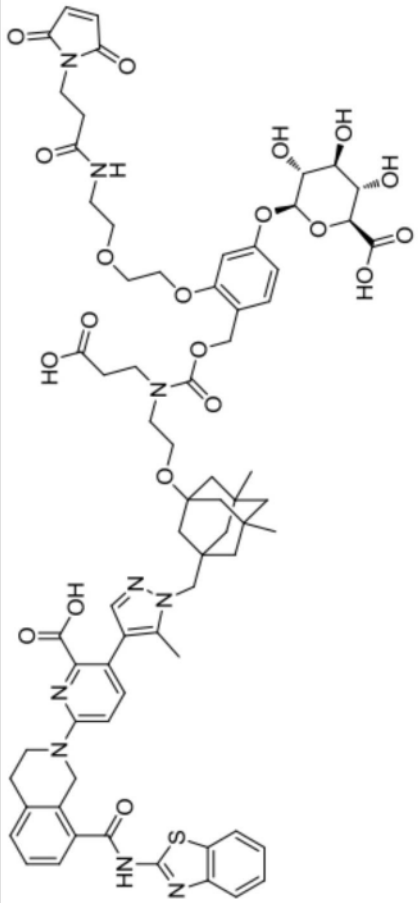
[1232]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.60	HW	
2.61	HX	

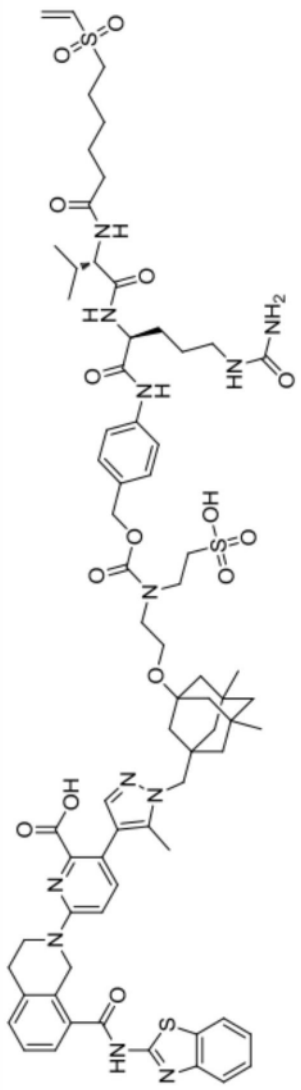
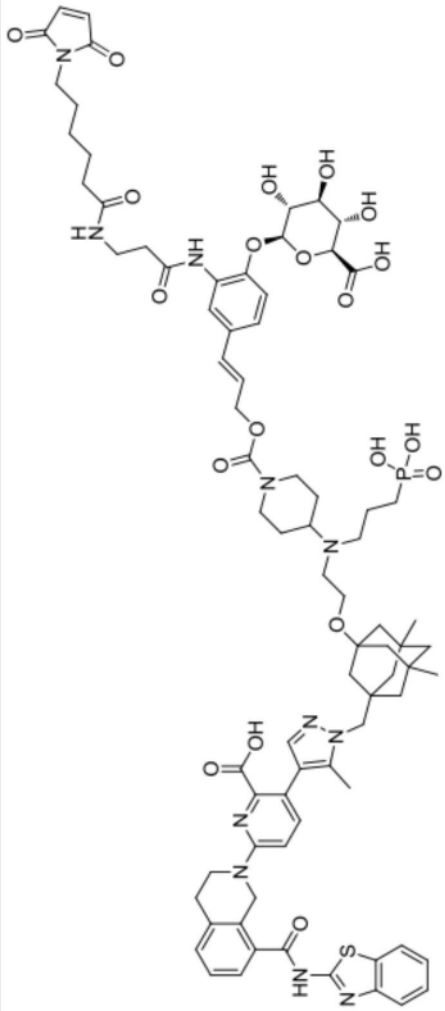
[1233]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.62	HY	
2.63	IB	

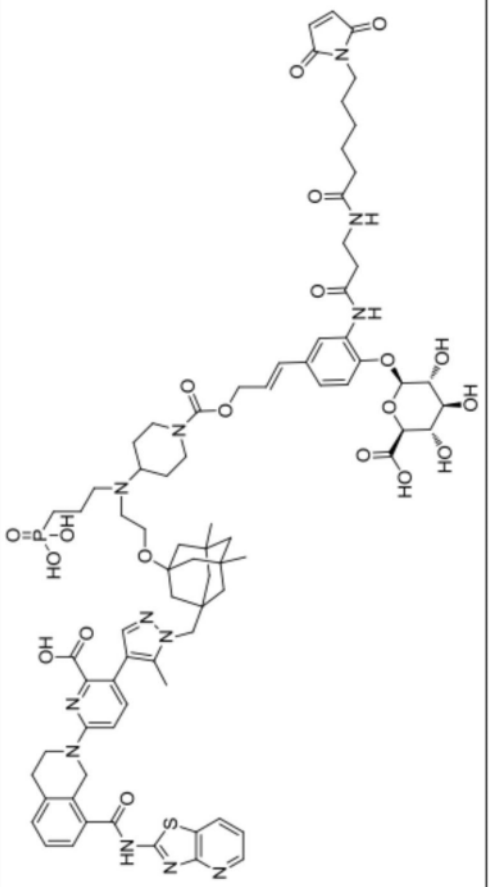
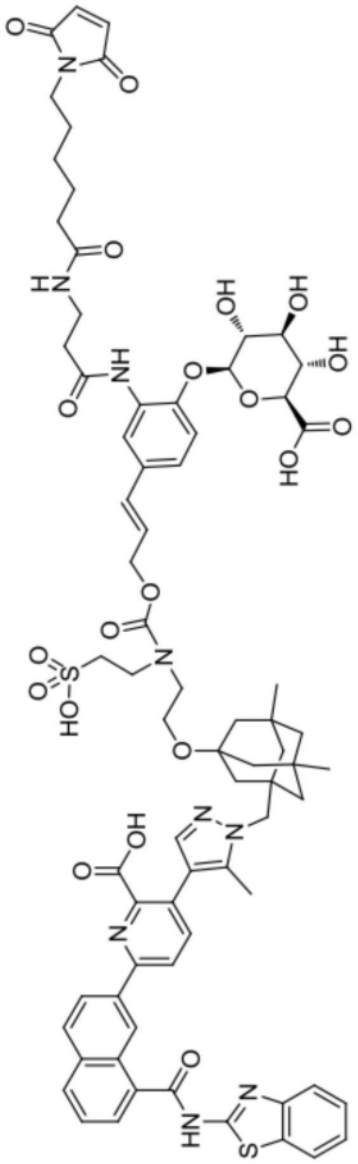
[1234]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.64	IE	
2.65	II	

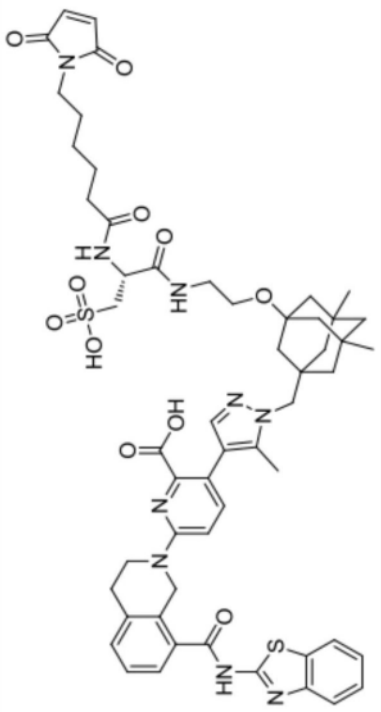
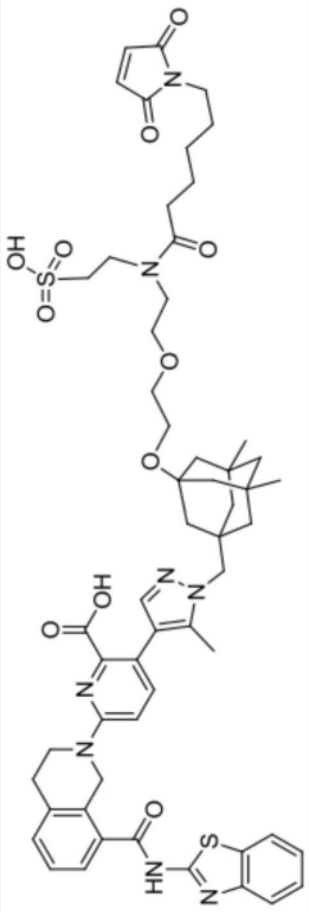
[1235]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.66	KY	
2.67	IW	

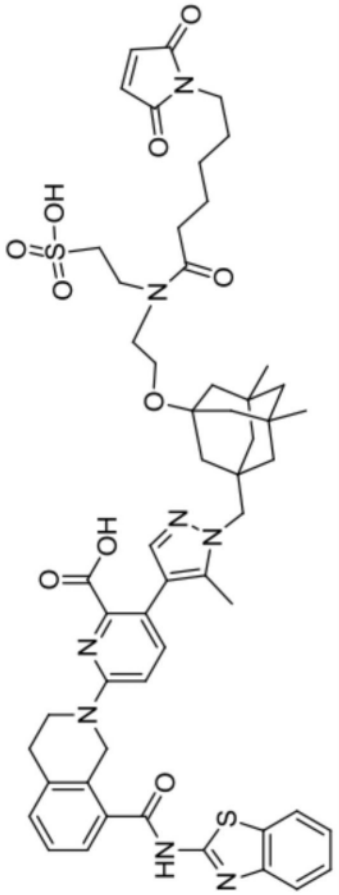
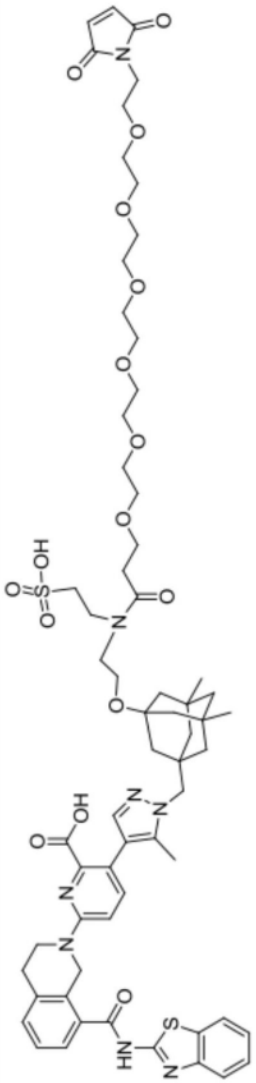
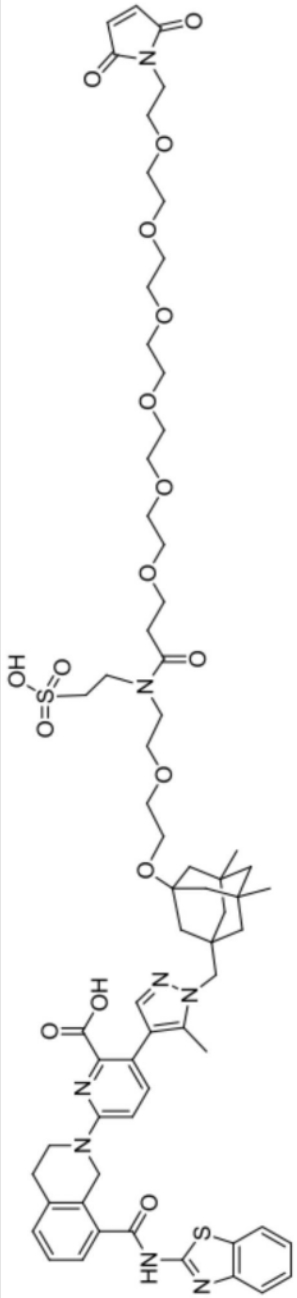
[1236]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.68	IY	
2.69	JA	

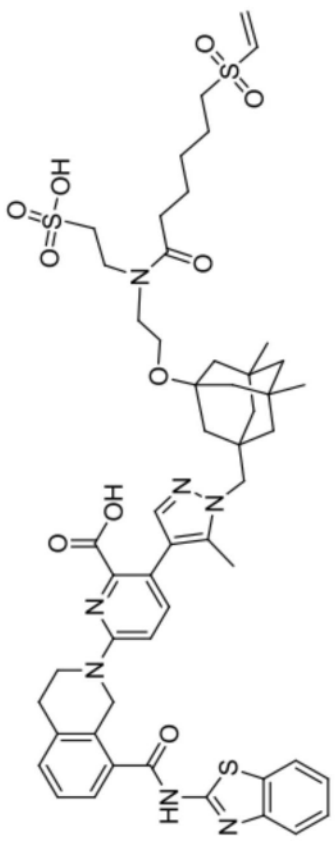
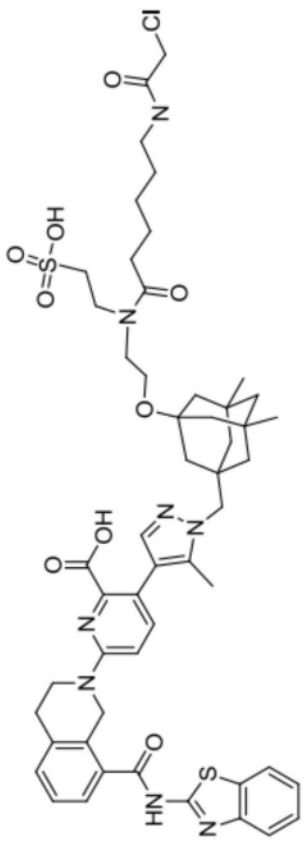
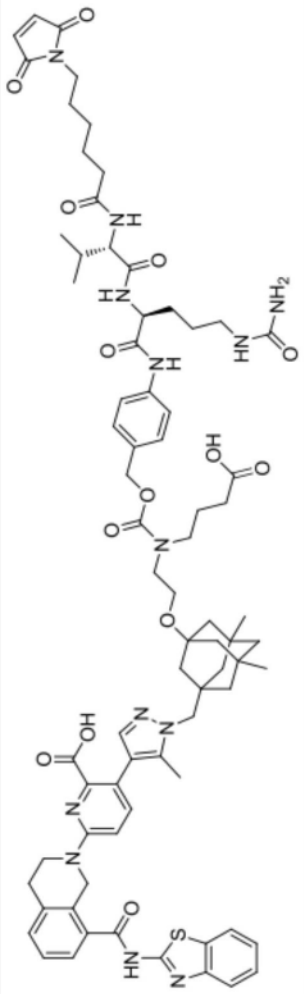
[1237]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.77	FA	
2.78	FJ	

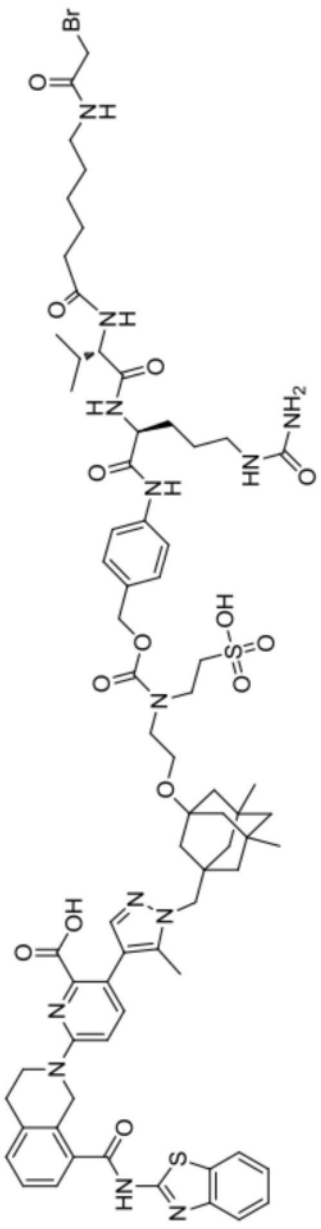
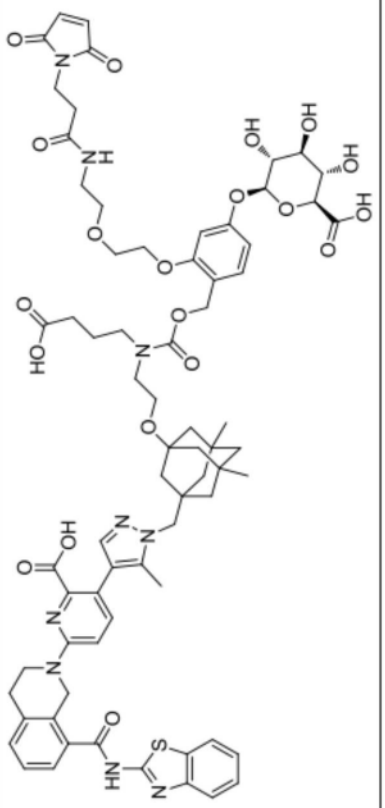
[1238]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.79	FK	
2.80	FQ	
2.81	FR	

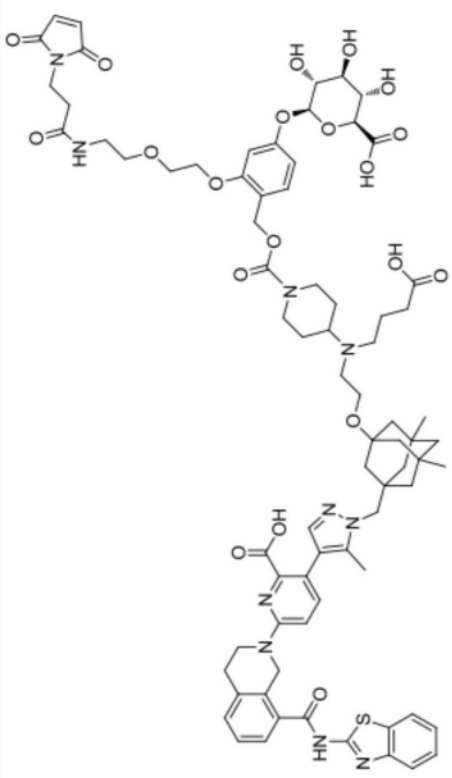
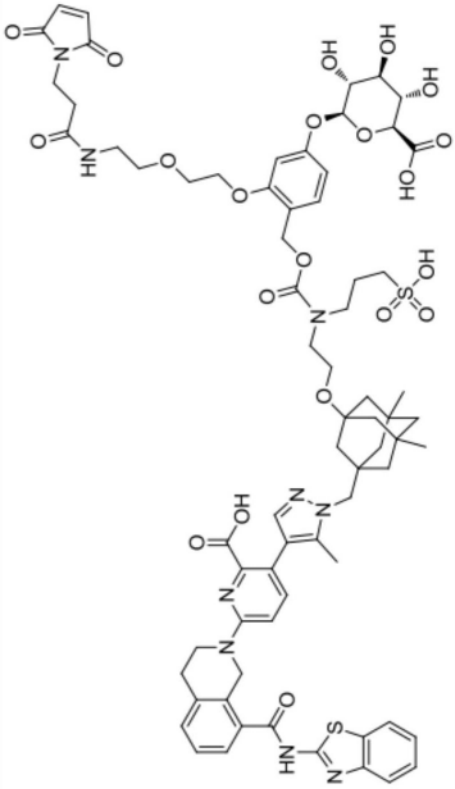
[1239]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.82	JE	
2.83	JM	
2.84	LE	

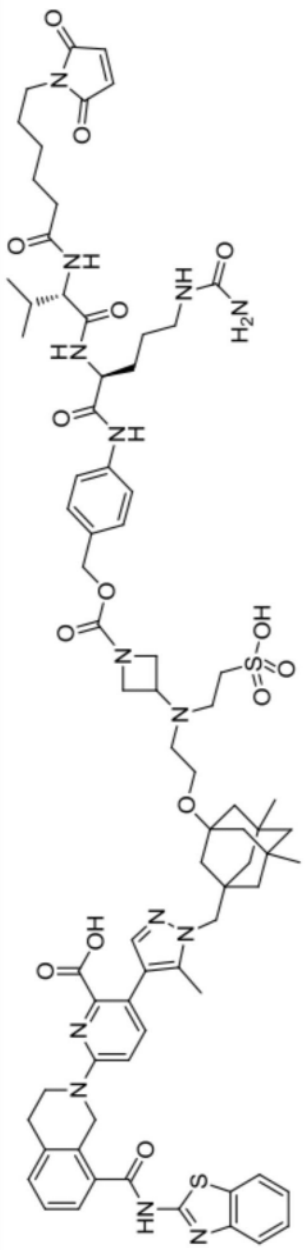
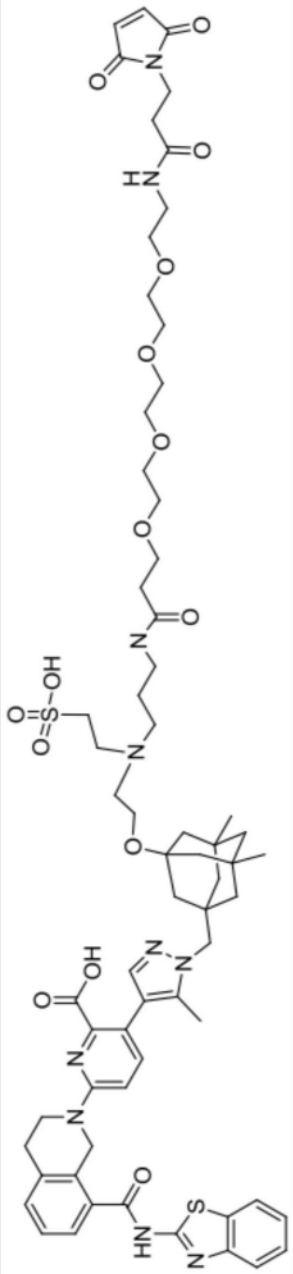
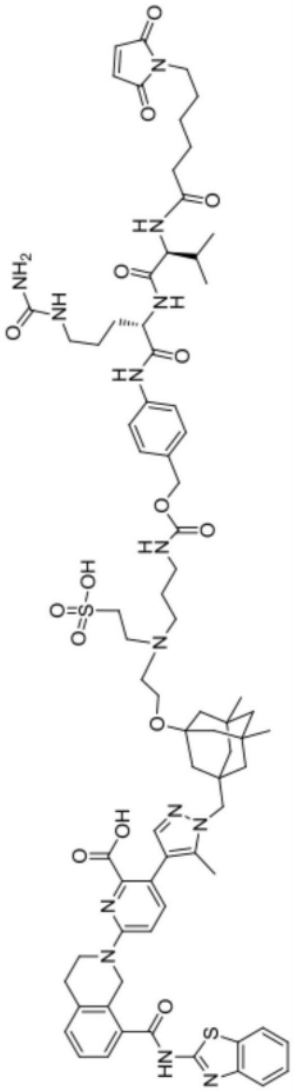
[1240]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.85	LH	
2.86	LJ	

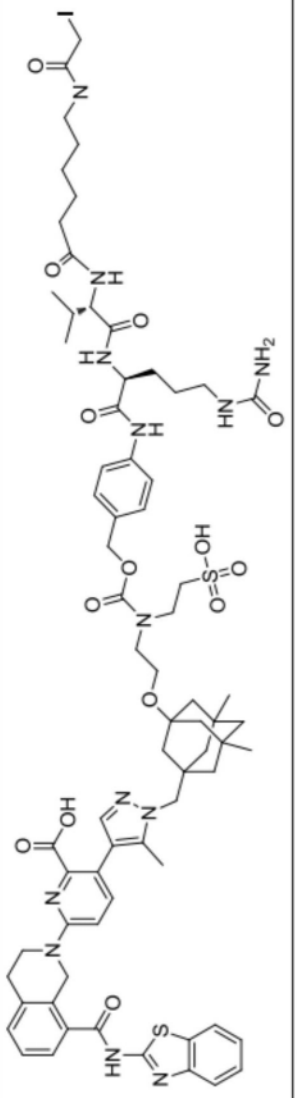
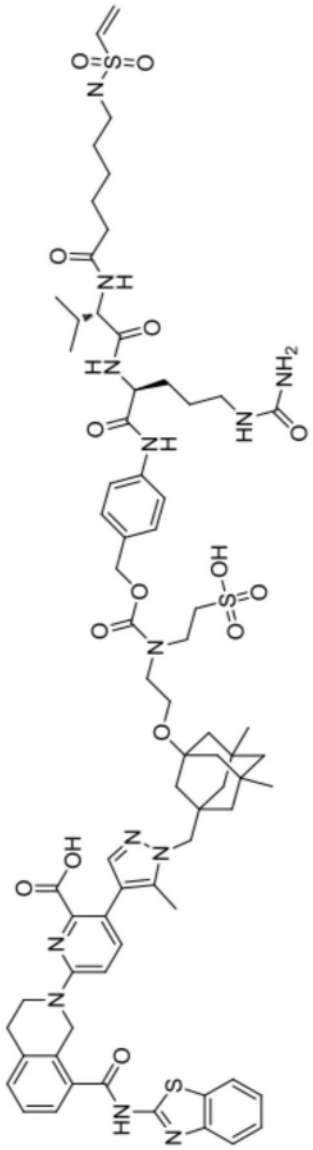
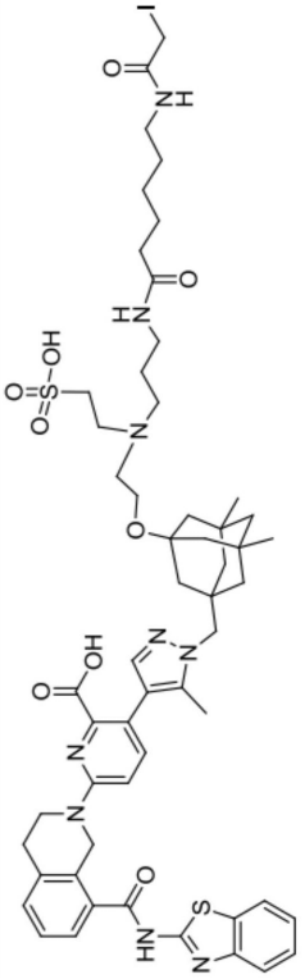
[1241]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.87	MA	
2.88	MD	

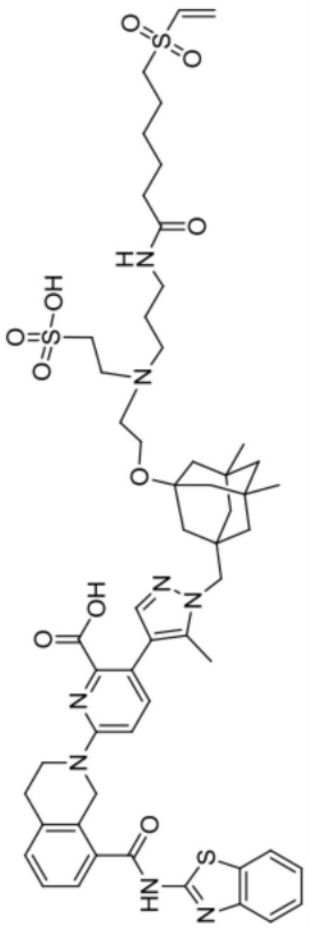
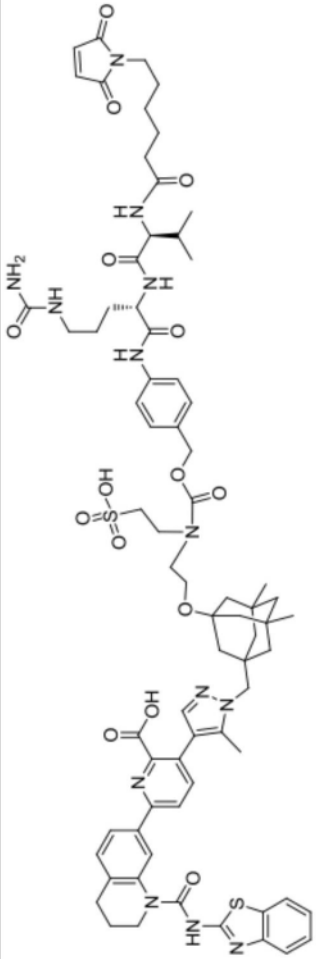
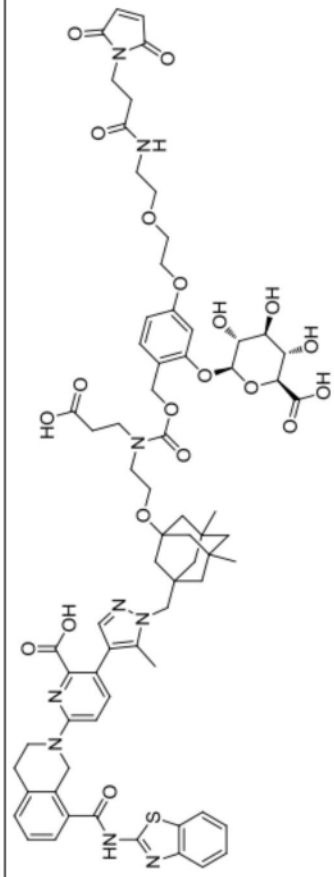
[1242]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.89	MG	
2.90	MS	
2.91	MR	

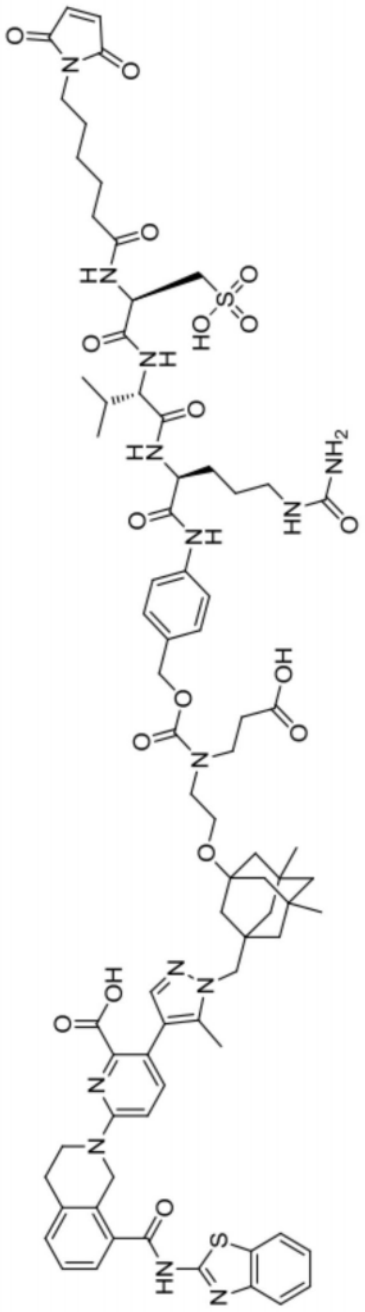
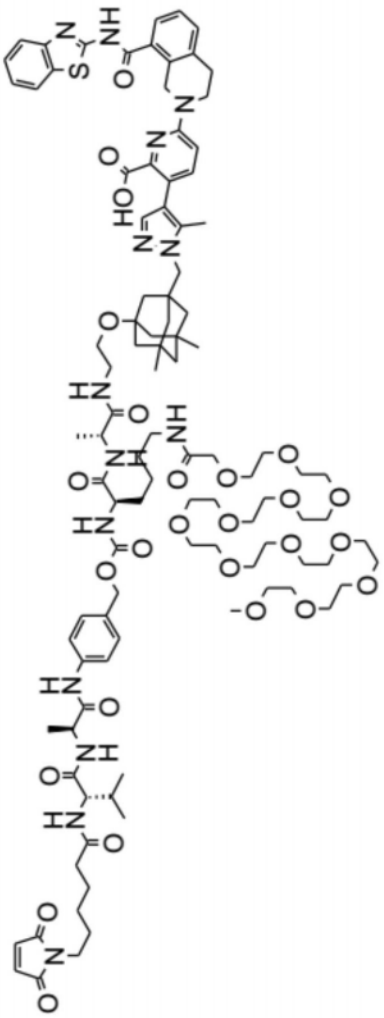
[1243]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.92	MQ	
2.93	MZ	
2.94	NA	

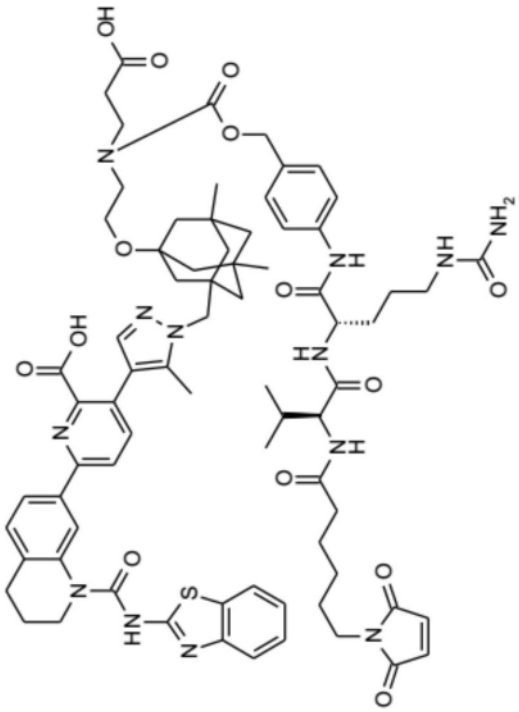
[1244]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.95	NB	
2.96	NP	
2.97	NN	

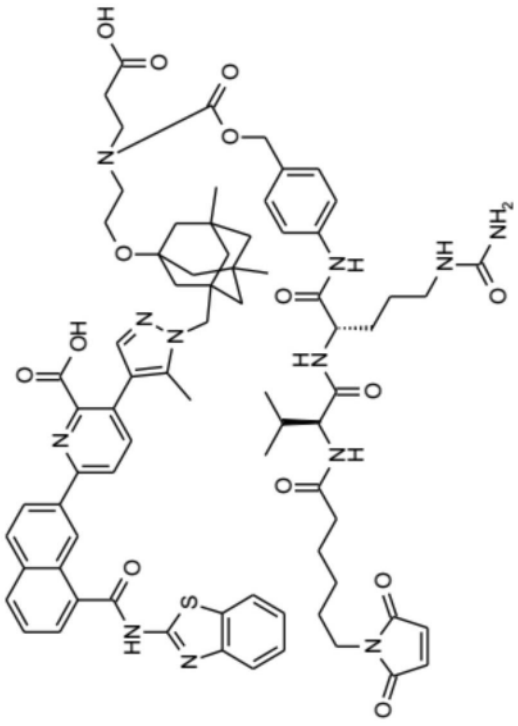
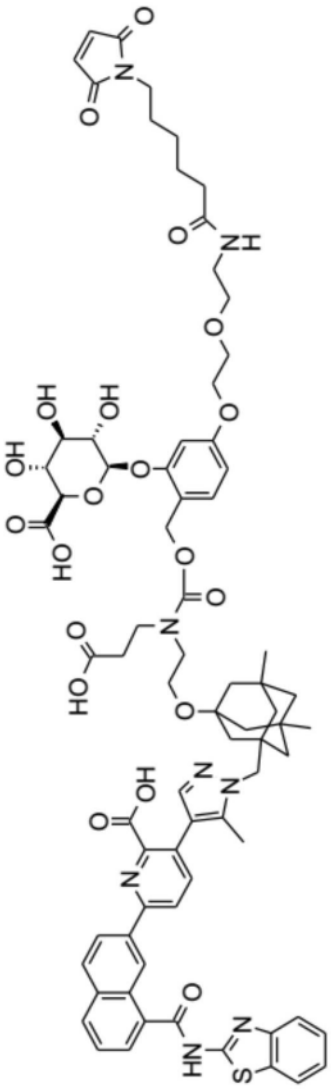
[1245]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.98	NO	
2.101	OK	

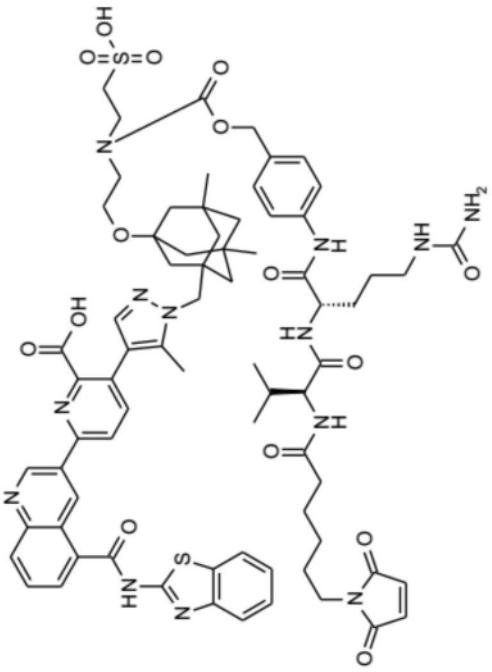
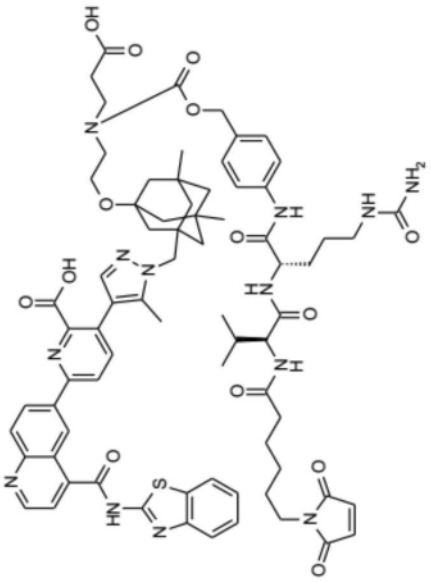
[1246]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.102	OW	

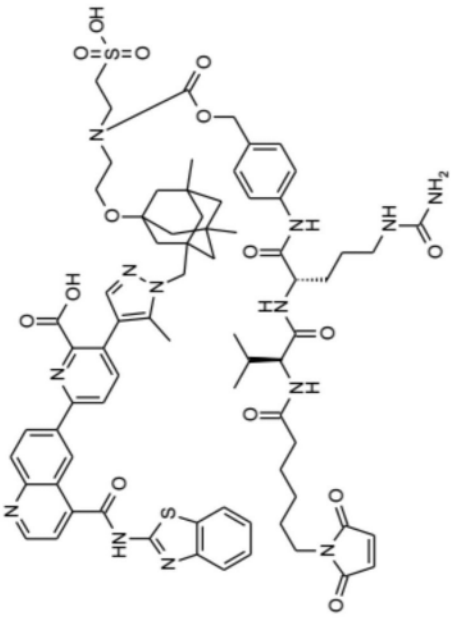
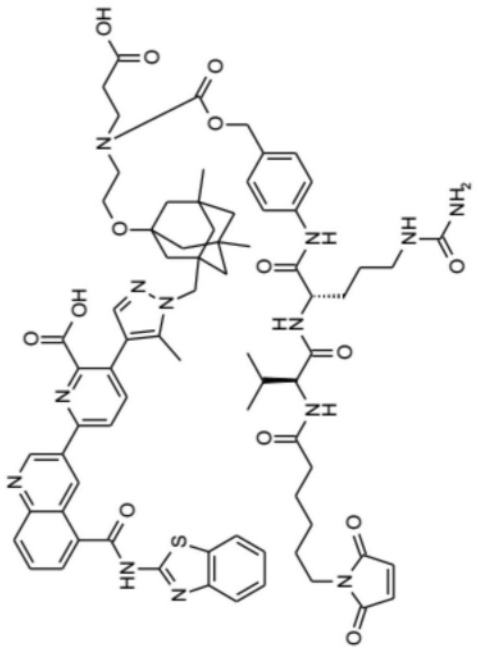
[1247]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.103	PC	
2.104	PI	

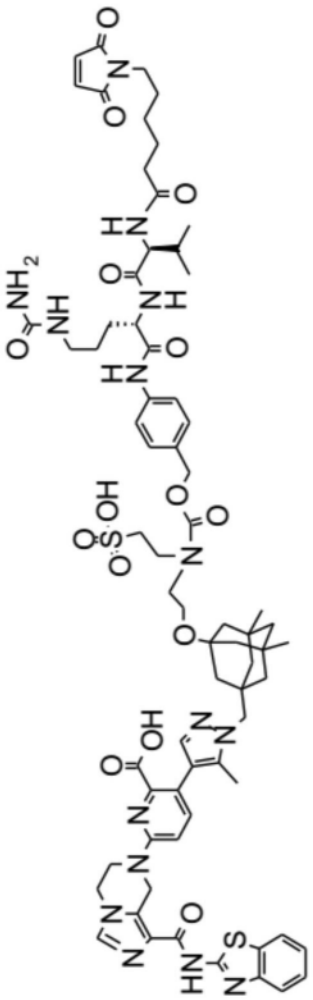
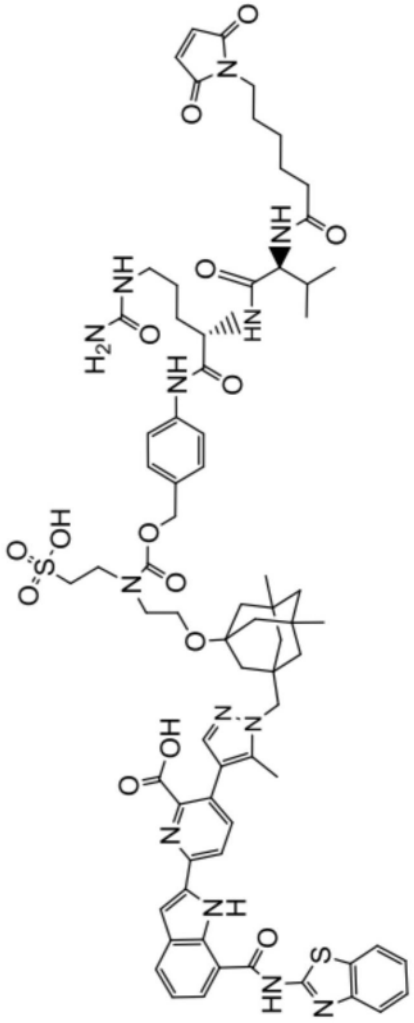
[1248]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.105	PJ	
2.106	PU	

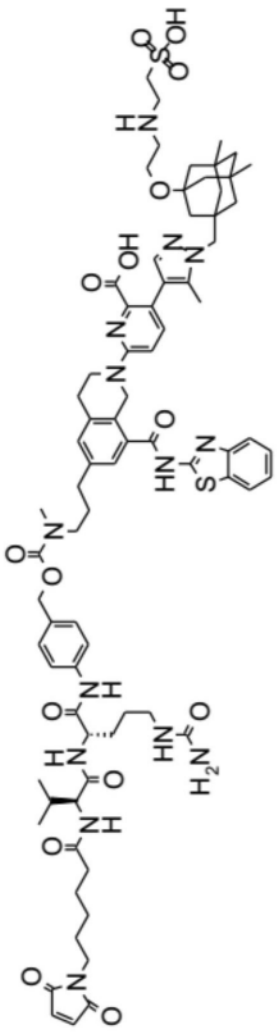
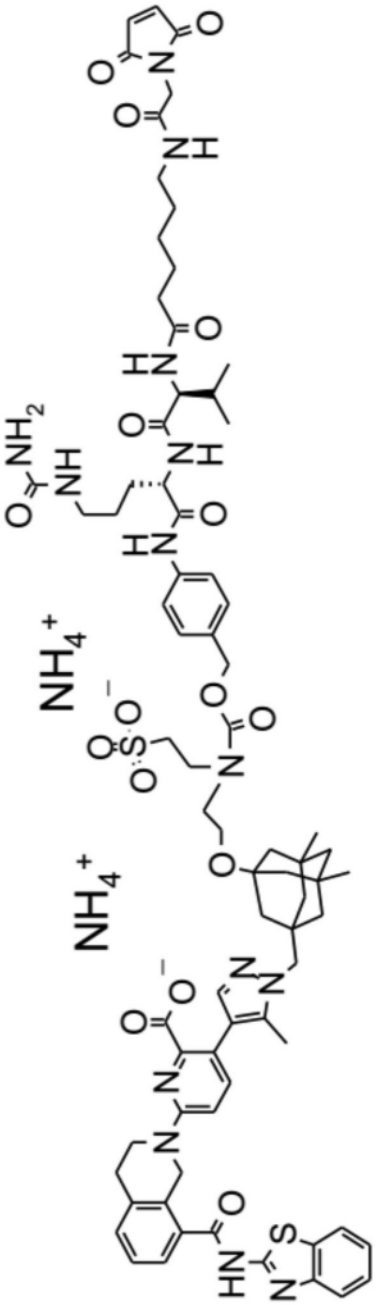
[1249]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.107	PV	
2.108	PW	

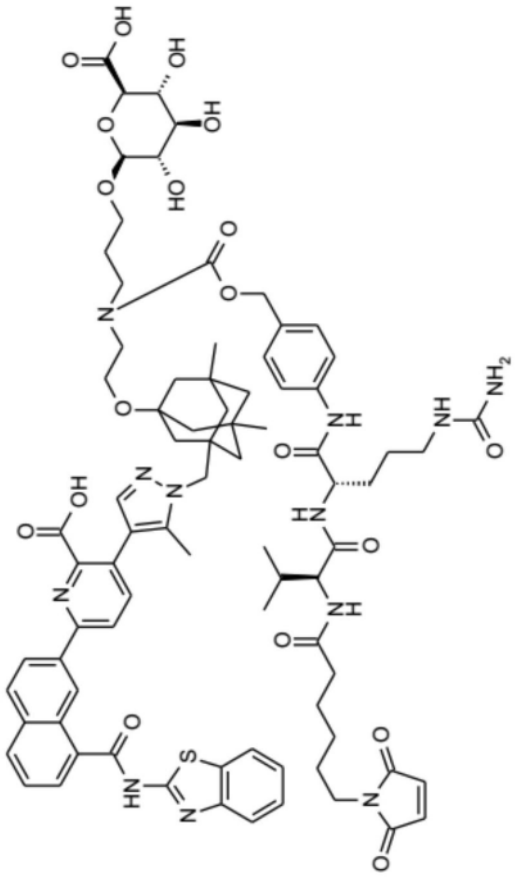
[1250]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.109	QW	
2.110	RM	

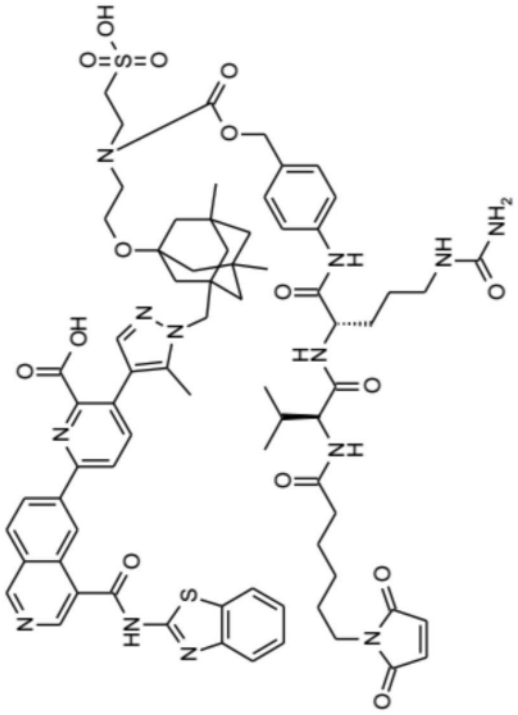
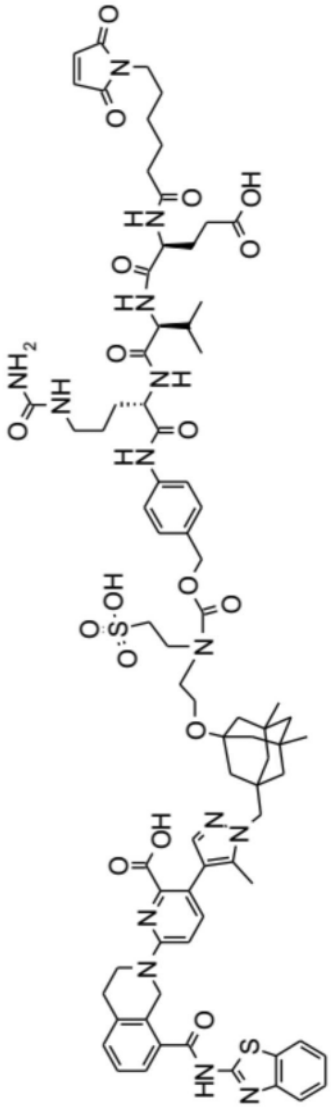
[1251]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.111	RR	
2.112	SJ	

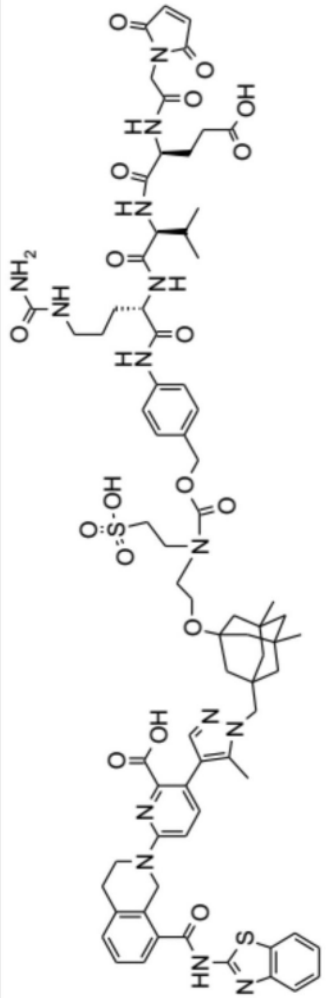
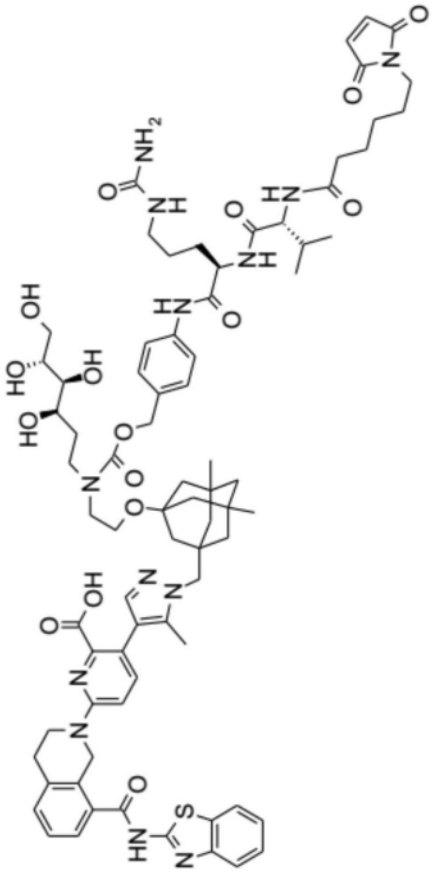
[1252]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.113	SM	

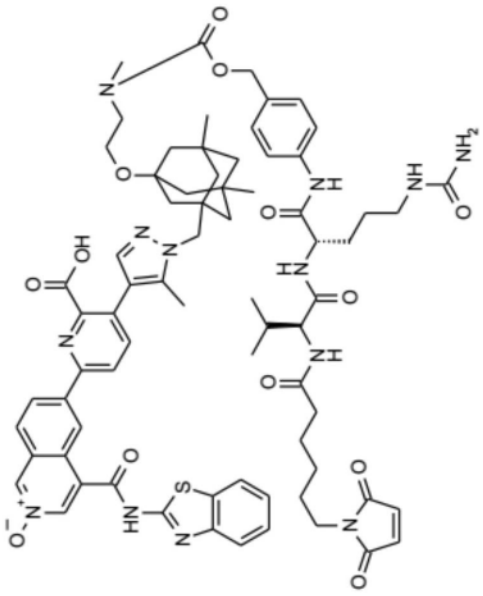
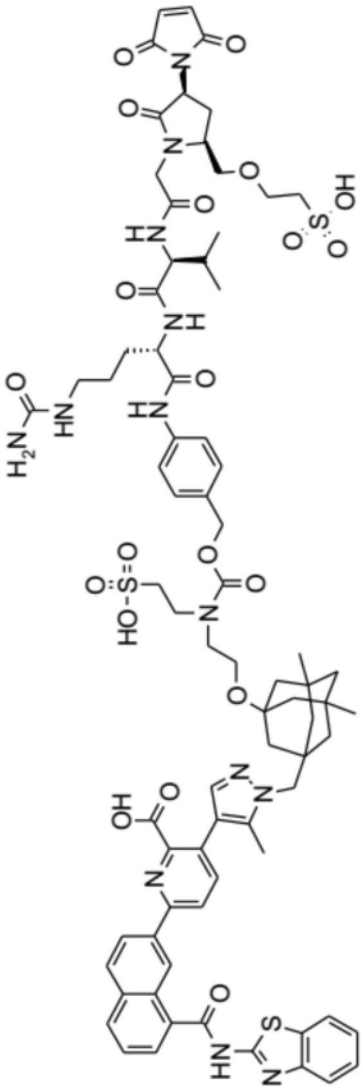
[1253]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.114	SN	
2.115	SS	

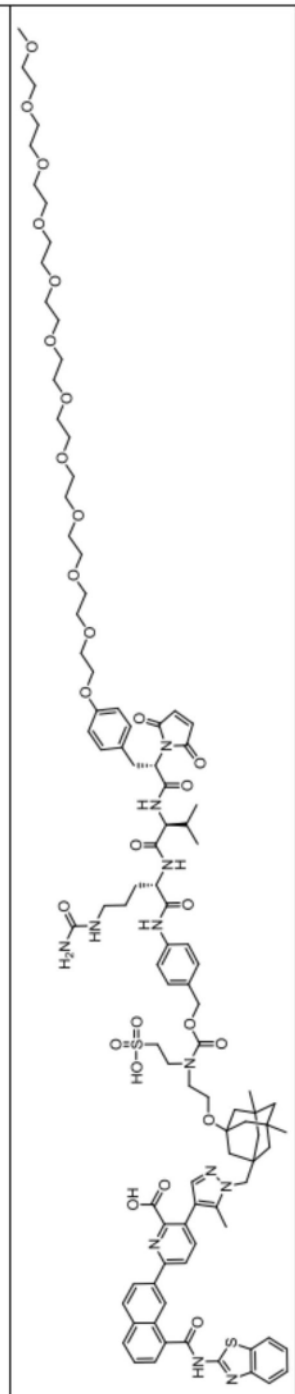
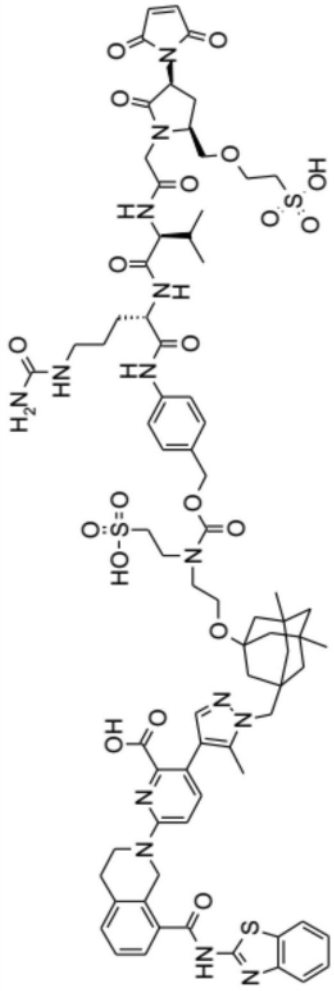
[1254]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.116	TA	
2.117	TW	

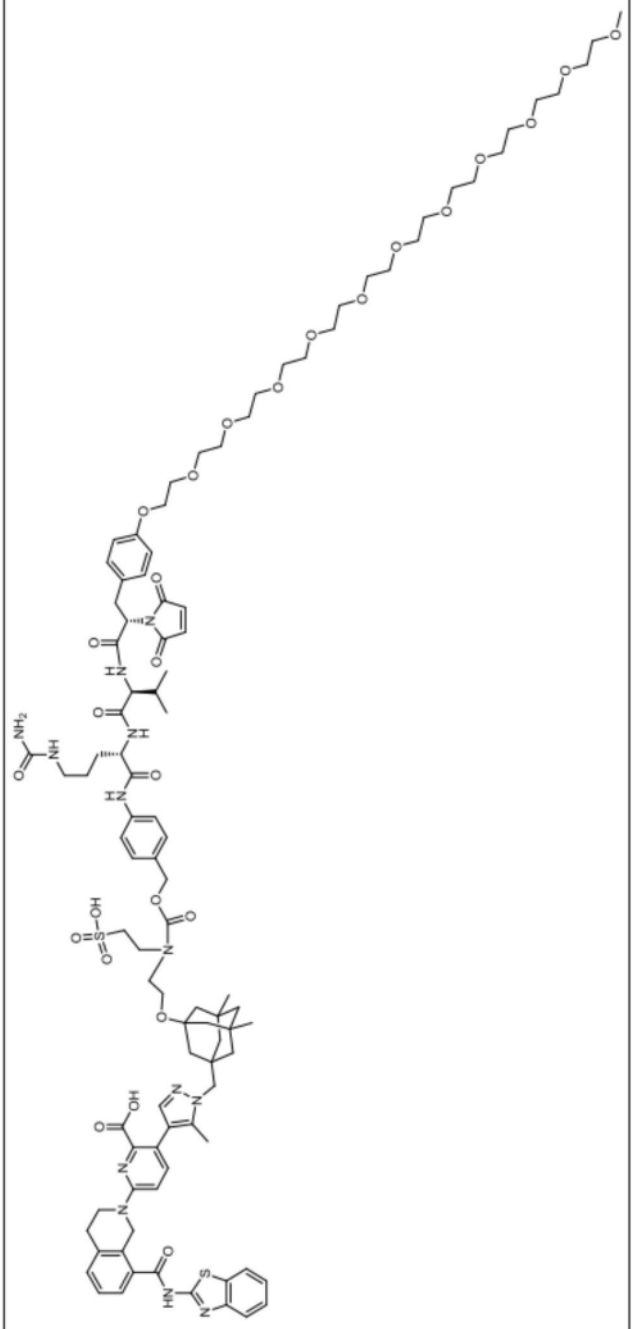
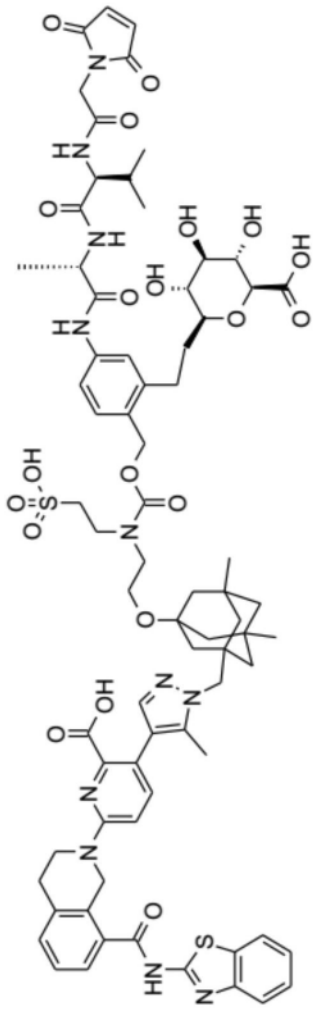
[1255]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.118	ST	
2.119	ZL	

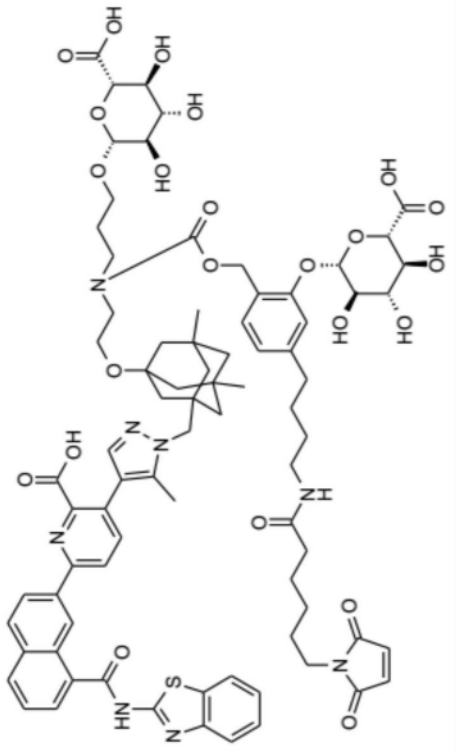
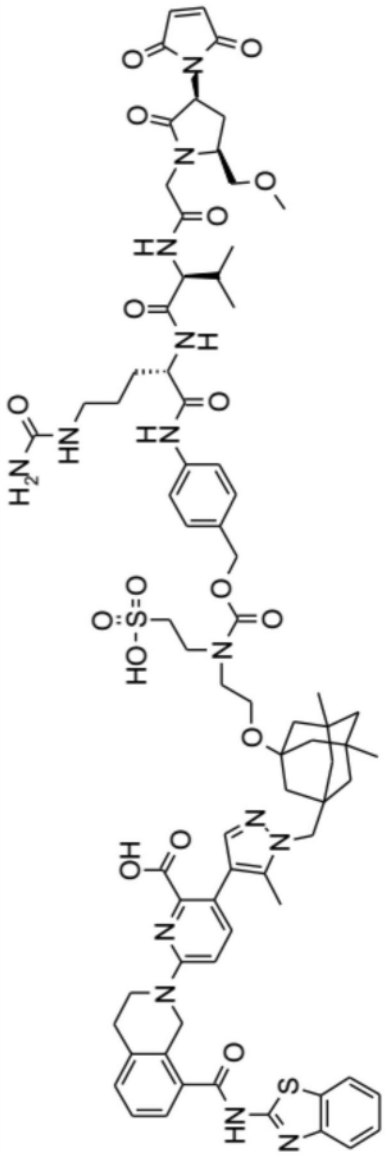
[1256]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.120	SX	
2.121	SW	

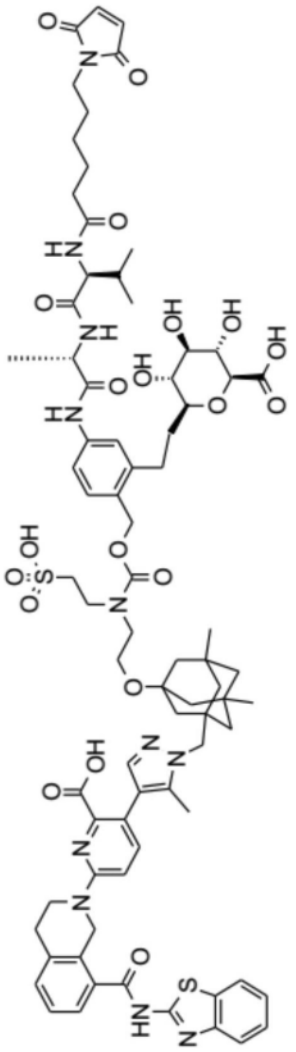
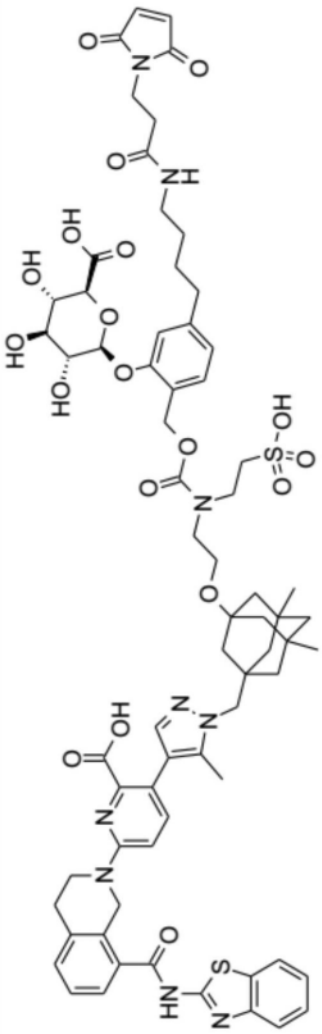
[1257]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.122	TV	
2.123	SZ	

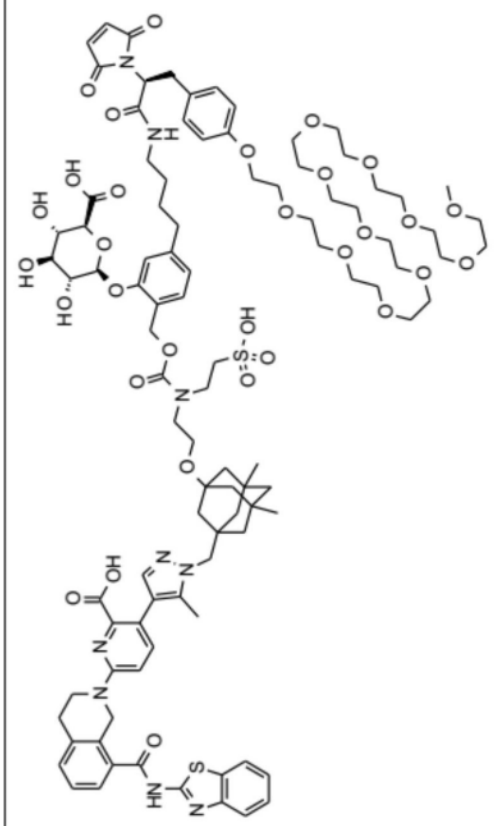
[1258]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.124	ZM	
2.125	SV	

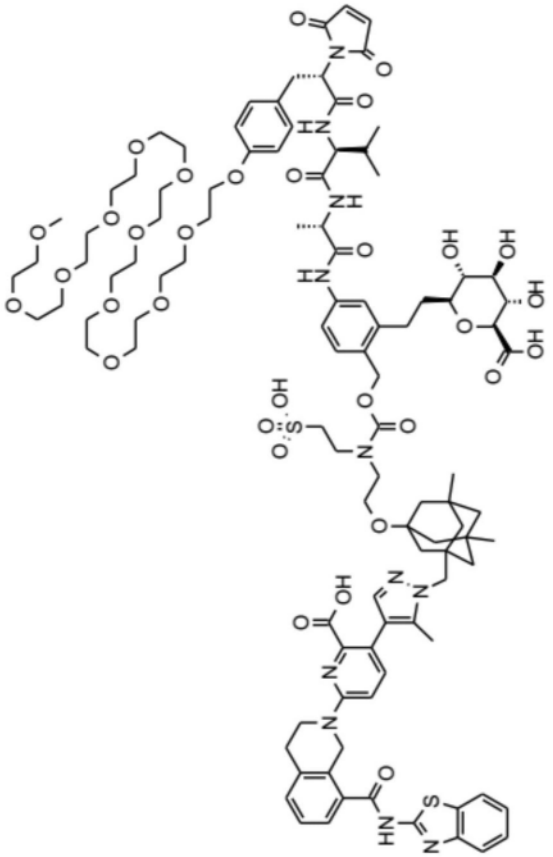
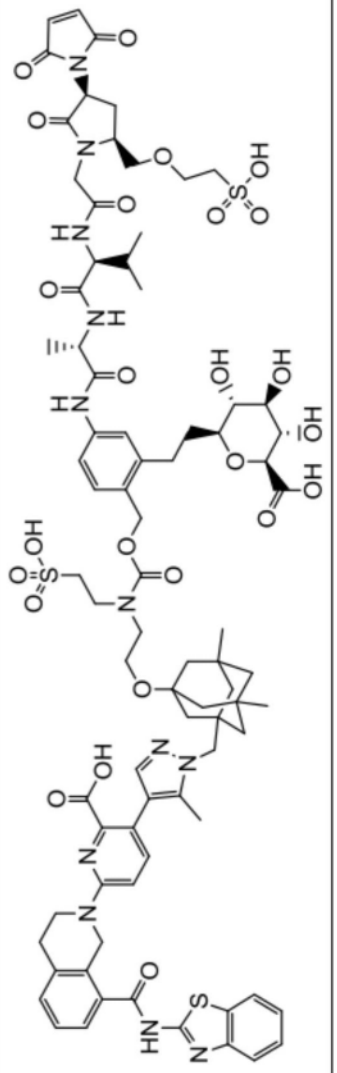
[1259]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.126	SY	
2.127	TK	

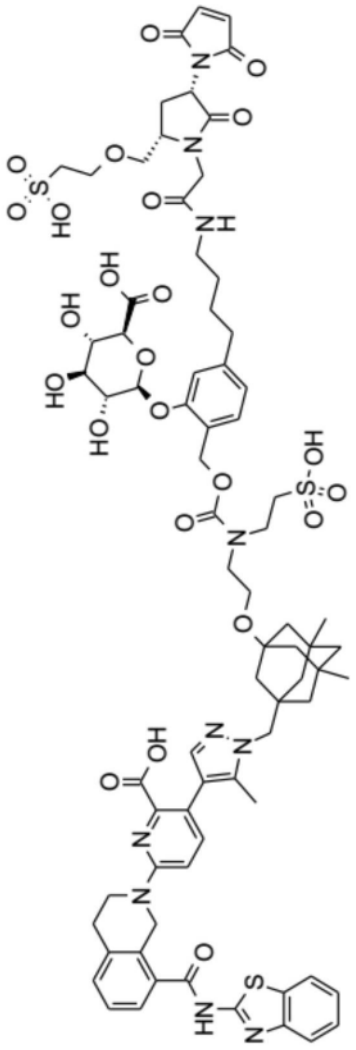
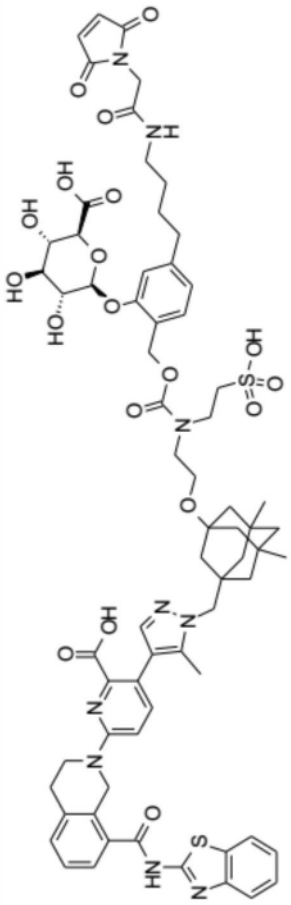
[1260]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.128	TR	

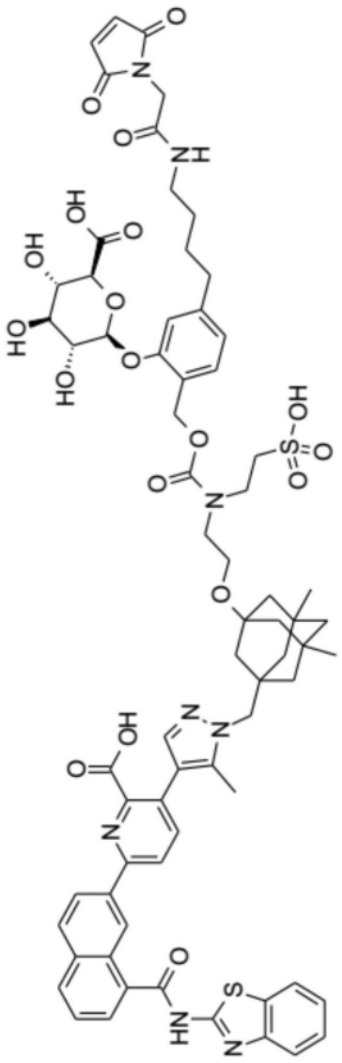
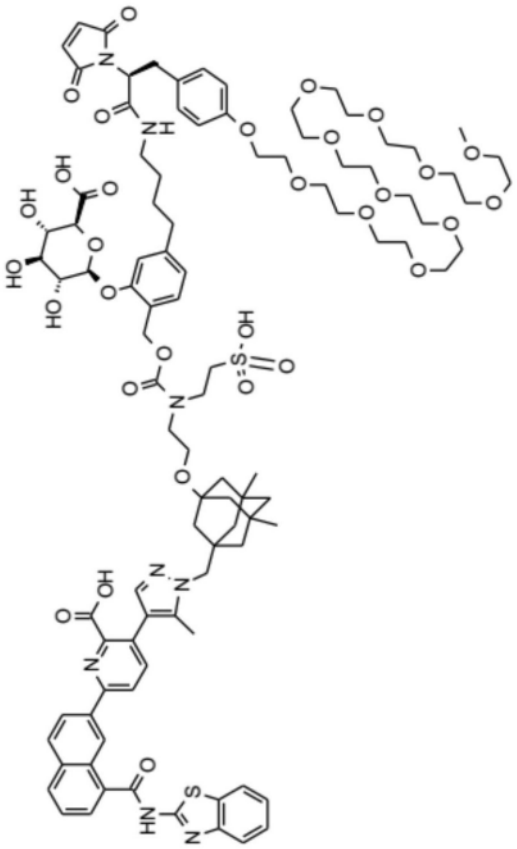
[1261]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.129	TY	
2.130	TX	

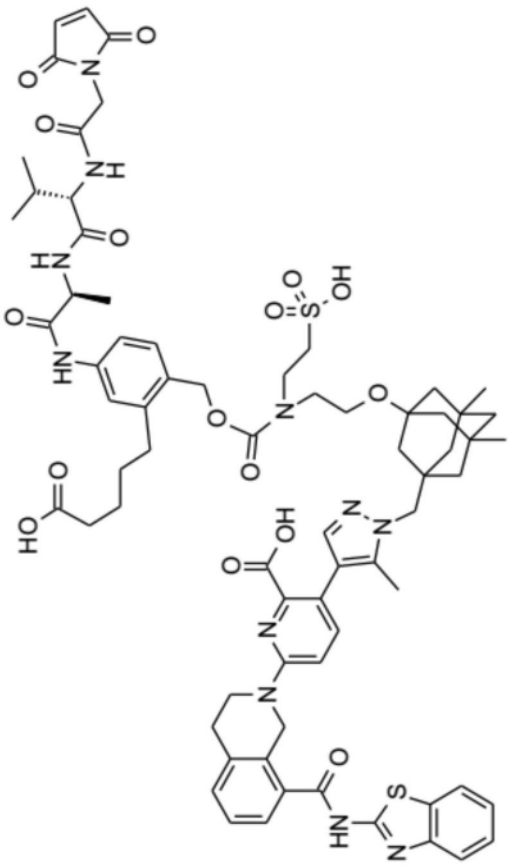
[1262]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.131	TZ	
2.132	UA	

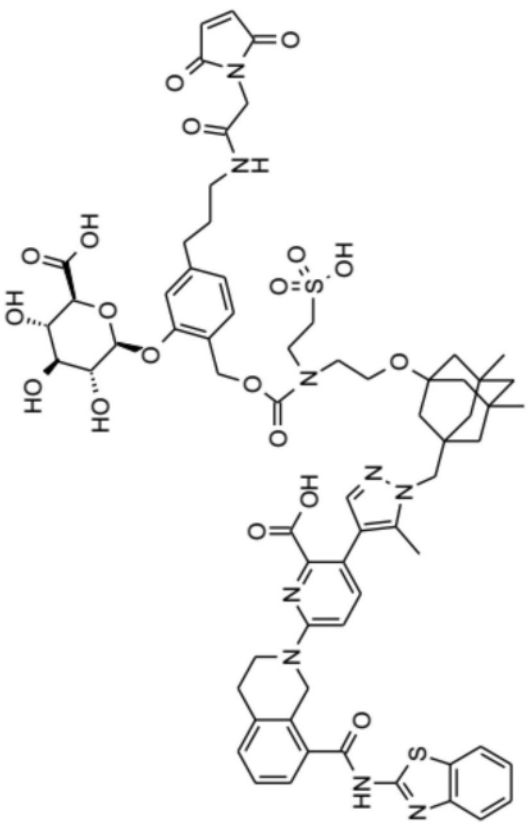
[1263]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.133	UJ	
2.134	UK	

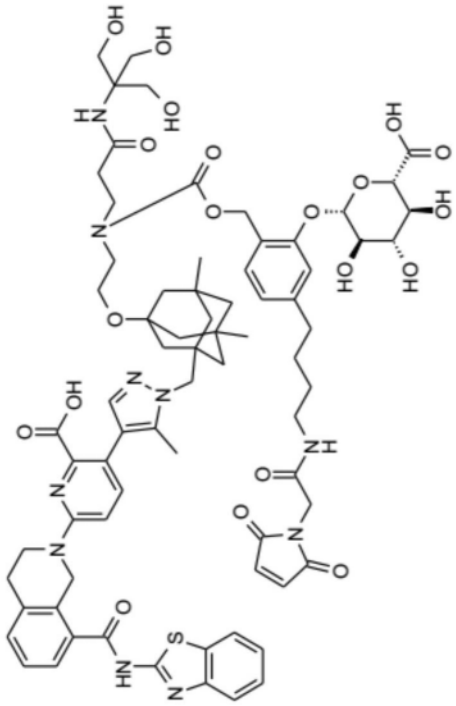
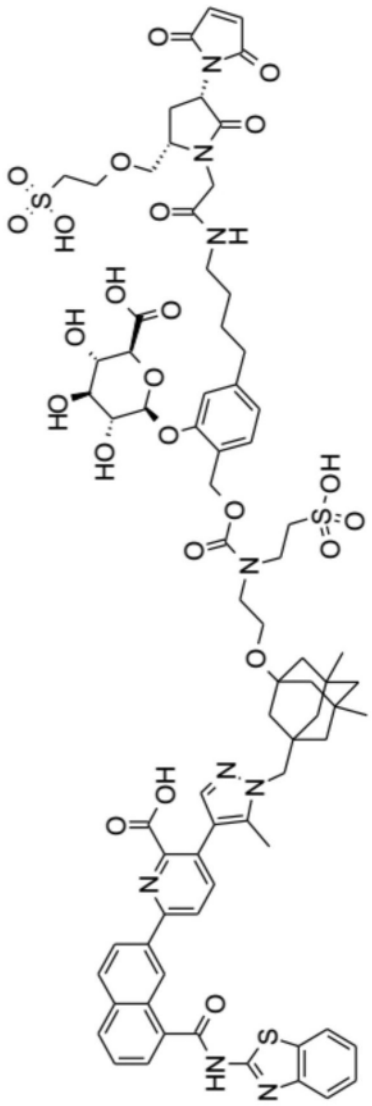
[1264]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.135	UU	

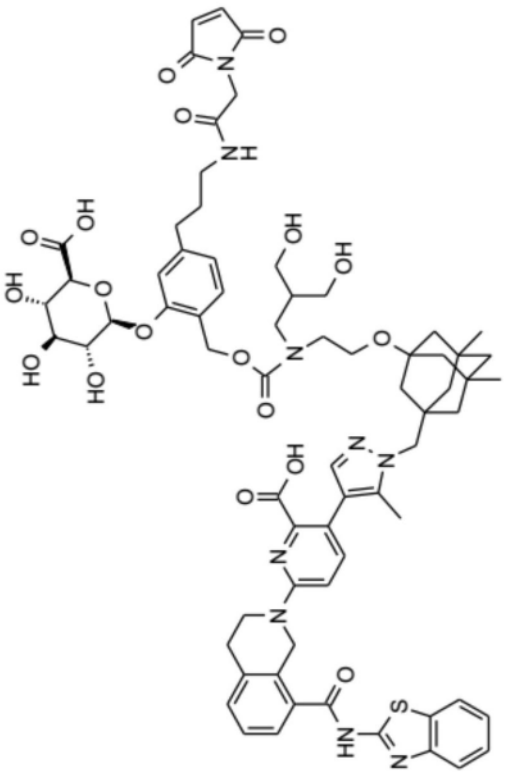
[1265]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.136	UV	

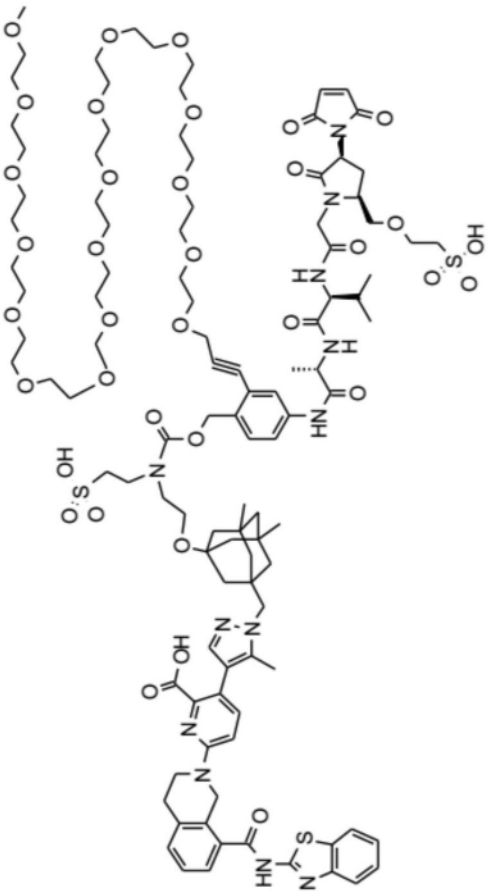
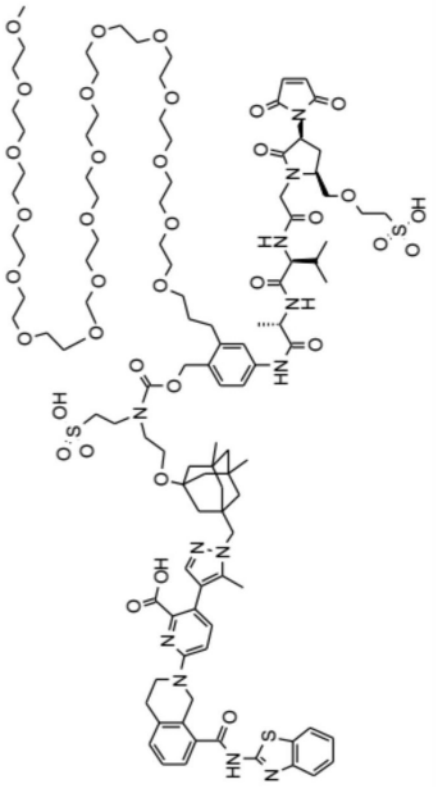
[1266]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.137	UZ	
2.138	VB	

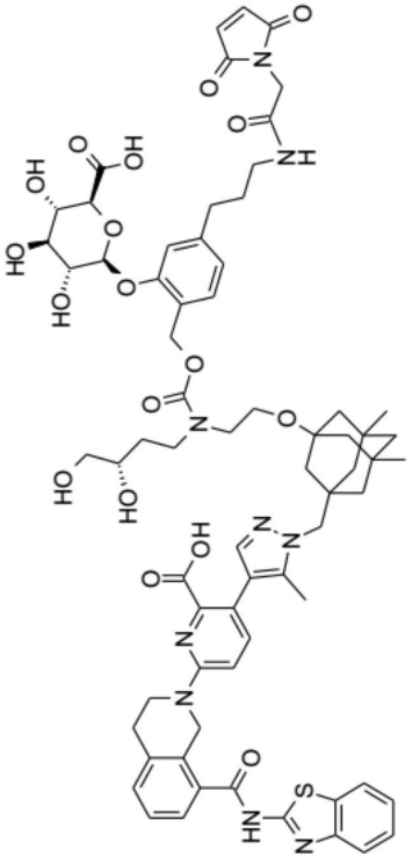
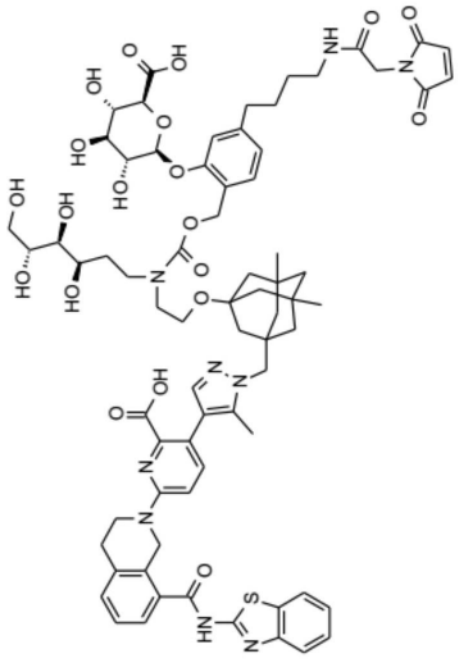
[1267]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.139	VC	

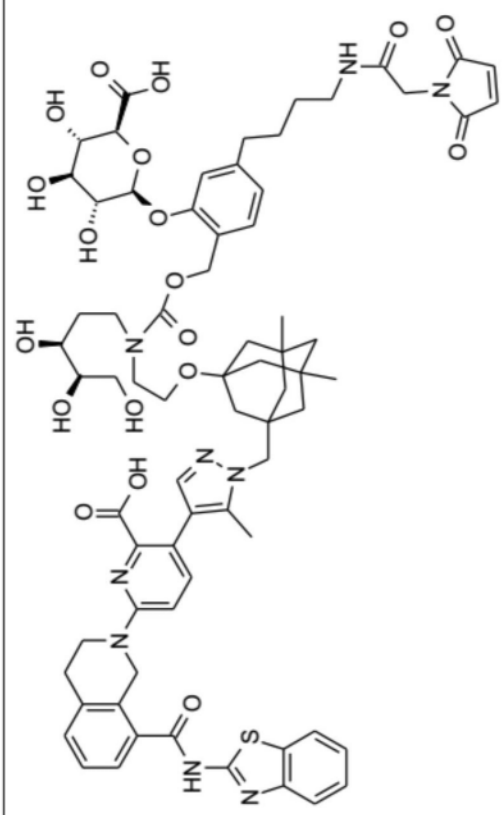
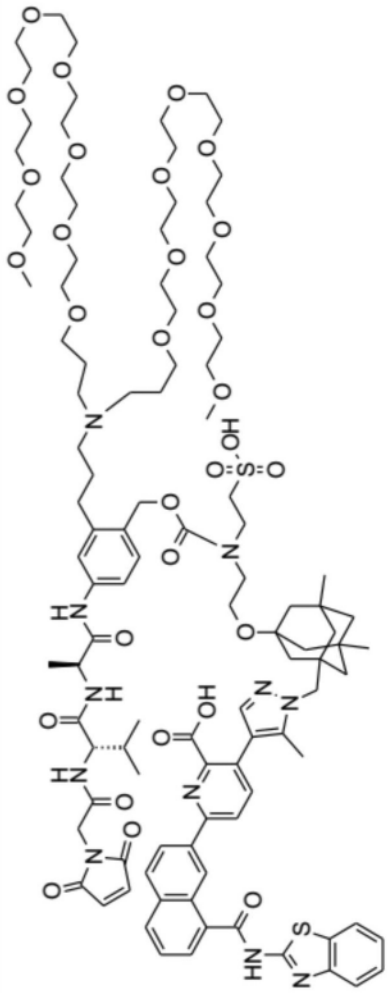
[1268]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.140	VS	
2.141	VT	

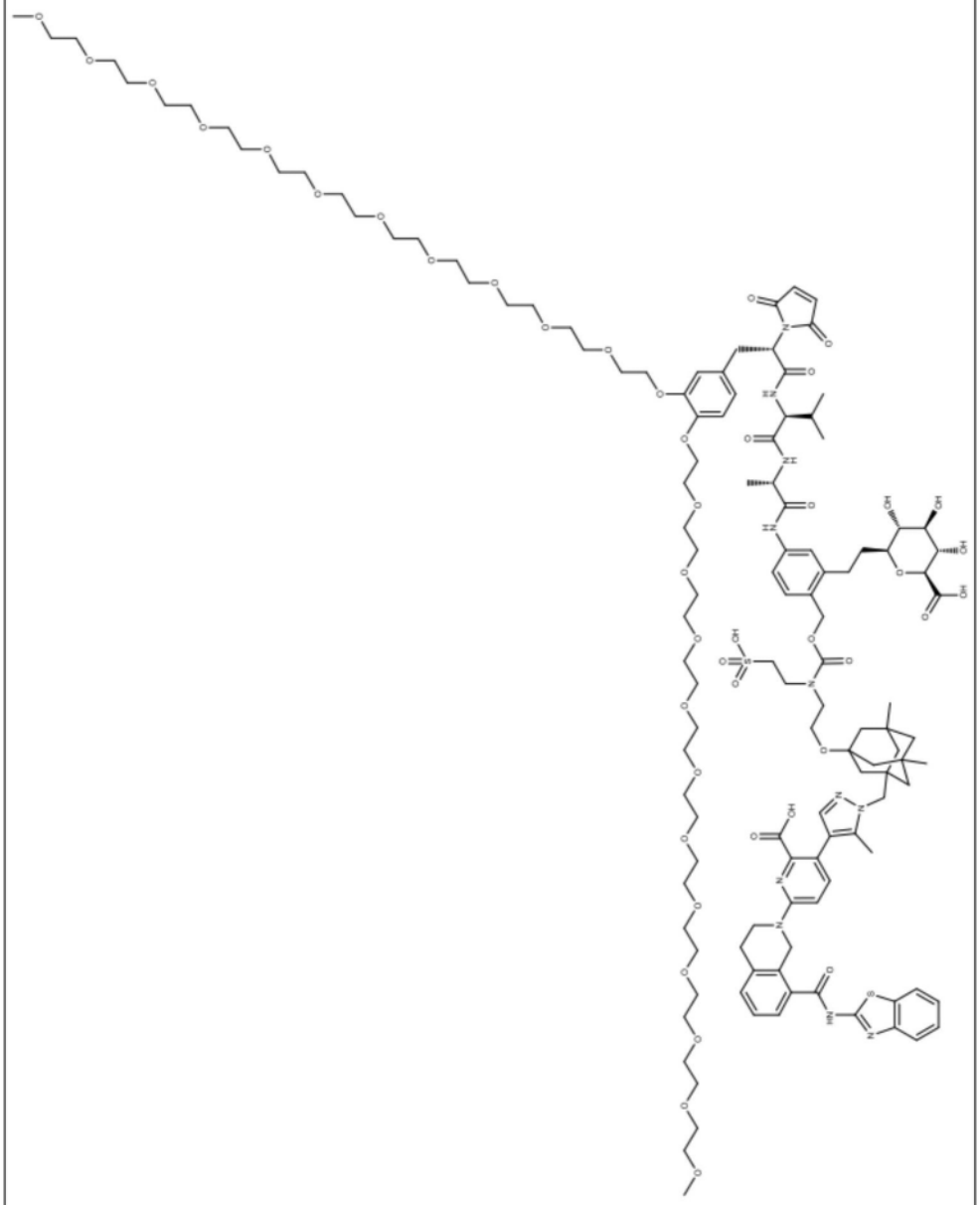
[1269]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.142	VY	
2.143	WI	

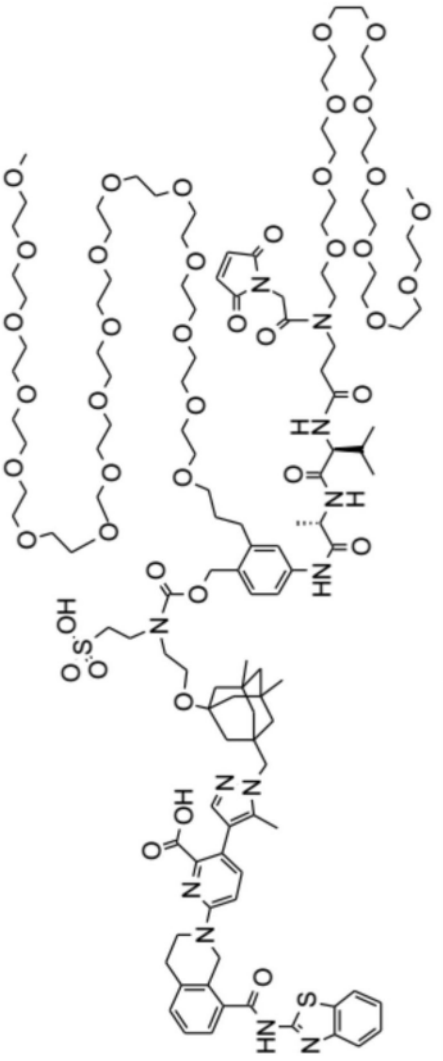
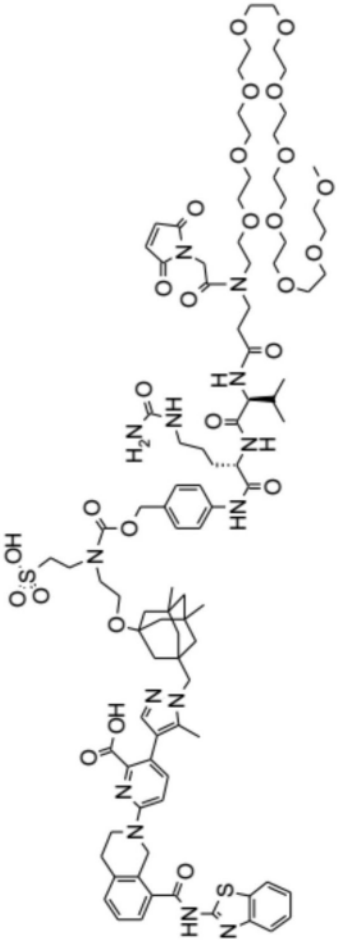
[1270]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.144	WK	
2.145	WP	

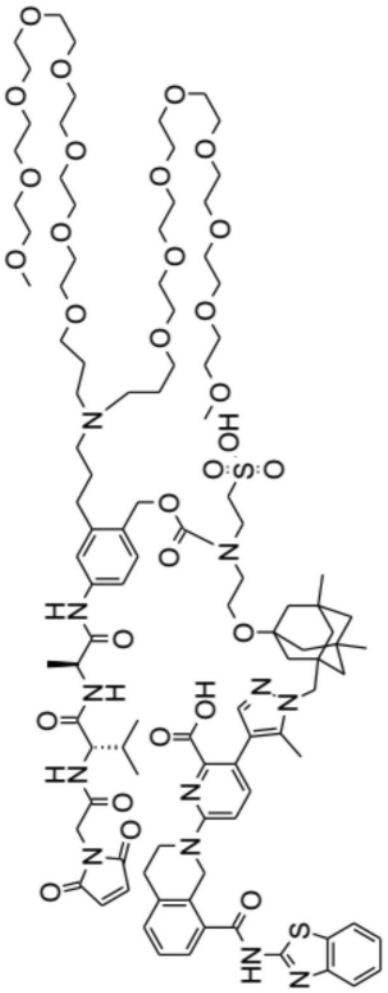
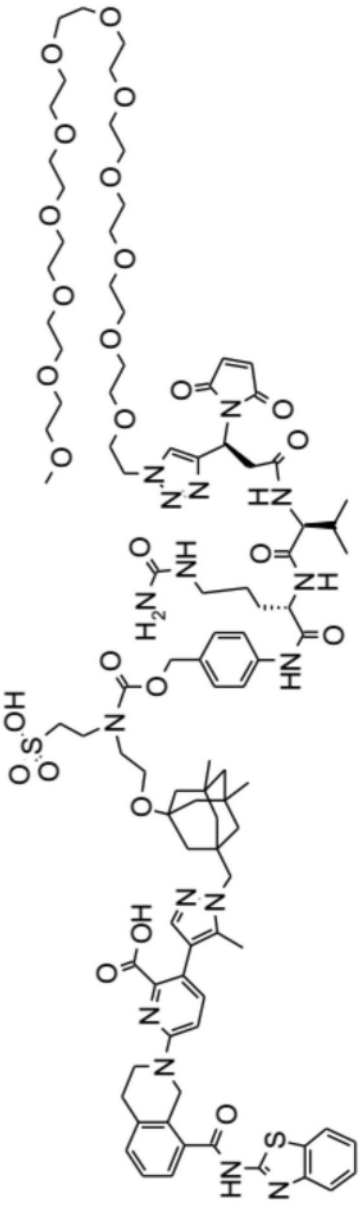
[1271]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.146	XD	

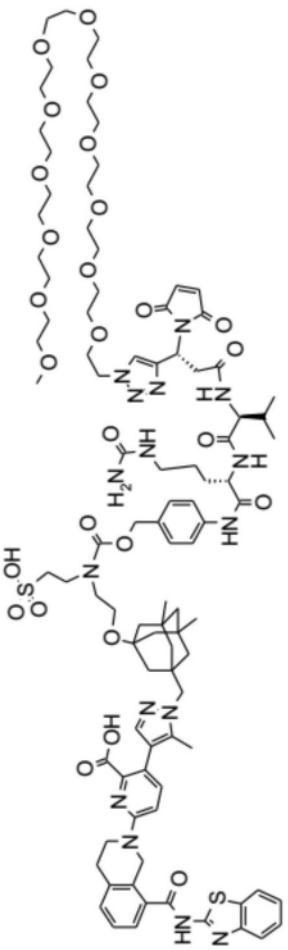
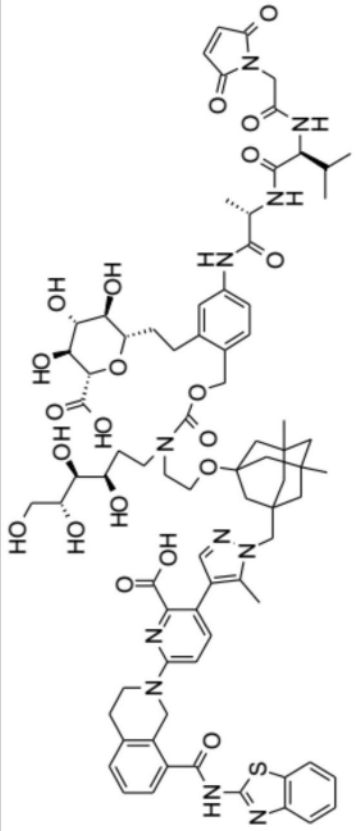
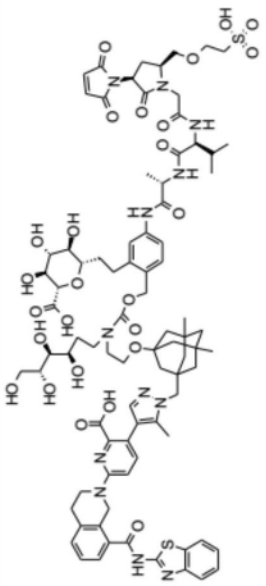
[1272]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.147	XK	
2.148	XL	

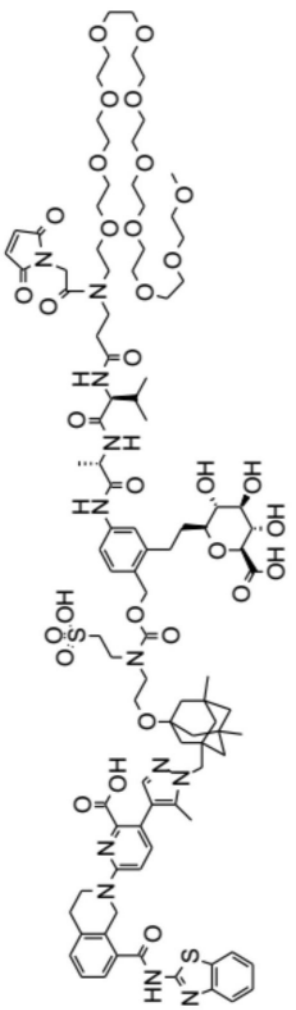
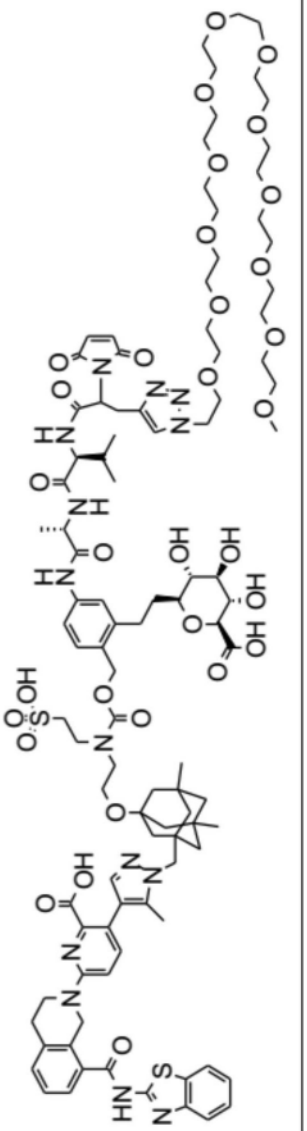
[1273]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.149	YJ	
2.150	YQ	

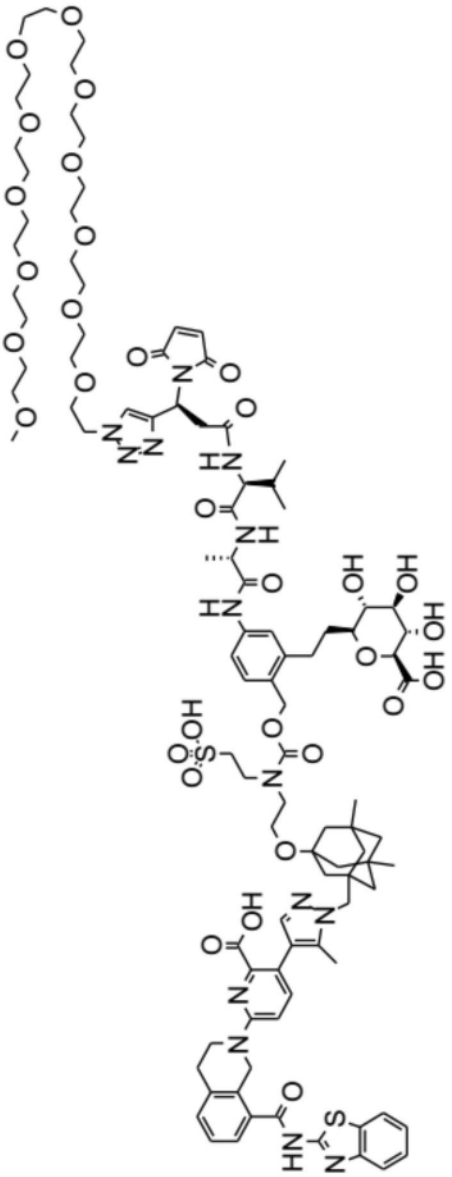
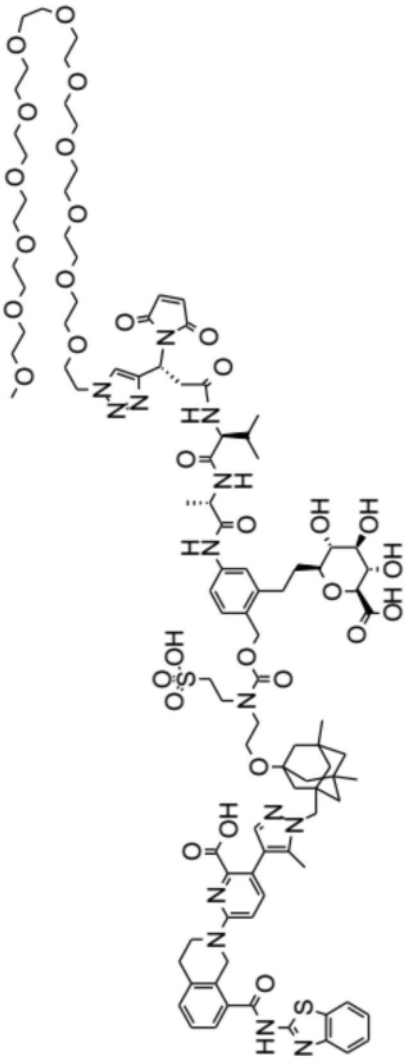
[1274]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.151	YR	
2.152	YS	
2.153	YY	

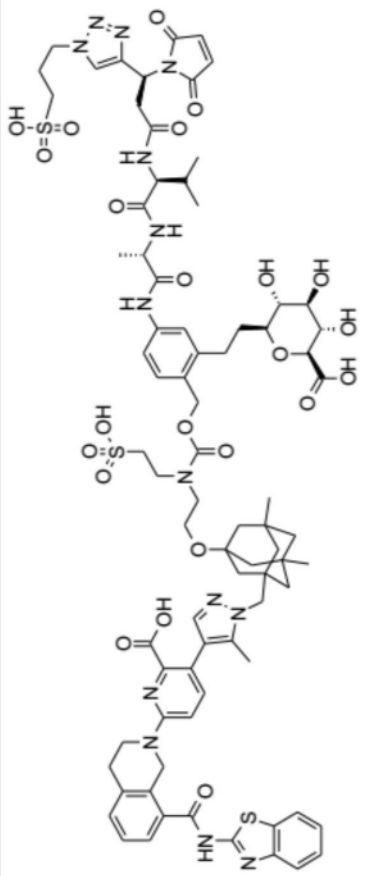
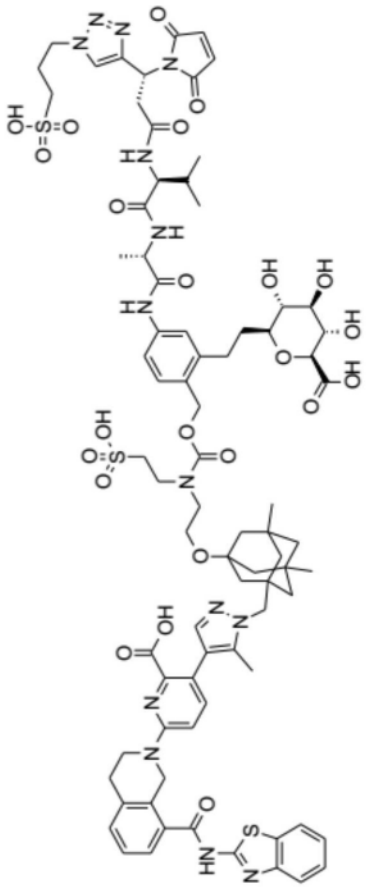
[1275]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.154	YT	
2.155	YU	

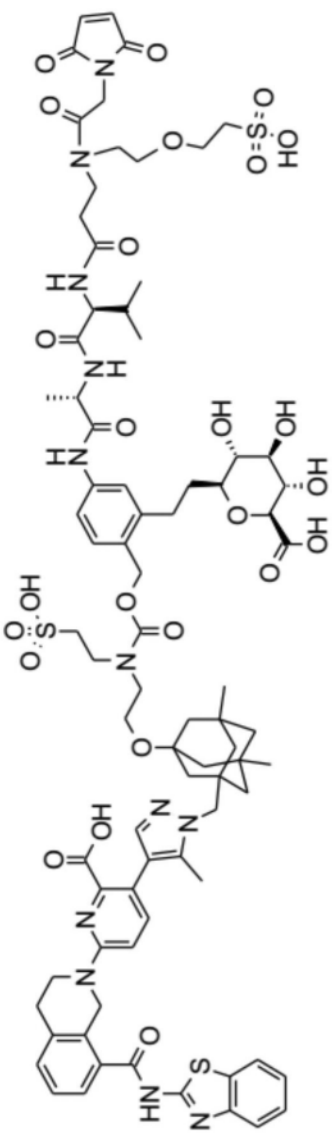
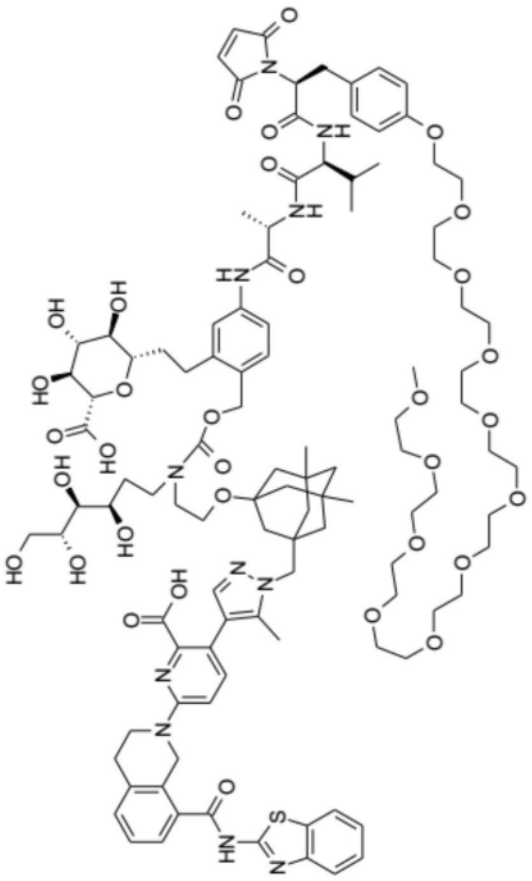
[1276]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.156	YV	
2.157	YW	

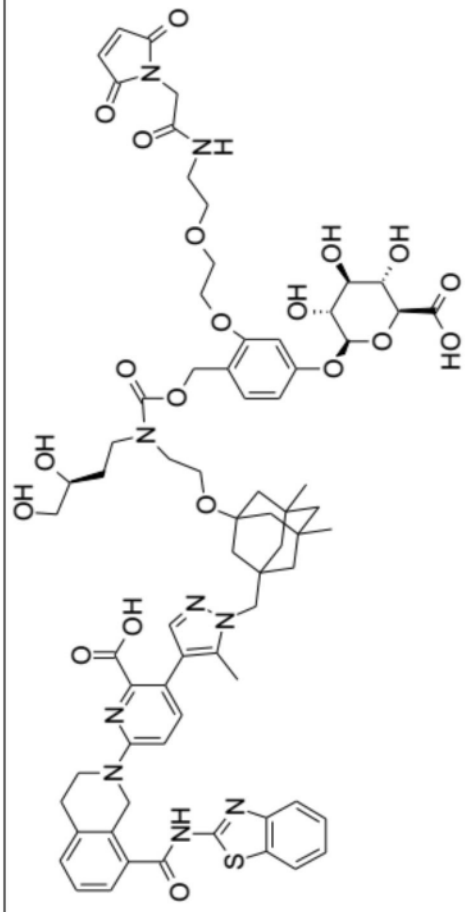
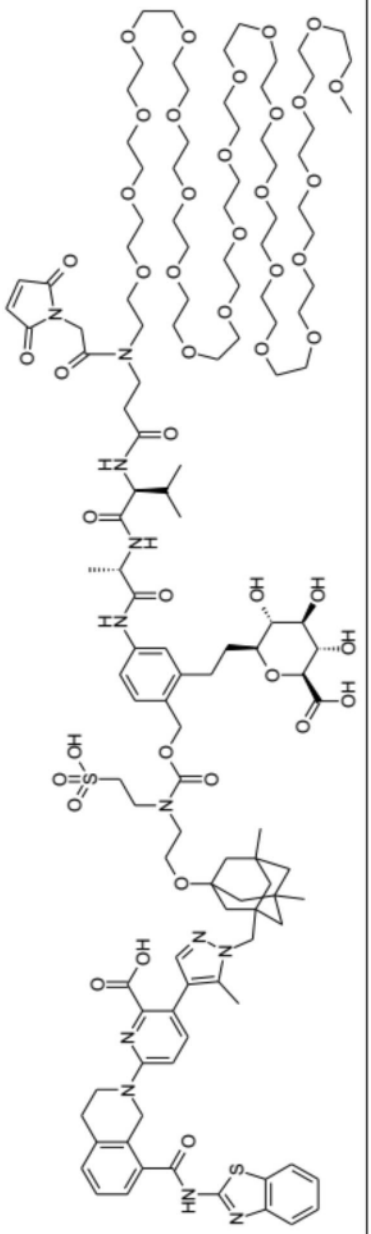
[1277]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.158	ZB	
2.159	ZC	

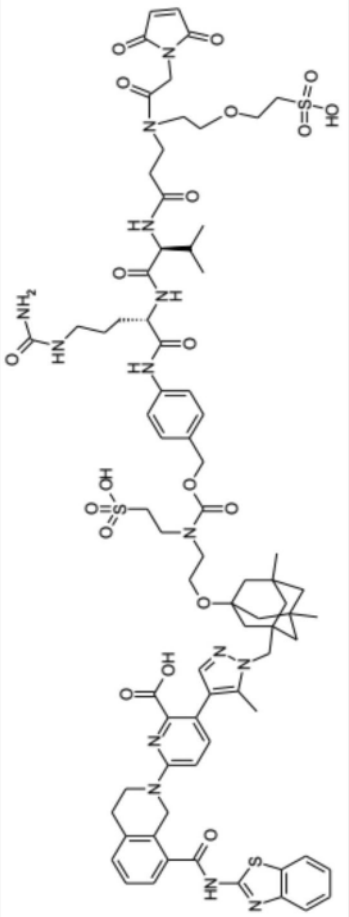
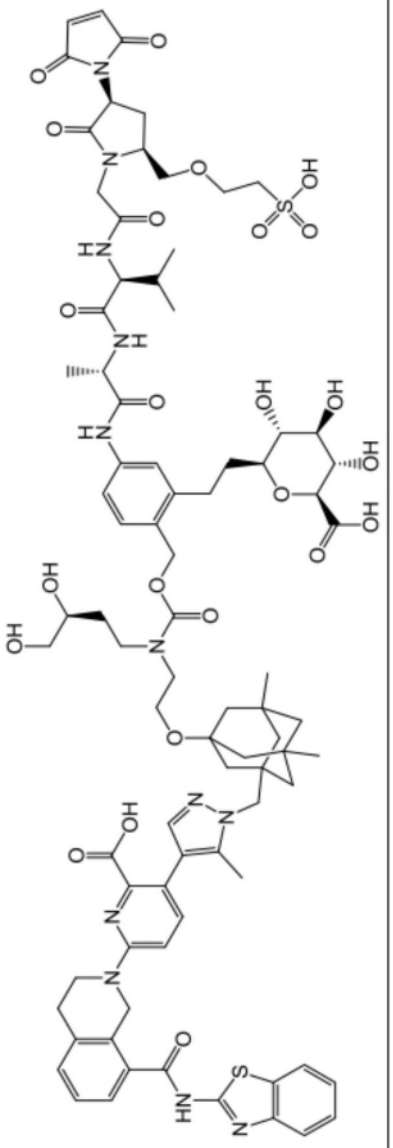
[1278]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.160	ZJ	
2.161	ZE	

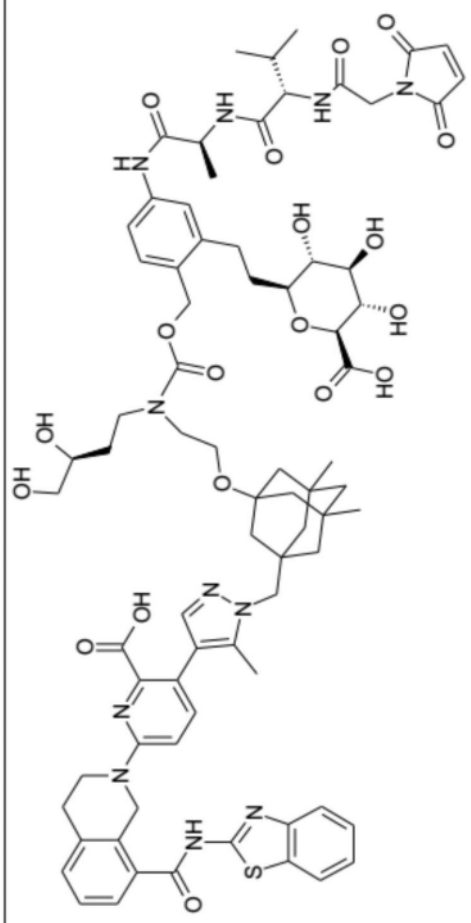
[1279]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.162	ZS	
2.163	ZW	

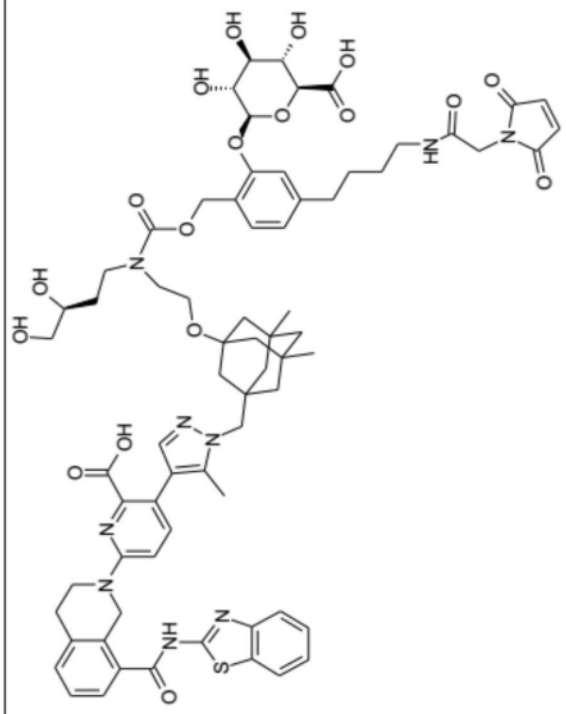
[1280]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.164	ZX	
2.166	AAA	

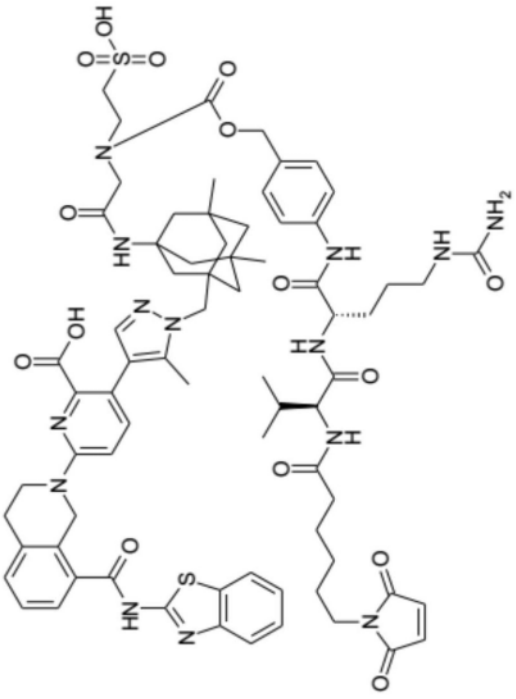
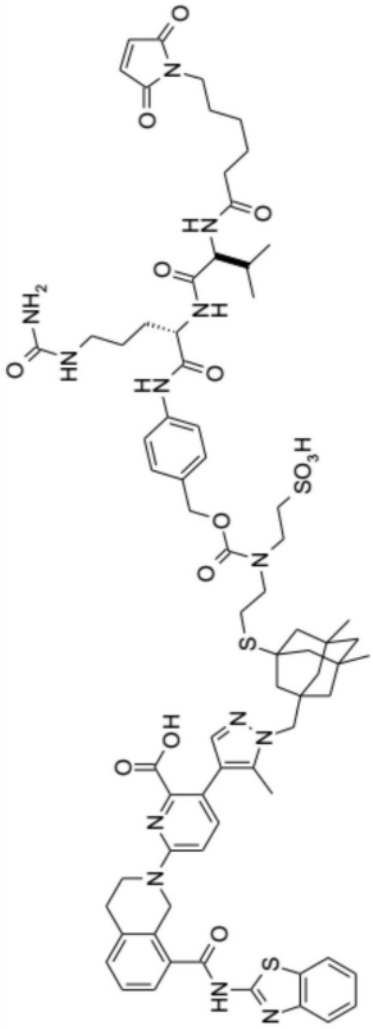
[1281]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.167	AAD	

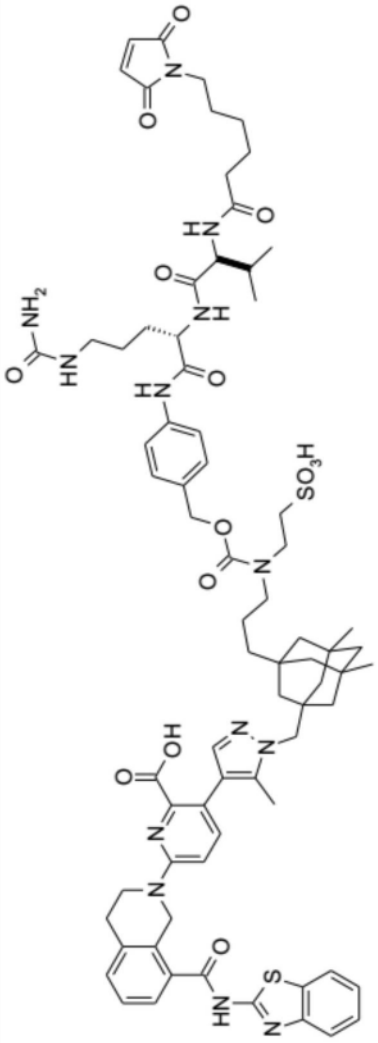
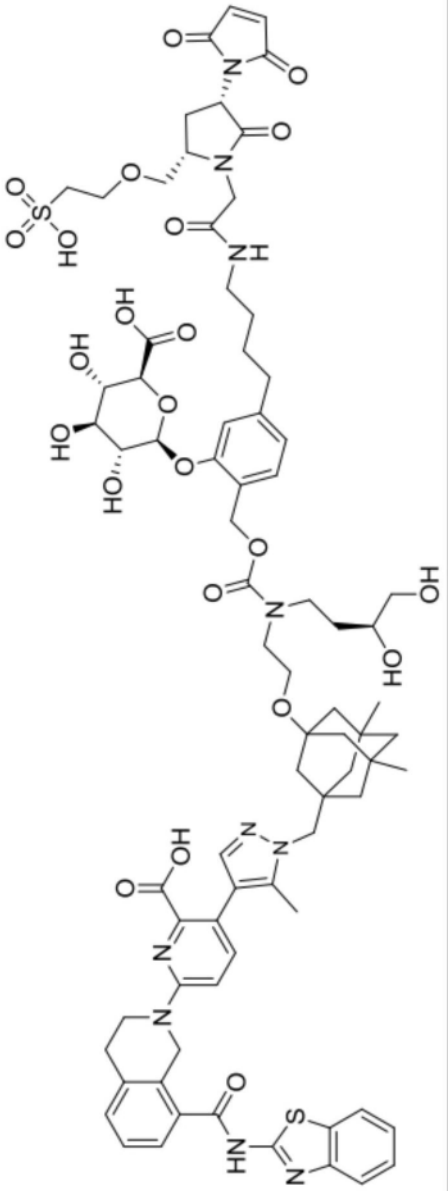
[1282]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.168	AAE	

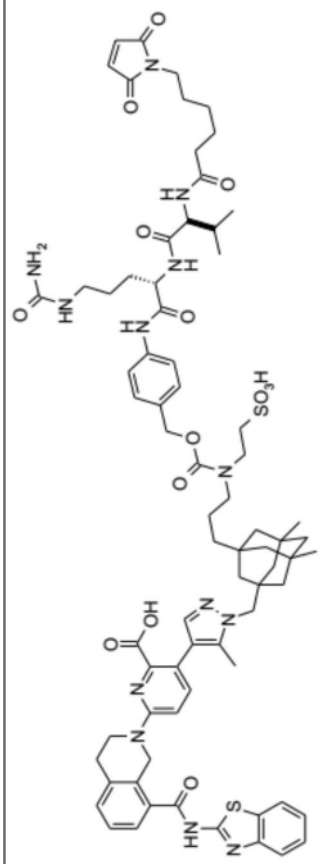
[1283]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.169	ABG	
2.170	ABL	

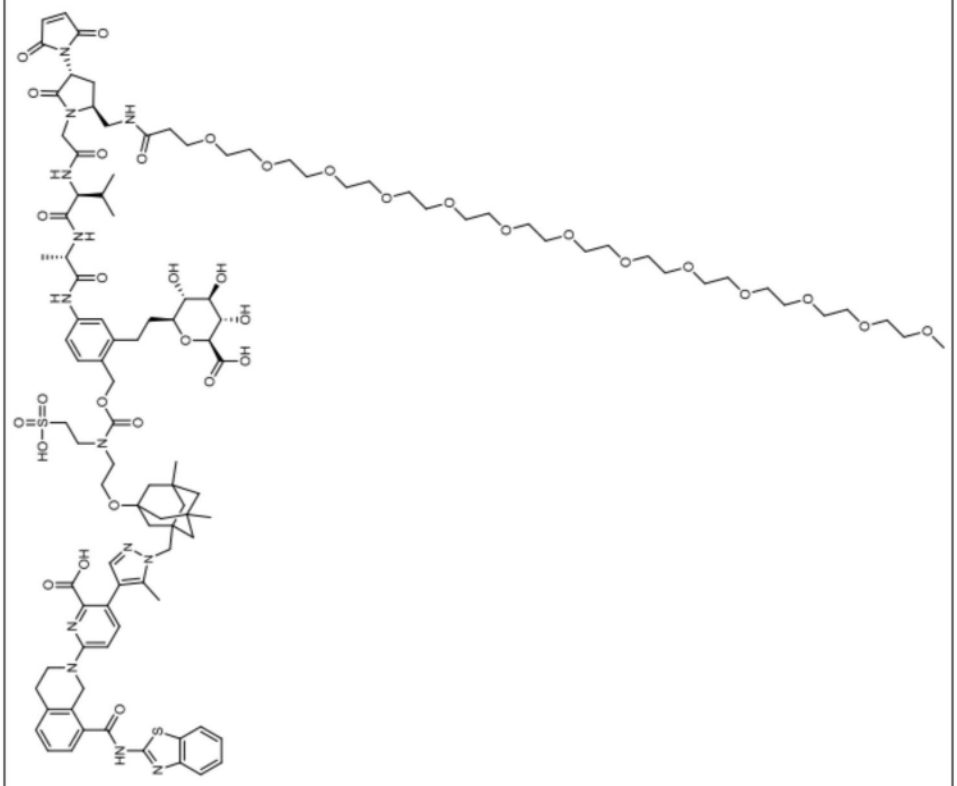
[1284]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.171	ABN	
2.172	AAF	

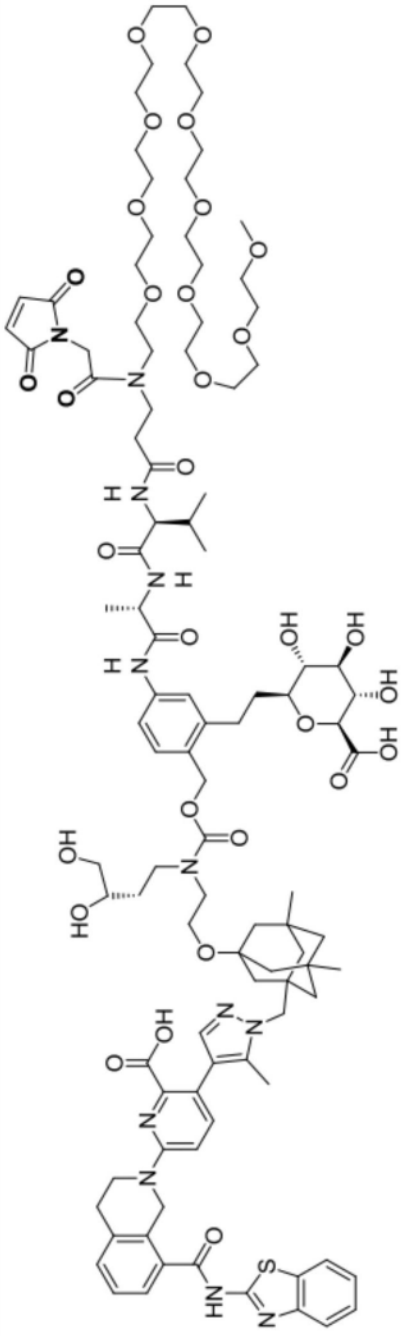
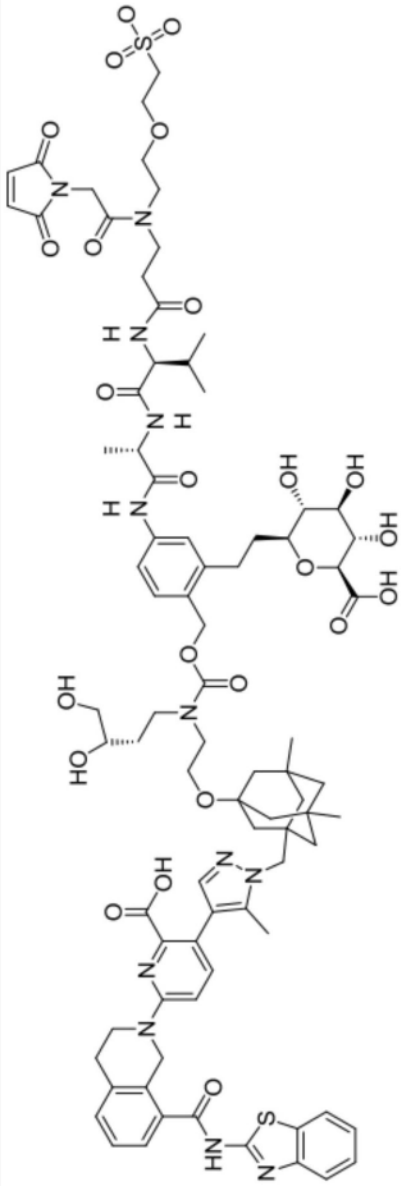
[1285]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.173	ABO	

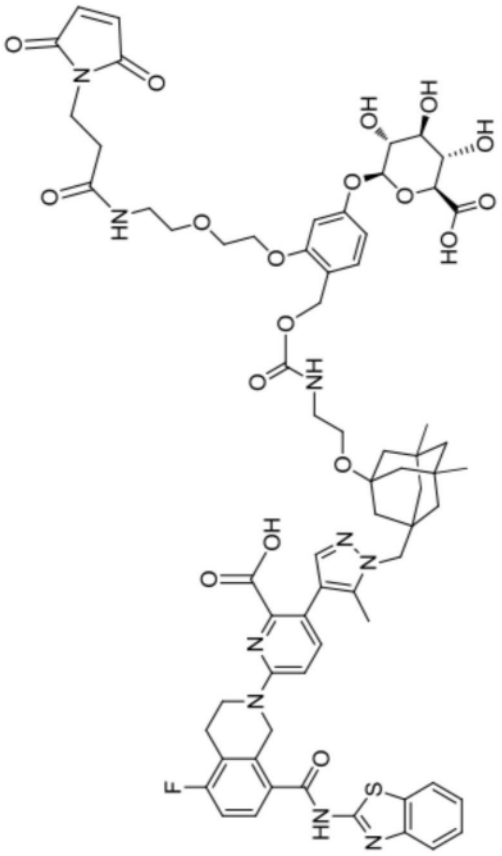
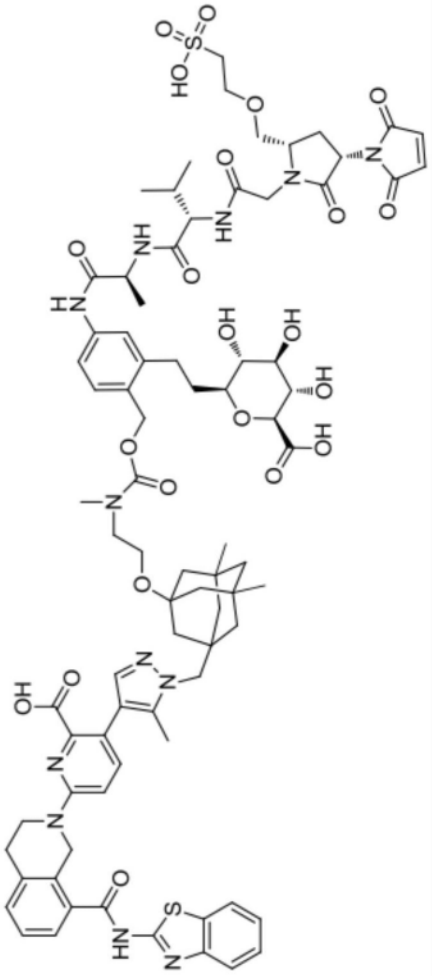
[1286]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.174	ABM	

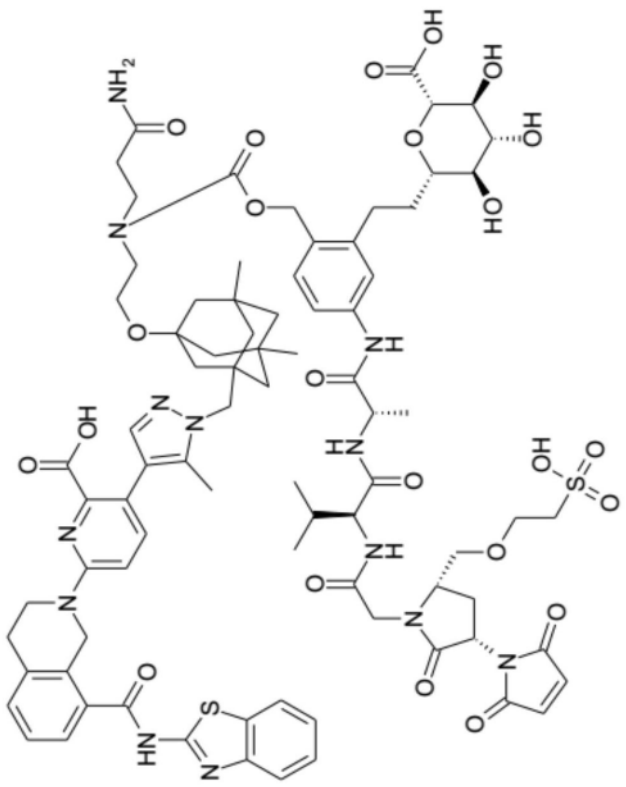
[1287]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.175	ABU	
2.176	ABV	

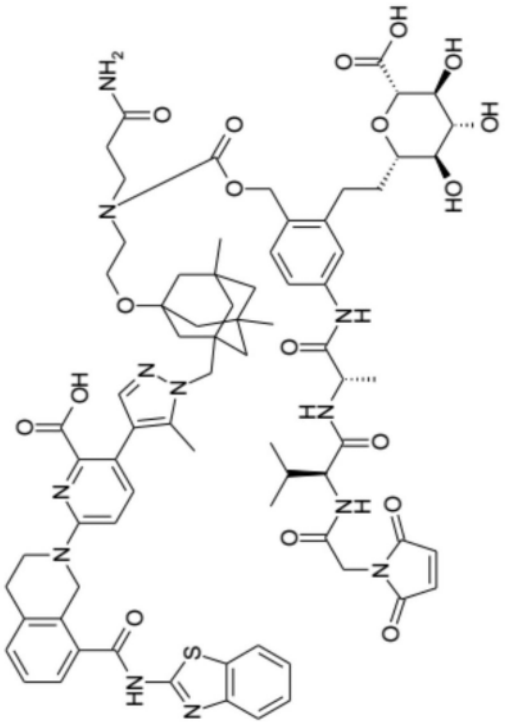
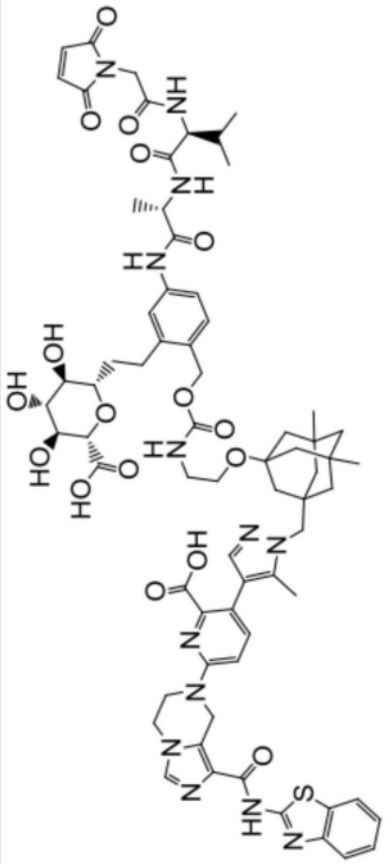
[1288]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.177（对照）	LB	
2.178（对照）	WD	

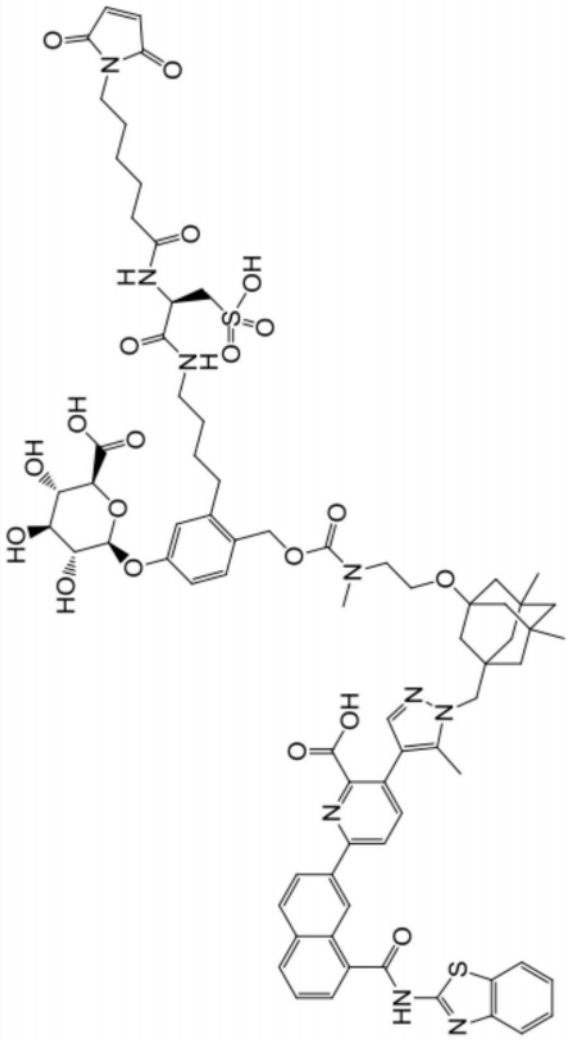
[1289]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.179（对照）	ZZ	

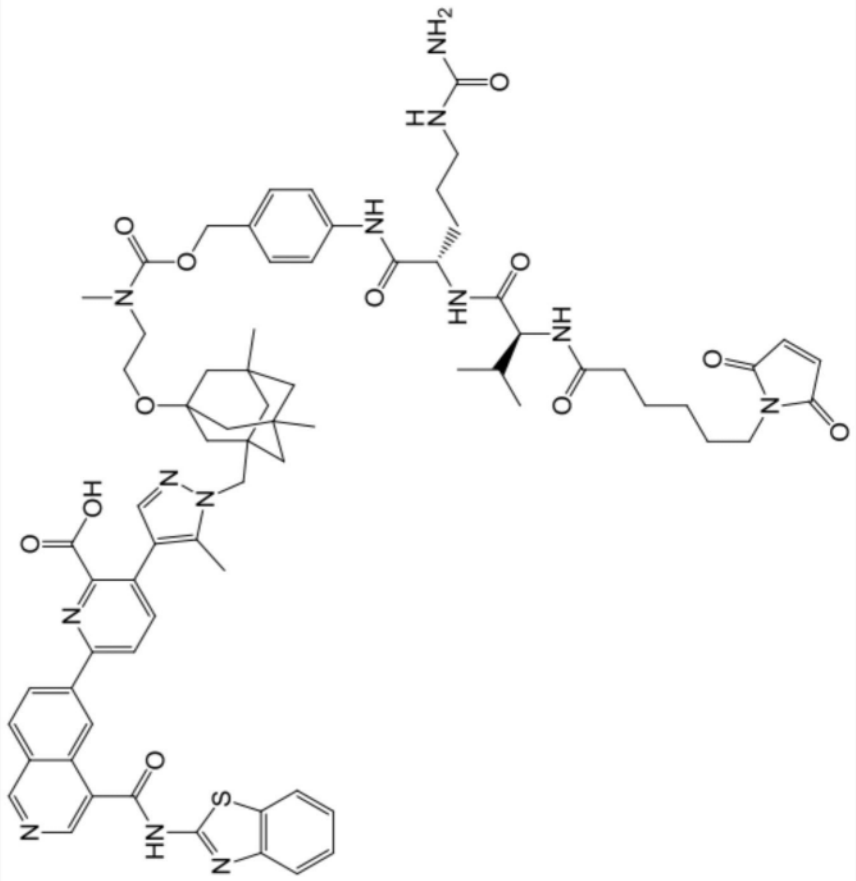
[1290]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.180（对照）	ZT	
2.181（对照）	XW	

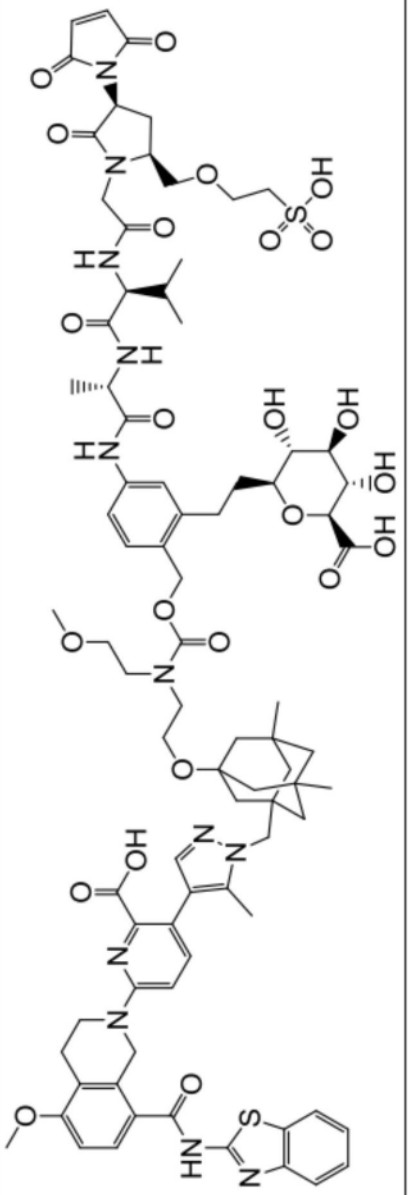
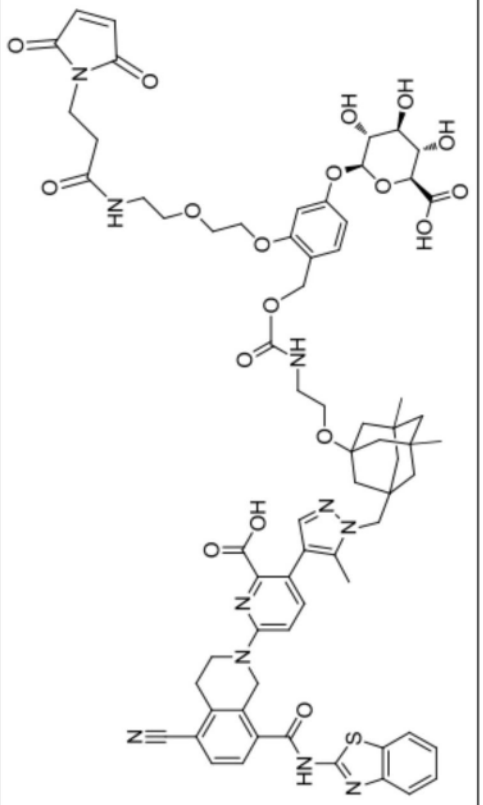
[1291]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.182（对照）	SE	

[1292]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.183（对照）	SR	

[1293]

实例编号	合成子代码	合成子结构
2.184（对照）	YG	
2.185（对照）	KZ	

[1294] 在某些实施例中，合成子选择下组，该组由以下组成：合成子实例2.1、2.2、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、2.10、2.11、2.12、2.13、2.14、2.15、2.16、2.17、2.18、2.19、2.20、

2.21、2.22、2.23、2.24、2.25、2.26、2.27、2.28、2.29、2.30、2.31、2.32、2.33、2.34、2.35、2.36、2.37、2.38、2.39、2.40、2.41、2.42、2.43、2.44、2.45、2.46、2.47、2.48、2.49、2.50、2.51、2.52、2.53、2.54、2.55、2.56、2.57、2.58、2.59、2.60、2.61、2.62、2.63、2.64、2.65、2.66、2.67、2.68、2.69、2.77、2.78、2.79、2.80、2.81、2.82、2.83、2.84、2.85、2.86、2.87、2.88、2.89、2.90、2.91、2.92、2.93、2.94、2.95、2.96、2.97、2.98、2.101、2.102、2.103、2.104、2.105、2.106、2.107、2.108、2.109、2.110、2.111、2.112、2.113、2.114、2.115、2.116、2.117、2.118、2.119、2.120、2.121、2.122、2.123、2.124、2.125、2.126、2.127、2.128、2.129、2.130、2.131、2.132、2.133、2.134、2.135、2.136、2.137、2.138、2.139、2.140、2.141、2.142、2.143、2.144、2.145、2.146、2.147、2.148、2.149、2.150、2.151、2.152、2.153、2.154、2.155、2.156、2.157、2.158、2.159、2.160、2.161、2.162、2.163、2.164、2.166、2.167、2.168、2.169、2.170、2.171、2.172、2.173、2.174、2.175、和2.176，或其药学上可接受的盐。这些合成子的化合物名称提供如下：

[1295] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1296] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-磺丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1297] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[{2-[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1298] 甲基6-[4-(3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰}氨基)苄基]氧基}羰基)氨基}丙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]-6-脱氧-β-L-吡喃葡萄糖苷；

[1299] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-(4-{[([2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]{3-[1-(β-D-吡喃葡糖醛酸基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙基}氨基甲酰基)氧基]甲基}苯基)-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1300] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[(2R)-1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基}-1-氧代-3-磺基丙烷-2-基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺；

[1301] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][4-(β-D-吡喃葡糖基氧基)苄基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1302] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[4-(β-D-别吡喃糖基氧基)苄基][2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1303] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-膦酰基乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1304] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-膦酰基乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺；

[1305] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1306] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[(2R)-1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-1-氧代-3-磺基丙烷-2-基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺；

[1307] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[{2-[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙氧基]乙基}(3-膦酰基丙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1308] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[{2-[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙氧基]乙基}(3-膦酰基丙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-L-丙氨酰胺；

[1309] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙

基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺；

[1310] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(2S)-3-羧基-2-({[(4-{[(2S)-2-{[(2S)-2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}丙酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}氨基)丙酰基](甲基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸；

[1311] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][4-(β-D-吡喃葡糖醛酸基氧基)苄基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1312] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-膦酰基乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1313] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N^5-氨基甲酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-鸟氨酰胺；

[1314] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[(2R)-1-{[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基}-1-氧代-3-磺基丙烷-2-基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1315] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[(2R)-1-{[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基}-1-氧代-3-磺基丙烷-2-基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺；

[1316] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N^5-氨基甲酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-鸟氨酰胺；

[1317] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1318] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡

啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1319] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺；

[1320] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(2R)-3-羧基-2-({[(4-{[(2S)-2-{[(2S)-2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}丙酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}氨基)丙酰基](甲基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸；

[1321] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][1-(羧甲基)哌啶-4-基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1322] (S)-6-((2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)(甲基)氨基)-5-((((4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)氨基)-N,N,N-三甲基-6-氧代己烷-1-铵盐；

[1323] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺；

[1324] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1325] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1326] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1327] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-

({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1328] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1329] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N^{5}-氨基甲酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-鸟氨酰胺；

[1330] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N^{5}-氨基甲酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-鸟氨酰胺；

[1331] N-{6-[(氯乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺；

[1332] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1333] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(2-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基}乙基)(2-羧乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1334] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({(2S)-2-[{[(4-{[(2S)-5-(氨基甲酰基氨基)-2-{[(2S)-2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}戊酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}(2-羧乙基)氨基]-3-羧基丙酰基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸；

[1335] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(2S)-2-({[(4-{[(2S)-5-(氨基甲酰基氨基)-2-{[(2S)-2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}戊酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}氨基)-3-羧基丙酰基](2-磺乙基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲

基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸；

[1336] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-羧基丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1337] 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1338] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1339] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(2-{[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-(6-羧基-5-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基]氧基}乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1340] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(2-{[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-(6-羧基-5-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基]氧基}乙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1341] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(2-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基}乙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1342] N-{6-[(氯乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1343] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-1,4-苯并噁嗪-6-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1344] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(2-

{[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-(6-羧基-5-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基]氧基}乙基)(2-羧乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1345] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-磺基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1346] N-[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1347] N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1348] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(2S)-2-({[(4-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-3-[(3-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}丙酰基)氨基]苄基)氧基]羰基}氨基)-3-磺基丙烷oyl](甲基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸；

[1349] 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1350] 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1351] 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1352] 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-

基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1353] 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1354] 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1355] 4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1356] 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1357] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)({[(2E)-3-(4-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-3-[(3-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}丙酰基)氨基]苯基)丙-2-烯-1-基]氧基}羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1358] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基){[(4-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-2-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苄基)氧基]羰基}氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1359] N-[6-(乙烯基磺酰基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1360] 4-[(1E)-3-{[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-

D-吡喃葡糖苷酸；

[1361] 4-[(1E)-3-{[(4-{[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1362] 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1363] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-3-磺基-L-丙氨酰}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸；

[1364] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-(2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基](2-磺乙基)氨基}乙氧基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸；

[1365] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基](2-磺乙基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸；

[1366] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-22-(2-磺乙基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂-22-氮杂二十四烷-24-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1367] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-22-(2-磺乙基)-3,6,9,12,15,18,25-七氧杂-22-氮杂二十七烷-27-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1368] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[6-(乙烯基磺酰基)己酰基](2-磺乙基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸；

[1369] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[{6-[(氯乙酰基)氨基]己酰基}(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1370] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-羧基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1371] N-{6-[(溴乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-

1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1372] 4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-羧基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1373] 4-({[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-羧基丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}甲基)-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1374] 4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-磺丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1375] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基}氮杂环丁-1-基)羰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1376] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{[26-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-8,24-二氧代-3-(2-磺乙基)-11,14,17,20-四氧杂-3,7,23-三氮杂二十六-1-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1377] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基}丙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1378] N-{6-[(碘乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1379] N-{6-[(乙烯基磺酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1380] N-{6-[(乙烯基磺酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨

基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1381] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-{[6-(乙烯基磺酰基)己酰基]氨基}丙基)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1382] N-[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1383] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基){[(2-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-4-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苄基)氧基]羰基}氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1384] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-3-磺基-L-丙氨酰-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1385] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{[(43S,46S)-43-({[(4-{[(2S)-2-{[(2S)-2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}丙酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}氨基)-46-甲基-37,44,47-三氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂-38,45,48-三氮杂五十烷-50-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1386] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1387] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1388] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基){[(2-{[(2R,3S,4R,5R,6R)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-4-[2-(2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苄基)氧基]羰基}氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1389] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲

基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1390] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1391] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1392] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1393] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1394] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[7-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吲哚-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1395] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[{3-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-(6-羧基-5-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基]丙基}(甲基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1396] N-(6-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}己酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1397] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][3-(β-L-吡喃葡糖醛酸基氧基)丙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1398] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)异喹啉-6-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨

基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1399] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-α-谷氨酰-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1400] N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-α-谷氨酰-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1401] 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-D-缬氨酰基-N^5-氨基甲酰基-D-鸟氨酰}氨基)苄基]氧基}羰基)氨基}-1,2-双脱氧-D-阿拉伯-己糖醇；

[1402] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-氧化异喹啉-6-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1403] N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1404] N-{(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1405] N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1406] N-{(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1407] (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰

基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸；

[1408] 3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-(4-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡糖醛酸基氧基)苄基]氧基}羰基)氨基}丙基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1409] N-{[(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基]乙酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺；

[1410] (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸；

[1411] 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(4-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}丁基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1412] 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[4-({(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基}氨基)丁基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1413] (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸；

[1414] 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)-4-((S)-2-((S)-2-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸；

[1415] 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-(4-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)丁基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸;

[1416] 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸;

[1417] 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸;

[1418] 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[4-({(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基}氨基)丁基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸;

[1419] N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(4-羧基丁基)苯基}-L-丙氨酰胺;

[1420] 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(3-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丙基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸;

[1421] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[({[2-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-4-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)苄基]氧基}羰基)(3-{[1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙烷-2-基]氨基}-3-氧丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸;

[1422] 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)-3-(1-((3-(2-((((2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-(4-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)丁基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸;

[1423] 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][3-羟基-2-(羟甲基)丙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(3-{[(2,5-二

氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丙基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1424] N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三-52-炔-53-基)苯基}-L-丙氨酰胺；

[1425] N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苯基}-L-丙氨酰胺；

[1426] 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(3-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丙基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1427] 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡糖醛酸基氧基)苄基]氧基}羰基)氨基}-1,2-双脱氧-D-阿拉伯-己糖醇；

[1428] 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡糖醛酸基氧基)苄基]氧基}羰基)氨基}-1,2-双脱氧-D-赤-戊五醇；

[1429] N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基]苯基}-L-丙氨酰胺；

[1430] (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2S)-3-[3,4-bis(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸；

[1431] N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)-β-丙氨酰-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-

[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苯基}-L-丙氨酰胺;

[1432] N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)-β-丙氨酰-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1433] N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基]苯基}-L-丙氨酰胺;

[1434] N-{(3S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1435] N-{(3R)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1436] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({[(2-{2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]乙基}-4-{[(2S)-2-{[(2S)-2-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}丙酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}[(3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基]氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;

[1437] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({[(2-{2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]乙基}-4-{[(2S)-2-({(2S)-2-[({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)氨基]-3-甲基丁酰基}氨基)丙酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}[(3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基]氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;

[1438] (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-

十一氧杂三十四烷-34-基)-β-丙氨酰-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸；

[1439] (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸；

[1440] (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{(3S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸；

[1441] (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{(3R)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸；

[1442] (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{(3S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(3-磺丙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸；

[1443] (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{(3R)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(3-磺丙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸；

[1444] (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-[2-(2-磺基乙氧基)乙基]-β-丙氨酰-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸；

[1445] 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-[1-({3-[2-({[(2-{2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟噁烷-2-基]乙基}-4-{[(2S)-2-{[(2S)-2-{[(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-{4-[(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)氧基]苯基}丙酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨

基}丙酰基]氨基}苯基)甲氧基]羰基}[(3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基]氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸；

[1446] 4-{[({2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基}[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基}-3-(2-{2-[2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]乙氧基}乙氧基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1447] 2,6-脱水-8-[2-({[{2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)-5-{[(79S,82S)-74-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-82-甲基-77,80,83-三氧代-79-(丙烷-2-基)-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-74,78,81-三氮杂八十三烷-83-基]氨基}苯基]-7,8-双脱氧-L-丙三基-L-古洛糖-辛酸；

[1448] 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[(3-{2-[{[(4-{[(2S,5S)-2-[3-(氨基甲酰基氨基)丙基]-10-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-4,7-二氧代-5-(丙烷-2-基)-15-磺基-13-氧杂-3,6,10-十五烷-1-酰基]氨基}苯基)甲氧基]羰基}(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1449] 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)-4-((S)-2-((S)-2-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸；

[1450] 2,6-脱水-8-(2-{[({2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基}[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基}-5-{[(2S)-2-({(2S)-2-[2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]-3-甲基丁酰基}氨基)丙酰基]氨基}苯基)-7,8-双脱氧-L-丙三基-L-古洛糖-辛酸；

[1451] 2-{[({2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基}[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基}-5-{4-[2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]丁基}苯基β-D-吡喃葡糖苷酸；

[1452] 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[(3-{2-[{[(4-{[(2S)-5-(氨基甲酰基氨基)-2-{[(2S)-2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}戊酰基]氨基}苯基)甲氧基]羰基}(2-磺乙基)氨基]乙酰胺基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1453] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-

({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}硫烷基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1454] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(3-{3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}丙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺;

[1455] 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-{4-[({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)氨基]丁基}苯基β-D-吡喃葡糖苷酸;

[1456] 2,6-脱水-8-[2-({[{2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)-5-{[N-({(3R,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-L-丙氨酰]氨基}苯基]-7,8-双脱氧-L-丙三基-L-古洛糖-辛酸;

[1457] 2,6-脱水-8-{2-({[{2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)-5-[(N-{[(3R,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-(41-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-tridecaoxa-42-氮杂四十三烷-43-基)吡咯烷-1-基]乙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}-7,8-双脱氧-L-丙三基-L-古洛糖-辛酸;

[1458] (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)-b-丙氨酰-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸;以及

[1459] (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-[2-(2-磺基乙氧基)乙基]-b-丙氨酰-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸。

[1460] 在某些实施例中,ADC或其药学上可接受的盐

[1461] D是选自由以下化合物组成的组的Bcl-xL抑制剂,对这些化合物的修饰在于:对应于结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)、或(IId)的#位置的氢不存在,从而形成单价基团:

[1462] W2.01、W2.02、W2.03、W2.04、W2.05、W2.06、W2.07、W2.08、W2.09、W2.10、W2.11、

W2.12、W2.13、W2.14、W2.15、W2.16、W2.17、W2.18、W2.19、W2.20、W2.21、W2.22、W2.23、W2.24、W2.25、W2.26、W2.27、W2.28、W2.29、W2.30、W2.31、W2.32、W2.33、W2.34、W2.35、W2.36、W2.37、W2.38、W2.39、W2.40、W2.41、W2.42、W2.43、W2.44、W2.45、W2.46、W2.47、W2.48、W2.49、W2.50、W2.51、W2.52、W2.53、W2.54、W2.55、W2.56、W2.57、W2.58、W2.59、W2.60、W2.61、W2.62、W2.63、W2.64、W2.65、W2.66、W2.67、W2.68、W2.69、W2.70、W2.71、W2.72、W2.73、W2.74、W2.75、W2.76、W2.77、W2.78、W2.79、W2.80、W2.81、W2.82、W2.83、W2.84、W2.85、W2.86、W2.87、W2.88、W2.89、W2.90、和W2.91，及其药学上可接受的盐；

[1463] L选自下组，该组由以下组成：接头IVa.1-IVa.8、IVb.1-IVb.19、IVc.1-IVc.7、IVd.1-IVd.4、Va.1-Va.12、Vb.1-Vb.10、Vc.1-Vc.11、Vd.1-Vd.6、Ve.1-Ve.2、VIa.1、VIc.1-VIc.2、VId.1-VId.4、VIIa.1-VIIa.4、VIIb.1-VIIb.8、VIIc.1-VIIc.6，其中每个接头已与抗体Ab反应形成共价附接；

[1464] LK是硫醚；以及

[1465] m是范围从1至8的整数。

[1466] 在某些实施例中，ADC或其药学上可接受的盐

[1467] D是选自由以下化合物组成的组的Bcl-xL抑制剂，对这些化合物的修饰在于：对应于结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)、或(IId)的#位置的氢不存在，从而形成单价基团：

[1468] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1469] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1470] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸；

[1471] 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-1,2-双脱氧-D-阿拉伯-己糖醇；

[1472] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[3-羟基-2-(羟甲基)丙基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸；

[1473] 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸；

[1474] 及其药学上可接受的盐；

[1475] L选择下组，该组由以下组成：处于封闭或开放形式的接头IVb.2、IVc.5、IVc.6、IVc.7、IVd.4、Vb.9、Vc.11、VIIa.1、VIIa.3、VIIc.1、VIIc.4、和VIIc.5，及其药学上可接受的盐；

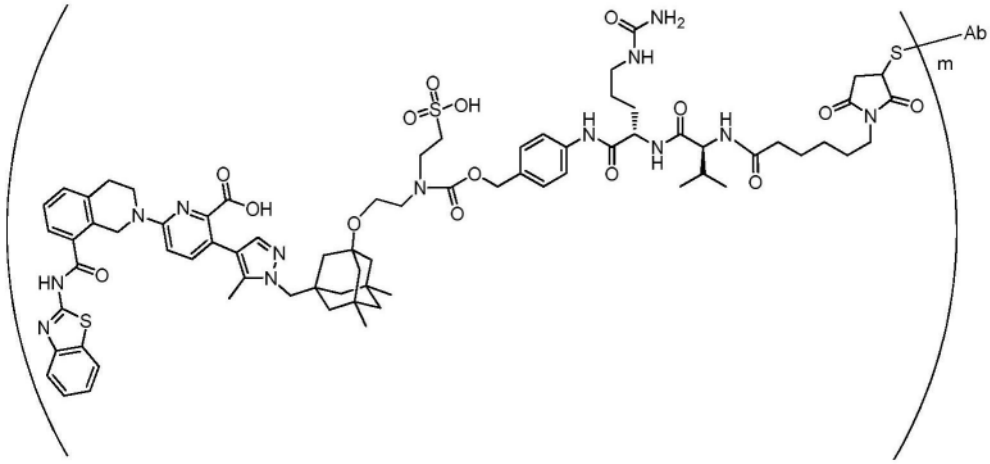
[1476] LK是硫醚；并且

[1477] m是范围从2至4的整数。

[1478] 为了形成ADC，合成子(例如，表B中列出的合成子)的马来酰亚胺环可以与抗体Ab反应形成呈琥珀酰亚胺(封闭形式)或琥珀酰胺(开放形式)的共价附接。类似地，其他官能团(例如，乙酰卤或乙烯基砜)可与抗体Ab反应，形成共价附接。

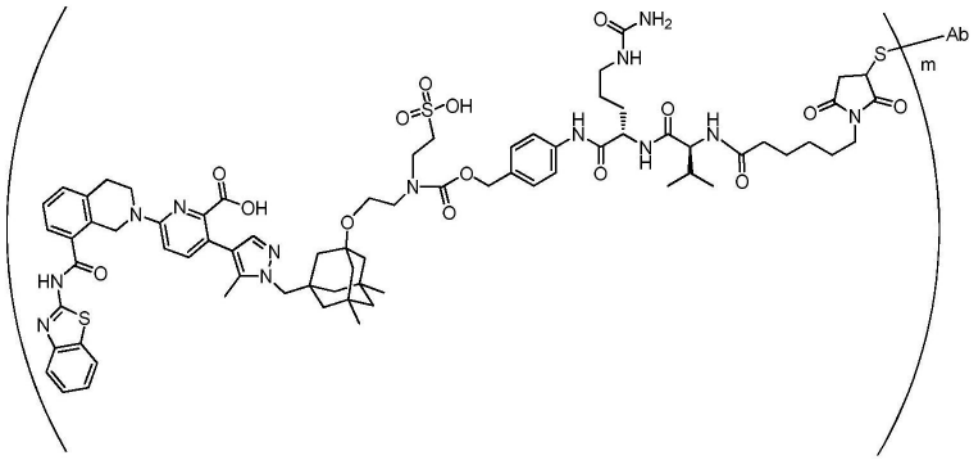
[1479] 在某些实施例中，ADC或其药学上可接受的盐选自由以下组成的组：AbA-CZ、AbA-TX、AbA-TV、AbA-YY、AbA-AAA、AbA-AAD、AbB-CZ、AbB-TX、AbB-TV、AbB-YY、AbB-AAD、AbG-CZ、AbG-TX、AbG-TV、AbG-YY、AbG-AAA、AbG-AAD、AbK-CZ、AbK-TX、AbK-TV、AbK-YY、AbK-AAA、AbK-AAD，其中CZ、TX、TV、YY、AAA、和AAD是表B中披露的合成子，并且其中偶联合成子处于开放或封闭形式。

[1480] 在一个实施例中，ADC或其药学上可接受的盐是

[1481] 
(i)，

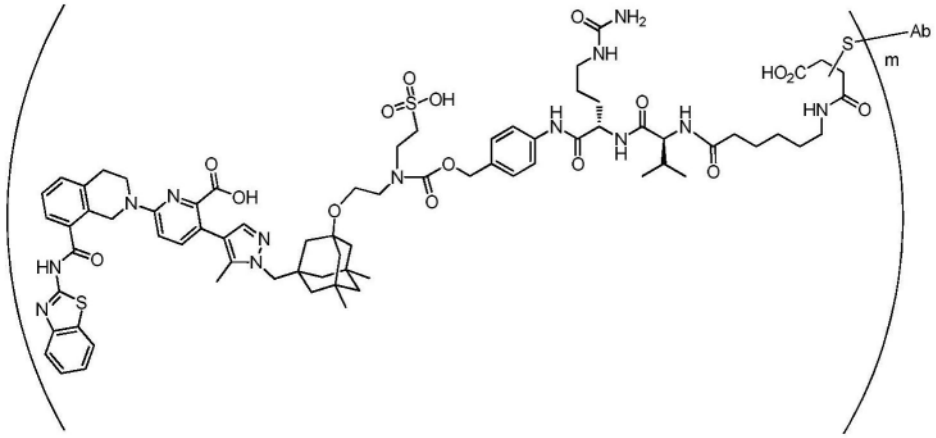
[1482] 其中m是2，Ab是抗hB7-H3抗体，其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:35中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:34中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:33中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域；和含有SEQ ID NO:39中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:38中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:37中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域；或是抗hB7-H3抗体，其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:147中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列的轻链可变区；或是抗hB7-H3抗体，其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:168中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:169中所示氨基酸序列的轻链。

[1483] 在一个实施例中，ADC或其药学上可接受的盐是

[1484] 
(i)，

[1485] 其中m是2,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:12中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:140中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:10中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域;和含有SEQ ID NO:15中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:7中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:136中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:139中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:135中所示氨基酸序列的轻链可变区;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:170中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:171中所示氨基酸序列的轻链。

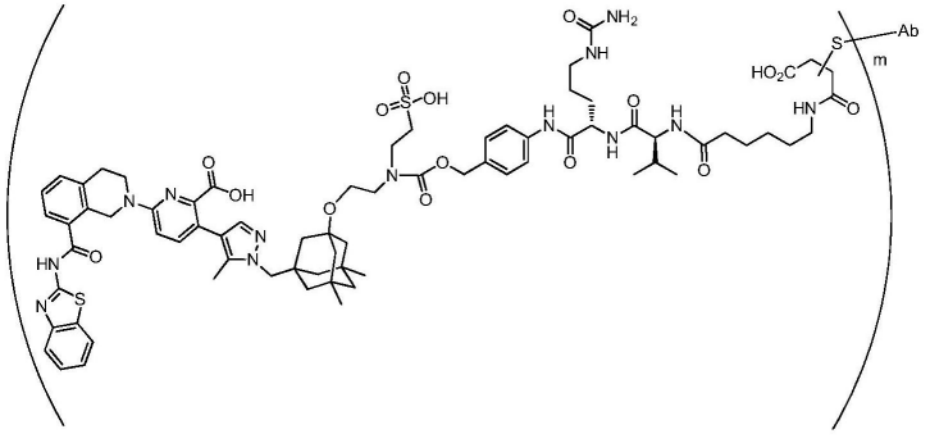
[1486] 在一个实施例中,ADC或其药学上可接受的盐是

[1487] 

(ii),

[1488] 其中m是2,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:35中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:34中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:33中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域;和含有SEQ ID NO:39中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:38中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:37中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:147中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列的轻链可变区;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:168中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:169中所示氨基酸序列的轻链。

[1489] 在一个实施例中,ADC或其药学上可接受的盐是

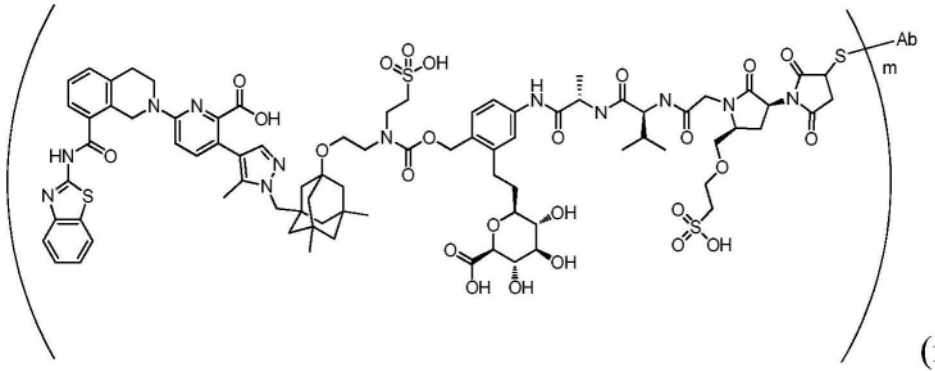
[1490] 

(ii),

[1491] 其中m是2,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:12中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:140中所示氨基酸序列的重链CDR2结构

域、和含有SEQ ID NO:10中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域;和含有SEQ ID NO:15中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:7中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:136中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:139中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:135中所示氨基酸序列的轻链可变区;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:170中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:171中所示氨基酸序列的轻链。

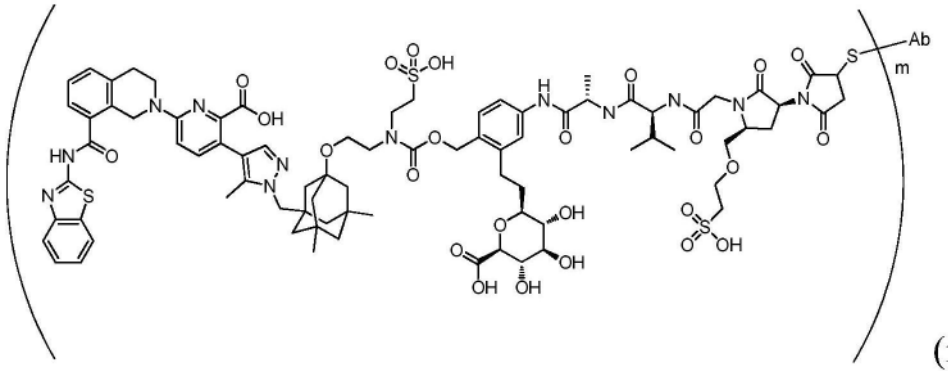
[1492] 在一个实施例中,ADC或其药学上可接受的盐是

[1493] 

(iii),

[1494] 其中m是2,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:35中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:34中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:33中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域;和含有SEQ ID NO:39中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:38中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:37中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:147中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列的轻链可变区;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:168中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:169中所示氨基酸序列的轻链。

[1495] 在一个实施例中,ADC或其药学上可接受的盐是

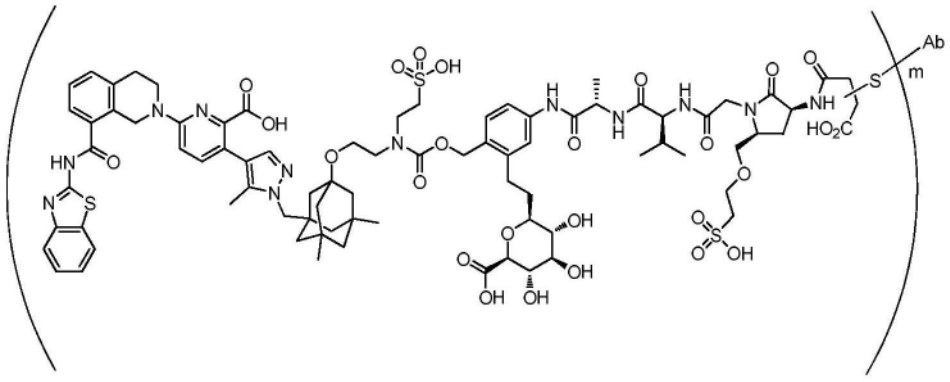
[1496] 

(iii),

[1497] 其中m是2,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:12中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:140中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:10中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域;和含有SEQ ID NO:15中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:7中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:136中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:139中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:135

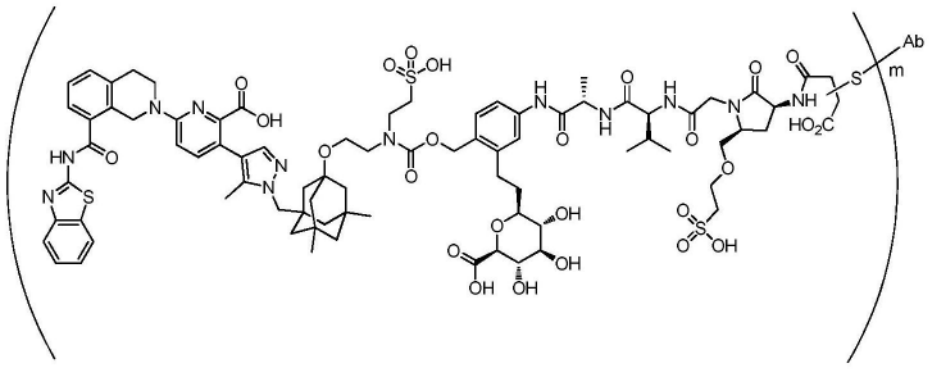
中所示氨基酸序列的轻链可变区;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:170中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:171中所示氨基酸序列的轻链。

[1498] 在一个实施例中,ADC或其药学上可接受的盐是

[1499] 
(iv),

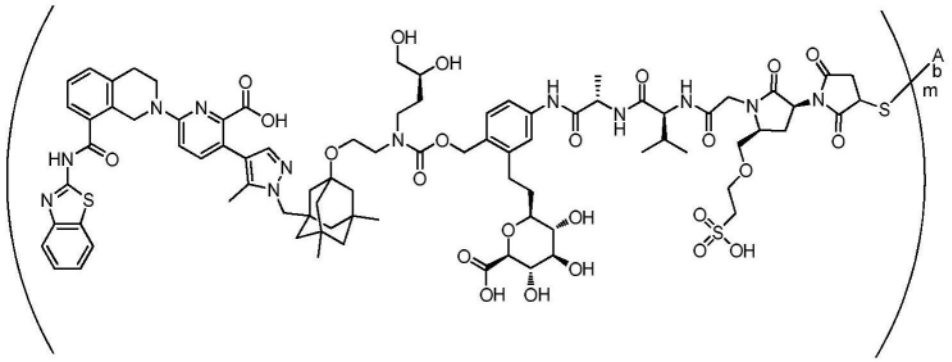
[1500] 其中m是2,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:35中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:34中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:33中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域;和含有SEQ ID NO:39中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:38中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:37中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:147中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列的轻链可变区;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:168中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:169中所示氨基酸序列的轻链。

[1501] 在一个实施例中,ADC或其药学上可接受的盐是

[1502] 
(iv),

[1503] 其中m是2,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:12中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:140中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:10中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域;和含有SEQ ID NO:15中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:7中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:136中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:139中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:135中所示氨基酸序列的轻链可变区;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:170中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:171中所示氨基酸序列的轻链。

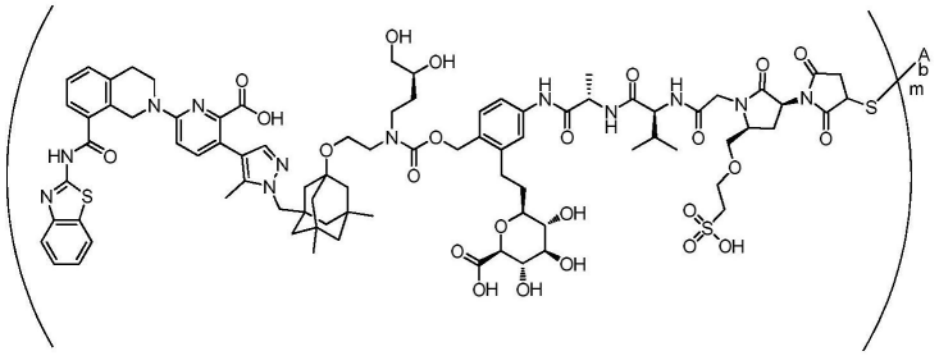
[1504] 在一个实施例中,ADC或其药学上可接受的盐是

[1505] 

(v),

[1506] 其中m是2,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:35中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:34中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:33中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域;和含有SEQ ID NO:39中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:38中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:37中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:147中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列的轻链可变区;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:168中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:169中所示氨基酸序列的轻链。

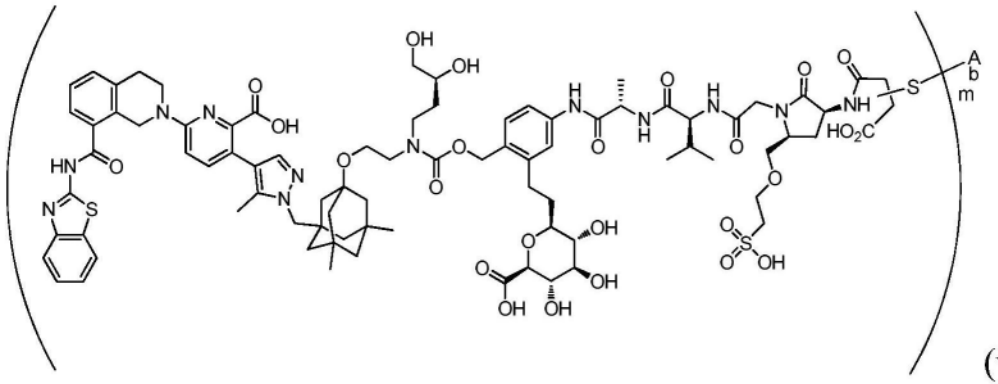
[1507] 在一个实施例中,ADC或其药学上可接受的盐是

[1508] 

(v),

[1509] 其中m是2,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:12中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:140中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:10中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域;和含有SEQ ID NO:15中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:7中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:136中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:139中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:135中所示氨基酸序列的轻链可变区;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:170中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:171中所示氨基酸序列的轻链。

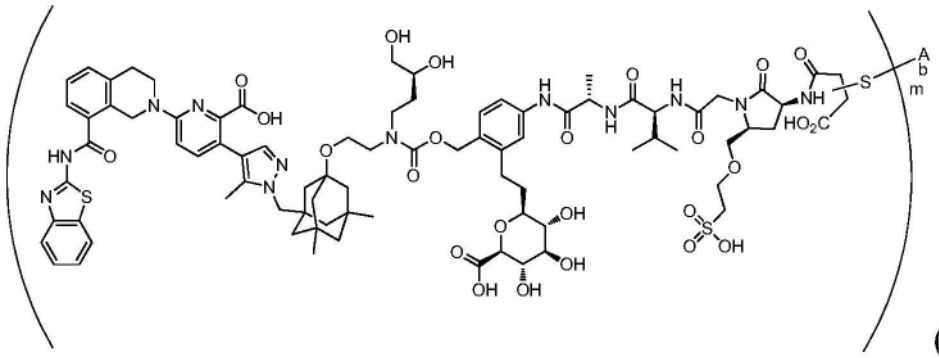
[1510] 在一个实施例中,ADC或其药学上可接受的盐是

[1511] 

(vi),

[1512] 其中m是2,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:35中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:34中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:33中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域;和含有SEQ ID NO:39中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:38中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:37中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:147中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列的轻链可变区;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:168中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:169中所示氨基酸序列的轻链。

[1513] 在一个实施例中,ADC或其药学上可接受的盐是

[1514] 

(vi),

[1515] 其中m是2,Ab是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:12中所示氨基酸序列的重链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:140中所示氨基酸序列的重链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:10中所示氨基酸序列的重链CDR1结构域;和含有SEQ ID NO:15中所示氨基酸序列的轻链CDR3结构域、含有SEQ ID NO:7中所示氨基酸序列的轻链CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:136中所示氨基酸序列的轻链CDR1结构域;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7H3抗体包含含有SEQ ID NO:139中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:135中所示氨基酸序列的轻链可变区;或是抗hB7-H3抗体,其中该抗hB7-H3抗体包含含有SEQ ID NO:170中所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:171中所示氨基酸序列的轻链。

[1516] Bcl-xL抑制剂(包括弹头和合成子)、以及制造其的方法描述于US 2016/0339117(艾伯维公司(AbbVie Inc.))中,将其通过引用并入本文。

[1517] III.A.4.Bcl-xL ADC的合成方法

[1518] 本文所述的Bcl-xL抑制剂和合成子可使用标准的已知有机化学技术合成。下面提供了合成Bcl-xL抑制剂和合成子的一般方案,其可以原样使用或修饰以合成本文所述的全

范围的Bcl-xL抑制剂和合成子。在实施例部分中提供了用于合成可用于指导的示例性Bcl-xL抑制剂和合成子的具体方法。同样可以通过标准方法制备ADC，例如类似方法描述于Hamblett等人.,2004,“Effects of Drug Loading on the Antitumor Activity of a Monoclonal Antibody Drug Conjugate[载药对单克隆抗体药物偶联物抗肿瘤活性的影响]”,Clin.Cancer Res.[临床癌症研究]10:7063-7070;Doronina等人,2003,“Development of potent and highly efficacious monoclonal antibody auristatin conjugates for cancer therapy,[开发用于癌症治疗的有效且高效的单克隆抗体瑞奥西汀结合物]”Nat.Biotechnol.[自然生物技术]21(7):778-784;和Francisco等人,2003,Blood[血液]102:1458-1465。例如，每个抗体含有四个药物的ADC可以通过以下来制备：用过量的还原剂如DTT或TCEP在37℃下部分还原抗体30分钟，然后用含有在DPBS中的1mM DTPA洗脱通过SEPHADEX®G-25树脂来交换缓冲液。用另外的DPBS稀释洗脱液，并且可以使用5,5’-二硫代双(2-硝基苯甲酸)[Ellman试剂]测量抗体的硫醇浓度。在4℃，添加过量(例如5倍)的接头-药物合成子持续1小时，并且该偶联反应可以通过添加大量过量(例如20倍)的半胱氨酸来猝灭。得到的ADC混合物可以在PBS中平衡的SEPHADEX G-25上纯化以除去未反应的合成子，如果需要，脱盐，并通过尺寸排阻色谱法纯化。然后可以对所得ADC进行无菌过滤，例如，通过0.2μm过滤器，并冻干(如果对于储存是所需的)。在某些实施例中，所有链间半胱氨酸二硫键被接头-药物偶联物替代。一个实施例涉及制备ADC的方法，该方法包括在本文所述的合成子与抗体共价连接的条件下，使该合成子与抗体接触。

[1519] 前述Bcl-xL抑制剂、其接头及合成子的实例以及制备它们的方法可以见于美国专利公开号US 2016/0339117中，其全部内容通过引用并入本文。

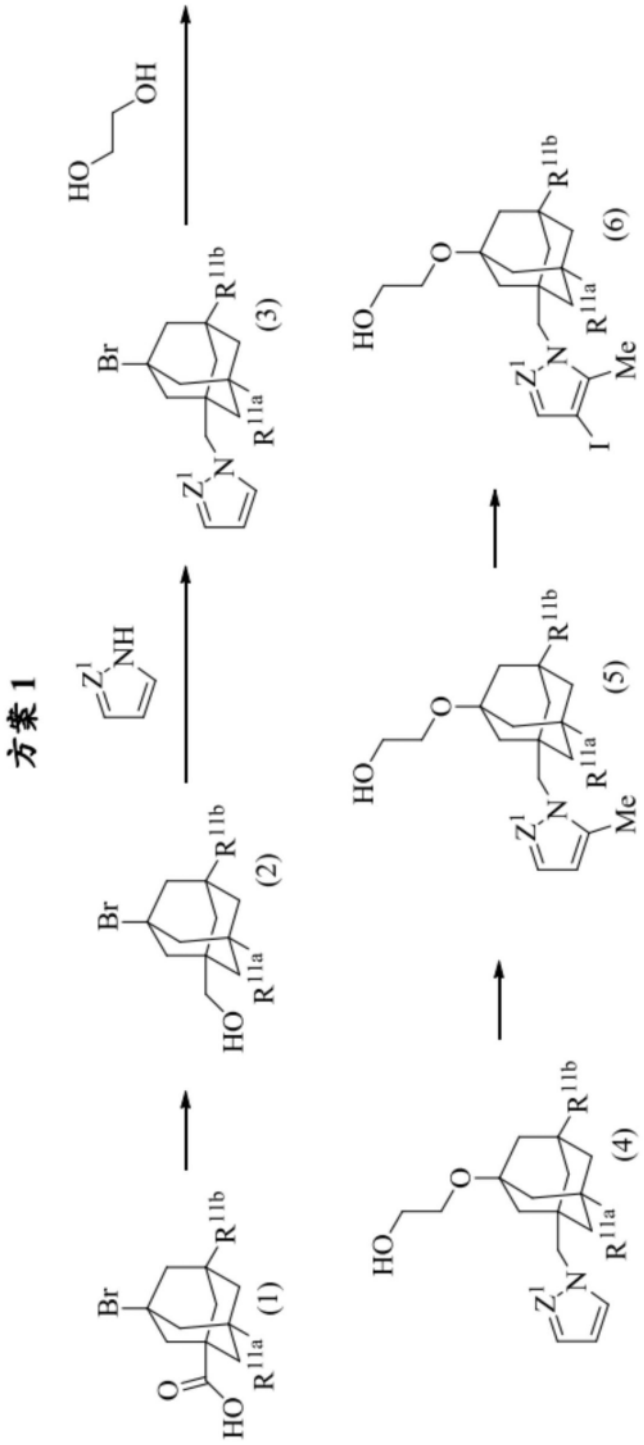
[1520] 在实施例部分中提供了用于合成可用于合成本文所述的全范围ADC的示例性ADC的具体方法。

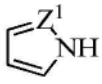
[1521] III.A.5.合成Bcl-xL抑制剂的通用方法

[1522] 在以下方案中，各种取代基Ar^1、Ar^2、Z^1、R^4、R^{10}、R^{11a}和R^{11b}如具体实施方式部分中所定义。

[1523] 5.1.1.化合物(6)的合成

[1524] 方案1

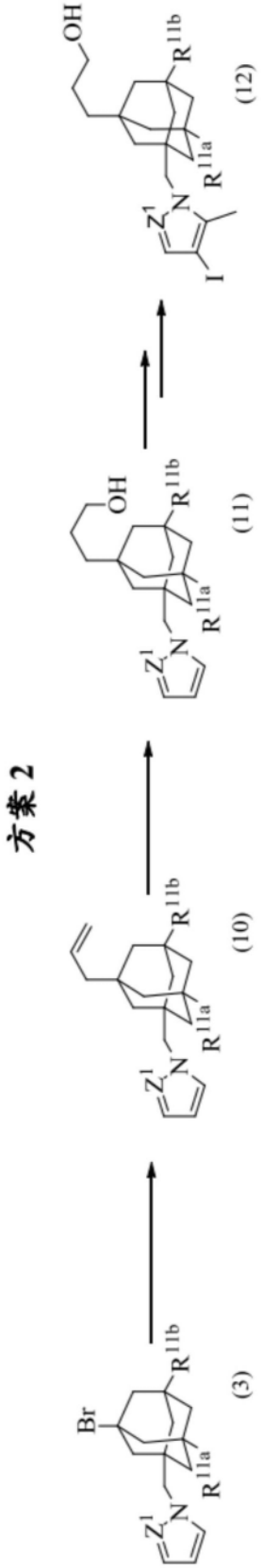


[1525] 中间体(6)的合成描述于方案1中。可以用BH_3•THF处理化合物(1)以提供化合物(2)。典型地,在溶剂(例如但不限于四氢呋喃)中,在环境温度下进行该反应。可以在氰基亚甲基三丁基磷烷存在下用  处理化合物(2)来制备化合物(3)。典型地,在溶剂(例如但不限于甲苯)中,在高温下进行该反应。可以在碱(例如但不限于三乙胺)存在下,用乙烷-1,2-二醇处理化合物(3)来提供化合物(4)。该反应典型地在升高的温度下进行,并且该反应可以在微波条件下进行。可以用强碱(例如但不限于正丁基锂)处理化合物(4),然后添加碘代甲烷,以提供化合物(5)。该添加和反应典型地在溶剂(例如但不限于四氢呋喃)中、在降

低的温度下进行,之后升温至环境温度进行加工。可以用N-碘代丁二酰亚胺处理化合物(5)以提供化合物(6)。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在环境温度进行该反应。

[1526] 5.1.2.化合物(12)的合成

[1527] 方案2

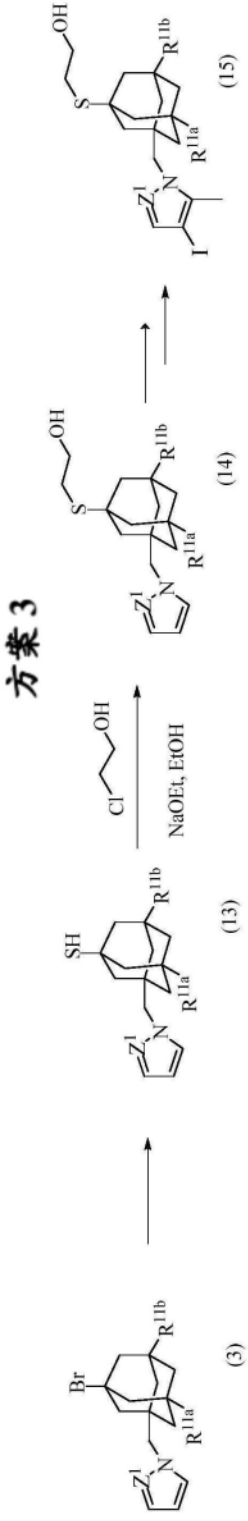


[1528] 中间体(12)的合成描述于方案2中。可以在$ZnCl_2 \cdot Et_2O$或N,N'-偶氮异丁腈(AIBN)存在下用三-正-丁基-烯丙基锡烷处理化合物(3),以提供化合物(10)(Yamamoto等人,1998,Heterocycles[杂环]47:765-780)。典型地,在溶剂(例如但不限于二氯甲烷)中,在-78℃进行该反应。可以在本领域已知的用于硼氢化反应/氧化的标准条件下处理化合物(10)以提供化合物(11)。例如,在溶剂(例如但不限于四氢呋喃)中用试剂(例如$BH_3 \cdot THF$)处理化合物(10),接着在碱(例如但不限于氢氧化钠)存在下用氧化剂(例如但不限于过氧化氢)处理中间体烷基硼烷加合物将提供化合物(11)(Brown等人,1968,J.Am Chem.Soc.[美国化学会],86:397)。典型地,在升温至环境温度之前,在低温下进行$BH_3 \cdot THF$的添加,然后添加过氧化氢和氢氧化钠以产生醇产物。如先前针对化合物(6)所述,可以根据方案1生成化合物(12)。

[1529] 5.1.3.化合物(15)的合成

方案3

[1530]

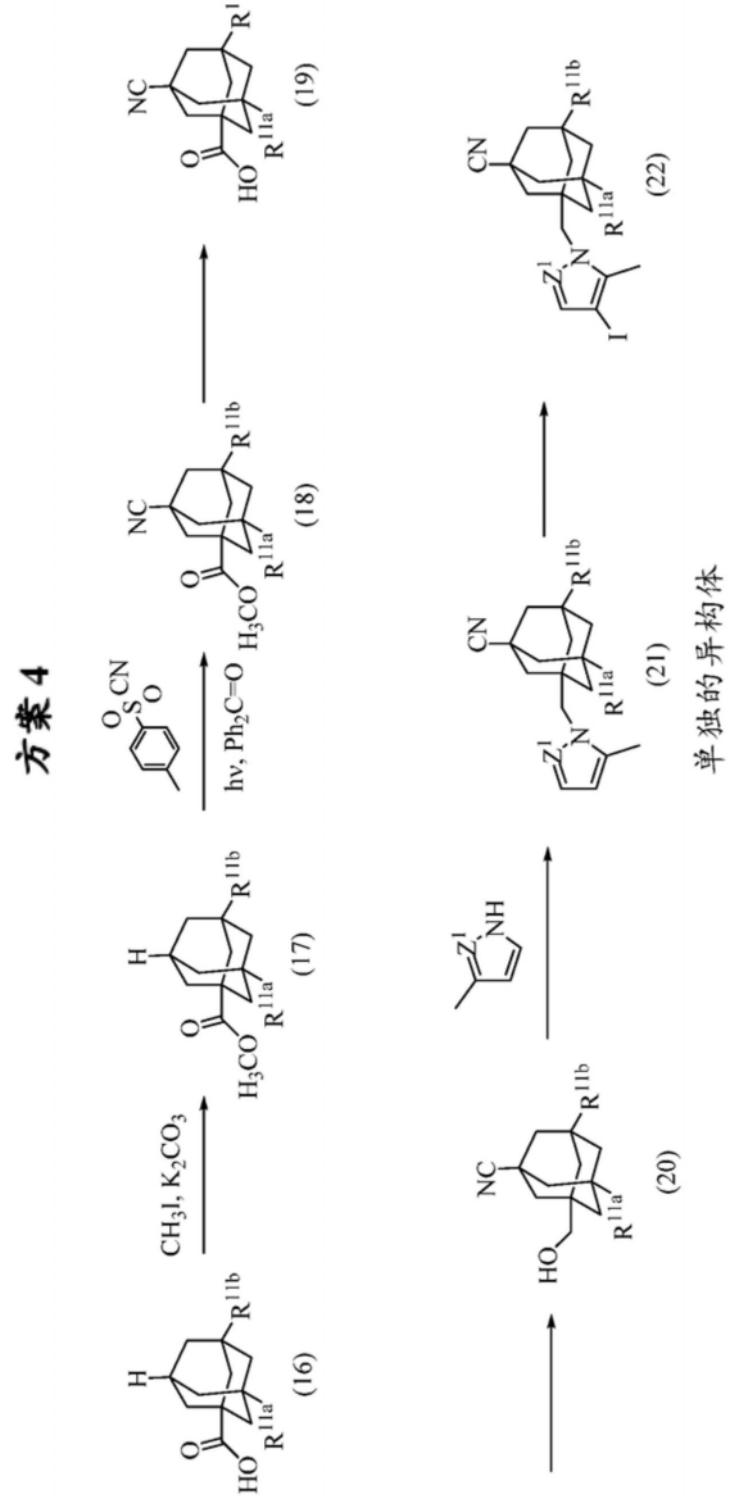


[1531] 中间体(15)的合成描述于方案3中。化合物(3)可以在乙酸和48％水性HBr溶液的溶剂混合物中在100℃下与硫脲反应，得到中间体，该中间体随后可以在溶剂混合物(例如但不限于，在水中的20％v/v乙醇)中用氢氧化钠处理，以提供化合物(13)。可以在碱(例如但不限于乙醇钠)存在下，使化合物(13)与2-氯乙醇反应以提供化合物(14)。典型地，在溶剂(例如但不限于乙醇)中，在环境或升高的温度下进行该反应。如先前针对化合物(6)所述，可以根据方案1生成化合物(15)。

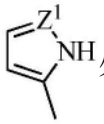
[1532] 5.1.4.化合物(22)的合成

[1533]

方案4

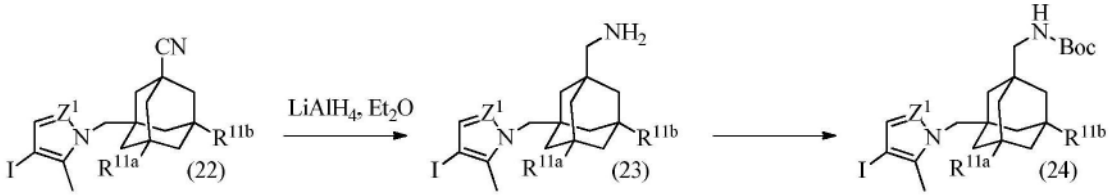


[1534] 化合物(22)的合成描述于方案4中。可以在碱(例如但不限于碳酸钾)存在下,使化合物(16)与碘代甲烷反应以提供化合物(17)。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在环境或升高的温度下进行该反应。化合物(17)可以在光化学条件下与甲苯磺酰氰化物在二苯甲酮存在下反应以提供化合物(18)(参见Kamijo等人,2011,Org.Lett.[有机快报],13:5928-5931)。典型地,使用Riko 100W中压汞灯作为光源,在环境温度下、在溶剂(例如但不限于乙腈或苯)中进行该反应。可以在溶剂系统(例如但不限于水和四氢呋喃或水与甲醇的混合物)中,使化合物(18)与氢氧化锂反应以提供化合物(19)。可以用BH_3 • THF

处理化合物(19)以提供化合物(20)。典型地,在溶剂(例如但不限于四氢呋喃)中,在环境温度下进行该反应。可以在氰基亚甲基三丁基磷烷存在下用  处理化合物(20)来制备化合物(21)。典型地,在溶剂(例如但不限于甲苯)中,在高温下进行该反应。可以用N-碘代丁二酰亚胺处理化合物(21)以提供化合物(22)。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在环境温度进行该反应。

[1535] 5.1.5.化合物(24)的合成

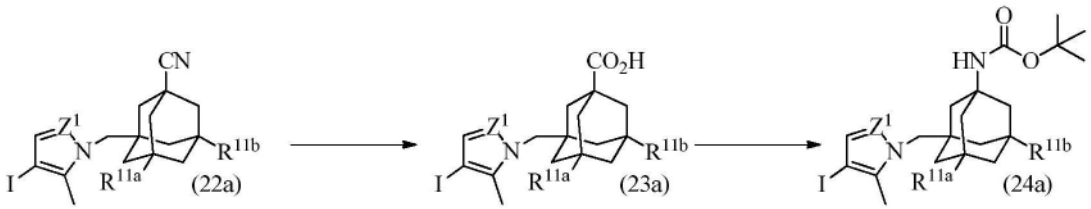
[1536] 方案5

[1537] 

[1538] 吡唑化合物(24)的合成描述于方案5中。可以用还原剂(例如但不限于氢化铝锂)在溶剂(例如但不限于二乙醚或四氢呋喃)中处理化合物(22)以提供化合物(23)。典型地,在0℃、之后加温至室温或升高的温度进行该反应。可以使化合物(23)在本文或文献中所述的标准条件下与二碳酸二叔丁酯反应,以提供化合物(24)。

[1539] 5.1.6.化合物(24a)的合成

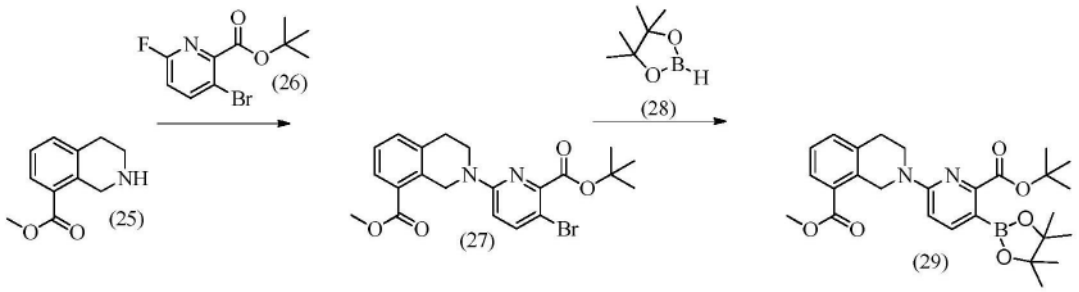
[1540] 方案6

[1541] 

[1542] 中间体(24a)的合成描述于方案6中。可以使用文献中描述的条件水解化合物(22a),以提供化合物(23a)。典型地,该反应是在氢氧化钾存在下,在溶剂(例如但不限于乙二醇)中、在升高的温度下进行(参见Roberts等人,1994,J.Org.Chem.[有机化学杂志]59:6464-6469;Yang等人,2013,Org.Lett.[有机快报],15:690-693)。化合物(24a)可以从化合物(23a)通过库尔修斯重排使用文献中所述的条件制备。例如,化合物(23a)可以在四丁基溴化铵、三氟甲磺酸锌(II)和二碳酸二叔丁酯存在下与叠氮化钠反应,得到化合物(24a)(参见Lebel等人,Org Lett.[有机化学通讯],2005,7:4107-4110)。典型地,在溶剂(如但不限于四氢呋喃)中,在高温(优选地从40℃-50℃)进行该反应。

[1543] 5.1.7.化合物(29)的合成

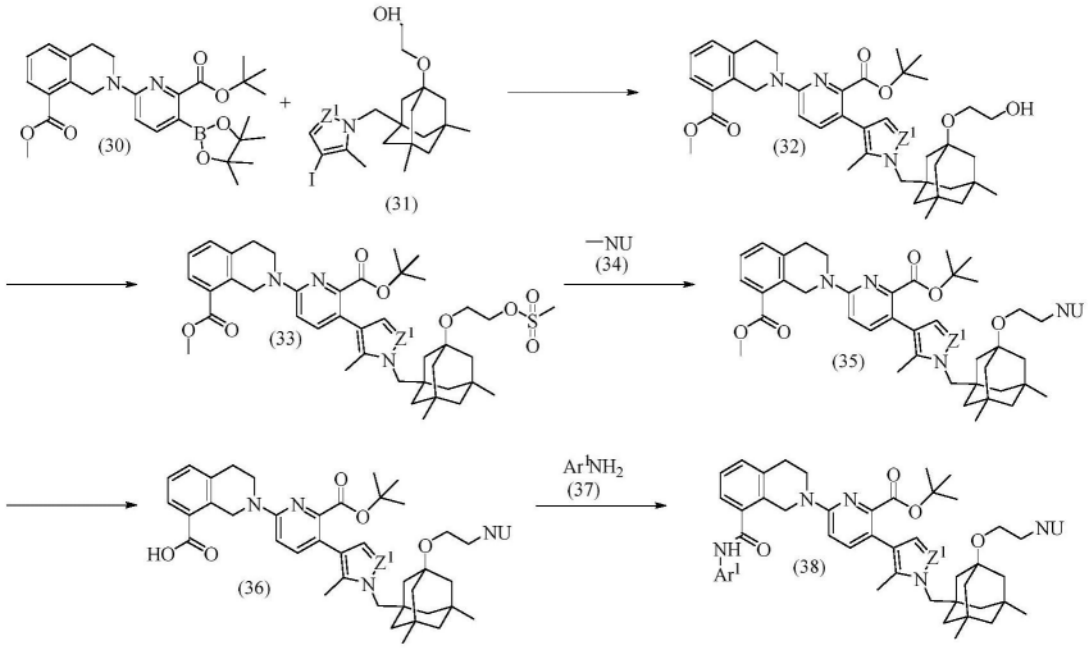
[1544] 方案7

[1545] 

[1546] 如方案7中所示，可以通过使具有式(25)的化合物与叔丁基3-溴-6-氟吡啶甲酸酯(26)在碱(例如但不限于N,N-二异丙基乙胺或三乙胺)存在下反应来制备具有式(27)的化合物。典型地，在溶剂(例如但不限于二甲基亚砜)中，在高温在惰性气氛下进行该反应。可以使具有式(27)的化合物在本文或文献中所述的硼化条件下与4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷(28)反应，以提供具有式(29)的化合物。

[1547] 5.1.8.化合物(38)的合成

[1548] 方案8

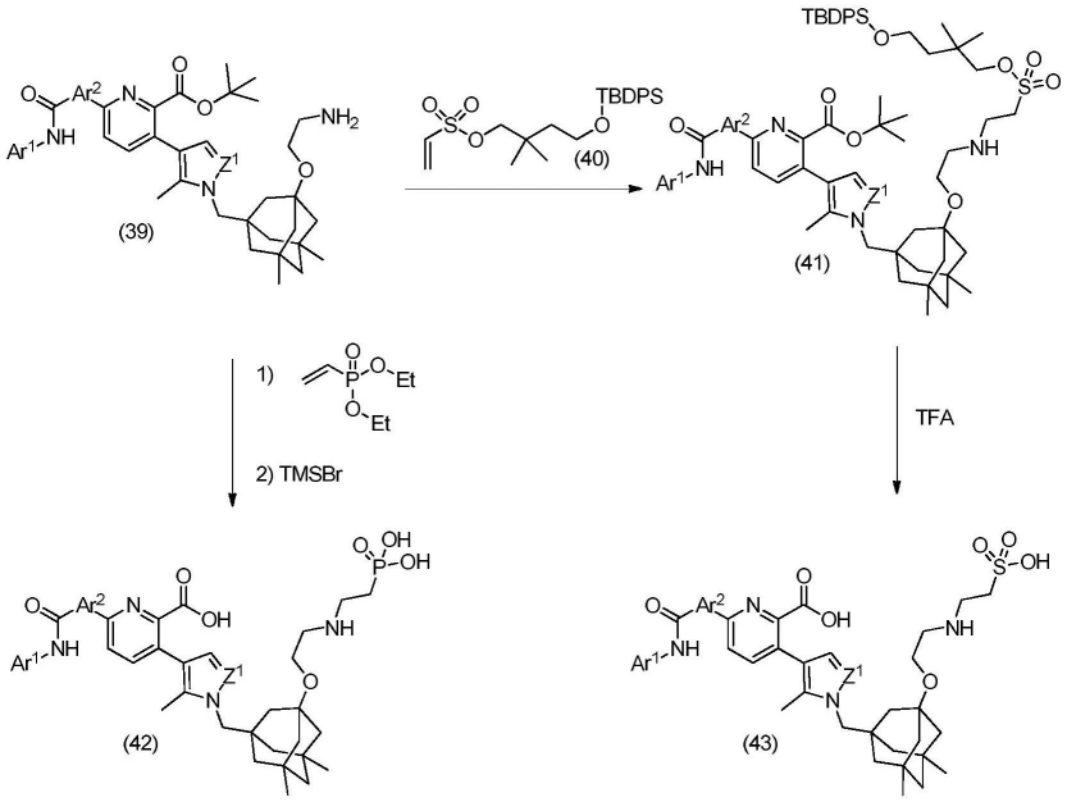
[1549] 

[1550] 方案8描述了制备中间体的方法，所述中间体含有与金刚烷相连的-Nu(亲核试剂)和作为叔丁酯保护的吡啶甲酸酯。化合物(30)可以在本文或文献中所述的铃木偶联条件下与化合物(31)反应，以提供甲基化合物(32)。化合物(32)可以用碱(例如但不限于三乙胺)处理，然后用甲磺酰氯处理，以提供化合物(33)。典型地，在溶剂(例如但不限于二氯甲烷)中，在温至环境温度前在低温进行添加。化合物(33)可以与具有式(34)的亲核试剂(Nu)反应，以提供化合物(35)。亲核试剂的实例包括但不限于叠氮化钠、甲胺、氨和亚氨基二碳酸二叔丁酯。化合物(17)可以与氢氧化锂处理以提供化合物(36)。该反应典型地在环境温度下、在溶剂(例如但不限于四氢呋喃、甲醇、水、或其混合物)中进行。可以使化合物(36)在本文所述或在文献中容易获得的酰胺化条件下与化合物(37)反应，以提供具有式(38)的化合物。

[1551] 5.1.9.化合物(42)和(43)的合成

[1552] 方案9

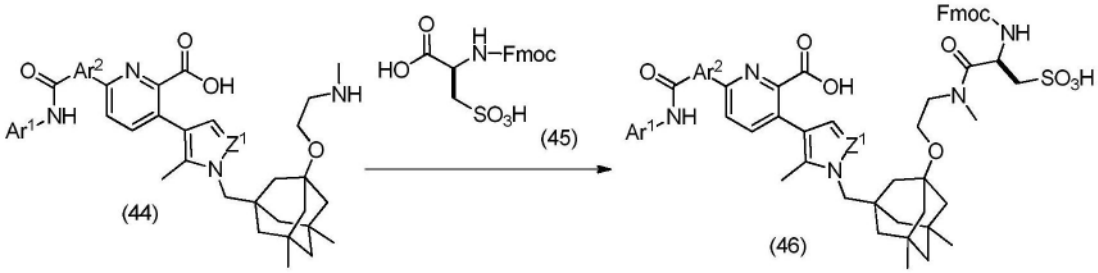
[1553]



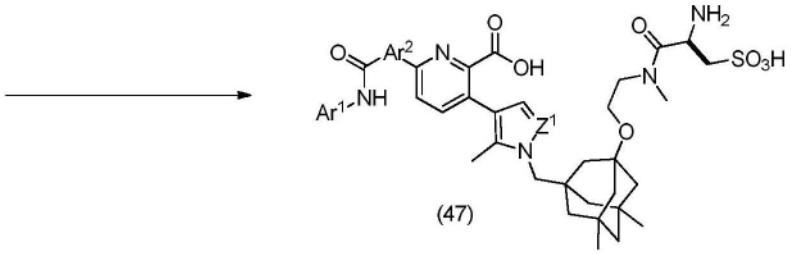
[1554] 方案9显示了用于制备溶解的Bcl-xL抑制剂的代表性方法。Bcl-xL抑制剂可以使用以下通用方法来合成:利用增溶基团修饰伯胺并且然后将所得仲胺附接到接头,如后面的方案中所述。例如,化合物(41)可以通过使化合物(39)与化合物(40)反应来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在环境温度进行该反应。化合物(41)可以与三氟乙酸反应,以提供化合物(43)。典型地,在溶剂(例如但不限于二氯甲烷)中,在环境温度进行该反应。方案9中所示的另一个实例是化合物(39)与乙烯基膦酸二乙酯的反应,然后与溴代三甲基硅烷和烯丙基三甲基硅烷反应,以提供化合物(42)。在本文所述的Bcl-xL抑制剂上引入增溶基团的其他实例包括但不限于还原胺化反应、烷基化和酰胺化反应。

[1555] 5.1.10.化合物(47)的合成

[1556] 方案10



[1557]

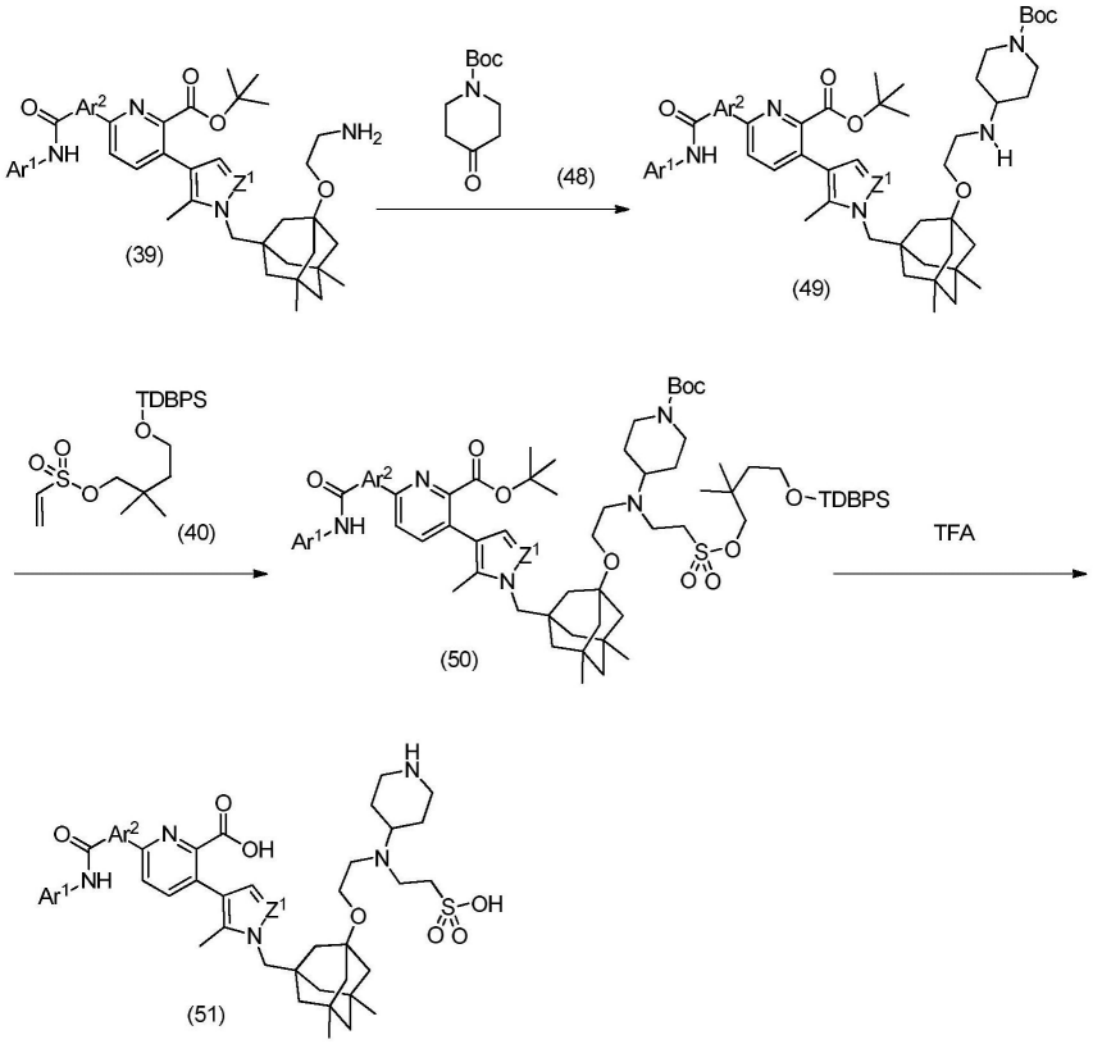


[1558] 方案10显示通过酰胺化反应引入增溶基团。Bcl-xL抑制剂可以使用以下通用方法来合成:利用增溶基团修饰伯胺或仲胺并且然后将所得胺附接到接头,如后面的方案中所述。例如,化合物(45)可以用HATU和化合物(44)依次处理,以提供化合物(46)。化合物(46)可以在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中用二乙胺处理以给出化合物(47)。

[1559] 5.1.11.化合物(51)的合成

[1560] 方案11

[1561]



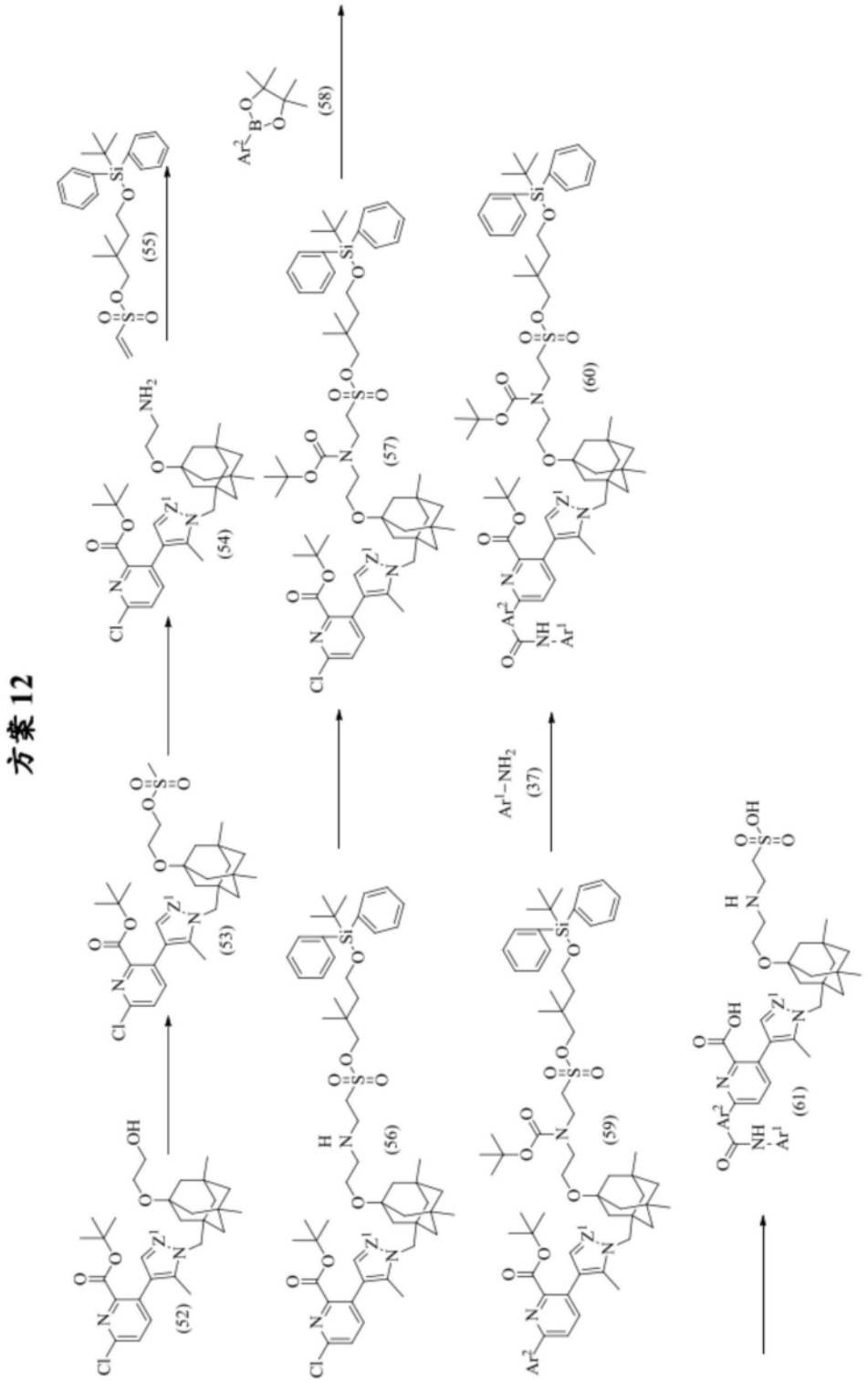
[1562] 方案11显示了制备溶解的Bcl-xL抑制剂的代表性方法。Bcl-xL抑制剂可以使用用间隔子修饰伯胺的一般方法合成，以给出差异保护的二胺。未保护的仲胺可以用增溶基团修饰。如后面的方案中所述，对保护的胺进行脱保护，揭示了接头附接的位点。例如，化合物(39)可以在本领域已知的条件下用试剂例如但不限于叔丁基4-氧代哌啶-1-甲酸酯(48)还原烷基化，以提供仲胺(49)。化合物(50)可以通过使化合物(49)与4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(40)反应来制备。典型地，在溶剂(例如但不限于N,N

[1563] 二甲基甲酰胺)中，在环境温度进行该反应。化合物(40)可以与三氟乙酸反应，以提供化合物(51)。典型地，在溶剂(例如但不限于二氯甲烷)中，在环境温度进行该反应。

[1564] 5.1.12.化合物(61)的合成

[1565]

方案12

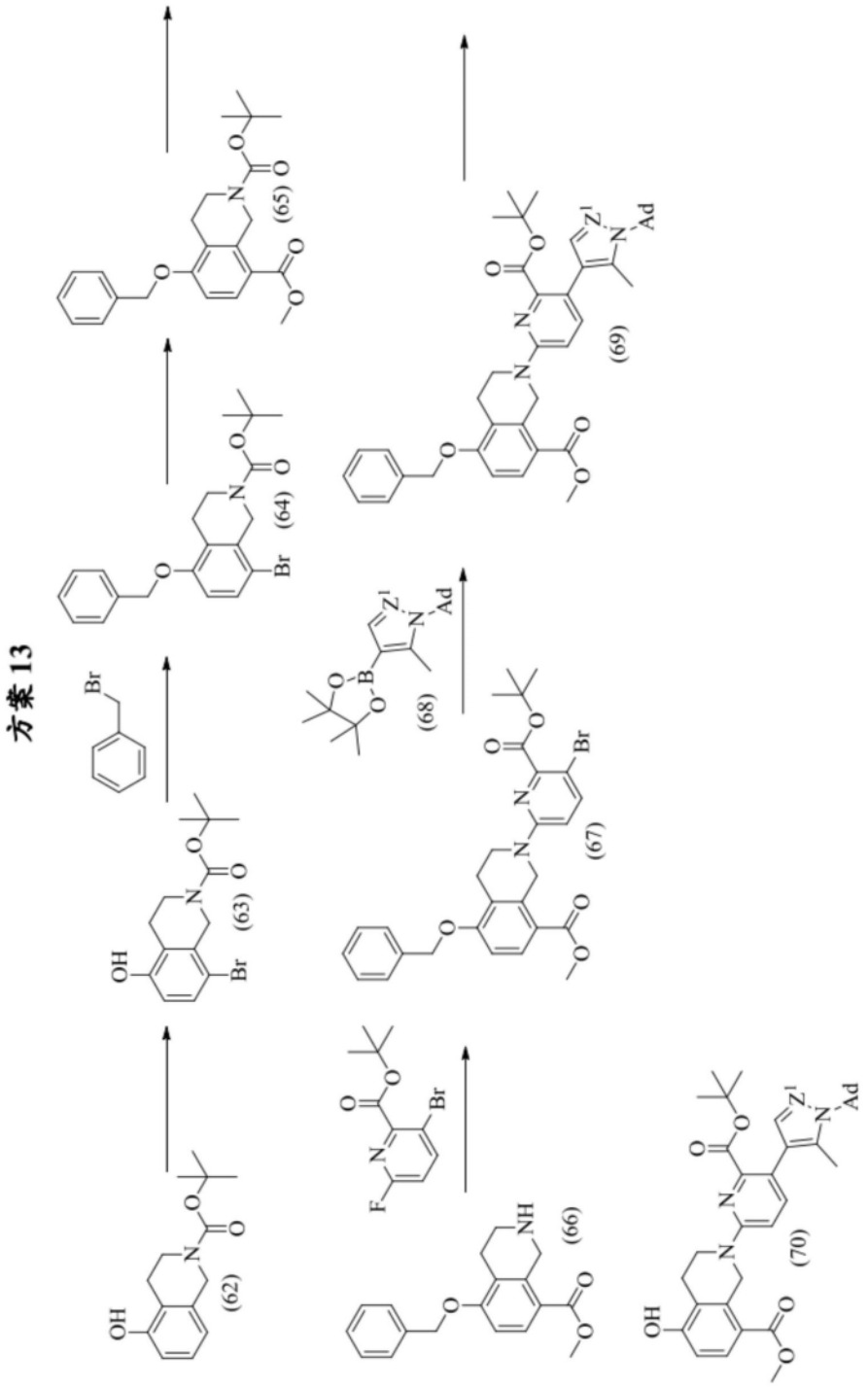


[1566] 方案12描述了合成溶解的Bcl-xL抑制剂的方法。化合物(52)可以在碱(例如但不限于三乙胺)存在下与甲磺酰氯反应,以提供化合物(53)。典型地,在溶剂(例如但不限于二氯甲烷)中,在低温度进行该反应。化合物(53)可以用氨的甲醇溶液处理,以提供化合物(54)。该反应典型地在升高的温度下进行,并且该反应可以在微波条件下进行。化合物(56)可以通过使化合物(55)在碱(例如但不限于N,N-二异丙基乙胺)存在下反应来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在环境温度进行该反应。可以用二叔丁基二碳酸酯和4-(二甲基氨基)吡啶处理化合物(56),以提供化合物(57)。典型地,可以在一种

溶剂(如但不限于四氢呋喃)中在环境温度下进行该反应。可以通过使化合物(57)与具有式(58)的硼酸酯(或等量的硼酸)在本文或文献中所述的铃木偶联条件下反应来制备化合物(59)。双(2,5-二氧吡咯烷-1-基)碳酸酯可与化合物(37)反应,然后与化合物(59)反应,以提供化合物(60)。典型地,在溶剂(例如但不限于乙腈)中,在环境温度下进行该反应。可以通过用三氟乙酸处理化合物(60)来制备化合物(61)。典型地,在溶剂(例如但不限于二氯甲烷)中,在环境温度进行该反应。

[1567] 5.1.13.化合物(70)的合成

[1568] 方案13



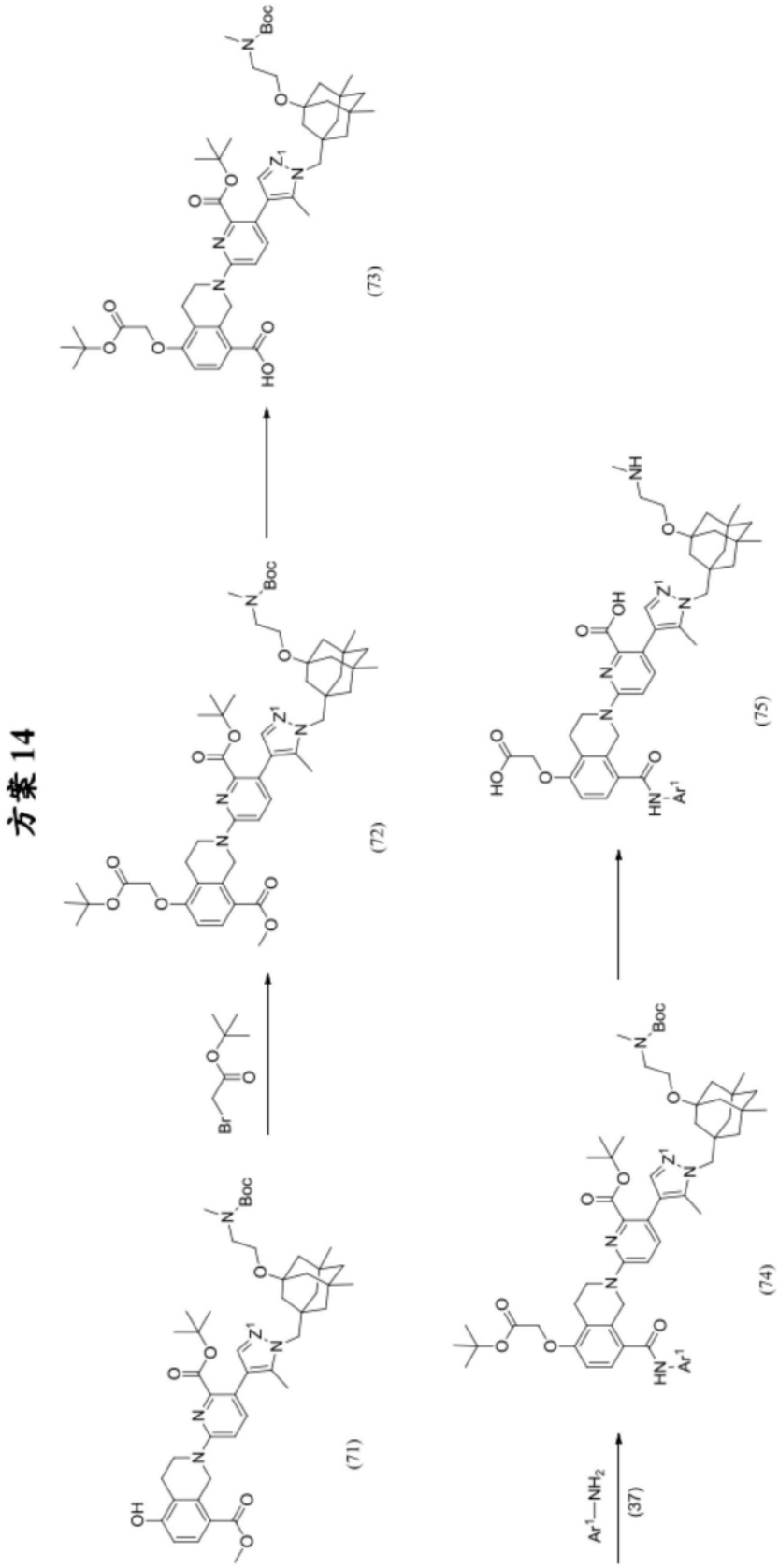
[1569] 方案13描述了5-羟基四氢异喹啉中间体。通过用N-溴代琥珀酰亚胺处理化合物(62)可以制备化合物(63)。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在环境温

度进行该反应。可以在碱(例如但不限于碳酸钾)存在下,使化合物(63)与苄基溴反应以提供化合物(64)。典型地,在溶剂(例如但不限于丙酮)中,在高温下进行该反应。化合物(64)可以在碱(例如但不限于三乙胺)和催化剂(例如但不限于化合物(65))存在下用一氧化碳和甲醇处理。该反应通常在高温下在惰性气体中进行。化合物(65)可以用酸(例如但不限于二噁烷中的盐酸)处理,以提供化合物(66)。典型地,在溶剂(例如但不限于四氢呋喃)中,在环境温度下进行该反应。可以通过使化合物(66)与叔丁基3-溴-6-氟吡啶甲酸酯在碱(例如但不限于三乙胺)存在下反应来制备化合物(67)。典型地,在溶剂(例如但不限于二甲基亚砜)中,在高温在惰性气氛下进行该反应。化合物(67)可以在本文或文献中所述的铃木偶联条件下与具有式(68)的硼酸反应,以提供化合物(69),其中Ad是所披露化合物的甲基金刚烷部分(例如,具有式(IIa)-(IId)的化合物)。化合物(70)可以通过使化合物(69)与氢在$Pd(OH)_2$的存在下反应来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于四氢呋喃)中,在高温下进行该反应。

[1570] 5.1.14.化合物(75)的合成

[1571]

方案14



[1572] 方案14显示了用于制备溶解的Bcl-xL抑制剂的代表性方法。Bcl-xL抑制剂可以使用以下通用方法合成:利用增溶基团修饰Ar^2取代基并且然后将胺附接到接头,如后面的方案中所述。例如,化合物(71)可以在碱(例如但不限于碳酸钾)存在下,在溶剂(例如但不限

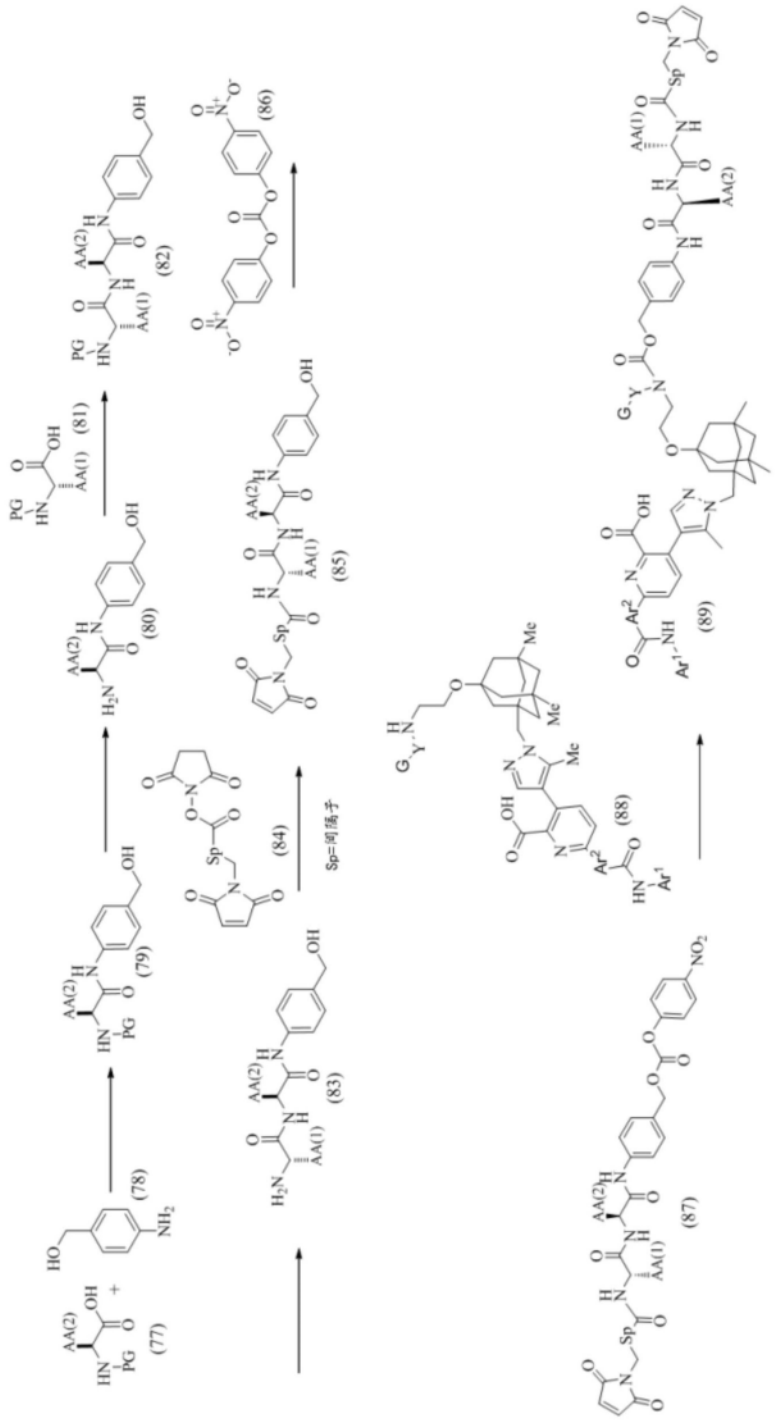
于N,N-二甲基甲酰胺)中与叔丁基2-溴乙酸酯反应。化合物(72)可以用氢氧化锂水溶液在溶剂(例如但不限于甲醇、四氢呋喃或其混合物)中处理,以提供化合物(73)。化合物(74)可以通过在前述条件下化合物(73)与化合物(37)的酰胺化而得到。化合物(74)可以用酸(例如但不限于三氟乙酸或HCl)处理以提供具有式(75)的Bcl-xL抑制剂。典型地,在溶剂(例如但不限于二氯甲烷或1,4-二噁烷)中,在环境温度进行该反应。

[1573] III.A.6.合成Bcl-xL合成子的通用方法

[1574] 在以下方案中,各种取代基Ar^1、Ar^2、Z^1、Y、G、R^{11a}和R^{11b}如具体实施方式部分中所定义。

[1575] 5.2.1.化合物(89)的合成

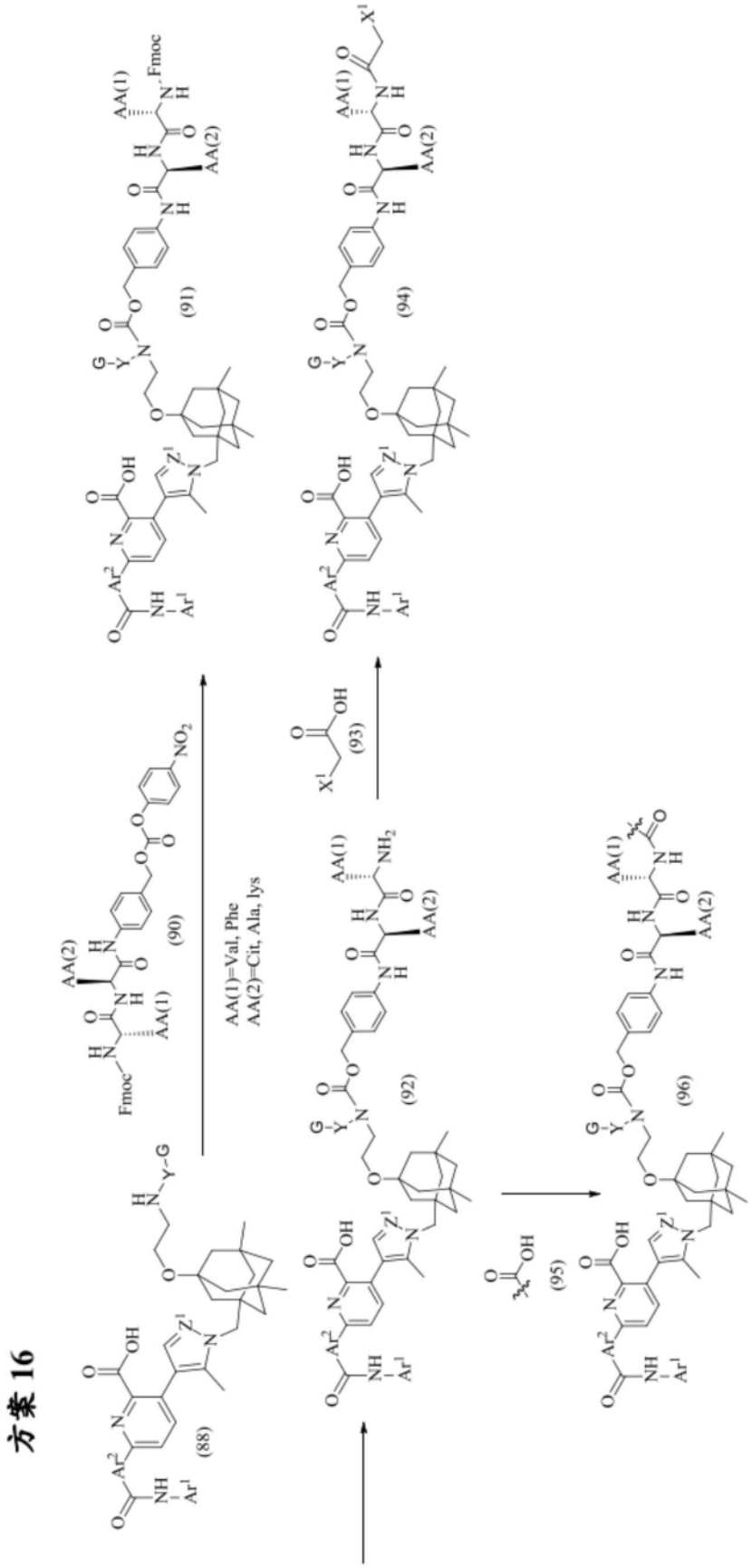
[1576] 方案15



[1577] 如在方案15中所示，可以在本文描述的或文献中容易获得的酰胺化条件下，使具有式(77)的化合物(其中PG是适当的碱不稳定的保护基团，并且AA(2)是Cit、Ala、或Lys)与4-(氨基苯基)甲醇(78)反应以提供化合物(79)。化合物(80)可以通过使化合物(79)与碱(例如但不限于二乙胺)反应来制备。典型地，在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中，在环境温度进行该反应。可以在本文描述的或文献中容易获得的酰胺化条件下，使化合物(81)(其中PG是适当的碱或酸不稳定的保护基团，并且AA(1)是Val、或Phe)与化合物(80)反应以提供化合物(82)。化合物(83)可以通过适当地用二乙胺或三氟乙酸处理化合物(82)来制备。典型地，在溶剂(例如但不限于二氯甲烷)中，在环境温度进行该反应。化合物(84)(其中Sp是间隔子)可以与化合物(83)反应，以提供化合物(85)。典型地，在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中，在环境温度进行该反应。化合物(85)可以在碱(例如但不限于N,N-二异丙基乙胺)存在下与双(4-硝基苯基)碳酸酯(86)反应，以提供化合物(87)。典型地，在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中，在环境温度进行该反应。可以在碱(例如但不限于N,N-二异丙基乙胺)存在下，使化合物(87)与化合物(88)反应以提供化合物(89)。典型地，在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中，在环境温度进行该反应。

[1578] 5.2.2.化合物(94)和(96)的合成

[1579]

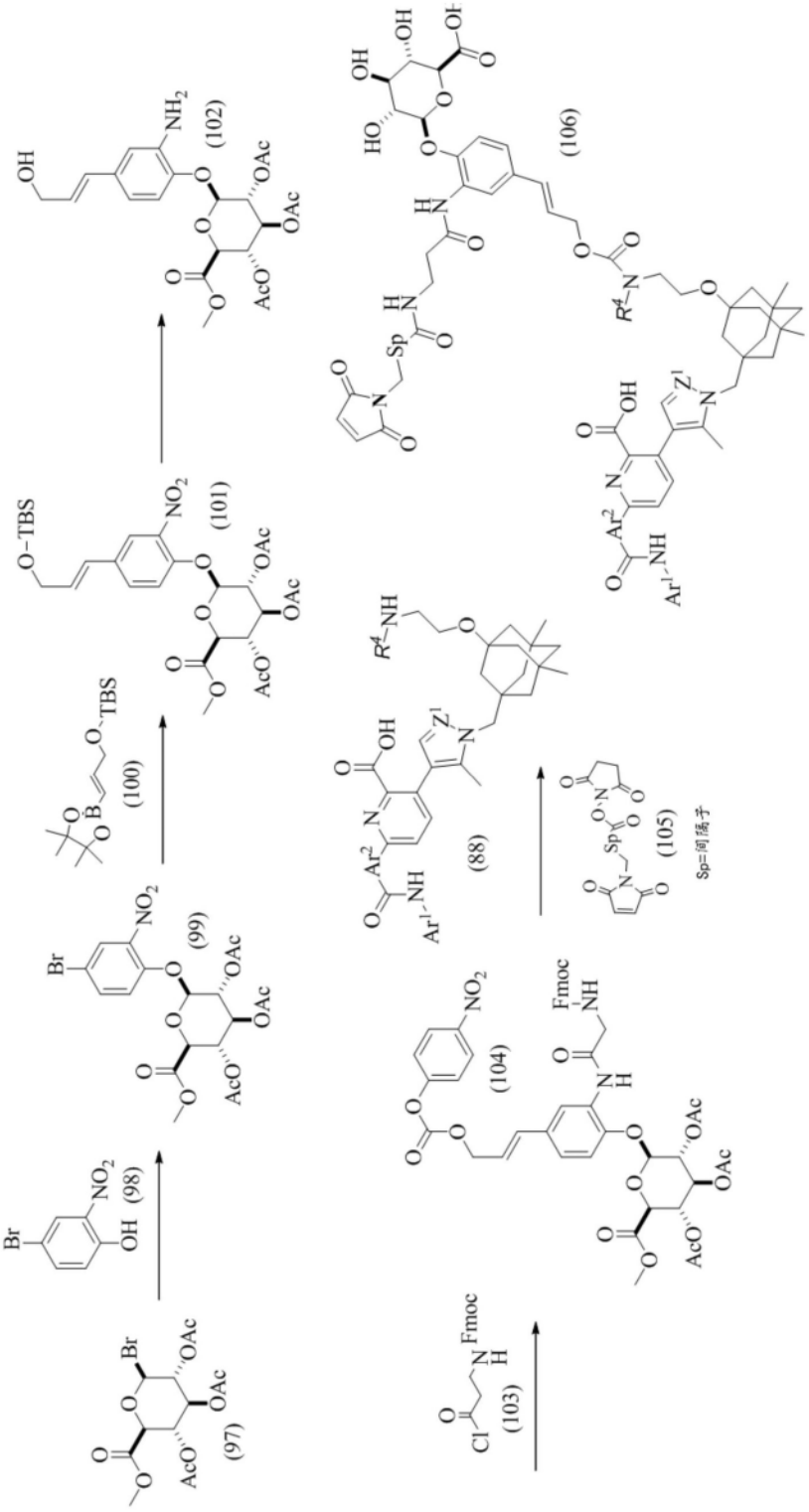


[1580] -416-方案16描述了对二肽合成子的可替代的mAb-接头附接的安装。可以在碱(例如但不限于N,N-二异丙胺)存在下,使化合物(88)与化合物(90)反应以提供化合物(91)。典

型地，在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中，在环境温度进行该反应。可以通过使化合物(91)与二乙胺反应来制备化合物(92)。典型地，在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中，在环境温度进行该反应。可以使化合物(93)(其中X^1是Cl、Br、或I)在本文所述或在文献中容易获得的酰胺化条件下与化合物(92)反应，以提供化合物(94)。可以使化合物(92)在本文所述或在文献中容易获得的酰胺化条件下与具有式(95)的化合物反应，以提供化合物(96)。

[1581] 5.2.3.化合物(106)的合成

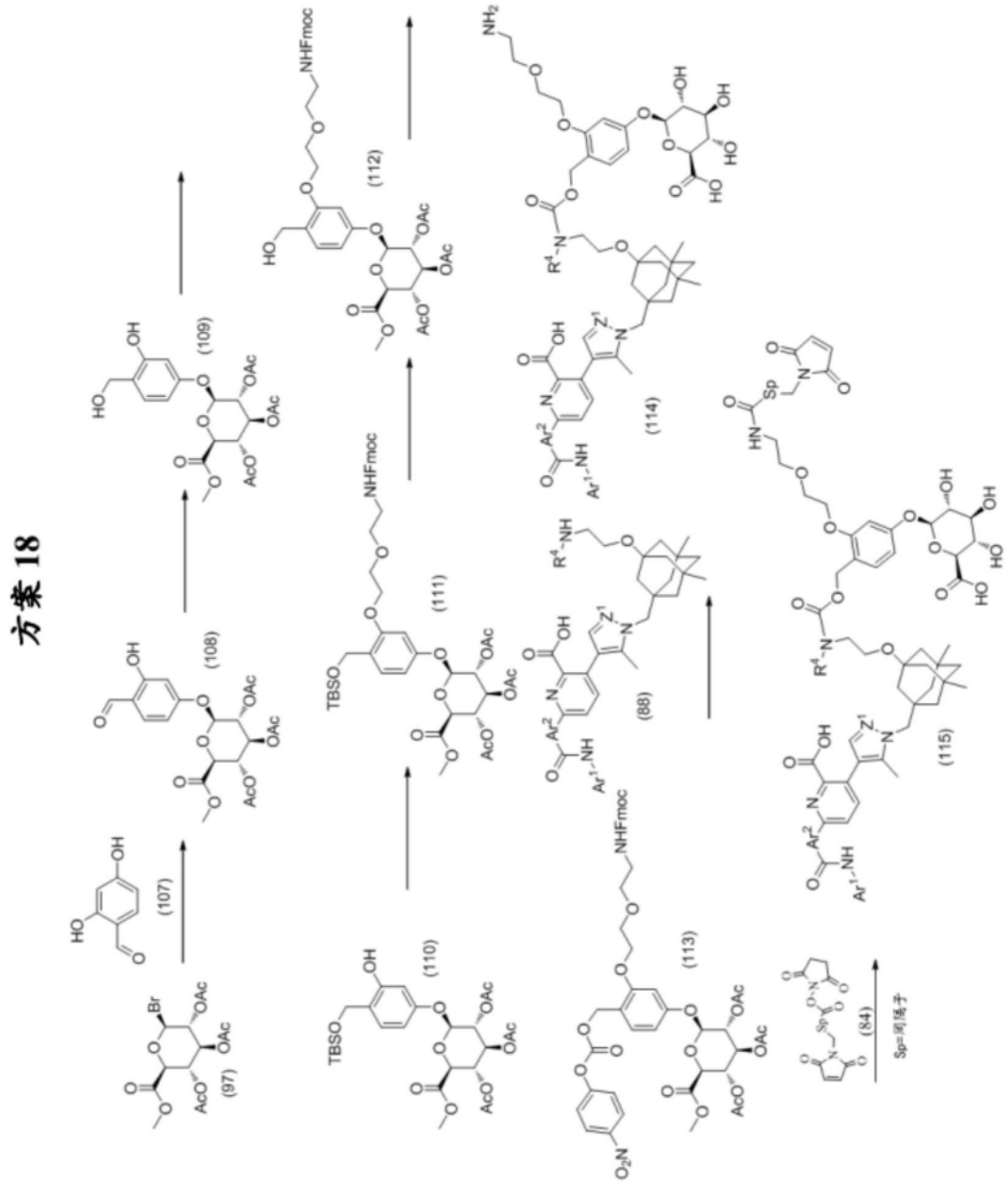
[1582] 方案17



[1583] 方案17描述了乙烯基葡糖苷酸接头中间体和合成子的合成。(2R,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(97)可以用银氧化物处理,然后用4-溴-2-硝基苯酚(98)处理,以提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-溴-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(99)。该反应典型地在环境温度下、在溶剂(例如但不限于乙腈)中进行。在碱(如但不限于碳酸钠)、和催化剂(如但不限于三(二苯亚甲基丙酮)二钯($Pd_2(dba)_3$))的存在下,可以使(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-溴-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(99)与(E)-叔丁基二甲基((3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)烯丙基)氧基)硅烷(100)反应以提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-((E)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-1-烯-1-基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(101)。典型地,在溶剂(例如但不限于四氢呋喃)中,在高温下进行该反应。在酸(如但不限于盐酸)存在下,(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-氨基-4-((E)-3-羟基丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(102)可以通过(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-((E)-3-((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-1-烯-1-基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(101)与锌发生反应来制备。典型地,在溶剂(如但不限于四氢呋喃、水或其混合物)中升温至环境温度之间在低温下进行添加。在碱(如但不限于N,N-二异丙基乙基胺)存在下,(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-氨基-4-((E)-3-羟基丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(102)可以与(9H-芴-9-基)甲基(3-氯-3-氧丙基)氨基甲酸酯(103)反应,以提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-((E)-3-羟基丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(104)。典型地,在溶剂(例如但不限于二氯甲烷)中,在温至环境温度前在低温进行添加。在碱(如但不限于N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺)存在下,化合物(88)可以与(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-((E)-3-羟基丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(104)反应,然后在碱(如但不限于N,N-二异丙基乙基胺)存在下进行处理并与化合物(105)反应,以提供化合物(106)。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在环境温度进行这些反应。

[1584] 5.2.4.化合物(115)的合成

[1585] 方案18

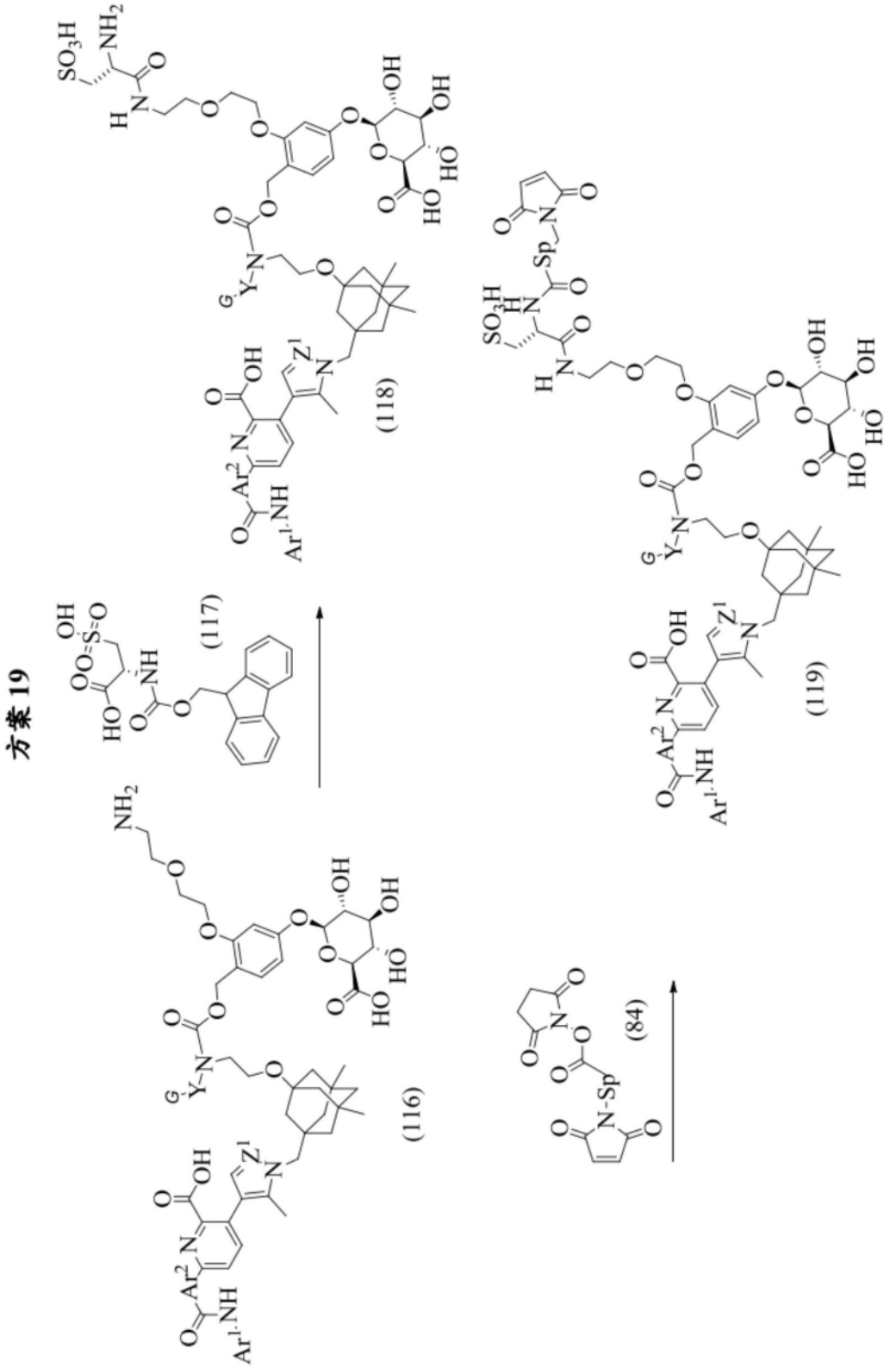


[1586] 方案18描述了代表性2-醚葡糖苷酸接头中间体和合成子的合成。在碳酸银存在下，(2S,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(97)可以与2,4-二羟基苯甲醛(107)反应，以提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-甲酰基-3-羟基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(108)。典型地，在溶剂(例如但不限于乙腈)中，在高温下进行该反应。(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-甲酰基-3-羟基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(108)可以用硼氢化钠处理，以提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-羟基-4-(羟基甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(109)。典型地，在溶剂(如但不限于四氢呋喃、甲醇或其混合物)中升温至环境温度之间在低温下进行添加。(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-羟基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(110)可以在咪唑存在下使(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-羟基-4-(羟基甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(109)与叔-丁基二甲基甲硅烷基氯反应来制备。典型地，

在溶剂(例如但不限于二氯甲烷)中,在低温进行该反应。在三苯基膦和偶氮二甲酯(例如但不限于二-叔-丁基二氮烯-1,2-二甲酸酯)存在下,(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(111)可以通过(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-羟基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(110)与(9H-芴-9-基)甲基(2-(2-羟基乙氧基)乙基)氨基甲酸酯发生反应来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于甲苯)中,在环境温度下进行该反应。(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(111)可以用乙酸处理,以提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(羟基甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(112)。典型地,在溶剂(例如但不限于水、四氢呋喃或其混合物)中在环境温度下进行该反应。可以通过在碱(例如但不限于N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺)存在下,使(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(112)与双(4-硝基苯基)碳酸酯反应来制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(113)。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在环境温度进行该反应。在碱(包括但不限于N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺)存在下,(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(113)可以用化合物(88)来处理,然后用氢氧化锂处理,以提供化合物(114)。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、甲醇或其混合物)中在环境温度下进行该反应。在碱(例如但不限于N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺)存在下,化合物(115)可以通过化合物(114)与化合物(84)反应来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在环境温度进行该反应。

[1587] 5.2.5.化合物(119)的合成

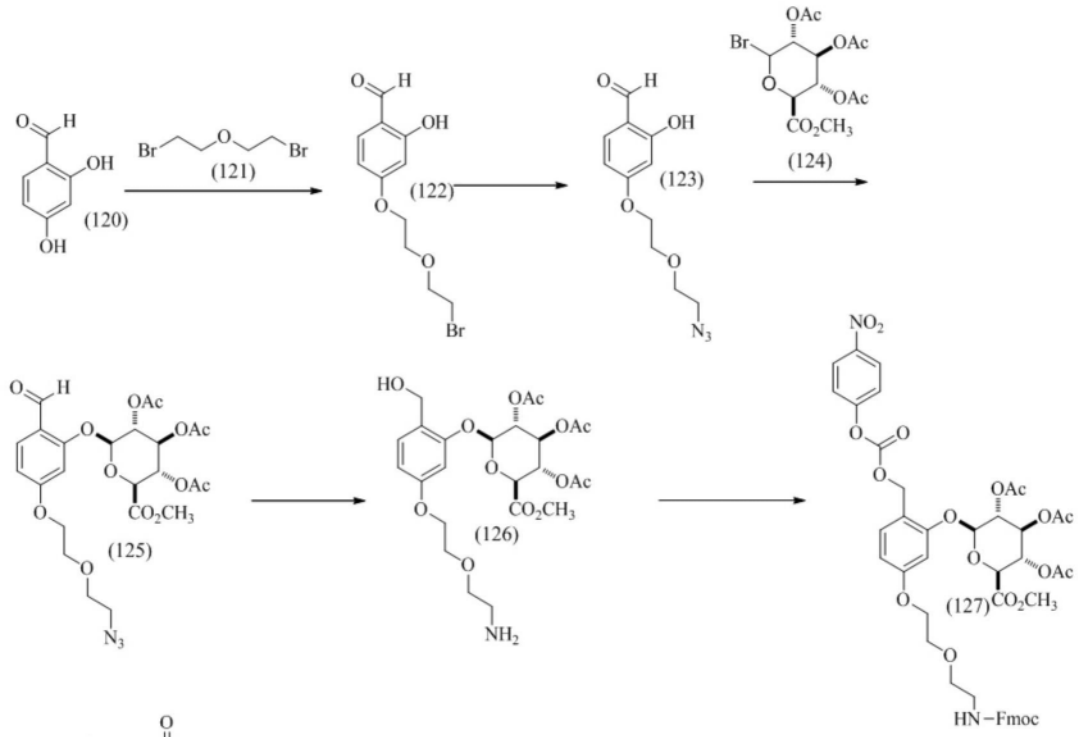
[1588]



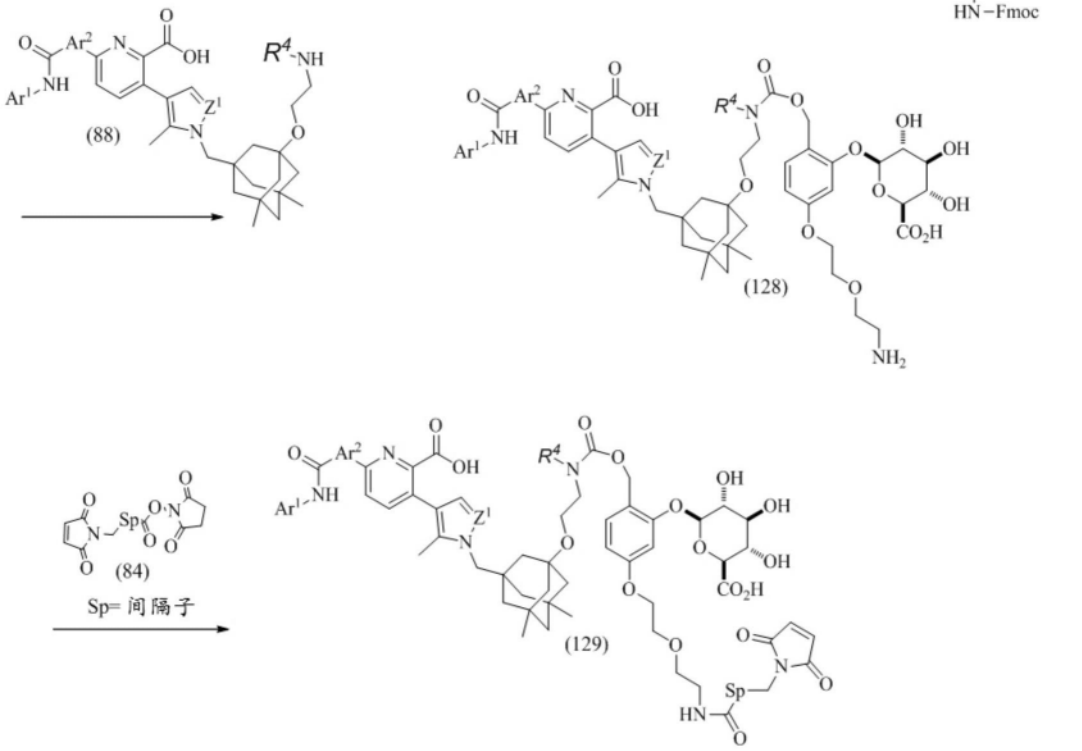
[1589] 方案19描述了将第二增溶基团引入糖接头中。可以使化合物(116)在本文所述或在文献中容易获得的酰胺化条件下与(R)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-磺基丙酸(117)反应,随后用碱(例如但不限于二乙胺)处理,以提供化合物(118)。可以使化合物(118)在本文所述或在文献中容易获得的酰胺化条件下与化合物(84)(其中Sp是间隔子)反应,以提供化合物(119)。

[1590] 5.2.6.化合物(129)的合成

[1591] 方案20



[1592]



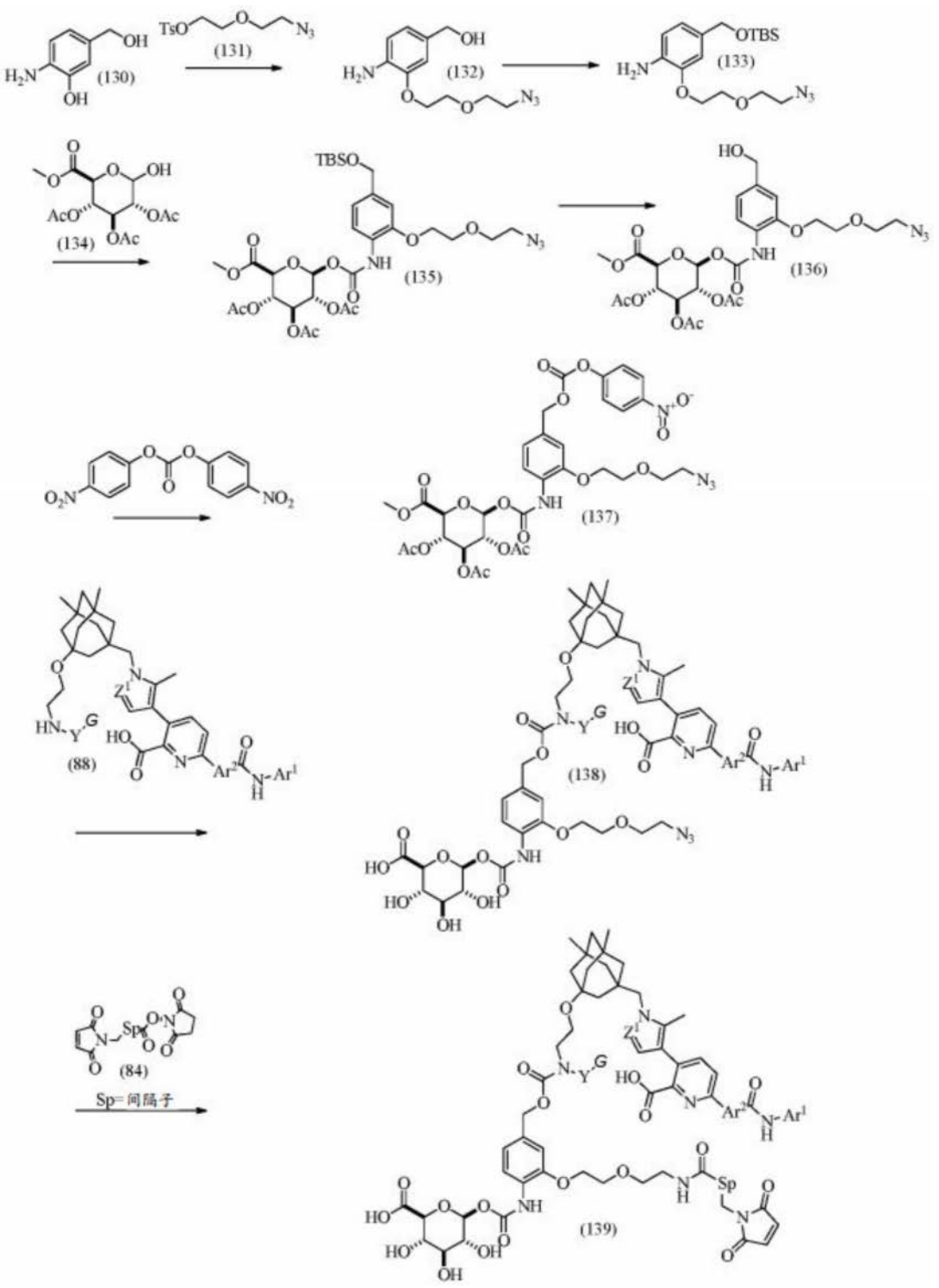
[1593] 方案20描述了4-醚葡糖苷酸接头中间体和合成子的合成。在碱(包括但不限于碳酸钾)存在下,4-(2-(2-溴乙氧基)乙氧基)-2-羟基苯甲醛(122)可以通过2,4-二羟基苯甲醛(120)与1-溴-2-(2-溴乙氧基)乙烷(121)反应来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于乙腈)中,在高温下进行该反应。4-(2-(2-溴乙氧基)乙氧基)-2-羟基苯甲醛(122)可以用钠叠氮化物处理,以提供4-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-2-羟基苯甲醛(123)。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在环境温度进行该反应。在氧化银存在下,(2S,3R,

4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-2-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(125)可以通过4-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-2-羟基苯甲醛(123)与(3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(124)反应来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于乙腈)中,在环境温度下进行该反应。在Pd/C存在下,氢化(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-2-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(125)将提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-2-(羟基甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(126)。典型地,在溶剂(例如但不限于四氢呋喃)中,在环境温度进行该反应。在碱(包括但不限于N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺)存在下,(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-2-(羟基甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(127)可以通过用(9H-芴-9-基)甲基氯甲酸酯处理(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-2-(羟基甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(126)来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于二氯甲烷)中,在低温进行该反应。在碱(如但不限于N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺)存在下,化合物(88)可以与(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-2-(羟基甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(127)反应,然后用氢氧化锂处理,以提供化合物(128)。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在低温进行该反应。在碱(例如但不限于N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺)存在下,化合物(129)可以通过化合物(128)与化合物(84)反应来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在环境温度进行该反应。

[1594] 5.2.7.化合物(139)的合成

[1595] 方案21

[1596]

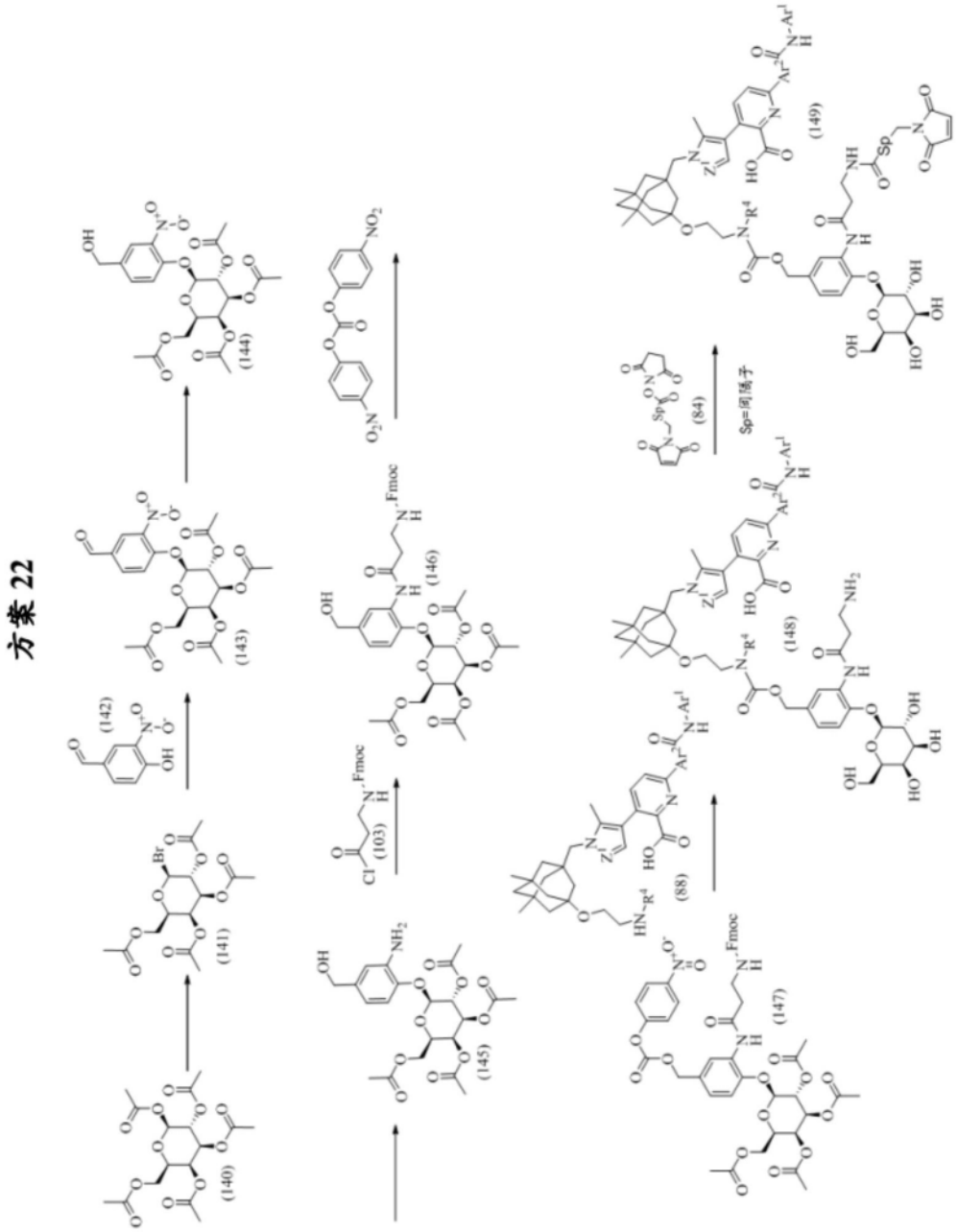


[1597] 方案21描述了氨基甲酸酯葡糖苷酸中间体和合成子的合成。可以用氢化钠处理2-氨基-5-(羟甲基)苯酚(130),然后与2-(2-叠氮乙氧基)乙基4-甲基苯磺酸酯(131)反应以提供(4-氨基-3-(2-(2-叠氮乙氧基)乙氧基)苯基)甲醇(132)。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在高温进行该反应。在咪唑存在下,2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯胺(133)可以通过(4-氨基-3-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)苯基)甲醇(132)与叔-丁基二甲基氯硅烷反应来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于四氢呋喃)中,在环境温度下进行该反应。在碱(如但不限于三乙胺)的存在

下,可以用光气处理2-(2-(2-叠氮乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯胺(133),随后在碱(如但不限于三乙胺)的存在下,与(3R,4S,5S,6S)-2-羟基-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(134)反应以提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(135)。该反应通常在溶剂中进行,例如但不限于甲苯,并且添加通常在低温下进行,然后在光气加入后升温至环境温度并在添加(3R,4S,5S,6S)-2-羟基-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(134)之后在高温下加热。(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(羟基甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(136)可以通过2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(135)与p-甲苯磺酸单水合物反应来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于甲醇)中,在环境温度下进行该反应。在碱(如但不限于N,N-二异丙基乙胺)存在下,(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(羟基甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(136)可以与双(4-硝基苯基)碳酸酯反应,以提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(137)。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在环境温度进行该反应。在碱(如但不限于N,N-二异丙基乙胺)存在下,(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(137)可以与化合物反应,然后用水性氢氧化锂处理,以提供化合物(138)。第一步通常在环境温度下在溶剂中进行,例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺,并且第二步通常在低温下在溶剂中进行,例如但不限于甲醇。化合物(138)可以用三(2-羧乙基)膦盐酸盐处理,然后在碱(例如但不限于N,N-二异丙基乙胺)存在下与化合物(84)反应,以提供化合物(139)。与三(2-羧乙基)膦盐酸盐的反应通常在环境温度下在溶剂中进行,所述溶剂例如但不限于四氢呋喃、水或其混合物,并且与N-琥珀酰亚胺基6-马来酰亚胺基己酸酯的反应通常在环境温度下在溶剂中进行,所述溶剂例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺。

[1598] 5.2.8.化合物(149)的合成

[1599] 方案22

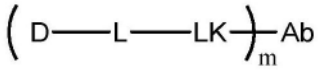


[1600] 方案22描述了半乳糖苷接头中间体和合成子的合成。可以在乙酸中用HBr处理(2S,3R,4S,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-2,3,4,5-四基四乙酸酯(140),以提供(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-溴四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(141)。该反应通常在环境温度和氮气氛下进行。在4-羟基-3-硝基苯甲醛(142)存在下,(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(4-甲酰基-2-硝基苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(143)可以通过用氧化银(I)处理(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-溴四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(141)来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于乙腈)中,在环境温度下进行该反应。(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(4-甲酰基-2-硝基苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(143)可以用硼氢化钠处理,以提供(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(4-(羟基甲基)-2-硝基苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(144)。典型地,在溶剂(例如但不限于四氢呋喃、甲醇、或其混合物)中,在低温进行该反应。在盐酸存在下,(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(2-氨基-4-(羟基甲基)苯

氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(145)可以通过用锌处理(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(4-(羟基甲基)-2-硝基苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(144)来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于四氢呋喃)中,在低温、氮气环境下进行该反应。在碱(包括但不限于N,N-二异丙基乙胺)存在下,(2S,3R,4S,5S,6R)-2-(2-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(羟基甲基)苯氧基)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(146)可以通过(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(2-氨基-4-(羟基甲基)苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(145)与(9H-芴-9-基)甲基(3-氯-3-氧代丙基)氨基甲酸酯(103)反应来制备。典型地,在溶剂(例如但不限于二氯甲烷)中,在低温进行该反应。在碱(如但不限于N,N-二异丙基乙胺存在下,(2S,3R,4S,5S,6R)-2-(2-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(羟基甲基)苯氧基)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(146)可以与双(4-硝基苯基)碳酸酯反应,以提供(2S,3R,4S,5S,6R)-2-(2-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(147)。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在低温进行该反应。在碱(如但不限于N,N-二异丙基乙胺)存在下,(2S,3R,4S,5S,6R)-2-(2-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(147)可以与化合物(88)反应,然后用氢氧化锂处理,以提供化合物(148)。第一步通常在低温下在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中进行,并且第二步通常在环境温度下在溶剂(例如但不限于甲醇)中进行。在碱(例如但不限于N,N-二异丙基乙胺)的存在下,化合物(148)可以用化合物(84)(其中Sp是间隔子)处理,以提供化合物(149)。典型地,在溶剂(例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺)中,在环境温度进行该反应。

[1601] III.A.7.合成抗B7-H3 ADC的通用方法

[1602] 本发明还披露了制备根据结构式(I)的抗B7-H3 ADC的方法:

[1603] (I) 

[1604] 其中D、L、LK、Ab和m如具体实施方式部分中所定义。该方法包括:

[1605] 将水溶液中的抗体用有效量的二硫化物还原剂在30℃-40℃处理至少15分钟,并且然后将该抗体溶液冷却至20℃-27℃;

[1606] 向所还原的抗体溶液中添加水/二甲基亚砜的溶液,该水/二甲基亚砜的溶液包含选自2.1至2.176的组的合成子(表B);

[1607] 将该溶液的pH调节为pH 7.5至8.5;

[1608] 允许该反应运行48至80小时,以形成ADC;

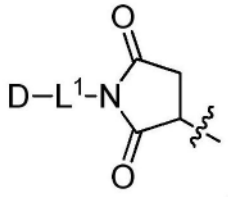
[1609] 其中如通过电喷雾质谱法测量的,对于琥珀酰亚胺每次水解为琥珀酰胺,质量偏移18±2amu;以及

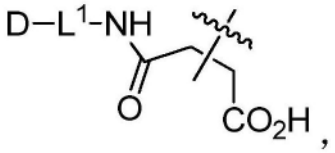
[1610] 其中任选地将该ADC通过疏水作用色谱纯化。

[1611] 在某些实施例中,抗体是hB7-H3抗体,其中该hB7-H3抗体包含huAb3v2.5、huAb3v2.6、或huAb13v1的重链和轻链CDR。

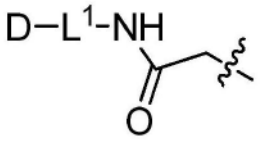
[1612] 本发明还针对通过上述方法制备的抗B7-H3 ADC。

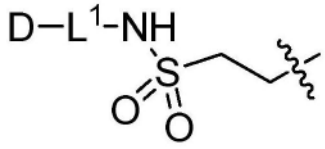
[1613] 在某些实施例中，本申请中披露的抗B7-H3 ADC是通过在一定条件下使与肿瘤细胞上表达的hB7-H3细胞表面受体或肿瘤相关抗原结合的抗体与药物-接头合成子接触而形成的，所述条件是：所述药物-接头合成子通过如式(IIe)和(IIf)所示的马来酰亚胺部分，或通过如(IIg)所示的乙酰卤，或通过如(IIh)所示的乙烯基砜共价连接至所述抗体。

[1614] (IIe) 

, (IIf) 

,

(IIg) 

, (IIh) 

[1615] 其中，D是如上所述根据结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)或(IId)的Bcl-xL抑制剂药物，并且L^1是在将合成子附接到抗体上后不由马来酰亚胺、乙酰卤或乙烯基砜形成的接头部分；并且其中该药物-接头合成子选自下组，该组由以下组成：合成子实例2.1至2.176(表B)，或其药学上可接受的盐。

[1616] 在某些实施例中，接触步骤在使得抗B7-H3 ADC具有的2、3或4的DAR的条件下进行。

[1617] III.B.抗B7-H3 ADC：用于偶联的其他示例性药物

[1618] 抗B7-H3抗体可用于ADC中以将一种或多种药物靶向目标细胞(例如，表达B7-H3的癌细胞)。本发明的抗B7-H3 ADC提供靶向治疗，例如当一种或多种药物递送至特定细胞时，所述靶向治疗可以减少抗癌疗法中常见的副作用。

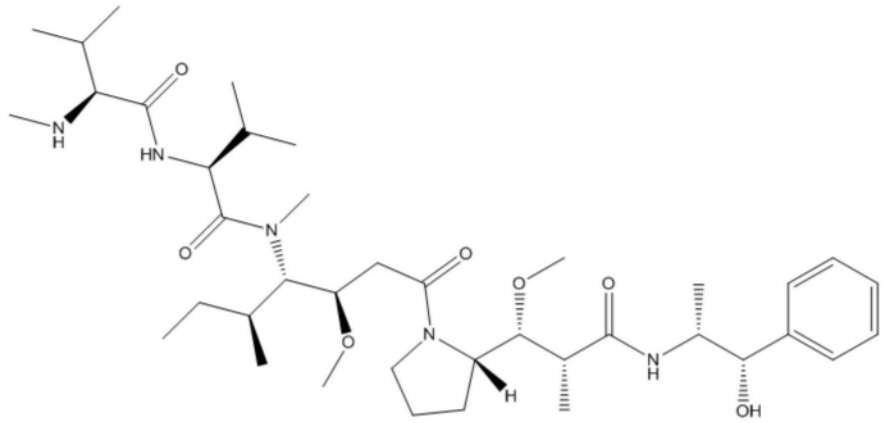
[1619] 奥瑞他汀

[1620] 本发明的抗B7-H3抗体，例如huAb13v1、huAb3v2.5、或huAb3v2.6抗体，可以与至少一种澳瑞他汀偶联。澳瑞他汀代表一组海兔毒素类似物，其通常通过干扰微管动力学和GTP水解从而抑制细胞分裂来显示具有抗癌活性。例如，澳瑞他汀E(美国专利号5,635,483)是海洋天然产物海兔毒素10的合成类似物，其是通过与抗癌药物长春新碱结合到微管蛋白上的相同位点来抑制微管蛋白聚合的化合物(G.R.Pettit,Prog.Chem.Org.Nat.Prod[自然产物的有机化学进程],70:1-79(1997))。多拉司他汀10，澳瑞他汀PE和澳瑞他汀E是具有四个氨基酸的线性肽，其中三个氨基酸是海兔毒素类化合物所独有的。有丝分裂抑制剂的澳瑞他汀亚类的示例性实施例包括但不限于一甲基澳瑞他汀D(MMAD或澳瑞他汀D衍生物)、一甲基澳瑞他汀E(MMAE或澳瑞他汀E衍生物)、一甲基澳瑞他汀F(MMAF或澳瑞他汀F衍生物)、澳瑞他汀F苯二胺(AFP)、澳瑞他汀EB(AEB)、澳瑞他汀EFP(AEFP)、和5-苯甲酰基戊酸-AE酯(AEVB)。澳瑞他汀衍生物的合成和结构描述于以下中：美国专利申请公开号2003-0083263、2005-0238649和2005-0009751；国际专利公开号WO04/010957、国际专利公开号WO 02/088172以及美国专利号6,323,315;6,239,104;6,034,065;5,780,588;5,665,860;5,663,149;5,635,483;5,599,902;5,554,725;5,530,097;5,521,284;5,504,191;5,410,024;5,138,036;5,076,973;4,986,988;4,978,744;4,879,278;4,816,444;和4,486,414，将其各自通过引用结合在此。

[1621] 在一个实施例中，本发明的抗B7-H3抗体，例如，huAb13v1、huAb3v2.5、或huAb3v2.6与至少一种MMAE(一甲基澳瑞他汀E)偶联。一甲基澳瑞他汀E(MMAE,vedotin)通过阻断微管蛋白的聚合来抑制细胞分裂。然而，由于其超强毒性，澳瑞他汀E本身不能用作药物。澳瑞他汀E可以与识别癌细胞中特定标志物表达的单克隆抗体(mAb)连接，并将MMAE导向癌细胞。在一个实施例中，将MMAE连接至抗B7-H3抗体的接头在细胞外液(即细胞外部的培养基或环境)中是稳定的，但一旦ADC与特定癌细胞结合并进入癌细胞，则被组织蛋白酶裂解，从而释放出有毒的MMAE并激活有效的抗有丝分裂机制。

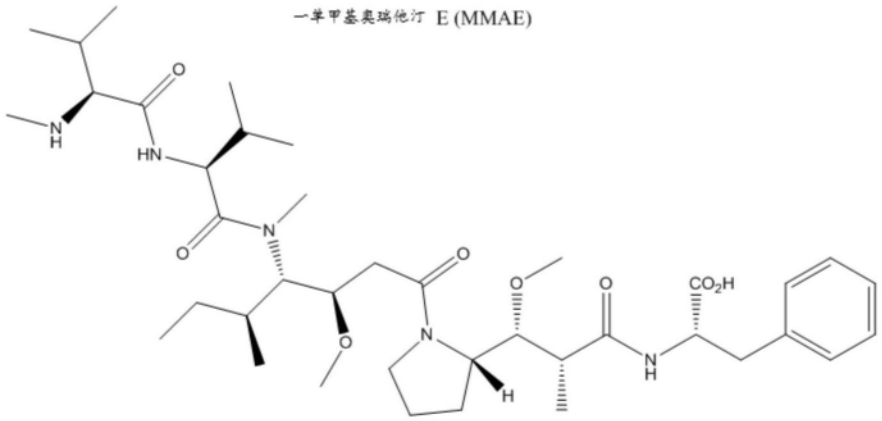
[1622] 在一个实施例中，本文描述的抗B7-H3抗体，例如，huAb13v1、huAb3v2.5、或huAb3v2.6与至少一种MMAF(一甲基澳瑞他汀F)偶联。一甲基澳瑞他汀F(MMAF)通过阻断微管蛋白的聚合来抑制细胞分裂。它具有带电的C-末端苯丙氨酸残基，与其不带电荷的对应物MMAE相比，细胞毒活性减弱。然而，由于其超强毒性，澳瑞他汀F本身不能用作药物，但可以与将其引导至癌细胞的单克隆抗体(mAb)连接。在一个实施例中，抗B7-H3抗体的接头在细胞外液中是稳定的，但一旦偶联物进入肿瘤细胞就被组织蛋白酶裂解，从而激活抗有丝分裂机制。

[1623] MMAF和MMAE的结构提供如下。



一单甲基奥瑞他汀 E (MMAE)

[1624]



一单甲基奥瑞他汀 F (MMAF)

[1625] 还在图3中提供了huAb13v1、huAb3v2.5、或huAb3v2.6-vcMMAE的实例。值得注意的是，图3描述了抗体(例如，huAb13v1、huAb3v2.5、或huAb3v2.6)与单一药物偶联并因此具有1的DAR的情况。在某些实施例中，ADC具有2至8的DAR，或可替代地，具有2至4的DAR。

[1626] 用于偶联的其他药物

[1627] 可以在ADC中使用的药物(即可以与本发明的抗B7-H3抗体偶联的药物)的实例在下文提供,并且包括有丝分裂抑制剂、抗肿瘤抗生素、免疫调节剂、基因治疗载体、烷化剂、抗血管生成剂、抗代谢物、含硼剂、化学保护剂、激素试剂、糖皮质激素、光活性治疗剂、寡核苷酸、放射性同位素、放射增敏剂、拓扑异构酶抑制剂、激酶抑制剂及其组合。

[1628] 1.有丝分裂抑制剂

[1629] 一方面,抗B7-H3抗体可以与一种或多种有丝分裂抑制剂偶联以形成用于治疗癌症的ADC。如本文所用,术语"有丝分裂抑制剂"是指阻断有丝分裂或细胞分裂(对癌细胞特别重要的生物学过程)的细胞毒性和/或治疗剂。有丝分裂抑制剂破坏微管,从而通常通过实现微管聚合(例如,抑制微管聚合)或微管解聚(例如,稳定微管细胞骨架以防止解聚)来阻止细胞分裂。因此,在一个实施例中,本发明的抗B7-H3抗体与一种或多种有丝分裂抑制剂偶联,所述有丝分裂抑制剂通过抑制微管蛋白聚合来破坏微管形成。在另一个实施例中,将本发明的抗B7-H3抗体与一个或多个有丝分裂抑制剂偶联,这些有丝分裂抑制剂使微管细胞骨架免于解聚而稳定。在一个实施例中,本发明ADC中使用的有丝分裂抑制剂是Ixempra(伊沙匹隆)。本发明的抗B7-H3 ADC中使用的有丝分裂抑制剂的实例提供如下。如上所述的奥瑞他汀包括在有丝分裂抑制剂种类物中。

[1630] a.多拉司他汀

[1631] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种多拉司他汀偶联形成ADC。多拉司他汀是从印度洋海兔截尾海兔(Dolabella auricularia)分离的短肽化合物(参见Pettit等人,J.Am.Chem.Soc.[美国化学会杂志],1976,98,4677)。多拉司他汀的实例包括多拉司他汀10和多拉司他汀15。多拉司他汀15是一种来源于截尾海兔的七亚基缩酚酸肽并且是一种有效的抗有丝分裂剂,与抗微管蛋白剂多拉司他汀10结构相关,后者是从同一生物体获得的五亚基肽。因此,在一个实施例中,本发明的抗B7-H3 ADC包含如本文所述的抗B7-H3抗体和至少一种多拉司他汀。如上所述的奥瑞他汀是多拉司他汀10的合成衍生物。

[1632] b.美登木素生物碱

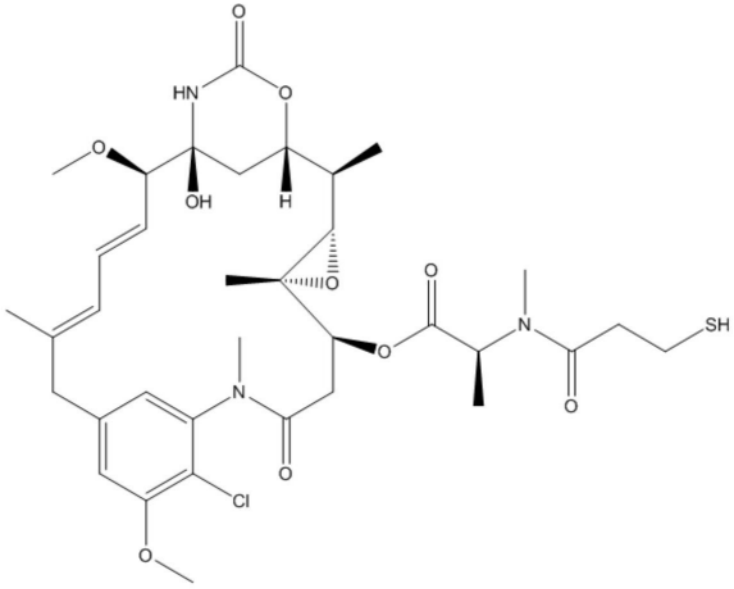
[1633] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种美登木素生物碱偶联形成ADC。美登木素生物碱是有效的抗肿瘤剂,其最初分离自高等植物卫矛科(Celastraceae)、鼠李科(Rhamnaceae)和大戟科(Euphorbiaceae)的成员,以及苔藓的一些物种(Kupchan等人,J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]94:1354-1356[1972];Wani等人,J.Chem.Soc.Chem.Commun.[化学学会期刊化学通讯]390:[1973];Powell等人,J.Nat.Prod.[天然产物杂志]46:660-666[1983];Sakai等人,J.Nat.Prod.[天然产物杂志]51:845-850[1988];和Suwanborirux等人,Experientia[实验]46:117-120[1990])。证据表明美登木素生物碱通过抑制微管的蛋白微管蛋白的聚合来抑制有丝分裂,从而阻止微管的形成(参见,例如,美国专利号6,441,163和Remillard等人,Science[科学],189,1002-1005(1975))。已经显示美登木素生物碱使用细胞培养模型在体外抑制肿瘤细胞生长,并且使用实验室动物系统在体内抑制肿瘤细胞生长。此外,美登木素生物碱的细胞毒性比常规化学治疗剂(例如甲氨蝶呤,柔红霉素和长春新碱)高1,000倍(参见,例如,美国专利号5,208,020)。

[1634] 美登木素生物碱包括美登素、美登醇、美登醇的C-3酯和其他美登醇类似物和衍生

物(参见,例如,美国专利号5,208,020和6,441,163,其各自通过引用并入本文)。美登醇的C-3酯可以是天然存在的或合成衍生的。此外,天然存在的和合成的C-3美登醇酯可分为具有简单羧酸的C-3酯,或具有N-甲基-L-丙氨酸衍生物的C-3酯,后者细胞毒性比前者更强。合成的美登木素生物碱类似物描述于,例如Kupchan等人,J.Med.Chem.[药物化学杂志],21,31-37(1978)中。

[1635] 适用于本发明ADC的美登木素生物碱可从天然来源分离、合成产生或半合成产生。此外,可以以任何合适的方式修饰美登木素生物碱,只要在最终的偶联物分子中保留足够的细胞毒性即可。在这方面,美登木素生物碱缺乏可与抗体连接的合适的官能团。期望使用连接部分将美登木素生物碱与抗体连接以形成偶联物,并且在下面的接头部分中更详细地描述。以下提供示例性美登木素生物碱,美登素(DM1)的结构。

[1636]



美登素 (DM1)

[1637] 美登木素生物碱的代表性实例包括但不限于DM1(N2'-脱乙酰-N2'-(3-巯基-1-氧丙基)-美登素;也称为美登素、药物美登木素生物碱1;免疫原公司(ImmunoGen,Inc.);还参见Chari等人(1992)Cancer Res[癌症研究]52:127)、DM2、DM3(N2'-脱乙酰-N2'-(4-巯基-1-氧代戊基)-美登素)、DM4(4-甲基-4-巯基-1-氧代戊基)-美登素),以及美登醇(合成美登木素生物碱类似物)。美登木素生物碱的其他实例描述于美国专利号8,142,784中,将其通过引用并入本文。

[1638] 安丝菌素是已从各种细菌来源中分离出的一组美登木素生物碱抗生素。这些化合物具有有效的抗肿瘤活性。代表性实例包括但不限于安丝菌素P1、安丝菌素P2、安丝菌素P3、和安丝菌素P4。

[1639] 在本发明的一个实施例中,抗B7-H3抗体与至少一种DM1偶联。在一个实施例中,抗B7-H3抗体与至少一种DM2偶联。在一个实施例中,抗B7-H3抗体与至少一种DM3偶联。在一个实施例中,抗B7-H3抗体与至少一种DM4偶联。

[1640] d.植物生物碱

[1641] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种植物生物碱(例如,紫杉烷或长春花生物碱(vinca alkaloid))偶联。植物生物碱是由某些类型的植物衍生的化学疗法。长春花生物碱

是从长春花属植物(长春花(catharanthus rosea))制成,而紫杉烷是来自太平洋紫杉(红豆杉属(taxus))的树皮。长春花生物碱和紫杉烷也称为抗微管剂,并在下面更详细地描述。

[1642] 紫杉烷

[1643] 本文所述的抗B7-H3抗体可以与至少一种紫杉烷偶联。如本文使用的,术语"紫杉烷"是指具有微管作用机制并具有包括紫杉烷环结构和细胞抑制活性所需的立体定向侧链的结构的抗肿瘤剂类。术语"紫杉烷"还包括各种已知的衍生物,包括亲水衍生物和疏水衍生物。紫杉烷衍生物包括但不限于国际专利申请号WO 99/18113中描述的半乳糖和甘露糖衍生物;WO 99/14209中描述的哌嗪基和其他衍生物;WO 99/09021、WO 98/22451、和美国专利号5,869,680中描述的紫杉烷衍生物;WO 98/28288中描述的6-含硫衍生物;美国专利号5,821,263中描述的亚磺酰胺衍生物;和美国专利号5,415,869中描述的紫杉醇衍生物,将其各自通过引用结合在此。紫杉烷化合物先前也已在如下美国专利号中进行了描述:5,641,803、5,665,671、5,380,751、5,728,687、5,415,869、5,407,683、5,399,363、5,424,073、5,157,049、5,773,464、5,821,263、5,840,929、4,814,470、5,438,072、5,403,858、4,960,790、5,433,364、4,942,184、5,362,831、5,705,503、和5,278,324,将其明确地通过引用结合在此。紫杉烷的其他实例包括但不限于多西他赛(Taxotere;赛诺菲－安万特公司(Sanofi Aventis))、紫杉醇(白蛋白结合型紫杉醇(Abraxane)或泰素(Taxol);阿博利斯肿瘤公司(Abraxis Oncology))、卡巴他赛(carbazitaxel)、替司他赛(tesetaxel)、紫杉醇聚谷氨酸(opaxio)、拉洛他赛(larotaxel)、塔克普辛(taxoprexin)、BMS-184476、红豆杉(hongdoushan)A、红豆杉B、和红豆杉C、和纳米粒子紫杉醇(ABI-007/Abraxene;阿博利斯科学公司(Abraxis Bioscience))。

[1644] 在一个实施例中,本发明的抗B7-H3抗体与至少一种多西他赛分子偶联。在一个实施例中,本发明的抗B7-H3抗体与至少一种紫杉醇分子偶联。

[1645] 长春花生物碱

[1646] 在一个实施例中,抗B7-H3抗体与至少一种长春花生物碱偶联。长春花生物碱是一类细胞周期特异性药物,其通过作用于微管蛋白并防止微管形成来抑制癌细胞分裂的能力。可用于本发明ADC中的长春花生物碱的实例包括但不限于长春地辛硫酸酯、长春新碱、长春花碱和长春瑞滨。

[1647] 2.抗肿瘤抗生素

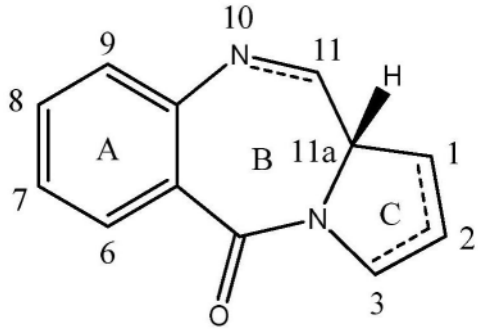
[1648] 本发明的抗B7-H3抗体可以与一种或多种用于治疗癌症的抗肿瘤抗生素偶联。如本文使用的,术语"抗肿瘤抗生素"是指通过干扰DNA阻断细胞生长并且由微生物制成的抗肿瘤药物。通常,抗肿瘤抗生素会破坏DNA链或减慢或停止DNA合成。可包括在本发明的抗B7-H3 ADC中的抗肿瘤抗生素的实例包括但不限于放线菌素(例如,吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮䓬类)、蒽环霉素、卡奇霉素、和多卡米新,详见下文。

[1649] a.放线菌素

[1650] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种放线菌素偶联。放线菌素是从链霉菌属(Streptomyces)细菌中分离的抗肿瘤抗生素的亚类。代表性实例放线菌素包括但不限于放线菌素D(更生霉素[也称为放线菌素(actinomycin或dactinomycin)、放线菌素IV、放线菌素C1],灵北公司(Lundbeck,Inc.))、安曲霉素、奇卡米新A(chicamycin A)、DC-81、甲基胺茴霉素、新斯拉霉素A、新斯拉霉素B、泊诺思来辛(porothramycin)、珀斯卡辛B

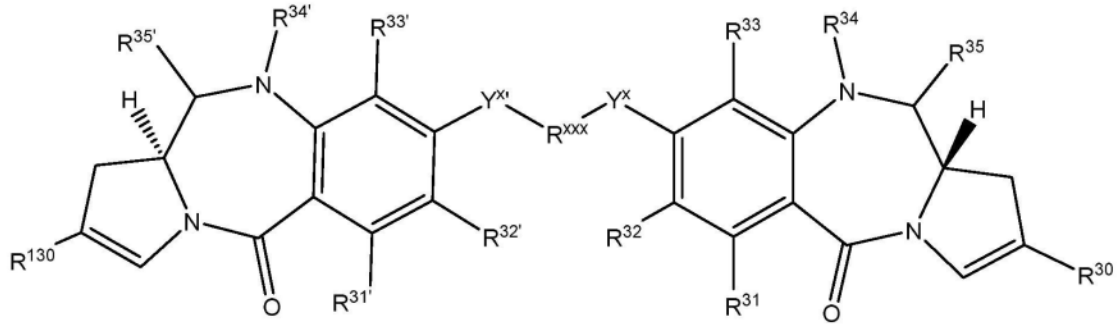
(prothracarcin B)、SG2285、西巴霉素、西伯利亚霉素、和茅屋霉素。在一个实施例中，本发明的抗B7-H3抗体与至少一种吡咯并苯并二氮杂䓬(PBD)偶联。PBD的实例包括但不限于安曲霉素、奇卡米新A(chicamycin A)、DC-81、甲基胺茴霉素、新斯拉霉素A、新斯拉霉素B、泊诺思来辛(porothramycin)、珀斯卡辛B(prothracarcin B)、SG2000(SJG-136)、SG2202(ZC-207)、SG2285(ZC-423)、西巴霉素、西伯利亚霉素和茅屋霉素。因此，在一个实施例中，本发明的抗B7-H3抗体与至少一种放线菌素(例如，放线菌素D)、或至少一种PBD(例如，吡咯并苯并二氮杂䓬(PBD)二聚体)偶联。

[1651] PBD的结构可以发现于例如美国专利申请公开号2013/0028917和2013/0028919、以及WO 2011/130598 A1中，其各自通过引用以其整体结合在此。PBD的一般结构提供如下。

[1652] 

[1653] PBD在其芳族A环和吡咯C环中的取代基的数量、类型和位置以及C环的饱和度方面都不同。在B环中，通常在N10-C11位置上存在亚胺(N＝C)、甲醇胺(NH-CH(OH))或甲醇胺甲基醚(NH-CH(OMe))，该位置是负责烷化DNA的亲电子中心。所有已知的天然产物在手性C11α位置具有(S)-构型，当从C环朝向A环观察时，该构型提供右扭曲。本文提供的PBD实例可以与本发明的抗B7-H3抗体偶联。可以与本发明的抗B7-H3抗体偶联的PBD的其他实例可以在例如美国专利申请公开号2013/0028917A1和2013/0028919A1、美国专利号7,741,319B2、以及WO 2011/130598 A1和WO 2006/111759 A1中找到，其各自通过引用以其整体结合在此。

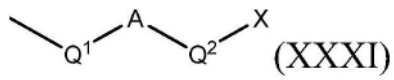
[1654] 具有下式XXX的代表性PBD二聚体可以与本发明的抗B7-H3抗体偶联：

[1655] 

(XXX)

[1656] 其中：

[1657] R^{30}具有式XXXI：

[1658] 

(XXXI)

[1659] 其中A是C_{5-7}芳基基团，X是与选自下组的接头单元偶联的基团，该组由以下组成：—O—、—S—、—C(O)O—、—C(O)—、—NH(C＝O)—、和—N(R^N)—，其中R^N选自下组，该组

由以下组成:H、C_{1-4}烷基和$(C_2H_4O)_mCH_3$,其中s是1至3,并且

[1660] (i)Q^1是单键并且Q^2选自下组,该组由以下组成:单键和—Z—$(CH_2)_n$—,其中Z选自下组,该组由以下组成:单键、O、S和NH并且n是1至3;或

[1661] (ii)Q^1是—CH=CH—,并且Q^2是单键;

[1662] R^{130}是C_{5-10}芳基基团,其任选地被一个或多个选自下组的取代基取代,该组由以下组成:卤基、硝基、氰基、C_{1-12}烷氧基、C_{3-20}杂环烷氧基、C_{5-20}芳基氧基、杂芳基氧基、烷基烷氧基、芳基烷氧基、烷基芳基氧基、杂芳基烷氧基、烷基杂芳基氧基、C_{1-7}烷基、C_{3-7}杂环基和双-氧基-C_{1-3}亚烷基;

[1663] R^{31}和R^{33}独立地选自下组,该组由以下组成:H、R^x、OH、OR^x、SH、SR^x、NH_2、NHR^x、NR^xR^{xx}'、硝基、Me_3Sn和卤基;

[1664] 其中R和R'独立地选自下组,该组由以下组成:任选地取代的C_{1-12}烷基、C_{3-20}杂环基和C_{5-20}芳基基团;

[1665] R^{32}选择下组,该组由以下组成:H、R^x、OH、OR^x、SH、SR^x、NH_2、NHR^x、NHR^xR^{xx}、硝基、Me_3Sn和卤基;

[1666] 或者:

[1667] (a)R^{34}是H,且R^{11}是OH、OR^{xA},其中R^{xA}是C_{1-4}烷基;

[1668] (b)R^{34}和R^{35}在它们所结合的氮和碳原子之间形成氮-碳双键;或

[1669] (c)R^{34}是H,R^{35}是SO_zM,其中z是2或3;

[1670] R^{xxx}是C_{3-12}亚烷基基团,其链可以被一个或多个选自下组的杂原子中断,该组由以下组成:O、S、NH,和芳族环;

[1671] Y^x和$Y^{x'}$选自下组,该组由以下组成:O、S、和NH;

[1672] $R^{31'}$、$R^{32'}$、$R^{33'}$分别选自与R^{31},R^{32}和R^{33}相同的组,并且$R^{34'}$和$R^{35'}$与R^{34}和R^{35}相同,并且每个M是单价药学上可接受的阳离子或两个M基团一起是二价药学上可接受的阳离子。

[1673] C_{1-12}烷基:本文所用的术语"C_{1-12}烷基"涉及通过从具有1至12个碳原子的烃化合物的碳原子上除去氢原子而获得的单价部分,所述碳原子可以是脂族或脂环族的,并且可以是饱和的或不饱和的(如部分不饱和,完全不饱和)。因此,术语"烷基"包括下面讨论的亚类烯基、炔基、环烷基等。

[1674] 饱和烷基的实例包括但不限于甲基(C_1)、乙基(C_2)、丙基(C_3)、丁基(C_4)、戊基(C_5)、己基(C_6)和庚基(C_7)。

[1675] 饱和直链烷基的实例包括但不限于甲基(C_1)、乙基(C_2)、正丙基(C_3)、正丁基(C_4)、正戊基(戊基)(C_5)、n-己基(C_6)和正庚基(C_7)。

[1676] 饱和支链烷基的实例包括异丙基(C_3)、异丁基(C_4)、仲丁基(C_4)、叔丁基(C_4)、异戊基(C_5)和新戊基(C_5)。

[1677] C_{3-20}杂环基:如本文所用的术语"C_{3-20}杂环基"涉及通过从杂环化合物的环原子上除去氢原子而获得的单价部分,该部分具有3至20个环原子,其中1至10个是环杂原子。优选地,每个环具有3至7个环原子,其中1至4个是环杂原子。

[1678] 在这种情况下,无论是碳原子还是杂原子,前缀(例如C_{3-20}、C_{3-7}、C_{5-6}等)表示环原子的数量或环原子数的范围。例如,如本文使用的,术语"C_{5-6}杂环基"属于具有5或6个环原子的杂环基。

[1679] 单环杂环基的实例包括但不限于衍生自以下的那些：

[1680] N_1：氮丙啶(C_3)、氮杂环丁烷(C_4)、吡咯烷(四氢吡咯)(C_5)、吡咯啉(如3-吡咯啉，2,5-二氢吡咯)(C_5)、2H-吡咯或3H-吡咯(异吡咯，异噁唑)(C_5)、哌啶(C_6)、二氢吡啶(C_6)、四氢吡啶(C_6)、氮杂䓬(C_7)；O_1：环氧乙烷(C_3)、氧杂环丁烷(C_4)、氧杂环戊烷(四氢呋喃)(C_5)、呋喃(二氢呋喃)(C_5)、噁烷(四氢吡喃)(C_6)、二氢吡喃(C_6)、吡喃(C_6)、噁呯(C_7)；S_1：环硫乙烷(C_3)、硫杂环丁烷(C_4)、硫戊环(四氢噻吩)(C_5)、硫化环戊烷(四氢硫代吡喃)(C_6)、硫杂环庚烷(C_7)；O_2：二氧戊环(C_5)、二噁烷(C_6)和二氧杂环庚烷(C_7)；O_3：三氧杂环己烷(C_6)；N_2：咪唑烷(C_5)、吡唑烷(二唑烷)(C_5)、咪唑啉(C_5)、吡唑啉(二氢吡唑)(C_5)、哌嗪(C_6)；N_1O_1：四氢噁唑(C_5)、二氢噁唑(C_5)、四氢异噁唑(C_5)、二氢异噁唑(C_5)、吗啉(C_6)、四氢噁嗪(C_6)、二氢噁嗪(C_6)、噁嗪(C_6)；N_1S_1：噻唑啉(C_5)、噻唑烷(C_5)、硫代吗啉(C_6)；N_2O_1：噁二嗪(C_6)；O_1S_1：氧杂噻吩(C_5)和氧杂硫化环戊烷(噻嗯烷)(C_6)；以及$N_1O_1S_1$：氧杂噻嗪(C_6)。

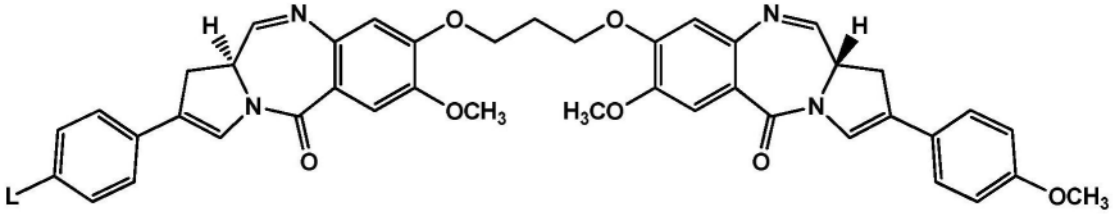
[1681] 取代的单环杂环基的实例包括衍生自环状形式的糖的那些，例如，呋喃糖(C_5)、例如阿拉伯呋喃糖、来苏呋喃糖、呋喃核糖和木呋喃酮、和吡喃糖(C_6)、例如吡喃葡萄糖、吡喃葡萄糖、吡喃葡萄糖、吡喃甘露糖、吡喃葡萄糖、吡喃茚酮糖、吡喃半乳糖和吡喃塔罗糖。

[1682] C_{5-20}芳基：本文所用的术语“C_{5-20}芳基”涉及通过从芳族化合物的芳环原子上除去氢原子而得到的单价部分，该部分具有3至20个环原子。优选地，每个环具有5至7个环原子。

[1683] 在这种情况下，无论是碳原子还是杂原子，前缀(例如C_{3-20}、C_{5-7}、C_{5-6}等)表示环原子的数量或环原子数的范围。例如，如本文所用的术语“C_{5-6}芳基”属于具有5或6个环原子的芳基。

[1684] 在一个实施例中，本发明的抗B7-H3抗体可以与具有下式XXXIa的PBD二聚体偶联：

[1685]



(XXXIa)

[1686] 其中上述结构描述了PBD二聚体SG2202(ZC-207)并通过接头L与本发明的抗B7-H3抗体偶联。SG2202(ZC-207)公开于，例如，美国专利申请公开号2007/0173497，其全部内容通过引用并入本文。

[1687] 在另一个实施例中，PBD二聚体SGD-1882通过药物接头与本发明的抗B7-H3抗体偶联，如图4所示。SGD-1882披露于Sutherland等人(2013)Blood[血液]122(8):1455和美国专利申请公开号2013/0028919中，其全部内容通过引用并入本文。如图4中所述，PBD二聚体SGD-1882可以通过mc-val-ala-二肽接头(在图4中统称为SGD-1910)与抗体偶联。在某个实施例中，如本文所公开的抗B7-H3抗体与图4中描述的PBD二聚体偶联。因此，在另一个实施例中，本发明包括如本文所公开的抗B7-H3抗体，其通过mc-val-ala-二肽接头与PBD二聚体偶联，如图4所述。在某些实施例中，本发明包括与PBD(包括但不限于图4中描述的PBD二聚体)偶联的抗B7-H3抗体，其包含重链可变区(包含：含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的CDR3结构域、含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:33所述氨基酸序列的CDR1结构域)和轻链可变区(包含：包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的CDR3结构域、

包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的CDR2结构域、和包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的CDR1结构域)。在某些实施例中,本发明包括与PBD(包括但不限于图4中描述的PBD二聚体)偶联的抗B7-H3抗体,其包含重链可变区(包含:含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR3结构域、含有SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:10所述氨基酸序列的CDR1结构域)和轻链可变区(包含:包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR3结构域、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR2结构域、和包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的CDR1结构域)。在某些实施例中,本发明包括与PBD(包括但不限于图4中描述的PBD二聚体)偶联的抗B7-H3抗体,其包含重链可变区(包含:含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR3结构域、含有SEQ ID NO:140的氨基酸序列的CDR2结构域、和含有SEQ ID NO:10所述氨基酸序列的CDR1结构域)和轻链可变区(包含:包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR3结构域、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR2结构域、和包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的CDR1结构域)。在某些实施例中,本发明包括抗B7-H3抗体,其包含如SEQ ID NO:147中所示的氨基酸序列定义的huAb13v1或SEQ ID NO:139中所示的氨基酸序列定义的huAb3v2.5或huAb3v2.6的重链可变区,和轻链可变区(包含分别对应于huAb13v1、huAb3v2.5、或huAb3v2.6的SEQ ID NO:144、135、或137的氨基酸序列),其中抗体与PBD(包括但不限于图4中描述的示例性PBD二聚体)偶联。

[1688] b.蒽环霉素

[1689] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种蒽环霉素偶联。蒽环霉素是从链霉菌属(Streptomyces)细菌中分离的抗肿瘤抗生素的亚类。代表性实例包括但不限于柔红霉素(道诺霉素(Cerubidine),贝德福德实验室(Bedford Laboratories)),多柔比星(阿霉素,贝德福德实验室;也称为盐酸多柔比星,羟基柔红霉素和如比克(Rubex)),表柔比星(表阿霉素(Ellence),美国辉瑞公司(Pfizer))和伊达比星(善唯达(Idamycin);美国辉瑞公司(Pfizer))。因此,在一个实施例中,本发明的抗B7-H3抗体与至少一种蒽环霉素,例如,多柔比星偶联。

[1690] c.卡奇霉素

[1691] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种卡奇霉素偶联。卡奇霉素是来自土壤生物棘孢小单孢菌(Micromonospora echinospora)的烯二炔类抗生素家族。卡奇霉素结合DNA的小沟并诱导双链DNA断裂,导致比其他化疗药物增加100倍的细胞死亡(Damle等人(2003)Curr Opin Pharmacol[当前药理学新见]3:386)。已经描述了可以在本发明中用作药物偶联物的卡奇霉素的制备,参见美国专利号5,712,374;5,714,586;5,739,116;5,767,285;5,770,701;5,770,710;5,773,001;和5,877,296。可用的卡奇霉素的结构类似物包括但不限于γ_1^I、α_2^I、α_3^I、N-乙酰基-γ_1^I、PSAG和θ^I_1(Hinman等人,CancerResearch[癌症研究]53:3336-3342(1993),Lode等人,Cancer Research[癌症研究]58:2925-2928(1998)以及前述美国专利号5,712,374;5,714,586;5,739,116;5,767,285;5,770,701;5,770,710;5,773,001;和5,877,296)。因此,在一个实施例中,本发明的抗B7-H3抗体与至少一种卡奇霉素偶联。

[1692] d.多卡米新

[1693] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种多卡米新偶联。多卡米新是从链霉菌属(Streptomyces)细菌中分离的抗肿瘤抗生素的亚类。(参见Nagamura和Saito(1998)

Chemistry of Heterocyclic Compounds[杂环化合物的化学],第34卷,第12期)。多卡米新结合DNA的小沟并在N3位置烷基化的核碱基腺嘌呤(Boger(1993)Pure and Appl Chem[纯粹与应用化学]65(6):1123;以及Boger和Johnson(1995)PNAS USA92:3642)。多卡米新的合成类似物包括但不限于阿多来新、比折来新、和卡折来新。因此,在一个实施例中,本发明的抗B7-H3抗体与至少一种多卡米新偶联。

[1694] e.其他抗肿瘤抗生素

[1695] 除上述之外,可用于本发明的抗B7-H3 ADC的另外的抗肿瘤抗生素包括博来霉素(Blenoxane,Bristol-Myers Squibb)、丝裂霉素和普卡霉素(也称为光神霉素)。

[1696] 3.免疫调节剂

[1697] 一方面,本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种免疫调节剂偶联。如本文使用的,术语"免疫调节剂"是指可以刺激或改变免疫响应的药剂。在一个实施例中,免疫调节剂是增强受试者免疫应答的免疫刺激剂。在另一个实施例中,免疫调节剂是预防或降低受试者免疫应答的免疫抑制剂。免疫调节剂可以调节骨髓细胞(单核细胞、巨噬细胞、树突细胞、巨核细胞和粒细胞)或淋巴细胞(T细胞、B细胞和自然杀伤(NK)细胞)及其任何进一步分化的细胞。代表性的例子包括但不限于卡介苗(BCG)和左旋咪唑(Ergamisol)。可用于本发明的ADC的免疫调节剂的其他实例包括但不限于癌症疫苗、细胞因子和免疫调节基因治疗。

[1698] a.癌症疫苗

[1699] 本发明的抗B7-H3抗体可以与癌症疫苗偶联。如本文使用的,术语"癌症疫苗"是指引发肿瘤特异性免疫响应的组合物(例如,肿瘤抗原和细胞因子)。通过给予癌症疫苗,或者在本发明的情况下,给予包含抗B7-H3抗体和癌症疫苗的ADC,从受试者自身的免疫系统引发响应。在优选的实施例中,免疫应答导致体内肿瘤细胞(例如,原发性或转移性肿瘤细胞)的根除。癌症疫苗的使用通常涉及给予特定抗原或抗原组,所述抗原或抗原组例如存在于特定癌细胞的表面上,或存在于显示促进癌症形成的特定感染因子的表面上。在一些实施例中,癌症疫苗的使用是出于预防目的,而在其他实施例中,其用于治疗目的。可用于本发明的抗B7-H3 ADC的癌症疫苗的非限制性实例包括重组二价人乳头瘤病毒(HPV)疫苗16和18型疫苗(Cervarix,GlaxoSmithKline),重组四价人乳头瘤病毒(HPV)6型、11型、16型和18型疫苗(Gardasil,Merck&Company)和sipuleucel-T(Provenge,Dendreon)。因此,在一个实施例中,本发明的抗B7-H3抗体与至少一种癌症疫苗偶联,所述癌症疫苗是免疫刺激剂或免疫抑制剂。

[1700] b.细胞因子

[1701] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种细胞因子偶联。术语"细胞因子"是由一个细胞群释放的蛋白质的通用术语,所述蛋白质作为细胞间介质作用于另一种细胞群。细胞因子直接刺激肿瘤部位的免疫效应细胞和基质细胞,并通过细胞毒性效应细胞增强肿瘤细胞识别(Lee和Margolin(2011)Cancer[癌症]3:3856)。许多动物肿瘤模型研究已经证明细胞因子具有广泛的抗肿瘤活性,并且已经转化为许多基于细胞因子的癌症疗法(Lee和Margoli,同上)。近年来已经发现许多细胞因子,包括GM-CSF、IL-7、IL-12、IL-15、IL-18和IL-21进入晚期癌症患者的临床试验(Lee和Margoli,同上)。

[1702] 可用于本发明ADC中的细胞因子的实例包括但不限于甲状旁腺素;甲状腺素;胰岛素;胰岛素原;松弛素;松弛素原;糖蛋白激素,如促卵泡激素(FSH)、促甲状腺激素(TSH)和

黄体生成素(LH)；肝细胞生长因子；成纤维细胞生长因子；催乳素；胎盘催乳素；肿瘤坏死因子；穆勒氏管(mullerian)抑制物质；小鼠促性腺素相关肽；抑制素；激活素；血管内皮生长因子；整合素；血小板生成素(TPO)；神经生长因子如NGF；血小板生长因子；转化生长因子(TGF)；胰岛素样生长因子-I和-II；促红细胞生成素(EPO)；骨诱导因子；干扰素如干扰素α、β和γ，集落刺激因子(CSF)；粒细胞-巨噬细胞-C-SF(GM-CSF)；和粒细胞-CSF(G-CSF)；白细胞介素(IL)如IL-1、IL-1α、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12；肿瘤坏死因子；和其他多肽因子包括LIF和试剂盒配体(KL)。如本文所述，术语细胞因子包括来自天然来源或来自重组细胞培养物的蛋白和天然序列细胞因子的生物学上活性的等同物。因此，在一个实施例中，本发明提供了包含本文所述的抗B7-H3抗体和细胞因子的ADC。

[1703] c.集落刺激因子(CSF)

[1704] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种集落刺激因子(CSF)偶联。集落刺激因子(CSF)是帮助骨髓制造白细胞的生长因子。一些癌症治疗(例如，化学疗法)可以影响白细胞(其有助于抵抗感染)；因此，可引入集落刺激因子来帮助支持白细胞水平并增强免疫系统。骨髓移植后也可以使用集落刺激因子来帮助新骨髓开始产生白细胞。可用于本发明的抗B7-H3 ADC的CSF的代表性实例包括但不限于促红细胞生成素(Epoetin)，非格司亭(Neopogen)(也称为粒细胞集落刺激因子(G-CSF)；安进公司(Amgen,Inc.)、沙格司亭(sargramostim)(沙格司亭(leukine)(粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子和GM-CSF)；健赞公司(Genzyme Corporation))、普美加泊亭(promegapoietin)和奥普瑞白介素(重组IL-11；辉瑞公司(Pfizer,Inc.))。因此，在一个实施例中，本发明提供了包含本文所述的抗B7-H3抗体和CSF的ADC。

[1705] 4.基因治疗

[1706] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种核酸(直接或通过载体间接)偶联用于基因治疗。基因治疗通常是指将遗传物质引入细胞，由此遗传物质被设计用于治疗疾病。由于它涉及免疫调节剂，基因治疗用于刺激受试者抑制癌细胞增殖或杀死癌细胞的天然能力。在一个实施例中，本发明的抗B7-H3 ADC包含编码功能性治疗基因的核酸，其用于替换与癌症相关的突变或其他功能障碍(例如截短的)基因。在其他实施例中，本发明的抗B7-H3 ADC包含编码或以其他方式提供用于治疗癌症的治疗性蛋白质的产生的核酸。编码治疗基因的核酸可以直接与抗B7-H3抗体偶联，或者可以通过载体与抗B7-H3抗体偶联。可用于递送用于基因治疗的核酸的载体的实例包括但不限于病毒载体或脂质体。

[1707] 5.烷化剂

[1708] 本发明的抗B7-H3抗体可以与一种或多种烷化剂偶联。烷化剂是一类将烷基附接到DNA上的抗肿瘤化合物。可用于本发明ADC中的烷化剂的实例包括但不限于烷基磺酸酯、乙烯亚胺、甲胺衍生物、环氧化物、氮芥、亚硝基脲、三嗪和肼。

[1709] a.烷基磺酸酯

[1710] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种烷基磺酸酯偶联。烷基磺酸酯是烷化剂的一个子类，通式如下：$R\text{-}SO_2\text{-}O\text{-}R^1$，其中R和$R^1$通常是烷基或芳基。烷基磺酸酯的代表性实例包括但不限于白消安(马勒兰(Myleran)，葛兰素史克公司(GlaxoSmithKline)；白舒非IV(Busulfex IV)，PDL生物制药有限公司(PDL BioPharma,Inc.))。

[1711] b.氮芥

[1712] 本发明的抗B7-H3抗体可与至少一种氮芥偶联。该抗癌化合物子类的代表性实例包括但不限于苯丁酸氮芥(Leukeran,葛兰素史克公司(GlaxoSmithKline))、环磷酰胺(癌得星,百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb));诺色(Neosar),辉瑞公司(Pfizer,Inc.))、雌莫司汀(雌莫司汀磷酸盐)钠或Estracyt,辉瑞公司(Pfizer,Inc.)),异环磷酰胺(Ifex,百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb))、二氯甲基二乙胺(Mustargen,隆倍科公司(Lundbeck Inc.))和美法仑(爱克兰(Alkeran)或L-Pam或苯丙氨酸芥末;葛兰素史克公司(GlaxoSmithKline))。

[1713] c.亚硝基脲

[1714] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种亚硝基脲偶联。亚硝基脲是脂溶性的烷化剂的子类。代表性实例包括但不限于卡莫司汀(BCNU[也称为BiCNU、N,N-双(2-氯乙基)-N-亚硝基脲、或1,3-双(2-氯乙基)-1-亚硝基脲]、百时美施贵宝(Bristol-Myers Squibb))、福莫司汀(也称为武活龙(Muphoran)、洛莫司汀(CCNU或1-(2-氯-乙基)-3-环己基-1-亚硝基脲、百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb))、尼莫司汀(也称为ACNU)和链脲佐菌素(扎诺萨(Zanosar),梯瓦制药公司(TevaPharmaceuticals))。

[1715] d.三嗪和肼

[1716] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种三嗪或肼偶联。三嗪和肼是含氮烷化剂的子类。在一些实施例中,这些化合物自发分解或可以代谢产生烷基重氮中间体,其促进烷基转移至核酸、肽和/或多肽,从而引起诱变、致癌或细胞毒性作用。代表性实例包括但不限于达卡巴嗪(DTIC-Dome,拜耳保健制药有限公司(Bayer Healthcare Pharmaceuticals Inc.)),丙卡巴肼(木塔伦(Mutalane)、希格玛托制药有限公司(Sigma-Tau Pharmaceuticals Inc.))和替莫唑胺(Temodar,加拿大先灵葆雅公司(Schering Plough))。

[1717] e.其他烷化剂

[1718] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种乙烯亚胺、甲胺衍生物或环氧化物偶联。乙烯亚胺是烷化剂的子类,其通常含有至少一个氮丙啶环。环氧化物代表烷化剂的子类,其特征在于仅具有三个环原子的环醚。

[1719] 乙烯亚胺的代表性实例包括但不限于硫喷妥钠(思伯雷(Thioplex),安进公司(Amgen))、二喹吖嗪(也称为氮丙啶基苯醌(AZQ))和丝裂霉素C。丝裂霉素C是含有氮丙啶环的天然产物,并似乎通过交联DNA诱导细胞毒性(Dorr RT等人CancerRes.[癌症研究]1985;45:3510;Kennedy KA等人,Cancer Res.[癌症研究]1985;45:3541)。甲胺衍生物及其类似物的代表性实例包括但不限于澳促瑞民(altreremine)(克瘤灵,MGI制药公司(MGI Pharma,Inc.)),其也称为六甲胺和六甲密胺。这类抗癌化合物的环氧化物的代表性实例包括但不限于二脱水半乳糖醇。二脱水半乳糖醇(1,2:5,6-二脱水卫茅醇)与氮丙啶化学相关,并且通常通过如上所述的类似机制促进烷基的转移。二溴卫茅醇水解成二脱水半乳糖醇,因此是环氧化物的前药(Sellei C等人Cancer ChemotherRep.[癌症化疗报告]969;53:377)。

[1720] 6.抗血管生成剂

[1721] 一方面,本文所述的抗B7-H3抗体与至少一种抗血管生成剂偶联。抗血管生成剂抑制新血管的生长。抗血管生成剂以多种方式发挥作用。在一些实施例中,这些药剂干扰生长

因子达到其靶标的能力。例如，血管内皮生长因子(VEGF)是通过与细胞表面上的特定受体结合而参与启动血管生成的主要蛋白质之一。因此，某些阻止VEGF与其同源受体相互作用的抗血管生成剂阻止VEGF启动血管生成。在其他实施例中，这些药剂干扰细胞内信号传导级联。例如，一旦细胞表面上的特定受体被触发，就会启动一系列其他化学信号以促进血管的生长。因此，已知促进有助于例如细胞增殖的细胞内信号级联的某些酶(例如一些酪氨酸激酶)是癌症治疗的靶标。在其他实施例中，这些药剂干扰细胞间信号传导级联。然而，在其他实施例中，这些药剂可以禁用激活和促进细胞生长的特定靶标或直接干扰血管细胞生长。已经在超过300种具有许多直接和间接抑制作用的物质中发现了血管生成抑制特性。

[1722] 可用于本发明的ADC的抗血管生成剂的代表性实例包括但不限于血管抑制素、ABX EGF、C1-1033、PKI-166、EGF疫苗、EKB-569、GW2016、ICR-62、EMD 55900、CP358、PD153035、AG1478、IMC-C225(Erbitux，ZD1839(易瑞沙)、OSI-774、厄洛替尼(得舒缓(tarceva))、血管抑制素、抑制蛋白、内皮抑素、BAY 12-9566和w/氟尿嘧啶或多柔比星、血管能抑素、羧基酰胺三唑和紫杉醇、EMD121974、S-24、维生素B、二甲基吨酮乙酸、IM862、白细胞介素-12、白细胞介素-2、NM-3、HuMV833、PTK787、RhuMab、血管酶(核酶)、IMC-1C11、癌立消、马瑞斯塔(marimstat)、普马司他，BMS-275291、COL-3、MM1270、SU101、SU6668、SU11248、SU5416、含紫杉醇、吉西他滨和顺铂、伊立替康和顺铂、辐射、替可加兰、替莫唑胺和PEG干扰素α2b、四硫代钼酸盐、TNP-470、沙利度胺、CC-5013和多西他赛、肿瘤抑素、2-甲氧基雌二醇、VEGF陷阱、mTOR抑制剂(雷帕霉素、依维莫司(癌伏妥，诺华制药集团(Novartis Pharmaceutical Corporation))和替西罗莫司(Torisel，辉瑞公司(Pfizer，Inc.))、激酶抑制剂(例如厄洛替尼(得舒缓(Tarceva)，基因泰克公司(Genentech，Inc.))、伊马替尼(格列卫(Gleevec)，诺华制药集团(Novartis Pharmaceutical Corporation))、吉非替尼(易瑞沙，阿斯利康制药(AstraZeneca Pharmaceuticals))、达沙替尼(施达赛(Sprycel)，百时美施贵宝(Brystol-Myers Squibb))、舒尼替尼(舒癌特(Sutent)，辉瑞公司(Pfizer，Inc.))、尼罗替尼(泰息安，诺华制药集团(Novartis Pharmaceutical Corporation))、拉帕替尼(泰克博(Tykerb)，葛兰素史克制药公司(GlaxoSmithKline Pharmaceuticals))、索拉非尼(尼卡瓦(Nexavar)，拜耳和欧尼克斯制药公司(Bayer and Onyx))、磷酸肌醇3-激酶(PI3K)、奥斯替尼(Osimertinib)、考比替尼(Cobimetinib)、曲美替尼(Trametinib)、达拉菲尼(Dabrafenib)、狄纳西比(Dinaciclib)。

[1723] 7.抗代谢物

[1724] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种抗代谢物偶联。抗代谢药是一类化学疗法治疗剂，与细胞内的正常物质非常相似。当细胞将抗代谢物掺入细胞代谢中时，结果对细胞是负面的，例如，细胞不能分裂。抗代谢物根据它们干扰的物质进行分类。可用于本发明的ADC的抗代谢物的实例包括但不限于如下文更详细描述的叶酸拮抗剂(例如，甲氨蝶呤)、嘧啶拮抗剂(例如，5-氟尿嘧啶、福达华(Fludara)、阿糖胞苷、卡培他滨)和吉西他滨(Gemcitabine)、嘌呤拮抗剂(例如，6-巯基嘌呤和6-硫鸟嘌呤)和腺苷脱氨酶抑制剂(例如，克拉屈滨、氟达拉滨、奈拉滨(Nelarabine)和喷司他汀)。

[1725] a.抗叶酸剂

[1726] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种抗叶酸剂偶联。抗叶酸剂是抗代谢物的子类，其在结构上类似于叶酸。代表性实例包括但不限于甲氨蝶呤、4-氨基叶酸(也称为氨基

蝶呤和4-氨基蝶呤)、洛美沙星(LMTX)、培美曲塞(艾琳塔(Alimpta),美国礼来公司(Eli Lilly and Company))和三甲氧喋呤(纽簇克新(Neutrexin),本位实验室公司(Ben Venue Laboratories,Inc.))

[1727] b.嘌呤拮抗剂

[1728] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种嘌呤拮抗剂偶联。嘌呤类似物是抗代谢物的子类,其在结构上类似于已知为嘌呤的化合物组。嘌呤拮抗剂的代表性实例包括但不限于硫唑嘌呤(安杂萨(Azasan),萨利克(Salix);咪唑硫嘌呤(Imuran)、葛兰素史克制药公司(GlaxoSmithKline Pharmaceuticals))、克拉屈滨(克拉屈滨注射液[也称为2-CdA]、詹森生物技术公司(Janssen Biotech,Inc.))、巯基嘌呤(普因索(Purinethol)[也称为6-巯基乙醇],葛兰素史克制药公司(GlaxoSmithKline Pharmaceuticals))、氟达拉滨、(福达华(Fludara),健赞公司(Genzyme Corporation))、喷司他汀(尼喷他(Nipent),也称为2'-脱氧同型霉素(DCF)),6-硫鸟嘌呤(兰快舒[也称为thioguanine],葛兰素史克制药公司(GlaxoSmithKline Pharmaceuticals))。

[1729] c.嘧啶拮抗剂

[1730] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种嘧啶拮抗剂偶联。嘧啶拮抗剂是抗代谢物的子类,其在结构上类似于已知为嘌呤的化合物组。嘧啶拮抗剂的代表性实例包括但不限于阿扎胞苷(维达扎(Vidaza),新基生物制药公司(Celgene Corporation))、卡培他滨(希罗达(Xeloda),罗氏实验室公司(Roche Laboratories))、阿糖胞苷(也称为胞嘧啶阿拉伯糖苷和阿拉伯糖基胞嘧啶,贝德福德实验室(Bedford Laboratories))、地西他滨(达克金(Dacogen),卫材制药公司(Eisai Pharmaceuticals))、5-氟尿嘧啶(Adrucil,梯瓦制药公司(Teva Pharmaceuticals);Efudex,万兰特制药公司(Valeant Pharmaceuticals,Inc)),5-氟-2'-脱氧尿苷5'-磷酸(FdUMP),5-氟尿苷三磷酸和吉西他滨(健择(Gemzar),美国礼来公司(Eli Lilly and Company))。

[1731] 8.含硼剂

[1732] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种含硼剂偶联。含硼剂包括一类干扰细胞增殖的癌症治疗化合物。含硼剂的代表性实例包括但不限于硼磷蛋白和硼替佐米(万珂(Velcade),千年制药公司(Millenium Pharmaceuticals))。

[1733] 9.化学保护剂

[1734] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种化学保护剂偶联。化学保护药物是一类化合物,其有助于保护身体免受化疗的特定毒性作用。化学保护剂可以与各种化学疗法一起给予,以保护健康细胞免受化疗药物的毒性作用,同时允许癌细胞被给予的化学治疗剂治疗。代表性的化学保护剂包括但不限于氨磷汀(阿米福汀(Ethyol),医学免疫公司(Medimmune,Inc.))(其用于降低与累积剂量的顺铂、右丙亚胺相关的肾毒性),用于治疗由给予蒽环霉素引起的外渗,以及用于治疗由抗肿瘤抗生素多柔比星(Zinecard)和美司纳(mesna)(美司纳(Mesnex),百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb))(其用于预防用ifocfamide化疗治疗期间的出血性膀胱炎)给药引起的心脏相关并发症。

[1735] 10.激素剂

[1736] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种激素剂偶联。激素剂(包括合成激素)是一种干扰内源性系统内源性产生的激素的产生或活性的化合物。在一些实施例中,这些化合

物干扰细胞生长或产生细胞毒性作用。非限制性实例包括雄激素，雌激素，醋酸甲羟孕酮(甲孕酮(Provera)，辉瑞公司(Pfizer,Inc.))和孕激素。

[1737] 11.抗激素剂

[1738] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种抗激素剂偶联。“抗激素”剂是抑制某些内源激素的产生和/或阻止某些内源激素功能的试剂。在一个实施例中，抗激素剂干扰选自雄激素、雌激素、黄体酮和促性腺激素释放激素的激素的活性，从而干扰各种癌细胞的生长。抗激素剂的代表性实例包括但不限于氨基乙酰亚胺，阿那曲唑(安美达锭，阿斯利康制药(AstraZeneca Pharmaceuticals))、比卡鲁胺(康士得，阿斯利康制药(AstraZeneca Pharmaceuticals))、醋酸环丙孕酮(Cyprostat，拜耳制药公司(BayerPLC))、地加瑞克(Firmagon，辉凌制药公司(Ferring Pharmaceuticals))、依西美坦(阿诺新，辉瑞公司(Pfizer,Inc.))、氟他胺(Drogenil，先灵葆雅公司(Schering-Plough Ltd))，氟维司群(法洛德，阿斯利康制药(AstraZeneca Pharmaceuticals))、戈舍瑞林(Zolodex，阿斯利康制药(AstraZeneca Pharmaceuticals))、来曲唑(弗隆，诺华制药集团(Novartis Pharmaceutical Corporation))、亮丙瑞林(Prostap)、醋酸亮丙瑞林、醋酸甲羟孕酮(甲孕酮(Provera)，辉瑞公司(Pfizer,Inc.))、醋酸甲地孕酮(美可治，百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb)Company)、他莫昔芬(Nolvadex，阿斯利康制药(AstraZeneca Pharmaceuticals))和曲普瑞林(Decapetyl，辉凌制药公司)。

[1739] 12.皮质类固醇

[1740] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种皮质类固醇偶联。皮质类固醇可用于本发明的ADC中以减少炎症。皮质类固醇的实例包括但不限于糖皮质激素，例如泼尼松(Deltasone，法玛西亚&安琼公司(Pharmacia&Upjohn Company)(辉瑞公司(Pfizer,Inc.)的分部))。

[1741] 13.光活性治疗剂

[1742] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种光活性治疗剂偶联。光活性治疗剂包括可以用于在暴露于特定波长的电磁辐射后杀死处理过的细胞的化合物。治疗相关化合物吸收穿透组织的波长的电磁辐射。在优选的实施例中，化合物以无毒形式给药，其充分激活后能够产生对细胞或组织的毒性。在其他优选的实施例中，这些化合物被癌组织保留并且容易从正常组织中清除。非限制性实例包括各种发色团和染料。

[1743] 14.寡核苷酸

[1744] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种寡核苷酸偶联。寡核苷酸由短核酸链组成，其通过干扰遗传信息的处理而起作用。在一些实施例中，用于ADC的寡核苷酸是未修饰的单链和/或双链DNA或RNA分子，而在其他实施例中，这些治疗性寡核苷酸是化学修饰的单链和/或双链DNA或RNA分子。在一个实施例中，ADC中使用的寡核苷酸相对较短(19-25个核苷酸)并与细胞中存在的核酸靶标总库中的独特核酸序列杂交。一些重要的寡核苷酸技术包括反义寡核苷酸(包括RNA干扰(RNAi))、适体、CpG寡核苷酸和核酶。

[1745] a.反义寡核苷酸

[1746] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种反义寡核苷酸偶联。设计反义寡核苷酸以通过沃森-克里克杂交与RNA结合。在一些实施例中，反义寡核苷酸与编码B7-H3的区域、结构域、部分或区段的核苷酸互补。在一些实施例中，反义寡核苷酸包含约5至约100个核苷

酸,约10至约50个核苷酸,约12至约35个核苷酸和约18至约25个核苷酸。在一些实施例中,寡核苷酸与B7-H3基因的区域、部分、结构域或区段具有至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%,至少99%或至少100%同源性。在一些实施例中,在B7-H3基因的至少15、20、25、30、35、40、50或100个连续核苷酸上存在实质性的序列同源性。在优选的实施例中,这些反义寡核苷酸的大小长度为12至25个核苷酸,大多数反义寡核苷酸的长度为18至21个核苷酸。一旦寡核苷酸与靶RNA结合,就可以利用多种机制来抑制RNA的功能(Crooke ST.(1999).Biochim.Biophys.Acta[生物化学及生物物理学报],1489,30-42)。最佳表征的反义机制导致内源细胞核酸酶(例如RNase H或与RNA干扰机制相关的核酸酶)裂解靶向的RNA。然而,通过非催化机制(例如剪接或翻译停滞的调节)抑制靶基因表达的寡核苷酸也可以是基因功能的有效和选择性调节剂。

[1747] 最近受到关注的另一种RNase依赖性反义机制是RNAi(Fire等人,(1998).Nature[自然],391,806-811.;Zamore PD.(2002).Science[科学],296,1265-1269.)。RNA干扰(RNAi)是转录后过程,其中双链RNA以序列特异性方式抑制基因表达。在一些实施例中,通过引入相对较长的双链RNA(dsRNA)实现RNAi效应,而在优选的实施例中,通过引入较短的双链RNA(例如小干扰RNA(siRNA)和/或微小RNA(miRNA))实现该RNAi效应。在另一个实施例中,RNAi也可以通过引入产生与靶基因互补的dsRNA的质粒来实现。在每个前述实施例中,设计双链RNA以干扰细胞内特定靶序列的基因表达。通常,该机制涉及将dsRNA转化为短RNA,其将核糖核酸酶引导至同源mRNA靶标(汇总的,Ruvkun,Science[科学]2294:797(2001)),然后降解相应的内源mRNA,从而导致基因表达的调节。值得注意的是,据报道dsRNA具有抗增殖特性,这使得也可以设想治疗应用(Aubel等人,Proc.Natl.Acad.Sci.[美国国家科学院院刊],USA 88:906(1991))。例如,已经显示合成的dsRNA抑制小鼠中的肿瘤生长(Levy等人,Proc.Nat.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊],62:357-361(1969)),在白血病小鼠的治疗中具有活性(Zeleznick等人,Proc.Soc.Exp.Biol.Med.[实验生物学和医学学会会刊]130:126-128(1969)),并抑制小鼠皮肤中化学诱导的肿瘤发生(Gelboin等人,Science[科学]167:205-207(1970))。因此,在优选的实施例中,本发明提供了在ADC中用于治疗乳腺癌的反义寡核苷酸的用途。在其他实施例中,本发明提供了用于启动反义寡核苷酸治疗的组合物和方法,其中dsRNA在mRNA水平上干扰B7-H3的靶细胞表达。如上所用,dsRNA是指天然存在的RNA,部分纯化的RNA,重组产生的RNA,合成RNA,以及通过包含非标准核苷酸、非核苷酸材料、核苷酸类似物(例如锁核酸(LNA))、脱氧核糖核苷酸而与天然存在的RNA不同的改变的RNA及其任何组合。本发明的RNA仅需要与天然RNA足够相似,以使其具有介导本文所述的基于反义寡核苷酸的调节的能力。

[1748] b.适体

[1749] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种适体偶联。适体是基于其结合其他分子的能力从随机库中选择的核酸分子。与抗体一样,适体可以以优异的亲和力和特异性结合靶分子。在许多实施例中,适体呈现复杂的,序列依赖性的三维形状,其允许它们与靶蛋白相互作用,产生类似于抗体-抗原相互作用的紧密结合的复合物,从而干扰所述蛋白的功能。适体与其靶蛋白紧密并且特异结合的特定能力强调了它们作为靶向分子治疗剂的潜力。

[1750] c.CpG寡核苷酸

[1751] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种CpG寡核苷酸偶联。已知细菌和病毒DNA是

人内在和特异性免疫的强激活剂。这些免疫学特征与细菌DNA中发现的未甲基化的CpG二核苷酸基序有关。由于这些基序在人中是罕见的，人类免疫系统已经进化出将这些基序识别为感染的早期指示并随后引发免疫应答的能力。因此，可以利用含有该CpG基序的寡核苷酸来启动抗肿瘤免疫应答。

[1752] d.核酶

[1753] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种核酶偶联。核酶是催化性RNA分子，长度范围为约40至155个核苷酸。核酶识别和裂解特定RNA分子的能力使它们成为治疗剂的潜在候选者。代表性实例包括血管酶(angiozyme)。

[1754] 15.放射性核素剂(放射性同位素)

[1755] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种放射性核素剂偶联。放射性核素剂包括以不稳定的核为特征的试剂，其能够发生放射性衰变。成功放射性核素治疗的基础取决于癌细胞的放射性核素的足够浓度和长期保留。其他需要考虑的因素包括放射性核素半衰期，发射粒子的能量以及发射粒子可以传播的最大范围。在优选的实施例中，治疗剂是选自下组的放射性核素，该组由以下组成：^{111}In、^{177}Lu、^{212}Bi、^{213}Bi、^{211}At、^{62}Cu、^{64}Cu、^{67}Cu、^{90}Y、^{I25}I、^{I31}I、^{32}P、^{33}P、^{47}Sc、^{111}Ag、^{67}Ga、^{142}Pr、^{153}Sm、^{161}Tb、^{166}Dy、^{166}Ho、^{186}Re、^{188}Re、^{189}Re、^{212}Pb、^{223}Ra、^{225}Ac、^{59}Fe、^{75}Se、^{77}As、^{89}Sr、^{99}Mo、^{105}Rh、^{I09}Pd、^{143}Pr、^{149}Pm、^{169}Er、^{194}Ir、^{198}Au、^{199}Au、和^{211}Pb。还优选的是放射性核素，其基本上用发射俄歇的颗粒衰变。例如，Co-58、Ga-67、Br-80m、Tc-99m、Rh-103m、Pt-109、In-1111、Sb-119、I-125、Ho-161、Os-189m和Ir-192。有用的β粒子发射核素的衰变能量优选为Dy-152、At-211、Bi-212、Ra-223、Rn-219、Po-215、Bi-211、Ac-225、Fr-221、At-217、Bi-213和Fm-255。有用的α粒子发射放射性核素的衰变能量优选为2,000keV-10,000keV，更优选为3,000keV-8,000keV，最优选为4,000keV-7,000keV。所用的另外的可能放射性同位素包括^{11}C、^{13}N、^{15}O、^{75}Br、^{198}Au、^{224}Ac、^{126}I、^{133}I、^{77}Br、^{113m}In、^{95}Ru、^{97}Ru、^{I03}Ru、^{105}Ru、^{107}Hg、^{203}Hg、^{121m}Te，^{122m}Te、^{125m}Te、^{165}Tm、^{I67}Tm、^{168}Tm、^{197}Pt、^{109}Pd、^{105}Rh、^{142}Pr、^{143}Pr、^{161}Tb、$^{!66}$Ho、^{199}Au、^{57}Co、^{58}Co、^{51}Cr、^{59}Fe、^{75}Se、^{201}Tl、^{225}Ac、^{76}Br、^{I69}Yb等。

[1756] 16.放射增敏剂

[1757] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种放射增敏剂偶联。如本文所用，术语“放射增敏剂”定义为以治疗有效量给予动物的分子，优选低分子量分子，以增加待放射增敏的细胞对电磁辐射的敏感性和/或促进可用电磁辐射治疗的疾病的治疗。放射增敏剂是使癌细胞对放射疗法更敏感同时通常对正常细胞的影响小得多的药剂。因此，放射增敏剂可以与放射性标记的抗体或ADC组合使用。与单独用放射性标记的抗体或抗体片段处理相比时，添加放射增敏剂可以提高效力。放射增敏剂描述于D.M.Goldberg(ed.)，Cancer Therapy with Radiolabeled Antibodies[采用放射性激光抗体的癌症疗法]，CRC出版社(1995)。放射增敏剂的实例包括吉西他滨、5-氟尿嘧啶、紫杉烷和顺铂。

[1758] 放射增敏剂可以通过X射线的电磁辐射激活。X射线激活的放射增敏剂的代表性实例包括但不限于以下：甲硝唑、咪唑、去甲基咪唑、噻菌唑、乙炔唑、尼莫拉唑、丝裂霉素C、RSU 1069、SR 4233、E09、RB 6145、烟酰胺、5-溴脱氧尿苷(BUdR)、5-碘脱氧尿苷(IUdR)、溴脱氧胞苷、氟脱氧尿苷(FUdR)、羟基脲、顺铂、及其治疗有效的类似物和衍生物。可替代地，可以使用光动力疗法(PDT)激活放射增敏剂。光动力放射增敏剂的代表性实例包括但不限于血卟啉衍生物、光卟啉(r)、苯并卟啉衍生物、NPe6、锡初卟啉(SnET2)、福波必德a

(pheoborbide a)、细菌叶绿素a、萘酞菁、酞菁、锌酞菁和治疗有效的类似物和其衍生物。

[1759] 16.拓扑异构酶抑制剂

[1760] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种拓扑异构酶抑制剂偶联。拓扑异构酶抑制剂是设计用于干扰拓扑异构酶(拓扑异构酶I和II)作用的化学治疗剂,拓扑异构酶是通过在正常细胞周期中催化然后破坏和重新连接DNA链的磷酸二酯骨架来控制DNA结构变化的酶。DNA拓扑异构酶I抑制剂的代表性实例包括但不限于喜树碱及其衍生物伊立替康(CPT-11、伊立替康,辉瑞公司(Pfizer,Inc.))和托泊替康(美新(Hycamtin)、葛兰素史克制药公司(GlaxoSmithKline Pharmaceuticals))。DNA拓扑异构酶II抑制剂的代表性实例包括但不限于安吖啶、柔红霉素、多柔比星、表鬼臼毒素、玫瑰树碱、表柔比星、依托泊苷、丙亚胺和替尼泊苷。

[1761] 17.激酶抑制剂

[1762] 本发明的抗B7-H3抗体可以与至少一种激酶抑制剂偶联。通过阻断蛋白激酶起作用的能力,抑制肿瘤生长。可用于本发明的ADC的激酶抑制剂的实例包括但不限于阿西替尼、博舒替尼、西地尼布、达沙替尼、埃罗替尼、吉非替尼、伊马替尼、拉帕替尼、来他替尼、尼罗替尼、司马沙尼、舒尼替尼、奥斯替尼、考比替尼、曲美替尼,达拉菲尼,迪那西利(dinaciclib)和凡德他尼。

[1763] 18.其他药剂

[1764] 可用于本发明的ADC的其他药剂的实例包括但不限于红豆因(例如红豆因A链)、α毒素、油桐蛋白(Aleurites fordii proteins)、鹅膏毒素、巴豆毒素、麻疯树毒蛋白、香石竹毒蛋白、白喉毒素(例如,白喉A链和非结合的白喉毒素活性片段)、脱氧核糖核酸酶(Dnase)、白树毒素、分裂素(mitogellin)、莫迪素A链(modeccin A chain)、苦瓜苦参碱抑制剂、新霉素、豹蛙酶、酚霉素、美洲商陆蛋白(Phytolaca americana protein)(PAPI、PAPII和PAP-S)、商陆抗病毒蛋白、假单胞菌内毒素、假单胞菌外毒素(例如外毒素A链(来自铜绿假单胞菌))、限制素、蓖麻毒素A链、核糖核酸酶(Rnase)、肥皂草抑制剂、皂草素、α-八叠球菌、葡萄球菌肠毒素-A、破伤风毒素、顺铂、卡铂和奥沙利铂(乐沙定,赛诺菲-安万特制药公司(Sanofi Aventis))、蛋白酶体抑制剂(例如PS-341[硼替佐米或万珂])、HDAC抑制剂(伏立诺他(左林扎(Zolinza),默克公司(Merck&Company)))、贝利司他、恩替诺特、莫塞汀司他(mocetinostat)和帕比司他)、COX-2抑制剂、取代的脲、热休克蛋白抑制剂(例如格尔德霉素及其众多类似物)、肾上腺皮质抑制剂、和三萜。(参见,例如,WO 93/21232)。其他药剂还包括天冬酰胺酶(Espar,灵北公司(Lundbeck Inc.))、羟基脲,左旋咪唑,米托坦(Lysodren,百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb))和维甲酸(Renova,万兰特制药公司(ValeantPharmaceuticals Inc.))。

[1765] III.C.抗B7-H3 ADC:其他示例性接头

[1766] 除了上述接头外,其他示例性接头包括但不限于6-马来酰亚胺基己酰基,马来酰亚胺丙酰基(“MP”)、缬氨酸-瓜氨酸(“val-cit”或“vc”)、丙氨酸-苯丙氨酸(“ala-phe”)、对氨基苄氧基羰基(“PAB”)、N-琥珀酰亚胺基4-(2-吡啶硫基)戊酸酯(“SPP”)和4-(N-马来酰亚胺甲基)环己烷-1甲酸酯(“MCC”)。

[1767] 一方面,抗B7-H3抗体通过包含马来酰亚胺己酰基(mc)、缬氨酸瓜氨酸(val-cit或vc)和PABA的接头(称为mc-vc-PABA链接头)与药物(例如澳瑞他汀,例如MMAE)偶联。马来酰

亚胺己酰基充当抗B7-H3抗体的接头并且不可裂解。Val-cit是一种二肽，它是接头的氨基酸单元，并且允许通过蛋白酶特别是蛋白酶组织蛋白酶B裂解接头。因此，接头的val-cit组分提供了暴露在细胞内环境后从ADC释放澳瑞他汀的手段。在接头内，对氨基苄醇(PABA)充当间隔子并且是自消的，其允许释放MMAE。mc-vc-PABA-MMAE接头的结构如图3所示。

[1768] 如上所述，合适的接头包括例如可裂解和不可裂解的接头。接头可以是“可裂解的接头”，促进药物的释放。非限制性示例性可裂解接头包括酸不稳定接头(例如，包含腙)、蛋白酶敏感性(例如，肽酶敏感性)接头、光不稳定接头或含二硫化物的接头(Chari等人，Cancer Research[癌症研究]52:127-131(1992)；美国专利号5,208,020)。可裂解的接头通常易于在细胞内条件下裂解。合适的可裂解接头包括，例如，可被细胞内蛋白酶例如溶酶体蛋白酶或内体蛋白酶裂解的肽接头。在示例性实施例中，接头可以是二肽接头，例如缬氨酸-瓜氨酸(val-cit)或苯丙氨酸-赖氨酸(phe-lys)接头。

[1769] 接头优选以足够地治疗上有效的方式在细胞外稳定。在运输或递送到细胞中之前，ADC优选是稳定的并且保持完整，即抗体保持与药物部分偶联。一旦在细胞内，在靶细胞外稳定的接头可以以某一有效速率裂解。因此，有效的接头将：(i)维持抗体的特异性结合特性；(ii)允许药物部分的例如细胞内递送；(iii)保持药物部分的治疗效果，例如细胞毒性作用。

[1770] 在一个实施例中，接头在细胞内条件下是可裂解的，使得接头的裂解在细胞内环境中从抗体中充分释放药物以治疗上有效。在一些实施例中，可裂解接头是pH敏感的，即，在某些pH值下对水解敏感。通常，pH敏感性接头在酸性条件下是可水解的。例如，可以使用在溶酶体中可水解的酸不稳定性接头(例如，腙、缩氨基脲、缩氨基硫脲、顺-乌头酰胺、原酸酯、乙缩醛、缩酮等)。(参见，例如美国专利号5,122,368；5,824,805；5,622,929；Dubowchik和Walker,1999,Pharm.Therapeutics[药理学与治疗学]83:67-123；Neville等人,1989,Biol.Chem.[生物化学]264:14653-14661。)这样的接头在中性pH条件(如在血液中的那些)下相对稳定，但在低于pH 5.5或5.0(其与溶酶体的pH值近似)时不稳定。在某些实施例中，可水解的接头是硫醚接头(例如，通过酰腙键与治疗剂连接的硫醚)(参见，例如，美国专利号5,622,929)。

[1771] 在其他实施例中，该接头在还原条件下为可裂解的(例如，二硫化物接头)。本领域中已知多种二硫化物接头，包括例如，可以使用SATA(N-琥珀酰亚胺基-5-乙酰基硫代乙酸酯)、SPDP(N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯)、SPDB(N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丁酸酯)及SMPT(N-琥珀酰亚胺基-氧基羰基-α-甲基-α-(2-吡啶基-二硫代)甲苯)、SPDB和SMPT形成的那些。(参见例如，Thorpe等人,1987,Cancer Res.[癌症研究]47:5924-5931；Wawrzynczak等人,In Immunoconjugates:Antibody Conjugates in Radioimagery and Therapy of Cancer[在免疫偶联物中:放射成像和癌症治疗中的抗体偶联物](C.W.Vogel编,Oxford U.Press,1987.还参见美国专利号4,880,935)。

[1772] 在一些实施例中，接头可被裂解剂(例如酶)裂解，所述裂解剂存在于细胞内环境中(例如，在溶酶体或内体或细胞膜穴样内陷内)。该接头可以为一种肽基接头，它被细胞内的肽酶或蛋白酶(包括但不限于，溶酶体或核内体蛋白酶)裂解。在一些实施例中，该肽基接头为至少两个氨基酸长或至少三个氨基酸长。裂解剂可以包括组织蛋白酶B和D及纤溶酶，已知它们都水解二肽药物衍生物，在靶细胞内部引起活性药物的释放(例如，参见

Dubowchik和Walker,1999,Pharm.Therapeutics[药学疗法]83:67-123)。最典型的是肽基接头,其可被存在于表达B7-H3的细胞中的酶裂解。这种接头的实例描述于例如在美国专利号6,214,345中,其全部内容并入本文作为参考。在特定实施例中,可由细胞内的蛋白酶裂解的肽基接头为Val-Cit接头或Phe-Lys接头(参见,例如美国专利号6,214,345,其描述了具有val-cit接头的多柔比星)。使用治疗剂的细胞内蛋白水解释放的一个优点是当偶联时药剂典型地减弱,并且偶联物的血清稳定性通常很高。

[1773] 在其他实施例中,该接头是丙二酸酯接头(Johnson等人,1995,Anticancer Res.[抗癌研究]15:1387-93)、马来酰亚胺苯甲酰基接头(Lau等人,1995,Bioorg-Med-Chem.[生物有机化学与医药化学]3(10):1299-1304)、或3'-N-酰胺类似物(Lau等人,1995,Bioorg-Med-Chem.[生物有机化学与医药化学]3(10):1305-12)。

[1774] 在其他实施例中,接头单元不可裂解,并且例如通过抗体降解释放药物。参见美国公开号20050238649,其全部内容通过引用并入本文。可以设计包含不可裂解接头的ADC,使得ADC基本上保持在细胞外并与靶细胞表面上的某些受体相互作用,使得ADC的结合启动(或阻止)特定的细胞信号传导途径。

[1775] 在一些实施例中,接头是基本上亲水的接头(例如,PEG4Mal和sulfo-SPDB)。亲水性接头可用于降低药物通过MDR(多重耐药性)或功能相似的转运蛋白从抗性癌细胞中泵出的程度。

[1776] 在其他实施例中,在裂解后,接头起到直接或间接抑制细胞生长和/或细胞增殖的作用。例如,在一些实施例中,接头在裂解后可以起嵌入剂的作用,从而抑制大分子生物合成(例如DNA复制,RNA转录和/或蛋白质合成)。

[1777] 在其他实施例中,接头被设计为通过接头-药物和/或药物单独扩散到相邻细胞来促进旁观者杀伤(杀伤相邻细胞)。在其他实施例中,接头促进细胞内化。

[1778] 空间位阻二硫化物的存在可以增加特定二硫键的稳定性,增强ADC的效力。因此,在一个实施例中,接头包括空间位阻的二硫键。空间位阻二硫化物是指存在于特定分子环境中的二硫键,其中环境的特征在于通常在同一分子或化合物内的原子的特定空间排列或取向,其防止或至少部分地抑制二硫键的还原。因此,邻近二硫键的大体积(或空间阻碍)化学部分和/或大体积氨基酸侧链的存在防止或至少部分地抑制二硫键的可能导致二硫键还原的相互作用。

[1779] 值得注意的是,上述接头类型不是互斥的。例如,在一个实施例中,本文所述的抗B7-H3 ADC中使用的接头是促进细胞内化的不可裂解的接头。

[1780] 在一些实施例中,接头组件包含"抗体单元",其将抗体与另一个接头组分或药物部分连接。美国专利8,309,093中描述的示例性担架单元(stretcherunit),在此引入作为参考。在某些实施例中,担架单元通过抗B7-H3抗体单元的硫原子和担架单元(stretcherunit)的硫原子之间的二硫键与抗B7-H3抗体连接。该实施例的代表性担架单元描述于U.S.8,309,093,在此引入作为参考。在其他实施例中,担架含有可与抗体的伯氨基或仲氨基形成键的反应性位点。这些反应位点的实例包括但不限于活化酯,如琥珀酰亚胺酯、4-硝基苯酯、五氟苯酯、四氟苯酯、酸酐、酰氯、磺酰氯化、异氰酸酯和异硫氰酸酯。该实施例的代表性担架单元描述于U.S.8,309,093,在此引入作为参考。

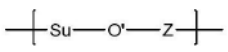
[1781] 在一些实施例中,担架含有对可以存在于抗体上的修饰的碳水化合物(-CHO)基团

具有反应性的反应性位点。例如，使用诸如高碘酸钠的试剂可以温和地氧化碳水化合物，并且所得的氧化碳水化合物的(-CHO)单元可以与包含诸如酰肼、肟、伯或仲胺、肼、缩氨基硫脲、肼羧酸盐和芳基酰肼(例如Kaneko等人，1991，Bioconjugate Chem.[生物共轭化学]2:133-41中描述的)的官能度的担架缩合。该实施例的代表性担架单元描述于U.S.8,309,093，在此引入作为参考。

[1782] 在一些实施例中，接头组分包含“氨基酸单元”。在一些这样的实施例中，氨基酸单元允许蛋白酶裂解接头，从而在暴露于细胞内蛋白酶如溶酶体酶时促进药物从免疫偶联物中释放(Doronina等人(2003)Nat.Biotechnol.[自然生物技术]21:778-784)。示例性氨基酸单元包括但不限于二肽，三肽，四肽和五肽。示例性的二肽包括但不限于缬氨酸-瓜氨酸(vc或val-cit)、丙氨酸-苯丙氨酸(af或ala-phe)；苯丙氨酸-赖氨酸(fk或phe-lys)；苯丙氨酸-高赖氨酸(phe-homolys)；和N-甲基-缬氨酸-瓜氨酸(Me-val-cit)。示例性的三肽包括但不限于甘氨酸-缬氨酸-瓜氨酸(gly-val-cit)和甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(gly-gly-gly)。氨基酸单元可以包含天然存在的氨基酸残基和/或次要氨基酸和/或非天然存在的氨基酸类似物，例如瓜氨酸氨基酸单元可以被设计和优化用于特定酶的酶促裂解，例如，肿瘤相关蛋白酶，组织蛋白酶B、C和D，或纤溶酶蛋白酶。

[1783] 在一个实施例中，氨基酸单元是缬氨酸-瓜氨酸(vc或val-cit)。另一方面，氨基酸单元是苯丙氨酸-赖氨酸(即，fk)。在氨基酸单元的另一个方面，氨基酸单元是N-甲基缬氨酸-瓜氨酸。在另一个方面，氨基酸单元是5-氨基戊酸、高苯丙氨酸赖氨酸、四异喹啉羧酸赖氨酸、环己基丙氨酸赖氨酸、异哌啶甲酸赖氨酸、β-丙氨酸赖氨酸、甘氨酸丝氨酸缬氨酸谷氨酰胺和异哌啶酸。

[1784] 可替代地，在一些实施例中，氨基酸单元被葡糖苷酸单元替代，如果存在担架和间隔子单元，则该葡糖苷酸单元将担架单元连接到间隔子单元，如果不存在间隔子单元，则该葡糖苷酸单元将担架单元连接到药物部分，和如果不存在担架和间隔子单元，则该葡糖苷酸单元将接头单元与药物连接。葡糖苷酸单元包括可被β-葡糖醛酸糖酶裂解的位点(也参见US 2012/0107332，通过引用并入本文)。在一些实施例中，葡糖苷酸单元包含通过糖苷键(-O'-)与如下所示的式的自消基团(Z)连接的糖部分(Su)(还参见US 2012/0107332，通过引用结合在此)。

[1785] 

[1786] 糖苷键(-O'-)通常是β-葡糖醛酸糖苷酶裂解位点，例如可由人溶酶体β-葡糖醛酸糖苷酶裂解的键。在葡糖苷酸单元的上下文中，术语“自消基团”是指二官能或三官能化学部分，其能够将两个或三个间隔开的化学部分(即，糖部分(通过糖苷键)、与药物部分(直接或间接通过间隔子单元)以及在一些实施例中的接头(直接或间接通过担架单元)共价连接到稳定分子中。如果其与糖部分的键被裂解，则自消基团将自发地与第一化学部分(例如，间隔子或药物单元)分离。

[1787] 在一些实施例中，糖部分(Su)是环状己糖(例如吡喃糖)或环戊糖(例如呋喃糖)。在一些实施例中，吡喃糖是葡糖苷酸或己糖。糖部分通常呈β-D构象。在一个具体实施例中，吡喃糖是β-D-葡糖苷酸部分(即，即通过可被β-葡糖醛酸糖苷酶裂解的糖苷键与自消基团-Z-连接的β-D-葡糖醛酸)。在一些实施例中，糖部分是未取代的(例如，天然存在的环状己糖或环戊糖)。在其他实施例中，糖部分可以是取代的β-D-葡糖苷酸(即，被一个或多个基团取

代的葡糖醛酸，例如氢、羟基、卤素、硫、氮或低级烷基。在一些实施例中，葡糖苷酸单元具有US 2012/0107332中描述的式之一，其通过引用并入本文。

[1788] 在一些实施例中，接头包含间隔单元(-Y-)，当存在氨基酸单元(或葡糖苷酸单元，也参见US 2012/0107332，通过引用并入本文)时，其存在时将氨基酸单元连接至药物部分。或者，当氨基酸单元不存在时，间隔子单元将担架单元连接到药物部分。当氨基酸单元和担架单元都不存在时，间隔子单元还可以将药物单元连接到抗体单元。

[1789] 间隔子单元有两种通用类型：非自消或自消。非自消间隔子单元是其中部分或全部间隔子单元在从抗体-药物偶联物裂解(特别是酶促)氨基酸单元(或葡糖苷酸单元)后保持与药物部分结合的单元。非自消间隔子单元的实例包括但不限于(甘氨酸-甘氨酸)间隔子单元和甘氨酸间隔子单元(参见US 8,309,093，在此引入作为参考))。自消间隔子的其他实例包括，但不限于与PAB基团电子相似的芳族化合物，例如2-氨基咪唑-5-甲醇衍生物(Hay等人，1999，Bioorg.Med.Chem.Lett.[生物组织化学通讯]9:2237)和邻-或对-氨基苄基乙缩醛。可以使用在酰胺键水解后进行环化的间隔子，例如取代和未取代的4-氨基丁酸酰胺(Rodrigues等人，1995，Chemistry Biology[化学生物学]2:223)、适当取代的双环[2.2.1]和双环[2.2.2]环系统(Storm等人，1972，J.Amer.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]94:5815)和2-氨基苯基丙酸酰胺(Amsberry等人，1990，J.Org.Chem.[有机化学杂志]55:5867)。消除在甘氨酸的α-位取代的含胺药物(Kingsbury等人，1984，J.Med.Chem.[医学化学期刊]27:1447)也是自消间隔子的实例。

[1790] 自消间隔子的其他实例包括但不限于与PAB基团电子相似的芳族化合物，例如2-氨基咪唑-5-甲醇衍生物(参见例如，Hay等人，1999，Bioorg.Med.Chem.Lett.[生物组织医学化学通讯]9:2237)和邻-或对-氨基苄基乙缩醛。可以使用在酰胺键水解后进行环化的间隔子，例如取代和未取代的4-氨基丁酸酰胺(参见例如，Rodrigues等人，1995，Chemistry Biology[化学生物学]2:223)、适当取代的双环[2.2.1]和双环[2.2.2]环系统(例如，参见Storm等人，1972，J.Amer.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]94:5815)和2-氨基苯基丙酸酰胺(例如参见，Amsberry等人，1990，J.Org.Chem.[有机化学杂志]55:5867)。消除在甘氨酸的a-位取代的含胺药物(参见例如，Kingsbury等人，1984，J.Med.Chem.[医学化学期刊]27:1447)也是自消间隔子的实例。

[1791] 其他合适的间隔子单元公开在公开的美国专利申请号2005-0238649中，其公开内容通过引用结合在此。

[1792] 产生ADC的另一种方法涉及使用异双功能交联剂，其将抗B7-H3抗体与药物部分连接。可以使用的交联剂的实例包括N-琥珀酰亚胺基4-(5-硝基-2-吡啶基二硫)-戊酸或高度水溶性的类似物N-磺基琥珀酰亚胺基4-(5-硝基-2-吡啶基二硫)-戊酸、N-琥珀酰亚胺基-4-(2-吡啶基二硫)丁酸酯(SPDB)、N-琥珀酰亚胺基-4-(5-硝基-2-吡啶基二硫)丁酸酯(SNPB)、和N-磺基琥珀酰亚胺基-4-(5-硝基-2-吡啶基二硫)丁酸酯(SSNPB)、N-琥珀酰亚胺基-4-甲基-4-(5-硝基-2-吡啶基二硫)戊酸(SMNP)、N-琥珀酰亚胺基-4-(5-N,N-二甲基羧氨基-2-吡啶基二硫)丁酸酯(SCPB)或N-磺基琥珀酰亚胺基4-(5-N,N-二甲基羧氨基-2-吡啶基二硫)丁酸酯(SSCPB))。可以用交联剂(N-琥珀酰亚胺基4-(5-硝基-2-吡啶基二硫)-戊酸、N-磺基琥珀酰亚胺基4-(5-硝基-2-吡啶基二硫)-戊酸、SPDB、SNPB、SSNPB、SMNP、SCPB、或SSCPB)修饰本发明的抗体，然后可以与少量过量的含有硫醇部分的特定药物反应，以产

生极好的ADC产率。优选地，交联剂是如美国专利号6,913,748中所描述的式的化合物，其通过引用并入本文。

[1793] 在一个实施例中，带电荷的接头(也称为前带电荷接头)用于将抗B7-H3抗体与药物偶联以形成ADC。带电接头包括在细胞处理后变为带电的接头。在特定ADC的接头中或在细胞处理后的药物上存在带电基团提供了若干优点，例如(i)ADC的水溶性更高，(ii)在水溶液中更高浓度下操作的能力，(iii)每个抗体连接更多药物分子的能力，可能导致更高的效力，(iv)带电的偶联物种类保留在靶细胞内的潜力，导致更高的效力，和(v)提高了多药耐药细胞的敏感性，这种细胞不能从细胞中输出带电荷的药物。一些合适的带电荷或前带电荷的交联剂及其合成的实例示于美国专利号8,236,319的图1至10中，并通过引用结合到本文中。优选地，带电荷或前带电荷的交联剂是含有磺酸盐，磷酸盐，羧基或季胺取代基的那些，其显著增加了ADC的溶解度，特别是对于具有2-20个偶联药物的ADC。在偶联物在细胞中代谢后，由含有前带电荷部分的接头制备的偶联物将产生一个或多个带电荷的部分。

[1794] 可与组合物和方法一起使用的接头的其他实例包括缬氨酸-瓜氨酸;马来酰亚胺基己酰基;氨基苯甲酸;p-氨基苄基氨基甲酰基(PAB);溶酶体酶-可裂解接头;马来酰亚胺基己酰基-聚乙二醇(MC(PEG)6-OH);N-甲基-缬氨酸瓜氨酸;N-琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸酯(SMCC);N-琥珀酰亚胺基4-(2-吡啶基二硫)丁酸酯(SPDB);和N-琥珀酰亚胺基4-(2-吡啶基硫)戊酸(SPP)(也参见US 2011/0076232)。用于本发明的另一种接头包括抗生物素蛋白-生物素连接以提供含抗生物素蛋白-生物素的ADC(还参见美国专利号4,676,980,PCT公开号WO1992/022332A2、WO1994/016729A1、WO1995/015770A1、WO1997/031655A2、WO1998/035704A1、WO1999/019500A1、WO2001/09785A2、WO2001/090198A1、WO2003/093793A2、WO2004/050016A2、WO2005/081898A2、WO2006/083562A2、WO2006/089668A1、WO2007/150020A1、WO2008/135237A1、WO2010/111198A1、WO2011/057216A1、WO2011/058321A1、WO2012/027494A1、和EP77671B1)，其中一些这样的接头对生物素酰胺酶裂解具有抗性。可以在本发明中使用的另外的接头包括一个黏合/对接因子对(cohesin/dockerin pair)，以提供含黏合-对接因子-ADC(参见PCT公开号WO2008/097866A2,WO2008/097870A2,WO2008/103947A2,和WO2008/103953A2)。

[1795] 用于本发明的另外的接头可含有非肽聚合物(实例包括但不限于聚乙二醇、聚丙二醇、聚氧乙烯化多元醇、聚乙烯醇、多糖、葡聚糖、聚乙烯乙醚、PLA(聚(乳酸))、PLGA(聚(乳酸-乙醇酸))及其组合，其中优选的聚合物是聚乙二醇(也参见PCT公开号WO2011/000370)。另外的接头还描述于WO 2004-010957，美国公开号20060074008，美国公开号20050238649和美国公开号20060024317中，其各自通过引用整体并入本文。

[1796] 对于包含美登木素生物碱的ADC，美登木素生物碱上的许多位置可用作化学连接连接部分的位置。在一个实施例中，美登木素生物碱包含含有反应性化学基团的连接部分，其是美登醇及其类似物的C-3酯，其中连接部分含有二硫键，并且化学反应性基团包含N-琥珀酰亚胺基或N-磺基琥珀酰亚胺酯。例如，具有羟基的C-3位，用羟甲基修饰的C-14位，用羟基修饰的C-15位和具有羟基的C-20位都是有用的。连接部分最优选与美登醇的C-3位连接。

[1797] 通过接头将药物与抗体偶联可以通过本领域已知的任何技术完成。许多不同的反应可用于药物和接头与抗体的共价连接。这可以通过抗体的氨基酸残基的反应来实现，包括赖氨酸的胺基团，谷氨酸和天冬氨酸的游离羧酸基团，半胱氨酸的巯基和芳族氨基酸的

各种部分。最常用的共价附接的非特异性方法之一是碳二亚胺反应,以将化合物的羧基(或氨基)连接到抗体的氨基(或羧基)基团。另外,已经使用双功能药剂如二醛或亚氨酸酯将化合物的氨基与抗体的氨基连接。席夫碱反应也可用于将药物附接到抗体上。该方法涉及含有二醇或羟基的药物的高碘酸盐氧化,从而形成醛,然后醛与粘合剂反应。通过形成具有抗体氨基的席夫碱而发生附着。异硫氰酸酯也可用作偶联剂以将药物共价附接至抗体。其他技术是本领域技术人员已知的并且在本发明的范围内。

[1798] 在某些实施例中,作为接头前体的中间体在适当条件下与药物反应。在某些实施例中,反应性基团用于药物或中间体。随后在适当条件下使药物与中间体或衍生化药物之间的反应产物与抗B7-H3抗体反应。美国专利申请公开号20030083263、20050238649和20050009751中描述了示例性接头、担架单元、氨基酸单元、自消间隔子单元的合成和结构,各自通过引用并入本文。

[1799] ADC的稳定性可以通过标准分析技术测量,例如质谱,HPLC和分离/分析技术LC/MS。

[1800] IV.抗B7-H3 ADC的纯化

[1801] 可以以收集具有某些DAR的ADC的方式实现ADC的纯化。例如,HIC树脂可用于从具有最佳药物/抗体比率(DAR)(例如DAR为4或更低)的ADC中分离高载药量的ADC。在一个实施例中,将疏水性树脂加入到ADC混合物中,使得不希望的ADC,即较高载药的ADC与树脂结合,并且可以从混合物中选择性地除去。在某些实施例中,ADC的分离可以通过使ADC混合物(例如,包含4或更低的ADC的载药种类和6或更高的ADC的载药种类的混合物)与疏水性树脂接触来实现,其中树脂的量足以结合从ADC混合物中去除的载药种类。将树脂和ADC混合物混合在一起,使得被去除的ADC种类(例如,6或更高的载药种类)与树脂结合并且可以与ADC混合物中的其他ADC种类分离。该方法中使用的树脂的量基于待去除的物质与树脂之间的重量比,其中所用树脂的量不允许所希望的载药种类的大量结合。因此,可以使用方法将平均DAR减小到小于4。此外,本文所述的纯化方法可用于分离具有任何所期望载药种类范围的ADC,例如载药种类为4或更低,载药种类为3或更低,载药种类为2或更低,载药种类为1或更低。

[1802] 某些种类的一种或多种分子基于这些种类与疏水性树脂之间的疏水相互作用而结合到表面。在一个实施例中,本发明的方法是指依赖于疏水性树脂和ADC混合物的混合的纯化方法,其中加入混合物中的树脂的量决定了将结合哪个种类(例如,具有6或更高的DAR的ADC)。在从表达系统(例如,哺乳动物表达系统)产生和纯化抗体后,抗体被还原并通过偶联反应与药物偶联。得到的ADC混合物通常包含具有一定范围内DAR的ADC,例如1至8。在一个实施例中,ADC混合物包含4或更低的载药种类以及6或更高的载药种类。根据本发明的方法,ADC混合物可以使用工艺纯化,例如但不限于分批工艺,从而选择具有4或更低载药种类的ADC并将其与具有更高药物负荷的ADC(例如,具有6或更高的载药种类的ADC)分离。值得注意的是,本文所述的纯化方法可用于分离具有任何所期望DAR范围的ADC,例如DAR为4或更低,DAR为3或更低,或DAR为2或更低。

[1803] 因此,在一个实施例中,包含4或更低的载药种类以及6或更高的载药种类的ADC混合物可以与疏水性树脂接触以形成树脂混合物,其中与ADC混合物接触的疏水性树脂的量足以使6或更高的载药种类与树脂结合,但不允许4或更低的载药种类的大量结合;并且从

ADC混合物中去除疏水性树脂，从而获得包含ADC的组合物，其中所述组合物包含少于15％的6或更高的载药种类，并且其中ADC包含与Bcl-xL抑制剂偶联的抗体。在单独的实施例中，本发明的方法包括使包含4或更低的载药种类以及6或更高的载药种类的ADC混合物与疏水性树脂接触以形成树脂混合物，其中与ADC混合物接触的疏水性树脂的量足以使6或更高的载药种类与树脂结合，但不允许4或更低的载药种类的大量结合；并且从ADC混合物中去除疏水性树脂，从而获得包含ADC的组合物，其中所述组合物包含少于15％的6或更高的载药种类，并且其中ADC包含与Bcl-xL抑制剂偶联的抗体，其中疏水性树脂的重量是ADC混合物中6或更高的载药种类重量的3至12倍。

[1804] 本文描述的ADC分离方法可以使用分批纯化方法进行。分批纯化方法通常包括将ADC混合物加入容器中的疏水性树脂中，混合，随后将树脂与上清液分离。例如，在分批纯化的情况下，疏水性树脂可以在所需的平衡缓冲液中制备或平衡。由此可以获得疏水性树脂的浆料。然后可使ADC混合物与浆料接触以吸附有待通过疏水性树脂分离的特定种类的ADC。然后可以将包含不与疏水性树脂材料结合的所需ADC的溶液与浆料分离，例如通过过滤或通过使浆料沉降并除去上清液。可以对所得浆料进行一个或多个洗涤步骤。为了洗脱结合的ADC，可以降低盐浓度。在一个实施例中，本发明中使用的方法包括不超过50g的疏水性树脂。

[1805] 因此，分批方法可用于使包含4或更低的载药种类以及6或更高的载药种类的ADC混合物与疏水性树脂接触以形成树脂混合物，其中与ADC混合物接触的疏水性树脂的量足以使6或更高的载药种类与树脂结合，但不允许4或更低的载药种类的大量结合；并且从ADC混合物中去除疏水性树脂，从而获得包含ADC的组合物，其中所述组合物包含少于15％的6或更高的载药种类，并且其中ADC包含与Bcl-xL抑制剂偶联的抗体。在单独的实施例中，分批方法用于使包含4或更低的载药种类以及6或更高的载药种类的ADC混合物与疏水性树脂接触以形成树脂混合物，其中与ADC混合物接触的疏水性树脂的量足以使6或更高的载药种类与树脂结合，但不允许4或更低的载药种类的大量结合；并且从ADC混合物中去除疏水性树脂，从而获得包含ADC的组合物，其中所述组合物包含少于15％的6或更高的载药种类，并且其中ADC包含与Bcl-xL抑制剂偶联的抗体，其中疏水性树脂的重量是ADC混合物中6或更高的载药种类重量的3至12倍。

[1806] 可替代地，在单独的实施例中，可以使用循环工艺进行纯化，由此将树脂包装在容器中并使ADC混合物通过疏水性树脂床，直到已经除去待分离的特定种类的ADC。然后将上清液(含有所需的ADC物质)从容器中泵出，并且可以对树脂床进行洗涤步骤。

[1807] 循环工艺可用于使包含4或更低的载药种类以及6或更高的载药种类的ADC混合物与疏水性树脂接触以形成树脂混合物，其中与ADC混合物接触的疏水性树脂的量足以使6或更高的载药种类与树脂结合，但不允许4或更低的载药种类的大量结合；并且从ADC混合物中去除疏水性树脂，从而获得包含ADC的组合物，其中所述组合物包含少于15％的6或更高的载药种类，并且其中ADC包含与Bcl-xL抑制剂偶联的抗体。在单独的实施例中，循环工艺用于使包含4或更低的载药种类以及6或更高的载药种类的ADC混合物与疏水性树脂接触以形成树脂混合物，其中与ADC混合物接触的疏水性树脂的量足以使6或更高的载药种类与树脂结合，但不允许4或更低的载药种类的大量结合；并且从ADC混合物中去除疏水性树脂，从而获得包含ADC的组合物，其中所述组合物包含少于15％的6或更高的载药种类，并且其中

ADC包含与Bcl-xL抑制剂偶联的抗体,其中疏水性树脂的重量是ADC混合物中6或更高的载药种类重量的3至12倍。

[1808] 可替代地,流通过程可用于纯化ADC混合物以得到包含大多数具有特定所需DAR的ADC的组合物。在流通过程中,将树脂填充在容器中,例如柱,并使ADC混合物通过填充树脂,使得所期望的ADC种类基本上不与树脂结合并流通过树脂,并且不期望的ADC种类与树脂结合。流通过程可以以单程模式(其中目标ADC种类作为单次通过容器的树脂的结果而获得)或以多次通过模式(其中目标ADC种类是作为多次通过容器的树脂的结果而获得)。执行流通过程,使得所选树脂的重量与不期望的ADC群结合,并且所期望的ADC(例如,DAR 2-4)流过树脂并在一次或多次通过后收集在流过的流中。

[1809] 流过工艺可用于使包含4或更低的载药种类以及6或更高的载药种类的ADC混合物与疏水性树脂接触,其中与ADC混合物接触的疏水性树脂的量足以使6或更高的载药种类与树脂结合,但不允许4或更低的载药种类的大量结合;其中4或更低的载药种类流经树脂且随后在一个或多个流过之后收集,从而获得包含所希望的ADC(例如DAR 2-4)的组合物,其中所述组合物包含少于15%的6或更高的载药种类,并且其中ADC包含与Bcl-xL抑制剂偶联的抗体。在单独的实施例中,流过工艺用于通过使ADC混合物流经树脂使包含4或更低的载药种类以及6或更高的载药种类的ADC混合物与疏水性树脂接触,其中与ADC混合物接触的疏水性树脂的量足以使6或更高的载药种类与树脂结合,但不允许4或更低的载药种类的大量结合;其中4或更低的载药种类流经树脂且随后收集,从而获得包含ADC的组合物,其中所述组合物包含少于15%的6或更高的载药种类,并且其中ADC包含与药物,例如Bcl-xL抑制剂偶联的抗体,其中疏水性树脂的量是ADC混合物中6或更高的载药种类重量的3至12倍。

[1810] 在流通过程之后,可以用一次或多次洗涤来洗涤树脂,以进一步回收具有所期望DAR范围的ADC(在洗涤滤液中发现)。例如,可以使用具有降低的导电性的多次洗涤来进一步回收具有目的DAR的ADC。随后将从洗涤树脂获得的洗脱材料与流通过程产生的滤液合并,以改善具有目标DAR的ADC的回收。

[1811] 上述分批、循环和流过工艺纯化方法基于使用疏水性树脂来分离ADC的高载药种类和低载药种类。疏水性树脂包含疏水基团,其与ADC的疏水性质相互作用。ADC上的疏水基团与疏水性树脂内的疏水基团相互作用。蛋白质越疏水,它与疏水性树脂相互作用越强。

[1812] 疏水性树脂通常包含与疏水性配体(例如烷基或芳基)偶联的基础基质(例如,交联的琼脂糖或合成的共聚物材料)。许多疏水性树脂可商购获得。实例包括但不限于具有低或高取代度的Phenyl Sepharose™ 6快速流(法玛西亚LKB生物技术公司(Pharmacia LKB Biotechnology,AB),瑞典);Phenyl Sepharose™高效(法玛西亚LKB生物技术公司(Pharmacia LKB Biotechnology,AB),瑞典);Octyl Sepharose™高效(法玛西亚LKB生物技术公司(Pharmacia LKB Biotechnology,AB),瑞典);Fractogel™ EMD丙基或Fractogel™ EMD苯基柱(E.Merck,德国);Macro-Prep™甲基或Macro-Prep™叔丁基支持物(美国伯乐公司(Bio-Rad)、California);WP HI-Propyl(C_3)™(贝克公司(J.T.Baker)、New Jersey);和Toyopearl™醚,己基,苯基或丁基(涂索哈斯(TosoHaas),PA)。在一个实施例中,疏水性树脂是丁基疏水性树脂。在另一个实施例中,疏水性树脂是苯基疏水性树脂。在另一个实施例中,疏水性树脂是己基疏水树脂,辛基疏水树脂或癸基疏水树脂。在一个实施例中,疏水性树脂是具有正丁基配体的甲基丙烯酸聚合物(例如TOYOPEARL® Butyl-600M)。

[1813] 用于纯化ADC混合物以获得具有所期望DAR的组合物的其它方法描述于美国申请号14/210,602(美国专利申请公开号US2014/0286968)中,其全部内容通过引用并入本文。

[1814] 在本发明的某些实施例中,本文描述的具有DAR2的ADC从具有更高或更低DAR的ADC中纯化。这种纯化的DAR2 ADC在本文中称为"E2"。用于获得具有E2抗B7-H3 ADC的组合物的纯化方法。在一个实施例中,本发明提供了包含ADC混合物的组合物,其中至少75%的ADC是具有DAR2的抗B7H3 ADC(如本文所述的那些)。在另一个实施例中,本发明提供了包含ADC混合物的组合物,其中至少80%的ADC是具有DAR2的抗B7H3 ADC(如本文所述的那些)。在另一个实施例中,本发明提供了包含ADC混合物的组合物,其中至少85%的ADC是具有DAR2的抗B7H3 ADC(如本文所述的那些)。在另一个实施例中,本发明提供了包含ADC混合物的组合物,其中至少90%的ADC是具有DAR2的抗B7H3 ADC(如本文所述的那些)。

[1815] V.抗-B7-H3抗体及抗-B7-H3 ADC的用途

[1816] 本发明的抗体和ADC优选地能够在体内和体外中和人B7-H3活性。因此,本发明的此类抗体和ADC可用于抑制hB7-H3活性,例如在含有hB7-H3的细胞培养物中,在人受试者或具有本发明的抗体与之交叉反应的B7-H3的其他哺乳动物受试者中。在一个实施例中,本发明提供抑制hB7-H3活性的方法,其包括使hB7-H3与本发明的抗体或ADC接触,从而抑制hB7-H3活性。例如,在含有或怀疑含有hB7-H3的细胞培养物中,可以将本发明的抗体或抗体部分添加到培养基中以抑制培养物中的hB7-H3活性。

[1817] 在本发明的另一个实施例中是一种用于降低受试者中hB7-H3活性的方法,所述受试者有利地来自患有B7-H3活性有害的疾病或病症的受试者。本发明提供用于降低经受此类疾病或病症的受试者中的B7-H3活性的方法,该方法包括向受试者给予本发明的抗体或ADC,使得受试者中的B7-H3活性降低。优选地,B7-H3是人B7-H3,并且受试者是人受试者。可替代地,受试者可以是表达本发明的抗体能够结合的B7-H3的哺乳动物。此外,受试者可以是已经引入B7-H3的哺乳动物(例如,通过给予B7-H3或通过表达B7-H3转基因)。可以将本发明的抗体或ADC出于治疗目的给予人受试者。此外,本发明的抗体或ADC可以给予给表达该抗体能够结合的B7-H3的非人哺乳动物(出于兽医学目的或作为人类疾病的动物模型)。关于后者,这种动物模型可用于评估本发明抗体的治疗功效(例如,剂量测试和给药时间过程)。

[1818] 如本文使用的,术语"B7-H3表达有害的病症"旨在包括疾病和其他病症,其中患有该病症的受试者中B7-H3的存在已经显示表达或已经显示是或怀疑对病症的病理生理学负责或是导致病症的因素。例如,本发明的ADC可用于靶向表达B7-H3的肿瘤细胞。可以用本发明的ADC(例如包含huAb13v1的ADC)治疗的病症的非限制性实例包括但不限于多种癌症,这些癌症包括但不限于小细胞肺癌、非小细胞肺癌(NSCLC)、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、胶质瘤、前列腺癌、胰腺癌、结肠癌、头颈癌、白血病(例如,急性髓性白血病(AML))、淋巴瘤(例如,非霍奇金淋巴瘤(NHL))、和肾癌。可使用本文公开的组合物和方法治疗的癌症的其他实例包括鳞状细胞癌(例如鳞状肺癌或鳞状头颈癌)、三阴性乳腺癌、非小细胞肺癌、结肠直肠癌、和间皮瘤。在一个实施例中,将本文披露的抗体或ADC用于治疗实体瘤,例如,抑制实体瘤的生长或减少实体瘤的尺寸、过表达B7-H3或是B7-H3阳性。在一个实施例中,本发明针对与B7-H3表达相关的鳞状肺癌的治疗。在另一个实施例中,本文公开的抗体和ADC用于治疗三阴性乳腺癌(TNBC)。本文所述的疾病和病症可以通过本发明的抗B7-H3抗体或ADC以及包含此类

抗B7-H3抗体或ADC的药物组合物来治疗。

[1819] 在某些实施例中，该癌症的特征可在于具有EGFR过表达。在一个实施例中，本发明的ADC可用于治疗与激活性EGFR突变相关的癌症。此类突变的实例包括但不限于外显子19缺失突变、外显子21中的单点取代突变L858R、T790M点突变、及其组合。

[1820] 在某些实施例中，将本文披露的抗体或ADC给予至有需要的受试者，以治疗可能展现出升高水平的B7-H3的晚期实体瘤类型。此类肿瘤的实例包括但不限于小细胞肺癌、乳腺癌、卵巢癌、头颈部鳞状细胞癌、非小细胞肺癌、三阴性乳腺癌、结肠直肠癌、和多形性胶质母细胞瘤。

[1821] 在某些实施例中，本发明包括在具有实体瘤的受试者中抑制或减少实体瘤生长的方法，所述方法包括向患有实体瘤的受试者给予本文所述的抗B7-H3抗体或ADC，使得实体瘤生长受到抑制或减少。在某些实施例中，实体瘤是非小细胞肺癌或胶质母细胞瘤。在进一步的实施例中，实体瘤是表达B7-H3的实体瘤。在进一步的实施例中，实体瘤是过表达B7-H3的实体瘤。在某些实施例中，将本文描述的抗B7-H3抗体或ADC单独或与额外的药剂(例如，辐射和/或替莫唑胺)组合给予至患有多形性胶质母细胞瘤的受试者。

[1822] 在某些实施例中，将本文描述的抗B7-H3 ADC单独或与额外的药剂(例如ABT-199(维奈托克))组合给予至患有小细胞肺癌的受试者。

[1823] 在某些实施例中，将本文描述的抗B7-H3 ADC单独或与额外的药剂(例如紫杉烷)组合给予至患有非小细胞肺癌的受试者。在某些实施例中，将本文描述的抗B7-H3抗体或ADC单独或与额外的药剂(例如，紫杉烷)组合给予至患有乳腺癌的受试者。在某些实施例中，将本文描述的抗B7-H3抗体或ADC单独或与额外的药剂(例如，紫杉烷)组合给予至患有卵巢癌的受试者。

[1824] 包括在本发明中的其他组合疗法是给予抗B7-H3 ADC与选自下组的试剂，该组由以下组成：抗PD1抗体(例如派立珠单抗)、抗PD-L1抗体(例如阿特唑单抗)、抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗)、MEK抑制剂(例如曲美替尼)、ERK抑制剂、BRAF抑制剂(例如达拉菲尼)、奥斯替尼、埃罗替尼、吉非替尼、索拉非尼、CDK9抑制剂(例如迪那西利(dinaciclib))、MCL-1抑制剂、替莫唑胺、Bcl-xL抑制剂、Bcl-2抑制剂(例如维奈托克)、依鲁替尼、mTOR抑制剂(例如依维莫司)、PI3K抑制剂(例如布帕利昔)、度维利塞(duvelisib)、艾代拉里斯(idelalisib)、AKT抑制剂、HER2抑制剂(例如拉帕替尼)、紫杉烷(例如多西他赛、紫杉醇、纳米白蛋白结合型紫杉醇)、维奈托克、包含澳瑞他汀的ADC、包含PBD(例如罗武匹妥珠-特西林)的ADC、包含美登木素生物碱(例如TDM1)的ADC、TRAIL激动剂、蛋白酶体抑制剂(例如硼替佐米)、和烟酰胺磷酸核糖基转移酶(NAMPT)抑制剂。

[1825] 组合治疗包括在给予额外的治疗剂(包括上文所述的那些)之前、同时或之后，给予用本发明的ADC。

[1826] 在某些实施例中，本发明包括在具有实体瘤的受试者中抑制或减少实体瘤生长的方法，所述实体肿瘤被鉴定为表达B7-H3或过表达B7-H3的肿瘤，所述方法包括对具有实体瘤的受试者给予本文所述的抗B7-H3抗体或ADC，使得实体瘤生长受到抑制或减少。用于鉴定表达B7-H3的肿瘤(例如，过表达B7-H3的肿瘤)的方法是本领域已知的，并且包括FDA批准的测试和验证测定。例如，B7-H3测定是定性免疫组织化学(IHC)试剂盒系统，其用于鉴定常规固定用于组织学评估的正常和肿瘤组织中的B7-H3表达。此外，基于PCR的测定也可用于

鉴定过表达的B7-H3肿瘤。随后可以使用本领域已知的标准方法，例如通过凝胶电泳分析扩增的PCR产物，以确定PCR产物的大小。此类测试可用于鉴定可用本文所述的方法和组合物治疗的肿瘤。

[1827] 根据本发明，可以使用本领域可用的任何基因治疗。关于基因治疗之方法的一般综述，参见Goldspiel等人，1993，Clinical Pharmacy12:488-505；Wu及Wu，1991，Biotherapy[生物疗法]3:87-95；Tolstoshev，1993，Ann.Rev.Pharmacol.Toxicol.[药理学和毒理学综述年鉴]32:573-596；Mulligan，Science[科学]260:926-932(1993)；以及Morgan和Anderson，1993，Ann.Rev.Biochem.[生物化学综述年鉴]62:191-217；1993年5月，TIBTECH 11(5):155-215。重组DNA技术领域通常已知的可用方法描述于Ausubel等人(编)，Current Protocols in Molecular Biology[分子生物学实验]，约翰威利出版社，纽约(1993)；及Kriegler，Gene Transfer and Expression[基因转移和表达]，A Laboratory Manual[实验室手册]，斯托克顿出版社(Stockton Press)，纽约(1990)中。基因治疗的各种方法的详细说明提供于US20050042664A1中，其以引用的方式并入本文中。

[1828] 另一方面，本申请的特征在于一种治疗(例如，治愈、阻抑、改善、延迟或预防发作或预防再现或复发)或预防受试者中B7-H3相关病症的方法。该方法包括：以足以治疗或预防B7-H3相关病症的量向受试者给予B7-H3结合剂，例如本文所述的抗B7-H3抗体或其片段。B7-H3拮抗剂(例如抗B7-H3抗体或其片段)可以单独或与本文所述的其他治疗方式组合给予于受试者。

[1829] 本发明的抗体或ADC或其抗原结合部分可以单独使用或组合使用以治疗这些疾病。应当理解，本发明的抗体或其抗原结合部分可以单独使用或与额外的药剂例如治疗剂组合使用，所述额外的药剂由技术人员选择用于其预期目的。例如，额外的药剂可以是本领域公认的治疗剂，其可用于治疗由本发明的抗体治疗的疾病或病症。额外的药剂也可以是赋予治疗组合物有益属性的药剂，例如，影响组合物粘度的药剂。

[1830] 应进一步了解，将包括在本发明内的组合为适用于其既定目的的那些组合。以下阐述的药剂是出于说明性目的且不意欲受限制的。作为本发明一部分的组合可以是本发明的抗体和至少一种选自下列列表的其他药剂。该组合也可以包括一种以上其他药物，例如两种或三种其他药物，只要这样的组合形成的组合物能够实现其预定作用。

[1831] 组合疗法可以包括一种或多种B7-H3拮抗剂，例如抗B7-H3抗体或其片段，与一种或多种额外治疗剂一起配制和/或共给予，该一种或多种额外治疗剂例如一种或多种细胞因子及生长因子抑制剂、免疫抑制剂、消炎剂(例如全身性消炎剂)、抗纤维化剂、代谢抑制剂、酶抑制剂和/或细胞毒性或细胞生长抑制剂、有丝分裂抑制剂、抗肿瘤抗生素、免疫调节剂、基因治疗运载体、烷化剂、抗血管生成剂、抗代谢物、含硼剂、化学保护剂、激素、抗激素剂、皮质类固醇、光活性治疗剂、寡核苷酸、放射性核素剂、拓扑异构酶(topoisomerase)抑制剂、激酶抑制剂或放射增敏剂，如本文详细描述。

[1832] 在具体实施例中，本文所述的抗B7-H3结合蛋白，例如抗B7-H3抗体，与抗癌剂或抗肿瘤剂组合使用。术语“抗癌剂”和“抗肿瘤剂”是指用于治疗恶性肿瘤的药物，例如癌性生长。药物治疗可以单独使用，或与其他治疗如手术或放射疗法联合使用。根据所涉及器官的性质，可以在癌症治疗中使用若干类药物。例如，乳腺癌通常由雌激素刺激，并且可以用使性激素失活的药物治疗。类似地，前列腺癌可以用使雄激素(雄性激素)失活的药物治疗。可

以与本发明的抗B7-H3抗体或ADC共同使用的抗癌试剂包括，例如，抗PD1抗体(例如，派立珠单抗)、抗PD-L1抗体(例如阿特唑单抗)、抗CTLA-4抗体(例如，伊匹单抗)、MEK抑制剂(例如，曲美替尼)、ERK抑制剂、BRAF抑制剂(例如，达拉菲尼)、奥斯替尼(AZD9291)、埃罗替尼、吉非替尼、索拉非尼、CDK9抑制剂(例如，迪那西利(dinaciclib))、MCL-1抑制剂、替莫唑胺、Bcl-xL抑制剂、Bcl-2抑制剂(例如维奈托克)、依鲁替尼、mTOR抑制剂(例如，依维莫司)、PI3K抑制剂(例如，布帕利昔)、度维利塞(duvelisib)、艾代拉里斯(idelalisib)、AKT抑制剂、HER2抑制剂(例如，拉帕替尼)、Herceptin、紫杉烷(例如多西他赛、紫杉醇、纳米白蛋白结合型紫杉醇)、包含澳瑞他汀的ADC、包含PBD(例如，罗武匹妥珠-特西林)的ADC、包含美登木素生物碱(例如，TDM1)的ADC、TRAIL激动剂、蛋白酶体抑制剂(例如，硼替佐米)、和烟酰胺磷酸核糖基转移酶(NAMPT)抑制剂，以及以下试剂：

抗癌剂	注解	实例
抗体	结合 IGF-1R（胰岛素样生长因子 1 型受体)的抗体,其在大多数人癌症的细胞表面上表达	A12（完全人源化 mAb） 19D12（完全人源化 mAb） Cp751-871（完全人源化 mAb） H7C10（人源化 mAb） αIR3（小鼠） ScFV/FC（小鼠/人嵌合体） EM/164（小鼠）
	结合 EGFR 的抗体；影响 EGFR 表达或活性的突变可导致癌症	马妥珠单抗（EMD72000） 爱必妥®/西妥昔单抗（英克隆公司（Imclone）） Vectibix® / 帕尼单抗（安进公司（Amgen）） mAb 806 尼妥珠单抗（TheraCIM）
[1833]	结合 cMET（间充质上皮转换因子）的抗体；受体酪氨酸激酶的 MET 家族成员）	AVEO（AV299）（AVEO） AMG102（Amgen[安进公司]） 5D5（OA-5d5）（Genentech[遗传技术公司]） H244G11（Pierre Fabre[皮耶法柏公司]）
	抗-ErbB3 抗体	Ab #14（MM 121-14） Herceptin®（曲妥珠单抗；Genentech[遗传技术公司]） 1B4C3；2D1D12（U3 Pharma AG[U3 制药公司]）
靶向 IGF1R 的小分子	胰岛素样生长因子 1 型受体,其在许多人类癌症的细胞表面上表达	NVP-AEW541-A BMS-536,924（1H-苯并咪唑-2-基)-1H-吡啶-2-酮） BMS-554,417 Cycloligan

		TAE226 PQ401
	靶向 EGFR 的小分子	EGFR；影响 EGFR 表达或活性的过表达或突变可导致癌症	Iressa® / 吉非替尼（AstraZeneca[阿斯利康公司]） CI-1033（PD 183805）（Pfizer[辉瑞公司]） 拉帕替尼（GW-572016）（GlaxoSmithKline[葛兰素史克公司]） Tykerb® / 二甲苯磺酸拉帕替尼（Smith Kline Beecham） Tarceva ® / 埃罗替尼 HCL（OSI-774）（OSI Pharma） PKI-166（Novartis[诺华公司]） PD-158780 EKB-569 酪氨酸磷酸化抑制剂 AG 1478（4-(3-氯苯胺基)-6,7-二甲氧基喹唑啉）
[1834]			
	靶向 cMET 的小分子	cMET（间充质上皮转换因子）；受体酪氨酸激酶的 MET 家族成员）	PHA665752 ARQ 197
	抗代谢物		氟尿嘧啶（5-FU） 卡培他滨 / XELODA®（HLR Roche） 5-三氟甲基-2'-脱氧尿苷 甲氨蝶呤钠（Trexall）（Barr） 雷替曲塞 / Tomudex®（AstraZeneca[阿斯利康公司]） 培美曲塞 / Alimta®（Lilly） 替加氟 胞嘧啶阿拉伯糖苷(阿糖胞苷，Ara-C） /Thioguanine®

			（GlaxoSmithKline） 5-氮杂胞苷 6-巯基嘌呤（巯基嘌呤，6-MP） 硫唑嘌呤 / Azasan®（AAIPHARMA LLC） 6-硫鸟嘌呤（6-TG） / Purinethol®（TEVA） 喷司他汀 /Nipent®（Hospira公司） 磷酸氟达拉滨 / Fludara®（Bayer Health Care） 克拉屈滨（2-CdA，2-氯脱氧腺苷）/Leustatin®（奥多生物技术公司（Ortho Biotech）） 核糖核苷酸还原酶抑制剂（RNR）
[1835]	烷化剂	烷化抗肿瘤剂是将烷基连接到 DNA 上的烷化剂。由于癌细胞通常比健康细胞更不受限制地增殖，因此它们对 DNA 损伤更敏感，并且烷化剂在临床上用于治疗多种肿瘤。	环磷酰胺（Cyclophosphamide）/癌得星（Cytoxan）（BMS） 环磷酰胺注射剂（Neosar）（梯瓦制药公司（TEVA）） 异环磷酰胺 / Mitoxana®（ASTA Medica） 噻替派（Bedford, Abraxis, Teva） BCNU→1,3-双(2-氯乙基)-1-亚硝基脲 CCNU→ 1, -(2-氯乙基)-3-环己基-1-亚硝基脲 (甲基 CCNU) 六甲三聚氰胺（六甲蜜胺，HMM） /Hexalen®（MGI Pharma 公司） 白消安（Busulfan） / 马利兰（Myleran）（葛兰素史克公司（GlaxoSmithKline）） 丙卡巴肼 HCL/甲基苄肼（希格玛托制药有限公司（Sigma-Tau

		Pharmaceuticals Inc.）） 达卡巴嗪（DTIC） 苯丁酸氮芥/里库拉（Leukara）®（史克必成公司（SmithKline Beecham）） 美法仑/爱克兰（Alkeran）®（葛兰素史克制药公司（GlaxoSmithKline Pharmaceuticals）） 顺铂（顺铂（Cisplatinum），CDDP）/顺氯氨铂（Platinol）（百时美施贵宝公司（Bristol-Myers Squibb）） 卡铂/帕若拉汀（Paraplatin）（BMS） 奥沙利铂/诶隆科坦（Eloxitan）®（赛诺菲-安万特制药公司（Sanofi Aventis） US）
[1836]		
拓扑异构酶抑制剂	拓扑异构酶抑制剂是设计用于干扰拓扑异构酶（拓扑异构酶I和II）作用的化学治疗剂，拓扑异构酶是通过在正常细胞周期中催化DNA链的磷酸二酯骨架的断裂和重新连接来控制DNA结构变化的酶。	多柔比星 HCL/多喜（Doxil）®（阿尔扎公司（Alza）） 柠檬酸柔红霉素/柔红霉素®（吉利德科技公司（Gilead Sciences, Inc.））HCL 米托蒽醌/米托蒽醌（默克雪兰诺（EMD Serono）） 放线菌素 D. 依托泊苷/凡毕士（Vepesid）®（BMS）/凡毕复（Etopophos）®（赫士睿公司（Hospira）、贝德福德实验室（Bedford Laboratories）、梯瓦肠外药物公司（Teva Parenteral）等） 拓扑替康 HCL/美新（Hycamtin）®（葛兰素史克制药公司（GlaxoSmithKline

		Pharmaceuticals）） 替尼泊苷（VM-26）/威猛（Vumon）®（BMS） 伊立替康HCL（CPT-ll）/坎图萨®（Pharmacia&Upjohn）
	微管靶向剂	微管是细胞骨架的组成部分之一。它们具有~24 nm的直径，并且在神经细胞的轴突中长度从几微米到可能毫米变化。微管充当细胞内的结构组分，并参与许多细胞过程，包括有丝分裂、胞质分裂和囊泡运输。	长春新碱/安可平®（Oncovin®）（美国礼来公司（Lilly）） 长春碱硫酸盐/维而班®（Velban®）（已停产）（美国礼来公司（Lilly）） 长春瑞滨酒石酸盐/诺维本®（Navelbine®）（皮耶法柏公司（PierreFabre）） 硫酸长春地辛/爱迪信®（Eldisine®）（美国礼来公司（Lilly）） 紫杉醇/Taxol®（BMS）
[1837]			多西他赛/Taxotere®（美国赛诺菲安万特公司（Sanofi Aventis US）） 纳米粒子紫杉醇（ABI-007）/白蛋白结合型紫杉醇®（阿博利斯科学公司（Abraxis BioScience, Inc.）） 伊沙匹隆/依科木普拉（IXEMPRA）™（BMS）
	激酶抑制剂	激酶是催化磷酸基团从高能磷酸盐供体分子转移到特定底物，以及用于在细胞中传递信号和调节复杂过程的酶。	甲磺酸伊马替尼/格列卫（Gleevec）（诺华制药集团（Novartis Pharmaceutical Corporation）） 舒尼替尼苹果酸盐/舒癌特（Sutent）®（辉瑞公司（Pfizer, Inc.）） 索拉非尼甲苯磺酸盐/Nexavar®（拜耳公司） 盐酸尼洛替尼一水合物

			/Tasigna®（诺华公司（Novartis））、奥斯替尼、考比替尼，曲美替尼，达拉菲尼，迪那西利（dinaciclib）
	蛋白质合成抑制剂	诱导细胞凋亡	L-天冬酰胺酶/爱施巴®（默克公司（Merck&Co.））
	免疫治疗剂	诱导癌症患者表现出免疫反应	α干扰素 血管生成抑制剂/Avastin®（遗传技术公司（Genentech）） IL-2→白细胞介素2（阿地白介素）/Proleukin®（Chiron） IL-12→白细胞介素12
		抗体/小分子免疫检查点调节剂	抗CTLA-4和PR-1疗法 益伏（Yervoy）®（伊匹单抗；百时美施贵宝公司（Bristol-Myers Squibb）） Opdivo®（纳武单抗；百时美施贵宝公司（Bristol-Myers Squibb）） Keytrada®（派姆单抗；默克公司（Merck））
[1838]			
	激素	与更年期和衰老相关的激素疗法寻求增加体内某些激素的量，以补偿与年龄或疾病相关的激素下降。作为癌症治疗的激素疗法或者降低特定激素的水平，或者改变癌症使用这些激素生长和扩散的能力。	柠檬酸托瑞米芬/法乐通®（Fareston®）（GTX公司（GTX, Inc.）） 氟维司群/法洛德®（阿斯利康制药（AstraZeneca Pharmaceuticals）） 雷洛昔芬HCL/易维特®（美国礼来公司（Eli Lilly and Company）） 阿那曲唑/Arimidex®（阿斯利康公司（AstraZeneca）） 来曲唑/Femara®（诺华公司（Novartis））

[1839]

		法屈唑（CGS 16949A） 依西美坦/Aromasin®（法玛西亚普强公司（Pharmacia & Upjohn）） 醋酸亮丙瑞林/Eligard®（QTL USA） Lupron®（TAP Pharm） 醋酸戈舍瑞林/Zoladex®（阿斯利康公司（AstraZeneca）） 双羟萘酸曲普瑞林/Trelstar®（Watson Labs） 布舍瑞林/Suprefact®（赛诺菲安万特公司（Sanofi Aventis）） 那法瑞林/Synarel®（辉瑞公司（Pfizer）） 西曲瑞克/Cetrotide®（EMD Serono） 比卡鲁胺/Casodex®（阿斯利康公司（AstraZeneca）） 尼鲁米特/Nilandron®（安万特制药公司（Aventis Pharm.）） 醋酸甲地孕酮/Megace®（BMS） 生长抑素类似物（醋酸奥曲肽/Sandostatin®（诺华公司（Novartis）））
糖皮质激素	消炎药用于减轻导致癌性疼痛的肿胀。	泼尼松龙 地塞米松/Decadron®（惠氏公司（Wyeth）））
芳香酶抑制剂	包含咪唑	酮康唑
mTOR 抑制剂	mTOR 信号转导途径最初是在免疫抑制剂雷帕霉素的研究中发现的。这种高度保守的途径响应环境因素调节细胞增殖和代谢，通过磷酸肌醇	西罗莫司（雷帕霉素）/Rapamune®（惠氏公司（Wyeth）） 坦罗莫司（CCI-779）/Torisel®（惠氏公司（Wyeth）） 地磷莫司（AP23573）/（阿瑞

[1840]	-3-激酶（PI-3K）将细胞生长因子受体信号传导与细胞生长、增殖和血管生成联系起来。	雅德制药公司(Ariad Pharm.)) 依维莫司(RAD00I)/Certican®（诺华公司（Novartis））

[1841] 除了上述抗癌剂之外，本文所述的抗B7-H3抗体和ADC可以与本文所述的药剂组合给予。此外，上述抗癌剂也可用于本发明的ADC中。

[1842] 在特定的实施例中，抗B7-H3抗体或ADC可以单独给予或与另一种抗癌剂一起给予，所述抗癌剂与抗体结合或协同作用以治疗与B7-H3活性相关的疾病。这些抗癌剂包括，例如本领域熟知的药剂(例如，细胞毒素、化学治疗剂、小分子和放射)。抗癌剂的实例包括但不限于Panorex(葛兰素威康公司(Glaxo-Welcome))、利妥昔单抗(IDEC公司/基因泰克公司(Genentech)/霍夫曼la罗氏公司(Hoffman la Roche))、吉妥单抗(惠氏公司(Wyeth))、阿仑单抗(Millennium公司)、替伊莫单抗(IDEC公司和先灵葆雅公司(Schering AG))、托西莫单抗(Corixa公司/葛兰素史克公司(GSK))、西妥昔单抗(英克隆公司(Imclone)/BMS公司)、阿瓦斯汀(基因泰克公司(Genentech))和赫塞汀(基因泰克公司(Genentech)/霍夫曼la罗氏公司(Hoffman la Roche))。其他抗癌剂包括但不限于美国专利号7,598,028和国际公开号WO2008/100624中公开的那些，其内容通过引用并入本文。可以在给予本发明的抗体或其抗原结合部分的同时或之前或之后给予一种或多种抗癌剂。

[1843] 在本发明的具体实施例中，本文所述的抗B7-H3抗体或ADC可用于与凋亡剂(例如Bcl-xL抑制剂或Bcl-2(B细胞淋巴瘤2)抑制剂(例如，ABT-199(维奈托克(venetoclax)))的组合疗法用于治疗受试者中的癌症，例如白血病。在一个实施例中，本文所述的抗B7-H3抗体或ADC可用于与Bcl-xL抑制剂的组合疗法中以治疗癌症。在一个实施例中，本文所述的抗B7-H3抗体或ADC可用于与维奈托克的组合疗法中以治疗癌症。

[1844] 在本发明的具体实施例中，本文所述的抗B7-H3抗体或ADC可用于与NAMPT抑制剂的组合疗法(参见US 2013/0303509中的抑制剂艾伯维公司(AbbVie,Inc.)的实例，其通过引用并入本文)中用于治疗有需要的受试者。NAMPT(也称为前B细胞集落增强因子(PBEF)和内脏脂肪素)是催化烟酰胺的磷酸核糖基化的酶，并且是挽救NAD的两种途径之一中的限速酶。在本发明的一个实施例中，本文所述的抗B7-H3抗体和ADC与NAMPT抑制剂组合给予，用于治疗受试者的癌症。

[1845] 在本发明的具体实施例中，本文所述的抗B7-H3抗体或ADC可以用在于SN-38的组合疗法中，SN-38是拓扑异构酶抑制剂伊立替康的活性代谢物。

[1846] 在本发明的其他实施例中，本文所述的抗B7-H3抗体或ADC可用在与PARP(聚ADP核糖聚合酶)抑制剂(例如，维利帕尼(veliparib))的组合疗法中，以治疗癌症(包括乳腺癌、卵巢癌和非-小细胞肺癌)。

[1847] 可以与本文所述的抗B7-H3抗体或抗B7-H3 ADC共同给予和/或配制的另外治疗剂的其他实例包括但不限于以下一种或多种：吸入性类固醇；β-激动剂，例如，短效或长效β-激动剂；白三烯或白三烯受体的拮抗剂；组合药物，如ADVAIR；IgE抑制剂，例如，抗IgE抗体(例如，XOLAIR®，奥马珠单抗)；磷酸二酯酶抑制剂(例如，PDE4抑制剂)；黄嘌呤；抗胆碱能药物；肥大细胞稳定剂，如色甘酸；IL-4抑制剂；IL-5抑制剂；嗜酸性粒细胞趋化因子/CCR3抑制剂；组胺或其受体(包括H1、H2、H3和H4)的拮抗剂，以及前列腺素D或其受体(DP1和

CRTH2)的拮抗剂。这种组合可用于治疗例如哮喘和其他呼吸障碍。可以与本文描述的抗B7-H3抗体或抗B7-H3 ADC共给予和/或配制的额外的治疗试剂的其他实例包括但不限于以下的一个或多个:抗PD1抗体(例如,派立珠单抗)、抗PD-L1抗体(例如阿特唑单抗)、抗CTLA-4抗体(例如,伊匹单抗)、MEK抑制剂(例如,曲美替尼)、ERK抑制剂、BRAF抑制剂(例如,达拉菲尼)、奥斯替尼(AZD9291)、埃罗替尼、吉非替尼、索拉非尼、CDK9抑制剂(例如,迪那西利(dinaciclib))、MCL-1抑制剂、替莫唑胺、Bcl-xL抑制剂、Bcl-2抑制剂(例如维奈托克)、依鲁替尼、mTOR抑制剂(例如,依维莫司)、PI3K抑制剂(例如,布帕利昔)、度维利塞(duvelisib)、艾代拉里斯(idelalisib)、AKT抑制剂、HER2抑制剂(例如,拉帕替尼)、Herceptin、紫杉烷(例如多西他赛、紫杉醇、纳米白蛋白结合型紫杉醇)、包含澳瑞他汀的ADC、包含的PBD(例如,罗武匹妥珠-特西林(rovalpituzumab tesirine))的ADC、包含美登木素生物碱(例如,TDM1)的ADC、TRAIL激动剂、蛋白酶体抑制剂(例如,硼替佐米)、和烟酰胺磷酸核糖基转移酶(NAMPT)抑制剂。可以与一种或多种抗B7-H3抗体或其片段共同给予和/或配制的治疗剂的另外实例包括以下一种或多种:TNF拮抗剂(例如,TNF受体的可溶性片段,例如p55或p75人TNF受体或其衍生物,例如75kD TNFR-IgG(75kD TNF受体-IgG融合蛋白,ENBREL));TNF酶拮抗剂,例如TNF转化酶(TACE)抑制剂;毒蕈碱受体拮抗剂;TGF-β拮抗剂;干扰素γ;吡非尼酮;化学治疗剂,例如甲氨蝶呤,来氟米特或西罗莫司(雷帕霉素)或其类似物,例如CCI-779;COX2和cPLA2抑制剂;NSAID;免疫调节剂;p38抑制剂,TPL-2、MK-2和NFkB抑制剂等。

[1848] 其他优选的组合是细胞因子抑制性消炎药(CSAID);其他人类细胞因子或生长因子以及这些细胞因子及生长因子的受体的抗体或拮抗剂,此类细胞因子及生长因子例如IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-18、IL-21、IL-31、干扰素、EMAP-II、GM-CSF、FGF、EGF、PDGF及内皮素-1。本发明的抗体或其抗原结合部分可与细胞表面分子(诸如CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80(B7.1)、CD86(B7.2)、CD90、CTLA、CTLA-4、PD-1)或其配体(包括CD154(gp39或CD40L))的抗体组合。

[1849] 优选的治疗剂组合可以干扰炎症级联中的不同点;优选的实例包括TNF拮抗剂,如嵌合、人源化或人TNF抗体,阿达木单抗(HUMIRA;D2E7;PCT公开号WO 97/29131和美国专利号6,090,382,通过引用并入本文),CA2(RemicadeTM),CDP 571,及其可溶性p55或p75TNF受体、衍生物,p75TNFR1gG(EnbrelTM)或p55TNFR1gG(来那西普),以及TNF转化酶(TACE)抑制剂;类似地,IL-1抑制剂(白细胞介素-1转换酶抑制剂,IL-1RA等)可由于同样的原因而有效。其他优选组合包括白介素4。

[1850] 本发明的药物组合物可包括“治疗有效量”或“预防有效量”的本发明的抗体或抗体部分。“治疗有效量”是指在必需剂量下及在必需时间内可有效达成所希望治疗结果的量。抗体或抗体部分的治疗有效量可由本领域中的熟练技术人员确定且可视以下因素而变化:诸如个体的疾病状态、年龄、性别及体重以及抗体或抗体部分在个体中引起所需反应的能力。治疗有效量还为抗体或抗体部分的治疗有益作用超过任何毒性或有害作用的量。“预防有效量”是指在必要的剂量和时间段内有效实现所期望预防结果的量。通常,由于预防剂量是在疾病之前或在疾病早期用于受试者,因此预防有效量将小于治疗有效量。

[1851] 可以调整剂量方案以提供最佳的所期望应答(例如,治疗或预防响应)。举例而言,可给予单一药团,可随时间给予若干分次剂量,或可依治疗情况的紧急性所指示按比例减

少或增加剂量。就易投药性及剂量的均一性而言，将非经肠组合物配制成单位剂型尤其有利。如本文所用的剂量单位形式是指适合作为待治疗的哺乳动物受试者的单位剂量的物理上离散的单位；每个单位含有预定量的活性化合物，经计算可与所需的药物载体一起产生所需的治疗效果。本发明的单位剂型的规格由下列情况指定且直接视下列情况而定：(a)活性化合物的独特特征及欲达成的特定治疗或预防效果，及(b)混合此类活性化合物以治疗个体敏感性的技术中的固有限制。

[1852] 治疗或预防有效量的本发明的ADC，抗体或抗体部分的示例性，非限制性范围是0.1mg/kg-20mg/kg，更优选1mg/kg-10mg/kg。在一个实施例中，本文所述的抗体或ADC的剂量为1mg/kg至6mg/kg、包括其中所述的各个剂量，例如，1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg和6mg/kg。在另一个实施例中，本文所述的抗体或ADC的剂量为1至200μg/kg，包括其中所述的各个剂量，例如1μg/kg、2μg/kg、3μg/kg、4μg/kg、5μg/kg、10μg/kg、20μg/kg、30μg/kg、40μg/kg、50μg/kg、60μg/kg、80μg/kg、100μg/kg、120μg/kg、140μg/kg、160μg/kg、180μg/kg和200μg/kg。应注意，剂量值可随欲缓解的病状的类型及严重程度变化。此外应了解，对任何特定受试者而言，特定给药方案应根据受试者需要及给予组合物或监督组合物给予的人员的专业判断而随时调整，且本文所阐述的剂量范围仅为例示性的，且不意欲限制所要求的组合物的范畴或实践。

[1853] 在一个实施例中，以0.1至30mg/kg的剂量，向有需要的受试者(例如，患有癌症的受试者)给予抗B7-H3 ADC(包括含有抗体huAb13v1、huAb3v2.5、或huAb3v2.6的ADC)。在另一个实施例中，以1至15mg/kg的剂量，向有需要的受试者(例如，患有癌症的受试者)给予呈ADC的抗B7-H3抗体(例如，huAb13v1、huAb3v2.5、huAb3v2.6或其抗原结合部分)。在另一个实施例中，以1至10mg/kg的剂量，向有需要的受试者(例如，患有癌症的受试者)给予呈ADC的抗B7-H3抗体(例如，huAb13v1、huAb3v2.5、huAb3v2.6或其抗原结合部分)。在另一个实施例中，以2至3的剂量，向有需要的受试者(例如，患有癌症的受试者)给予呈ADC的抗B7-H3抗体(例如，huAb13v1、huAb3v2.5、huAb3v2.6或其抗原结合部分)。在另一个实施例中，以1至4mg/kg的剂量，向有需要的受试者(例如，患有癌症的受试者)给予呈ADC的抗B7-H3抗体(例如，huAb13v1、huAb3v2.5、huAb3v2.6或其抗原结合部分)。

[1854] 在一个实施例中，以1至200μg/kg的剂量，向有需要的受试者(例如，患有癌症的受试者)给予呈ADC的本文所述的抗B7-H3抗体或ADC(例如，huAb13v1、huAb3v2.5、huAb3v2.6或其抗原结合部分)。在另一个实施例中，以5至150μg/kg的剂量，向有需要的受试者(例如，患有癌症的受试者)给予呈ADC的抗B7-H3抗体(例如，huAb13v1、huAb3v2.5、huAb3v2.6或其抗原结合部分)。在另一个实施例中，以5至100μg/kg的剂量，向有需要的受试者(例如，患有癌症的受试者)给予呈ADC的抗B7-H3抗体(例如，huAb13v1、huAb3v2.5、huAb3v2.6或其抗原结合部分)。在另一个实施例中，以5至90μg/kg的剂量，向有需要的受试者(例如，患有癌症的受试者)给予呈ADC的抗B7-H3抗体(例如，huAb13v1、huAb3v2.5、huAb3v2.6或其抗原结合部分)。在另一个实施例中，以5至80μg/kg的剂量，向有需要的受试者(例如，患有癌症的受试者)给予呈ADC的抗B7-H3抗体(例如，huAb13v1、huAb3v2.5、huAb3v2.6或其抗原结合部分)。在另一个实施例中，以5至70μg/kg的剂量，向有需要的受试者(例如，患有癌症的受试者)给予呈ADC的抗B7-H3抗体(例如，huAb13v1、huAb3v2.5、huAb3v2.6或其抗原结合部分)。在另一个实施例中，以5至60μg/kg的剂量，向有需要的受试者(例如，患有癌症的受试者)给

予呈ADC的抗B7-H3抗体(例如,huAb13v1、huAb3v2.5、huAb3v2.6或其抗原结合部分)。在另一个实施例中,以10至80μg/kg的剂量,向有需要的受试者(例如,患有癌症的受试者)给予呈ADC的抗B7-H3抗体(例如,huAb13v1、huAb3v2.5、huAb3v2.6或其抗原结合部分)。

[1855] 上述剂量可用于给予本文公开的抗B7-H3 ADC或抗体。

[1856] 另一方面,本申请提供一种用于体外检测样品(例如,生物样品,诸如血清、血浆、组织、和生检)中B7-H3的存在情况的方法。本发明方法可用于诊断病症,例如癌症。该方法包括:(i)使样品或对照样品与本文所述的抗B7-H3抗体或其片段接触;和(ii)检测在抗B7-H3抗体或其片段与样品或对照样品之间的复合物形成情况,其中相对于对照样品在样品中复合物形成方面的统计学显著变化指示样品中B7-H3的存在。

[1857] 鉴于它们结合人B7-H3的能力,本发明的抗人B7-H3抗体或其部分(及其ADC)可用于使用常规免疫分析,诸如酶联免疫吸附分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)或组织免疫组织化学来检测人B7-H3(例如,在生物样品中,诸如血清或血浆)。一方面,本发明提供一种用于检测生物样品中的人B7-H3的方法,其包含使生物样品与本发明的抗体或抗体部分接触且检测结合至人B7-H3的抗体(或抗体部分)或未结合抗体(或抗体部分),从而检测生物样品中的人B7-H3。可用可检测物质直接或间接标记抗体以促进已结合或未结合抗体的检测。适合的可检测物质包括各种酶、辅基、荧光材料、发光材料及放射性材料。合适的酶的实例包括辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶、或乙酰胆碱酯酶;合适的辅基复合物的实例包括链霉抗生物素蛋白/生物素和抗生物素蛋白/生物素;合适的荧光材料的实例包括伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪基胺荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白;发光材料的实例包括鲁米诺;并且合适的放射性物质的实例包括^{3}H、^{14}C、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I、^{177}Lu、^{166}Ho、或^{153}Sm。

[1858] 除了对抗体进行标记之外,可以通过竞争免疫分析,利用经可检测物质标记的rhB7-H3标准品及未标记的抗人B7-H3抗体,在生物流体中分析人B7-H3。在此分析中,将生物样品、经标记的rhB7-H3标准品及抗人B7-H3抗体合并且测定结合至未标记的抗体的经标记的rhB7-H3标准品的量。生物样品中人B7-H3的量与结合抗B7-H3抗体的标记的rhB7-H3标准品的量成反比。类似地,还可通过竞争免疫分析,利用经可检测物质标记的rhB7-H3标准品及未标记的抗人B7-H3抗体,分析生物流体中的人B7-H3。

[1859] 在又另一方面中,本申请提供一种用于检测活体内B7-H3的存在的方法(例如,在受试者中活体内成像)。本发明方法可用于诊断病症,例如B7-H3相关病症。该方法包括:(i)在允许抗体或片段与B7-H3结合的条件下,将本文所述的抗B7-H3抗体或其片段给予受试者或对照受试者;和(ii)检测在抗体或片段与B7-H3之间的复合物形成,其中相对于对照受试者,受试者中复合物形成的统计学显著变化表明存在B7-H3。

[1860] VI.药物组合物

[1861] 本发明还提供了药物组合物,所述药物组合物包含本发明的抗体或其抗原结合部分,或ADC和药学上可接受的载体。包含本发明抗体或ADC的药物组合物是用于但不限于诊断、检测或监控失调;预防、治疗、管理或改善失调或其一种或多种症状;和/或用于研究。在一个特定实施例中,组合物包含一种或多种本发明抗体。在另一实施例中,药物组合物包含一种或多种本发明抗体或ADC及一种或多种除本发明抗体或ADC以外的用于治疗B7-H3活性有害的失调的预防剂或治疗剂。优选地,预防剂或治疗剂已知适用于或已用于或当前正用

于预防、治疗、管理或改善病症或其一种或多种症状。根据这些实施例，组合物可进一步包含载体、稀释剂或赋形剂。

[1862] 本发明的抗体和抗体部分或ADC可以掺入适合给予受试者的药物组合物中。通常，药物组合物包含本发明的抗体或抗体部分及药学上可接受的载体。如本文所用，“药学上可接受的载体”包括生理学上兼容的任何及所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌剂及抗真菌剂、等张剂及吸收延迟剂及其类似物。药学上可接受的载体的实例包括水、生理食盐水、磷酸盐缓冲盐水、右旋糖、甘油、乙醇及其类似物中的一个或多个以及其组合。在许多情况下，在组合物中包括等张剂，例如糖、多元醇(诸如甘露糖醇、山梨糖醇)或氯化钠将为优选的。药学上可接受的载体可进一步包含极少量的辅助物质，诸如湿润剂或乳化剂、防腐剂或缓冲剂，其可增加抗体或抗体部分或ADC的存放期或有效性。

[1863] 各种传递系统是已知的且其可用于给予一种或多种本发明抗体或ADC或一种或多种本发明抗体与有用于预防、管理、治疗或改善失调或其一或多种症状的预防剂或治疗剂的组合，例如囊封于脂质体、微粒、微胶囊、能够表达抗体或抗体片段的重组细胞中；受体介导的内饮作用(参见例如Wu及Wu,J.Biol.Chem[生物化学杂志].262:4429-4432(1987))；将核酸构建为反转录病毒或其他载体之一部分；等等；给予本发明的预防剂或治疗剂的方法包括但不限于非经肠给予(例如，皮内、肌肉内、腹膜内、静脉内和皮下)、硬膜外给予、瘤内给予和粘膜给予(例如，鼻内和口服途径)。另外，还可使用肺部给药，例如使用吸入器或喷雾器，及用气雾剂配制。参见例如，美国专利号6,019,968、5,985、320、5,985,309、5,934、272、5,874,064、5,855,913、5,290、540、和4,880,078；以及PCT公开号WO 92/19244、WO 97/32572、WO 97/44013、WO 98/31346、和WO 99/66903，其各自以全文引用之方式并入本文中。在一个实施例中，本发明抗体、组合疗法或本发明组合物使用Alkermes AIR®经肺药物递送技术(阿尔凯默斯公司(Alkermes,Inc.)，剑桥，麻省)给药。在一个特定实施例中，本发明的预防剂或治疗剂系肌肉内、静脉内、瘤内、经口、鼻内、经肺或皮下给予。预防剂或治疗剂可通过任何便利途径给药，例如通过输注或弹丸式注射，通过经上皮或黏膜皮肤衬层(例如口腔黏膜、直肠及肠黏膜等)吸收，且可与其他生物活性剂一起给药。投药可为全身性或局部的。

[1864] 在一个特定实施例中，可能需要将本发明的预防剂或治疗剂局部给予至需要治疗的区域；此可通过例如但不限于局部输注、注射或借助于植入物来达成，所述植入物为多孔或无孔材料，包括膜及基质，诸如硅橡胶膜(silastic membrane)、聚合物、纤维基质(例如Tissuel®)或胶原蛋白基质。在一个实施例中，将有效量的一种或多种本发明抗体拮抗剂局部给予至受试者的受侵袭区域，从而预防、治疗、管理和/或改善病症或其症状。在另一实施例中，将有效量的一种或多种本发明抗体与有效量的一种或多种除本发明抗体以外的疗法(例如，一种或多种预防剂或治疗剂)组合局部给予至受试者的受影响区域，从而预防、治疗、管理和/或改善失调或其一种或多种症状。

[1865] 在另一实施例中，本发明的预防剂或治疗剂可以在控制释放或持续释放系统中传递。在一个实施例中，泵可用于实现控制或持续释放(参见Langer,同上;Sefton,1987,CRC Crit.Ref.Biomed.Eng.14:20;Buchwald等人,1980,Surgery[外科]88:507;Saudek等人,1989,N.Engl.J.Med.[新英格兰医学杂志]321:574)。在另一个实施例中，聚合物材料可用于实现本发明疗法的控制或持续释放(参见，例如，Medical Applications of Controlled

Release[控释的医学应用],Langer和Wise(编),CRC出版社,佛罗里达州波卡拉顿(1974);Controlled Drug Bioavailability,Drug Product Design and Performance[控释药物生物利用度、药物产品设计和性能],Smolen和Ball(编),威利出版社,纽约(1984);Ranger和Peppas,1983,J.,Macromol.Sci.Rev.Macromol.Chem.[高分子科学杂志-高分子化学研究进展]23:61;还参见Levy等人,1985,Science[科学]228:190;During等人,1989,Ann.Neurol.[神经病学年鉴]25:351;Howard等人,1989,J.Neurosurg.[神经外科杂志]71:105);美国专利号5,679,377;美国专利号5,916,597;美国专利号5,912,015;美国专利号5,989,463;美国专利号5,128,326;PCT公开号WO 99/15154;和PCT公开号WO 99/20253。用于持续释放调配物的聚合物的实例包括但不限于聚(甲基丙烯酸2-羟基乙酯)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸)、聚(乙烯-共-乙酸乙烯酯)、聚(甲基丙烯酸)、聚乙交酯(PLG)、聚酸酐、聚(N-乙烯吡咯啶酮)、聚(乙烯醇)、聚丙烯酰胺、聚(乙二醇)、聚丙交脂(PLA)、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLGA)及聚原酸酯。在一个优选实施例中,用于持续释放配制品中的聚合物为惰性,不含可滤出杂质,储存稳定,无菌且生物可降解。在另一个实施例中,可以将受控释放或持续释放系统置于预防或治疗靶标附近,因此仅需要全身剂量的一小部分(参见例如,Goodson,受控释放的医疗应用(Medical Applications of Controlled Release),同上,第2卷,第115-138页(1984))。

[1866] 受控释放系统在Langer的综述(1990,Science[科学]249:1527-1533)中有所论述。本领域中的熟练技术人员已知的任何技术皆可用于制造包含一种或多种本发明治疗剂的持续释放配制品。参见,例如美国专利号4,526,938、PCT公开号WO 91/05548、PCT公开号WO 96/20698、Ning等人,1996,“使用持续释放凝胶的人结肠癌异种移植物的瘤内放射免疫治疗(Intratumoral Radioimmunotheraphy of a Human Colon Cancer Xenograft Using a Sustained-Release Gel),”Radiotherapy&Oncology[放射治疗和肿瘤学]39:179-189、Song等人,1995,“抗体介导的肺部靶向长循环乳液(Antibody Mediated Lung Targeting of Long-Circulating Emulsions),”PDA Journal of Pharmaceutical Science&Technology[PDA药学科技]50:372-397、Cleek等人,1997,“可生物降解的聚合物载体用于心血管应用的bFGF抗体(Biodegradable Polymeric Carriers for a bFGF Antibody for Cardiovascular Application),”Pro.Int'l.Symp.Control.Rel.Bioact.Mater.[控制释放生物活动国际研讨会记录]24:853-854、和Lam等人,1997,“用于局部递送的重组人源化单克隆抗体的微囊化(Microencapsulation of Recombinant Humanized Monoclonal Antibody for Local Delivery),”Proc.Int'l.Symp.Control Rel.Bioact.Mater.[控制释放生物活动国际研讨会记录]24:759-760,其各自全部内容通过引用并入本文。

[1867] 在本发明组合物是编码预防剂或治疗剂的核酸的特定实施例中,可体内给予该核酸以促进其所编码的预防剂或治疗剂的表达,这是通过将其构建为适当核酸表达载体的一部分且将其给予,使得其变成细胞内,例如通过使用反转录病毒载体(参见美国专利第4,980,286号),或通过直接注射,或通过使用微粒轰击(例如,基因枪;生物射弹(Biolistic),杜邦公司(Dupont)),或用脂质或细胞表面受体或转染剂包覆包衣,或通过将其与已知进入细胞核的同源盒样肽进行连接一起给药(参见,例如Joliot等人,1991,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]88:1864-1868)。可替代地,核酸可通过同源重组引入细胞内且并入宿主细胞DNA内用于表达。

[1868] 将本发明的药物组合物配制成与其预期给予途径兼容。给予途径的实例包括但不限于非经肠，例如静脉内、皮内、皮下、经口、鼻内(例如吸入)、经皮(例如局部)、经黏膜及经直肠给予。在一个特定实施例中，组合物根据常规程序配制为适合于静脉内、皮下、肌肉内、经口、鼻内或局部给予给人类的药物组合物。通常，用于静脉内给予的组合物为于无菌等张水性缓冲剂中的溶液。必要时，组合物还可包括增溶剂及诸如利多卡因(lignocaine)的局部麻醉剂以减轻注射位点的疼痛。

[1869] 若本发明方法包含鼻内给予组合物，则该组合物可配制成气雾剂形式、喷雾剂、薄雾或滴液形式。具体而言，根据本发明使用的预防剂或治疗剂可以借助于使用适合推进剂(例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他适合气体)，以气雾剂喷雾呈现形式从加压包装或喷雾器传递。在加压气雾剂的情况下，剂量单位可通过提供传递计量的量的阀来决定。可配制含有化合物与诸如乳糖或淀粉的适合粉末基质的粉末混合物的胶囊及药筒(例如，由明胶构成)用于吸入器或吹入器中。

[1870] 若本发明方法包含经口给予，则组合物可配制为锭剂、胶囊、扁囊剂、胶囊锭、溶液、悬浮液及其类似者的口服形式。锭剂或胶囊可通过常规手段用药学上可接受的赋形剂制备，此类赋形剂诸如黏合剂(例如，预胶凝化玉米淀粉、聚乙烯吡咯啶酮或羟丙基甲基纤维素)；填充剂(例如，乳糖、微晶纤维素或磷酸氢钙)；润滑剂(例如，硬脂酸镁、滑石或硅石)；崩解剂(例如，马铃薯淀粉或乙醇酸淀粉钠)；或湿润剂(例如，月桂基硫酸钠)。锭剂可通过本领域中熟知的方法包覆。用于经口给予的液体制剂可呈但不限于溶液、糖浆或悬浮液形式，或其可呈现为干燥产品，在使用之前用水或其他适合媒剂复原。此类液体制剂可通过常规手段用药学上可接受的添加剂制备，此类添加剂诸如悬浮剂(例如山梨糖醇糖浆、纤维素衍生物或氢化食用脂肪)；乳化剂(例如卵磷脂或阿拉伯胶(acacia))；非水性媒剂(例如杏仁油、油性酯、乙醇或分馏植物油)；及防腐剂(例如，对羟基苯甲酸甲酯或丙酯或山梨酸)。此类制剂还可酌情含有缓冲盐、调味剂、着色剂及甜味剂。用于经口给予的制剂可经适当配制以缓慢释放、控制释放或持续释放预防剂或治疗剂。

[1871] 本发明方法可包含与气雾剂一起配制的组合物的经肺给予，例如通过使用吸入器或喷雾器。参见例如，美国专利号6,019,968、5,985,320、5,985,309、5,934,272、5,874,064、5,855,913、5,290,540、和4,880,078；以及PCT公开号WO 92/19244、WO 97/32572、WO 97/44013、WO 98/31346、和WO 99/66903，其各自以全文引用之方式并入本文中。在一个特定实施例中，本发明抗体、组合疗法和/或本发明组合物使用Alkermes AIR®经肺药物递送技术(阿尔凯默斯公司(Alkermes,Inc.)，剑桥，麻省.)给予。

[1872] 本发明方法可包含针对通过注射(例如通过弹丸式注射或连续输注)非经肠给予而配制的组合物的给予。用于注射的配制品可以以具有添加的防腐剂的单位剂型而存在(例如在安瓿中或在多剂量容器中)。组合物可采用诸如于油性或水性媒剂中的悬浮液、溶液或乳液的形式且可含有诸如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂的配制剂。可替代地，该活性成分在使用前可处于粉末形式以与合适的媒剂(例如无菌无热原质水)组构。

[1873] 本发明方法可另外包含给予配制为储槽式制剂的组合物。此类长效调配物可通过植入(例如，皮下或肌肉内)或通过肌肉内注射来给予。因此，举例而言，组合物可用适合的聚合或疏水性物质(例如，如于可接受的油中的乳液)或离子交换树脂或微溶衍生物(例如，微溶盐)调配。

[1874] 本发明方法涵盖给予经配制为中性或盐形式的组合物。药学上可接受的盐包括与阴离子形成的盐，诸如衍生自盐酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等的盐；及与阳离子形成的盐，诸如衍生自氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氢氧化钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-乙基氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因(procaine)等的盐。

[1875] 一般而言，组合物的成分单独提供或以单位剂型混合在一起，例如呈于标明活性剂的量的气密密封式容器(诸如安瓿或药囊)中的干燥冻干粉末或无水浓缩物形式。当给予模式为输注时，组合物可用含有无菌药物级水或生理食盐水的输注瓶分配。当给予模式为注射时，可提供一安瓿注射用无菌水或生理食盐水以使得可在给予之前混合成分。

[1876] 具体而言，本发明还规定，本发明的一种或多种预防剂或治疗剂或者药物组合物是封装于标明药剂的量的气密密封式容器(诸如安瓿或药囊)中。在一个实施例中，本发明的一种或多种预防剂或治疗剂或者药物组合物是以干燥无菌冻干粉末或无水浓缩物形式提供于气密密封式容器中且其可复原(例如用水或生理食盐水)至适当浓度以向受试者给予。优选地，本发明的一种或多种预防剂或治疗剂或药物组合物是以至少5mg、至少10mg、至少15mg、至少25mg、至少35mg、至少45mg、至少50mg、至少75mg或至少100mg的单位剂量以干燥无菌冻干粉末形式提供于气密密封式容器中。本发明的冻干预防剂或治疗剂或药物组合物应在2℃至8℃下储存在其初始容器中，且本发明的预防剂或治疗剂或药物组合物应在复原后1周内、5天内、72小时内、48小时内、24小时内、12小时内、6小时内、5小时内、3小时内或1小时内给予。在一个替代实施例中，本发明的一种或多种预防剂或治疗剂或药物组合物系以液体形式提供于标明药剂的数量及浓度的气密密封式容器中。优选地，液体形式的所给予组合物以至少0.25mg/ml、至少0.5mg/ml、至少1mg/ml、至少2.5mg/ml、至少5mg/ml、至少8mg/ml、至少10mg/ml、至少15mg/kg、至少25mg/ml、至少50mg/ml、至少75mg/ml或至少100mg/ml提供于气密密封式容器中。液体形式应在2℃至8℃下储存在其初始容器中。

[1877] 本发明的抗体及抗体部分可并入适用于非经肠给予的药物组合物中。抗体或抗体部分优选将制备为含有0.1-250mg/ml抗体的可注射溶液。可注射溶液可由液体或冻干剂型构成，于燧石或琥珀小瓶、安瓿或预填充注射器中。缓冲剂可为L-组氨酸(1-50mM)，最优选地5-10mM，pH 5.0至7.0(最优选pH 6.0)。其他适合缓冲剂包括但不限于琥珀酸钠、柠檬酸钠、磷酸钠或磷酸钾。可使用浓度为0-300mM(对于液体剂型，最优选为150mM)的氯化钠来修改溶液的毒性。对于冻干剂型，可包括低温保护剂，主要为0-10％蔗糖(最优选为0.5-1.0％)。其他适合的低温保护剂包括海藻糖及乳糖。对于冻干剂型，可包括膨化剂，主要为1-10％甘露糖醇(最优选为2-4％)。液体及冻干剂型中均可使用稳定剂，主要为1-50mM L-甲硫氨酸(5-10mM最佳)。其他适合的膨化剂包括甘氨酸、精氨酸，可以0-0.05％聚山梨醇酯80(最优选为0.005-0.01％)形式包括。其他界面活性剂包括但不限于聚山梨醇酯20及BRIJ界面活性剂。按用于非经肠给予的可注射溶液制备的包含本发明的抗体及抗体部分的药物组合物可以进一步包含适用作佐剂的试剂，诸如用于增大治疗蛋白(例如抗体)的吸收或分散的试剂。特别适用的佐剂为是透明质酸酶，例如Hylenex®(重组人透明质酸酶)。在可注射溶液中添加玻尿酸酶改良非经肠投药、尤其皮下投药后的人类生物可用性。其还允许伴随较少疼痛及不适的较大注射部位体积(即大于1ml)，且注射部位反应的发生率极小。(参见WO2004078140、US2006104968，其以引用的方式并入本文中)。

[1878] 本发明的组合物可呈多种形式。这些形式包括(例如)液体、半固体及固体剂型，诸

如液体溶液(例如,可注射溶液及可输注溶液)、分散液或悬浮液、锭剂、丸剂、散剂、脂质体及栓剂。优选形式视预期投药模式及治疗应用而定。典型的优选组合物呈可注射或可输注溶液的形式,诸如与用于使人类经其他抗体被动免疫的组合物类似的组合物。优选给予模式为非经肠(例如,静脉内、皮下、腹膜内、肌肉内)。在一个优选实施例中,通过静脉内输注或注射给予抗体。在另一优选实施例中,通过肌肉内或皮下注射给予抗体。

[1879] 治疗组合物通常必须无菌且在制造及储存条件下稳定。组合物可配制为溶液、微乳液、分散液、脂质体或适合于高药物浓度的其他有序结构。无菌可注射溶液可通过将所需量的活性化合物(即,抗体或抗体部分)与以上所列成分中的一者或组合一起并入适当溶剂中、随后视需要过滤灭菌来制备。一般而言,分散液是通过将活性化合物并入含有基本分散介质及来自以上所列成分的所需其他成分的无菌媒剂中来制备。在用于制备无菌可注射溶液的无菌冻干粉末的情况下,优选制备方法为真空干燥及喷雾干燥,其得到活性成分加上来自先前经无菌过滤的活性成分溶液的任何其他所需成分的粉末。溶液的适当流动性可例如通过使用诸如卵磷脂的包衣、在分散液的情况下通过维持所需粒度及通过使用界面活性剂来维持。可注射组合物的延长吸收可通过在组合物中包括例如单硬脂酸盐及明胶的延迟吸收剂来达成。

[1880] 本发明的抗体及抗体部分或ADC可通过本领域中已知的各种方法给予,但对于许多治疗应用,优选给予途径/模式为皮下注射、静脉内注射或输注。如本领域中的熟练技术人员应了解,投药途径和/或模式将视所需结果而变化。在某些实施例中,活性化合物可用将保护化合物不会快速释放的载体制备,诸如控制释放配制物,包括植入物、经皮贴片及微囊封传递系统。可使用生物可降解的生物兼容性聚合物,诸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。许多用于制备此类配制物的方法已获得专利或为本领域中的熟练技术人员所熟知。参见例如Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems[持续和控释药物递送系统],J.R.Robinson,编.,Marcel Dekker,Inc.[马塞尔·德克公司],纽约,1978。

[1881] 在某些实施例中,本发明的抗体或抗体部分或ADC可与例如惰性稀释剂或可同化的可食用载体一起经口给予。该化合物(及视需要选用的其他成分)还可密封于硬壳或软壳明胶胶囊中,压缩成锭剂,或直接并入受试者的饮食中。对于经口治疗性投药,可将化合物与赋形剂合并且以可摄取锭剂、经颊锭剂、糖衣锭、胶囊、酏剂、悬浮液、糖浆、粉片及其类似者的形式使用。为通过除非经肠给予以外的形式给予本发明的化合物,可能需要将该化合物用防止其失活的材料包覆或与防止其失活的材料共给予。

[1882] 在其他实施例中,本发明的抗体或抗体部分或ADC可结合至基于聚合物的物质,使得该基于聚合物的物质可以赋予本发明的该抗体或抗体部分足够的大小,使得本发明的该抗体或抗体部分可得益于增强的渗透及滞留效应(EPR效应)(还参见PCT公开号WO 2006/042146A2及美国公开号2004/0028687A1、2009/0285757A1和2011/0217363A1及美国专利号7,695,719(其各自出于所有目的以全文引用的方式并入本文中))。

[1883] 还可将补充活性化合物并入组合物中。在某些实施例中,本发明的抗体或抗体部分或ADC是与一种或多种适用于治疗B7-H3活性有害的病症的额外治疗剂一起配制和/或共给予。例如,本发明的抗hB7-H3抗体或抗体部分或ADC可与一种或多种结合其他靶标的额外抗体(例如,结合细胞因子或结合细胞表面分子的抗体)一起配制和/或共给予。此外,本发

明的一种或多种抗体可与以上治疗剂中的两者或两者以上组合使用。此类组合疗法宜采用较低的治疗剂给予剂量，从而避免与各种单一疗法相关的可能毒性或并发症。

[1884] 在某些实施例中，针对B7-H3或其片段的抗体或ADC是与本领域中已知的延长半衰期的媒剂相关。此类媒剂包括但不限于Fc域、聚乙二醇及聚葡萄糖。此类媒剂描述于例如美国申请系列号09/428,082和公布的PCT申请号WO 99/25044中，其出于任何目的以引用的方式并入本文中。

[1885] 本领域中的熟练技术人员将易于了解，本文所述的本发明方法的其他适合修改及改编显而易见且可在不脱离本发明或其中所揭示的实施例的范畴的情况下使用适合的等效物进行。尽管本发明目前已得到详细描述，但通过参考下述实例将更清楚地理解本发明，所述实例被包括在内，仅用于举例说明性目的且不希望限制本发明。

[1886] 实例

[1887] 实例1:示例性Bcl-xL抑制剂的合成

[1888] 此实例提供了示例性Bcl-xL抑制性化合物W2.01-W2.91的合成方法。使用以下命名Bcl-xL抑制剂(W2.01-W2.91)和合成子(实例2.1-2.176):ACD/Name 2012年发布(Build 56084,2012年4月05日,高级化学发展公司(Advanced Chemistry Development Inc.),多伦多,安大略省)、ACD/Name 2014年发布(Build 66687,2013年10月25日,高级化学发展公司(Advanced Chemistry Development Inc.),多伦多,安大略省)、ChemDraw®9.0.7版(CambridgeSoft公司,马萨诸塞州剑桥市)、ChemDraw®12.0版(CambridgeSoft公司,马萨诸塞州剑桥市)、或ChemDraw®15.0.0.106专业版。使用以下命名Bcl-xL抑制剂和合成子中间体:ACD/Name 2012年发布(Build56084,2012年4月05日,高级化学发展公司(Advanced Chemistry Development Inc.),多伦多,安大略省)、ACD/Name 2014年发布(Build66687,2013年10月25日,高级化学发展公司(Advanced Chemistry Development Inc.),多伦多,安大略省)、ChemDraw®9.0.7版(CambridgeSoft公司,马萨诸塞州剑桥市)、ChemDraw®12.0版(CambridgeSoft公司,马萨诸塞州剑桥市)、或ChemDraw®15.0.0.106专业版。

[1889] 1.1 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({2-[2-(羧基甲氧基)乙氧基]乙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.01)的合成

[1890] 1.1.1 3-溴-5,7-二甲基金刚烷甲酸

[1891] 在0℃，向50mL圆底烧瓶中添加溴(16mL)。添加铁粉(7g)，并将该反应在0℃搅拌30分钟。添加3,5-二甲基金刚烷-1-甲酸(12g)。然后将混合物温至室温并搅拌3天。将冰与浓HCl的混合物倒入该反应混合物中。将所得悬浮液用Na_2SO_3(50g，于200mL水中)处理两次，并用二氯甲烷萃取三次。将合并的有机物用1N水性HCl洗涤，经硫酸钠干燥，过滤并浓缩，以给出粗标题化合物。

[1892] 1.1.2 3-溴-5,7-二甲基金刚烷甲醇

[1893] 向实例1.1.1(15.4g)在四氢呋喃(200mL)中的溶液中添加BH_3(1M，于四氢呋喃中，150mL)，并将该混合物在室温搅拌过夜。然后将该反应混合物经由逐滴添加甲醇而小心地猝灭。然后将混合物在真空下浓缩，并将残余物在乙酸乙酯(500mL)与2N水性HCl(100mL)之

间平衡。将水层用乙酸乙酯进一步萃取两次，并将合并的有机萃取物用水和盐水洗涤，经硫酸钠干燥，并过滤。蒸发溶剂，给出标题化合物。

[1894] 1.1.3 1-((3-溴-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-1H-吡唑

[1895] 向实例1.1.2(8.0g)在甲苯(60mL)中的溶液中添加1H-吡唑(1.55g)和氰基亚甲基三丁基磷烷(2.0g)，并将该混合物在90℃搅拌过夜。浓缩反应混合物，并且通过硅胶柱色谱(10:1庚烷:乙酸乙酯)纯化残余物，以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 324.2(M+H)$^+$。

[1896] 1.1.4 2-{[3,5-二甲基-7-(1H-吡唑-1-基甲基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基}乙醇

[1897] 向实例1.1.3(4.0g)在乙烷-1,2-二醇(12mL)中的溶液中添加三乙胺(3mL)。将该混合物在150℃在微波条件下(Biotage Initiator)搅拌45分钟。将混合物倒入水(100mL)中，并且用乙酸乙酯萃取三次。将合并的有机萃取物用水和盐水洗涤、经硫酸钠干燥、并过滤。蒸发溶剂给出残余物，将其通过硅胶色谱(用在庚烷中的20％乙酸乙酯然后用在二氯甲烷中的5％甲醇洗脱)纯化，以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 305.2(M+H)$^+$。

[1898] 1.1.5 2-({3,5-二甲基-7-[(5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙醇

[1899] 向实例1.1.4(6.05g)在四氢呋喃(100mL)中的冷却的(-78℃)溶液中添加n-BuLi(40mL，2.5M于己烷中)，并将该混合物在-78℃搅拌1.5小时。通过注射器添加碘代甲烷(10mL)，并将该混合物在-78℃搅拌3小时。然后将反应混合物用水性NH_4Cl猝灭并用乙酸乙酯萃取两次，并将合并的有机萃取物用水和盐水洗涤。经硫酸钠干燥后，过滤并浓缩溶液，并且将残余物通过硅胶柱色谱(用在二氯甲烷中的5％甲醇洗脱)纯化，以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 319.5(M+H)$^+$。

[1900] 1.1.6 1-({3,5-二甲基-7-[2-(羟基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-4-碘-5-甲基-1H-吡唑

[1901] 向实例1.1.5(3.5g)在N,N-二甲基甲酰胺(30mL)中的溶液中添加N-碘代丁二酰亚胺(3.2g)，并将该混合物在室温搅拌1.5小时。将反应混合物用乙酸乙酯(600mL)稀释并用水性$NaHSO_3$、水、和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥，过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的20％乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 445.3(M+H)$^+$。

[1902] 1.1.7 1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-4-碘-5-甲基-1H-吡唑

[1903] 在-40℃，将叔丁基二甲基甲硅烷基三氟甲磺酸酯(5.34mL)添加至实例1.1.6(8.6g)和2,6-二甲基吡啶(3.16mL)在二氯甲烷(125mL)中的溶液中，并允许反应温至室温过夜。浓缩混合物，并将残余物通过硅胶色谱法纯化，用5％-20％乙酸乙酯庚烷溶液洗脱，以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 523.4(M+H)$^+$。

[1904] 1.1.8 1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1H-吡唑

[1905] 在-78℃，将正丁基锂(8.42mL，2.5M，于己烷中)添加至在120mL四氢呋喃中的实例1.1.7(9.8g)中，并将该反应搅拌1分钟。添加硼酸三甲酯(3.92mL)并且将混合物搅拌5分钟。添加频哪醇(6.22g)，并且允许将反应升温至室温并搅拌2小时。将反应用pH 7缓冲液猝

灭，并将混合物倾倒到醚中。分离各层并将有机层在减压下浓缩。将残余物经由硅胶色谱法(用在庚烷中的1％-25％乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。

[1906] 1.1.9 6-氟-3-溴吡啶甲酸

[1907] 在5℃经1小时，将6-氨基-3-溴吡啶甲酸(25g)在400mL 1:1二氯甲烷/氯仿中的浆料添加至在二氯甲烷(100mL)中的四氟硼酸亚硝鎓(18.2g)中。将所得混合物搅拌另外的30分钟，温至35℃，并搅拌过夜。将反应冷却至室温，然后用NaH_2PO_4水溶液调节至pH4。将所得溶液用二氯甲烷萃取三次，并将合并的萃取物用盐水洗涤，经硫酸钠干燥，过滤并浓缩以提供标题化合物。

[1908] 1.1.10叔丁基3-溴-6-氟吡啶甲酸酯

[1909] 在0℃，将对-甲苯磺酰氯(27.6g)添加至实例1.1.9(14.5g)和吡啶(26.7mL)在二氯甲烷(100mL)和叔丁醇(80mL)中的溶液中。将反应搅拌15分钟，然后升温至室温，并且搅拌过夜。将该溶液浓缩并在乙酸乙酯与Na_2CO_3水溶液之间分配。将各层分离并且将水层用乙酸乙酯萃取。将有机层合并，用Na_2CO_3水溶液和盐水冲洗，经硫酸钠干燥，过滤，并浓缩以提供标题化合物。

[1910] 1.1.11甲基2-(5-溴-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[1911] 向甲基1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯盐酸化物(12.37g)和实例1.1.10(15g)在二甲基亚砜(100mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(12mL)，并将该混合物在50℃搅拌24小时。然后将混合物用乙酸乙酯(500mL)稀释并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥，过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在己烷中的20％乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e448.4$(M+H)^+$。

[1912] 1.1.12甲基2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[1913] 将实例1.1.11(3.08g)、实例1.1.8(5g)、三(二苯亚甲基丙酮)二钯(0)(126mg)、1,3,5,7-四甲基-8-十四烷基-2,4,6-三氧杂-8-磷金刚烷(170mg)、和K_3PO_4(3.65g)在1,4-二噁烷(25mL)和水(25mL)的混合物在90℃加热2小时。将混合物冷却并倾倒到1:1二乙醚:乙酸乙酯中。分离这些层并将有机物用饱和水性NaH_2PO_4溶液、水(2x)和盐水洗涤。有机层用硫酸钠干燥，滤过并浓缩。将残余物经由硅胶色谱法(用在庚烷中的1％-25％乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 799.6$(M+H)^+$。

[1914] 1.1.132-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

[1915] 将实例1.1.12(5g)和氢氧化锂一水合物(0.276g)在四氢呋喃(50mL)、甲醇(5mL)和水(15mL)的溶剂混合物中在70℃一起搅拌2天。将反应冷却、用1M HCl水溶液酸化，并用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机层用盐水洗涤，经硫酸钠干燥，过滤并浓缩。将残余物溶解于二氯甲烷(100mL)中，在-40℃冷却，并添加2,6-二甲基吡啶(1.8mL)和叔丁基二甲基甲硅烷基三氟甲磺酸酯(3.28g)。将该反应温热至室温并搅拌2小时。将混合物用醚稀释，并将各层分离。将有机层浓缩。将残余物溶于四氢呋喃中，并且用饱和K_2CO_3水溶液处理1小时。将

混合物用浓HCl酸化，并用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机层经硫酸钠干燥、过滤、并在减压下浓缩。将残余物经由硅胶色谱法(用在庚烷中的10％-100％乙酸乙酯然后用乙酸乙酯中的5％甲醇洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 785.6$(M+H)^+$。

[1916] 1.1.14叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[1917] 将实例1.1.13(970mg)、N,N-二异丙基乙基胺(208mg)、和2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲鎓六氟磷酸盐(HATU)(970mg)在7mL N,N-二甲基甲酰胺中在0℃搅拌10分钟。添加苯并[d]噻唑-2-胺(278mg)并将混合物在50℃搅拌24小时。将混合物冷却并用乙酸乙酯稀释。将有机层用水和盐水洗涤，用硫酸钠干燥，过滤并浓缩。将残余物溶解于四氢呋喃(50mL)中，并添加用四丁基氟化铵(10mL，1M，于四氢呋喃中)。将反应搅拌1小时，倒入乙酸乙酯中并用pH 7缓冲液和盐水洗涤。将有机层用无水硫酸钠干燥，过滤，并减压浓缩。将残余物经由硅胶色谱法(用在庚烷中的10％-100％乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 803.7$(M+H)^+$。

[1918] 1.1.15叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-氧代乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[1919] 向实例1.1.14(100mg)在二氯甲烷(1.3mL)中的环境溶液中一次性添加戴斯-马丁氧化剂(58.1mg)。将反应搅拌0.5小时，然后添加另外的戴斯-马丁氧化剂(8mg)。将反应搅拌1小时并通过添加约10％NaOH水溶液和二氯甲烷猝灭。分离各层并将有机层用约10％水性NaOH溶液洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥，过滤并在减压下浓缩以给出固体，将其不经进一步纯化用于下一反应。MS(ESI)m/e801.3$(M+H)^+$。

[1920] 1.1.16 2-(2-(2-((2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-(叔丁氧基羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)乙氧基)乙氧基)乙酸

[1921] 向2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙酸(22mg)和实例1.1.15(100mg)于甲醇(1.3mL)中的环境溶液中添加MP-$CNBH_3$(65mg，2.49mmol/g负载)。将反应温和地振荡过夜并通过0.4微米过滤器过滤。将粗材料通过反相HPLC(使用吉尔森(Gilson)系统，用含有0.1％v/v三氟乙酸的20％-80％乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥，以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 948.3$(M+H)^+$。

[1922] 1.1.17 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-(2-(羧基甲氧基)乙氧基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[1923] 向实例1.1.16(15mg)在二氯甲烷(1mL)中的环境溶液中添加三氟乙酸(1mL)。将反应搅拌16小时并然后在减压下浓缩。将残余物通过反相HPLC(使用吉尔森系统，用含有0.1％v/v三氟乙酸的20％-80％乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥，以提供标题化合物。^1H NMR(400MHz，二甲基亚砜-d_6)δppm 12.70(bs,2H)，8.29(s,1H)，8.03(d,1H)，7.79(d,1H)，7.62(d,1H)，7.53-7.42(m,3H)，7.40-7.32(m,2H)，7.29(s,1H)，6.96(d,1H)，4.96(bs,2H)，4.03(s,2H)，3.90(t,2H)，3.84(s,2H)，3.68(t,2H)，3.63-3.54(m,

6H),3.17-3.04(m,4H),3.00(t,2H),2.10(s,3H),1.45-1.40(m,2H),1.36-1.20(m,4H),1.21-0.96(m,7H),0.91-0.81(m,6H)。MS(ESI)m/e 892.3(M+H)$^+$。

[1924] 1.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.02)的合成

[1925] 1.2.1甲基2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[1926] 向实例1.1.11(2.25g)和[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II)(205mg)在乙腈(30mL)中的溶液中添加三乙胺(3mL)和频哪醇硼烷(2mL),并将该混合物在回流中搅拌3小时。将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法(用在己烷中的20%乙酸乙酯洗脱)对残余物进行纯化,以提供标题化合物。

[1927] 1.2.2甲基2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[1928] 向实例1.2.1(2.25g)在四氢呋喃(30mL)和水(10mL)中的溶液中添加实例1.1.6(2.0g)、1,3,5,7-四甲基-6-苯基-2,4,8-三氧杂-6-磷金刚烷(329mg)、三(二苯亚甲基丙酮)二钯(0)(206mg)和磷酸三钾(4.78g)。将混合物回流过夜、冷却并用乙酸乙酯(500mL)稀释。将所得混合物用水和盐水洗涤,并将有机层经硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物通过快速色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯,随后用在二氯甲烷中的5%甲醇洗脱)进行纯化以提供标题化合物。

[1929] 1.2.3甲基2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[1930] 向在冰浴中的实例1.2.2(3.32g)在二氯甲烷(100mL)中的冷溶液中按顺序添加三乙胺(3mL)和甲磺酰氯(1.1g)。将反应混合物在室温搅拌1.5小时,用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以给出标题化合物。

[1931] 1.2.4甲基2-(5-(1-((3-(2-叠氮乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[1932] 向实例1.2.3(16.5g)在N,N-二甲基甲酰胺(120mL)中的溶液中添加叠氮化钠(4.22g)。将该混合物在80℃加热3小时,冷却,用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。有机层用硫酸钠干燥,滤过并浓缩。将残余物通过快速色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。

[1933] 1.2.5 2-(5-(1-((3-(2-叠氮乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

[1934] 向实例1.2.4(10g)在四氢呋喃(60mL)、甲醇(30mL)和水(30mL)的混合物中的溶液中添加氢氧化锂一水合物(1.2g)。将该混合物在室温搅拌过夜并用2%水性HCl中和。将所得混合物浓缩,并且将残余物溶解于乙酸乙酯(800mL)中,并用盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以给出标题化合物。

[1935] 1.2.6叔丁基3-(1-((3-(2-叠氮乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲

基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯

[1936] 将实例1.2.5(10g)、苯并[d]噻唑-2-胺(3.24g)、氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒鎓六氟磷酸盐(5.69g)和N,N-二异丙基乙胺(5.57g)在N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中的混合物在60℃加热3小时,冷却并用乙酸乙酯稀释。将所得混合物用水和盐水洗涤。有机层用硫酸钠干燥,滤过并浓缩。将残余物通过快速色谱法(用在二氯甲烷中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。

[1937] 1.2.7叔丁基3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯

[1938] 向实例1.2.6(2.0g)在四氢呋喃(30mL)中的溶液中添加Pd/C(10%,200mg)。将混合物在氢气氛下搅拌过夜。将不溶材料过滤掉,并将滤液浓缩以提供标题化合物。

[1939] 1.2.8叔丁基6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[(2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-联苯-4,9-二氧杂-10λ^6-thia-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[1940] 向实例1.2.7(500mg)在N,N-二甲基甲酰胺(8mL)中的溶液中添加4-((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(334mg)。将反应在室温搅拌过夜并添加甲胺(0.3mL)以猝灭该反应。将所得混合物搅拌20分钟,并通过反相色谱法使用Analogix系统(C18柱)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的50%-100%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。

[1941] 1.2.9 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[1942] 将在二氯甲烷(5mL)中的实例1.2.8(200mg)用三氟乙酸(2.5mL)处理过夜。将反应混合物浓缩并通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(s,1H),8.32(s,2H),8.02(d,1H),7.78(d,1H),7.60(d,1H),7.51(d,1H),7.40-7.49(m,2H),7.31-7.39(m,2H),7.27(s,1H),6.95(d,1H),4.94(s,2H),3.87(t,2H),3.81(s,2H),3.15-3.25(m,2H),3.03-3.13(m,2H),3.00(t,2H),2.79(t,2H),2.09(s,3H),1.39(s,2H),1.22-1.34(m,4H),0.94-1.18(m,6H),0.85(s,6H)。MS(ESI)m/e 854.1$(M+H)^+$。

[1943] 1.3 2-{[(2-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}乙基)磺酰基]氨基}-2-脱氧-D-吡喃葡萄糖(化合物W2.03)的合成

[1944] 1.3.1 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[1945] 将在二氯甲烷(2.5mL)中的实例1.2.7(200mg)用三氟乙酸(2.5mL)处理过夜。将反应混合物浓缩并将残余物通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-60%

乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 746.2$(M+H)^+$。

[1946] 1.3.2(3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-(乙烯基磺酰氨基)四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基三乙酸酯

[1947] 在0℃,向(3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-氨基四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基三乙酸酯(7.7g)在二氯甲烷(100mL)中的悬浮液里添加2-氯乙磺酰氯(4.34g)。将混合物在0℃搅拌15分钟,并添加三乙胺(12.1mL)。将混合物在0℃搅拌1小时,温热至室温,并搅拌2天。将混合物用二氯甲烷稀释并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以给出标题化合物。

[1948] 1.3.3 N-((3R,4R,5S,6R)-2,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-3-基)乙烯磺酰胺

[1949] 向实例1.3.2(6.74g)于甲醇(150mL)中的溶液中添加三乙胺(10mL)。将混合物搅拌4天并浓缩。将残余物溶于甲醇中并用Dowex HCR-5处理直到溶液为中性的。将混合物过滤并将滤液进行浓缩。将残余物通过色谱法使用Sephadex LH-20(100g)柱(用甲醇洗脱)纯化以提供标题化合物。

[1950] 1.3.4 2-{[(2-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}乙基)磺酰基]氨基}-2-脱氧-D-吡喃葡萄糖

[1951] 将实例1.3.1(23.5mg)、实例1.3.3(42.4mg)、和N,N-二异丙基乙基胺(55μL)于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)和水(0.3mL)中的混合物搅拌5天。将混合物通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),8.42(s,1H),8.42(s,1H),8.03(d,1H),7.79(d,1H),7.55-7.66(m,1H),7.46-7.54(m,2H),7.42-7.47(m,1H),7.33-7.40(m,2H),7.29(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),2.97-3.14(m,6H),2.10(s,3H),1.44(s,2H),1.22-1.39(m,4H),0.97-1.20(m,6H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 1015.3$(M+H)^+$。

[1952] 1.4此段落有意留空。

[1953] 1.5 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(4-{[(3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基]甲基}苄基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.05)的合成

[1954] 1.5.1[4-((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三-甲氧基甲氧基-6-甲氧基甲氧基甲基-四氢-吡喃-2-基甲基)-苯基]-甲醇

[1955] 根据如下制备标题化合物:J.R.Walker等人,Bioorg.Med.Chem.[生物有机与药物化学]2006,14,3038-3048。MS(ESI)m/e 478$(M+NH_4)^+$。

[1956] 1.5.2 4-((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三-甲氧基甲氧基-6-甲氧基甲氧基甲基-四氢-吡喃-2-基甲基)-苯甲醛

[1957] 将实例1.5.1(1.000g)溶解于二氯甲烷(25mL)中并添加戴斯-马丁氧化剂(1.013g)。将溶液在室温下搅拌16小时。将溶液用二乙醚(25mL)稀释并添加2M水性碳酸钠溶液(25mL)。将混合物用二乙醚萃取三次。将有机萃取物合并、用盐水洗涤,并用无水硫酸

钠干燥。过滤后，将溶液在减压下浓缩，并通过硅胶柱色谱法(用在庚烷中的50％-70％乙酸乙酯洗脱)进行纯化。将溶剂在减压下蒸发以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 476$(M+NH_4)^+$。

[1958] 1.5.3乙酸(2R,3R,4R,5S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-(4-甲酰基-苄基)-四氢-吡喃-2-基甲基酯

[1959] 将实例1.5.2(660mg)溶解于甲醇(145mL)中。添加6M盐酸(8mL)，并将该溶液在室温搅拌两天。将溶剂在减压下去除，与乙酸乙酯共沸三次。将材料在真空下干燥四天。将材料溶解于N,N-二甲基甲酰胺(50mL)中。依序添加乙酸酐(12mL)、吡啶(6mL)、和N,N-二甲基吡啶-4-胺(10mg)，并将溶液在室温搅拌16小时。将溶液用水(150mL)稀释并且用乙酸乙酯(50mL)萃取三次。将有机物合并、用水洗涤、用盐水洗涤并用无水硫酸钠干燥。过滤后，将溶液在减压下浓缩，并通过硅胶色谱法(用在庚烷中的40％-50％乙酸乙酯洗脱)进行纯化。将溶剂在减压下蒸发以提供标题化合物。

[1960] 1.5.4(2R,3R,4R,5S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(4-(((2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-(叔丁氧基羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)甲基)苄基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[1961] 将实例1.5.7(40mg)和实例1.5.3(22.5mg)在二氯甲烷(1mL)中在室温下搅拌10分钟。添加三乙酰氧基硼氢化钠(14mg)，并将溶液在室温搅拌16小时。将材料通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中10％甲醇洗脱)进行纯化。将溶剂在减压下蒸发以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1236$(M+H)^+$。

[1962] 1.5.5 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(4-{[(3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基]甲基}苄基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[1963] 将实例1.5.4(68mg)溶解于甲醇(0.5mL)中。添加氢氧化锂水溶液(2M，1mL)，并将溶液在室温搅拌4.5小时。添加乙酸(0.1mL)，并将溶剂在真空下除去。使材料溶解于甲醇(2mL)中，并在室温下搅拌16小时。在真空下浓缩溶液。将残余物通过反相HPLC(使用具有150×30mm C18柱的吉尔森PLC 2020，用含有0.1％v/v三氟乙酸的20％-70％乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥，以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz，二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(bs,1H)，8.68(bs,2H)，8.04(d,1H)，7.80(d,1H)，7.62(d,1H)，7.51-7.43(m,3H)，7.39-7.24(m,6H)，6.96(d,1H)，5.23(t,1H)，4.96(s,2H)，4.56(d,1H)，4.42(dd,1H)，4.11(m,2H)，3.89(t,2H)，3.83(s,2H)，3.61-3.56(m,3H)，3.39(dd,1H)，3.22(t,1H)，3.15(t,1H)，3.09(d,1H)，3.01(m,6H)，2.89(t,1H)，2.60(m,1H)，2.10(s,3H)，1.43(s,2H)，1.30(q,4H)，1.14(m,4H)，1.03(q,2H)，0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 1012$(M+H)^+$。

[1964] 1.6 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.06)的合成

[1965] 1.6.1 3-((2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-(叔丁氧基羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)丙烷-1-磺酸

[1966] 将实例1.2.7(100mg)、1,2-二氧硫杂戊环2,2-二氧化物(13mg)和N,N-二异丙基乙基胺(19.07μL)于N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中的混合物加热至50℃过夜。将反应冷却并通过反相HPLC(C18柱)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 924.1(M+H)$^+$。

[1967] 1.6.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[1968] 将在二氯甲烷(2.5mL)中的实例1.6.1(40mg)用三氟乙酸(2.5mL)处理过夜。将反应混合物浓缩并将残余物通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d$_6$)δppm 12.86(s,1H),8.52(s,2H),8.04(d,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.41-7.55(m,3H),7.32-7.39(m,2H),7.29(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.49-3.58(m,2H),2.94-3.12(m,6H),2.56-2.64(m,2H),1.88-1.99(m,2H),1.41(s,2H),1.22-1.36(m,4H),0.96-1.20(m,6H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 868.3(M+H)$^+$。

[1969] 1.7 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2,3-二羟基丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.07)的合成

[1970] 向实例1.2.7(30mg)于二氯甲烷(3mL)中的溶液中添加2,3-二羟基丙醛(3.6mg)、和树脂上的NaCNBH$_3$(200mg)。将混合物搅拌过夜、过滤并将溶剂蒸发。将残余物溶解于二甲基亚砜/甲醇(1:1,3mL)中,并通过反相HPLC(使用吉尔森系统)(用在0.1%三氟乙酸水溶液中的10%-85%乙腈洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d$_6$)δppm 12.85(s,1H),8.27(s,2H),8.03(d,1H),7.79(d,1H),7.61(t,1H),7.33-7.54(m,6H),7.29(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,3H),3.72-3.89(m,8H),3.25-3.64(m,6H),2.99-3.10(m,4H),2.11(s,3H),1.00-1.52(m,8H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 820.3(M+H)$^+$。

[1971] 1.8 2-({[4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}甲基)苯基]磺酰基}氨基)-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖(化合物W2.08)的合成

[1972] 1.8.1(2R,3S,4S,5R,6S)-6-(乙酰氧基甲基)-3-(4-甲酰基苯磺酰氨基)四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基三乙酸酯

[1973] 将4-甲酰苯-1-磺酰氯(100mg)和(2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-氨基四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基三乙酸酯盐酸化物(563mg)添加至1,2-二氯乙烷(4mL)中。添加N,N-二异丙基乙胺(0.51mL),并将该溶液在55℃加热3天。将溶液在减压下浓缩,并通过硅胶快速柱色谱法(用在庚烷中的70%乙酸乙酯洗脱)进行纯化。将溶剂在减压下蒸发,并将材料溶于丙酮(4mL)中。添加盐酸(1M,4mL),并将该溶液在室温搅拌16小时。然后将溶液用在庚烷(20mL)中的70%乙酸乙酯萃取。将有机层用盐水洗涤并经无水硫酸钠干燥。在过滤后,将溶剂在减压下蒸发以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 514(M+H)$^+$。

[1974] 1.8.2(2R,3S,4S,5R,6S)-6-(乙酰氧基甲基)-3-(4-(((2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-(叔丁氧基羰基)吡啶-3-基)-

5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)甲基)苯磺酰氨基)四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基三乙酸酯

[1975] 通过用实例1.8.1取代实例1.5.4中的实例1.5.3来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1301$(M+H)^+$。

[1976] 1.8.3 2-({[4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}甲基)苯基]磺酰基}氨基)-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖

[1977] 通过用实例1.8.2取代实例1.5.5中的实例1.5.4来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(bs,1H),8.87(bs,2H),8.04(d,1H),7.91(d,2H),7.79(d,1H),7.70-7.55(m,3H),7.52-7.42(m,3H),7.39-7.33(m,2H),7.29(m,1H),6.96(d,1H),4.96(bs,2H),4.85(dd,1H),4.62-4.52(m,2H),4.32(m,2H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.70-3.35(m,10H),3.02(m,4H),2.91(m,1H),2.10(s,3H),1.44(bs,2H),1.37-1.22(m,4H),1.18-0.98(m,6H),0.93-0.82(m,6H)。MS(ESI)m/e 1075$(M+H)^+$。

[1978] 1.9 8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-{6-羧基-5-[1-({3-[2-({2-[1-(β-D-吡喃葡糖醛酸基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]乙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-基}-1,2,3,4-四氢异喹啉(化合物W2.09)的合成

[1979] 1.9.1(2R,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(2-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[1980] 向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-叠氮基-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(720mg)在叔丁醇(8mL)和水(4mL)中的溶液中添加丁-3-炔-1-醇(140mg)、硫酸铜(II)五水合物(5.0mg)和抗坏血酸钠(40mg)。在微波条件下(Biotage Initiator),将混合物在100℃搅拌20分钟。将反应混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释、用水和盐水洗涤、并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂提供标题化合物。MS(ESI)m/e 430.2$(M+H)^+$。

[1981] 1.9.2(2S,3S,4S,5R,6R)-2-(甲氧基羰基)-6-(4-(2-氧乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[1982] 在-78℃,向二甲基亚砜(0.5mL)在二氯甲烷(10mL)中的溶液中添加草酰氯(0.2mL)。将混合物在-78℃搅拌20分钟,并通过注射器添加(2R,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(2-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(233mg)在二氯甲烷(10mL)中的溶液。20分钟后,随着使温度升至室温,将三乙基胺(1mL)添加至混合物,并将混合物搅拌30分钟。将反应混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释、用水和盐水洗涤、并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出粗产物,将其不经进一步纯化用于下个反应中。MS(ESI)m/e 429.2$(M+H)^+$。

[1983] 1.9.3 8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-{6-羧基-5-[1-({3-[2-({2-[1-(β-D-吡喃葡糖醛酸基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]乙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-基}-1,2,3,4-四氢异喹啉

[1984] 向实例1.3.1(150mg)于二氯甲烷(10mL)中的溶液里添加实例1.9.2(86mg)和树脂上的$NaBH_3CN$(2.49mmol/g,200mg),并将该混合物搅拌过夜。然后将反应混合物过滤并浓

缩。将残余物溶解于四氢呋喃/甲醇/H_2O(2:1:1,12mL)并添加氢氧化锂一水合物(50mg)。将混合物搅拌过夜。浓缩混合物并将残余物通过反相HPLC(使用吉尔森系统)(用在0.1%三氟乙酸水溶液中的10%-85%乙腈洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),8.48(s,2H),8.20(s,1H),8.03(d,1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.32-7.53(m,5H),7.29(s,1H),6.96(d,1H),5.66(d,1H),4.96(s,2H),4.00(d,1H),3.76-3.92(m,6H),3.22-3.26(m,2H),2.96-3.15(m,8H),2.10(s,3H),0.99-1.52(m,14H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 1028.3$(M+H)^+$。

[1985] 1.10 3-[1-({3-[2-(2-{[4-(β-D-别吡喃糖基氧基)苄基]氨基}乙氧基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.10)的合成

[1986] 1.10.1 2-(2-((3-((1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙氧基)乙醇

[1987] 如在实例1.1.4中描述的,用2,2'-氧基二乙醇取代乙烷-1,2-二醇,来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 349.2$(M+H)^+$。

[1988] 1.10.2 2-(2-((3,5-二甲基-7-((5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-基)氧基)乙氧基)乙醇

[1989] 如在实例1.1.5中描述的,用实例1.10.1取代实例1.1.4来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 363.3$(M+H)^+$。

[1990] 1.10.3 2-(2-((3-((4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙氧基)乙醇

[1991] 如在实例1.1.6中描述的,用实例1.10.2取代实例1.1.5来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 489.2$(M+H)^+$。

[1992] 1.10.4 2-(2-((3-((4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙氧基)乙基甲烷磺酸酯

[1993] 向实例1.10.3(6.16g)于二氯甲烷(100mL)中的冷却溶液中添加三乙胺(4.21g),随后添加甲磺酰氯(1.6g),并将该混合物在室温搅拌1.5小时。然后将反应混合物用乙酸乙酯(600mL)稀释并用水和盐水洗涤。经硫酸钠干燥后,过滤并浓缩溶液,并且残余物不经进一步纯化用于下一步反应。MS(ESI)m/e 567.2$(M+H)^+$。

[1994] 1.10.5 2-(2-((3-((4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙氧基)乙胺

[1995] 在微波条件下(Biotage Initiator),将实例1.10.4(2.5g)在7N氨的甲醇溶液(15mL)中的溶液在100℃搅拌20分钟。将该反应混合物在真空下浓缩并将残余物用乙酸乙酯(400mL)稀释,并用水性$NaHCO_3$、水和盐水洗涤。经硫酸钠干燥后,过滤并浓缩溶液,并且残余物不经进一步纯化用于下一步反应。MS(ESI)m/e 488.2$(M+H)^+$。

[1996] 1.10.6叔丁基(2-(2-((3-((4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸酯

[1997] 向实例1.10.5(2.2g)在四氢呋喃(30mL)中的溶液中添加二-叔丁基二碳酸酯(1.26g)和4-二甲基氨基吡啶(100mg)。将该混合物在室温搅拌1.5小时,并用乙酸乙酯(300mL)稀释。将溶液用饱和水性$NaHCO_3$、水(60mL)、和盐水(60mL)洗涤。有机层用硫酸钠干

燥，滤过并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的20％乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e588.2(M+H)$^+$。

[1998] 1.10.7甲基2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[1999] 如在实例1.2.2中描述的，用实例1.10.6取代实例1.1.6来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 828.5(M+H)$^+$。

[2000] 1.10.8 2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

[2001] 如在实例1.2.5中描述的，用实例1.10.7取代实例1.2.4来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 814.5(M+H)$^+$。

[2002] 1.10.10叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2003] 如在实例1.2.6中描述的，用实例1.10.8取代实例1.2.5来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 946.2(M+H)$^+$。

[2004] 1.10.11 3-(1-((3-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2005] 如在实例1.1.17中描述的，用实例1.10.9取代实例1.1.16来制备标题化合物。

[2006] 1.10.12 3-[1-({3-[2-(2-{[4-(β-D-别吡喃糖基氧基)苄基]氨基}乙氧基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

[2007] 向实例1.10.10(88mg)和三乙胺(0.04mL)于二氯甲烷(1.5mL)中的溶液中添加4-(((2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯甲醛(27.7mg)、甲醇(1mL)、MP-CNBH$_3$(2.49mmol/g，117mg)和乙酸(18μL)。将该反应混合物搅拌过夜。将反应过滤并将滤液进行浓缩。将残余物通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1％v/v三氟乙酸的20％-60％乙腈水溶液洗脱)纯化，以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz，二甲基亚砜-d$_6$)δppm 7.99(d,1H),7.77(d,1H),7.60(d,1H),7.40-7.50(m,2H),7.29-7.39(m,6H),6.96(d,2H),6.76(d,1H),5.11(d,2H),4.92(s,2H),3.83-3.96(m,4H),3.77(s,2H),3.60-3.72(m,4H),3.01(d,2H),2.80(t,2H),2.09(s,3H),0.98-1.32(m,14H),0.82(s,6H)。MS(ESI)m/e 1058.3(M+H)$^+$。

[2008] 1.11 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-(2-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(化合物W2.11)的合成

[2009] 1.11.1叔丁基3-(1-((3-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯

[2010] 将实例1.10.9(6.8g)溶于二氯甲烷中的50％三氟乙酸(10mL)里并搅拌20分钟，并将溶剂在真空下除去。将残余物通过反相色谱法(用含有0.1％三氟乙酸的20％-80％乙腈水溶液洗脱)纯化，以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 790.2$(M+H)^+$。

[2011] 1.11.2叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(2-((2-(苯氧基磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2012] 在0℃，向实例1.11.1(200mg)和N,N-二异丙基乙基胺(146μL)于四氢呋喃(3mL)中的溶液中添加苯基乙烯磺酸酯(46mg)。将反应混合物在0℃搅拌30分钟，逐步温热至室温，搅拌过夜并浓缩以提供标题化合物。

[2013] 1.11.3 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(2-((2-(苯氧基磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2014] 将实例1.11.2(100mg)于二氯甲烷(5mL)中的溶液用三氟乙酸(2.5mL)处理过夜并浓缩，以提供标题化合物。MS(APCI)m/e 974.9$(M+H)^+$。

[2015] 1.11.4 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-(2-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}乙氧基)三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

[2016] 向实例1.11.3(195mg)于四氢呋喃(3mL)和甲醇(2mL)中的溶液中添加1M氢氧化钠水溶液(2mL)。将混合物搅拌过夜，并添加NaOH片状物(0.5g)。将所得混合物在40℃加热3小时、冷却并浓缩。将浓缩物通过反相色谱法(C18柱)(用在10mMNH_4OAc水溶液中的10％-70％乙腈洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.04(d,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.41-7.51(m,3H),7.32-7.39(m,2H),7.29(s,1H),6.88(d,1H),4.93(s,2H),3.89(t,2H),3.81(s,2H),3.60-3.66(m,4H),3.13-3.19(m,2H),3.05-3.10(m,2H),3.01(t,2H),2.79(t,2H),2.11(s,3H),1.34(s,2H),1.26(s,4H),0.96-1.22(m,6H),0.85(s,6H)。MS(ESI)m/e 898.2$(M+H)^+$。

[2017] 1.12 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-膦酰基乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.12)的合成

[2018] 1.12.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-(二乙氧基磷酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2019] 向实例1.2.7(307mg)在四氢呋喃(5mL)中的溶液中添加在水(2mL)中的二乙基乙烯基膦酸酯(176mg)。将反应混合物在70℃下搅拌3天并添加数滴乙酸。将混合物通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1％v/v三氟乙酸的10％-70％乙腈水溶液洗脱)纯化，以提供标题化合物。MS(APCI)m/e 966.8$(M+H)^+$。

[2020] 1.12.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-膦酰基乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2021] 向实例1.12.1(170mg)于二氯甲烷(2.5mL)中的溶液中添加溴三甲基硅烷(82μL)

和烯丙基三甲基硅烷(50.4μL)。将反应混合物搅拌过夜并添加水(0.02mL)。将所得混合物搅拌过夜并浓缩。将残余物通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.35(s,2H),8.03(d,1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.41-7.53(m,3H),7.33-7.40(m,2H),7.29(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.09(s,4H),3.01(t,2H),2.10(s,3H),1.85-2.00(m,2H),1.43(s,2H),1.19-1.37(m,4H),1.14(s,6H),0.87(s,6H)。MS(APCI)m/e 854.4$(M+H)^+$。

[2022] 1.13 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.13)的合成

[2023] 1.13.1 2-({3-[(4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基甲烷磺酸酯

[2024] 向实例1.1.6(6.16g)于二氯甲烷(100mL)中的冷却溶液中添加三乙胺(4.21g),随后添加甲磺酰氯(1.6g),并将该混合物在室温搅拌1.5小时。将反应混合物用乙酸乙酯(600mL)稀释并用水和盐水洗涤。经硫酸钠干燥后,过滤并浓缩溶液,并且残余物不经进一步纯化用于下一步反应。MS(ESI)m/e 523.4$(M+H)^+$。

[2025] 1.13.2 1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-4-碘-5-甲基-1H-吡唑

[2026] 在微波条件下(Biotage Initiator),将实例1.13.1(2.5g)在2M甲胺的甲醇溶液(15mL)中的溶液在100℃搅拌20分钟。将该反应混合物在真空下浓缩并将残余物用乙酸乙酯(400mL)稀释,并用水性$NaHCO_3$、水和盐水洗涤。经硫酸钠干燥后,过滤并浓缩溶液,并且残余物不经进一步纯化用于下一步反应。MS(ESI)m/e 458.4$(M+H)^+$。

[2027] 1.13.3叔丁基[2-({3-[(4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基甲酸甲酯

[2028] 向实例1.13.2(2.2g)在四氢呋喃(30mL)中的溶液中添加二-叔丁基二碳酸酯(1.26g)和催化量的4-二甲基氨基吡啶。将该混合物在室温搅拌1.5小时,并用乙酸乙酯(300mL)稀释。将溶液用饱和水性$NaHCO_3$、水(60mL)、和盐水(60mL)洗涤。有机层用硫酸钠干燥,滤过并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e558.5$(M+H)^+$。

[2029] 1.13.4甲基2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2030] 向实例1.2.1(4.94g)在四氢呋喃(60mL)和水(20mL)中的溶液中添加实例1.13.3(5.57g)、1,3,5,7-四甲基-8-十四烷基-2,4,6-三氧杂-8-磷金刚烷(412mg)、三(二苯亚甲基丙酮)二钯(0)(457mg)、和K_3PO_4(11g),并将该混合物在回流下搅拌24小时。将反应混合物冷却并用乙酸乙酯(500mL)稀释,用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)对残余物进行纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 799.1$(M+H)^+$。

[2031] 1.13.5 2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧

基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

[2032] 向实例1.13.4(10g)于四氢呋喃(60mL)、甲醇(30mL)和水(30mL)中的溶液中添加氢氧化锂一水合物(1.2g),并将该混合物在室温搅拌24小时。将反应混合物用2%水性HCl中和并在真空下浓缩。将残余物用乙酸乙酯(800mL)稀释并用水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂提供标题化合物。MS(ESI)m/e 785.1(M+H)$^+$。

[2033] 1.13.6叔丁基6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(叔丁氧基羰基)(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸酯

[2034] 向实例1.13.5(10g)在N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中的溶液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(3.24g)、氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒鎓六氟磷酸盐(5.69g)和N,N-二异丙基乙胺(5.57g),并将该混合物在60℃搅拌3小时。将反应混合物用乙酸乙酯(800mL)稀释并用水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,并用硅胶柱纯化(用在二氯甲烷中的20%乙酸乙酯洗脱)残余物,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 915.5(M+H)$^+$。

[2035] 1.13.7 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2036] 向实例1.13.6(5g)于二氯甲烷(20mL)中的溶液中添加三氟乙酸(10mL),并将混合物搅拌过夜。将溶剂在真空下蒸发,并将残余物溶于二甲基亚砜/甲醇(1:1,10mL)。将混合物通过反相色谱法使用Analogix系统和C18柱(300g),且用含有0.1%三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液洗脱进行纯化,以给出标题化合物。

[2037] 1.13.8 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2038] 将(R)-2-(((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-磺基丙酸(0.020g)、N,N-二异丙基乙基胺(0.045mL)和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(HATU,0.020g)的溶液在N,N-二甲基甲酰胺(0.75mL)中在室温下进行搅拌。搅拌30分钟后,添加实例1.13.7(0.039g),并将该反应搅拌另外的1小时。向反应中添加二乙胺(0.027mL)并继续搅拌3小时。将反应用水(0.75mL)和N,N-二甲基甲酰胺(1mL)稀释,用三氟乙酸(0.039mL)中和并通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.89(s,1H),8.11-8.02(m,4H),7.84(d,1H),7.66(d,1H),7.60-7.45(m,3H),7.45-7.36(m,2H),7.34(d,1H),7.00(dd,1H),5.00(s,2H),4.57-4.40(m,1H),3.93(t,2H),3.90-3.84(m,2H),3.58-3.43(m,2H),3.41-3.21(m,2H),3.18-3.02(m,3H),2.95-2.85(m,2H),2.76(td,2H),2.14(d,3H),1.51-0.85(m,18H)。MS(ESI)m/e 911.2(M+H)$^+$。

[2039] 1.14 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.14)的合成

[2040] 1.14.1二叔丁基(3-羟丙基)膦酸酯

[2041] 将NaH(60％在矿物油中,400mg)添加到N,N-二甲基甲酰胺(30mL)中的二叔丁基膦酸酯(1.93g)中,并将反应在室温下搅拌30分钟。添加(3-溴丙氧基)(叔丁基)二甲基硅烷(2.1g)并将反应搅拌过夜。将混合物用二乙醚(300mL)稀释,并将溶液用水洗涤三次并用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物溶解于20mL四氢呋喃中,并添加四丁基氟化铵(TBAF,1M于四氢呋喃中,9mL)。将该溶液搅拌20分钟,并且然后添加pH 7缓冲液(50mL)。将混合物吸收到二乙醚中,并分离,并将有机层用盐水洗涤,且然后浓缩。用在庚烷中的10％-100％乙酸乙酯,然后用在乙酸乙酯中的5％甲醇,将粗产物在硅胶上进行色谱,以提供标题化合物。

[2042] 1.14.2二叔丁基(3-氧丙基)膦酸酯

[2043] 将实例1.14.1(200mg)和戴斯-马丁氧化剂(370mg)在二氯甲烷(5mL)中搅拌2小时。将混合物吸收到乙酸乙酯中,并用1MNaOH水溶液洗涤两次且用盐水洗涤,且然后浓缩。用在庚烷中的50％-100％乙酸乙酯,然后用在乙酸乙酯中的10％甲醇,将粗产物在硅胶上进行色谱,以提供标题化合物。

[2044] 1.14.3叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((3-(二乙氧基磷酰基)丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2045] 分别用实例1.2.7和实例1.14.2替换实例1.10.10和4-(((2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯甲醛,如实例1.10.11中所述来制备标题化合物。MS(APCI)m/e980.9(M+H)$^+$。

[2046] 1.14.5 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2047] 如在实例1.12.2中描述的,用实例1.14.3替换实例1.12.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.37(s,2H),8.03(d,1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.42-7.53(m,3H),7.33-7.40(m,2H),7.29(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),3.86-3.93(m,2H),3.52-3.59(m,2H),2.93-3.06(m,6H),2.10(s,3H),1.71-1.89(m,2H),1.53-1.65(m,2H),1.43(s,2H),1.23-1.37(m,4H),0.96-1.19(m,6H),0.87(s,6H)。MS(APCI)m/e 868.3(M+H)$^+$。

[2048] 1.15 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.15)的合成

[2049] 将(R)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-磺基丙酸(0.050g)和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(0.049g)的溶液溶解于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中并添加N,N-二异丙基乙基胺(0.102mL)。搅拌15分钟后,添加实例1.3.1(0.100g),并将该反应搅拌另外的3小时。向反应中添加二乙胺(0.061mL)并继续搅拌过夜。将反应用2,2,2-三氟乙酸(0.090mL)中和,并用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)和水(1mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1％v/v三氟乙酸的20％-80％乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基

亚砜-d_6)δppm 12.86(s,1H),8.63(t,1H),8.15-8.01(m,4H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.56-7.41(m,3H),7.40-7.33(m,2H),7.30(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),4.08-3.97(m,1H),3.89(t,2H),3.82(s,2H),3.42-3.31(m,2H),3.28-3.17(m,1H),3.16-3.06(m,1H),3.01(t,2H),2.97(dd,1H),2.76(dd,1H),2.10(s,3H),1.39(s,2H),1.32-1.20(m,4H),1.19-1.07(m,4H),1.07-0.95(m,2H),0.85(s,6H)。MS(ESI)m/e 897.2(M+H)$^+$。

[2050] 1.16 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-(2-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(化合物W2.16)的合成

[2051] 1.16.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(2-((3-(di-叔丁氧基磷酰基)丙基)氨基)乙氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2052] 将实例1.10.10(338mg)和实例1.14.2(120mg)溶解于乙醇(20mL)中,并将溶液浓缩。使残余物吸收进乙醇(20mL)中并浓缩。然后将残余物溶解于二氯甲烷(10mL)中并向其中添加三乙酰氧基硼氢化钠(119mg),并将反应搅拌过夜。用在95:5乙酸乙酯/甲醇中的1%三乙胺,将粗混合物在硅胶上进行色谱,以提供标题化合物。MS(ESI)1080.3(M+H)$^+$。

[2053] 1.16.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-(2-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

[2054] 将实例1.16.1(22mg)在二氯甲烷(3mL)和三氟乙酸(3mL)中搅拌2天。将混合物浓缩并进行反相色谱(在Biotage Isolera One系统上,使用40g C18柱,并用在0.1%三氟乙酸/水中的10%-90%乙腈洗脱),以提供为三氟乙酸盐的标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.62(bs,1H),8.10(d,1H),7.86(d,1H),7.68(d,1H),7.57(d,1H),7.54(dd,1H),7.50(d,1H),7.42(m,2H),7.35(s,1H),7.02(d,1H),5.02(s,2H),3.94(m,2H),3.97(m,2H),3.68(m,2H),3.55(m,2H),3.15(m,1H),3.09(m,4H),2.55(m,4H),2.15(s,3H),1.86(m,1H),1.66(m,2H),1.45(m,2H),1.31(m,4H),1.19(m,4H),1.08(m,2H),0.90(s,6H)。MS(ESI)912.2(M+H)$^+$。

[2055] 1.17 3-{1-[(3-{2-[L-α-天冬氨酰(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.17)的合成

[2056] 1.17.1 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[{(2S)-4-叔丁氧基-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-4-氧代丁酰基}(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2057] 将实例1.13.7(0.060g)、(S)-4-叔丁基1-(2,5-二氧吡咯烷-1-基)2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯(0.034g)和N,N-二异丙基乙基胺的溶液在二氯甲烷(1mL)中一起搅拌。搅拌过夜后,将反应负载到硅胶上并使用0.5%-5%甲醇/二氯甲烷的梯度洗脱,以给出标题化合物。

[2058] 1.17.2 3-{1-[(3-{2-[L-α-天冬氨酰(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

[2059] 将实例1.17.1(0.049g)在二氯甲烷(1mL)中的溶液用三氟乙酸(0.5mL)处理并将反应搅拌过夜。将反应浓缩,溶解在N,N-二甲基甲酰胺(2mL)和水(0.5mL)中,然后使用吉尔森系统通过反相HPLC(用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),8.15(d,3H),8.03(d,1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.55-7.41(m,3H),7.36(td,2H),7.29(d,1H),6.95(d,1H),4.96(s,2H),4.55(s,1H),3.92-3.86(m,2H),3.60-3.47(m,2H),3.47-3.37(m,2H),3.32-3.21(m,1H),3.09-2.97(m,4H),2.92-2.72(m,3H),2.67-2.53(m,1H),2.10(s,3H),1.46-0.94(m,12H),0.85(s,6H)。MS(ESI)m/e 875.2$(M+H)^+$。

[2060] 1.18 6-{4-[({2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙基}[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基]氨基)甲基]苄基}-2,6-脱水-L-古洛糖酸(化合物W2.18)的合成

[2061] 1.18.1(2S,3S,4R,5S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-(4-溴甲基-苄基)-四氢-吡喃-2-甲酸甲酯

[2062] 根据如下文献中所述制备标题化合物:J.R.Walker等人,Bioorg.Med.Chem.[生物有机与药物化学]2006,14,3038-3048。MS(ESI)m/e518,520$(M+NH_4)^+$。

[2063] 1.18.2(2S,3S,4R,5S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-(4-甲酰基-苄基)-四氢-吡喃-2-甲酸甲酯

[2064] 将实例1.18.1(75mg)和吡啶N-氧化物(14mg)添加到乙腈(0.75mL)中。向溶液中添加氧化银(I)(24mg),并将溶液在室温搅拌16小时。添加无水硫酸钠(5mg),并将溶液搅拌五分钟。将该溶液过滤并浓缩。将粗材料通过硅胶快速柱色谱法(用在庚烷中的50%-70%乙酸乙酯洗脱)进行纯化。将溶剂在减压下蒸发以提供标题化合物。

[2065] 1.18.3(3R,4S,5R,6R)-2-(4-(((2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-(叔丁氧基羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)甲基)苄基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2066] 通过用实例1.18.2取代实例1.5.4中的实例1.5.3来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1222$(M+H)^+$。

[2067] 1.18.4{2-[2-(2-氧代-乙氧基)-乙氧基]-乙基}-氨基甲酸叔丁基酯

[2068] 通过用{2-[2-(2-羟基-乙氧基)-乙氧基]-乙基}-氨基甲酸叔丁基酯取代实例1.5.2中的实例1.5.1来制备标题化合物。

[2069] 1.18.5(3R,4S,5R,6R)-2-(4-(2-(2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-(叔丁氧基羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-14,14-二甲基-12-氧代-5,8,13-三氧杂-2,11-二氮杂十五烷基)苄基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2070] 通过用实例1.18.3取代实例1.5.4中的实例1.2.7、以及用实例1.18.4取代实例1.5.4中的实例1.5.3来制备标题化合物。MS(ESI)m/e1453$(M+H)^+$。

[2071] 1.18.6 6-{4-[({2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙基}[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-

吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基)甲基]苄基}-2,6-脱水-L-古洛糖酸

[2072] 通过用实例1.18.5取代实例1.5.5中的实例1.5.4来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.38(bs,1H),8.05(dd,1H),7.90-7.68(m,6H),7.62(m,2H),7.53-7.27(m,8H),6.94(d,1H),4.96(bs,1H),4.38(bs,4H),3.91-3.57(m,11H),3.37-3.11(m,14H),2.98(m,6H),2.61(m,1H),2.10(s,3H),1.44(bs,2H),1.26(m,4H),1.18-0.90(m,6H),0.87(bs,6H)。MS(ESI)m/e 1157(M+H)$^{+}$。

[2073] 1.19 4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}甲基)苯基已吡喃糖醛酸(化合物W2.19)的合成

[2074] 1.19.1(2R,3S,4R,5R,6R)-2-(4-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2075] 向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(2.42g)在乙腈(30mL)中的溶液中添加氧化银(I)(1.4g)和4-羟基苯甲醛(620mg)。将反应混合物搅拌4小时并过滤。将滤液浓缩,并将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的5%-50%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 439.2(M+H)$^{+}$。

[2076] 1.19.2 4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}甲基)苯基已吡喃糖醛酸

[2077] 向实例1.2.7(36mg)在四氢呋喃(2mL)和乙酸(0.2mL)中的溶液中添加实例1.19.1(21mg),随后添加$MgSO_4$(60mg)。将混合物搅拌1小时,然后添加在树脂上的$NaBH_3CN$(153mg)。然后将混合物搅拌3小时。过滤混合物,并且向滤液中添加氢氧化锂一水合物(20mg)。将混合物搅拌2小时,并用三氟乙酸酸化,并通过反相HPLC(吉尔森(Gilson)系统,用在0.1%三氟乙酸水溶液中的10%-85%乙腈洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(s,1H),8.57-8.72(m,2H),8.03(d,1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.34-7.53(m,6H),7.08(t,2H),6.95(d,1H),5.10(d,,1H),4.96(s,2H),4.06-4.15(m,4H),3.83-3.97(m,6H),3.26-3.42(m,8H),2.93-3.10(m,6H),2.10(s,3H),1.43(s,2H),1.24-1.38(m,6H),0.97-1.16(m,4H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 1028.3(M+H)$^{+}$。

[2078] 1.20 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-膦酰基乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.20)的合成

[2079] 1.20.1 2-((3,5-二甲基-7-((5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-基)氧基)乙醇

[2080] 向实例1.1.6(9g)和[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II)二氯甲烷(827mg)在乙腈(60mL)中的溶液中添加三乙胺(10mL)和频哪醇硼烷(6mL)。将混合物在回流下搅拌过夜,冷却并直接用于下一步骤。MS(ESI)m/e 445.4(M+H)$^{+}$。

[2081] 1.20.2叔丁基6-氯-3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2082] 向叔丁基3-溴-6-氯吡啶甲酸酯(5.92g)在四氢呋喃(60mL)和水(30mL)中的溶液

中添加实例1.20.1(4.44g)、1,3,5,7-四甲基-6-苯基-2,4,8-三氧杂-6-磷金刚烷(1.5g)、三(二苯亚甲基丙酮)二钯(0)(927mg)、和K_3PO_4(22g)。将混合物回流搅拌过夜,冷却、用乙酸乙酯(800mL)稀释并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过快速色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯,随后用在二氯甲烷中的5%甲醇洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 531.1$(M+H)^+$。

[2083] 1.20.3叔丁基3-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氯吡啶甲酸酯

[2084] 向实例1.20.2(3.2g)在N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中的溶液中添加咪唑(0.62g)和氯代叔丁基二甲基硅烷(1.37g)。将混合物搅拌过夜,用乙酸乙酯(300mL)稀释并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过快速色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e645.4$(M+H)^+$。

[2085] 1.20.4叔丁基3-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)吡啶甲酸酯

[2086] 向7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1,2,3,4-四氢喹啉(507mg)在1,4-二噁烷(10mL)和水(5mL)中的溶液中添加实例1.20.3(1.25g)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(136mg)、和氟化铯(884mg)。将该混合物在120℃在微波合成器(Biotage,Initiator)中加热20分钟。将混合物用乙酸乙酯(500mL)稀释,并且用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤,浓缩,并通过快速色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯、并然后用在二氯甲烷中的5%甲醇洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 741.5$(M+H)^+$。

[2087] 1.20.5叔丁基6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-(3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2088] 向双(2,5-二氧吡咯烷-1-基)碳酸酯(295mg)在乙腈(10mL)中的悬浮液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(173mg),并将该混合物搅拌1小时。添加实例1.20.4(710mg)在乙腈(10mL)中的溶液,并将该悬浮液搅拌过夜。将混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释、用水和盐水洗涤并经硫酸钠干燥。过滤后,浓缩有机相并通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e917.2$(M+H)^+$。

[2089] 1.20.6叔丁基6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2090] 向实例1.20.5(1.4g)在四氢呋喃(10mL)中的溶液中添加四丁基氟化铵(1.0M在四氢呋喃中,6mL)。将混合物搅拌3小时,用乙酸乙酯(300mL)稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 803.4$(M+H)^+$。

[2091] 1.20.7叔丁基6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2092] 向实例1.20.6(1.2g)在二氯甲烷(20mL)和三乙胺(2mL)中的冷却的(0℃)溶液中添加甲磺酰氯(300mg)。将混合物搅拌4小时,用乙酸乙酯(200mL)稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 881.3$(M+H)^+$。

[2093] 1.20.8叔丁基3-(1-((3-(2-叠氮乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)吡啶甲酸酯

[2094] 向实例1.20.7(1.5g)在N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中的溶液中添加叠氮化钠(331mg)。将混合物搅拌48小时,用乙酸乙酯(20.0mL)稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤,浓缩,并通过快速色谱法(用在二氯甲烷中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 828.4$(M+H)^+$。

[2095] 1.20.9叔丁基3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)吡啶甲酸酯

[2096] 向实例1.20.8(1.5g)在四氢呋喃(30mL)中的溶液中添加Pd/C(10%,200mg)。将混合物在氢气氛下搅拌过夜。将反应过滤,并将滤液浓缩以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 802.4$(M+H)^+$。

[2097] 1.20.10叔丁基6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-((2-(二乙氧基磷酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2098] 如在实例1.12.1中描述的,用实例1.20.9替换实例1.2.7来制备标题化合物。

[2099] 1.20.11 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-膦酰基乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2100] 如在实例1.12.2中描述的,用实例1.20.10替换实例1.12.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.40(s,2H),8.02(d,1H),7.74-7.89(m,3H),7.47(s,2H),7.38(t,1H),7.30(d,1H),7.23(t,1H),3.96(s,2H),3.90(s,2H),3.53-3.64(m,2H),3.03-3.18(m,2H),2.84(t,2H),2.23(s,3H),1.87-2.02(m,4H),1.46(s,2H),1.26-1.38(m,4H),1.12-1.23(m,4H),0.99-1.11(m,2H),0.89(s,6H)。MS(ESI)m/e 854.1$(M+H)^+$。

[2101] 1.21 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.21)的合成

[2102] 1.21.1叔丁基(2-((3,5-二甲基-7-((5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-基)氧基)乙基)(甲基)氨基甲酸酯

[2103] 向实例1.13.3(1.2g)在1,4-二噁烷中的溶液中添加双(苄腈)氯化钯(II)(0.04g)、4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷(0.937mL)和三乙胺(0.9mL)。将混合物在回流下加热过夜,用乙酸乙酯稀释,并用水(60mL)和盐水(60mL)洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以提供标题化合物。

[2104] 1.21.2叔丁基3-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氯吡啶甲酸酯

[2105] 如在实例1.1.12中描述的,分别用叔丁基3-溴-6-氯吡啶甲酸酯和实例1.21.1替换实例1.1.11和实例1.1.8来制备标题化合物。MS(APCI)m/e 643.9$(M+H)^+$。

[2106] 1.21.3叔丁基3-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基

金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)吡啶甲酸酯

[2107] 将实例1.21.2(480mg)、7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1,2,3,4-四氢喹啉(387mg)、二氯双(三苯基膦)-钯(II)(78mg)和氟化铯(340mg)在1,4-二噁烷(12mL)和水(5mL)中的混合物在100℃加热5小时。将反应冷却并用乙酸乙酯稀释。将所得混合物用水和盐水洗涤,并将有机层经硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物通过快速色谱法(用在庚烷中的50%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(APCI)m/e 740.4$(M+H)^+$。

[2108] 1.21.4叔丁基6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2109] 向苯并[d]噻唑-2-胺(114mg)在乙腈(5mL)中的溶液中添加双(2,5-二氧吡咯烷-1-基)碳酸酯(194mg)。将混合物搅拌1小时,并添加在乙腈(5mL)中的实例1.21.3(432mg)。将混合物搅拌过夜,用乙酸乙酯稀释,用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的50%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。

[2110] 1.21.5 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(甲氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2111] 将在二氯甲烷(5mL)中的实例1.2.4(200mg)用三氟乙酸(2.5mL)处理过夜。浓缩混合物以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.40(s,1H),8.30(s,2H),8.02(d,1H),7.85(d,1H),7.74-7.83(m,2H),7.42-7.53(m,2H),7.38(t,1H),7.30(d,1H),7.23(t,1H),3.93-4.05(m,2H),3.52-3.62(m,2H),2.97-3.10(m,2H),2.84(t,2H),2.56(t,2H),2.23(s,3H),1.88-2.00(m,2H),1.45(s,2H),1.25-1.39(m,4H),1.12-1.22(m,4H),1.00-1.09(m,2H),0.89(s,6H)。MS(ESI)m/e760.1$(M+H)^+$。

[2112] 1.21.6 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-((R)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-N-甲基-3-磺基丙酰氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2113] 将N,N-二甲基甲酰胺(1.5ml)中的(R)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-磺基丙酸(70.9mg)和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(HATU,65mg)在冰浴中冷却,并添加N,N-二异丙基乙基胺(68.9μL)。将混合物在0℃搅拌15分钟并且在室温搅拌8小时。添加在N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的实例1.21.5(100mg),以及N,N-二异丙基乙基胺(60μL)。将所得混合物搅拌过夜,浓缩并通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。

[2114] 1.21.7 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2115] 将在二氯甲烷(3mL)中的实例1.21.6(80mg)用三氟乙酸(1.5mL)处理20分钟。将反应混合物浓缩并通过反相色谱法(C18柱)(用4mM乙酸铵水溶液中的0-50%乙腈洗脱)纯化,以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.57(s,1H),7.59-7.67(m,3H),

7.54(d,1H),7.46-7.51(m,1H),7.30(d,1H),7.08-7.17(m,2H),6.90(t,1H),3.91-4.10(m,3H),3.84(s,2H),3.04(s,2H),2.75-2.83(m,4H),2.59-2.70(m,2H),2.27-2.39(m,2H),2.26(s,3H),1.81-1.93(m,2H),1.74(s,9H),1.42(s,2H),0.96-1.33(m,10H),0.86(s,3H)。MS(ESI)m/e 909.2(M-H)$^-$。

[2116] 1.22 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.22)的合成

[2117] 1.22.1叔丁基3-(1-((3-(2-叠氮乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯

[2118] 将实例1.2.5(560mg)和噻唑并[5,4-b]吡啶-2-胺(135mg)溶于二氯甲烷(12mL)中。添加N,N-二甲基吡啶-4-胺(165mg)和N-乙基-N'-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(260mg),并将该反应在室温搅拌过夜。将反应混合物浓缩,并将粗残余物通过硅胶色谱法(用65/35二氯甲烷/乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 829.1(M+H)$^+$。

[2119] 1.22.2叔丁基3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯

[2120] 通过用实例1.22.1取代实例1.2.7中的实例1.2.6制备标题化合物。MS(ESI)m/e 803.2(M+H)$^+$。

[2121] 1.22.3叔丁基3-[1-({3,5-二甲基-7-[(2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-联苯-4,9-二氧杂-10λ^6-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸酯

[2122] 向实例1.22.2(70mg)和4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(48mg)于二氯甲烷(1mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙基胺(0.06mL),并将反应在室温搅拌过夜。将反应浓缩,并将粗残余物通过硅胶色谱法(用二氯甲烷中的1%-4%甲醇梯度洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1249.2(M+H)$^+$。

[2123] 1.22.4 2-((2-((3-((4-(2-(叔丁氧基羰基)-6-(8-(噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)乙磺酸

[2124] 向实例1.22.3(70mg)在四氢呋喃(0.25mL)中的溶液中添加四丁基氟化铵(60μL,于四氢呋喃中的1.0M溶液),并将反应在室温搅拌2天。将反应浓缩并将残余物通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%三氟乙酸的10%-90%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供为三氟乙酸盐的标题化合物。MS(ESI)m/e 911.1(M+H)$^+$。

[2125] 1.22.5 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

[2126] 通过用实例1.22.4取代实例1.2.9中的实例1.2.8制备标题化合物。^{1}H NMR

(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.00(s,1H),8.52(dd,2H),8.33(br s,2H),8.16(dd,1H),7.62(m,1H),7.53(m,2H),7.45(d,1H),7.38(m,1H),7.29(s,1H),6.98(d,1H),4.96(s,2H),3.88(m,2H),3.83(s,2H),3.54(m,2H),3.22(m,2H),3.10(m,2H),3.02(t,2H),2.80(t,2H),2.11(s,3H),1.41(s,2H),1.28(m,4H),1.14(m,4H),1.02(m,2H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 855.2$(M+H)^+$。

[2127] 1.23 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.23)的合成

[2128] 1.23.1叔丁基3-(1-((3-(2-叠氮乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯

[2129] 通过用噻唑并[4,5-b]吡啶-2-胺取代实例1.22.1中的噻唑并[5,4-b]吡啶-2-胺制备标题化合物。MS(ESI)m/e 855.2$(M+H)^+$。

[2130] 1.23.2叔丁基3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯

[2131] 通过用实例1.23.1取代实例1.2.7中的实例1.2.6制备标题化合物。MS(ESI)m/e 803.2$(M+H)^+$。

[2132] 1.23.3叔丁基3-[1-({3,5-二甲基-7-[(2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-联苯-4,9-二氧杂-10λ^6-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸酯

[2133] 通过用实例1.23.2取代实例1.22.3中的实例1.22.2制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1249.2$(M+H)^+$。

[2134] 1.23.4 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

[2135] 通过用实例1.23.3取代实例1.2.9中的实例1.2.8制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.20(br s,1H),8.61(dd,1H),8.56(dd,1H),8.33(br s,2H),7.56(d,1H)7.52(d,1H),7.46(d,1H),7.39(m,2H),7.29(s,1H),6.98(d,1H),4.98(s,2H),3.88(m,2H),3.83(s,2H),3.54(m,2H),3.22(m,2H),3.10(m,2H),3.02(t,2H),2.80(t,2H),2.10(s,3H),1.41(s,2H),1.30(m,4H),1.12(m,4H),1.02(m,2H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 855.1$(M+H)^+$。

[2136] 1.24 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.24)的合成

[2137] 1.24.1叔丁基6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[(2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-联苯-4,9-二氧杂-10λ^6-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}甲基)-5-甲基-

1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2138] 如在实例1.2.8中描述的，用实例1.20.9替换实例1.2.7来制备标题化合物。

[2139] 1.24.2 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2140] 如在实例1.2.9中描述的，用实例1.24.1替换实例1.2.8来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.26-8.46(m,3H),8.02(d,1H),7.89(d,1H),7.82(d,1H),7.75-7.79(m,1H),7.47(s,2H),7.37(t,1H),7.30(d,1H),7.22(t,1H),3.96(s,2H),3.90(s,2H),3.54-3.61(m,2H),3.18-3.29(m,2H),3.07-3.15(m,2H),2.78-2.92(m,4H),2.23(s,3H),1.87-2.02(m,2H),1.44(s,2H),1.32(q,4H),1.12-1.25(m,4H),1.00-1.11(m,2H),0.88(s,6H)。MS(ESI)m/e 854.0(M+H)$^{+}$。

[2141] 1.25 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(W2.25)的合成

[2142] 1.25.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2143] 如在实例1.12.1中描述的，用丙烯酸叔丁酯替换二乙基乙烯基膦酸酯来制备标题化合物。MS(APCI)m/e 930.6(M+H)$^{+}$。

[2144] 1.25.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2145] 如在实例1.6.2中描述的，用实例1.25.1替换实例1.6.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.03(d,1H),7.78(d,1H),7.61(d,1H),7.39-7.50(m,2H),7.32-7.38(m,3H),7.23(s,1H),6.73(d,1H),4.88(s,2H),3.88(t,2H),3.79(s,2H),2.99(t,2H),2.86-2.93(m,2H),2.50-2.58(m,2H),2.08(s,3H),1.35(d,2H),1.01-1.30(m,10H),0.86(s,6H)。MS(APCI)m/e 819.0(M+H)$^{+}$。

[2146] 1.26 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.26)的合成

[2147] 1.26.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-(((1r,3r)-3-(2-((1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2148] 将实例1.2.7(0.020g)、叔丁基4-氧代哌啶-1-甲酸酯(4.79mg)和三乙酰氧基硼氢化钠(7mg)的溶液在二氯甲烷(0.5mL)中在室温下搅拌。将反应搅拌过夜并无需硅胶色谱法加工纯化，用二氯甲烷中的0％至10％甲醇洗脱，以给出标题化合物。MS(ELSD)m/e 985.4(M+H)$^{+}$。

[2149] 1.26.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-

1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2150] 将实例1.26.1(0.108g)、实例1.14.2(0.030g)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.035g)在二氯甲烷(1mL)中的溶液在室温搅拌1小时。将三氟乙酸(1mL)添加至反应中,并继续搅拌过夜。将反应浓缩,溶解在N,N-二甲基甲酰胺(2mL)和水(0.5mL)中,并使用吉尔森系统通过反相HPLC(用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.83(s,1H),8.50(s,1H),8.04(d,2H),7.80(d,2H),7.63(d,2H),7.56-7.42(m,5H),7.37(tt,3H),7.30(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.44(d,6H),3.31-3.16(m,6H),3.09-2.98(m,2H),2.98-2.85(m,1H),2.18(d,2H),2.10(s,3H),2.00-1.74(m,4H),1.71-1.57(m,2H),1.51-0.97(m,12H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 951.2(M+H)$^+$。

[2151] 1.27 3-{1-[(3-{2-[D-α-天冬氨酰(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.27)的合成

[2152] 1.27.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(甲氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2153] 如在实例1.11.1中描述的,用实例1.13.6取代实例1.10.9来制备标题化合物。

[2154] 1.27.2 3-{1-[(3-{2-[D-α-天冬氨酰(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

[2155] 将实例1.27.1(0.074g)、2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲鎓六氟磷酸盐(V)(0.038g)、N,N-二异丙基乙基胺(0.048mL)和(R)-4-(叔丁氧基)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-氧代丁酸(0.029g)在二氯甲烷(1mL)中的溶液搅拌2小时。添加三氟乙酸(0.5mL),并继续搅拌过夜。将反应浓缩,溶解在N,N-二甲基甲酰胺(1.5mL)和水(0.5mL)中,并使用吉尔森系统通过反相HPLC(用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.88(s,1H),8.16(s,3H),8.04(d,1H),7.80(d,1H),7.62(d,1H),7.55-7.42(m,3H),7.41-7.33(m,2H),7.33-7.27(m,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),4.63-4.49(m,1H),3.89(t,2H),3.82(s,2H),3.61-3.37(m,4H),3.10-2.97(m,4H),2.89-2.73(m,2H),2.67-2.52(m,1H),2.10(s,3H),1.45-0.95(m,12H),0.85(s,6H)。MS(ESI)m/e 875.3(M+H)$^+$。

[2156] 1.28 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[1-(羧甲基)哌啶-4-基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(化合物W2.28)的合成

[2157] 将实例1.2.7(0.055g,)、叔丁基2-(4-氧代哌啶-1-基)乙酸酯(0.014g)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.019g)的溶液在二氯甲烷(0.5mL)中在室温下搅拌。搅拌2小时后,将三氟乙酸(0.5mL)添加至反应中,并继续搅拌过夜。将反应浓缩,溶解在N,N-二甲基甲酰胺(1.5mL)和水(0.5mL)中,并使用吉尔森系统通过反相HPLC(用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-80%乙腈水溶液洗脱)纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR

(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),8.80(s,2H),8.03(d,1H),7.80(d,1H),7.62(d,1H),7.55-7.41(m,3H),7.36(q,2H),7.29(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),4.07(s,2H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.66-3.55(m,4H),3.30(s,1H),3.08(s,4H),3.02(t,2H),2.22(d,2H),2.10(s,3H),1.97-1.78(m,2H),1.44(s,2H),1.31(q,4H),1.20-0.96(m,6H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e887.3$(M+H)^+$。

[2158] 1.29 N-[(5S)-5-氨基-6-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基}-6-氧代己基]-N,N-二甲基甲铵(化合物W2.29)的合成

[2159] 将Fmoc-N-ε-(三甲基)-L-赖氨酸盐酸化物(0.032g)、2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲鎓六氟磷酸盐(V)(0.028g)和N,N-二异丙基乙基胺(0.034mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液搅拌5分钟。将反应添加到实例1.13.7(0.050g)中并在室温下继续搅拌过夜。将二乙胺(0.069mL)添加至该反应,并继续搅拌另外的2小时。将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)、水(0.5mL)、和三氟乙酸(0.101mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-90%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.87(s,1H),8.13(s,3H),8.04(d,1H),7.80(d,1H),7.62(d,1H),7.54-7.42(m,3H),7.42-7.34(m,2H),7.29(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),4.42-4.24(m,1H),3.89(t,2H),3.82(s,2H),3.29-3.16(m,2H),3.08-3.00(m,15H),2.87(s,2H),2.10(s,3H),1.84-1.60(m,4H),1.42-0.97(m,15H),0.85(s,6H)。MS(ESI)m/e 930.3$(M+H)^+$。

[2160] 1.30 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[哌啶-4-基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.30)的合成

[2161] 1.30.1叔丁基6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-({13-[1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-基]-2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-联苯-4,9-二氧杂-10λ^6-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基}氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸酯

[2162] 将实例1.2.8(0.111g)、叔丁基4-氧代哌啶-1-甲酸酯(0.021g)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.028g)在二氯甲烷(1mL)中的溶液在室温搅拌1小时。添加乙酸(7.63μL),并继续搅拌过夜。将另外的叔丁基4-氧代哌啶-1-甲酸酯(0.021g)、三乙酰氧基硼氢化钠(0.028g)和乙酸(8μL)添加至反应中,并继续搅拌另外的4小时。将反应直接加载到硅胶上,并用在二氯甲烷中的0.5%-4%甲醇梯度洗脱,以得到标题化合物。

[2163] 1.30.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[哌啶-4-基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2164] 向实例1.30.1(0.078g)在二氯甲烷(1mL)中的溶液中添加三氟乙酸(0.5mL),并将反应在室温搅拌过夜。将反应浓缩并溶解于N,N-二甲基甲酰胺(1.5mL)和水(0.5mL)中。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基

亚砜-d_6)δppm 12.89(s,1H),9.31(s,1H),8.75(d,1H),8.36-8.19(m,1H),8.08(d,1H),7.84(d,1H),7.66(d,1H),7.58(d,1H),7.55-7.45(m,2H),7.40(td,2H),7.34(s,1H),6.99(d,1H),5.00(s,2H),3.93(t,2H),3.87(s,2H),3.49(d,6H),3.39-3.31(m,2H),3.01(m,6H),2.15(s,6H),1.94(s,2H),1.58-0.99(m,12H),0.91(s,6H)。MS(ESI)m/e 937.3(M+H)$^+$。

[2165] 1.31 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.31)的合成

[2166] 1.31.1叔丁基8-溴-5-羟基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-甲酸酯

[2167] 向叔丁基5-羟基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-甲酸酯(9g)在N,N-二甲基甲酰胺(150mL)中的溶液中添加N-溴代丁二酰亚胺(6.43g)。将混合物搅拌过夜,并用水(200mL)猝灭。将混合物用乙酸乙酯(500mL)稀释、用水和盐水洗涤并经硫酸钠干燥。蒸发溶剂给出标题化合物,将该标题化合物不经进一步纯化用于下个反应中。MS(ESI)m/e329.2(M+H)$^+$。

[2168] 1.31.2叔丁基5-(苄氧基)-8-溴-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-甲酸酯

[2169] 向实例1.31.1(11.8g)在丙酮(200mL)中的溶液中添加苄基溴(7.42g)和K_2CO_3(5g),并将该混合物在回流下搅拌过夜。将混合物浓缩,并将残余物在乙酸乙酯(600mL)与水(200mL)之间分配。将有机层用水和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的10%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 418.1(M+H)$^+$。

[2170] 1.31.3 2-叔丁基8-甲基5-(苄氧基)-3,4-二氢异喹啉-2,8(1H)-二甲酸酯

[2171] 将甲醇(100mL)和三乙胺(9.15mL)添加至在500mL不锈钢压力反应器中的实例1.31.2(10.8g)和[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II)(0.48g)中。将容器用氩气喷射数次。用一氧化碳对反应器加压,并在100℃,60psi的一氧化碳下搅拌2小时。冷却后,在真空下浓缩粗反应混合物。将残余物添加至乙酸乙酯(500mL)与水(200mL)中。将有机层进一步用水和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的10%-20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 398.1(M+H)$^+$。

[2172] 1.31.4甲基5-(苄氧基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯盐酸化物

[2173] 向实例1.31.3(3.78g)在四氢呋喃(20mL)中的溶液中添加于1,4-二噁烷(20mL)中的4N HCl,并将该混合物搅拌过夜。将该混合物在真空中浓缩以提供标题化合物,将其不经进一步纯化而用于下一反应。MS(ESI)m/e 298.1(M+H)$^+$。

[2174] 1.31.5甲基5-(苄氧基)-2-(5-溴-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2175] 向实例1.31.4(3.03g)于二甲基亚砜(50mL)中的溶液中添加实例1.1.10(2.52g)和三乙胺(3.8mL),并将该混合物在60℃在氮下搅拌过夜。将反应混合物用乙酸乙酯(500mL)稀释,用水和盐水洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物经由硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 553.1(M+H)$^+$。

[2176] 1.31.6叔丁基(2-((3,5-二甲基-7-((5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-基)氧基)乙基)(甲基)氨基甲酸酯

[2177] 向实例1.13.3(2.6g)和[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II)二氯甲烷(190mg)在乙腈(30mL)中的溶液中添加三乙胺(2.0mL)和频哪醇硼烷(1.4mL),并将该混合

物在回流搅拌过夜。将该混合物不经加工而直接用于接下来的反应。MS(ESI)m/e 558.4(M+H)$^+$。

[2178] 1.31.7甲基5-(苄氧基)-2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2179] 向实例1.31.5(2.58g)在四氢呋喃(40mL)和水(20mL)中的溶液中添加实例1.31.6(2.66g)、1,3,5,7-四甲基-6-苯基-2,4,8-三氧杂-6-磷杂金刚烷(341mg)、三(二苯亚甲基丙酮)二钯(0)(214mg)、和K3PO4(4.95g),并将该混合物在回流下搅拌4小时。将混合物用乙酸乙酯(500mL)稀释,用水和盐水洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 904.5(M+H)$^+$。

[2180] 1.31.8甲基2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-5-羟基-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2181] 将在四氢呋喃(60mL)中的实例1.31.7(3.0g)添加至在250mL不锈钢压力瓶中的$Pd(OH)_2$(0.6g,Degussa#E101NE/W,20%在碳上,49%含水量)中。将混合物在30psi的氢气下在50℃振荡16小时。将混合物通过尼龙膜过滤,并将溶剂在真空下蒸发以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 815.1(M+H)$^+$。

[2182] 1.31.9甲基2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-5-(3-(二-叔丁氧基磷酰基)丙氧基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2183] 向实例1.31.8(163mg)在四氢呋喃(10mL)中的溶液中添加实例1.14.1(50.5mg)、三苯基膦(52.5mg)和二叔丁基偶氮二羧酸酯(46.2mg),并将该混合物搅拌3小时。将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用水和盐水洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯,随后用在二氯甲烷中的5%甲醇洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1049.2(M+H)$^+$。

[2184] 1.31.10 2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-5-(3-(二-叔丁氧基磷酰基)丙氧基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

[2185] 向实例1.31.9(3g)于四氢呋喃(20mL)、甲醇(10mL)和水(10mL)中的溶液中添加氢氧化锂一水合物(30mg),并将该混合物在室温搅拌24小时。将反应混合物用2%水性HCl中和并在真空下浓缩。将残余物用乙酸乙酯(800mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。过滤和蒸发溶剂提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1034.5(M+H)$^+$。

[2186] 1.31.11 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2187] 向实例1.31.10(207mg)在N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中的溶液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(45.1mg,0.3mmol)、氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒鎓六氟磷酸盐(79mg)和N,N-二异丙基乙胺(150mg),并将该混合物在60℃搅拌3小时。将反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用

水和盐水洗涤，经硫酸钠干燥，过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20％乙酸乙酯，随后用在二氯甲烷中的5％甲醇洗脱)进行纯化。浓缩后，将该材料溶于二氯甲烷和三氟乙酸(1:1，6mL)的混合物中，并使其在室温下静置过夜。将溶剂蒸发，并将残余物溶于二甲基亚砜/甲醇(1:1，9mL)中。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统，用含有0.1％v/v三氟乙酸的10％-85％乙腈水溶液洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^{1}H NMR(501MHz，二甲基亚砜-d_6)δppm 8.27(s,2H)，8.02(d,1H)，7.76(dd,2H)，7.43-7.56(m,2H)，7.32-7.37(m,1H)，7.29(s,1H)，7.00(dd,2H)，5.02(s,2H)，4.15(t,2H)，3.88-3.93(m,2H)，3.83(s,3H)，3.50-3.59(m,4H)，2.95-3.08(m,2H)，2.78-2.87(m,2H)，2.51-2.55(m,3H)，2.11(s,3H)，1.90-2.01(m,2H)，1.65-1.75(m,2H)，1.41(s,2H)，1.22-1.36(m,6H)，0.98-1.18(m,6H)，0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 898.2(M+H)$^{+}$。

[2188] 1.32 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[N-(2-羧乙基)-L-α-天冬氨酰]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(化合物W2.32)的合成

[2189] 1.32.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((S)-4-(叔丁氧基)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-氧代丁酰氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2190] 向(S)-4-(叔丁氧基)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-氧代丁酸(136mg)和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(HATU，179mg)在N,N-二甲基甲酰胺(3mL)中的冷却(0℃)溶液中添加N,N-二异丙基乙基胺(165μL)。将反应混合物搅拌10分钟，并添加于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的实例1.2.7(252mg)。将混合物在室温下搅拌1.5小时并通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1％v/v三氟乙酸的50％-100％乙腈水溶液洗脱)纯化，以提供标题化合物。

[2191] 1.32.2 3-(1-((3-(2-((S)-2-氨基-3-羧基丙酰胺基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2192] 将在二氯甲烷(3mL)中的实例1.32.1(100mg)用三氟乙酸(2.5mL)处理过夜。浓缩该反应混合物以提供标题化合物。

[2193] 1.32.3 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((S)-2-((3-(叔丁氧基)-3-氧丙基)氨基)-3-羧基丙酰胺基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2194] 向实例1.32.2(102mg)和N,N-二异丙基乙基胺(0.21mL)在N,N-二甲基甲酰胺(1.5mL)中的混合物中添加丙烯酸叔丁酯(80mg)和水(1.5mL)。将混合物在50℃下加热24小时并通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1％v/v三氟乙酸的20％-60％乙腈水溶液洗脱)纯化，以提供标题化合物。MS(APCI)m/e 989.1(M+H)$^{+}$。

[2195] 1.32.4 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[N-(2-羧乙基)-L-α-天冬氨酰]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

[2196] 如在实例1.6.2中描述的，用实例1.32.3替换实例1.6.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz，二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(s,3H)，8.62-9.21(m,2H)，8.52(t,1H)，8.03(d,

1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.42-7.53(m,3H),7.33-7.41(m,2H),7.29(s,1H),6.95(d,1H),4.96(s,2H),4.04-4.19(m,1H),3.89(t,2H),3.81(s,2H),3.32-3.41(m,2H),3.16-3.27(m,2H),3.10(t,2H),3.01(t,2H),2.83(d,2H),2.66(t,2H),2.10(s,3H),1.39(s,2H),1.20-1.32(m,4H),0.94-1.16(m,6H),0.85(s,6H)。MS(ESI)m/e 933.2(M+H)$^+$。

[2197] 1.33 3-{1-[(3-{2-[(2-氨乙基)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.33)的合成

[2198] 1.33.1 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2199] 向实例1.2.9(188mg)、叔丁基(2-氧乙基)氨基甲酸酯(70.1mg)和N,N-二异丙基乙基胺(384μL)的溶液中添加三乙酰氧基硼氢化钠(140mg),并将该混合物搅拌过夜。添加$NaCNBH_3$(13.83mg)。将所得混合物搅拌1小时,并添加甲醇(1mL)。将混合物搅拌10分钟,用乙酸乙酯稀释并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。

[2200] 1.33.2 3-{1-[(3-{2-[(2-氨乙基)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

[2201] 如在实例1.6.2中描述的,用实例1.33.1替换实例1.6.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),8.03(d,1H),7.87(s,2H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.41-7.56(m,3H),7.33-7.40(m,2H),7.29(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.50(s,2H),3.29-3.40(m,4H),3.19(s,2H),3.01(t,2H),2.94(t,2H),2.11(s,3H),1.43(s,2H),1.25-1.37(m,4H),0.98-1.19(m,6H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 897.2(M+H)$^+$。

[2202] 1.34 6-[5-(2-氨基乙氧基)-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.34)的合成

[2203] 1.34.1甲基5-(2-(((苄氧基)羰基)氨基)乙氧基)-2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2204] 向实例1.31.8(500mg)、苄基(2-羟乙基)氨基甲酸酯(180mg)和三苯基膦(242mg)在四氢呋喃(9mL)中的混合物中添加(E)-二叔丁基二氮烯-1,2-二甲酸酯(212mg)。将该混合物搅拌2小时,用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的50%-100%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(APCI)m/e 991.1(M+H)$^+$。

[2205] 1.34.2 5-(2-(((苄氧基)羰基)氨基)乙氧基)-2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

[2206] 向实例1.34.1(480mg)于四氢呋喃(10mL)和甲醇(5mL)中的溶液中添加1M氢氧化锂(1.94mL)。将该混合物在50℃加热过夜,冷却,用10%水性HCl酸化为pH 3并浓缩。将残余物通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的40%-99%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 977.4(M+H)$^+$。

[2207] 1.34.3叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(2-(((苄氧基)羰基)氨基)乙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2208] 向实例1.34.2(245mg)、苯并[d]噻唑-2-胺(151mg)和氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒鎓六氟磷酸盐(TFFH)(132mg)在N,N-二甲基甲酰胺(3mL)中的混合物里添加N,N-二异丙基乙基胺(876μL)。将反应混合物在65℃加热24小时,冷却,用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的0%-80%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(APCI)m/e 1109.5(M+H)$^+$。

[2209] 1.34.4 6-[5-(2-氨基乙氧基)-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸将在二氯甲烷(0.5mL)中的实例1.34.3(100mg)用三氟乙酸(10mL)处理过夜。将反应混合物浓缩并通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.75(s,2H),8.27(s,2H),7.89-8.09(m,4H),7.77(s,2H),7.44-7.53(m,2H),7.35(t,1H),7.29(s,1H),7.02(dd,2H),5.02(s,2H),4.27(t,2H),3.87-3.97(m,2H),3.83(s,2H),3.50-3.58(m,2H),3.00(s,2H),2.88-2.96(m,2H),2.52-2.60(m,2H),2.10(s,3H),1.42(s,2H),1.23-1.36(m,4H),0.98-1.19(m,6H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 819.3(M+H)$^+$。

[2210] 1.35 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.35)的合成

[2211] 1.35.1叔丁基6-氯-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-氧代乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2212] 在-78℃,向在二氯甲烷(20mL)中的草酰氯(8mL,2.0M于二氯甲烷中)溶液中,经20分钟逐滴添加在二氯甲烷(10mL)中的二甲基亚砜(1mL)。将溶液在氩下搅拌30分钟,并经10分钟添加为于二氯甲烷(30mL)中的溶液的实例1.20.2(3.8g)。将反应混合物在-78℃搅拌另外60分钟。在-78℃,添加三乙胺(2mL),并且将反应混合物搅拌60分钟。将冷却浴除去,并使反应温热至室温过夜。添加水(60mL)。将水层用1%HCl水溶液酸化,并用二氯甲烷萃取。将合并的有机层用1%HCl水溶液、$NaHCO_3$水溶液和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,并浓缩,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e527.9(M+H)$^+$。

[2213] 1.35.2 2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙基3-碘丙烷-1-磺酸酯

[2214] 根据如下中报告的程序制备标题化合物:J.Org.Chem.[有机化学杂志],2013,78,711-716。

[2215] 1.35.3 2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙基3-氨基丙烷-1-磺酸酯

[2216] 在微波条件下(Biotage Initiator),将实例1.35.2(2.0g)在7N氨的甲醇溶液

(20mL)中的溶液在80℃加热45分钟。将混合物浓缩,并将残余物溶于乙酸乙酯(300mL)中。将有机层用水和盐水洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e312.23$(M+H)^+$。

[2217] 1.35.4叔丁基6-氯-3-(1-(((3,5-二甲基-7-(2-((3-((2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙氧基)磺酰基)丙基)氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2218] 向实例1.35.3(1.96g)在二氯乙烷(30mL)中的溶液中添加实例1.35.1(3.33g)。将反应混合物在室温下搅拌1小时,并添加$NaBH_4$(1.2g)于甲醇(8mL)中的悬浮液。将该混合物在室温搅拌3小时,并用乙酸乙酯(300mL)稀释。将有机层用2N水性NaOH、水和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物溶于四氢呋喃(30mL)中,并添加二叔丁基二碳酸酯(2g),随后添加催化量的4-二甲基氨基吡啶。将该混合物在室温下搅拌过夜。将混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释,并且用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 924,42$(M+H)^+$。

[2219] 1.35.5 7-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(3-((2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙氧基)磺酰基)丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1-萘甲酸

[2220] 向甲基7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1-萘甲酸盐(203mg)在1,4-二噁烷(10mL)和水(5mL)的混合物中的溶液中添加实例1.35.4(600mg)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(45.6mg)、和氟化铯(296mg)。在微波条件下(Biotage Initiator),将该混合物在120℃加热30分钟,用乙酸乙酯(200mL)稀释并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供酯中间体。将残余物溶解于四氢呋喃(8mL)、甲醇(4mL)和水(4mL)的混合物中,并用氢氧化锂一水合物(200mg)处理3小时。将反应用1N水性HCl酸化为pH 4,并用乙酸乙酯(400mL)稀释。将所得混合物用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1060.24$(M+H)^+$。

[2221] 1.35.6 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2222] 向实例1.35.5(405mg)在二氯甲烷(10mL)中的溶液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(57.4mg)、1-乙基-3-[3-(二甲氨基)丙基]-碳二亚胺盐酸盐(146mg)和4-(二甲氨基)吡啶(93mg)。将该混合物在室温搅拌过夜,用乙酸乙酯(200mL)稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物溶解于二氯甲烷(3mL)并用三氟乙酸(3mL)处理过夜。将反应混合物浓缩并将残余物通过反相HPLC(吉尔森系统)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液梯度洗脱)纯化,以提供标题化合物。^1H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.08(s,1H),9.00(s,1H),8.53(s,2H),8.36(dd,1H),8.26-8.13(m,3H),8.06(dd,1H),8.04-7.97(m,1H),7.94(d,1H),7.80(d,1H),7.69(dd,1H),7.51-7.43(m,2H),7.40-7.31(m,1H),7.19(d,0H),3.88(s,2H),3.54(t,2H),3.16-2.91(m,4H),2.68-2.55(m,2H),2.29(s,0H),2.22(s,3H),1.93(p,2H),1.43(s,2H),1.38-1.23(m,4H),1.10(dq,6H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 863.2$(M+H)^+$。

[2223] 1.36 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.36)的合成

[2224] 1.36.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-(((1r,3r)-3-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧丙基)(1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2225] 将实例1.25.1(0.086g)、叔丁基4-氧代哌啶-1-甲酸酯(0.037g)、三乙酰氧基硼氢化钠(0.039g)和乙酸(11μL)在二氯甲烷(1mL)中的溶液在室温下搅拌。搅拌过夜后,将反应负载到硅胶上并使用二氯甲烷中的0.5%至5%甲醇梯度洗脱,以给出标题化合物。MS(ELSD)m/e 1113.5$(M+H)^+$。

[2226] 1.36.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2227] 将实例1.36.1(0.050)在二氯甲烷(0.5mL)中的溶液用三氟乙酸(0.5mL)处理并将反应搅拌过夜。将反应浓缩并溶解于二甲基亚砜和甲醇(1:1)中。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),9.38(s,1H),8.78(s,1H),8.42(s,1H),8.03(d,1H),7.80(d,1H),7.63(d,1H),7.55-7.42(m,3H),7.41-7.33(m,2H),7.30(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.73-3.54(m,3H),3.53-3.34(m,4H),3.34-3.25(m,2H),3.02(t,2H),2.99-2.85(m,2H),2.78(t,2H),2.23-2.04(m,5H),1.92-1.76(m,2H),1.43(s,2H),1.39-1.23(m,4H),1.23-0.96(m,6H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 901.3$(M+H)^+$。

[2228] 1.37 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺基-L-丙氨酰)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.37)的合成

[2229] 将(R)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-磺基丙酸(0.011g)和2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲鎓六氟磷酸盐(V)(10.80mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液搅拌5分钟。将该溶液添加至实例1.2.9(0.025g)和N,N-二异丙基乙基胺(0.014mL)中。搅拌2小时后,将二乙胺(0.013mL)添加至该反应,并继续搅拌另外的1小时。将反应用N,N-二甲基甲酰胺和水稀释并用三氟乙酸猝灭。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),8.03(dd,4H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.54(dd,1H),7.51-7.41(m,2H),7.36(td,2H),7.33(s,1H),6.98(dd,1H),4.96(s,2H),4.42(dd,2H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.73(ddd,2H),3.57-3.38(m,2H),3.31(dt,1H),3.08(dd,1H),3.02(t,2H),2.87(tt,1H),2.81-2.54(m,2H),2.10(d,3H),1.51-0.91(m,12H),0.85(s,6H)。MS(ESI)m/e 1005.2$(M+H)^+$。

[2230] 1.38 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[{2-[(2-羧乙基)氨基]乙基}(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环

[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.38)的合成

[2231] 1.38.1 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-((3-(叔丁氧基)-3-氧丙基)氨基)乙基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2232] 如在实例1.32.3中描述的,用实例1.33.2替换实例1.32.2来制备标题化合物。

[2233] 1.38.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[{2-[(2-羧乙基)氨基]乙基}(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2234] 如在实例1.6.2中描述的,用实例1.38.1替换实例1.6.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.87(s,1H),8.68(s,2H),8.04(d,1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.53(d,1H),7.42-7.50(m,2H),7.33-7.40(m,2H),7.29(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,3H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.66(t,2H),3.31-3.53(m,8H),3.18(t,2H),3.02(t,2H),2.95(t,2H),2.67(t,2H),2.11(s,3H),1.43(s,2H),1.22-1.37(m,6H),0.98-1.19(m,6H),0.87(s,6H)。MS(APCI)m/e 971.0(M+H)$^{+}$。

[2235] 1.39 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.39)的合成

[2236] 1.39.1叔丁基3-(1-((3-(2-((3-(二-叔丁氧基磷酰基)丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯

[2237] 将实例1.23.2(520mg)和实例1.14.2(175mg)溶于二氯甲烷(6mL)中并在室温下搅拌2小时。添加硼氢化钠(32mg)在甲醇(1mL)中的悬浮液,并将混合物搅拌30分钟。将该反应添加至饱和$NaHCO_3$水溶液中,并用乙酸乙酯萃取。将有机层用盐水洗涤并经硫酸钠干燥。在过滤和浓缩后,通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的0.5%-5.0%甲醇梯度洗脱)进行纯化给出标题化合物。MS(ESI)m/e1037.3(M+H)$^{+}$。

[2238] 1.39.2 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

[2239] 通过用实例1.39.1取代实例1.2.9中的实例1.2.8制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.60(dd,1H),8.52(dd,1H),8.41(br s,2H),7.65(d,1H)7.48(d,1H),7.46(d,1H),7.38(m,2H),7.29(s,1H),6.97(d,1H),4.97(s,2H),3.89(m,2H),3.83(s,2H),3.56(m,2H),3.02(m,6H),2.11(s,3H),1.81(m,2H),1.61(m,2H),2.11(s,3H),1.43(s,2H),1.30(m,4H),1.14(m,4H),1.04(m,2H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 869.2(M+H)$^{+}$。

[2240] 1.40 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.40)的合成

[2241] 1.40.1叔丁基3-(1-((3-(2-((3-(二-叔丁氧基磷酰基)丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基

甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯

[2242] 通过用实例1.22.2取代实例1.39.1中的实例1.23.2制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1037.3(M+H)$^+$。

[2243] 1.40.2 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

[2244] 通过用实例1.40.1取代实例1.2.9中的实例1.2.8来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.52(dd,2H),8.41(br s,2H),8.17(dd,1H),7.63(m,1H),7.53(m,2H),7.46(d,1H),7.38(t,1H),7.30(s,1H),6.98(d,1H),4.96(s,2H),3.88(m,2H),3.83(s,2H),3.56(t,2H),3.00(m,6H),2.11(s,3H),1.81(m,2H),1.60(m,2H),1.43(s,2H),1.31(m,4H),1.14(m,4H),1.04(m,2H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e869.2(M+H)$^+$。

[2245] 1.41 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.41)的合成

[2246] 1.41.1甲基5-(2-(叔丁氧基)-2-氧代乙氧基)-2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2247] 向实例1.31.8(163mg)在N,N-二甲基甲酰胺(10mL)中的溶液中添加叔丁基2-溴乙酸盐(58.6mg)和K_2CO_3(83mg),并将反应搅拌过夜。将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释、用水和盐水洗涤并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将其通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 929.2(M+H)$^+$。

[2248] 1.41.2 5-(2-(叔丁氧基)-2-氧代乙氧基)-2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

[2249] 向实例1.41.1(3g)在四氢呋喃(20mL)、甲醇(10mL)和水(10mL)中的溶液中添加氢氧化锂一水合物(300mg)。将混合物在室温搅拌24小时。将反应混合物用2%HCl水溶液中和并在真空下浓缩。将残余物用乙酸乙酯(800mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂提供标题化合物。MS(ESI)m/e 914.5(M+H)$^+$。

[2250] 1.41.3 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2251] 向实例1.41.2(183mg)在N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中的溶液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(45.1mg)、氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒鎓六氟磷酸盐(79mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.203mL)。将混合物在60℃搅拌过夜。将混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释、用水和盐水洗涤并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将该残余物溶解于二氯甲烷/三氟乙酸(1:1,10mL)中并搅拌过夜。将混合物浓缩,并将残余物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.73(s,1H),8.30(s,2H),7.99-8.07(m,1H),7.75-7.79(m,1H),7.70(d,1H),7.44-7.56(m,2H),7.30-7.39(m,2H),7.30(s,1H),7.03(t,1H),6.87-

6.93(m,1H),4.98-5.18(m,4H),4.84(s,3H),3.78-4.01(m,4H),3.55(t,2H)。2.77-3.07(m,4H),2.53-2.61(m,3H),2.04-2.16(m,3H),1.41(s,2H),1.02-1.34(m,6H),0.83-0.91(m,6H)。MS(ESI)m/e 834.2(M+H)$^+$。

[2252] 1.42 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-羧基丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.42)的合成

[2253] 1.42.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-(((1r,3r)-3-(2-((1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-基)(4-甲氧基-4-氧代丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2254] 在室温搅拌实例1.26.1(0.169g)、甲基4-氧代丁酸酯(0.024g)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.055g)在二氯甲烷(2mL)中的溶液。2小时后,将反应用二氯甲烷(50mL)稀释并用饱和水性碳酸氢钠(10mL)洗涤。将有机层分离,经硫酸镁干燥,过滤并浓缩。硅胶色谱法(用含氨的0.5%-5%甲醇/二氯甲烷梯度洗脱)提供标题化合物。MS(ELSD)m/e 1085.5(M+H)$^+$。

[2255] 1.42.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-羧基丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2256] 将实例1.42.1(0.161g)在二氯甲烷(0.5mL)中的溶液用三氟乙酸(0.5mL)处理并将反应搅拌过夜。将反应浓缩,溶于甲醇(0.6mL)中,并用氢氧化锂一水合物(0.124g)的水溶液(0.5mL)处理。搅拌1.5小时后,将反应用三氟乙酸(0.229mL)猝灭,并用N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-60%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),9.40(s,1H),8.89-8.79(m,1H),8.57-8.41(m,1H),8.03(d,1H),7.80(d,1H),7.62(d,1H),7.55-7.41(m,3H),7.41-7.32(m,2H),7.30(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.44(d,2H),3.26(s,2H),3.22-3.11(m,2H),3.09-2.85(m,6H),2.34(t,2H),2.19(d,2H),2.10(s,3H),1.95-1.71(m,5H),1.44(s,2H),1.39-1.27(m,4H),1.22-0.96(m,6H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e915.3(M+H)$^+$。

[2257] 1.43 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.43)的合成

[2258] 1.43.1叔丁基3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(甲氧基羰基)萘-2-基)吡啶甲酸酯

[2259] 向甲基7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1-萘甲酸盐(2.47g)在1,4-二噁烷(40mL)和水(20mL)中的溶液中添加实例1.20.2(4.2g)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(556mg)、和氟化铯(3.61g),并将反应在回流下搅拌过夜。将混合物用乙酸乙酯(400mL)稀释并用水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出残余物,将其通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯然后用在二氯甲烷中的5%甲醇洗脱)纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e680.7(M+H)$^+$。

[2260] 1.43.2叔丁基3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-

基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(甲氧基羰基)萘-2-基)吡啶甲酸酯

[2261] 向实例1.43.1(725mg)在二氯甲烷(10mL)和三乙胺(0.5mL)中的冷却的(0℃)溶液中添加甲磺酰氯(0.249mL),并将混合物搅拌4小时。将反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释并用水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出标题产物,将其不经进一步纯化用于下个反应中。MS(ESI)m/e 759.9$(M+H)^+$。

[2262] 1.43.3叔丁基3-(1-(((3-(2-叠氮乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(甲氧基羰基)萘-2-基)吡啶甲酸酯

[2263] 向实例1.43.2(4.2g)于N,N-二甲基甲酰胺(30mL)中的溶液中添加叠氮化钠(1.22g),并将该混合物搅拌96小时。将反应混合物用乙酸乙酯(600mL)稀释、用水和盐水洗涤、并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂提供标题化合物。MS(ESI)m/e 705.8$(M+H)^+$。

[2264] 1.43.4 7-(5-(1-((3-(2-叠氮乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基)-1-萘甲酸

[2265] 向实例1.43.3(3.5g)在四氢呋喃/甲醇/水(2:1:1,30mL)中的溶液中添加氢氧化锂一水合物(1.2g),并将混合物搅拌过夜。将反应混合物用1N水性HCl酸化并用乙酸乙酯(600mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂提供标题化合物。MS(ESI)m/e 691.8$(M+H)^+$。

[2266] 1.43.5叔丁基3-(1-((3-(2-叠氮乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸酯

[2267] 向实例1.43.4(870mg)在N,N-二甲基甲酰胺(10mL)中的溶液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(284mg)、氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒鎓六氟磷酸盐(499mg)和N,N-二异丙基乙胺(488mg)。将混合物在60℃搅拌3小时。将反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释并用水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂提供标题化合物。MS(ESI)m/e 824.1$(M+H)^+$。

[2268] 1.43.6叔丁基3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸酯

[2269] 向实例1.43.5(890mg)在四氢呋喃(30mL)中的溶液中添加Pd/C(90mg)。将混合物在1大气压的氢下搅拌过夜。过滤反应混合物,并将催化剂用乙酸乙酯洗涤。蒸发溶剂以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 798.1$(M+H)^+$。

[2270] 1.43.7 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2271] 向实例1.43.6(189mg)在N,N-二甲基甲酰胺(6mL)中的溶液中添加4-((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(106mg)。将该混合物搅拌4天。将混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释并用水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。在过滤并蒸发溶剂后,将残余物溶解于三氟乙酸(10mL)中并静置过夜。将三氟乙酸在真空下蒸发,并将残余物溶于二甲基亚砜/甲醇(1:1,6mL)。将混合物通过反相HPLC(吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.09(s,1H),9.02(s,1H),8.31-8.43(m,3H),8.16-8.26(m,3H),7.93-8.08(m,3H),7.82(d,1H),7.66-7.75(m,1H),7.46-7.55(m,2H),7.37(t,1H),3.90(s,3H),3.17-3.28(m,2H),3.07-3.16(m,2H),2.82(t,2H),2.24(s,3H),1.44(s,2H),0.99-1.37(m,12H),

0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 849.1(M+H)$^+$。

[2272] 1.44 3-{1-[(3-{2-[L-α-天冬氨酰(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.44)的合成

[2273] 1.44.1 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((S)-4-(叔丁氧基)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-氧代-N-(2-磺乙基)丁酰氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2274] 向(S)-4-(叔丁氧基)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-氧代丁酸(40.7mg)和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(HATU,40.1mg)在N,N-二甲基甲酰胺(3mL)中的冷却(0℃)溶液中添加N,N-二异丙基乙基胺(98μL)。将反应混合物在室温搅拌1小时,并添加于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的实例1.2.9(60mg)。将混合物搅拌1.5小时并通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-90%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1123.4(M-H)$^-$。

[2275] 1.44.2 3-{1-[(3-{2-[L-α-天冬氨酰(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

[2276] 将在二氯甲烷(5mL)中的实例1.44.1(100mg)用三氟乙酸(1.5mL)处理过夜。将反应混合物浓缩并通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,2H),8.11-8.22(m,3H),8.04(d,1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.41-7.54(m,3H),7.32-7.39(m,2H),7.29(s,1H),6.95(d,1H),4.95(s,2H),4.80(s,1H),3.89(t,2H),3.81(s,2H),3.55-3.71(m,2H),3.01(t,4H),2.74-2.86(m,1H),2.57-2.73(m,2H),2.09(s,3H),0.91-1.46(m,13H),0.84(s,6H)。MS(ESI)m/e 969.2(M+H)$^+$。

[2277] 1.45 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(1,3-二羟基丙烷-2-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.45)的合成

[2278] 1.45.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(氧杂环丁烷-3-基氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2279] 在室温,将实例1.2.7(0.095g)、氧杂环丁烷-3-酮(10mg)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.038g)的溶液在二氯甲烷(1mL)中搅拌。搅拌过夜后,将反应混合物直接负载到硅胶上并使用含有氨的0.5%-5%甲醇二氯甲烷溶液梯度洗脱,以给出标题化合物。MS(ELSD)m/e 858.4(M+H)$^+$。

[2280] 1.45.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(1,3-二羟基丙烷-2-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2281] 将实例1.45.1溶于在二氯甲烷(0.5mL)中并用三氟乙酸(0.5mL)处理并搅拌过夜。将反应通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-60%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基

亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),8.19(s,2H),8.02(d,1H),7.78(d,1H),7.61(d,1H),7.53-7.40(m,3H),7.40-7.31(m,2H),7.28(s,1H),6.94(d,1H),4.95(s,2H),3.87(t,2H),3.82(s,2H),3.67-3.62(m,4H),3.22-3.14(m,1H),3.14-3.06(m,2H),3.00(t,4H),2.09(s,3H),1.41(s,2H),1.37-1.20(m,4H),1.20-0.95(m,6H),0.85(s,6H)。MS(ESI)m/e 820.2$(M+H)^+$。

[2282] 1.46 6-[5-(2-氨基乙氧基)-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.46)的合成

[2283] 1.46.1 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(2-{[(苄氧基)羰基]氨基}乙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[(2,2,7,7,13-五甲基-10,10-二氧化-3,3-联苯-4,9-二氧杂-10λ^6-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2284] 如在实例1.2.8中描述的,用实例1.35替换实例1.2.7来制备标题化合物。

[2285] 1.46.2 6-[5-(2-氨基乙氧基)-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2286] 如在实例1.34.4中描述的,用实例1.46.1替换实例1.34.3来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.74(s,2H),8.96(s,1H),8.03(d,1H),7.94(s,3H),7.72-7.81(m,2H),7.53(d,1H),7.47(t,1H),7.35(t,1H),7.28(s,1H),7.02(t,2H),5.03(s,2H),4.26(t,2H),3.92(t,2H),3.83(s,2H),3.23-3.38(m,4H),3.13-3.25(m,1H),2.82-3.00(m,4H),2.78(d,3H),2.11(s,3H),1.23-1.50(m,6H),0.95-1.21(m,6H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 927.2$(M+H)^+$。

[2287] 1.47 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.47)的合成

[2288] 1.47.1 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-[(2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-联苯-4,9-二氧杂-10λ^6-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2289] 如在实例1.2.8中描述的,用实例1.46.2替换实例1.2.7来制备标题化合物。

[2290] 1.47.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2291] 将在二氯甲烷(5mL)中的实例1.47.1(100mg)用三氟乙酸(5mL)处理过夜。将反应混合物浓缩并通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)纯化,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm m 12.74(s,1H),8.96(d,1H),8.64(s,2H),8.02(d,1H),7.76(dd,2H),7.41-7.57(m,2H),7.24-7.40(m,2H),7.02(t,2H),5.03(s,2H),4.23-4.42(m,2H),3.90(t,2H),3.83(s,2H),3.25-3.40(m,6H),3.12-3.24(m,2H),2.81-3.01(m,6H),2.78(d,3H),2.10(s,3H),1.22-1.47(m,6H),0.97-1.21(m,6H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 1035.3$(M+H)^+$。

[2292] 1.48 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基){2-[(2-磺乙基)氨基]乙基}氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.48)的合成

[2293] 1.48.1 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{[2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-联苯-16-(2-磺乙基)-4,9-二氧杂-10λ^{6}-硫杂-13,16-二氮杂-3-硅杂十八烷-18-基]氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2294] 如在实例1.2.8中描述的,用实例1.33.2替换实例1.2.7来制备标题化合物。

[2295] 1.48.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基){2-[(2-磺乙基)氨基]乙基}氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2296] 如在实例1.47.2中描述的,用实例1.48.1替换实例1.47.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.87(s,3H),8.55(s,4H),8.04(d,2H),7.79(d,2H),7.62(d,1H),7.40-7.56(m,3H),7.32-7.40(m,2H),7.29(s,1H),6.96(d,2H),4.96(s,3H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.47(d,2H),3.36(s,2H),3.18-3.30(m,2H),3.01(t,2H),2.94(t,2H),2.82(t,2H),2.11(s,3H),1.26-1.49(m,6H),0.96-1.20(m,6H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 1005.2(M+H)$^{+}$。

[2297] 1.49 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.49)的合成

[2298] 1.49.1 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧丙基)氨基)乙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(甲基(2-磺乙基)氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2299] 如在实例1.32.3中描述的,用实例1.46.2替换实例1.32.2来制备标题化合物。

[2300] 1.49.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2301] 如在实例1.6.2中描述的,用实例1.49.1替换实例1.6.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.75(s,1H),8.96(s,1H),8.59(s,2H),8.03(d,1H),7.72-7.82(m,2H),7.54(d,1H),7.43-7.51(m,2H),7.35(t,1H),7.28(s,1H),7.02(dd,2H),5.02(s,2H),4.34(s,2H),3.93(s,2H),3.83(s,2H),3.62(s,2H),2.84-3.01(m,4H),2.78(d,3H),2.65-2.75(m,2H),2.11(s,3H),1.20-1.45(m,7H),0.95-1.21(m,6H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 999.2(M+H)$^{+}$。

[2302] 1.50 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.50)的合成

[2303] 1.50.1叔丁基3-(1-((3-(2-((1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯

[2304] 将实例1.23.2(205mg)溶于二氯甲烷(2.4mL)中并添加叔丁基4-氧代哌啶-1-甲酸酯(51mg)和三乙酰氧基硼氢化钠(75mg)。将反应在室温搅拌两小时。添加更多的二氯甲烷，并将反应倒入饱和$NaHCO_3$水溶液中。将有机层用盐水洗涤并经硫酸钠干燥。过滤并浓缩后，将残余物通过Grace Reveleris®氨基柱上的硅胶色谱法(用二氯甲烷中的0.5％至5.0％甲醇梯度洗脱)纯化，得到标题化合物。MS(ESI)m/e 986.3$(M+H)^+$。

[2305] 1.50.2 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

[2306] 将实例1.50.1(94mg)溶于二氯甲烷(1mL)中并添加实例1.14.2(25mg)和三乙酰氧基硼氢化钠(30mg)。将反应在室温搅拌四小时。添加三氟乙酸(1.5mL)，并将反应在室温下搅拌过夜。将反应混合物浓缩并通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1％v/v三氟乙酸的10％-90％乙腈水溶液洗脱)纯化，以提供为三氟乙酸盐的标题化合物。^1H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.82(br s,1H)8.60(dd,1H),8.52(dd,1H),8.50(br s,1H),7.66(d,1H),7.50(d,1H),7.46(d,1H),7.38(m,2H),7.30(s,1H),6.97(d,1H),4.98(s,2H),3.89(t,2H),3.83(s,2H)3.69(m,2H),3.61(m,1H),3.44(m,2H)3.23(m,4H),3.02(t,2H),2.93(m,2H),2.18(m,2H),2.10(s,3H),1.92(m,2H),1.83(m,2H),1.64(m,2H),1.44(s,2H),1.31(m,4H),1.14(m,4H),1.04(m,2H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 952.3$(M+H)^+$。

[2307] 1.51 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-1,4-苯并噁嗪-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.51)的合成

[2308] 1.51.1叔丁基3-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氯吡啶甲酸酯

[2309] 向实例1.20.2(3.2g)在N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中的溶液中添加咪唑(0.616g)和氯代叔丁基二甲基硅烷(1.37g)。将混合物搅拌过夜。将反应混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释、用水和盐水洗涤、并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂，得到粗产物，将其通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20％乙酸乙酯洗脱)纯化，以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 645.4$(M+H)^+$。

[2310] 1.51.2叔丁基3-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-6-基)吡啶甲酸酯

[2311] 向6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪(507mg)在1,4-二噁烷(10mL)和水(5mL)中的溶液中添加实例1.51.1(1.25g)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(136mg)、和氟化铯(884mg)。将该混合物在120℃在微波条件下(Biotage Initiator)搅拌20分钟。将混合物用乙酸乙酯(500mL)稀释、用水和盐水洗涤并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出残余物，将其通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20％乙酸乙酯然后用在二氯甲烷中的5％甲醇洗脱)纯化，以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 744.1$(M+H)^+$。

[2312] 1.51.3叔丁基6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-6-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2313] 向双(2,5-二氧吡咯烷-1-基)碳酸酯(295mg)在乙腈(10mL)中的环境悬浮液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(173mg),并将该混合物搅拌1小时。添加实例1.51.2(710mg)在乙腈(10mL)中的溶液,并将该悬浮液剧烈搅拌过夜。将混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释、用水和盐水洗涤并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将其通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)纯化,以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 920.2(M+H)$^+$。

[2314] 1.51.4叔丁基6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-6-基)-3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2315] 向实例1.51.3(1.4g)在四氢呋喃(10mL)中的溶液中添加四丁基氟化铵(1.0M在四氢呋喃中,6mL)。将混合物搅拌3小时。将混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释、用水和盐水洗涤并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出标题产物,将其不经进一步纯化用于下个反应中。MS(ESI)m/e 806.0(M+H)$^+$。

[2316] 1.51.5叔丁基6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-6-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2317] 向实例1.51.4(1.2g)在二氯甲烷(20mL)和三乙胺(2mL)中的冷却的(0℃)溶液中添加甲磺酰氯(300mg)。将混合物搅拌4小时。将反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释、用水和盐水洗涤、并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出标题产物,将其不经进一步纯化用于下个反应中。MS(ESI)m/e 884.1(M+H)$^+$。

[2318] 1.51.6叔丁基3-(1-((3-(2-叠氮乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-6-基)吡啶甲酸酯

[2319] 向实例1.51.5(1.5g)在N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中的溶液中添加叠氮化钠(331mg)。将混合物搅拌48小时。将反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释、用水和盐水洗涤、并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将其通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的20%乙酸乙酯洗脱)纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 831.1(M+H)$^+$。

[2320] 1.51.7叔丁基3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-6-基)吡啶甲酸酯

[2321] 向实例1.51.6(1.5g)在四氢呋喃(30mL)中的溶液中添加Pd/C(10%,200mg)。将混合物在1大气压的氢下搅拌过夜。将反应混合物过滤、并将滤液在真空下浓缩,以给出粗产物。MS(ESI)m/e 805.1(M+H)$^+$。

[2322] 1.51.8 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-1,4-苯并噁嗪-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2323] 向实例1.51.7(164mg)在N,N-二甲基甲酰胺(10mL)和N,N-二异丙基乙基胺(0.5mL)中的溶液中添加4-((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(91mg)。将混合物搅拌过夜。将反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释、用水和盐水洗涤、并经硫酸钠干燥。过滤和蒸发溶剂给出残余物,将其溶于四氢呋喃(2mL)中。添加四丁基氟化铵

(1mL,1M于四氢呋喃中)并将该混合物搅拌过夜。将该混合物在真空下浓缩并将残余物溶于二氯甲烷/三氟乙酸(1:1,6mL)中,随后允许其静置过夜。蒸发溶剂后,将残余物通过反相HPLC(吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.74(s,1H),8.35(s,2H),7.94-8.00(m,1H),7.86(s,1H),7.71-7.82(m,2H),7.46(s,1H),7.34-7.44(m,2H),7.24(t,1H),7.02(d,1H),4.28-4.39(m,2H),4.10-4.19(m,2H),3.90(s,3H),3.55-3.61(m,4H),3.21-3.30(m,3H),3.07-3.16(m,3H),2.23(s,3H),1.44(s,2H),0.98-1.37(m,9H),0.89(s,6H)。MS(ESI)m/e 856.1$(M+H)^+$。

[2324] 1.52 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-磺基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.52)的合成

[2325] 1.52.1甲基2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-5-(3-((2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙氧基)磺酰基)丙氧基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2326] 向实例1.31.8(460mg)在N,N-二甲基甲酰胺(10mL)中的溶液中添加2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙基3-碘丙烷-1-磺酸酯(239mg,根据J.Org.Chem.[有机化学杂志],2013,78,711-716制备)和K_2CO_3(234mg),并将该混合物搅拌过夜。将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释、用水和盐水洗涤并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将其通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1018.5$(M+H)^+$。

[2327] 1.52.2 2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-5-(3-((2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙氧基)磺酰基)丙氧基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸。

[2328] 向实例1.52.1(176mg)于四氢呋喃(4mL)、甲醇(3mL)和水(3mL)中的溶液中添加氢氧化锂一水合物(60mg),并将该混合物搅拌过夜。然后将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用1N水性HCl、水和盐水洗涤并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出标题产物,将其不经进一步纯化用于下个反应中。MS(ESI)m/e 1095.2$(M+H)^+$。

[2329] 1.52.3叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-((2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙氧基)磺酰基)丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2330] 向实例1.52.2(117mg)在二氯甲烷(6mL)中的溶液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(19.27mg)、1-乙基-3-[3-(二甲氨基)丙基]-碳二亚胺盐酸盐(37mg)和4-(二甲氨基)吡啶(23.5mg),并将混合物搅拌过夜。将反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释、用水和盐水洗涤、并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,给出标题产物。MS(ESI)m/e1226.1$(M+H)^+$。

[2331] 1.52.4 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-磺基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2332] 将实例1.52.3(130mg)溶于二氯甲烷/三氟乙酸(1:1,6mL)中并搅拌过夜。在蒸发溶剂后,将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺/水(1:1,12mL)中,并通过反相HPLC(吉尔森,用含

有0.1%v/v三氟乙酸的10%至85%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.68(s,1H),8.13-8.32(m,2H),8.01(d,1H),7.75(dd,2H),7.42-7.56(m,2H),7.29(s,1H),7.28-7.34(m,1H),7.00(dd,2H),5.03(s,2H),4.19(t,2H),3.83(s,3H),3.50-3.57(m,4H),2.95-3.05(m,2H),2.81(t,2H),2.52-2.65(m,4H),1.39(s,2H),0.96-1.32(m,12H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 898.3(M+H)$^+$。

[2333] 1.53 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.53)的合成

[2334] 1.53.1叔丁基6-氯-3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2335] 如在实例1.51.4中描述的,用实例1.51.1替换实例1.51.3来制备标题化合物。

[2336] 1.53.2叔丁基6-氯-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2337] 向实例1.53.1(1.89g)在二氯甲烷(30mL)和三乙胺(3mL)中的冷却的(0℃)溶液中添加甲磺酰氯(1.03g),并将混合物搅拌4小时。将反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释、用水和盐水洗涤、并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出标题产物,将其不经进一步纯化用于下个反应中。

[2338] 1.53.4叔丁基3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氯吡啶甲酸酯

[2339] 将实例1.53.2(2.2g)溶于甲醇(40mL)中的7N氨里,并将该混合物在80℃在微波条件下(Biotage Initiator)搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩,并将残余物溶于乙酸乙酯中,用水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂提供标题化合物。

[2340] 1.53.5叔丁基6-氯-3-[1-({3,5-二甲基-7-[(2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-联苯-4,9-二氧杂-10λ^6-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2341] 向实例1.53.3(1.59g)于N,N-二甲基甲酰胺(30mL)中的溶液中添加4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(1.6g)和N,N-二异丙基乙基胺(1mL),并将该混合物搅拌4天。将反应混合物溶于乙酸乙酯(400mL)中、用水和盐水洗涤、并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出标题产物,将其不经进一步纯化用于下个反应中。MS(ESI)m/e 976.8(M+H)$^+$。

[2342] 1.53.6叔丁基3-{1-[(3-{[13-(叔丁氧基羰基)-2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-联苯-4,9-二氧杂-10λ^6-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-氯吡啶-2-甲酸酯

[2343] 向实例1.53.4(2.93g)在四氢呋喃(50mL)中的溶液中添加二-叔丁基二碳酸酯(0.786g)和4-(二甲氨基)吡啶(100mg),并将该混合物搅拌过夜。真空下浓缩混合物,并将残余物溶于乙酸乙酯(300mL)中,用1NHCl水溶液、水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将其通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1076.9(M+H)$^+$。

[2344] 1.53.7叔丁基3-{1-[(3-{[13-(叔丁氧基羰基)-2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-

3,3-联苯-4,9-二氧杂-10λ^6-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-(1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)吡啶-2-甲酸酯

[2345] 向7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1,2,3,4-四氢喹啉(65mg)在1,4-二噁烷(10mL)和水(5mL)中的溶液中添加实例1.53.5(220mg)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(7mg)、和氟化铯(45.6mg)。将混合物在120℃在微波条件下(Biotage Initiator)搅拌30分钟。将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释、用水和盐水洗涤并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将其通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)纯化,以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 1173.9(M+H)$^+$。

[2346] 1.53.8 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸

[2347] 向双(2,5-二氧吡咯烷-1-基)碳酸酯(48.2mg)在乙腈(10mL)中的环境悬浮液中添加噻唑并[4,5-b]吡啶-2-胺(34mg),并将该混合物搅拌1小时。添加实例1.53.6(220mg)在乙腈(5mL)中的溶液,并将该悬浮液剧烈搅拌过夜。将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释、用水和盐水洗涤并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将该残余物溶于三氟乙酸(10mL)中并搅拌过夜。蒸发溶剂后,将残余物通过反相HPLC(吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.42-8.48(m,1H),8.31-8.40(m,4H),8.03(d,1H),7.89(d,1H),7.80(d,1H),7.47(s,1H),7.26-7.37(m,2H),3.93-4.02(m,3H),3.90(s,3H),3.52-3.60(m,3H),3.17-3.26(m,2H),3.05-3.14(m,2H),2.76-2.89(m,5H),2.23(s,3H),1.90-2.01(m,2H),1.44(s,2H),1.27-1.37(m,4H),0.99-1.22(m,5H),0.88(s,6H)。MS(ESI)m/e 855.1(M+H)$^+$。

[2348] 1.54 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.54)的合成

[2349] 1.54.1叔丁基3-{1-[(3-{[13-(叔丁氧基羰基)-2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-联苯-4,9-二氧杂-10λ^6-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(甲氧基羰基)萘-2-基]吡啶-2-甲酸酯

[2350] 通过用甲基7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1-萘甲酸盐取代实例1.53.6中的7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1,2,3,4-四氢喹啉来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1226.6(M+H)$^+$。

[2351] 1.54.2 7-[6-(叔丁氧基羰基)-5-{1-[(3-{[13-(叔丁氧基羰基)-2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-联苯-4,9-二氧杂-10λ^6-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-基]萘-1-甲酸

[2352] 向实例1.54.1(79mg)于四氢呋喃(4mL)、甲醇(3mL)和水(3mL)中的溶液中添加氢氧化锂一水合物(60mg),并将该混合物搅拌过夜。将反应用乙酸乙酯(200mL)稀释,用1N水性HCl、水和盐水洗涤并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出标题产物,将其不经进一步纯

化用于下个步骤中。MS(ESI)m/e 1211.6(M+H)$^+$。

[2353] 1.54.3 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]吡啶-2-甲酸

[2354] 向实例1.54.2(60mg)在二氯甲烷(4mL)中的溶液中添加噻唑并[4,5-b]吡啶-2-胺(7.56mg)、1-乙基-3-[3-(二甲氨基)丙基]-碳二亚胺盐酸盐(19mg)和4-(二甲氨基)吡啶(12.2mg),并将混合物搅拌过夜。将反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释、用水和盐水洗涤、并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到标题产物,将其溶解于二氯甲烷/三氟乙酸(1:1,6mL)中并搅拌过夜。在蒸发溶剂后,将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺/水(1:1,12mL)中,并通过反相HPLC(吉尔森系统,用含有0.1%三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.42(s,1H),9.05(s,1H),8.51-8.69(m,2H),8.31-8.41(m,2H),8.18-8.26(m,4H),8.06(d,1H),7.97(d,1H),7.68-7.79(m,1H),7.49(s,1H),7.40(dd,1H),3.90(s,3H),3.18-3.29(m,3H),3.07-3.15(m,2H),2.82(t,3H),2.24(s,3H),1.44(s,2H),0.97-1.37(m,10H),0.88(s,6H)。MS(ESI)m/e 850.1(M+H)$^+$。

[2355] 1.55(1ξ)-1-({2-[5-(1-{[3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-羧基吡啶-2-基]-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基}甲基)-1,5-脱水-D-葡萄糖醇(化合物W2.55)的合成

[2356] 1.55.1(2R,3R,4S,5R)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-2-((甲氧基甲氧基)甲基)-6-亚甲基四氢-2H-吡喃

[2357] 根据如下制备标题化合物:J.R.Walker等人,Bioorg.Med.Chem.[生物有机与药物化学]2006,14,3038-3048。MS(ESI)m/e 370(M+NH_4)$^+$。

[2358] 1.55.2 4-溴-3-氰甲基-苯甲酸甲酯

[2359] 经30分钟,向三甲基硅烷甲腈(3.59mL)在四氢呋喃(6mL)中的溶液中逐滴添加1M四丁基氟化铵(26.8mL,1M于四氢呋喃中)。将该溶液在室温下搅拌30分钟。将甲基4-溴-3-(溴甲基)苯甲酸酯(7.50g)溶于乙腈(30mL)中并经30分钟逐滴添加至第一溶液中。将溶液加热至80℃持续30分钟并冷却。将溶液在减压下浓缩,并将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%-30%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。

[2360] 1.55.3 3-(2-氨乙基)-4-溴苯甲酸甲酯

[2361] 将实例1.55.2(5.69g)溶于四氢呋喃(135mL)中,并添加1M硼烷(于四氢呋喃中,24.6mL)。将溶液在室温搅拌16小时,并用甲醇和1M水性盐酸缓慢地猝灭。添加4M水性盐酸(150mL),并将该溶液在室温搅拌16小时。将混合物在减压下浓缩,并使用固体碳酸钾将pH调节至在11与12之间。然后将溶液用二氯甲烷(3×100mL)萃取。将有机萃取物合并,并用无水硫酸钠干燥。将溶液过滤并在减压下浓缩,并将残余物通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的10%-20%甲醇洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 258,260(M+H)$^+$。

[2362] 1.55.4 4-溴-3-[2-(2,2,2-三氟乙酰基氨基)-乙基]-苯甲酸甲酯

[2363] 将实例1.55.2(3.21g)溶解于二氯甲烷(60mL)中。将溶液冷却至0℃,并添加三乙胺(2.1mL)。逐滴添加三氟乙酸酐(2.6mL)。将溶液在0℃搅拌十分钟并除去冷却浴。1小时后,添加水(50mL),并将溶液用乙酸乙酯(100mL)稀释。添加1M水性盐酸(50mL),并分离有机层,用1M水性盐酸洗涤,并用盐水洗涤。将溶液用无水硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩以

提供标题化合物。MS(ESI)m/e371,373(M+H)$^+$。

[2364] 1.55.5 5-溴-2-(2,2,2-三氟乙酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

[2365] 将实例1.55.4(4.40g)和多聚甲醛(1.865g)置于烧瓶中并添加浓硫酸(32mL)。将溶液在室温搅拌一小时。添加冷水(120mL),并将溶液用乙酸乙酯(3x 100mL)萃取。将萃取物合并,用饱和水性碳酸氢钠(100mL)和水(100mL)洗涤,并经无水硫酸钠干燥。将混合物过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%-30%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e366,368(M+H)$^+$。

[2366] 1.55.6甲基2-(2,2,2-三氟乙酰基)-5-(((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2367] 将实例1.55.1(242mg)溶于四氢呋喃(7mL)中并逐滴添加9-硼杂二环[3.3.1]壬烷(3.0mL)。将溶液回流4.5小时,并且使其冷却至室温。添加磷酸钾(3M,0.6mL),并将溶液搅拌10分钟。然后将溶液用氮脱气并冲洗三次。分别将实例1.55.5(239mg)和二氯[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]钯(II)二氯甲烷加合物(39mg)溶于N,N-二甲基甲酰胺(7mL)中,并将溶液脱气并用氮气冲洗三次。将N,N-二甲基甲酰胺溶液逐滴添加到四氢呋喃溶液中,并将混合物搅拌18小时。添加HCl溶液(0.1M水性,25mL),并将溶液用乙酸乙酯(30mL)萃取三次。合并有机萃取物,用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的30%-50%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 710(M+NH_4)$^+$。

[2368] 1.55.7甲基5-(((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2369] 将实例1.55.6(247mg)溶于甲醇(1mL)、四氢呋喃(1mL)、和水(0.5mL)中。添加碳酸钾(59mg),并将溶液在室温搅拌16小时。将溶液用乙酸乙酯(10mL)稀释并用饱和水性碳酸氢钠(1mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 600(M+H)$^+$。

[2370] 1.55.8甲基2-(5-溴-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基)-5-(((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2371] 通过用实例1.55.7取代实例1.1.11中的甲基1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸盐来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 799,801(M-叔丁基)$^+$。

[2372] 1.55.9甲基2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-5-(((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2373] 通过用实例1.55.8取代实例1.2.1中的实例1.1.11来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 903(M+H)$^+$,933(M+MeOH-H)$^-$。

[2374] 1.55.10 2-((3-((4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙胺

[2375] 通过用实例1.13.1取代实例1.10.5中的实例1.10.4来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 444(M+H)$^+$。

[2376] 1.55.11叔丁基(2-((3-((4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚

烷-1-基)氧基)乙基)氨基甲酸酯

[2377] 通过用实例1.55.10取代实例1.10.6中的实例1.10.5来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 544(M+H)$^+$,488(M-叔丁基)$^+$,542(M-H)$^-$。

[2378] 1.55.12甲基2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-5-(((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2379] 通过用实例1.55.9取代实例1.13.4中的实例1.2.1、以及用实例1.55.11取代实例1.13.4中的实例1.13.3来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1192(M+H)$^+$。

[2380] 1.55.13 2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-5-(((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

[2381] 通过用实例1.55.12取代实例1.2.5中的实例1.2.4来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1178(M+H)$^+$,1176(M-H)$^-$。

[2382] 1.55.14叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2383] 通过用实例1.55.13取代实例1.52.3中的实例1.52.2来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1310(M+H)$^+$,1308(M-H)$^-$。

[2384] 1.55.15(1ξ)-1-({2-[5-(1-{[3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-羧基吡啶-2-基]-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基}甲基)-1,5-脱水-D-葡萄糖醇

[2385] 通过用实例1.55.14取代实例1.52.4中的实例1.52.3、以及用4M水性盐酸取代实例1.52.4中的三氟乙酸来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 7.96(d,1H),7.73(d,1H),7.58(bs,3H),7.46(d,1H),7.43-7.39(m,2H),7.30(d,1H),7.27-7.25(m,2H),6.88(d,1H),4.90(q,2H),3.76(m,4H),3.51(m,1H),3.21(d,2H),3.18(d,1H),3.12(m,2H),3.02(m,4H),2.93(m,4H),2.83(m,2H),2.59(m,2H),2.03(s,3H),1.44(s,1H),1.34(s,2H),1.23(q,4H),1.07(m,4H),0.97(q,2H),0.80(s,6H)。MS(ESI)m/e 922(M+H)$^+$,920(M-H)$^-$。

[2386] 1.56 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-羧基丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.56)的合成

[2387] 1.56.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((4-(叔丁氧基)-4-氧代丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2388] 在50℃,向实例1.2.7(0.103g)和叔丁基4-溴丁酸酯(0.032g)于二氯甲烷(0.5mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙基胺(0.034mL),在密封的琥珀色小瓶中过夜。将反应浓

缩，溶解在二甲基亚砜/甲醇(1:1，2mL)中，并且使用吉尔森系统通过反相HPLC(用含有0.1％v/v三氟乙酸的5％-75％乙腈水溶液洗脱)纯化。合并所需的级分并冷冻干燥，以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 944.6(M+1)。

[2389] 1.56.1 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-羧基丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2390] 将实例1.56.1(0.049g)的溶液溶于二氯甲烷(1mL)中并用三氟乙酸(0.5mL)处理并将混合物搅拌过夜。将反应浓缩，溶解在(1:1)N,N-二甲基甲酰胺/水混合物(2mL)中，并使用吉尔森系统通过反相HPLC(用含有0.1％v/v三氟乙酸的5％-75％乙腈水溶液洗脱)纯化。合并所需的级分并冷冻干燥，以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz，二甲基亚砜-d_6)δppm 13.09-12.32(m,2H)，8.31(s,2H)，8.03(d,1H)，7.79(d,1H)，7.62(d,1H)，7.54-7.40(m,3H)，7.40-7.32(m,2H)，7.29(s,1H)，6.96(d,1H)，4.96(s,2H)，3.89(t,2H)，3.83(s,2H)，3.55(d,2H)，3.02(q,4H)，2.92(q,2H)，2.33(t,2H)，2.10(s,3H)，1.80(p,2H)，1.43(s,2H)，1.30(q,4H)，1.21-0.95(m,6H)，0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 832.3(M+H)$^{+}$。

[2391] 1.57 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.57)的合成

[2392] 1.57.1叔丁基3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(甲氧基羰基)萘-2-基)吡啶甲酸酯

[2393] 向甲基7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1-萘甲酸盐(2.47g)在1,4-二噁烷(40mL)和水(20mL)中的溶液中添加实例1.20.2(4.2g)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(556mg)、和氟化铯(3.61g)。将混合物回流过夜，用乙酸乙酯(400mL)稀释并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥，过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的20％乙酸乙酯洗脱、并且然后用在二氯甲烷中的5％甲醇洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e680.84(M+H)$^{+}$。

[2394] 1.57.2叔丁基3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(甲氧基羰基)萘-2-基)吡啶甲酸酯

[2395] 向实例1.57.1(725mg)在二氯甲烷(10mL)和三乙胺(0.5mL)中的冷却的(0℃)溶液中添加甲磺酰氯(0.249mL)。将混合物在室温搅拌4小时，用乙酸乙酯稀释，并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥，过滤并浓缩，以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 758.93(M+H)$^{+}$。

[2396] 1.57.3叔丁基3-(1-((3-(2-叠氮乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(甲氧基羰基)萘-2-基)吡啶甲酸酯

[2397] 向实例1.57.2(4.2g)在N,N-二甲基甲酰胺(30mL)中的溶液中添加叠氮化钠(1.22g)。将混合物在室温搅拌96小时，用乙酸乙酯(600mL)稀释，并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥，过滤并浓缩，以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 704.86(M+H)$^{+}$。

[2398] 1.57.4 7-(5-(1-((3-(2-叠氮乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基)-1-萘甲酸

[2399] 向实例1.57.3(3.5g)在四氢呋喃/甲醇/H_2O(2:1:1，30mL)中的溶液中添加氢氧化锂一水合物(1.2g)，并将混合物在室温搅拌过夜。将反应混合物用1N HCl水溶液酸化，用乙

酸乙酯(600mL)稀释,并且用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 691.82(M+H)$^+$。

[2400] 1.57.5叔丁基3-(1-((3-(2-叠氮乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸酯

[2401] 向实例1.57.4(870mg)在N,N-二甲基甲酰胺(10mL)中的溶液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(284mg)、氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒六氟磷酸盐(499mg)和N,N-二异丙基乙胺(488mg)。将混合物在60℃搅拌3小时,用乙酸乙酯(200mL)稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e824.02(M+H)$^+$。

[2402] 1.57.6叔丁基3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸酯

[2403] 向实例1.57.5(890mg)在四氢呋喃(30mL)中的溶液中添加Pd/C(90mg,5%)。将混合物在氢气氛下、在室温搅拌过夜,并过滤。将滤液浓缩以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 798.2(M+H)$^+$。

[2404] 1.57.7 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰基丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2405] 向实例1.57.6(137mg)在二氯甲烷(6mL)中的溶液中添加实例1.14.2(43mg)。将混合物在室温下搅拌1.5小时,并添加$NaBH_4$(26mg)于甲醇(2mL)中的溶液。将混合物在室温搅拌2小时,用乙酸乙酯(200mL)稀释,并用2N水性NaOH溶液、水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物溶解于二氯甲烷(5mL)中并用三氟乙酸(5mL)处理过夜。将反应混合物浓缩。将残余物通过反相HPLC(吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸溶液的10%-85%乙腈水溶液梯度洗脱)纯化,以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δ9.03(s,1H),8.48-8.35(m,3H),8.29-8.16(m,3H),8.08(dd,1H),8.03(dd,1H),7.94(d,1H),7.82(d,1H),7.71(dd,1H),7.53-7.47(m,2H),7.38(td,1H),4.81-0.53(m,89H)。MS(ESI)m/e863.2(M+H)$^+$。

[2406] 1.58 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[4-(β-D-吡喃葡糖基氧基)苄基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(化合物W2.58)的合成

[2407] 向实例1.3.1(44.5mg)在四氢呋喃(2mL)和乙酸(0.2mL)中的溶液中添加4-(((2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯甲醛(17mg)和$MgSO_4$(300mg)。将混合物在室温搅拌1小时,然后添加在树脂上的氰基硼氢化钠(300mg)。将混合物在室温搅拌过夜并过滤。将滤液浓缩并将残余物通过反相HPLC(吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液梯度洗脱)纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1015.20(M+H)$^+$。

[2408] 1.59 3-(1-{[3-(2-{[4-(β-D-别吡喃糖基氧基)苄基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.59)的合成

[2409] 向实例1.3.1(44.5mg)在四氢呋喃(2mL)和乙酸(0.2mL)中的溶液中添加4-(((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯甲醛(17mg)和

$MgSO_4$(300mg)，并将该混合物在室温搅拌1小时，之后添加树脂上的氰基硼氢化钠(300mg)。将混合物在室温搅拌过夜并过滤。将滤液浓缩并将残余物通过反相HPLC(吉尔森系统，用含有0.1％v/v三氟乙酸的10％-85％乙腈水溶液梯度洗脱)纯化，以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1015.20$(M+H)^+$。

[2410] 1.60 3-{1-[(3-{2-[氮杂环丁-3-基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.60)的合成

[2411] 1.60.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((1-(叔丁氧基羰基)氮杂环丁-3-基)(2-((4-(叔丁基二苯基甲硅烷基)羟基-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2412] 将实例1.2.8(0.075g)、叔丁基3-氧代氮杂环丁烷-1-甲酸酯(0.021g)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.025g)在二氯甲烷(0.5mL)中的溶液在室温搅拌过夜。将反应加载到硅胶上，并用在二氯甲烷中的0-10％甲醇洗脱，以得到标题化合物。MS(ESI)m/e 1403.9(M+1)。

[2413] 1.60.2 3-{1-[(3-{2-[氮杂环丁-3-基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

[2414] 将实例1.60.1(0.029g)在二氯甲烷(1mL)中的溶液用三氟乙酸(1mL)处理并搅拌过夜。将反应浓缩，溶解在(1:1)二甲基亚砜/甲醇(2mL)中，并且将混合物使用吉尔森系统通过反相HPLC(用含有0.1％v/v三氟乙酸的10％-80％乙腈水溶液洗脱)纯化。合并所需的级分并冷冻干燥，以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz，二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(s,1H)，8.81(s,2H)，8.04(d,1H)，7.79(d,1H)，7.62(d,1H)，7.52(d,1H)，7.50-7.46(m,1H)，7.44(d,1H)，7.40-7.33(m,2H)，7.30(s,1H)，6.96(d,1H)，4.96(s,2H)，4.37(q,1H)，4.27(s,2H)，4.11(s,2H)，3.89(t,2H)，3.83(s,2H)，3.58-3.54(m,2H)，3.32(t,2H)，3.24(s,2H)，3.01(t,2H)，2.85(t,2H)，2.10(s,3H)，1.48-0.97(m,12H)，0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 909.2$(M+H)^+$。

[2415] 1.61 3-{1-[(3-{2-[(3-氨基丙基)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.61)的合成

[2416] 1.61.1 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((3-((叔丁氧基羰基)氨基)丙基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2417] 使用针对实例1.33.1的程序，用叔丁基(3-氧丙基)氨基甲酸酯替换叔丁基(2-氧乙基)氨基甲酸酯来制备标题化合物。MS(ESI)m/e1011.5(M+H)。

[2418] 1.61.2 3-{1-[(3-{2-[(3-氨基丙基)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

[2419] 如在实例1.6.2中描述的，用实例1.61.1替换实例1.6.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz，二甲基亚砜-d_6)δppm 12.87(s,1H)，9.10(s,1H)，8.04(d,1H)，7.88-7.67(m,

4H),7.62(d,1H),7.57-7.40(m,3H),7.36(td,2H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),4.05-3.78(m,4H),3.41-3.08(m,3H),2.94(tt,6H),2.11(s,3H),1.92(t,2H),1.53-0.95(m,11H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 911.3(M+H)。

[2420] 1.62 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.62)的合成

[2421] 1.62.1叔丁基3-(1-((3-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氯吡啶甲酸酯

[2422] 向实例1.53.3(521mg)在乙醇(10mL)中的环境溶液中添加三乙胺(3mL),随后添加丙烯酸叔丁酯(2mL)。将混合物在室温搅拌3小时,并且然后浓缩至干燥。将残余物溶解于乙酸乙酯(200mL)中,并将溶液用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩以给出标题化合物,将其不经进一步纯化用于下一反应。MS(ESI)m/e 657.21(M+H)$^+$。

[2423] 1.62.2叔丁基3-(1-((3-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧丙基)(叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氯吡啶甲酸酯

[2424] 向实例1.62.1(780mg)在四氢呋喃(10mL)中的溶液中添加二-叔丁基二碳酸酯(259mg),随后添加催化量的4-二甲基氨基吡啶。将反应在室温搅拌3小时,并且然后浓缩至干燥。将残余物溶解于乙酸乙酯(200mL)中,并将溶液用饱和$NaHCO_3$水溶液、水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 757.13(M+H)$^+$。

[2425] 1.62.3叔丁基3-(1-((3-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧丙基)(叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)吡啶甲酸酯

[2426] 向7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1,2,3,4-四氢喹啉(234mg)在1,4-二噁烷(10mL)和水(5mL)中的溶液中添加实例1.62.2(685mg)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(63.2mg)、和氟化铯(410mg)。通过微波辐射(Biotage Initiator),将混合物加热至120℃持续30分钟。将反应通过添加乙酸乙酯和水进行猝灭。将各层分离,并将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 854.82(M+H)$^+$。

[2427] 1.62.4叔丁基6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧丙基)(叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2428] 向双(2,5-二氧吡咯烷-1-基)碳酸酯(150mg)在乙腈(10mL)中的环境悬浮液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(88mg),并将该混合物搅拌1小时。添加实例1.62.3(500mg)在乙腈(2mL)中的溶液,并将该悬浮液剧烈搅拌过夜。将反应通过添加乙酸乙酯和水进行猝灭。将各层分离,并将有机层用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 1030.5(M+H)$^+$。

[2429] 1.62.5 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲

基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2430] 向实例1.62.4(110mg)在二氯甲烷(0.53mL)中的环境溶液中添加三氟乙酸(0.53mL)。将反应搅拌过夜,并且浓缩成粘性油状物。将残余物溶解于二甲基亚砜/甲醇(1:1,2mL)中,并通过反相HPLC(吉尔森系统)(用在0.1%三氟乙酸水溶液中的10%-55%乙腈洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.10(s,3H),8.37(s,1H),8.26(s,2H),7.98(d,1H),7.86-7.71(m,3H),7.44(s,1H),7.39-7.31(m,1H),7.26(d,1H),7.19(t,1H),3.92(d,2H),3.87(s,2H),3.55(t,2H),3.17-3.00(m,4H),2.80(t,2H),2.62(t,2H),2.19(s,3H),1.95-1.88(m,2H),1.43(s,2H),1.33-1.25(m,4H),1.18-1.11(m,4H),1.09-0.97(m,2H),0.85(s,6H)。MS(ESI)m/e 818.0$(M+H)^+$。

[2431] 1.63 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(N6,N6-二甲基-L-赖氨酰基)(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(W2.63)的合成

[2432] 将(S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-6-(二甲氨基)己酸(0.029g)和1-[双(二甲氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐(0.028g)的溶液在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)与N,N-二异丙胺(0.035mL)中一起搅拌。搅拌5分钟后,将溶液添加到实例1.13.7(0.051g)中并在室温下继续搅拌过夜。向反应中添加二乙胺(0.070mL),并且搅拌反应2小时。将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)、水(0.5ml)和2,2,2-三氟乙酸(0.103ml)稀释,并且然后通过反相HPLC(使用10%至90%乙腈/水的梯度)纯化。收集含有产物的级分并冻干,得到标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δ9.59(s,1H),8.41(s,1H),8.12(t,3H),8.01(d,1H),7.85(dd,1H),7.81(d,1H),7.77(dd,1H),7.47(s,1H),7.38(t,1H),7.30(d,1H),7.22(t,1H),3.97(t,2H),3.89(s,2H),3.49(dt,4H),3.06(s,2H),2.99(q,2H),2.88(s,2H),2.84(t,2H),2.75(d,6H),2.22(s,3H),2.00-1.90(m,2H),1.84-1.52(m,4H),1.48-0.95(m,14H),0.87(d,6H)。MS(ESI)m/e 916.2$(M+H)^+$。

[2433] 1.64 3-{1-[(3-{2-[(3-氨基丙基)(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸(W2.64)的合成

[2434] 1.64.1 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-((3-((叔丁氧基羰基)氨基)丙基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2435] 将实例1.21.5(100mg)、N,N-二异丙基乙基胺(68.9μL)和叔丁基(3-氧丙基)氨基甲酸酯(68.4mg)在二氯甲烷(3mL)中的溶液在环境温度搅拌2小时,并添加$NaCNBH_4$(8.27mg)。将反应在环境温度搅拌过夜。添加甲醇(1mL)和水(0.2mL)。将所得混合物搅拌10分钟并浓缩。将残余物溶解于二甲基亚砜中,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用在0.1%三氟乙酸水溶液中的30%-80%乙腈洗脱)进行纯化以提供为三氟乙酸盐的标题化合物。MS(ESI)m/e459.4$(M+2H)^{2+}$。

[2436] 1.64.2 3-{1-[(3-{2-[(3-氨基丙基)(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸

[2437] 在0℃,将在二氯甲烷(4mL)中的实例1.64.1(100mg)用三氟乙酸(1mL)处理1小时,

并将混合物浓缩。将残余物通过反相HPLC(C18柱)(用0.1%三氟乙酸水溶液中的10%-60%乙腈的梯度洗脱)进行纯化以提供作为三氟乙酸盐的标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ9.38(s,1H),8.37(s,1H),7.98(d,1H),7.90-7.69(m,6H),7.44(s,2H),7.35(td,1H),7.27(d,1H),7.22-7.16(m,1H),3.94(d,2H),3.87(s,2H),3.64(t,2H),3.28-2.98(m,4H),2.87-2.70(m,8H),2.19(s,3H),1.90(dp,4H),1.43(s,2H),1.36-1.22(m,4H),1.15(s,4H),1.08-0.95(m,2H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 817.6(M+H)$^+$。

[2438] 1.65 3-{1-[(3-{2-[氮杂环丁-3-基(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸(W2.65)的合成

[2439] 1.65.1 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-((1-(叔丁氧基羰基)氮杂环丁-3-基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2440] 使用实例1.64.1中描述的程序,用叔丁基3-氧代氮杂环丁烷-1-甲酸酯替换叔丁基(3-氧丙基)氨基甲酸酯来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 915.3(M+H)$^+$。

[2441] 1.65.2 3-{1-[(3-{2-[氮杂环丁-3-基(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸

[2442] 使用实例1.64.2中的程序,用实例1.65.1取代实例1.64.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ9.01(s,2H),8.37(s,1H),7.98(d,1H),7.86-7.70(m,3H),7.44(s,2H),7.34(td,1H),7.27(d,1H),7.23-7.15(m,1H),4.22(s,4H),4.07(s,2H),3.93(t,2H),3.58(t,2H),3.11(s,2H),2.80(t,2H),2.68(s,3H),2.19(s,3H),1.92(p,2H),1.42(s,2H),1.30(s,4H),1.15(s,4H),1.09-0.96(m,2H),0.85(s,6H)。MS(ESI)m/e 815.5(M+H)$^+$。

[2443] 1.66 N6-(37-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-L-赖氨酰基-N-[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]-L-丙氨酰胺(W2.66)的合成

[2444] 1.66.1(S)-6-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)己酸

[2445] 向(S)-6-氨基-2-((叔丁氧基羰基)氨基)己酸(8.5g)在5%$NaHCO_3$水溶液(300mL)和二噁烷(40mL)的混合物中的溶液(在冰浴中冷却)中滴加(9H-芴-9-基)甲基吡咯烷-1-基碳酸酯(11.7g)在二噁烷(40mL)中的溶液。使反应混合物升温至室温并搅拌24小时。如上所述设置三个另外的小瓶。在反应完成后,合并所有四种反应混合物,并在真空下除去有机溶剂。用盐酸水溶液(1N)将含水残余物酸化至pH 3,并且然后用乙酸乙酯(3×500mL)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经硫酸镁干燥,过滤,并在真空下浓缩,得到粗化合物,将该粗化合物从甲基叔丁基醚中重结晶,以得到标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ11.05(br.s.,1H),7.76(d,2H),7.59(d,2H),7.45-7.27(m,4H),6.52-6.17(m,1H),5.16-4.87(m,1H),4.54-4.17(m,4H),3.26-2.98(m,2H),1.76-1.64(m,1H),1.62-1.31(m,14H)。

[2446] 1.66.2叔丁基17-羟基-3,6,9,12,15-五氧杂十七烷-1-酸酯

[2447] 向3,6,9,12-四氧杂十四烷-1,14-二醇(40g)在甲苯(800mL)中的溶液中分批添加叔丁醇钾(20.7g)。将混合物在室温搅拌30分钟。向混合物中滴加叔丁基2-溴乙酸酯(36g)。将反应在室温搅拌16小时。如上所述设置两个另外的小瓶。反应完成后,将所有三种反应混合物合并。将水(500mL)添加到合并的混合物中,并将混合物浓缩至1L。将混合物用二氯甲烷萃取,并用1N叔丁醇钾水溶液(1L)洗涤。将有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩,以得到粗产物,将该粗产物通过硅胶柱色谱法纯化,用二氯甲烷:甲醇50:1洗脱,以得到标题化合物。^1H NMR(400MHz,氯仿-d)δ4.01(s,2H),3.75-3.58(m,21H),1.46(s,9H)。

[2448] 1.66.3叔丁基17-(甲苯磺酰氧基)-3,6,9,12,15-五氧杂十七烷-1-酸酯

[2449] 在0℃,在氮气氛下,向实例1.66.2(30g)在二氯甲烷(500mL)中的溶液中滴加4-甲基苯-1-磺酰氯(19.5g)和三乙胺(10.3g)在二氯甲烷(500mL)中的溶液。将混合物在室温搅拌18小时并且倒入水(100mL)中。将溶液用二氯甲烷(3×150mL)萃取,并将有机层用盐酸(6N,15mL)洗涤,然后用$NaHCO_3$(5%水溶液,15mL)洗涤,接着用水(20mL)洗涤。将有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩,以得到残余物,将该残余物通过硅胶柱色谱法纯化,用石油醚:乙酸乙酯10:1至二氯甲烷:甲醇5:1洗脱,以得到标题化合物。^1H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.79(d,2H),7.34(d,2H),4.18-4.13(m,2H),4.01(s,2H),3.72-3.56(m,18H),2.44(s,3H),1.47(s,9H)。

[2450] 1.66.4 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-酸

[2451] 在0℃,向2,5,8,11,14,17-六氧杂十九烷-19-醇(32.8g)在四氢呋喃(300mL)中的溶液中加入氢化钠(1.6g)。将混合物在室温搅拌4小时。在室温,将实例1.66.3(16g)在四氢呋喃(300mL)中的溶液滴加到反应混合物中。将所得反应混合物在室温搅拌16小时,并且然后添加水(20mL)。将混合物在室温搅拌另外3小时以完成叔丁酯水解。将最终的反应混合物在真空下浓缩以除去有机溶剂。将含水残余物用二氯甲烷(2×150mL)萃取。将水层酸化至pH 3,并且然后用乙酸乙酯(2×150mL)萃取。浓缩水层,以得到粗产物,将该粗产物通过硅胶柱色谱法纯化,用石油醚:乙酸乙酯1:1至二氯甲烷:甲醇5:1的梯度洗脱,以得到标题化合物。^1H NMR(400MHz,氯仿-d)δ4.19(s,2H),3.80-3.75(m,2H),3.73-3.62(m,40H),3.57(dd,2H),3.40(s,3H)。

[2452] 1.66.5(43S,46S)-43-((叔-丁氧基羰基)氨基)-46-甲基-37,44-二氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂-38,45-二氮杂四十七烷-47-酸

[2453] 使用标准Fmoc固相肽合成方法和2-氯三苯甲基树脂合成实例1.66.5。将在无水、筛干燥的二氯甲烷(100mL)中的2-氯三苯甲基树脂(12g,100mmol)、(S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酸(10g,32.1mmol)和N,N-二异丙基乙胺(44.9mL,257mmol)在14℃振荡24小时。将混合物过滤,并将滤饼用二氯甲烷(3×500mL)、二甲基甲酰胺(2×250mL)和甲醇(2×250mL)洗涤(每个步骤5分钟)。向以上树脂中添加20%哌啶/二甲基甲酰胺(100mL)以去除Fmoc基团。将混合物用氮鼓泡15分钟并且然后过滤。将树脂用20%哌啶/二甲基甲酰胺(100mL)洗涤另外的五次(每个步骤5分钟),并用二甲基甲酰胺(5×100mL)洗涤以给出脱保护的L-Ala加载的树脂。

[2454] 向实例1.66.1(9.0g)在N,N-二甲基甲酰胺(50mL)中的溶液中添加羟基苯并三唑(3.5g)、2-(6-氯-1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基铵六氟磷酸盐(9.3g)和N,N-二异丙基乙胺(8.4mL)。将混合物在20℃搅拌30分钟。将以上混合物添加至D-Ala加载的树脂,并通

过在室温用氮鼓泡90分钟来混合。过滤混合物，并且用二甲基甲酰胺洗涤树脂(每步5分钟)。向上述树脂中添加约20％哌啶/N,N-二甲基甲酰胺(100mL)以除去Fmoc基团。将混合物用氮鼓泡15分钟并过滤。将树脂用20％哌啶/二甲基甲酰胺(100mL)洗涤另外5次(每个步骤5分钟)，并且最后用二甲基甲酰胺(5×100mL)洗涤。

[2455] 向实例1.66.4(11.0g)在N,N-二甲基甲酰胺(50mL)中的溶液中添加羟基苯并三唑(3.5g)、2-(6-氯-1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基铵六氟磷酸盐(9.3g)和N,N-二异丙基乙胺(8.4mL)，并将该混合物添加至该树脂并通过在室温用氮鼓泡3小时来混合。过滤混合物，并且将残余物用二甲基甲酰胺(5×100mL)、二氯甲烷(8×100mL)洗涤(每个步骤5分钟)。

[2456] 向最终的树脂中添加1％三氟乙酸/二氯甲烷(100mL)，并鼓入氮5分钟。过滤混合物，并且收集滤液。将裂解操作重复四次。使用$NaHCO_3$将合并的滤液调至pH 7并用水洗涤。将有机层经Na_2SO_4干燥，过滤并浓缩以得到标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,甲醇-d_4)δ4.44-4.33(m,1H)，4.08-4.00(m,1H)，3.98(s,2H)，3.77-3.57(m,42H)，3.57-3.51(m,2H)，3.36(s,3H)，3.25(t,2H)，1.77(br.s.,1H)，1.70-1.51(m,4H)，1.44(s,9H)，1.42-1.39(m,3H)。

[2457] 1.66.6叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(((43S,46S)-43-((叔丁氧基羰基)氨基)-46-甲基-37,44,47-三氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂-38,45,48-三氮杂五十烷-50-基)氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2458] 将实例1.66.5(123mg,0.141mmol)与1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化六氟磷酸盐(58.9mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.049mL)在N-甲基-2-吡咯烷酮(1mL)中混合10分钟，并且然后添加到实例1.2.7(142mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.049mL)在N-甲基-2-吡咯烷酮(1.5mL)中的溶液中。将反应混合物在室温搅拌两小时。将粗反应混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统和C1825×100mm柱，用含有0.1％v/v三氟乙酸的5％-85％乙腈水溶液洗脱)进行纯化。将产物级分冻干，以得到标题化合物。MS(LC/MS)m/e 1695.5$(M+H)^+$。

[2459] 1.66.7 3-(1-((3-(((43S,46S)-43-氨基-46-甲基-37,44,47-三氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂-38,45,48-三氮杂五十烷-50-基)氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2460] 将实例1.66.6(82mg)在室温用1mL的三氟乙酸处理30分钟。在平缓的氮流下蒸发溶剂，并且将残余物通过反相HPLC(使用吉尔森系统和C1825×100mm柱，用含有0.1％v/v三氟乙酸的5％-85％乙腈水溶液洗脱)进行纯化。将产物级分冻干，以得到为三氟乙酸盐的标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(s,1H)，8.04(dd,4H)，7.64(dt,2H)，7.55-7.41(m,3H)，7.36(q,2H)，6.95(d,1H)，4.96(s,2H)，4.40-4.27(m,1H)，3.93-3.72(m,7H)，3.59-3.47(m,42H)，3.33-3.27(m,3H)，3.23(s,5H)，3.05(dt,5H)，2.10(s,3H)，1.72-1.64(m,2H)，1.48-1.36(m,4H)，1.35-1.16(m,10H)，1.16-0.94(m,6H)，0.84(d,6H)。MS(ESI)m/e 751.8$(2M+H)^{2+}$。

[2461] 1.67甲基6-[4-(3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三

环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}丙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]-6-脱氧-β-L-吡喃葡萄糖苷(W2.67)的合成

[2462] 1.67.1 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(戊-4-炔-1-基氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2463] 向叔丁基3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯(85mg)在四氢呋喃(2mL)中的溶液中添加戊-4-炔醛(8.7mg)、乙酸(20mg,0.318)和无水硫酸钠(300mg)。将混合物在室温下搅拌1小时。将三乙酰氧基硼氢化钠(45mg)添加到反应混合物中。将该混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到粗产物,将该粗产物溶于二氯甲烷(5mL)和三氟乙酸(3mL)中。将该混合物在室温下搅拌过夜。在蒸发溶剂后,将残余物溶解于二甲基亚砜/甲醇(1:1,3mL)中,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(APCI)m/e 812.2(M+H)$^+$。

[2464] 1.67.2甲基6-[4-(3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}丙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]-6-脱氧-β-L-吡喃葡萄糖苷

[2465] 向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-叠氮基-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.63mg)在t-BuOH(2mL)和水(1mL)中的溶液中添加实例1.67.1(20mg)、硫酸铜(II)五水合物(2.0mg)和抗坏血酸钠(5mg)。在微波条件下(Biotage Initiator),将混合物在100℃加热20分钟。将LiOH H_2O(50mg)添加到混合物中,将该混合物在室温搅拌过夜。将混合物用三氟乙酸中和,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(APCI)m/e 1032.2(M+H)$^+$。

[2466] 1.68 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸的合成

[2467] 1.68.1 2-((3,5-二甲基-7-((5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-基)氧基)乙醇(W2.68)

[2468] 向2-((3-((4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙醇(8.9g)和$PdCl_2$(dppf)-CH_2Cl_2加合物(([1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)(1:1),818mg)在乙腈(120mL)中的溶液中添加三甲胺(10mL)和4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷(12.8mL)。将混合物在回流下搅拌过夜。将混合物冷却至室温并将其不经进一步加工用于下个反应中。MS(ESI)m/e 467.3(M+Na)$^+$。

[2469] 1.68.2叔丁基6-氯-3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2470] 向叔丁基3-溴-6-氯吡啶甲酸酯(6.52g)在四氢呋喃(100mL)和水(20mL)中的溶液中添加实例1.68.1(9.90g)、(1S,3R,5R,7S)-1,3,5,7-四甲基-8-十四烷基-2,4,6-三氧杂-

8-磷杂金刚烷(0.732g)、三(二苯亚甲基丙酮)二钯(0)($Pd_2(dba)_3$,1.02g)、和K_3PO_4(23.64g)。将混合物在回流下搅拌过夜。将混合物在减压下浓缩,将残余物溶于乙酸乙酯(500mL)中,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到粗产物,将该粗产物通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的20%至40%乙酸乙酯洗脱)纯化,以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 530.3$(M+H)^+$。

[2471] 1.68.3叔丁基6-氯-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2472] 向实例1.68.2(3.88g)在二氯甲烷(30mL)和三乙胺(6mL)中的冷却的(0℃)溶液中添加甲磺酰氯(2.52g)。将混合物在室温搅拌4小时。将反应混合物用乙酸乙酯(400mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出粗产物(4.6g),将该粗产物不经进一步纯化用于下个反应中。MS(ESI)m/e 608.1$(M+H)^+$。

[2473] 1.68.4叔丁基3-{1-[(3-{2-[双(叔丁氧基羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-氯吡啶-2-甲酸酯

[2474] 向实例1.68.3(151mg)在N,N-二甲基甲酰胺(3mL)中的溶液中添加二叔丁基亚氨基二羧酸酯(54mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出标题化合物,将该标题化合物不经进一步纯化用于下个步骤中。MS(ESI)m/e 729.4$(M+H)^+$。

[2475] 1.68.5 7-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1-萘甲酸

[2476] 向甲基7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1-萘甲酸盐(257mg)在1,4-二噁烷(10mL)和水(5mL)中的溶液中添加实例1.68.4(600mg)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(57.8mg)、和CsF(375mg)。在微波条件下(Biotage Initiator),将混合物在120℃搅拌30分钟。将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到粗产物,将该粗产物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%乙酸乙酯洗脱)纯化,以给出二酯中间体。将残余物溶解于四氢呋喃(10mL)、甲醇(5mL)和水(5mL)中,并添加LiOH H_2O(500mg),并将混合物在室温搅拌过夜。将混合物用2N水性HCl酸化,溶解于400mL的乙酸乙酯中,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出标题化合物。MS(APCI)m/e 765.3$(M+H)^+$。

[2477] 1.68.6 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸

[2478] 向实例1.68.5(500mg)在二氯甲烷(10mL)中的溶液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(98mg)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(251mg)和4-二甲氨基吡啶(160mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物用乙酸乙酯(400mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将该残余物溶解于二氯甲烷和三氟乙酸(10mL,1:1)中。搅拌过夜后,将溶液在减压下浓缩。将残余物溶解于N,N-二甲基甲酰胺(12mL)中,并通过反相HPLC(使用吉尔森系统和C18柱,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 741.2$(M+H)^+$。

[2479] 1.68.7 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}

吡啶-2-甲酸

[2480] 向实例1.68.6(35mg)在N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中的溶液中添加丙烯酸叔丁酯(120mg)和H_2O(138mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物用乙酸乙酯(400mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将该残余物溶解于二氯甲烷和三氟乙酸(10mL,1:1)中。在16小时后,将混合物在减压下浓缩。将残余物溶解于N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中,并通过反相HPLC(在系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物吉尔森。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.08(s,1H),8.99(d,1H),8.43-8.24(m,4H),8.24-8.11(m,3H),8.04(d,1H),7.99(d,1H),7.90(d,1H),7.78(d,1H),7.74-7.62(m,1H),7.53-7.43(m,2H),7.35(q,1H),3.87(s,2H),3.08(dp,4H),2.62(t,2H),2.20(s,3H),1.43(s,2H),1.29(q,4H),1.14(s,4H),1.03(q,2H),0.85(s,6H)。

[2481] 1.69 6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸的合成

[2482] 1.69.1甲基3-溴喹啉-5-甲酸酯(W2.69)

[2483] 向3-溴喹啉-5-甲酸(2g)在甲醇(30mL)中的溶液中添加浓H_2SO_4(5mL)。将溶液在回流下搅拌过夜。将该混合物在减压下浓缩。将残余物溶解于乙酸乙酯(300mL)中并用Na_2CO_3水溶液、水和盐水洗涤。经无水硫酸钠干燥后,过滤并蒸发溶剂,得到标题化合物。MS(ESI)m/e 266$(M+H)^+$。

[2484] 1.69.2甲基3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)喹啉-5-甲酸酯

[2485] 向实例1.69.1(356mg)在N,N-二甲基甲酰胺(5mL)中的溶液中添加$PdCl_2$(dppf)-CH_2Cl_2加合物([1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II)(1:1),55mg)、乙酸钾(197mg)和双(频哪醇合)二硼(510mg)。将混合物在60℃搅拌过夜。将混合物冷却至室温并将其不经进一步加工用于下个反应中。MS(ESI)m/e 339.2$(M+Na)^+$。

[2486] 1.69.3甲基3-[5-{1-[(3-{2-[双(叔丁氧基羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基]喹啉-5-甲酸酯

[2487] 向实例1.69.2(626mg)在1,4-二噁烷(10mL)和水(5mL)中的溶液中添加实例1.68.4(1.46g)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(140mg)、和CsF(911mg)。将混合物在120℃在微波条件下(Biotage Initiator)搅拌30分钟。将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用水和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷(1L)中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 880.3$(M+H)^+$。

[2488] 1.69.4 3-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)喹啉-5-甲酸

[2489] 向实例1.69.3(1.34g)在四氢呋喃(10mL)、甲醇(5mL)和水(5mL)中的溶液中添加LiOH H_2O(120mg),并将该混合物在室温搅拌过夜。将混合物用2N水性HCl酸化,用乙酸乙酯(400mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出标题化合物。MS(APCI)m/e 766.3$(M+H)^+$。

[2490] 1.69.5 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-

吡唑-4-基)-6-(5-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基)吡啶甲酸

[2491] 向实例1.69.4(200mg)在二氯甲烷(10mL)中的溶液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(39.2mg)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(50mg)和4-二甲氨基吡啶(32mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用水和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物溶解于二氯甲烷和三氟乙酸(10mL,1:1)中,并将反应搅拌过夜。将混合物浓缩,并将残余物溶解于N,N-二甲基甲酰胺(12mL)中,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 742.1$(M+H)^+$。

[2492] 1.69.6 6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2493] 向实例1.69.5(36mg)在N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中的溶液中添加4-((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(22mg)和H_2O(0.3mL)。将混合物在室温搅拌3小时。将反应混合物用二氯甲烷和三氟乙酸(10mL,1:1)稀释并搅拌过夜。将混合物浓缩,并将残余物溶解于N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.19(s,2H),9.70(d,1H),9.40(s,1H),8.31(d,2H),8.16(d,1H),8.06(d,1H),8.01(d,1H),7.98-7.88(m,1H),7.80(d,1H),7.52-7.43(m,2H),7.37(q,1H),3.89(s,2H),3.22(p,2H),3.10(q,2H),2.80(t,2H),2.23(s,3H),1.43(s,2H),1.30(q,4H),1.23-1.10(m,4H),1.04(q,2H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 850.2$(M+H)^+$。

[2494] 1.70 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(W2.70)的合成

[2495] 1.70.1乙基6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)喹啉-4-甲酸酯

[2496] 向乙基6-溴喹啉-4-甲酸酯(140mg)在N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中的溶液中添加$PdCl_2$(dppf)-CH_2Cl_2加合物(([1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II)(1:1),20.42mg)、乙酸钾(147mg)和双(频哪醇合)二硼(190mg)。将混合物在60℃搅拌过夜。将混合物冷却至室温并将其不经进一步加工用于下个反应中。MS(ESI)m/e328.1$(M+H)^+$。

[2497] 1.70.2乙基6-[5-{1-[(3-{2-[双(叔丁氧基羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基]喹啉-4-甲酸酯

[2498] 向实例1.70.1(164mg)在1,4-二噁烷(10mL)和水(5mL)中的溶液中添加实例1.68.4(365mg)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(35mg)、和CsF(228mg)。将混合物在120℃在微波条件下(Biotage Initiator)搅拌30分钟。将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用水和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷(1L)中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 894.3$(M+H)^+$。

[2499] 1.70.3 6-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)喹啉-4-甲酸

[2500] 向实例1.70.2(3.1g)在四氢呋喃(20mL)、甲醇(10mL)和水(10mL)中的溶液中添加

LiOH H_2O(240mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将混合物用2N水性HCl酸化，并用乙酸乙酯(400mL)稀释。将有机层用水和盐水洗涤，并且经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出标题化合物。MS(ESI)m/e 766.3$(M+H)^+$。

[2501] 1.70.4 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基)吡啶甲酸

[2502] 向实例1.70.3(4.2g)在二氯甲烷(30mL)中的溶液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(728mg)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(1.40g)和4-二甲基氨基吡啶(890mg)，并且将混合物在室温搅拌过夜。将反应混合物用乙酸乙酯(500mL)稀释，用水和盐水洗涤，并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂，得到残余物，将该残余物溶解于二氯甲烷和三氟乙酸(10mL，1:1)中并搅拌过夜。将混合物浓缩，并将残余物溶解于N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中，并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上，用含有0.1％三氟乙酸的20％-80％乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 742.2$(M+H)^+$。

[2503] 1.70.5 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2504] 向实例1.70.4(111mg)在N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中的溶液中添加4-((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(67mg)、N,N-二异丙基乙胺(0.2mL)和H_2O(0.3mL)。将混合物在室温搅拌3小时。将反应混合物用二氯甲烷和三氟乙酸(10mL，1:1)稀释并搅拌过夜。将混合物浓缩，并将残余物溶解于N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中，并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上，用含有0.1％三氟乙酸的20％-80％乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(400MHz，二甲基亚砜-d_6)δppm 13.31(s,1H)，9.10(d,1H)，8.91(s,1H)，8.58(dd,1H)，8.47-8.16(m,4H)，8.06(dd,1H)，7.99-7.89(m,2H)，7.79(d,1H)，7.53-7.43(m,2H)，7.42-7.31(m,1H)，3.87(s,2H)，3.53(d,1H)，3.20(p,2H)，3.07(p,2H)，2.78(t,2H)，2.20(s,3H)，1.40(s,2H)，1.28(q,4H)，1.21-1.07(m,4H)，1.02(q,2H)，0.84(s,6H)。MS(ESI)m/e 850.1$(M+H)^+$。

[2505] 1.71 6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(W2.71)的合成

[2506] 向实例1.69.5(140mg)在N,N-二甲基甲酰胺(10mL)中的溶液中添加丙烯酸叔丁酯(242mg)和H_2O(0.3mL)，并将混合物在室温搅拌过周末。将反应混合物用二氯甲烷和三氟乙酸(10mL，1:1)稀释并搅拌过夜。将混合物浓缩，并将残余物溶解于N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中，并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上，用含有0.1％三氟乙酸的20％-80％乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(400MHz，二甲基亚砜-d_6)δppm 13.17(s,2H)，9.69(d,1H)，9.37(d,1H)，8.30(dd,3H)，8.15(dd,1H)，8.04(dd,1H)，7.99-7.88(m,2H)，7.79(d,1H)，7.53-7.40(m,2H)，7.34(td,1H)，3.88(s,2H)，3.55(t,2H)，3.08(dt,4H)，2.62(t,2H)，2.21(s,3H)，1.43(s,2H)，1.29(q,4H)，1.14(s,4H)，1.03(q,2H)，0.85(s,6H)。MS(ESI)m/e 814.2$(M+H)^+$。

[2507] 1.72 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-

基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(W2.72)的合成

[2508] 1.72.1乙基7-(5-溴-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-甲酸酯

[2509] 通过用乙基5,6,7,8-四氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-甲酸酯盐酸化物取代实例1.1.11中的1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯盐酸化物来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 451,453$(M+H)^+$,395,397$(M-叔丁基)^+$。

[2510] 1.72.2乙基7-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-甲酸酯

[2511] 通过用实例1.72.1取代实例1.2.1中的实例1.1.11来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 499$(M+H)^+$,443$(M-叔丁基)^+$,529$(M+CH_3OH-H)^-$。

[2512] 1.72.3乙基7-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-甲酸酯

[2513] 通过用实例1.72.2取代实例1.13.4中的实例1.2.1、以及用实例1.55.11取代实例1.13.4中的实例1.13.3来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 760$(M+H)^+$,758$(M-H)^-$。

[2514] 1.72.4 7-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-甲酸

[2515] 通过用实例1.72.3取代实例1.1.13中的实例1.1.12来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 760$(M+H)^+$,758$(M-H)^-$。

[2516] 1.72.5叔丁基6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2517] 通过用实例1.72.4取代实例1.52.3中的实例1.52.2来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 892$(M+H)^+$,890$(M-H)^-$。

[2518] 1.72.6 3-(1-{[3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基]吡啶-2-甲酸

[2519] 通过用实例1.72.5取代实例1.1.17中的实例1.1.16来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 736$(M+H)^+$,734$(M-H)^-$。

[2520] 1.72.7 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-(((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2-甲基丁烷-2-基)氧基)磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2521] 通过用实例1.72.6取代实例1.2.8中的实例1.2.7来制备标题化合物。

[2522] 1.72.8 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2523] 通过用实例1.72.7取代实例1.2.9中的实例1.2.8来制备标题化合物。^{1}H NMR

(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.36(bs,2H),8.03(bs,1H),7.99(d,1H),7.76(d,1H),7.64(d,1H),7.46(t,1H),7.34(s,1H),7.33(t,1H),7.17(d,1H),5.12(s,2H),4.28(t,2H),4.11(t,2H),3.86(s,2H),3.56(t,2H),3.24(m,2H),3.11(m,2H),2.82(t,2H),2.15(s,3H),1.42(s,2H),1.32(q,4H),1.17(q,4,H),1.03(m,2H),0.88(s,6H)。MS(ESI)m/e 844(M+H)$^+$,842(M-H)$^-$。

[2524] 1.73 8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-{6-羧基-5-[1-({3-[2-({3-[1-(β-D-吡喃葡糖醛酸基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-基}-1,2,3,4-四氢异喹啉(W2.73)的合成

[2525] 向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-叠氮基-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.63mg)在t-CH_3OH(2mL)和水(1mL)中的溶液中添加实例1.67.1(20mg)、硫酸铜(II)五水合物(2.0mg)和抗坏血酸钠(5mg)。在微波条件下(Biotage Initiator),将混合物在100℃搅拌20分钟。将LiOH H_2O(50mg)添加到混合物中,并继续搅拌过夜。将混合物用三氟乙酸中和,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(APCI)m/e 987.3(M+H)$^+$。

[2526] 1.74 6-[7-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吲哚-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(W2.74)的合成

[2527] 1.74.1甲基2-[5-{1-[(3-{2-[双(叔丁氧基羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基]-1H-吲哚-7-甲酸酯

[2528] 通过用甲基2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)-1H-吲哚-7-甲酸酯取代实例1.2.1以及用实例1.68.4取代实例1.1.12中的实例1.1.6来制备实例1.74.1。MS(ESI)m/e 866.3(M-H)$^-$。

[2529] 1.74.2 2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1H-吲哚-7-甲酸

[2530] 通过用实例1.74.1取代实例1.1.13中的实例1.1.12来制备实例1.74.2。MS(ESI)m/e 754.4(M+H)$^+$。

[2531] 1.74.3叔丁基6-(7-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吲哚-2-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2532] 通过用实例1.74.2取代实例1.1.14中的实例1.1.13来制备实例1.74.3。MS(ESI)m/e 886.5(M+H)$^+$。

[2533] 1.74.4 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(7-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吲哚-2-基)吡啶甲酸

[2534] 通过用实例1.74.3取代实例1.1.17中的实例1.1.16来制备实例1.74.4。MS(ESI)m/e 730.2(M+H)$^+$。

[2535] 1.74.5 6-[7-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吲哚-2-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[(2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-联苯-4,9-二氧杂-10l6-硫杂-13-氮杂-3-

硅杂十五烷-15-基)氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2536] 通过用实例1.74.4取代实例1.2.8中的实例1.2.7来制备实例1.74.5。MS(ESI)m/e 1176.7(M+H)$^+$。

[2537] 1.74.6 6-[7-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吲哚-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2538] 通过用实例1.74.5取代实例1.2.9中的实例1.2.8来制备实例1.74.6。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 11.32(d,1H),8.23(dd,1H),8.18(d,1H),7.93-7.82(m,3H),7.71(d,1H),7.62(s,3H),7.57-7.51(m,1H),7.47(s,1H),7.40(d,1H),7.35(t,1H),7.22(t,1H),4.86(t,2H),3.85(s,2H),3.47(t,2H),3.08(t,2H),2.88(p,2H),2.21(s,3H),1.37(s,2H),1.32-1.20(m,4H),1.14(q,4H),1.07-0.94(m,2H),0.84(s,6H)。MS(ESI)m/e 838.2(M+H)$^+$。

[2539] 1.75 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-6-[3-(甲氨基)丙基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(W2.75)的合成

[2540] 1.75.1甲基3-溴-5-(溴甲基)苯甲酸酯

[2541] 将偶氮二异丁腈(1.79g)添加至在350mL乙腈中的甲基3-溴-5-甲基苯甲酸酯(50g)和N-溴代丁二酰亚胺(44.7g)中,并将混合物回流过夜。添加另外的11g的N-溴代丁二酰亚胺和0.5g的偶氮二异丁腈,并继续回流3小时。将混合物浓缩,吸收进500mL二乙醚中,并搅拌30分钟。将混合物过滤,并将所得溶液浓缩。将粗产物在硅胶上使用在庚烷中的10%乙酸乙酯进行色谱分离以给出标题化合物。

[2542] 1.75.2甲基3-溴-5-(氰甲基)苯甲酸酯

[2543] 将氰化四丁基铵(50g)添加至在300mL乙腈中的实例1.75.1(67.1g)中,并将混合物加热至70℃过夜。将混合物冷却,倒入二乙醚中,并用水和盐水冲洗。然后将混合物浓缩,并在硅胶上使用在庚烷中的2%-20%乙酸乙酯进行色谱分离以给出标题化合物。

[2544] 1.75.3甲基3-(2-氨乙基)-5-溴苯甲酸酯

[2545] 将硼烷-THF复合物(126mL,1M溶液)添加至实例1.75.2(16g)在200mL四氢呋喃中的溶液中,并将混合物搅拌过夜。小心地用甲醇(50mL)猝灭反应,并且然后浓缩至50mL体积。将混合物吸收进120mL甲醇/120mL 4M HCl/120mL二噁烷中,并搅拌过夜。在减压下除去有机物,并且将残余物用二乙醚萃取两次。将萃取物丢弃。将有机层用固体K_2CO_3碱化,并然后用乙酸乙酯、和二氯甲烷萃取(2x)。将萃取物合并,经Na_2SO_4干燥,过滤,并浓缩以提供标题化合物。

[2546] 1.75.4甲基3-溴-5-(2-(2,2,2-三氟乙酰胺基)乙基)苯甲酸酯

[2547] 在0℃,将三氟乙酸酐(9.52mL)逐滴添加至实例1.75.3(14.5g)和三甲胺(11.74mL)在200mL二氯甲烷中的混合物中。在添加之后,允许混合物升温至室温并搅拌三天。将混合物倒入二乙醚中,并用$NaHCO_3$溶液和盐水洗涤。将混合物浓缩,并使用在庚烷中的5%-30%乙酸乙酯进行硅胶色谱分离以给出标题化合物。

[2548] 1.75.5甲基6-溴-2-(2,2,2-三氟乙酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2549] 将硫酸添加至实例1.75.4(10g)直至其变为溶液(40mL),此时添加多聚甲醛(4.24g),并将混合物搅拌2小时。然后将溶液倒入400mL冰中,并且搅拌10分钟。将混合物用乙酸乙酯(3x)萃取,并将合并的萃取物用$NaHCO_3$溶液和盐水洗涤,并然后浓缩。将粗产物在硅胶上使用在庚烷中的2%-15%乙酸乙酯进行色谱分离以给出标题化合物。

[2550] 1.75.6甲基6-(3-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-(2,2,2-三氟乙酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2551] 将实例1.75.5(5.1g)、叔丁基甲基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(2.71g)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)($PdCl_2(PPh_3)_2$,0.49g)、CuI(0.106g)、和三乙胺(5.82mL)的溶液在50mL二噁烷中在50℃搅拌过夜。将混合物浓缩,并使用在庚烷中的10%-50%乙酸乙酯进行硅胶色谱分离以给出标题化合物。

[2552] 1.75.7甲基6-(3-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)丙基)-2-(2,2,2-三氟乙酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2553] 将实例1.75.6(4.2g)、四氢呋喃(20mL)和甲醇(20.00mL)添加至250mL压力瓶中的湿20%$Pd(OH)_2/C$(3g)中并在50psi压力和50℃下振荡12小时。将溶液过滤并浓缩,以得到标题化合物。

[2554] 1.75.8甲基2-(5-溴-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基)-6-(3-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)丙基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2555] 将实例1.75.7(4.22g)和碳酸钾(1.53g)在60mL四氢呋喃、25mL甲醇、和10mL水中搅拌过夜。浓缩混合物并添加60mLN,N-二甲基甲酰胺。然后向其中添加实例1.1.9(3.05g)和三乙胺(5mL),并将反应在60℃搅拌过夜。将混合物冷却至室温,倒入乙酸乙酯(600mL)中,用水(3x)和盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩。将残余物在硅胶上使用在庚烷中的5%-50%乙酸乙酯进行色谱分离以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 618.2$(M+H)^+$。

[2556] 1.75.9甲基6-(3-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)丙基)-2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2557] 向实例1.75.8(3.7g)、三乙胺(2.50mL)和$PdCl_2$(dppf)(([1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II)(1:1),0.29g)于25mL乙腈中的溶液中添加4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷(1.74mL),并将反应混合物加热至75℃持续5小时,然后在60℃搅拌过夜。将混合物浓缩,并使用在庚烷中的5%-50%乙酸乙酯进行硅胶色谱分离以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 666.4$(M+H)^+$。

[2558] 1.75.10 4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基2-((2-((3-((4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)乙烷磺酸酯

[2559] 将实例1.55.10(2.39g)、4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(2.41g)和三乙胺(1.51mL)在30mLN,N-二甲基甲酰胺中在45℃搅拌3小时。将混合物冷却并倒入二乙醚(400mL)中,用水(3x)和盐水洗涤二乙醚溶液,并浓缩。将粗产物在硅胶上使用在庚烷中的2%-50%乙酸乙酯(添加1%三乙胺)进行色谱分离以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 890.6$(M+H)^+$。

[2560] 1.75.11 6-(6-(3-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)丙基)-8-(甲氧基羰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲

基丁氧基)磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2561] 将实例1.75.9(1.777g)、实例1.75.10(1.98g)、三(二苯亚甲基丙酮)二钯(0)(0.102g)、1,3,5,7-四甲基-8-十四烷基-2,4,6-三氧杂-8-磷杂金刚烷(0.918g)、和磷酸钾(1.889g)添加到25mL二噁烷/10mL水中,并将溶液抽真空/充氮数次。反应物是清澈的,并将其在70℃搅拌过夜。将混合物冷却并倒入乙酸乙酯(200mL)中,并用水和盐水洗涤。将混合物浓缩,并在硅胶上进行色谱分离,用5%-50%乙酸乙酯庚烷溶液洗脱,然后用10%甲醇乙酸乙酯溶液(添加有1%三乙胺)洗脱,得到标题化合物。MS(ESI)m/e 1301.4$(M+H)^+$。

[2562] 1.75.12 6-(3-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)丙基)-2-(5-(1-((3-(2-((2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-羧基吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

[2563] 将实例1.75.11(1.5g)和LiOH-$H_2$0(0.096g)在15mL四氢呋喃和3mL水中在45℃搅拌10天。将混合物倒入200mL乙酸乙酯/20mLNaH_2PO_4溶液中,并添加浓HCl溶液直至pH达到3。分离各层,并将水层用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机层用盐水洗涤并浓缩。将残余物在硅胶上使用在乙酸乙酯中的0-5%甲醇进行色谱分离以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 1287.3$(M+H)^+$。

[2564] 1.75.13 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-6-(3-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)丙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2565] 如在实例1.2.6中描述的,用实例1.75.12取代实例1.2.5来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1419.5$(M+H)^+$。

[2566] 1.75.14 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-6-[3-(甲氨基)丙基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2567] 如在实例1.2.9中描述的,用实例1.75.13取代实例1.2.8制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.90(bs,1H),8.33(m,2H),8.02(d,1H),7.78(d,1H),7.66(m,1H),7.47(m,3H),7.35(m,3H),7.25(s,2H),6.95(d,1H),4.95(s,2H),4.28(t,2H),4.11(t,2H),3.95(m,2H),3.20(m,2H),3.08(m,2H),2.96(m,2H),2.89(m,2H),2.78(m,2H),2.65(m,2H),2.55(t,2H),2.12(s,3H),1.95(m,2H),1.39(s,2H),1.25(m,6H),1.12(m,6H),0.93(s,3H),0.85(s,6H)。MS(ESI)m/e 926.8$(M+H)^+$。

[2568] 1.76 5-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-5-脱氧-D-阿拉伯糖醇(W2.76)的合成

[2569] 1.76.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((((4R,4'R,5R)-2,2,2',2'-四甲基-[4,4'-二(1,3-二氧戊环)]-5-基)甲基)氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2570] 将实例1.2.7(75mg)和(4R,4'R,5S)-2,2,2',2'-四甲基-[4,4'-二(1,3-二氧戊

环)]-5-甲醛(22mg)溶解于二氯甲烷(1mL)中。添加三乙酰氧基硼氢化钠(40mg),并且将溶液在室温搅拌16小时。将溶液在减压下浓缩,并将该材料通过硅胶快速柱色谱法(用在二氯甲烷中的5%-10%甲醇洗脱)进行纯化。将溶剂在减压下蒸发,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1016$(M+H)^+$,1014$(M-H)^-$。

[2571] 1.76.2 5-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-5-脱氧-D-阿拉伯糖醇

[2572] 将实例1.76.1(45mg)溶解于三氟乙酸(1mL)和水(0.2mL)中。将溶液在室温混合五天。将溶剂在减压下去除,并且将材料吸收在甲醇(2mL)中。将材料通过反相HPLC(在装备有Luna柱:C18(2)、100A、250×30mm的Grace Reveleris上经30分钟使用25%-75%乙腈水溶液(w/0.1%TFA))进行纯化。将产物级分合并,冷冻,并冻干以产生呈双三氟乙酸盐的标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(bs,2H),8.31(m,1H),8.16(m,1H),8.04(d,1H),7.80(d,1H),7.62(d,1H),7.51-7.43(m,3H),7.37(q,2H),7.29(s,1H),6.69(d,1H),4.96(s,2H),4.04(t,2H),3.89(m,2H),3.59(m,3H),3.49(m,4H),3.42(dd,2H),3.22(dd,2H),3.06(m,2H),3.02(m,4H),2.10(s,3H),1.43(s,2H),1.30(q,4H),1.14(t,4H),1.04(q,2H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 880$(M+H)^+$,878$(M-H)^-$。

[2573] 1.77 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-1,2-双脱氧-D-阿拉伯-己糖醇(W2.77)的合成

[2574] 1.77.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(((3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基)氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2575] 将(4R,5S,6R)-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2,4,5-三醇(15mg)溶解在二甲基亚砜(0.5mL)中。添加实例1.2.7(88mg),然后添加氰基硼氢化钠(27mg)。滴加乙酸(82mg),并将溶液在60℃加热16小时。将反应冷却,用1mL的甲醇稀释,并通过反相HPLC(在装备有Luna柱:C18(2)、100A、150×30mm的Grace Reveleris上经60分钟使用20%-75%乙腈水溶液(w/0.1%TFA))进行纯化。将产物级分合并,冷冻,并冻干以产生呈双三氟乙酸盐的标题化合物。MS(ESI)m/e 950$(M+H)^+$,948$(M-H)^-$。

[2576] 1.77.2 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-1,2-双脱氧-D-阿拉伯-己糖醇

[2577] 将实例1.77.1(39mg)溶解于二氯甲烷(0.5mL)中。添加三氟乙酸(740mg),并将溶液在室温搅拌16小时。将溶剂在减压下去除。将残余物溶解于N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中,并添加1M氢氧化钠水溶液(0.5mL)。将溶液在室温搅拌一小时。添加三氟乙酸(0.25mL),并将材料通过反相HPLC(在装备有Luna柱:C18(2)、100A、150×30mm的Grace Reveleris上经60分钟使用20%-75%乙腈水溶液(w/0.1%TFA))进行纯化。将产物级分合并,冷冻,并冻干以产生呈双三氟乙酸盐的标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(s,1H),12.74(bs,1H),8.28(bs,1H),8.20(bs,1H),8.04(d,1H),7.80(d,1H),7.62(d,1H),7.51-7.43(m,3H),7.37(q,2H),7.29(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),4.53(bs,3H),3.89

(t,2H),3.83(s,2H),3.77(d,1H),3.60(dd,2H),3.56(t,2H),3.48(m,2H),3.15(d,1H),3.02(m,6H),2.10(s,3H),1.84(m,1H),1.69(m,1H),1.43(s,2H),1.31(q,4H),1.14(t,4H),1.05(q,2H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 894(M+H)$^+$,892(M-H)$^-$。

[2578] 1.78 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)异喹啉-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(W2.78)的合成

[2579] 1.78.1甲基6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)异喹啉-4-甲酸酯

[2580] 向甲基6-溴异喹啉-4-甲酸酯(1.33g)在N,N-二甲基甲酰胺(30mL)中的溶液中添加$PdCl_2$(dppf)-CH_2Cl_2加合物(([1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II)(1:1),204mg)、乙酸钾(1.48g)和双(频哪醇合)二硼(1.92g)。将混合物在60℃搅拌过夜。将混合物冷却至室温并将其不经进一步加工用于下个反应中。MS(APCI)m/e 313.3(M+H)$^+$。

[2581] 1.78.2甲基6-[5-{1-[(3-{2-[双(叔丁氧基羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基]异喹啉-4-甲酸酯

[2582] 向实例1.68.4(1.2g)在1,4-二噁烷(20mL)和水(10mL)中的溶液中添加实例1.78.1(517mg)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(58mg)、和CsF(752mg)。将混合物在回流下搅拌过夜。LC/MS显示期望产物为主峰。将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用水和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 880.8(M+H)$^+$。

[2583] 1.78.3 6-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)异喹啉-4-甲酸

[2584] 向实例1.78.2(3.1g)在四氢呋喃(20mL)、甲醇(10mL)和水(10mL)中的溶液中添加LiOH H_2O(240mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将混合物用2NHCl水溶液酸化,并用乙酸乙酯(400mL)稀释。将有机层用水和盐水洗涤,并且经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出标题化合物。MS(ESI)m/e 766.4(M+H)$^+$。

[2585] 1.78.4 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)异喹啉-6-基)吡啶甲酸

[2586] 向实例1.78.3(1.2g)在二氯甲烷(20mL)中的溶液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(0.236g)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(451mg)、和4-二甲基氨基吡啶(288mg),并且将混合物在室温搅拌过夜。将反应混合物用乙酸乙酯(500mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将该残余物溶解于二氯甲烷和三氟乙酸(10mL,1:1)中并搅拌过夜。将混合物浓缩,并将残余物溶解于N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 742.1(M+H)$^+$。

[2587] 1.78.5 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)异喹啉-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2588] 向实例1.78.4(55mg)在N,N-二甲基甲酰胺(6mL)中的溶液中添加4-((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(34mg)、N,N-二异丙基乙胺(0.6mL)和

H_2O(0.6mL)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物用二氯甲烷和三氟乙酸(10mL,1:1)稀释并搅拌过夜。将混合物浓缩,并将残余物溶解于N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.25(s,2H),9.58(s,1H),9.06(s,1H),9.00(s,1H),8.52(dd,1H),8.42(d,1H),8.35(d,2H),8.26(d,1H),8.11-8.03(m,1H),8.01(d,1H),7.80(d,1H),7.52-7.44(m,2H),7.41-7.28(m,1H),3.89(s,2H),3.55(t,2H),3.22(t,2H),3.09(s,2H),2.80(t,2H),2.23(s,3H),1.43(s,2H),1.30(q,4H),1.23-1.11(m,4H),1.04(q,2H),0.86(s,6H)。MS(ESI+)m/e 850.1(M+H)$^+$。

[2589] 1.79 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[3-羟基-2-(羟甲基)丙基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(W2.79)的合成

[2590] 1.79.1 2,2-二甲基-1,3-二噁烷-5-甲醛

[2591] 向搅拌的氯铬酸吡啶鎓(1.1g)和硅藻土(10g)在二氯甲烷(10mL)中的悬浮液中滴加(2,2-二甲基-1,3-二噁烷-5-基)甲醇(0.5g)(作为在二氯甲烷(3mL)中的溶液)。将混合物在室温搅拌2小时。将悬浮液通过硅藻土过滤并用乙酸乙酯洗涤。将粗产物通过硅胶过滤并浓缩,以得到标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,氯仿-d)δ9.89(s,1H),4.28-4.17(m,4H),2.42-2.32(m,1H),1.49(s,3H),1.39(s,3H)。MS(ESI)m/e 305.9(2M+NH4)$^+$。

[2592] 1.79.2叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(((2,2-二甲基-1,3-二噁烷-5-基)甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2593] 向实例1.2.7(100mg)和实例1.79.1(20mg)在二氯甲烷(1mL)中的溶液中添加三乙酰氧基硼氢化钠(40mg),并将混合物在室温搅拌2小时。将反应用二氯甲烷稀释,并用饱和碳酸氢钠溶液洗涤。将水层用二氯甲烷反萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的20%-100%乙酸乙酯/乙醇(3:1)洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 930.3(M+H)$^+$。

[2594] 1.79.3 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[3-羟基-2-(羟甲基)丙基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

[2595] 通过用实例1.79.2取代实例1.2.9中的实例1.2.8来制备实例1.79.3。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.82(s,1H),8.13(s,2H),8.00(dd,1H),7.76(d,1H),7.59(d,1H),7.49-7.38(m,3H),7.37-7.29(m,2H),7.25(s,1H),6.92(d,1H),4.92(s,4H),3.85(t,2H),3.79(s,2H),3.53(t,2H),3.47(dd,2H),3.00(dt,7H),2.07(s,3H),1.93(p,1H),1.38(s,2H),1.32-1.19(m,4H),1.16-0.91(m,6H),0.83(s,7H)。MS(ESI)m/e 834.3(M+H)$^+$。

[2596] 1.80 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-1,2-双脱氧-D-赤-戊五醇(W2.80)合成

[2597] 通过用(4S,5R)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三醇取代实例1.77.1中的(4R,5S,6R)-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2,4,5-三醇、以及用实例1.3.1取代实例1.77.1中的实例1.2.7来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(bs,1H),12.72(bs,1H),8.21

(bs,2H),8.04(d,1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.52-7.42(m,3H),7.37(q,2H),7.29(s,1H),6.95(d,1H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.65(m,2H),3.56(m,2H),3.38(m,2H),3.32(m,2H),3.24(m,2H),3.03(m,5H),2.10(s,3H),1.89(m,1H),1.67(m,1H),1.44(s,2H),1.31(q,4H),1.14(t,4H),1.05(q,2H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 864(M+H)$^+$,862(M-H)$^-$。

[2598] 1.81 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-(2-{[(2S,3S)-2,3,4-三羟基丁基]氨基}乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(W2.81)的合成

[2599] 1.81.1碳酸叔丁酯(4S,5S)-5-羟甲基-2,2-二甲基-[1,3]二氧戊环-4-基甲基酯

[2600] 将((4S,5S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4,5-二基)二甲醇(1000mg)溶解在N,N-二甲基甲酰胺(50mL)中。添加氢化钠(60％在矿物油中,259mg)。将溶液在室温混合15分钟。缓慢添加二叔丁基二碳酸酯(1413mg)。将溶液混合30分钟,并用饱和氯化铵水溶液猝灭反应。将溶液用水(150mL)稀释,并使用在庚烷中的70％乙酸乙酯萃取两次。将有机部分合并,并用水(100mL)萃取,用盐水(50mL)萃取,并用无水硫酸钠干燥。将溶液在减压下浓缩,并将该材料通过硅胶快速柱色谱法(用在庚烷中的30％乙酸乙酯洗脱)进行纯化。将溶剂在减压下蒸发,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 284(M+Na)$^+$。

[2601] 1.81.2碳酸叔丁酯(4S,5R)-5-甲酰基-2,2-二甲基-[1,3]二氧戊环-4-基甲基酯

[2602] 将实例1.81.1(528mg)溶解于二氯甲烷(20mL)中。添加戴斯-马丁氧化剂(896mg),并将溶液在室温搅拌四小时。将溶液在减压下浓缩,并将该材料通过硅胶快速柱色谱法(用在庚烷中的20％-50％乙酸乙酯洗脱)进行纯化。将溶剂在减压下蒸发,以提供标题化合物。

[2603] 1.81.3叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-((((4S,5S)-5-(((叔丁氧基羰基)氧基)甲基)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2604] 通过用实例1.81.2取代实例1.76.1中的(4R,4'R,5S)-2,2,2',2'-四甲基-[4,4'-二(1,3-二氧戊环)]-5-甲醛来制备标题化合物。

[2605] 1.81.4 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-(2-{[(2S,3S)-2,3,4-三羟基丁基]氨基}乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

[2606] 在实例1.76.2中,通过用实例1.81.3取代实例1.76.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(bs,2H),8.28(bs,1H),8.18(bs,1H),8.04(d,1H),7.80(d,1H),7.63(d,1H),7.51-7.43(m,3H),7.36(q,2H),7.29(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.83(m,3H),3.46(m,4H),3.40(m,4H),3.08-2.96(m,6H),2.10(s,3H),1.43(s,2H),1.30(q,4H),1.14(t,4H),1.04(q,2H),0.87(s,6H)。MS(ESI)m/e 850(M+H)$^+$,848(M-H)$^-$。

[2607] 1.82 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(2S,3S,4R,5R,6R)-2,3,4,5,6,7-六羟基庚基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(W2.82)的合成

[2608] 通过用(2R,3R,4S,5R,6R)-2,3,4,5,6,7-六羟基庚醛取代实例1.77.1中的(4R,

5S,6R)-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2,4,5-三醇、以及用实例1.3.1取代实例1.77.1中的实例1.2.7来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(bs,1H),8.34-8.08(m,2H),8.05(d,1H),7.79(d,1H),7.54-7.43(m,3H),7.37(m,2H),7.30(s,1H),6.95(d,1H),4.96(s,2H),3.93(m,2H),3.90(m,4H),3.83(s,2H),3.47(m,4H),3.41(m,4H),3.18-3.08(m,7H),3.03(t,2H),2.12(s,3H),1.46(s,2H),1.28(q,4H),1.15(t,4H),1.05(q,2H),0.89(s,6H)。MS(ESI)m/e 940(M+H)$^+$。

[2609] 1.83 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[({3-[(1,3-二羟基丙烷-2-基)氨基]丙基}磺酰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(W2.83)的合成

[2610] 1.83.1叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(3-((1,3-二羟基丙烷-2-基)氨基)丙基磺酰氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2611] 向实例1.2.7(31mg)和N,N-二异丙基乙基胺(60μL)在二氯甲烷(1mL)中的冷却的(冰浴)溶液中添加3-氯丙烷-1-磺酰氯(5μL)。将混合物在室温搅拌2小时。将反应浓缩,溶于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中,转移至2mL微波管中,并且添加2-氨基丙烷-1,3-二醇(70mg)。在微波条件(Biotage Initiator)下,将混合物在130℃加热90分钟。将反应混合物浓缩,并将残余物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-100%乙腈水溶液洗脱)纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 997.2(M+H)$^+$。

[2612] 1.83.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[({3-[(1,3-二羟基丙烷-2-基)氨基]丙基}磺酰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2613] 通过用实例1.83.1取代实例1.2.9中的实例1.2.8来制备实例1.83.2。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),8.40(s,2H),8.05-7.98(m,1H),7.77(d,1H),7.60(d,1H),7.51-7.39(m,3H),7.38-7.30(m,2H),7.27(s,1H),7.13(t,1H),6.93(d,1H),4.94(s,2H),3.61(qd,4H),3.36(t,2H),3.16-2.93(m,10H),2.08(s,3H),2.00(p,2H),1.38(s,2H),1.25(q,4H),1.15-0.92(m,6H),0.84(s,6H)。MS(ESI)m/e941.2(M+H)$^+$。

[2614] 1.84 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-{[1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙烷-2-基]氨基}-3-氧丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(W2.84)的合成

[2615] 向叔丁基3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯(55mg)在N,N-二甲基甲酰胺(6mL)中的溶液中添加N-(1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙烷-2-基)丙烯酰胺(73.4mg)、N,N-二异丙基乙胺(0.2mL)和H_2O(0.2mL)。将混合物在室温搅拌4天。LC/MS显示期望产物为主峰。将反应混合物用乙酸乙酯(500mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将该残余物溶解于二氯甲烷和三氟乙酸(10mL,1:1)中并搅拌过夜。将混合物浓缩,并将残余物溶解于N,N-二甲基甲酰胺(8mL)中,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙

腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),8.45(s,2H),8.01(d,4H),7.78(d,1H),7.60(d,1H),7.53-7.39(m,3H),7.39-7.30(m,2H),7.27(s,1H),6.94(d,1H),4.94(s,2H),4.14(s,2H),3.87(t,2H),3.81(s,2H),3.52(d,4H),3.19(s,3H),3.13-2.97(m,5H),2.75(t,2H),2.08(s,3H),1.42(s,2H),1.29(q,4H),1.12(s,4H),1.09-0.99(m,2H),0.85(s,7H)。MS(ESI)m/e 921.2$(M+H)^+$。

[2616] 1.85 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(W2.85)的合成

[2617] 向实例1.2.7(213mg)在二氯甲烷(2mL)中的溶液中添加(S)-2-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙醛(42mg)。在室温下搅拌30分钟后,添加三乙酰氧基硼氢化钠(144mg)。将该反应混合物在室温搅拌过夜。添加三氟乙酸(2mL),并继续搅拌过夜。将反应混合物浓缩,并将残余物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的5%-85%乙腈水溶液洗脱)纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm12.86(s,1H),8.22(d,2H),8.05-8.01(m,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.53-7.41(m,3H),7.36(td,2H),7.28(s,1H),6.95(d,1H),4.95(s,2H),3.88(t,2H),3.82(s,2H),3.26-2.94(m,7H),2.10(s,3H),1.84-1.75(m,1H),1.52-1.63(m,1H),1.45-1.23(m,6H),1.19-0.96(m,7H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 834.3$(M+H)^+$。

[2618] 1.86 4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}甲基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(W2.86)的合成

[2619] 向3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸(36mg)在四氢呋喃(2mL)和乙酸(0.2mL)中的溶液中添加(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(21mg),随后添加$MgSO_4$(60mg)。将混合物在室温搅拌1小时,然后添加MP-氰基氢硼化物(Biotage,153mg,2.49mmol/g)。然后将混合物在室温搅拌3小时。过滤混合物,并且向滤液中添加LiOH H_2O(20mg)。将混合物在室温搅拌2小时,并且然后用三氟乙酸酸化。将溶液通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 1028.3$(M+H)^+$。

[2620] 1.87 3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}丙基β-D-吡喃葡糖苷酸(W2.87)的合成

[2621] 1.87.1(2R,3R,5S,6S)-2-(3-羟基丙氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2622] 向(2R,3R,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(3.98g)在甲苯(60mL)中的搅拌溶液中添加丙烷-1,3-二醇(15.22g)。将混合物在75℃搅拌,并在3小时内分三批添加Ag_2CO_3(5.52g)。将混合物在室温搅拌过夜,然后过滤悬浮液。将滤液浓缩,并将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的50%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 409.9$(M+NH_4)^+$。

[2623] 1.87.2(2S,3S,5R,6R)-2-(甲氧基羰基)-6-(3-氧代丙氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2624] 在-78℃,向二甲基亚砜(0.5mL)在二氯甲烷(10mL)中的溶液中添加草酰氯(0.2mL)。将混合物在-78℃搅拌20分钟,并通过注射器添加实例1.87.1(393mg)在二氯甲烷(10mL)中的溶液。在20分钟后,添加三乙胺(1mL)。将混合物搅拌30分钟,并使温度升至室温。将反应混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂给出标题化合物,将该标题化合物不经进一步纯化进行使用。MS(DCI)m/e 408.1 $(M+NH_4)^+$。

[2625] 1.87.3 3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}丙基β-D-吡喃葡糖苷酸

[2626] 向实例1.68.6(171mg)在二氯甲烷(10mL)中的溶液中添加实例1.87.2(90mg)、和$NaBH(OAc)_3$(147mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用2%HCl水溶液、水、和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物溶解于四氢呋喃(6mL)、甲醇(3mL)和水(3mL)中,并添加LiOH H_2O(100mg)。将混合物在室温搅拌2小时,用三氟乙酸酸化并在减压下浓缩。将残余物溶解于二甲基亚砜/甲醇(1:1,12mL)中,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^1H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.07(s,2H),8.99(s,1H),8.34(dd,1H),8.29-8.11(m,5H),8.06-8.02(m,1H),7.99(d,1H),7.90(d,1H),7.78(d,1H),7.68(dd,1H),7.55-7.40(m,2H),7.34(td,1H),4.23(d,1H),3.87(s,2H),3.76(dt,1H),3.60(d,1H),3.53(dt,3H),3.29(t,1H),3.15(t,1H),3.06-2.91(m,6H),2.20(s,3H),1.83(p,2H),1.44(s,2H),1.30(q,4H),1.14(s,4H),1.03(q,2H),0.85(s,7H)。MS(ESI)m/e975.2$(M+H)^+$。

[2627] 1.88 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-氧化异喹啉-6-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(W2.88)的合成

[2628] 1.88.1甲基6-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)异喹啉-4-甲酸酯

[2629] 向实例1.78.1(0.73g)在1,4-二噁烷(20mL)和水(10mL)中的溶液中添加叔丁基3-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氯吡啶甲酸酯(1.5g)、双(三苯基膦)钯(II)二氯化物(82mg)、和CsF(1.06g),并将该反应在回流下搅拌过夜。将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用水和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷(1L)中的20%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 794.8$(M+H)^+$。

[2630] 1.88.2 6-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)异喹啉-4-甲酸

[2631] 向实例1.88.1(300mg)在四氢呋喃(6mL)、甲醇(3mL)和水(3mL)中的溶液中添加LiOH H_2O(100mg)。将混合物在室温搅拌2小时。将混合物用2NHCl水溶液酸化,用乙酸乙酯

(300mL)稀释,用水和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以得到标题化合物,该标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(ESI)m/e781.2(M+H)$^+$。

[2632] 1.88.3叔丁基6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)异喹啉-6-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2633] 向实例1.88.2(350mg)在二氯甲烷(10mL)中的溶液中添加苯并[d]噻唑-2-胺(67.5mg)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(129mg)、和4-二甲氨基吡啶(82mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将该残余物通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的5%甲醇洗脱)纯化,以给出标题化合物。MS(APCI)m/e 912.3(M+H)$^+$。

[2634] 1.88.4 4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-6-(6-羧基-5-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(甲氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)异喹啉2-氧化物

[2635] 向实例1.88.3(100mg)在二氯甲烷(6mL)中的溶液中添加间氯过氧苯甲酸(19mg)。将混合物在室温搅拌4小时。将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用饱和$NaHCO_3$水溶液、水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将该残余物溶解于二氯甲烷/三氟乙酸(10mL,1:1)中并在室温搅拌过夜。将溶剂蒸发,并将残余物通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.32(s,2H),9.21(d,1H),8.71(d,1H),8.49(dd,1H),8.36-8.19(m,4H),8.12(dd,1H),8.07(d,1H),7.96(dd,1H),7.82(d,1H),7.56-7.46(m,3H),7.42-7.35(m,1H),3.90(d,3H),3.56(td,3H),3.02(p,3H),2.55(t,4H),2.29-2.19(m,4H),1.45(d,3H),1.37-1.26(m,5H),1.16(d,6H),1.10-1.01(m,3H),0.88(d,8H)。MS(ESI)m/e 772.1(M+H)$^+$。

[2636] 1.89 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙酰胺基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(W2.89)的合成

[2637] 1.89.1 1-((3-溴-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑

[2638] 向实例1.1.3(500mg)在四氢呋喃(30mL)中的冷却的(-30℃)溶液中添加正丁基锂(9.67mL),并将混合物在-30℃搅拌2小时。在-30℃,逐滴添加碘甲烷(1.934mL)。添加完成后,将混合物在-30℃再搅拌2小时。缓慢添加1NHCl冰水溶液,使温度保持在0℃以下,直至pH达到6。将混合物在室温搅拌10分钟,并用冰水(10mL)和乙酸乙酯(20mL)稀释。分离各层,并将水层用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机相用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。通过快速硅胶色谱法(用15/1至10/1石油/乙酸乙酯洗脱)纯化残余物,以给出标题化合物。MS(LC-MS)m/e 337,339(M+H)$^+$。

[2639] 1.89.2 1-(3,5-二甲基-7-((5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-基)脲

[2640] 将实例1.89.1(2.7g)和脲(4.81g)混合并在140℃搅拌16小时。将混合物冷却至室温并悬浮在甲醇(200mL×2)中。通过过滤除去不溶材料。将滤液浓缩以给出标题化合物。MS(LC-MS)m/e 317.3(M+H)$^+$。

[2641] 1.89.3 3,5-二甲基-7-((5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-胺

[2642] 向实例1.40.2(2.53g)在20％乙醇水溶液(20mL)中的溶液中添加氢氧化钠(12.79g)。将混合物在120℃搅拌16小时，并在140℃再搅拌16小时。添加6NHCl水溶液直至pH 6。将混合物浓缩，并且将残余物悬浮在甲醇(200mL)中。滤出不溶材料。将滤液浓缩以给出呈HCl盐的标题化合物。MS(LC-MS)m/e 273.9$(M+H)^+$。

[2643] 1.89.4叔丁基(2-((3,5-二甲基-7-((5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-基)氨基)-2-氧乙基)氨基甲酸酯

[2644] 向实例1.89.3(2.16g)在N,N-二甲基甲酰胺(100mL)中的溶液中添加三乙胺(3.30mL)、2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙酸(1.799g)和1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化六氟磷酸盐(3.90g)。将混合物在室温搅拌2小时。添加水(40mL)，并将混合物用乙酸乙酯(70mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水洗涤，经硫酸钠干燥，过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(用3/1至2/1石油/乙酸乙酯洗脱)纯化残余物，以给出标题化合物。MS(LC-MS)m/e430.8$(M+H)^+$。

[2645] 1.89.5叔丁基(2-((3-((4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氨基)-2-氧乙基)氨基甲酸酯

[2646] 向实例1.89.4(1.7g)在N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中的环境溶液中分批添加NIS(N-碘代丁二酰亚胺，1.066g)，并将混合物在室温搅拌16小时。添加冰水(10mL)和饱和$Na_2S_2O_3$水溶液(10mL)。将混合物用乙酸乙酯(30mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水洗涤，经硫酸钠干燥，过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(用3/1至2/1石油/乙酸乙酯洗脱)纯化残余物，以给出标题化合物。MS(LC-MS)m/e 556.6$(M+H)^+$。

[2647] 1.89.6甲基2-(5-溴-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2648] 向甲基1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯盐酸化物(12.37g)和实例1.1.10(15g)在二甲基亚砜(100mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(12mL)，并将该混合物在50℃搅拌24小时。然后将混合物用乙酸乙酯(500mL)稀释并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥，过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在己烷中的20％乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e448.4$(M+H)^+$。

[2649] 1.89.7甲基2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2650] 向实例1.89.6(2.25g)和[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II)(205mg)在乙腈(30mL)中的溶液中添加三乙胺(3mL)和频哪醇硼烷(2mL)，并将该混合物在回流搅拌3小时。将混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释，并且用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥，过滤并在减压下浓缩。将残余物通过快速色谱法(用在己烷中的20％乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。

[2651] 1.89.8甲基2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙酰胺基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2652] 使用实例1.2.2中的程序，用实例1.89.5取代实例1.1.6来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 797.4$(M+H)^+$。

[2653] 1.89.9 2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙酰胺基)-

5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

[2654] 使用实例1.2.5中的程序,用实例1.89.8取代实例1.2.4来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 783.4$(M+H)^+$。

[2655] 1.89.10叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙酰胺基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2656] 使用实例1.2.6中的程序,用实例1.89.9取代实例1.2.5来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 915.3$(M+H)^+$。

[2657] 1.89.11 3-(1-{[3-(2-氨基乙酰氨基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}吡啶-2-甲酸

[2658] 使用实例1.2.9中的程序,用实例1.89.10取代实例1.2.8来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.82(s,1H),8.00(dd,1H),7.90-7.79(m,4H),7.76(d,1H),7.59(dd,1H),7.49-7.38(m,3H),7.37-7.29(m,2H),7.25(s,1H),6.92(d,1H),4.92(s,2H),3.85(t,2H),3.77(s,2H),3.40(q,2H),2.98(t,2H),2.07(s,3H),1.63(s,2H),1.57-1.38(m,4H),1.15-0.93(m,6H),0.80(s,6H)。MS(ESI)m/e 759.2$(M+H)^+$。

[2659] 1.89.12 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙酰胺基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2660] 向实例1.89.11(102mg)在N,N-二甲基甲酰胺(6mL)中的溶液中添加4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(60mg),并将混合物在室温搅拌过周末。将混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将该残余物溶解于二氯甲烷/三氟乙酸(10mL,1:1)中并在室温搅拌过夜。将溶剂蒸发,并将残余物通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.83(s,1H),8.57(s,2H),8.02(d,1H),7.95(s,1H),7.77(d,1H),7.60(d,1H),7.52-7.37(m,3H),7.39-7.29(m,2H),7.26(s,1H),6.94(d,1H),4.94(s,2H),3.87(t,2H),3.79(s,2H),3.16(q,2H),2.99(t,2H),2.77(t,2H),2.08(s,3H),1.64(s,2H),1.55(d,2H),1.45(d,2H),1.21-0.95(m,6H),0.82(s,6H)。MS(ESI)m/e 867.2$(M+H)^+$。

[2661] 1.90 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-({2-[(2-磺乙基)氨基]乙基}硫烷基)三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(W2.90)的合成

[2662] 1.90.1 3-((1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-硫醇

[2663] 将实例1.1.3(2.8g)和硫脲(15.82g)在33%(w/w)HBr的乙酸溶液(50mL)中的混合物在110℃搅拌16小时并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物溶于20%乙醇水溶液(v/v:200mL)中,并添加氢氧化钠(19.06g)。将所得溶液在室温搅拌16小时并浓缩。将残余物溶于水(60mL)中,并用6N HCl水溶液酸化至pH 5-pH 6。将混合物用乙酸乙酯(200mL×2)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩,以给出标题化合物。MS(ESI)m/

e319.1(M+H)$^+$。

[2664] 1.90.2 2-((-3-((1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)硫)乙醇

[2665] 向实例1.90.1(3.3g)在乙醇(120mL)中的溶液中添加乙醇钠(2.437g)。将混合物搅拌10分钟,并且滴加2-氯乙醇(1.80mL)。将混合物在室温搅拌6小时并用1N HCl水溶液中和至pH 7。将混合物浓缩,并将残余物用乙酸乙酯(200mL×2)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥、过滤、并且浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱(用石油醚/乙酸乙酯(从6/1至2/1)洗脱)纯化,以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 321.2(M+H)$^+$。

[2666] 1.90.3 2-((-3,5-二甲基-7-((5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-基)硫)乙醇

[2667] 在氮下,在-20℃,向实例1.90.2(2.3g)在四氢呋喃(60mL)中的溶液中逐滴添加正丁基锂(14.35mL,2M于己烷中)。将混合物在该温度搅拌2小时。在-20℃,将碘甲烷(4.49mL)添加到所得混合物中,并将混合物在-20℃搅拌2小时。通过在-20℃滴加饱和NH_4Cl水溶液猝灭反应。将所得混合物搅拌10分钟并用1NHCl水溶液酸化至pH 5。将混合物用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机层用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩,以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 335.3(M+H)$^+$。

[2668] 1.90.4 2-((-3-((4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)硫)乙醇

[2669] 向实例1.90.3(3.65g)在N,N-二甲基甲酰胺(90mL)中的溶液中添加N-碘代丁二酰亚胺(3.68g)。将混合物在室温搅拌16小时。通过添加冰水(8mL)和饱和NaS_2O_3水溶液(8mL)猝灭反应。将混合物再搅拌10分钟并用乙酸乙酯(30mL×2)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用石油醚/乙酸乙酯(6/1至3/1)洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 461.2(M+H)$^+$。

[2670] 1.90.5二叔丁基[2-({3-[(4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}硫烷基)乙基]-2-亚氨基碳酸氢酯

[2671] 向实例1.90.4(3g)在二氯甲烷(100mL)中的冷溶液(0℃浴)中添加三乙胺(1.181mL)和甲磺酰氯(0.559mL)。将混合物在室温搅拌4小时,并通过添加冰水(30mL)猝灭反应。将混合物再搅拌10分钟并用二氯甲烷(50mL×2)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物溶于乙腈(100mL)中,并且添加NH(Boc)$_2$(1.695g)和Cs_2CO_3(4.24g)。将混合物在85℃搅拌16小时,并通过添加水(20mL)猝灭反应。将混合物搅拌10分钟并用乙酸乙酯(40mL×2)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥、过滤、并且浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用石油醚/乙酸乙酯(从10/1至6/1)洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 660.1(M+H)$^+$。

[2672] 1.90.6甲基2-[5-(1-{[3-({2-[双(叔丁氧基羰基)氨基]乙基}硫烷基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基]-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2673] 使用实例1.2.2中的程序,用实例1.90.5替换实例1.1.6来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 900.2(M+H)$^+$。

[2674] 190.7A2-(6-(叔丁氧基羰基)-5-(1-((3-((2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙基)硫)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹

啉-8-甲酸

[2675] 如在实例1.2.5中描述的，用实例1.90.6替换实例1.2.4来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 786.2$(M+H)^+$。

[2676] 190.7B叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-((2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙基)硫)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2677] 如在实例1.2.6中描述的，用实例1.90.7A替换实例1.2.5来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 918.8$(M+H)^+$。

[2678] 1.90.8叔丁基3-(1-((3-((2-氨乙基)硫)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯

[2679] 向实例1.90.7B(510mg)在二氯甲烷(5mL)中的溶液中添加三氟乙酸(5mL)，并将反应在室温搅拌30分钟。通过加入饱和碳酸氢钠水溶液猝灭反应，并用二氯甲烷萃取三次。将合并的有机物用无水硫酸钠干燥，过滤，并在减压下浓缩。将残余物通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上，用含有0.1％三氟乙酸的20％-80％乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题产物。MS(ESI)m/e 818.1$(M+H)^+$。

[2680] 1.90.9 3-(1-((3-((2-氨乙基)硫)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2681] 在实例1.90.8的制备过程中分离出实例1.90.9。MS(ESI)762.2$(M+H)^+$。

[2682] 1.90.10叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-((2-((2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙基)氨基)乙基)硫)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2683] 将实例1.90.8(235mg)和4-((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(150mg)溶解在二氯甲烷(1mL)中，添加N,N-二异丙基乙胺(140μL)，并且将混合物在室温搅拌六天。通过硅胶色谱(用在二氯甲烷中的0.5％-3.0％甲醇的梯度洗脱)直接纯化反应，以提供标题化合物。

[2684] 1.90.11 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-((2-((2-磺乙基)氨基)乙基)硫)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2685] 通过用实例1.90.10取代实例1.2.9中的实例1.2.8来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.39(br s,2H),8.03(d,1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.51(d,1H),7.47(ddd,1H),7.43(d,1H),7.37(d,1H),7.35(ddd,1H),7.30(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.81(s,2H),3.22(m,2H),3.06(br m,2H),3.01(t,2H),2.79(t,2H),2.74(m,2H),2.10(s,3H),1.51(s,2H),1.37(m,4H),1.15(m,4H),1.05(m,2H),0.83(s,6H)。MS(ESI)m/e 870.1$(M+H)^+$。

[2686] 1.91 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{3-[(2-磺乙基)氨基]丙基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(W2.91)的合成

[2687] 1.91.1 1-((3-烯丙基-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-1H-吡唑

[2688] 向实例1.1.3(0.825g,2.55mmol)在甲苯(5mL)中的溶液中添加N,N'-偶氮异丁腈(AIBN,0.419g,2.55mmol)和烯丙基三丁基锡烷(2.039ml,6.38mmol)。将混合物用N_2流吹扫15分钟,在80℃加热8小时并浓缩。将残余物通过快速色谱(用在石油醚中的5%乙酸乙酯洗脱)进行纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 285.2$(M+H)^+$。

[2689] 1.91.2 1-((3-烯丙基-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑

[2690] 在-78℃,在N_2下,向实例1.91.1(200mg,0.703mmol)在四氢呋喃(5ml)中的溶液中加入正丁基锂(2.81mL,7.03mmol)。将混合物搅拌2小时,同时将温度升至-20℃,然后将其在-20℃搅拌1小时。添加碘代甲烷(0.659ml,10.55mmol),并将所得混合物在-20℃搅拌0.5小时。用饱和NH_4Cl猝灭反应,并用乙酸乙酯萃取两次。将合并的有机层用盐水洗涤并浓缩,以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 299.2$(M+H)^+$。

[2691] 1.91.3 3-(3,5-二甲基-7-((5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-基)丙烷-1-醇

[2692] 在氮气氛下,将实例1.91.2(2.175g,7.29mmol)在无水四氢呋喃(42.5 mL)中的溶液冷却至0℃。逐滴添加BH_3·THF(15.30mL,15.30mmol)。将反应混合物在室温搅拌2小时并冷却至0℃。向反应混合物中逐滴添加10N NaOH水溶液(5.03mL,50.3mmol),随后添加30%H_2O_2(16.52mL,146mmol)水溶液。将得到的混合物升温至室温并搅拌90分钟。将反应用10%盐酸(35mL)猝灭。分离有机层,并将水层用乙酸乙酯(2×60mL)萃取。将合并的有机层用盐水(3×60mL)洗涤并在冰浴中冷却。小心地添加饱和的亚硫酸钠水溶液(15mL)并将混合物搅拌几分钟。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过快速色谱法(用石油醚/乙酸乙酯(3:1至1:1)洗脱)纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 317.3$(M+H)^+$。

[2693] 1.91.4 3-(3-((4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)丙烷-1-醇

[2694] 将实例1.91.3(1.19g,3.76mmol)和1-碘吡咯烷-2,5-二酮(1.015g,4.51mmol)在N,N-二甲基甲酰胺(7.5mL)中的混合物在室温搅拌16小时。用饱和的Na_2SO_3猝灭反应。将混合物用乙酸乙酯稀释,并用饱和的Na_2SO_3、饱和的Na_2CO_3、水和盐水洗涤。将有机层经无水Na_2SO_4干燥、过滤、并浓缩。将残余物通过快速色谱法(用石油醚/乙酸乙酯(3:1至1:1)洗脱)纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 443.1$(M+H)^+$。

[2695] 1.91.5 3-(3-((4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)丙基甲磺酸酯

[2696] 在0℃,向实例1.91.4(1.55g,3.50mmol)在CH_2Cl_2(20mL)中的溶液中缓慢添加$(CH_3CH_2)_3N$(0.693mL,4.98mmol)和甲磺酰氯(0.374mL,4.80mmol)。将混合物在20℃搅拌3.5小时,并用CH_2Cl_2稀释,用饱和的NH_4Cl、$NaHCO_3$和盐水洗涤。将有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 521.1$(M+H)^+$。

[2697] 1.91.6二叔丁基(3-{3-[(4-碘-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}丙基)-2-亚氨基碳酸氢酯

[2698] 在20℃,向实例1.91.5(1.92g,3.69mmol)在CH_3CN(40ml)中的溶液中添加二-叔丁基亚氨基二碳酸酯(0.962g,4.43mmol)和Cs_2CO_3(2.404g,7.38mmol)。将混合物在80℃搅拌16小时,并用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层经Na_2SO_4干燥、过滤、并浓缩。将残

余物通过快速色谱法(用石油醚/乙酸乙酯(10:1)洗脱)纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 642.3$(M+H)^+$。

[2699] 1.91.7甲基2-[5-{1-[(3-{3-[双(叔丁氧基羰基)氨基]丙基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-(叔丁氧基羰基)吡啶-2-基]-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯

[2700] 使用实例1.2.2中的程序,用实例1.91.6替换实例1.1.6来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 882.2$(M+H)^+$。

[2701] 1.91.8 2-[6-(叔丁氧基羰基)-5-{1-[(3-{3-[(叔丁氧基羰基)氨基]丙基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-基]-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

[2702] 使用实例1.2.5中的程序,用实例1.91.7替换实例1.2.4来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 768.4$(M+H)^+$。

[2703] 1.91.9叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(3-((叔丁氧基羰基)氨基)丙基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2704] 使用实例1.2.6中的程序,用实例1.91.8替换实例1.2.5来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 901.1$(M+H)^+$。

[2705] 1.91.10叔丁基3-(1-((3-(3-氨基丙基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸酯

[2706] 向实例1.91.9(500mg)在二氯甲烷(5mL)中的溶液中添加三氟乙酸(5mL),并将反应在室温搅拌30分钟。通过加入饱和碳酸氢钠水溶液猝灭反应,并用二氯甲烷萃取三次。将合并的有机物用无水硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题产物。

[2707] 1.91.11 3-(1-((3-(3-氨基丙基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2708] 向实例1.91.9(350mg)在二氯甲烷(5mL)中的溶液中添加三氟乙酸(5mL)。将混合物搅拌过夜。将混合物浓缩,并将残余物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 12.86(s,1H),8.03(d,1H),7.79(d,1H),7.62(d,4H),7.47(dt,3H),7.36(q,2H),7.27(s,1H),6.95(d,1H),4.95(s,2H),3.77(s,2H),3.01(t,2H),2.72(q,2H),2.09(s,3H),1.45(t,2H),1.18-1.05(m,9H),1.00(d,6H),0.80(s,6H)。MS(ESI)m/e 744.2$(M+H)^+$。

[2709] 1.91.12叔丁基6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(3-((2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙基)氨基)丙基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[2710] 使用实例1.2.8中的程序,用实例1.91.10替换实例1.2.7来制备标题化合物。

[2711] 1.91.13 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{3-[(2-磺乙基)氨基]丙基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-

5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2712] 使用实例1.2.9中的程序，用实例1.91.12替换实例1.2.8来制备标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,DMSO-d_6)δ12.85(s,1H),8.02(dd,1H),7.77(d,1H),7.60(d,1H),7.54-7.39(m,3H),7.38-7.31(m,2H),7.26(s,1H),6.94(d,1H),4.94(s,2H),3.87(t,2H),3.15(p,2H),3.00(t,2H),2.86(dq,2H),2.76(t,2H),2.08(s,3H),1.47(td,2H),1.08(d,9H),0.99(d,7H),0.79(s,7H)。MS(ESI)m/e 852.2$(M+H)^+$。

[2713] 实例2:示例性合成子的合成

[2714] 此实例提供了用于制造ADC的示例性合成子的合成方法。

[2715] 2.1 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子CZ)的合成

[2716] 将在N,N-二甲基甲酰胺(7mL)中的实例1.2.9(100mg)和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(购自Synchem公司,114mg)在水-冰浴中冷却，并添加N,N-二异丙基乙基胺(0.15mL)。将混合物在0℃搅拌30分钟并且然后在室温搅拌过夜。将反应通过反相HPLC(使用吉尔森系统，用含有0.1％v/v三氟乙酸的20％-60％乙腈水溶液洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),9.99(s,1H),8.04(t,2H),7.75-7.82(m,2H),7.40-7.63(m,6H),7.32-7.39(m,2H),7.24-7.29(m,3H),6.99(s,2H),6.95(d,1H),6.01(s,1H),4.83-5.08(m,4H),4.29-4.48(m,1H),4.19(t,1H),3.84-3.94(m,2H),3.80(d,2H),3.14-3.29(m,2H),2.87-3.06(m,4H),2.57-2.69(m,2H),2.03-2.24(m,5H),1.89-2.02(m,1H),1.53-1.78(m,2H),1.26-1.53(m,8H),0.89-1.27(m,12H),0.75-0.88(m,12H)。MS(ESI)m/e 1452.2$(M+H)^+$。

[2717] 2.2 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-磺丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子DH)的合成

[2718] 如在实例2.1中描述的，用实例1.6.2替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.83(s,1H),9.98(s,1H),8.04(t,2H),7.75-7.81(m,2H),7.54-7.64(m,3H),7.40-7.54(m,3H),7.32-7.39(m,2H),7.24-7.31(m,3H),6.93-7.01(m,3H),4.86-5.03(m,4H),4.32-4.48(m,2H),4.13-4.26(m,2H),3.31-3.45(m,4H),3.24(d,4H),2.88-3.07(m,4H),2.30-2.39(m,2H),2.04-2.24(m,5H),1.86-2.03(m,1H),0.89-1.82(m,27H),0.74-0.88(m,13H)。MS(ESI)m/e 1466.3$(M+H)^+$。

[2719] 2.3此段落有意留空。

[2720] 2.4 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[{2-[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-

基}氧基)乙氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子EP)的合成

[2721] 如在实例2.1中描述的,用实例1.11.4替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),10.00(s,1H),8.01-8.10(m,2H),7.79(dd,2H),7.55-7.65(m,3H),7.41-7.53(m,3H),7.32-7.38(m,2H),7.25-7.30(m,3H),6.97-7.02(m,2H),6.96(d,1H),6.03(s,1H),4.90-5.03(m,4H),4.31-4.46(m,1H),4.20(s,1H),3.88(t,2H),3.82(s,2H),2.97-3.06(m,2H),2.88-2.98(m,1H),2.58-2.68(m,2H),2.05-2.22(m,5H),1.92-2.02(m,1H),0.89-1.75(m,23H),0.77-0.87(m,12H)。MS(ESI)m/e 1496.3$(M+H)^+$。

[2722] 2.5甲基6-[4-(3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰}氨基)苄基]氧基}羰基)氨基}丙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]-6-脱氧-β-L-吡喃葡萄糖苷(合成子EF)的合成

[2723] 2.5.1戊-4-炔醛

[2724] 在-78℃,向溶解在二氯甲烷(200mL)中的草酰氯(9.12mL)溶液中,在20分钟内加入溶解在二氯甲烷(40mL)中的二甲基亚砜(14.8mL)。将溶液再搅拌30分钟后,在10分钟内添加溶解在二氯甲烷(80mL)中的4-戊炔醇(8.0g)。将反应混合物在-78℃搅拌另外60分钟。在-78℃,添加三乙胺(66.2mL),并且将反应混合物搅拌60分钟,并且然后在另外1小时内温热至10℃。添加水(200mL)并且将两个层分离。将水层用1%HCl水溶液酸化,并且然后用二氯甲烷(3×100mL)反萃取。将合并的有机层用1%HCl水溶液和$NaHCO_3$水溶液洗涤。将含水萃取物用二氯甲烷(2×100mL)反萃取,并将合并的有机萃取物用盐水洗涤并经硫酸钠干燥。过滤后,通过旋转蒸发(30℃水浴)除去溶剂,以得到标题化合物。

[2725] 2.5.2 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(戊-4-炔-1-基氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2726] 向实例1.2.7(85mg)在四氢呋喃(2mL)中的溶液中加入戊-4-炔醛(8.7mg)、乙酸(20mg)和硫酸钠(300mg)。将混合物搅拌1小时,并将三乙酰氧基硼氢化钠(45mg)加入到反应混合物中。将混合物搅拌过夜,然后用乙酸乙酯(200mL)稀释,用水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将该残余物溶于二甲基亚砜/甲醇(1:1,3mL)中。将混合物通过反相HPLC(在吉尔森系统上,用在0.1%三氟乙酸水溶液中的10%-85%乙腈洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 812.1$(M+H)^+$。

[2727] 2.5.3 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((3-(1-(((2S,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-三羟基-6-甲氧基四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)丙基)氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2728] 向(2S,3S,4R,5S,6S)-2-(叠氮甲基)-6-甲氧基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.63mg)在叔丁醇(2mL)和水(1mL)中的溶液添加实例2.5.2(20mg)、硫酸铜(II)五水合物(2.0mg)和抗坏血酸钠(5mg)。在微波条件下(Biotage Initiator),将混合物在100℃搅

拌20分钟。向混合物中添加氢氧化锂一水合物(50mg),并且将其搅拌过夜。将混合物用三氟乙酸中和,并通过反相HPLC(吉尔森系统,用在0.1%三氟乙酸水溶液中的10%-85%乙腈洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1032.2$(M+H)^+$。

[2729] 2.5.4甲基6-[4-(3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰}氨基)苄基]氧基}羰基)氨基}丙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]-6-脱氧-β-L-吡喃葡萄糖苷

[2730] 向4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基4-硝基苯基碳酸酯(7.16mg)和实例2.5.3(10mg)在N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.1mL)。将混合物搅拌过夜,然后用三氟乙酸酸化,并通过反相HPLC(吉尔森系统,用在0.1%三氟乙酸水溶液中的10%-85%乙腈洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.65(s,1H),7.97(d,1H),7.76(d,1H),7.64-7.72(m,2H),7.53-7.63(m,3H),7.38-7.51(m,4H),7.30-7.37(m,2H),7.22-7.27(m,3H),6.84-6.98(m,3H),4.97(d,4H),4.65(dd,1H),4.50(d,1H),4.36-4.46(m,1H),4.25-4.32(m,1H),4.10-4.20(m,1H),3.85-3.95(m,2H),3.79(s,2H),3.66-3.73(m,2H),2.99-3.03(m,7H),2.57(t,3H),2.12-2.22(m,3H),2.08(s,3H),1.99-2.05(m,2H),1.70-1.88(m,4H),1.39-1.67(m,8H),1.35(s,3H),0.92-1.28(m,14H),0.80-0.88(m,16H)。MS(ESI)m/e 1629.5$(M+H)^+$。

[2731] 2.6 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-(4-{[([2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基]{3-[1-(β-D-吡喃葡糖醛酸基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙基}氨基甲酰基)氧基]甲基}苯基)-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子EG)的合成

[2732] 2.6.1 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((3-(1-((2R,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2733] 向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-叠氮基-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.63mg)在叔丁醇(2mL)和水(1mL)中的溶液添加实例2.5.2(20mg)、硫酸铜(II)五水合物(2.0mg)和抗坏血酸钠(5mg)。在微波条件下(Biotage Initiator),将混合物在100℃搅拌20分钟。向混合物中添加氢氧化锂一水合物(50mg),并且将其搅拌过夜。将混合物用三氟乙酸中和,并通过反相HPLC(吉尔森系统,用在0.1%三氟乙酸水溶液中的10%-85%乙腈洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1032.1$(M+H)^+$。

[2734] 2.6.2 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-(4-{[([2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基]{3-[1-(β-D-吡喃葡糖醛酸基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙基}氨基甲酰基)氧基]甲基}苯基)-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[2735] 通过用实例2.6.1取代实例2.5.4中的实例2.5.3来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.64(s,1H),7.98(d,1H),7.90(s,1H),7.76(d,1H),7.68(s,1H),7.52-7.62(m,3H),7.20-7.50(m,9H),6.84-6.98(m,3H),5.56(d,1H),4.98(d,4H),4.36-4.49(m,2H),4.11-4.23(m,2H),3.96(d,2H),3.74-3.91(m,7H),3.51-3.58(m,5H),3.35-3.49(m,10H),2.97-3.02(m,6H),2.57-2.66(m,3H),2.12-2.24(m,2H),2.08(s,3H),1.69-2.01(m,3H),1.35-1.65(m,9H),0.93-1.28(m,10H),0.81-0.89(m,10H)。MS(ESI)m/e 1629.4(M+H)$^+$。

[2736] 2.7N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[(2R)-1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基}-1-氧代-3-磺基丙烷-2-基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺(合成子EH)的合成

[2737] 向实例1.13.8(0.018g)和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基4-(硝基苯基)碳酸酯(0.015g,0.023mmol)在N,N-二甲基甲酰胺(0.75mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.015mL)。搅拌过夜后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺(0.75mL)和水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-70%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(s,1H),9.93(s,1H),8.14(d,1H),8.04(d,1H),7.84-7.76(m,2H),7.61(d,1H),7.57(d,2H),7.53(dd,1H),7.47(t,1H),7.43(d,1H),7.39-7.30(m,4H),7.26(d,2H),6.99(s,2H),6.97(dd,1H),4.96(s,2H),4.90(t,2H),4.75-4.65(m,1H),4.46-4.33(m,2H),4.17(dd,2H),3.66-3.47(m,4H),3.36(t,4H),3.12(s,2H),3.01(t,2H),2.85-2.60(m,4H),2.25-2.05(m,5H),2.05-1.90(m,1H),1.58-0.76(m,32H)。MS(ESI)m/e 1423.2(M+H)$^+$。

[2738] 2.8N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][4-(β-D-吡喃葡糖基氧基)苄基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子ER)的合成

[2739] 2.8.1 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((4-(((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2740] 向实例1.2.7(44.5mg)在四氢呋喃(2mL)和乙酸(0.2mL)中的溶液中添加4-(((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯甲醛(17mg)和$MgSO_4$(300mg)。将混合物搅拌1小时,然后添加在树脂上的氰基硼氢化钠(300mg)。将混合物搅拌过夜。将混合物过滤,并且蒸发溶剂。将残余物溶解于二甲基亚砜/甲醇(1:1,4mL)中,并通过反相HPLC(吉尔森系统)(用在0.1%三氟乙酸水溶液中的10%-85%乙腈洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 1015.2(M+H)$^+$。

[2741] 2.8.2 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-

羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][4-(β-D-吡喃葡糖基氧基)苄基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[2742] 通过用实例2.8.1取代实例2.5.4中的实例2.5.3来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.87(s,1H),10.00(s,1H),7.96-8.14(m,2H),7.79(d,2H),7.55-7.68(m,3H),7.09-7.52(m,11H),6.91-7.01(m,5H),5.09(d,1H),4.95(dd,4H),4.35-4.47(m,4H),4.14-4.23(m,3H),3.86-3.94(m,6H),3.31-3.46(m,8H),3.16-3.25(m,3H),2.90-3.04(m,4H),2.59(s,1H),1.88-2.24(m,6H),0.88-1.75(m,24H),0.76-0.90(m,12H)。MS(ESI)m/e 1613.7(M+H)$^+$。

[2743] 2.9N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[4-(β-D-别吡喃糖基氧基)苄基][2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子ES)的合成

[2744] 2.9.1 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((4-(((2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[2745] 向实例1.2.7(44.5mg)在四氢呋喃(2mL)和乙酸(0.2mL)中的溶液中添加4-(((2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯甲醛(17mg)和$MgSO_4$(300mg)。将混合物搅拌1小时,然后添加在树脂上的氰基硼氢化钠(300mg)。将混合物搅拌过夜。将混合物过滤,并且蒸发溶剂。将残余物溶解于二甲基亚砜/甲醇(1:1,4mL)中,并通过反相HPLC(吉尔森系统)(用在0.1%三氟乙酸水溶液中的10%-85%乙腈洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 1015.2(M+H)$^+$。

[2746] 2.9.2 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[4-(β-D-别吡喃糖基氧基)苄基][2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[2747] 通过用实例2.9.1取代实例2.5.4中的实例2.5.3来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(s,1H),10.00(s,1H),7.96-8.11(m,2H),7.79(d,2H),7.53-7.65(m,3H),7.08-7.52(m,10H),6.91-7.00(m,5H),5.09(d,1H),4.99(d,4H),4.35-4.48(m,3H),4.13-4.23(m,2H),3.82-3.96(m,8H),3.32-3.50(m,10H),3.12-3.25(m,3H),2.90-3.06(m,5H),1.89-2.19(m,6H),0.88-1.75(m,22H),0.76-0.88(m,11H)。MS(ESI)m/e 1612.5(M+H)$^+$。

[2748] 2.10 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-膦酰基乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子EQ)的合成

[2749] 如在实例2.1中描述的，用实例1.12.2替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR (500MHz,二甲基亚砜-d_6) δppm 9.99(s,1H),8.01-8.09(m,2H),7.76-7.81(m,2H),7.56-7.64(m,3H),7.41-7.53(m,3H),7.36(q,2H),7.25-7.30(m,3H),6.99(s,2H),6.94(d,1H),5.98(s,1H),4.89-5.07(m,4H),4.38(s,1H),4.19(t,1H),3.88(t,2H),3.80(d,2H),2.89-3.08(m,5H),2.04-2.24(m,5H),1.89-2.02(m,1H),1.76-1.87(m,2H),0.89-1.72(m,23H),0.78-0.88(m,12H)。MS(ESI)m/e 1452.2$(M+H)^+$。

[2750] 2.11 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-膦酰基乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺(合成子EU)的合成

[2751] 如在实例2.1中描述的，分别用实例1.12.2和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯替换实例1.2.9和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400 MHz,二甲基亚砜-d_6) δppm 9.93(s,1H),8.12(d,1H),8.03(d,1H),7.72-7.83(m,2H),7.54-7.65(m,3H),7.41-7.54(m,3H),7.31-7.40(m,2H),7.24-7.30(m,3H),6.99(s,2H),6.94(d,1H),4.87-5.11(m,3H),4.11-4.45(m,1H),3.88(t,2H),3.79(d,2H),2.97-3.05(m,2H),2.63-2.70(m,1H),2.29-2.37(m,1H),2.03-2.20(m,5H),1.73-2.00(m,5H),1.39-1.55(m,4H),0.88-1.38(m,19H),0.72-0.89(m,12H)。MS(ESI)m/e 1364.5$(M-H)^-$。

[2752] 2.12 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子EV)的合成

[2753] 如在实例2.1中描述的，用实例1.14.4替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR (400 MHz,二甲基亚砜-d_6) δppm 9.98(s,1H),8.04(t,2H),7.78(t,2H),7.61(t,3H),7.39-7.54(m,3H),7.32-7.39(m,2H),7.25-7.30(m,3H),6.99(s,2H),6.95(d,1H),6.01(s,1H),4.97(d,4H),4.29-4.47(m,2H),4.14-4.23(m,2H),3.85-3.93(m,2H),3.32-3.42(m,2H),3.24(s,2H),2.88-3.09(m,3H),1.87-2.23(m,6H),0.91-1.74(m,27H),0.72-0.89(m,12H)。MS(ESI)m/e 1466.3$(M+H)^+$。

[2754] 2.13 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[(2R)-1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}-1-氧代-3-磺基丙烷-2-基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺(合成子EW)的合成

[2755] 向实例1.15(0.020g)和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基4-(硝基苯基)碳酸酯(0.017g)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.017mL)。将反应搅拌过夜，并用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)、水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统，用含

有0.1%v/v三氟乙酸的10%-70%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),9.93(s,1H),8.12(d,1H),8.04(d,1H),7.86-7.76(m,3H),7.63-7.41(m,7H),7.39-7.32(m,2H),7.30(s,1H),7.30-7.21(m,2H),6.99(s,2H),6.97(d,1H),4.96(s,2H),4.93(s,2H),4.49-4.33(m,2H),4.18(dd,2H),4.15-4.08(m,2H),3.90-3.86(m,2H),3.36(t,2H),3.34-3.27(m,1H),3.18-3.04(m,2H),3.04-2.96(m,2H),2.89-2.61(m,2H),2.27-2.05(m,5H),2.03-1.87(m,1H),1.59-1.42(m,4H),1.42-0.91(m,18H),0.91-0.76(m,11H)。MS(-ESI)m/e 1407.5(M-H)$^-$。

[2756] 2.14 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[{2-[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙氧基]乙基}(3-膦酰基丙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子EX)的合成

[2757] 将实例1.16.2(59mg)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(48mg)、和N,N-二异丙基乙胺(0.056mL)在2mL N,N-二甲基甲酰胺中的混合物搅拌24小时。将混合物经由Biotage Isolera One系统(使用40g C18柱)上的反相色谱法(用在0.1%三氟乙酸/水中的10%-90%乙腈洗脱)纯化。浓缩希望的级分并将产物从水和1,4-二噁烷冻干,以提供为三氟乙酸盐的标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.97(bs,1H),8.04(m,2H),7.79(d,2H),7.59(m,3H),7.46(m,3H),7.36(m,2H),7.27(m,2H),6.99(s,2H),6.94(d,1H),4.97(m,4H),4.40(m,2H),4.17(dd,2H),3.50-4.10(m,6H),3.45(m,2H),3.40(m,2H),3.26(m,2H),3.01(m,2H),2.95(s,2H),2.79(s,2H),2.15(m,2H),2.09(s,2H),1.68(m,2H),1.60(m,1-2H),1.35-1.50(m,6H),1.25(m,4H),1.17(m,2H),1.10(m,2H),0.97(m,1-2H),0.84(m,12H)。MS(ESI)m/e 1510.4(M+H)$^+$。

[2758] 2.15 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[{2-[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙氧基]乙基}(3-膦酰基丙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-L-丙氨酰胺(合成子EY)的合成

[2759] 将实例1.16.2(59mg)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(42mg)、和N,N-二异丙基乙胺(0.042mg)在2mL N,N-二甲基甲酰胺中的混合物搅拌24小时。将混合物经由Biotage Isolera One系统(使用40g C18柱)上的反相色谱法(用在0.1%三氟乙酸/水中的10%-90%乙腈洗脱)纯化。浓缩级分并将产物从水和1,4-二噁烷冻干,以提供为三氟乙酸盐的标题化合物。MS(ESI)m/e 1422.6(M-H)$^+$。

[2760] 2.16 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺(合成子EZ)的合成

[2761] 将实例1.14.4(50mg)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(38mg)、和N,N-二异丙基乙胺(0.050mL)在2mLN,N-二甲基甲酰胺中的混合物搅拌24小时。将混合物经由Biotage Isolera One系统(使用40g C18柱)上的反相色谱法(用在0.1%三氟乙酸/水中的10%-90%乙腈洗脱)纯化。浓缩希望的级分并将产物从水和1,4-二噁烷冻干,以提供为三氟乙酸盐的标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.94(bs,1H),8.12(d,1H),8.04(d,1H),7.80(d,2H),7.61(m,3H),7.47(m,3H),7.36(m,2H),7.29(m,2H),6.99(s,2H),6.95(d,1H),4.97(m,4H),4.40(m,2H),4.16(dd,2H),3.50-4.10(m,6H),3.68(m,2H),3.55(m,2H),3.25(m,4H),3.02(m,2H),2.94(s,2H),2.79(s,2H),2.15(m,1H),2.08(s,2H),1.65(m,2H),1.40-1.50(m,6H),1.20-1.30(m,6H),1.08-1.19(m,4H),0.97(m,1-2H),0.76-0.89(m,12H)。MS(ESI)m/e 1380.3$(M+H)^+$。

[2762] 2.17 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(2S)-3-羧基-2-({[(4-{[(2S)-2-{[(2S)-2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}丙酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}氨基)丙酰基](甲基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(合成子FD)的合成

[2763] 向实例1.17(0.040g)和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苄基4-(硝基苯基)碳酸酯(0.034g)在N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.035mL)。将反应搅拌过夜,并用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)和水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-70%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),9.92(s,1H),8.13(d,1H),8.03(d,1H),7.79(d,2H),7.62(d,1H),7.57(d,2H),7.54-7.41(m,3H),7.40-7.32(m,2H),7.31-7.23(m,4H),6.99(s,2H),6.95(dd,1H),5.01-4.89(m,4H),4.78(dq,1H),4.45-4.30(m,1H),4.23-4.11(m,1H),3.88(t,2H),3.80(s,2H),3.42-3.26(m,6H),3.06(s,1H),3.01(t,2H),2.80(s,2H),2.76-2.62(m,1H),2.46-2.36(m,1H),2.25-2.05(m,5H),2.05-1.92(m,1H),1.58-1.42(m,4H),1.42-0.91(m,20H),0.91-0.78(m,9H)。MS(ESI)m/e 1387.4$(M+H)^+$。

[2764] 2.18 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][4-(β-D-吡喃葡糖醛酸基氧基)苄基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子FS)的合成

[2765] 通过用实例1.19.2取代实例2.5.4中的实例2.5.3来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(s,1H),10.00(s,1H),7.97-8.14(m,2H),7.79(d,2H),7.07-7.65(m,13H),6.87-7.01(m,4H),5.92-6.08(m,1H),4.87-5.07(m,4H),4.33-4.48(m,3H),4.13-4.26(m,1H),3.74-3.94(m,6H),3.14-3.34(m,8H),2.84-3.05(m,6H),1.87-2.25(m,6H),0.89-1.73(m,21H),0.76-0.87(m,12H)。MS(ESI)m/e1626.4$(M+H)^+$。

[2766] 2.19 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-

[({[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-膦酰基乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子FI)的合成

[2767] 如在实例2.1中描述的,用实例1.20.11替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 10.00(s,1H),8.40(s,1H),8.07(d,1H),8.00(d,1H),7.84-7.90(m,1H),7.79(dd,3H),7.55-7.66(m,2H),7.46(s,2H),7.37(t,1H),7.29(t,3H),7.18-7.25(m,1H),6.99(s,2H),5.99(s,1H),5.00(d,1H),4.38(s,1H),4.13-4.24(m,1H),3.96(s,2H),3.87(d,2H),2.88-3.08(m,4H),2.84(q,2H),2.04-2.26(m,5H),1.89-2.01(m,3H),1.75-1.88(m,2H),1.63-1.74(m,1H),0.91-1.63(m,21H),0.76-0.89(m,12H)。MS(ESI)m/e 1450.5(M-H)$^-$。

[2768] 2.20 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N^5-氨基甲酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-鸟氨酰胺(合成子FV)的合成

[2769] 通过用实例1.22.5取代实例2.1中的实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.00(vbr s,1H),10.00(s,1H),8.52(dd,1H),8.16(dd,1H),8.06(d,1H),7.78(d,1H),7.62(d,1H),7.59(brm,2H),7.53(m,2H),7.45(d,1H),7.37(t,1H),7.30(s,1H)7.27(d,2H),6.99(s,2H),6.97(d,1H),4.98(m,4H),4.39(m,1H),4.19(br m,1H),3.88(t,2H),3.80(br d,2H),3.44,3.36(br m,m,总计6H),3.24(m,2H),2.94-3.01(m,4H),2.63(br m,2H),2.14(m,2H),2.10(s,3H),1.97(brm,1H),1.68(brm,1H),1.58(brm,1H),1.34-1.47(m,8H),1.08-1.23(m 10H),0.95(br m,2H),0.85-0.80(m,12H)。MS(ESI)m/e1451.4(M-H)$^-$。

[2770] 2.21 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[(2R)-1-{[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基}-1-氧代-3-磺基丙烷-2-基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子GC)的合成

[2771] 如在实例2.1中描述的,用实例1.21.7替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.98(s,1H),8.40(s,1H),8.07(d,1H),8.01(dd,1H),7.89(t,1H),7.74-7.84(m,3H),7.58(d,2H),7.47(s,2H),7.37(t,1H),7.19-7.33(m,5H),7.00(s,2H),4.91(q,2H),4.64-4.76(m,2H),4.33-4.43(m,2H),4.15-4.24(m,2H),3.92-4.03(m,2H),3.88(s,2H),3.32-3.50(m,6H),3.10-3.22(m,2H),2.89-3.07(m,2H),2.70-2.89(m,4H),2.60-2.70(m,1H),2.05-2.28(m,5H),1.90-2.03(m,3H),1.64-1.77(m,1H),1.53-1.65(m,1H),0.92-1.53(m,21H),0.77-0.92(m,12H)。MS(ESI)m/e 1507.3(M-H)$^-$。

[2772] 2.22 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[(2R)-1-{[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-

1-基}氧基)乙基](甲基)氨基}-1-氧代-3-磺基丙烷-2-基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺(合成子GB)的合成

[2773] 如在实例2.1中描述的,分别用实例1.21.7和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯替换实例1.2.9和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.93(s,1H),8.39(s,1H),8.13(d,1H),8.01(dd,1H),7.88(t,1H),7.74-7.84(m,3H),7.57(d,2H),7.46(s,2H),7.37(t,1H),7.17-7.33(m,5H),6.99(s,2H),4.91(d,2H),4.65-4.76(m,1H),4.30-4.51(m,1H),4.13-4.21(m,1H),3.92-4.00(m,2H),3.88(s,2H),3.29-3.46(m,4H),2.93-3.21(m,3H),2.68-2.88(m,4H),2.58-2.68(m,1H),2.04-2.26(m,5H),1.89-2.02(m,3H),1.37-1.54(m,6H),0.92-1.34(m,15H),0.75-0.91(m,12H)。MS(ESI)m/e$(M+H)^+$。

[2774] 2.23 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N^5-氨基甲酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-鸟氨酰胺(合成子FW)的合成

[2775] 通过用实例1.23.4取代实例2.1中的实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.38(vbr s,1H),10.00(s,1H),8.66(m,2H),8.06(d,1H),7.78(d,1H),7.65(d,1H),7.59(br m,2H),7.53(m,1H),7.47(m 2H),7.37(t,1H),7.30(s,1H)7.27(d,2H),6.99(s,2H),6.97(d,1H),4.98(m,4H),4.39(m,1H),4.19(br m,1H),3.88(t,2H),3.80(br d,2H),3.40(br m,6H),3.24(m,2H),2.98(m,4H),2.63(m,2H),2.16(m,2H),2.10(s,3H),1.97(br m,1H),1.68(brm,1H),1.58(br m,1H),1.34-1.47(m,8H),1.08-1.23(m,10H),0.95(br m,2H),0.85-0.80(m,12H)。MS(ESI)m/e 1451.5$(M-H)^-$。

[2776] 2.24 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子GD)的合成

[2777] 如在实例2.1中描述的,用实例1.24.2替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 10.00(s,1H),8.38(s,1H),8.07(d,1H),8.00(d,1H),7.85-7.92(m,1H),7.73-7.85(m,3H),7.55-7.65(m,2H),7.46(s,2H),7.37(t,1H),7.28(t,3H),7.22(t,1H),6.99(s,2H),6.00(s,1H),4.99(d,1H),4.28-4.50(m,1H),4.19(s,1H),3.77-4.03(m,4H),3.31-3.41(m,2H),3.20-3.29(m,2H),2.87-3.08(m,3H),2.83(t,2H),2.63(d,2H),2.05-2.25(m,5H),1.88-2.01(m,3H),1.69(t,1H),1.53-1.63(m,1H),1.31-1.53(m,8H),1.04-1.29(m,11H),0.89-1.02(m,2H),0.77-0.88(m,12H)。MS(ESI)m/e 1450.4$(M-H)^-$。

[2778] 2.25 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-

羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子GK)的合成

[2779] 如在实例2.1中描述的,用实例1.25.2替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),9.98(s,1H),8.04(t,2H),7.75-7.82(m,2H),7.60(t,3H),7.41-7.53(m,3H),7.32-7.39(m,2H),7.24-7.29(m,3H),6.99(s,2H),6.94(d,3H),5.97(s,1H),4.88-5.04(m,4H),4.38(d,1H),4.12-4.24(m,1H),3.88(t,2H),3.75-3.84(m,2H),3.32-3.40(m,2H),3.28(d,2H),2.90-3.05(m,4H),2.42-2.49(m,2H),2.05-2.22(m,5H),1.87-2.01(m,1H),0.90-1.76(m,22H),0.74-0.88(m,12H)。MS(ESI)m/e 1414.5(M-H)$^{-}$。

[2780] 2.26 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺(合成子GJ)的合成

[2781] 如在实例2.1中描述的,分别用实例1.25.2和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯替换实例1.2.9和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.78(s,1H),9.93(s,1H),8.12(d,1H),8.03(d,1H),7.75-7.83(m,2H),7.54-7.65(m,3H),7.41-7.52(m,3H),7.32-7.40(m,2H),7.24-7.29(m,3H),6.98(s,2H),6.94(d,1H),4.90-5.04(m,4H),4.32-4.45(m,2H),4.12-4.21(m,2H),3.88(t,2H),3.79(d,2H),3.31-3.46(m,4H),3.23-3.31(m,2H),3.01(t,2H),2.46(t,2H),2.04-2.22(m,5H),1.87-2.02(m,1H),1.40-1.60(m,4H),0.91-1.37(m,17H),0.76-0.88(m,12H)。MS(ESI)m/e 1328.4(M-H)$^{-}$。

[2782] 2.27 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(2R)-3-羧基-2-({[(4-{[(2S)-2-{[(2S)-2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}丙酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}氨基)丙酰基](甲基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(合成子GW)的合成

[2783] 将实例1.27(0.043g)于N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液中添加4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.042g),随后添加N,N-二异丙基乙基胺(0.038mL),并将反应在室温搅拌。搅拌16小时后,将反应用水(0.5mL)和N,N-二甲基甲酰胺和水(1mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-70%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.05(s,1H),10.15(s,1H),8.36(d,1H),8.26(d,1H),8.02(d,2H),7.95-7.77(m,4H),7.77-7.63(m,3H),7.63-7.54(m,2H),7.54-7.46(m,3H),7.22(s,2H),7.18(dd,1H),5.17(d,4H),5.01(dq,1H),4.61(p,1H),4.39(t,1H),4.11(t,2H),4.03(s,2H),3.64-3.49(m,2H),3.29(s,1H),3.24(t,2H),3.03(s,2H),2.92(dt,1H),2.73-2.61(m,4H),

2.35(d,4H),2.18(dt,1H),1.71(h,4H),1.65-1.13(m,18H),1.13-1.01(m,13H)。MS(ESI)m/e 1387.3(M+H)$^+$。

[2784] 2.28 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][1-(羧甲基)哌啶-4-基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子HF)的合成

[2785] 将实例1.28(0.0449g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.049g)和N,N-二异丙基乙胺(0.044mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液在室温一起搅拌。将反应混合物搅拌过夜,并用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)和水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-90%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d$_6$)δppm 12.85(s,1H),9.99(s,1H),8.04(t,2H),7.78(t,2H),7.65-7.58(m,3H),7.54-7.41(m,3H),7.38(d,1H),7.34(d,1H),7.32-7.24(m,3H),6.99(s,2H),6.95(d,1H),5.97(s,1H),5.01(s,2H),4.96(s,2H),4.38(q,1H),4.23-4.14(m,1H),4.05(s,2H),3.88(t,2H),3.80(s,2H),3.36(t,2H),3.26-2.86(m,8H),2.27-2.02(m,6H),2.02-1.86(m,2H),1.86-1.75(m,2H),1.75-1.54(m,2H),1.54-0.90(m,24H),0.89-0.72(m,14H)。MS(ESI)m/e 1485.2(M+H)$^+$。

[2786] 2.29(S)-6-((2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)(甲基)氨基)-5-((((4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)氨基)-N,N,N-三甲基-6-氧代己烷-1-铵盐(合成子HG)的合成

[2787] 将实例1.29(8mg)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(8.24mg)和N,N-二异丙基乙胺(7.50μl,0.043mmol)在N,N-二甲基甲酰胺(0.250mL)中的溶液在室温搅拌。3小时后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1.25mL)和水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-90%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d$_6$)δppm 12.85(s,1H),9.96(s,1H),8.04(t,2H),7.83-7.76(m,2H),7.66-7.56(m,3H),7.53-7.42(m,4H),7.41-7.32(m,2H),7.31-7.23(m,3H),6.99(s,2H),6.95(d,1H),5.99(s,1H),5.04-4.87(m,4H),4.44-4.33(m,2H),4.24-4.12(m,2H),3.88(t,2H),3.81(s,2H),3.50-3.13(m,9H),3.11-2.92(m,14H),2.80(s,1H),2.25-2.04(m,5H),2.03-1.89(m,1H),1.75-0.91(m,28H),0.91-0.77(m,12H)。MS(ESI)m/e 1528.5(M+H)$^+$。

[2788] 2.30 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺(合成子HP)的合成

[2789] 如在实例2.1中描述的，用4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯替换4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.83(s,1H),9.94(s,1H),8.12(d,1H),8.04(d,1H),7.79(d,2H),7.40-7.63(m,6H),7.32-7.39(m,2H),7.24-7.30(m,3H),6.99(s,2H),6.95(d,1H),4.90-5.03(m,4H),4.31-4.47(m,1H),4.09-4.24(m,1H),3.84-3.93(m,2H),3.81(s,2H),3.30-3.39(m,2H),3.20-3.28(m,2H),3.01(t,2H),2.57-2.65(m,2H),2.05-2.22(m,5H),1.87-2.02(m,2H),1.41-1.58(m,4H),1.22(d,18H),0.74-0.89(m,12H)。MS(ESI)m/e 1364.5(M-H)$^-$。

[2790] 2.31 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子HR)的合成

[2791] 将实例1.30.2(0.038g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.035g)和N,N-二异丙基乙胺(0.032mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液在室温搅拌。搅拌3小时后，将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1.25mL)和水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统，用含有0.1％v/v三氟乙酸的10％-90％乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥，以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.98(s,1H),9.02(s,1H),8.10-8.00(m,2H),7.79(d,2H),7.64-7.56(m,3H),7.53(d,1H),7.47(t,1H),7.43(d,1H),7.39-7.32(m,2H),7.29(d,3H),6.99(s,2H),6.95(d,1H),6.00(s,1H),4.99(s,2H),4.96(s,2H),4.48-4.32(m,2H),4.27-4.15(m,2H),4.11(d,2H),3.88(t,2H),3.82(s,2H),3.40-3.33(m,4H),3.24-3.11(m,2H),3.11-2.72(m,8H),2.26-2.04(m,4H),2.04-1.80(m,3H),1.80-0.92(m,26H),0.92-0.77(m,12H)。MS(ESI)m/e1535.4(M+H)$^+$。

[2792] 2.32 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子HU)的合成

[2793] 通过用实例1.31.11取代实例2.5.4中的实例2.5.3来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.98(s,1H),8.03(dd,2H),7.70-7.84(m,3H),7.59(d,2H),7.48(dd,2H),7.23-7.37(m,4H),6.93-7.02(m,4H),4.99(d,4H),4.12-4.21(m,8H),3.88-3.96(m,4H),3.75-3.84(m,4H),3.23-3.49(m,7H),2.73-3.07(m,8H),1.89-2.21(m,9H),0.91-1.77(m,25H),0.77-0.91(m,12H)。MS(ESI)m/e 1496.3(M+H)$^+$。

[2794] 2.33 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-

L-鸟氨酰胺(合成子HT)的合成

[2795] 将实例1.26.2(0.040g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.030g)和N,N-二异丙基乙胺(0.020mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液在室温搅拌。搅拌3小时后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1.25mL)和水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-90%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.98(s,1H),9.26(s,1H),8.06(d,1H),8.05-8.01(m,1H),7.79(d,2H),7.62(d,1H),7.61-7.57(m,2H),7.52-7.42(m,3H),7.38(d,1H),7.35(d,1H),7.32-7.26(m,3H),6.99(s,2H),6.95(d,1H),6.01(s,1H),4.99(s,2H),4.96(s,3H),4.44-4.33(m,2H),4.18(dd,2H),3.88(t,2H),3.83(s,2H),3.71-3.61(m,2H),3.53(t,2H),3.36(t,2H),3.07-2.66(m,8H),2.28-2.06(m,6H),2.05-1.92(m,2H),1.92-1.80(m,2H),1.78-0.95(m,32H),0.92-0.77(m,14H)。MS(ESI)m/e 1549.5$(M+H)^+$。

[2796] 2.34 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子HV)的合成

[2797] 通过用实例1.14.4取代实例2.5.4中的实例2.5.3来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.98(s,1H),9.02(s,1H),8.32-8.45(m,1H),8.12-8.27(m,3H),7.98-8.09(m,3H),7.93(d,1H),7.66-7.83(m,4H),7.54-7.64(m,2H),7.46-7.50(m,2H),7.24-7.40(m,3H),6.99(s,2H),5.93-6.09(m,1H),4.99(s,3H),4.33-4.49(m,3H),4.15-4.20(m,3H),3.19-3.50(m,10H),2.86-3.07(m,3H),1.87-2.27(m,7H),0.91-1.77(m,26H),0.76-0.89(m,10H)。MS(ESI)m/e 1461.1$(M+H)^+$。

[2798] 2.35 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子HZ)的合成

[2799] 将实例1.36.2(0.031g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.025g)和N,N-二异丙基乙胺(0.016mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液在室温搅拌。搅拌3小时后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1.25mL)和水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-90%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),9.98(s,1H),8.82(s,1H),8.05(dd,2H),7.79(d,2H),7.70-7.53(m,2H),7.53-7.24(m,6H),6.99(s,2H),6.95(d,1H),6.00(s,1H),4.99(s,2H),4.96(s,2H),4.37(q,2H),4.25-4.15(m,2H),3.88(t,2H),3.83(s,2H),3.69-3.61(m,2H),3.44-3.30(m,4H),3.08-2.90(m,4H),2.90-2.72(m,4H),2.27-2.04(m,5H),2.04-1.89(m,2H),1.77-0.94(m,28H),0.91-0.78(m,14H)。MS(ESI)m/e 1499.5$(M+H)^+$。

[2800] 2.36 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N^5-氨基甲酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-鸟氨酰胺(合成子IA)的合成

[2801] 通过用实例1.39.2取代实例2.1中的实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.98(s,1H),8.60(dd,1H),8.52(dd,1H),8.06(d,1H),7.78(d,1H),7.65(d,1H),7.59(br m,2H),7.50(m,1H),7.45(d,1H),7.38(m,2H),7.28(s,1H),7.27(d,2H),6.99(s,2H),6.97(d,1H),5.98(br s,1H),4.98(s,4H),4.39(m,1H),4.19(br m,1H),3.88(t,2H),3.80(br d,2H),3.36(br m,3H),3.24br(m,4H),2.98(m,4H),2.16(m,2H),2.12(s,3H),1.95(br m,1H),1.67(brm,3H),1.34-1.47(m,9H),1.08-1.23(m,11H),0.95(br m,2H),0.85-0.80(m,12H)。MS(ESI)m/e 1465.5$(M-H)^-$。

[2802] 2.37 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N^5-氨基甲酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-鸟氨酰胺(合成子IF)的合成

[2803] 通过用实例1.40.2取代实例2.1中的实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.98(s,1H),8.52(dd,1H),8.16(dd,1H),8.05(br d,1H),7.78(br d,1H),7.62(m,1H),7.58(br m,2H),7.52(m,2H),7.44(d,1H),7.38(t,1H),7.29(s,1H)7.27(d,2H),6.99(s,2H),6.97(d,1H),4.98(s,2H),4.96(s,2H),4.39(m,1H),4.19(br m,1H),3.88(t,2H),3.80(br d,2H),3.36(br m,3H),3.24br(m,4H),2.98(m,4H),2.16(m,2H),2.12(s,3H),1.95(br m,1H),1.67(brm,3H),1.47-1.34(m,9H),1.08-1.23(m,11H),0.95(br m,2H),0.85-0.80(m,12H)。MS(ESI)m/e 1451.5$(M-H)^-$。

[2804] 2.38 N-{6-[(氯乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺(合成子IG)的合成

[2805] 2.38.1 3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2806] 将实例1.2.9(0.050g)、(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯(0.039g)和N,N-二异丙基乙胺(0.027mL)在N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的溶液在室温搅拌。搅拌过夜后,向反应中添加二乙胺(0.027mL)并继续搅拌2小时。用三氟乙酸猝灭反应,并将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的5%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e1499.5$(M+H)^+$。

[2807] 2.38.2 N-{6-[(氯乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-

[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酰胺

[2808] 向6-(2-氯乙酰氨基)己酸(6mg)和2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲鎓六氟磷酸酯(V)(0.011g)在N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.015mL),并将反应搅拌5分钟。将该溶液添加到实例2.38.1(0.022g)中并搅拌1小时。将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)和水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-90%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm12.83(s,1H),9.93(s,1H),8.20-8.10(m,2H),8.04(d,1H),7.83-7.76(m,2H),7.64-7.55(m,3H),7.55-7.50(m,1H),7.50-7.41(m,2H),7.40-7.32(m,2H),7.32-7.24(m,3H),6.96(d,1H),5.07-4.92(m,3H),4.39(p,1H),4.18(dd,2H),4.01(s,2H),3.92-3.76(m,6H),3.54-3.32(m,4H),3.25(t,2H),3.13-2.93(m,4H),2.72-2.58(m,2H),2.29-2.12(m,2H),2.09(s,3H),2.05-1.92(m,1H),1.58-0.89(m,18H),0.89-0.77(m,12H)。MS(ESI)m/e 1362.2(M+H)$^+$。

[2809] 2.39 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子IJ)的合成

[2810] 通过用实例1.41.3取代实例2.5.4中的实例2.5.3来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 10.03(s,1H),9.96(s,1H),8.26-8.34(m,1H),7.95-8.11(m,2H),7.73-7.82(m,2H),7.22-7.70(m,11H),6.95-7.05(m,3H),6.89(d,1H),5.23(s,1H),4.98(d,3H),4.83(s,1H),4.33-4.43(m,1H),4.11-4.23(m,1H),3.74-3.95(m,3H),3.22-3.39(m,10H),2.78-3.06(m,12H),1.91-2.22(m,8H),0.93-1.68(m,20H),0.77-0.88(m,10H)。MS(ESI)m/e 1432.2(M+H)$^+$。

[2811] 2.40 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(2-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基}乙基)(2-羧乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子IJ)的合成

[2812] 如在实例2.1中描述的,用实例1.38.2替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(s,1H),9.99(s,1H),9.10(s,1H),8.04(t,2H),7.73-7.85(m,2H),7.61(t,3H),7.41-7.55(m,3H),7.26-7.39(m,5H),6.99(s,2H),6.95(d,1H),6.00(s,1H),4.99(d,4H),4.34-4.45(m,2H),4.19(dd,2H),3.88(t,2H),3.82(s,2H),3.36(t,4H),2.85-3.09(m,5H),2.06-2.22(m,4H),1.89-2.02(m,1H),0.94-1.77(m,20H),0.77-0.90(m,11H)。MS(ESI)m/e 1567.4(M+H)$^+$。

[2813] 2.41 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({(2S)-2-[{[(4-{[(2S)-5-(氨基甲酰基氨基)-2-{[(2S)-2-{[6-(2,5-二氧

代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}戊酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}(2-羧乙基)氨基]-3-羧基丙酰基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(合成子IK)的合成

[2814] 如在实例2.1中描述的,用实例1.32.4替换实例1.2.9来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1592.4(M-H)$^-$。

[2815] 2.42 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(2S)-2-({[(4-{[(2S)-5-(氨基甲酰基氨基)-2-{[(2S)-2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}戊酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}氨基)-3-羧基丙酰基](2-磺乙基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(合成子IL)的合成

[2816] 如在实例2.1中描述的,用实例1.44.2替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.82(s,1H),9.96(s,1H),8.03(t,2H),7.77(d,2H),7.39-7.62(m,7H),7.30-7.39(m,2H),7.22-7.29(m,3H),6.98(s,2H),6.92-6.96(m,1H),5.97(s,1H),4.83-5.05(m,3H),3.83-3.92(m,1H),3.79(s,1H),3.00(s,2H),2.03-2.22(m,8H),

[2817] 1.94(s,2H),1.34(d,30H),0.69-0.90(m,13H)。MS(ESI)m/e 1565.5(M-H)$^-$。

[2818] 2.43 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-羧基丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子IM)的合成

[2819] 将实例1.42.2(0.045g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.035g)和N,N-二异丙基乙胺(0.038mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液在室温搅拌。搅拌3小时后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1.25mL)和水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-90%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.76(s,1H),9.91(s,1H),8.79(s,1H),7.98(dd,2H),7.72(d,2H),7.68-7.47(m,3H),7.47-7.00(m,7H),6.96-6.83(m,3H),5.93(s,1H),4.91(d,3H),4.30(q,1H),4.17-3.97(m,4H),3.96-3.53(m,4H),3.34-2.65(m,12H),2.25(t,2H),2.16-1.67(m,12H),1.67-0.88(m,26H),0.84-0.70(m,12H)。MS(ESI)m/e 1513.6(M+H)$^+$。

[2820] 2.44 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子IO)的合成

[2821] 2.44.1(E)-叔丁基二甲基((3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷-2-基)烯丙基)氧基)硅烷

[2822] 在氮气氛下,向用叔丁基二甲基(丙-2-炔-1-基氧基)硅烷(5g)和二氯甲烷(14.7mL)填充的烧瓶中滴加4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁环戊硼烷(3.94g)。将混合物在室

温下搅拌一分钟，然后经由套管转移到含有Cp_2ZrClH(氯化双(η5-环戊二烯基)氢化锆，Schwartz试剂)(379mg)的氮喷雾(nitrogen-sparged)烧瓶中。将所得的反应混合物在室温下搅拌16小时。小心地用水(15mL)猝灭混合物，并且然后用二乙醚(3×30mL)萃取。将合并的有机相用水(15mL)洗涤，经$MgSO_4$干燥，过滤，并通过硅胶色谱法(用0-8％乙酸乙酯/庚烷的梯度洗脱)进行纯化，以给出标题化合物。MS(ESI)m/z 316.0$(M+NH_4)^+$。

[2823] 2.44.2(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-溴-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2824] 将(2R,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(5g)溶解在乙腈(100mL)中。将Ag_2O(2.92g)添加至该溶液中，并将该反应在室温搅拌5分钟。添加4-溴-2-硝基苯酚(2.74g)，并将反应混合物在室温搅拌4小时。将银盐残余物通过硅藻土过滤，并将滤液在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的10％-70％乙酸乙酯梯度洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI+)m/z 550.9$(M+NH_4)^+$。

[2825] 2.44.3(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-((E)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-1-烯-1-基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2826] 将实例2.44.2(1g)、碳酸钠(0.595g)、三(二苯亚甲基丙酮)二钯$(Pd_2(dba)_3)$(0.086g)、和1,3,5,7-四甲基-6-苯基-2,4,8-三氧杂-6-磷杂金刚烷(0.055g)合并在装备有回流冷凝器的3-颈50-mL圆底烧瓶中，并将该系统用氮脱气。单独地，将实例2.44.1(0.726g)在四氢呋喃(15mL)中的溶液用氮脱气30分钟。将后一种溶液经由套管转移至含有这些固体试剂的烧瓶中，随后经由注射器添加脱气的水(3mL)。将反应加热至60℃持续两小时。将反应混合物在乙酸乙酯(3×30mL)与水(30mL)之间分配。将合并的有机相干燥(Na_2SO_4)、过滤、并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的0-35％乙酸乙酯梯度洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI+)m/z 643.1$(M+NH_4)^+$。

[2827] 2.44.4(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-氨基-4-((E)-3-羟基丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2828] 向装有压力平衡加料漏斗的经氮气冲洗的500mL三颈烧瓶中装入锌粉末(8.77g)。经由套管添加实例2.44.3(8.39g)在四氢呋喃(67mL)中的脱气的溶液。将所得悬浮液在冰浴中冷却并经由加料漏斗以一定速率逐滴添加6N HCl(22.3mL)，在此速率反应的内部温度不超过35℃。添加完成后，将反应在室温下搅拌2小时，并且通过硅藻土垫过滤，用水和乙酸乙酯冲洗。将滤液用饱和$NaHCO_3$水溶液处理直至水层不再呈酸性，并且过滤混合物以除去所得固体。将滤液转移到分液漏斗中并分离各层。将水层用乙酸乙酯(3x 75mL)萃取，并将合并的有机层用水(100mL)洗涤，经Na_2SO_4干燥，过滤，并浓缩。将残余物用二乙醚研磨，并过滤收集固体，以提供标题化合物。MS(ESI+)m/z 482.0$(M+H)^+$。

[2829] 2.44.5(9H-芴-9-基)甲基(3-氯-3-氧丙基)氨基甲酸酯

[2830] 向3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酸(5.0g)在二氯甲烷(53.5mL)中的溶液中添加二氯化硫(0.703mL)。将混合物在60℃搅拌1小时。将混合物冷却并浓缩，以提供标题化合物，将其不经进一步纯化用于下一步。

[2831] 2.44.6(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-((E)-3-羟基丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2832] 将实例2.44.4(6.78g)溶解于二氯甲烷(50mL)中，并将该溶液在冰浴中冷却至0℃。添加N,N-二异丙基乙胺(3.64g)，随后逐滴添加实例2.44.5(4.88g)在二氯甲烷(50mL)中的溶液。将反应搅拌16小时，以允许冰浴变为室温。添加饱和水性$NaHCO_3$溶液(100mL)，并分离各层。将水层进一步用二氯甲烷(2×50mL)萃取。将萃取物经Na_2SO_4干燥，过滤，浓缩并且通过硅胶色谱法(用5%-95%乙酸乙酯/庚烷的梯度洗脱)纯化，以给出起始苯胺和希望产物的不可分离的混合物。将此混合物在1N水性HCl(40mL)与二乙醚和乙酸乙酯的1:1混合物(40mL)之间分配，并然后将水相进一步用乙酸乙酯萃取(2×25mL)。将有机相合并，用水(2x 25mL)洗涤、经Na_2SO_4干燥、过滤、并浓缩，以提供标题化合物。MS(ESI+)m/z 774.9$(M+H)^+$。

[2833] 2.44.7(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-((E)-3-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2834] 将实例2.44.6(3.57g)溶解于二氯甲烷(45mL)中，并添加双(4-硝基苯基)碳酸酯(2.80g)，随后逐滴添加N,N-二异丙基乙胺(0.896g)。将反应混合物在室温搅拌两小时。将硅胶(20g)添加至反应溶液中，并将混合物在减压下浓缩至干燥，保持浴温度为25℃或低于25℃。将二氧化硅残余物加载到柱顶，并通过硅胶色谱法(用0%-100%乙酸乙酯-庚烷的梯度洗脱)纯化产物，提供部分纯化的被硝基苯酚污染的产物。将此材料用甲基叔丁醚(250mL)研磨并允许所得浆料静置1小时。将产物通过过滤收集。以类似方式收集三批连续的产物以给出标题化合物。MS(ESI+)m/z 939.8$(M+H)^+$。

[2835] 2.44.8 3-(1-((3-(2-(((((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2836] 向实例2.44.7(19.7mg)和实例1.41.3(18.5mg)在N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中的冷(0℃)溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.054mL)。将该反应缓慢温热至室温并搅拌过夜。向反应混合物中添加水(2mL)和氢氧化锂一水合物(50mg)，并将该混合物搅拌过夜。将混合物用三氟乙酸酸化并过滤。将混合物通过反相HPLC(吉尔森系统，用在0.1%三氟乙酸水溶液中的10%-85%乙腈洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1273.2$(M+H)^+$。

[2837] 2.44.9 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[2838] 向实例2.44.8(10mg)和2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(2.3mg)在N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.054mL)。将该反应搅拌过夜。将反应混合物用甲醇(2mL)稀释并用三氟乙酸酸化。将混合物通过反相HPLC(系统，用在0.1%三氟乙酸水溶液中的10%-85%乙腈洗脱)进行纯化以给出标题化合物吉尔森。^1H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.70(s,1H),9.03(s,1H),8.25(s,1H),8.01(d,1H),7.87(t,1H),7.77(d,1H),7.69(d,1H),7.41-7.55(m,2H),7.23-

7.38(m,2H),6.79-7.16(m,7H),6.56(d,1H),6.09-6.25(m,1H),4.96-5.07(m,3H),4.84(s,3H),4.64(d,3H),3.87-3.97(m,5H),3.24-3.47(m,12H),2.77-2.95(m,6H),1.94-2.08(m,6H),0.92-1.56(m,20H),0.74-0.86(m,6H)。MS(ESI)m/e 1487.3$(M+Na)^+$。

[2839] 2.45 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子IP)的合成

[2840] 通过用实例1.43.7取代实例2.5.4中的实例2.5.3来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.09(s,1H),9.99(s,1H),9.02(s,1H),8.30-8.40(m,3H),7.93-8.25(m,6H),7.23-7.86(m,10H),6.92-7.05(m,2H),4.99(d,2H),4.36-4.44(m,2H),4.14-4.23(m,2H),2.87-3.35(m,12H),2.81(t,2H),2.59-2.70(m,2H),1.84-2.28(m,8H),0.97-1.77(m,20H),0.77-0.88(m,10H)。MS(ESI)m/e 1448.3$(M+Na)^+$。

[2841] 2.46 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(2-{[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-(6-羧基-5-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基]氧基}乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子IS)的合成

[2842] 如在实例2.1中描述的,用实例1.46.2替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.69(s,1H),9.97(s,1H),8.97(s,1H),8.04(dd,2H),7.78(d,2H),7.71(d,1H),7.59(d,2H),7.44-7.54(m,3H),7.26-7.37(m,4H),6.96-7.03(m,4H),5.97(s,1H),4.99(d,4H),4.31-4.45(m,1H),4.18(dd,1H),4.09(s,2H),3.85-3.93(m,2H),3.83(s,2H),3.39-3.47(m,2H),3.24-3.39(m,4H),3.12-3.24(m,2H),2.75-3.07(m,9H),2.06-2.23(m,5H),1.90-2.01(m,1H),1.54-1.75(m,2H),1.24-1.52(m,12H),0.91-1.24(m,8H),0.77-0.88(m,12H)。MS(ESI)m/e 1525.4$(M+H)^+$。

[2843] 2.47 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(2-{[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-(6-羧基-5-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基]氧基}乙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子IU)的合成

[2844] 如在实例2.1中描述的,用实例1.47.2替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.70(s,1H),9.99(s,1H),8.97(s,1H),8.04(dd,2H),7.78(d,2H),7.71(d,1H),7.59(d,2H),7.43-7.55(m,2H),7.28-7.37(m,4H),6.94-7.07(m,4H),6.05(s,1H),4.93-5.11(m,4H),4.31-4.46(m,2H),4.12-4.26(m,4H),3.80-3.95(m,4H),3.40-3.50(m,2H),3.24-3.40(m,6H),3.13-3.24(m,2H),2.74-3.08(m,9H),2.63-2.73(m,2H),2.05-2.23(m,5H),1.96(s,1H),1.52-1.77(m,2H),1.23-1.53(m,12H),0.97-1.22(m,8H),0.77-0.89(m,12H)。MS(ESI)m/e 1631.5$(M-H)^-$。

[2845] 2.48 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(2-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-

基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基}乙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子IV)的合成

[2846] 如在实例2.1中描述的,用实例1.48.2替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.82(s,1H),10.00(s,1H),9.29-9.57(m,1H),8.05(t,2H),7.79(d,2H),7.51-7.63(m,4H),7.40-7.50(m,2H),7.27-7.39(m,5H),6.93-7.02(m,3H),4.99(d,3H),4.30-4.47(m,1H),4.19(t,1H),3.79-3.92(m,3H),3.60-3.74(m,2H),3.01(s,9H),2.70(d,4H),2.05-2.23(m,6H),1.96(d,2H),1.53-1.78(m,3H),1.22-1.54(m,13H),0.89-1.22(m,9H),0.75-0.89(m,13H)。MS(ESI)m/e 1603.3$(M+H)^+$。

[2847] 2.49 N-{6-[(氯乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子IZ)的合成

[2848] 2.49.1 3-(1-(((1r,3r)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2849] 将实例1.2.9(0.045g)、(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯(0.043g)和N,N-二异丙基乙胺(0.041mL)在N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的溶液在室温一起搅拌。搅拌过夜后,向反应中添加二乙胺(0.024mL)并继续搅拌2小时。用三氟乙酸猝灭反应,然后通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。

[2850] 2.49.2 N-{6-[(氯乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[2851] 向6-(2-氯乙酰氨基)己酸(6.43mg)和2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲鎓六氟磷酸酯(V)(0.012g)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.019mL),并将反应搅拌5分钟。将该溶液添加到实例2.49.1(0.026g)中并搅拌1小时。将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)和水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-60%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm12.85(s,1H),9.99(s,1H),8.18(q,1H),8.08(d,1H),8.04(d,1H),7.84-7.76(m,2H),7.64-7.56(m,3H),7.56-7.50(m,1H),7.47(t,1H),7.43(d,1H),7.37(d,1H),7.35(d,1H),7.29(s,1H),7.27(d,2H),6.95(d,1H),6.05(s,1H),5.05-4.91(m,4H),4.48-4.33(m,1H),4.26-4.14(m,1H),4.02(s,2H),3.88(t,2H),3.81(d,2H),3.25(t,2H),3.14-2.98(m,6H),2.98-2.87(m,2H),2.74-2.59(m,2H),2.27-2.05(m,6H),2.04-1.92(m,1H),1.78-1.65(m,1H),1.65-1.53(m,1H),1.53-0.90(m,22H),0.90-0.73(m,12H)。MS(ESI)m/e 1448.2$(M+H)^+$。

[2852] 2.50 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-1,4-苯并噁嗪-6-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子JD)的合成

[2853] 通过用实例1.51.8取代实例2.5.4中的实例2.5.3来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.56(s,1H),8.51-8.59(m,1H),7.89(d,1H),7.82(d,1H),7.69-7.77(m,2H),7.34-7.62(m,7H),7.16-7.34(m,4H),6.95(dd,1H),5.95-6.05(m,1H),4.95(s,2H),4.06-4.44(m,6H),3.85(s,3H),3.39-3.59(m,7H),2.61-2.74(m,3H),2.19(s,3H),1.88-2.16(m,3H),0.96-1.75(m,22H),0.71-0.89(m,13H)。MS(ESI)m/e 1454.2(M+Na)$^+$。

[2854] 2.51 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(2-{[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-(6-羧基-5-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基]氧基}乙基)(2-羧乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子JF)的合成

[2855] 如在实例2.1中描述的,用实例1.49.2替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.71(s,1H),10.00(s,1H),8.97(s,1H),8.08(d,1H),8.02(d,1H),7.78(d,2H),7.72(d,1H),7.60(d,2H),7.52(d,1H),7.44-7.50(m,1H),7.27-7.39(m,4H),6.96-7.06(m,3H),5.98(s,1H),5.01(d,4H),4.31-4.46(m,1H),4.18(s,3H),3.79-3.95(m,4H),3.67-3.76(m,2H),3.12-3.39(m,6H),2.73-3.07(m,8H),2.04-2.24(m,4H),1.87-2.02(m,1H),1.22-1.75(m,12H),0.96-1.20(m,7H),0.76-0.90(m,10H)。MS(ESI)m/e 1597.4(M+H)$^+$。

[2856] 2.52 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-磺基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子JK)的合成

[2857] 通过用实例1.52.4取代实例2.5.4中的实例2.5.3来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.97(s,1H),7.96-8.11(m,2H),7.67-7.82(m,3H),7.59(d,2H),7.42-7.52(m,2H),7.23-7.36(m,4H),6.91-7.08(m,4H),4.99(d,4H),4.33-4.47(m,1H),4.14-4.23(m,4H),3.86-3.95(m,6H),3.21-3.45(m,15H),2.75-3.07(m,9H),2.56-2.69(m,2H),1.93-2.20(m,8H),0.88-1.72(m,20H),0.74-0.89(m,11H)。MS(ESI)m/e 1496.3(M+Na)$^+$。

[2858] 2.53 N-[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子JJ)的合成

[2859] 将实例2.49.1(0.030g)、2,5-二氧吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(6.34mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.012mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液在室温搅拌。1小时后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺:水(1.5mL)的3:1混合物猝灭。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),9.99(s,1H),8.18(q,1H),8.12-8.00(m,2H),7.86-7.75(m,2H),7.65-7.55(m,3H),7.53(dd,1H),7.47(t,1H),7.43(d,1H),7.36(q,2H),7.33-7.23(m,3H),6.95(d,1H),6.05(s,1H),5.03-4.92(m,4H),4.39(q,1H),4.24-4.14(m,1H),4.02(s,2H),3.88(t,2H),3.81(d,2H),3.39-3.16(m,2H),3.14-2.86(m,10H),2.68-2.60(m,2H),2.25-2.04(m,6H),2.03-1.90(m,1H),1.78-1.65(m,1H),1.64-1.54(m,1H),1.54-0.90(m,20H),0.89-0.75(m,12H)。MS(ESI)m/e 1410.1$(M+H)^+$。

[2860] 2.54 N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子JL)的合成

[2861] 将实例2.49.1(0.039g)、2,5-二氧吡咯烷-1-基2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸酯(7.81mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.016mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液在室温搅拌。1小时后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺:水(1.5mL)的3:1混合物猝灭。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),10.00(d,1H),8.24(d,2H),8.04(d,1H),7.79(d,1H),7.59(q,3H),7.53(dd,1H),7.47(t,1H),7.43(d,1H),7.36(td,2H),7.30(s,1H),7.27(d,2H),7.07(s,2H),6.96(d,1H),5.04-4.85(m,4H),4.39(q,2H),4.26(dd,2H),4.13(s,2H),3.86-3.17(m,8H),3.07-2.81(m,4H),2.63(t,2H),2.09(s,3H),2.03-1.79(m,1H),1.75-1.51(m,2H),1.51-1.03(m,12H),1.01-0.76(m,16H)。MS(ESI)m/e 1394.4$(M-H)^-$。

[2862] 2.55 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(2S)-2-({[(4-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-3-[(3-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}丙酰基)氨基]苄基)氧基]羰基}氨基)-3-磺基丙酰基](甲基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(合成子FE)的合成

[2863] 2.55.1(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-甲酰基-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2864] 向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(4g)在乙腈(100mL)中的溶液中添加氧化银(I)(10.04g)和4-羟基-3-硝基苯甲醛(1.683g)。将反应混合物在室温搅拌4小时并过滤。将滤液浓缩,并将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的5%-50%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e$(M+18)^+$。

[2865] 2.55.2(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(羟甲基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四

氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2866] 向实例2.55.1(6g)在氯仿(75mL)和异丙醇(18.75mL)的混合物中的溶液中添加0.87g的硅胶。将所得混合物冷却至0℃,添加$NaBH_4$(0.470g),并将所得悬浮液在0℃搅拌45分钟。将反应混合物用二氯甲烷(100mL)稀释并通过硅藻土过滤。将滤液用水和盐水洗涤并浓缩,以得到粗产物,将该粗产物不经进一步纯化而使用。MS(ESI)m/e$(M+NH_4)^+$:

[2867] 2.55.3(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-氨基-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2868] 将实例2.55.2(7g)在乙酸乙酯(81mL)中的搅拌的溶液在20℃在1大气压H_2下氢化(使用10%Pd/C(1.535g)作为催化剂)12小时。将反应混合物通过硅藻土过滤,并且将溶剂在减压下蒸发。将残余物通过硅胶色谱法(用95/5二氯甲烷/甲醇洗脱)进行纯化以给出标题化合物。

[2869] 2.55.43-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酸

[2870] 将3-氨基丙酸(4.99g)溶于500mL烧瓶中的10%Na_2CO_3水溶液(120mL)中并用冰浴冷却。向所得溶液中逐渐添加(9H-芴-9-基)氯甲酸甲酯(14.5g)在1,4-二噁烷(100mL)中的溶液。将反应混合物在室温搅拌4小时,并且然后添加水(800mL)。将水相层与反应混合物分离并用二乙醚(3×750mL)洗涤。将水层用2N HCl水溶液酸化至pH值为2,并用乙酸乙酯(3×750mL)萃取。合并有机层并浓缩,以得到粗产物。将粗产物在乙酸乙酯:己烷1:2(300mL)的混合溶剂中重结晶,得到标题化合物。

[2871] 2.55.5(9H-芴-9-基)甲基(3-氯-3-氧丙基)氨基甲酸酯

[2872] 向实例2.55.4在二氯甲烷(160mL)中的溶液中添加二氯化硫(50mL)。将混合物在60℃搅拌1小时。将混合物冷却并浓缩,得到标题化合物。

[2873] 2.55.6(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2874] 向实例2.55.3(6g)在二氯甲烷(480mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(4.60mL)。添加实例2.55.5(5.34g),并将该混合物在室温搅拌30分钟。将混合物倒入饱和碳酸氢钠水溶液中并用乙酸乙酯萃取。将合并的萃取物用水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。过滤并浓缩,得到残余物,将残余物经径向色谱法(用在石油醚中的0-100%乙酸乙酯作为流动相)进行纯化,以得到标题化合物。

[2875] 2.55.7(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2876] 向实例2.55.6(5.1g)在N,N-二甲基甲酰胺(200mL)中的混合物中添加双(4-硝基苯基)碳酸酯(4.14g)和N,N-二异丙基乙胺(1.784mL)。将混合物在室温搅拌16小时,并且在减压下进行浓缩。将粗物质溶解在二氯甲烷中,并直接吸到1mm径向Chromatotron板上,并用在己烷中的50%-100%乙酸乙酯洗脱,以得到标题化合物。MS(ESI)m/e$(M+H)^+$。

[2877] 2.55.8 3-(1-((3-(2-((R)-2-((((3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)氨基)-N-甲基-3-磺基丙酰氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2878] 将实例1.13.7(0.055g)和实例2.55.7(0.055g)的溶液在N,N-二甲基甲酰胺(1.5mL)中一起搅拌,并且添加N,N-二异丙基乙胺(0.053mL)。在搅拌3小时后,将反应用乙酸乙酯(75mL)稀释,并用水(20mL)和盐水(25mL)洗涤,经硫酸镁干燥,过滤并浓缩。将残余物溶于甲醇(1mL)中,并用氢氧化锂水合物(0.025g)的水(0.6mL)溶液处理。搅拌2小时后,将反应用三氟乙酸(0.047ml)猝灭,并用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。将所希望的级分合并,并冷冻干燥,以提供呈三氟乙酸盐的标题化合物。

[2879] 2.55.9 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(2S)-2-({[(4-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-3-[(3-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}丙酰基)氨基]苄基)氧基]羰基}氨基)-3-磺基丙酰基](甲基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

[2880] 将实例2.55.8(0.013g)和2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(3.07mg)的溶液在N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中搅拌,并且添加N,N-二异丙基乙胺(7.90μL)。将反应搅拌1小时并用N,N-二甲基甲酰胺和水稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),9.07(s,1H),8.15(s,1H),8.04(d,1H),7.89(t,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.56-7.50(m,1H),7.47(t,1H),7.43(d,1H),7.39-7.32(m,2H),7.31(s,1H),7.28(d,1H),7.06(d,1H),7.04-6.92(m,4H),5.00-4.79(m,5H),4.73-4.64(m,1H),3.94-3.78(m,4H),3.57-2.84(m,12H),2.84-2.56(m,6H),2.14-1.73(m,5H),1.57-0.89(m,22H),0.84(s,6H)。MS(ESI)m/e 1516.2(M-H)$^-$。

[2881] 2.56 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子GG)的合成

[2882] 2.56.1 3-(1-((3-(2-(((((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2883] 将实例1.22.5(48mg)溶解在二甲基甲酰胺(0.5mL)中,并添加实例2.44.7(55mg)和N,N-二异丙基乙胺(90μL)。将该反应混合物在室温搅拌过夜。浓缩反应,并且将残余物溶于甲醇(1mL)中,并且添加1.94NLiOH水溶液(0.27mL)。将混合物在室温下搅拌一小时。将混合物通过反相色谱法(C18柱)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-90%乙腈水溶液洗脱)进行纯化,提供呈三氟乙酸盐的标题化合物。MS(ESI-)m/e 1291.4(M-H)$^-$。

[2884] 2.56.2 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-

基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[2885] 通过用实例1.56.1取代实例2.1中的实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.00(v br s,1H),9.03(s,1H),8.53(dd,1H),8.24(s,1H),8.16(dd,1H),7.90(br s,1H),7.61(d,1H),7.54(d,1H)7.52(d,1H),7.44(d,1H),7.37(t,1H),7.30(s,1H),7.11(brd,1H),7.03(d,1H),6.98(s,2H),6.97(d,1H),6.58(m,1H),6.15(m,1H),4.96(s,2H),4.88(brm,1H),4.64(br m,2H),3.88(m,3H),3.79(br m,2H),3.27-3.48(m,14H),3.01(m,2H),2.67(br m,2H),2.54(m,2H),2.09(s,3H),2.03(t,2H),1.45(m,6H),1.37(br m,2H),1.28-0.90(m,10H),0.77-0.82(m,6H)。MS(ESI)m/e 1484.4(M-H)$^-$。

[2886] 2.57 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子GM)的合成

[2887] 2.57.1 3-(1-((3-(2-(((((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2888] 通过用实例1.23.4取代实例2.56.1中的实例1.22.5制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1291.4(M-H)$^-$。

[2889] 2.57.2 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[2890] 通过用实例1.57.1取代实例2.1中的实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.03(s,1H),8.72(d,1H),8.66(d,1H),8.25(s,1H),7.89(br m,1H),7.65(d,1H),7.52(br m,2H),7.46(d,1H),7.39(t,1H),7.30(s,1H),7.11(br d,1H),7.03(d,1H),6.98(s,2H),6.97(d,1H),6.58(m,1H),6.15(m,1H),4.96(s,2H),4.88(br m,1H),4.64(br m,2H),3.88(m,3H),3.79(br m,2H),3.27-3.48(m,14H),3.01(m,2H),2.67(br m,2H),2.54(m,2H),2.09(s,3H),2.03(t,2H),1.45(m,6H),1.37(brm,2H),1.28-0.90(m,10H),0.77-0.82(m,6H)。MS(ESI)m/e 1484.4(M-H)$^-$。

[2891] 2.58 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子HD)的合成

[2892] 2.58.1 3-(1-((3-(2-(((((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,

6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2893] 通过用实例1.2.9取代实例2.56.1中的实例1.22.5制备标题化合物。MS(ESI-)m/e 1290.2(M-H)⁻。

[2894] 2.58.2 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[2895] 通过用实例1.58.1取代实例2.56.2中的实例1.56.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.03(s,1H),8.25(s,1H),8.03(d,1H),7.89(br m,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.53(br m,1H),7.46(m,2H),7.37(m,2H),7.32(s,1H),7.11(br d,1H),7.03(d,1H),6.98(s,2H),6.97(d,1H),6.58(m,1H),6.15(m,1H),4.96(s,2H),4.88(br m,1H),4.64(br m,2H),3.88(m,3H),3.79(br m,2H),3.27-3.48(m,14H),3.01(m,2H),2.67(br m,2H),2.54(m,2H),2.09(s,3H),2.03(t,2H),1.45(m,6H),1.37(br m,2H),1.28-0.90(m,10H),0.77-0.82(m,6H)。MS(ESI-)m/e 1483.3(M-H)⁻。

[2896] 2.59 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子HS)

[2897] 2.59.1 3-(1-((3-(2-(((((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(3-膦酰基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2898] 通过用实例1.40.2取代实例2.56.1中的实例1.22.5制备标题化合物。MS(ESI-)m/e 1305.4(M-H)⁻。

[2899] 2.59.2 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[2900] 通过用实例1.59.1取代实例2.56.2中的实例1.56.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.03(s,1H),8.53(dd,1H),8.24(s,1H),8.16(dd,1H),7.90(br s,1H),7.61(d,1H),7.54(d,1H)7.52(d,1H),7.44(d,1H),7.37(t,1H),7.28(s,1H),7.11(br d,1H),7.03(d,1H),6.98(s,2H),6.97(d,1H),6.56(m,1H),6.16(m,1H),4.96(s,2H),4.86(br m,1H),4.64(br d,2H),3.88(m,3H),3.79(br m,2H),3.27-3.44(m,14H),3.01(m,2H),2.54(m,2H),2.08(s,3H),2.03(t,2H),1.46(m,6H),1.37(br m,2H),1.28-

0.90(m,10H),0.77-0.82(m,6H)。MS(ESI)m/e 1498.4(M-H)⁻。

[2901] 2.60 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子HW)的合成

[2902] 2.60.1 3-(1-(((3-(2-(((((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2903] 通过用实例1.31.11取代实例2.56.1中的实例1.22.5制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1336.2(M+Na)⁺。

[2904] 2.60.2 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[2905] 通过用实例1.60.1取代实例2.56.2中的实例1.56.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.03(s,1H)8.25(s,1H),8.01(d,1H),7.83-7.91(m,1H),7.75(dd,2H),7.42-7.58(m,2H),7.34(t,1H),7.28(s,1H),6.93-7.15(m,6H),6.56(d,1H),6.09-6.24(m,1H),5.01(s,3H),4.80-4.92(m,2H),4.57-4.69(m,3H),4.12-4.21(m,6H),3.86-3.94(m,7H),3.28-3.47(m,12H),2.77-2.96(m,6H),2.52-2.58(m,2H),2.09(s,3H),1.90-2.05(m,4H),1.65-1.78(m,2H),0.90-1.53(m,16H),0.80(m,6H)。MS(ESI)m/e 1529.5(M+H)⁺。

[2906] 2.61 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子HX)的合成

[2907] 2.61.1 3-(1-((3-(2-(((((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(3-膦酰基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2908] 通过用实例1.14.4取代实例2.56.1中的实例1.22.5来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1304.3(M-H)⁻。

[2909] 2.61.2 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃

葡糖苷酸

[2910] 通过用实例1.61.1取代实例2.56.2中的实例1.56.1来制备标题化合物。^{1}H NMR (400MHz,二甲基亚砜-d_6) δppm 9.03(s,1H),8.25(br s,1H),8.03(d,1H),7.89(br m,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.53(br m,1H),7.46(m,2H),7.37(m,2H),7.28(s,1H),7.11(br d,1H),7.03(d,1H),6.98(s,2H),6.97(d,1H),6.56(m,1H),6.17(m,1H),4.96(s,2H),4.86(br m,1H),4.64(br d,2H),3.88(m,3H),3.79(br m,2H),3.27-3.44(m,14H),3.01(m,2H),2.54(m,2H),2.08(s,3H),2.03(t,2H),1.46(m,6H),1.37(br m,2H),1.28-0.90(m,10H),0.77-0.82(m,6H)。MS(ESI-)m/e 1497.4(M-H)$^-$。

[2911] 2.62 4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子HY)的合成

[2912] 2.62.1(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-甲酰基-3-羟基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2913] 将2,4-二羟基苯甲醛(15g)和(2S,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(10g)溶解于乙腈中,随后添加碳酸银(10g)并将反应加热至49℃。搅拌4小时后,将反应冷却,过滤并浓缩。将粗标题化合物悬浮在二氯甲烷中,并且通过硅藻土过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用1%-100%乙酸乙酯/庚烷洗脱)进行纯化以提供标题化合物。

[2914] 2.62.2(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-羟基-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2915] 将实例2.62.1(16.12g)在四氢呋喃(200mL)和甲醇(200mL)中的溶液冷却至0℃,并分批添加硼氢化钠(1.476g)。将反应搅拌20分钟,并用水:饱和碳酸氢钠水溶液的1:1混合物(400mL)猝灭。将所得固体滤出并用乙酸乙酯冲洗。分离各相,并将水层用乙酸乙酯萃取四次。将合并的有机层经硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。将粗标题化合物经由硅胶色谱法(用1%-100%乙酸乙酯/庚烷洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 473.9$(M+NH_4)^+$。

[2916] 2.62.3(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-羟基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2917] 在-5℃,向在二氯甲烷(168mL)中的实例2.62.2(7.66g)和叔丁基二甲基甲硅烷基氯化物(2.78g)中添加咪唑(2.63g),并将反应搅拌过夜,使该反应的内部温度温至12℃。将反应混合物倒入饱和氯化铵水溶液中并用二氯甲烷萃取四次。将合并的有机物用盐水洗涤,经硫酸镁干燥,过滤并浓缩。将粗标题化合物经由硅胶色谱法(用1%-50%乙酸乙酯/庚烷洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 593.0$(M+Na)^+$。

[2918] 2.62.4(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2919] 向在甲苯(88mL)中的实例2.62.3(5.03g)和三苯基膦(4.62g)中添加二-叔丁基-偶氮二甲酸酯(4.06g),并将反应搅拌30分钟。添加(9H-芴-9-基)甲基(2-(2-羟乙氧基)乙

基)氨基甲酸酯,并将反应搅拌另外的1.5小时。将反应直接加载到硅胶上,并用1%-50%乙酸乙酯/庚烷洗脱,以提供标题化合物。

[2920] 2.62.5(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2921] 将实例2.62.4(4.29g)在乙酸:水:四氢呋喃的3:1:1溶液(100mL)中搅拌过夜。将反应倒入饱和碳酸氢钠水溶液中并用乙酸乙酯萃取。将有机层经硫酸镁干燥,过滤并浓缩。将粗标题化合物经由硅胶色谱法(用1%-50%乙酸乙酯/庚烷洗脱)进行纯化以提供标题化合物。

[2922] 2.62.6(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[2923] 向实例2.62.5(0.595g)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(0.492g)在N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中的溶液中添加N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(0.212mL)。在1.5小时后,将反应在高真空下浓缩。将反应直接加载到硅胶上,并用1%-50%乙酸乙酯/庚烷洗脱,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 922.9$(M+Na)^+$。

[2924] 2.62.7 3-(1-((3-(2-((((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2925] 向实例1.2.9(0.073g)和实例2.62.6(0.077g)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.066mL),并将反应搅拌过夜。将反应浓缩,并且将残余物溶于四氢呋喃(0.5mL)和甲醇(0.5mL)中,并用氢氧化锂一水合物(0.047g)的水(0.5mL)溶液处理。在1小时后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺和水稀释,并通过添加三氟乙酸(0.116mL)猝灭反应。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。

[2926] 2.62.8 4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[2927] 将实例2.62.7(0.053g)、2,5-二氧吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(0.012g)和N,N-二异丙基乙胺(0.033mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.75mL)中的溶液在室温搅拌。搅拌1小时后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺和水稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^1H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),8.04(d,2H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.54(d,1H),7.51-7.40(m,2H),7.40-7.31(m,3H),7.20(d,1H),7.00-6.94(m,3H),6.73-6.57(m,2H),5.06(t,1H),5.01-4.91(m,4H),3.96-3.85(m,2H),3.85-3.78(m,2H),3.78-3.69(m,2H),3.59(t,2H),3.53-3.34(m,6H),3.34-3.21(m,4H),3.17(q,2H),3.02(t,2H),2.66(t,2H),2.33(t,2H),2.10(s,3H),1.44-0.90(m,16H),0.83(d,6H)。MS(-ESI)m/e 1432.4$(M-H)^-$。

[2928] 2.63 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子IB)的合成

[2929] 2.63.1 3-(1-((3-(2-(((((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(3-膦酰基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2930] 通过用实例1.39.2取代实例2.56.1中的实例1.22.5来制备标题化合物。

[2931] 2.63.2 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[2932] 通过用实例2.63.1取代实例2.56.2中的实例1.56.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.03(s,1H),8.61(d,1H),8.55(d,1H),8.25(br s,1H),7.89(brm,1H),7.65(d,1H),7.50(br d,1H),7.46(d,1H),7.39(m,2H),7.28(s,1H),7.11(br d,1H),7.03(d,1H),6.98(s,2H),6.97(d,1H),6.56(m,1H),6.17(m,1H),4.97(s,2H),4.86(br m,1H),4.64(br d,2H),3.88(m,3H),3.79(br m,2H),3.27-3.44(m,14H),3.01(m,2H),2.54(m,2H),2.08(s,3H),2.03(t,2H),1.46(m,6H),1.37(br m,2H),1.28-0.90(m,10H),0.77-0.82(m,6H)。MS(ESI)m/e1498.3(M-H)$^-$。

[2933] 2.64 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)({[(2E)-3-(4-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-3-[(3-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}丙酰基)氨基]苯基)丙-2-烯-1-基]氧基}羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子IE)的合成

[2934] 2.64.1 3-(1-((3-(2-(((((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸,三氟乙酸盐

[2935] 向实例1.25.2(0.050g)和实例2.44.7(0.061g)在N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.047mL),并将反应在室温搅拌过夜。将反应浓缩,并且将残余物溶于甲醇(0.5mL)和四氢呋喃(0.5mL)中,并用氢氧化锂水合物(0.034g)的水(0.5mL)溶液处理。将反应在室温搅拌1小时。将反应用三氟乙酸(0.083mL)猝灭,并用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,得到标题化合物。

[2936] 2.64.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)({[(2E)-3-(4-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-

2H-吡喃-2-基]氧基}-3-[(3-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}丙酰基)氨基]苯基)丙-2-烯-1-基]氧基}羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2937] 向实例2.64.1(0.042g)和2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(10mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.027mL),并将该反应在室温搅拌2小时。将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)和水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm12.85(s,1H),9.04(s,1H),8.25(s,1H),8.03(d,1H),7.87(t,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.54-7.40(m,3H),7.40-7.31(m,2H),7.28(s,1H),7.10(d,1H),7.04(d,1H),6.98(s,2H),6.95(d,1H),6.57(d,1H),6.24-6.11(m,1H),4.96(s,2H),4.86(t,1H),4.65(d,2H),3.95-3.84(m,2H),3.84-3.75(m,4H),3.44-3.24(m,10H),3.01(t,2H),2.62-2.52(m,4H),2.09(s,3H),2.03(t,2H),1.46(h,4H),1.40-1.31(m,2H),1.30-0.88(m,14H),0.87-0.75(m,6H)。MS(ESI)m/e 1447.5(M-H)$^-$。

[2938] 2.65 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基){[(4-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-2-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苄基)氧基]羰基}氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子II)的合成

[2939] 2.65.1 3-(1-((3-(2-((((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2940] 将实例1.25.2(0.055g)、实例2.62.6(0.060g)和N,N-二异丙基乙胺(0.052mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的溶液搅拌过夜。将反应浓缩,并且将残余物溶于四氢呋喃(0.5mL)、甲醇(0.5mL)中,然后用氢氧化锂水合物(0.037g)的水(0.5mL)溶液处理。搅拌1小时后,将反应用三氟乙酸(0.091mL)猝灭,并用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。将所希望的级分合并,并冷冻干燥,以提供呈三氟乙酸盐的标题化合物。

[2941] 2.65.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基){[(4-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-2-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苄基)氧基]羰基}氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[2942] 将实例2.65.1(0.043)的三氟乙酸盐、2,5-二氧吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(10mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.028mL)在N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的溶液在室温一起搅拌。搅拌1小时后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)和水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的5%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR

(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),8.03(d,1H),8.00(t,1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.54-7.41(m,3H),7.36(td,2H),7.29(s,1H),7.19(d,1H),6.97(s,2H),6.95(d,1H),6.67(d,1H),6.60(dd,1H),5.14-5.03(m,1H),4.96(d,4H),4.08(tt,4H),3.89(q,4H),3.84-3.77(m,2H),3.71(t,2H),3.59(t,2H),3.52-3.35(m,6H),3.28(dq,4H),3.17(q,2H),3.01(t,2H),2.46(d,1H),2.33(t,2H),2.09(s,3H),1.45-0.90(m,12H),0.82(d,6H)。MS(ESI)m/e1396.4(M-H)⁻。

[2943] 2.66 N-[6-(乙烯基磺酰基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子KY)的合成

[2944] 2.66.1 3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2945] 向实例1.2.9(57mg)和(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯(54mg)在N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中的混合物中添加N,N-二异丙基乙胺(103μL)。将混合物搅拌过夜,并添加二乙胺(61.5μL)。将所得混合物搅拌4小时,并通过反相HPLC使用吉尔森系统和C18柱(用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-70%乙腈水溶液洗脱)进行纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1257.4(M-H)。

[2946] 2.66.2 N-[6-(乙烯基磺酰基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[2947] 使用实例2.83中的程序,分别用实例2.66.1和实例2.82.5替换实例1.2.9和2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2-氯乙酰胺基)己酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.88(s,0H),9.99(s,1H),8.05(t,2H),7.80(t,2H),7.60(q,3H),7.36(td,2H),7.28(d,3H),7.01-6.89(m,2H),6.29-6.15(m,2H),6.02(s,1H),4.97(d,4H),4.40(td,1H),4.20(t,1H),4.00-3.77(m,4H),3.55-3.33(m,4H),3.25(d,2H),3.14-2.88(m,6H),2.62(t,2H),2.09(s,4H),1.82-0.90(m,10H),0.84(dd,13H)。MS(ESI)m/e 1447.2(M+H)。

[2948] 2.67 4-[(1E)-3-{[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子IW)的合成

[2949] 2.67.1 3-(1-((3-(2-((1-((((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)哌啶-4-基)(3-膦酰基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2950] 向实例1.26.2(0.045g)和实例2.44.7(0.053g)在N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.041mL),并将该反应在室温搅拌过夜。将反应浓缩,并将残余物溶于甲醇(0.5mL)和四氢呋喃(0.5mL)中,并在室温用氢氧化锂一水合物(0.030g)的水(0.5mL)溶液处理。搅拌1小时后,将反应用三氟乙酸(0.073mL)猝灭,并用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-60%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。

[2951] 2.67.2 4-[(1E)-3-{[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[2952] 向实例2.67.1(0.040g)和2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(9.84mg)在N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.023mL),并将该反应在室温搅拌2小时。将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)和水(1mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-60%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm9.28(s,1H),9.04(s,1H),8.25(s,1H),8.03(d,1H),7.87(t,1H),7.79(d,1H),7.62(dd,1H),7.55-7.40(m,3H),7.36(td,2H),7.29(s,1H),7.11(dd,1H),7.05(d,1H),6.98(s,2H),6.95(d,1H),6.59(d,1H),6.20(t,1H),6.16(t,0H),4.96(s,2H),4.88(d,1H),4.66(d,2H),4.14(d,2H),3.96-3.86(m,2H),3.83(s,2H),3.54(t,7H),3.48-3.28(m,12H),3.01(t,2H),2.84(s,2H),2.55(t,2H),2.10(s,3H),2.07-1.95(m,4H),1.88(s,2H),1.73-1.54(m,4H),1.54-1.38(m,6H),1.39-1.26(m,4H),1.26-0.93(m,8H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 1582.4$(M+H)^+$。

[2953] 2.68 4-[(1E)-3-{[(4-{[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子IY)的合成

[2954] 2.68.1 3-(1-((3-(2-((1-((((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)哌啶-4-基)(3-膦酰基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[2955] 通过用实例1.50.2取代实例2.56.1中的实例1.44.7来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1388.5$(M-H)^-$。

[2956] 2.68.2 4-[(1E)-3-{[(4-{[2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰基丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[2957] 通过用实例1.68.1取代实例2.56.2中的实例1.56.1来制备标题化合物。^{1}H NMR (400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.03(s,1H),8.61(d,1H),8.50(d,1H),8.25(br s,1H),7.89(t,1H),7.65(d,1H),7.49(d,1H),7.46(d,1H),7.36(m,2H),7.29(s,1H),7.11(br d,1H),7.03(d,1H),6.98(s,2H),6.97(d,1H),6.58(m,1H),6.17(m,1H),4.97(s,2H),4.88(d,1H),4.65(br d,2H),3.88(m,3H),3.79(br m,2H),3.66(br m,2H),3.27-3.44,(m,14H),3.01(m,2H),2.85(br m,2H),2.54(m,2H),2.10(s,3H),2.03(t,2H),1.98(br m,2H),1.89(m,1H),1.62(m,4H),1.46(m,6H),1.31(m,4H),1.15(m,6H),1.04(m,2H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e1581.4(M-H)$^-$。

[2958] 2.69 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子JA)的合成

[2959] 2.69.1 3-(1-((3-(2-(((((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸

[2960] 通过用实例1.43.7取代实例2.56.1中的实例2.44.7来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1309.1(M+Na)$^+$。

[2961] 2.69.2 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[2962] 通过用实例2.69.1取代实例2.56.2中的实例2.56.1来制备标题化合物。^{1}H NMR (400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.09(s,1H),9.02(s,2H),8.35(d,1H),8.13-8.29(m,4H),7.86-8.09(m,5H),7.81(d,1H),7.66-7.75(m,1H),7.44-7.55(m,1H),7.37(t,1H),7.09-7.18(m,1H),7.03(d,1H),6.98(s,1H),6.48-6.62(m,1H),6.07-6.22(m,1H),4.81-4.92(m,1H),4.58-4.74(m,2H),3.80-3.93(m,3H),3.27-3.37(m,5H),2.53-2.68(m,4H),2.15-2.23(m,3H),2.03(t,2H),1.36-1.53(m,6H),0.97-1.33(m,24H),0.81(d,6H)。MS(ESI)m/e 1478.3(M-H)$^-$。

[2963] 2.70此段落有意留空。

[2964] 2.71此段落有意留空。

[2965] 2.72此段落有意留空。

[2966] 2.73此段落有意留空。

[2967] 2.74此段落有意留空。

[2968] 2.75此段落有意留空。

[2969] 2.76此段落有意留空。

[2970] 2.77 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-3-磺基-L-丙氨酰}氨

基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(合成子FA)的合成

[2971] 向实例1.15(0.023g)和2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(9.12mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.012mL),并将该反应搅拌过夜。将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)和水(0.5mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),8.04(d,1H),7.90(d,1H),7.79(d,1H),7.65-7.57(m,2H),7.54(d,1H),7.51-7.41(m,2H),7.40-7.31(m,3H),7.01-6.96(m,3H),4.96(s,2H),4.34-4.28(m,3H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.37(t,2H),3.29(t,2H),3.16-2.95(m,4H),2.80(dd,1H),2.70(dd,1H),2.11(s,3H),2.06(t,2H),1.47(tt,4H),1.40-0.92(m,12H),0.84(s,6H)。MS(ESI)m/e 1090.3(M+H)$^+$。

[2972] 2.78 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-(2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基](2-磺乙基)氨基}乙氧基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(合成子FJ)的合成

[2973] 如在实例2.1中描述的,分别用实例1.11.4和全氟苯基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯替换实例1.2.9和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),8.04(d,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.52(dd,1H),7.42-7.49(m,2H),7.33-7.39(m,2H),7.30(s,1H),6.98(s,2H),6.96(d,1H),4.95(s,2H),3.89(t,2H),3.82(s,2H),3.46-3.56(m,4H),3.31-3.46(m,10H),3.01(t,2H),2.61-2.68(m,1H),2.55-2.60(m,1H),2.21-2.32(m,2H),2.10(s,3H),1.40-1.51(m,4H),1.37(d,2H),0.91-1.30(m,12H),0.83(s,6H)。MS(ESI)m/e 1091.2(M+H)$^+$。

[2974] 2.79 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基](2-磺乙基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(合成子FK)的合成

[2975] 如在实例2.1中描述的,用全氟苯基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯替换4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm12.85(s,1H),8.04(d,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.52(dd,1H),7.41-7.49(m,2H),7.32-7.39(m,2H),7.28(s,1H),6.93-6.98(m,3H),4.95(s,2H),3.89(t,2H),3.81(s,2H),3.32-3.38(m,2H),3.21-3.27(m,2H),3.01(t,2H),2.61-2.67(m,2H),2.53-2.58(m,2H),2.33-2.39(m,1H),2.20-2.29(m,2H),2.09(s,3H),1.40-1.51(m,4H),1.34(s,2H),0.93-1.27(m,13H),0.83(s,6H)。MS(ESI)m/e 1047.2(M+H)$^+$。

[2976] 2.80 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-22-(2-磺乙基)-3,6,9,12,

15,18-六氧杂-22-氮杂二十四烷-24-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子FQ)的合成

[2977] 如在实例2.1中描述的,用全氟苯基1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3,9,12,15,18-五氧杂二十一烷-21-酯替换4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),8.04(d,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.42-7.54(m,3H),7.33-7.38(m,2H),7.28(s,1H),6.95(dd,1H),4.95(s,2H),3.89(t,2H),3.81(s,2H),3.07-3.53(m,24H),3.01(t,2H),2.61-2.69(m,1H),2.54-2.60(m,1H),2.09(s,3H),1.96(d,2H),0.92-1.39(m,13H),0.84(s,6H)。MS(ESI)m/e1269.4(M+H)$^+$。

[2978] 2.81 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-22-(2-磺乙基)-3,6,9,12,15,18,25-七氧杂-22-氮杂二十七烷-27-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子FR)的合成

[2979] 如在实例2.1中描述的,分别用实例1.11.4和全氟苯基1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-酯替换实例1.2.9和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,1H),8.04(d,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.52(d,1H),7.41-7.50(m,2H),7.33-7.39(m,2H),7.31(s,1H),7.01(d,2H),6.97(d,1H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.31-3.60(m,30H),3.01(t,2H),2.64-2.71(m,1H),2.53-2.61(m,3H),2.10(s,3H),1.38(s,2H),1.20-1.31(m,4H),1.12-1.18(m,2H),0.91-1.12(m,4H),0.84(s,6H)。

[2980] 2.82 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[6-(乙烯基磺酰基)己酰基](2-磺乙基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(合成子JE)的合成

[2981] 2.82.1乙基6-((2-羟乙基)硫)己酸酯

[2982] 将乙基6-溴代己酸酯(3g)、2-巯基乙醇(0.947mL)和K_2CO_3(12g)在乙醇(100mL)中的混合物搅拌过夜并过滤。将滤液浓缩。将残余物溶解于二氯甲烷(100mL)中并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以提供标题化合物。

[2983] 2.82.2 6-((2-羟乙基)硫)己酸

[2984] 将实例2.82.1(12g)和3MNaOH水溶液(30mL)在乙醇(30mL)中的混合物搅拌过夜。将有机物在减压下去除。将残留的水相用乙酸乙酯洗涤,用HCl酸化至pH 5并用二氯甲烷萃取。将萃取物合并,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以提供标题化合物。

[2985] 2.82.3 6-((2-羟乙基)磺酰基)己酸

[2986] 向实例2.82.2(4g)在水(40mL)和1,4-二噁烷(160mL)的混合物中的搅拌溶液中添加Oxone®(38.4g),并将混合物搅拌过夜。将混合物过滤并将滤液进行浓缩。将残留的水层用二氯甲烷萃取。将萃取物合并,并经硫酸钠干燥,过滤,并浓缩以提供标题化合物。

[2987] 2.82.4 6-(乙烯基磺酰基)己酸

[2988] 在氩气下,向实例2.82.3(1g)在二氯甲烷(10mL)中的冷(0℃)溶液中添加三乙胺

(2.8mL),随后添加甲磺酰氯(1.1mL)。将混合物搅拌过夜,并用水和盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以提供标题化合物。

[2989] 2.82.5 2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(乙烯基磺酰基)己酸酯

[2990] 向搅拌的实例2.82.4(0.88g)在二氯甲烷(10ml)中的溶液中添加1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(0.54g)和N,N'-甲烷二亚基二环己胺(0.92g)。将混合物搅拌过夜并过滤。将滤液浓缩并且通过快速色谱法(用在石油中10%-25%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 304.1(M+1)。

[2991] 2.82.6 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[6-(乙烯基磺酰基)己酰基](2-磺乙基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

[2992] 如在实例2.83中描述的,用实例2.82.5替换2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2-氯乙酰氨基)己酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(s,1H),8.04(d,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.53(dd,1H),7.42-7.49(m,2H),7.33-7.40(m,2H),7.28(s,1H),6.88-7.00(m,2H),6.17-6.25(m,2H),4.95(s,2H),3.89(t,2H),3.81(s,2H),3.38(dd,2H),3.25(t,2H),3.04-3.12(m,2H),3.01(t,2H),2.62-2.69(m,1H),2.56(dd,1H),2.27(q,2H),2.09(s,3H),1.53-1.62(m,2H),1.43-1.51(m,2H),1.28-1.38(m,4H),1.20-1.27(m,4H),0.92-1.19(m,6H),0.84(s,6H)。MS(ESI)m/e 1042.2(M+H)$^{+}$。

[2993] 2.83 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[{6-[(氯乙酰基)氨基]己酰基}(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子JM)的合成

[2994] 向实例1.2.9(12.5mg)和2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2-氯乙酰氨基)己酸酯(6.7mg)在N,N-二甲基甲酰胺(1.5mL)中的混合物中添加N,N-二异丙基乙胺(26μL)。将混合物搅拌10天,并通过反相HPLC使用吉尔森系统和C18柱(用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)进行纯化,以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.83(s,1H),8.15-8.21(m,1H),8.04(d,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.52(dd,1H),7.41-7.49(m,2H),7.32-7.39(m,2H),7.28(s,1H),6.96(dd,1H),4.95(s,2H),4.01(d,2H),3.89(t,2H),3.81(s,2H),3.39(d,2H),3.25(t,2H),2.98-3.10(m,5H),2.62-2.70(m,1H),2.56-2.61(m,1H),2.23-2.30(m,2H),2.09(s,3H),1.33-1.52(m,5H),1.19-1.30(m,6H),0.91-1.18(m,6H),0.84(s,6H)。MS(ESI)m/e 1043.2(M+H)$^{+}$。

[2995] 2.84 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-羧基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子LE)的合成

[2996] 将实例1.56(0.020g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.022g)和N,N-二异丙基乙胺(0.018mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的混合物在室温一起搅拌。搅拌5小时后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺和水(2mL)的1:1混合物稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。

合并所需的级分并冷冻干燥，以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6) δppm 12.82(s,1H),9.97(s,1H),8.10-7.98(m,2H),7.84-7.72(m,2H),7.67-7.54(m,3H),7.54-7.41(m,3H),7.40-7.32(m,2H),7.30-7.23(m,3H),6.99(s,2H),6.94(d,1H),5.99(s,1H),4.98(s,2H),4.95(s,2H),4.45-4.35(m,2H),4.19(dd,2H),3.88(t,2H),3.82-3.76(m,2H),3.47-3.31(m,4H),3.28-3.19(m,4H),3.07-2.89(m,4H),2.21-2.11(m,4H),2.09(s,2H),2.02-1.89(m,1H),1.77-1.63(m,2H),1.62-1.27(m,10H),1.27-0.90(m,13H),0.88-0.78(m,12H);MS(ESI)m/e 1430.3(M+1)$^+$。

[2997] 2.85 N-{6-[(溴乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子LH)的合成

[2998] 2.85.1 1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基6-(2-溴乙酰胺基)己酸酯

[2999] 向6-(2-溴乙酰胺基)己酸(105mg)和(苯并三唑-1-基氧基)三吡咯烷基膦六氟磷酸盐(PyBOP,325mg)在N,N-二甲基甲酰胺(3mL)中的溶液中添加三乙胺(87μL)。将混合物搅拌1小时，并通过吉尔森HPLC系统(C18柱)(用在0.1%TFA水中的20%-60%乙腈洗脱)进行纯化，以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 368.7(M+H)。

[3000] 2.85.2 N-{6-[(溴乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[3001] 向实例2.66.1(6.6mg)和实例2.85.2(3.6mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.3mL)中的混合物中添加N,N-二异丙基乙胺(2.52μL)。将混合物搅拌5分钟，用二甲基亚砜稀释，并通过反相HPLC(使用吉尔森系统和C18柱上，用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6) δ9.99(s,1H),8.24(s,1H),8.08(d,1H),8.04(d,1H),7.80(dd,2H),7.60(q,3H),7.56-7.50(m,1H),7.50-7.41(m,2H),7.36(q,2H),7.32-7.25(m,3H),6.96(d,1H),4.98(d,4H),4.39(q,1H),4.20(dd,1H),3.92-3.68(m,6H),3.42(dd,1H),3.25(t,2H),3.09-2.87(m,6H),2.64(s,2H),2.25-1.87(m,5H),1.79-0.89(m,17H),0.88-0.67(m,12H)。MS(ESI)m/e 1492.5(M-H)。

[3002] 2.86 4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-羧基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子LJ)的合成

[3003] 2.86.1 3-(1-((3-(2-((((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(3-羧基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3004] 向实例1.56(0.024g)和实例2.62.6(0.030g)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.025mL)，并将反应搅拌过夜。将反应浓缩，并且将残余物溶

于四氢呋喃(0.5mL)和甲醇(0.5mL)中,并用氢氧化锂水合物(0.018g)的水(0.5mL)溶液处理。在搅拌1小时后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)稀释,并通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1262.7$(M+H)^+$。

[3005] 2.86.2 4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](3-羧基丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[3006] 向实例2.86.1(0.0173g)和2,5-二氧吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(4.38mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.8mL)中的溶液中添加2,5-二氧吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(4.38mg),并将该反应搅拌2小时。将反应用N,N-二甲基甲酰胺:水(1mL)的1:1混合物稀释,并且将混合物使用吉尔森系统通过反相HPLC纯化,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-80%乙腈水溶液洗脱。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.77(s,1H),8.03(d,1H),7.99(t,1H),7.77(d,1H),7.62(d,1H),7.55-7.41(m,3H),7.40-7.32(m,2H),8.28(s,1H),7.23-7.17(m,1H),6.97(s,2H),6.94(d,1H),6.66(s,1H),6.60(dd,1H),5.07(m,1H),5.00-4.91(m,4H),4.17-4.02(m,2H),3.96-3.85(m,2H),3.85-3.76(m,2H),3.71(t,2H),3.64-3.56(m,4H),3.34-3.12(m,10H),3.01(,2H),2.33(t,2H),2.24-2.12(m,2H),2.09(s,3H),1.70(p,2H),1.45-0.88(m,12H),0.88-0.77(m,6H);MS(ESI)m/e1434.2$(M+Na)^+$。

[3007] 2.87 4-({[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](3-羧基丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}甲基)-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子MA)的合成

[3008] 2.87.1 3-(1-((3-(2-((1-(((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)哌啶-4-基)(3-羧基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3009] 将实例1.42(0.050g)和实例2.62.6(0.050g)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液用N,N-二异丙基乙胺(0.042mL)处理,并将该反应在室温搅拌2小时。将反应浓缩,并且将残余物溶于甲醇(0.5mL)和四氢呋喃(0.5mL)中,并用氢氧化锂水合物(0.031g)的水(0.5mL)溶液处理。将反应搅拌1.5小时并用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1345.7$(M+H)^+$。

[3010] 2.87.2 4-({[(4-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](3-羧基丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}甲基)-3-[2-

(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[3011] 将实例2.87.1(0.047g)和2,5-二氧吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(0.011g)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液用N,N-二异丙基乙胺(0.031mL)处理,并将该反应在室温搅拌2小时。用N,N-二甲基甲酰胺:水(2mL)的1:1混合物稀释反应。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm12.87(s,1H),8.96(s,1H),8.15-8.07(m,2H),7.88(d,J=8.1Hz,1H),7.71(d,J=7.5Hz,1H),7.62-7.50(m,3H),7.50-7.45(m,1H),7.45-7.42(m,1H),7.37(s,1H),7.33-7.27(m,1H),7.07(s,2H),7.07-7.02(m,1H),6.80-6.74(m,1H),6.72-6.66(m,1H),5.23-5.14(m,1H),5.13-5.00(m,4H),4.27-4.12(m,4H),4.06-3.95(m,4H),3.92(s,2H),3.83-3.78(m,2H),3.57-3.32(m,10H),3.32-3.14(m,4H),3.14-3.06(m,2H),2.90(s,2H),2.49-2.37(m,4H),2.19(s,3H),2.12-2.01(m,2H),2.02-1.88(m,2H),1.74-1.57(m,2H),1.52(s,2H),1.45-1.30(m,4H),1.30-1.05(m,6H),0.95(s,6H);MS(ESI)m/e 1495.4(M+H)$^{+}$。

[3012] 2.88 4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-磺丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子MD)的合成

[3013] 2.88.1 3-(1-((3-(2-((((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(3-磺丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3014] 将实例1.6(0.039g)和实例2.62.6(0.041g)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液用N,N-二异丙基乙胺(0.035mL)处理,并将该反应在室温搅拌2小时。将反应浓缩,并且将残余物溶于甲醇(0.5mL)和四氢呋喃(0.5mL)中,并用氢氧化锂水合物(0.025g)的水(0.5mL)溶液处理。将反应搅拌1.5小时并用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)稀释。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1297.8(M+H)$^{+}$。

[3015] 2.88.2 4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-磺丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[3016] 向实例2.88.1(0.024g)和2,5-二氧吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(6.40mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.016mL),并将该反应在室温搅拌1小时。用N,N-二甲基甲酰胺:水(2mL)的1:1混合物稀释反应。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR

(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm12.87(s,1H),8.09-8.02(m,2H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.52(dd,1H),7.50-7.42(m,2H),7.40-7.33(m,2H),7.31(s,1H),7.20(t,1H),6.98(s,3H),6.66(s,1H),6.60(dd,1H),5.06(t,1H),4.96(s,4H),4.10(dq,4H),3.81(d,4H),3.71(t,2H),3.59(t,2H),3.51-3.35(m,4H),3.26(td,6H),3.17(q,2H),3.01(t,2H),2.35(dt,4H),2.10(d,3H),1.75(d,2H),1.44-0.88(m,12H),0.82(d,6H);MS(ESI)m/e 1446.4$(M-H)^-$。

[3017] 2.89 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基}氮杂环丁-1-基)羰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子MG)的合成

[3018] 将实例1.60(0.026g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.024g)和N,N-二异丙基乙胺(0.022mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.8mL)中的溶液在室温一起搅拌3小时。用N,N-二甲基甲酰胺:水(2mL)的1:1混合物稀释反应。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),9.99(s,1H),8.06(d,1H),8.03(d,1H),7.79(dd,2H),7.60(dd,3H),7.55-7.41(m,3H),7.36(td,2H),7.29(t,3H),6.99(s,2H),6.95(d,1H),5.99(s,1H),5.04-4.92(m,4H),4.37(q,1H),4.34-4.24(m,1H),4.24-4.10(m,4H),3.88(t,2H),3.82(s,2H),3.40-3.29(m,4H),3.01(t,2H),2.99-2.91(m,1H),2.87(t,2H),2.25-2.06(m,5H),1.95(dt,1H),1.68(s,1H),1.60(s,1H),1.54-1.24(m,12H),1.24-0.94(m,9H),0.90-0.78(m,12H);MS(ESI)m/e 1507.4$(M+H)^+$。

[3019] 2.90 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{[26-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-8,24-二氧代-3-(2-磺乙基)-11,14,17,20-四氧杂-3,7,23-三氮杂二十六-1-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子MS)的合成

[3020] 在0℃,向实例1.61.2(15mg)和2,5-二氧吡咯烷-1-基1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-氧代-7,10,13,16-四氧杂-4-氮杂十九烷-19-酸酯(16.91mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.8mL)中的混合物中添加N,N-二异丙基乙胺(28.8μL)。将混合物搅拌3小时,并通过反相HPLC,使用吉尔森系统和C18柱(用含有0.1%三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)进行纯化,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.87(s,1H),8.98(s,1H),8.08-7.92(m,3H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.57-7.41(m,3H),7.36(td,2H),7.29(s,1H),7.04-6.92(m,3H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.48(d,4H),3.44-3.17(m,3H),3.18-2.83(m,10H),2.38-2.24(m,4H),2.11(s,3H),1.78(m,2H),1.50-0.94(m,12H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 1309.3$(M-H)^-$。

[3021] 2.91 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基}丙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-

鸟氨酰胺(合成子MR)的合成

[3022] 在0℃,向实例1.61.2(12.8mg)和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(10.4mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的混合物中添加N,N-二异丙基乙胺(24.54μL)。将混合物搅拌3小时,并通过反相HPLC使用吉尔森系统和C18柱(用含有0.1%三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)进行纯化,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),9.97(s,1H),8.97(s,1H),8.04(t,2H),7.79(dd,2H),7.65-7.40(m,7H),7.36(td,3H),7.28(d,3H),6.99(s,2H),6.95(d,1H),5.98(s,1H),4.95(d,4H),4.49-4.30(m,1H),4.24-4.11(m,1H),3.88(t,2H),3.82(s,2H),3.36(t,3H),3.18-2.84(m,9H),2.25-1.88(m,5H),1.85-0.90(m,14H),0.91-0.75(m,13H)。MS(ESI)m/e(M+H)。

[3023] 2.92 N-{6-[(碘乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子MQ)的合成

[3024] 向实例1.2.9(8.2mg)和2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2-碘乙酰胺基)己酸酯(4.7mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.3mL)在冰浴中的混合物中添加N,N-二异丙基乙胺(3μL)。将混合物在0℃搅拌1.5小时。将反应用二甲基亚砜稀释,并且将混合物通过反相HPLC使用吉尔森系统和C18柱(用含有0.1%三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)进行纯化,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.87(s,1H),10.00(s,1H),8.21(d,1H),8.06(dd,2H),7.81(dd,2H),7.60(t,3H),7.48(ddd,3H),7.36(td,2H),7.28(d,3H),6.95(d,1H),4.97(d,4H),4.39(q,1H),4.19(t,1H),3.88(t,2H),3.80(d,2H),3.25(d,2H),2.97(dq,6H),2.63(s,2H),2.25-1.88(m,5H),1.78-0.70(m,29H)。MS(ESI)m/e 1538.4(M-H)。

[3025] 2.93 N-{6-[(乙烯基磺酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子MZ)的合成

[3026] 2.93.1甲基6-(乙烯基磺酰氨基)己酸酯

[3027] 在0℃,向6-甲氧基-6-氧代己烷-1-氯化铵(0.3g)和三乙胺(1.15mL)在二氯甲烷中的溶液中滴加乙磺酰氯(0.209g)。将反应混合物升温至室温并搅拌1小时。将混合物用二氯甲烷稀释并用盐水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 471.0(2M+H)$^+$。

[3028] 2.93.2 6-(乙烯基磺酰氨基)己酸

[3029] 将实例2.93.1(80mg)和氢氧化锂一水合物(81mg)在四氢呋喃(1mL)和水(1mL)的混合物中的溶液搅拌2小时,然后用水(20mL)稀释,并且用二乙醚(10mL)洗涤。将水层用1N HCl水溶液酸化至pH4,并用二氯甲烷(3×10mL)萃取。将有机层用盐水(5mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,以提供标题化合物。

[3030] 2.93.3 2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(乙烯基磺酰氨基)己酸酯

[3031] 将实例2.93.2(25mg)、1-乙基-3-[3-(二甲基氨基)丙基]-碳化二亚胺盐酸盐(43.3mg)和1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(15.6mg)在二氯甲烷(8mL)中的混合物搅拌过夜,用饱

和氯化铵水溶液和盐水洗涤，并且浓缩，以得到标题化合物。

[3032] 2.93.4 N-{6-[(乙烯基磺酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[3033] 如在实例2.83中描述的，分别用实例2.66.1和实例2.93.3替换实例1.2.9和2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2-氯乙酰胺基)己酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),9.98(s,1H),8.05(dd,2H),7.79(d,2H),7.60(t,3H),7.55-7.40(m,3H),7.36(td,2H),7.27(d,3H),7.19(t,1H),6.95(d,1H),6.66(dd,1H),6.09-5.90(m,2H),4.97(d,4H),4.39(q,1H),4.20(t,1H),3.88(t,2H),3.80(d,2H),3.25(d,2H),2.97(dt,4H),2.78(q,2H),2.64(q,2H),2.22-1.86(m,6H),1.77-0.89(m,16H),0.89-0.72(m,12H)。MS(ESI)m/e 1460.6(M-H)。

[3034] 2.94 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[3-({6-[(碘乙酰基)氨基]己酰基}氨基)丙基](2-磺乙基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(合成子NA)的合成

[3035] 使用实例2.83中的程序，分别用实例2.61.2和2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2-碘乙酰胺基)己酸酯替换实例1.2.9和2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2-氯乙酰胺基)己酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.87(s,1H),8.98(s,1H),8.20(t,1H),8.04(d,1H),7.91(t,1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.53(d,1H),7.50-7.41(m,2H),7.36(td,2H),7.29(s,1H),6.96(d,1H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.06(dt,8H),2.89(t,2H),2.17-1.99(m,5H),1.76(s,2H),1.56-0.93(m,14H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 1190.3(M-H)。

[3036] 2.95 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-{[6-(乙烯基磺酰基)己酰基]氨基}丙基)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子NB)的合成

[3037] 使用实例2.83中的程序，分别用实例1.61.2和实例2.82.5替换实例1.2.9和2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2-氯乙酰胺基)己酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.87(s,1H),8.98(s,1H),8.04(d,1H),7.92(t,1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.53(d,1H),7.51-7.41(m,2H),7.36(td,2H),7.29(s,1H),7.01-6.90(m,2H),6.29-6.16(m,2H),4.96(s,2H),3.89(t,2H),3.83(s,2H),3.45-3.19(m,2H),3.19-2.95(m,8H),2.89(t,2H),2.16-1.98(m,5H),1.84-1.66(m,2H),1.64-1.21(m,13H),1.08(dq,6H),0.86(s,6H)。MS(ESI)m/e 1199.3(M+H)。

[3038] 2.96 N-[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子NP)的合成

[3039] 2.96.1(S)-(9H-芴-9-基)甲基(1-((4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯

[3040] 将(S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-5-脲基戊酸(40g)溶解于二氯甲烷(1.3L)中。将(4-氨基苯基)甲醇(13.01g)、2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲鎓六氟磷酸盐(V)(42.1g)和N,N-二异丙基乙胺(0.035L)添加到该溶液中,并将所得混合物在室温下搅拌16小时。将产物通过过滤收集并用二氯甲烷冲洗。将合并的固体在真空下干燥,以得到标题化合物,将该标题化合物不经进一步纯化用于下一步。MS(ESI)m/e 503.3$(M+H)^+$。

[3041] 2.96.2(S)-2-氨基-N-(4-(羟甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺

[3042] 将实例2.96.1(44g)溶解于N,N-二甲基甲酰胺(300mL)中。将溶液用二乙胺(37.2mL)处理并在室温下搅拌一小时。将反应混合物过滤并将溶剂在减压下浓缩。将粗产物通过碱性氧化铝色谱法(用在乙酸乙酯中0-30%甲醇的梯度洗脱)进行纯化,以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 281.2$(M+H)^+$。

[3043] 2.96.3叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯

[3044] 将(S)-2-(叔-丁氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸(9.69g)溶解于N,N-二甲基甲酰胺(200mL)中。向该溶液中添加2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲鎓六氟磷酸盐(V)(18.65g),并且将反应在室温下搅拌一小时。添加实例2.96.2(12.5g)和N,N-二异丙基乙胺(15.58mL)并将反应混合物在室温搅拌16小时。将溶剂在减压下浓缩,并将残余物通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的10%甲醇洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 480.2$(M+H)^+$。

[3045] 2.96.4(S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)-N-(4-(羟甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺

[3046] 将实例2.96.3(31.8g)溶解在二氯甲烷(650mL)中,并向溶液中添加三氟乙酸(4.85mL)。将反应混合物在室温搅拌三小时。在减压下浓缩溶剂,以得到粗标题化合物和4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基2,2,2-三氟乙酸酯的混合物。将粗材料溶于1:1二噁烷/水溶液(300mL)中,并向溶液中添加氢氧化钠(5.55g)。将混合物在室温搅拌三小时。在真空下浓缩溶剂,并且将粗产物用CombiFlash系统通过反相HPLC(用含有0.05%v/v氢氧化铵的5%-60%乙腈水溶液的梯度洗脱)进行纯化,以得到标题化合物。MS(ESI)m/e 380.2$(M+H)^+$。

[3047] 2.96.5(S)-2-((S)-2-(3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-N-(4-(羟甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺

[3048] 向实例2.96.4(38mg)在N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的溶液中添加2,5-二氧吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(26.7mg)。将反应混合物在室温下搅拌过夜,并通过反相HPLC(使用吉尔森系统)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液梯度洗脱)进行纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 531.06$(M+H)^+$。

[3049] 2.96.64-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯

[3050] 向实例2.96.5(53.1mg)在N,N-二甲基甲酰胺(3mL)中的溶液中添加双(4-硝基苯

基)碳酸酯(60.8mg)。将反应混合物在室温下搅拌过夜,并通过反相HPLC(使用吉尔森系统)(用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-85%乙腈水溶液梯度洗脱)进行纯化,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 696.2$(M+H)^+$。

[3051] 2.96.7 N-[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[3052] 如在实例2.1中描述的,分别用实例1.24.2和实例2.96.6替换实例1.2.9和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.91(s,1H),9.80(s,2H),8.33(s,2H),7.96(s,2H),7.81(d,4H),7.61(s,2H),7.43(d,10H),7.34-7.02(m,14H),5.92(s,8H),4.94-4.70(m,6H),4.18(d,11H),3.85(s,8H),3.05-2.66(m,8H),2.30-2.13(m,14H),2.03-1.49(m,2H),0.92-0.63(m,40H)。MS(ESI)m/e 1408.3$(M-H)^+$。

[3053] 2.97 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基){[(2-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-4-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苄基)氧基]羰基}氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子NN)的合成

[3054] 2.97.1 4-(2-(2-溴乙氧基)乙氧基)-2-羟基苯甲醛

[3055] 将2,4-二羟基苯甲醛(1.0g)、1-溴-2-(2-溴乙氧基)乙烷(3.4g)和碳酸钾(1.0g)在乙腈(30mL)中的溶液加热至75℃持续2天。将反应冷却,用乙酸乙酯(100mL)稀释,用水(50mL)和盐水(50mL)洗涤,经硫酸镁干燥,过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(用在庚烷中的5%-30%乙酸乙酯梯度洗脱)对残余物进行纯化,提供标题化合物。MS(ELSD)m/e 290.4$(M+H)^+$。

[3056] 2.97.2 4-(2-(2-叠氮乙氧基)乙氧基)-2-羟基苯甲醛

[3057] 向实例2.97.1(1.26g)在N,N-二甲基甲酰胺(10mL)中的溶液中添加叠氮化钠(0.43g),并在室温下搅拌反应过夜。将反应用二乙醚(100mL)稀释,用水(50mL)和盐水(50mL)洗涤,经硫酸镁干燥,过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(用在庚烷中的5%-30%乙酸乙酯梯度洗脱)对残余物进行纯化给出标题化合物。MS(ELSD)m/e251.4$(M+H)^+$。

[3058] 2.97.3(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-叠氮乙氧基)乙氧基)-2-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3059] 将实例2.97.2(0.84g)、(3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(1.99g)和氧化银(I)(1.16g)的溶液一起在乙腈(15mL)中搅拌。搅拌过夜后,将反应用二氯甲烷(20mL)稀释。添加硅藻土,并且将反应过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(用在庚烷中的5%-75%乙酸乙酯梯度洗脱)对残余物进行纯化给出标题化合物。

[3060] 2.97.4(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-叠氮乙氧基)乙氧基)-2-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3061] 将实例2.97.3(0.695g)在甲醇(5mL)和四氢呋喃(2mL)中的溶液冷却至0℃。添加

硼氢化钠(0.023g),并将反应升温至室温。在搅拌总共1小时后,将反应倒入乙酸乙酯(75mL)和水(25mL)的混合物中,并添加饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)。将有机层分离,用盐水(50mL)洗涤,经硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。通过硅胶色谱法(用在庚烷中的5%-85%乙酸乙酯梯度洗脱)对残余物进行纯化给出标题化合物。MS(ELSD)m/e 551.8$(M-H_2O)^-$。

[3062] 2.97.5(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-2-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3063] 向在50mL压力瓶中的实例2.97.4(0.465g)的四氢呋喃(20mL)溶液中添加5%Pd/C(0.1g),并将混合物在30psi氢气下振荡16小时。将该反应过滤并浓缩以给出标题化合物,将该标题化合物未经进一步纯化而使用。MS(ELSD)m/e 544.1$(M+H)^+$。

[3064] 2.97.6(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-2-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3065] 将实例2.97.5(0.443g)在二氯甲烷(8mL)中的溶液冷却至0℃,然后添加N,N-二异丙基乙胺(0.214mL)和(9H-芴-9-基)甲基氯甲酸酯(0.190g)。1小时后,将反应浓缩。通过硅胶色谱法(用在庚烷中的5%-95%乙酸乙酯梯度洗脱)对残余物进行纯化给出标题化合物。MS(ELSD)m/e 748.15$(M-OH)^-$。

[3066] 2.97.7(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3067] 向实例2.97.6(0.444g)在N,N-二甲基甲酰胺(5mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.152mL)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(0.353g),并在室温搅拌该反应。5小时后,将反应浓缩。通过硅胶色谱法(用在庚烷中的5%-90%乙酸乙酯梯度洗脱)对残余物进行纯化给出标题化合物。

[3068] 2.97.83-(1-((3-(2-((((4-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸,三氟乙酸盐

[3069] 向实例1.25(0.070g)和实例2.97.7(0.070g)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.066mL)。在搅拌过夜之后,将反应浓缩。将残余物溶于四氢呋喃(0.75mL)和甲醇(0.75mL)中,并添加氢氧化锂一水合物(0.047g)的水(0.75mL)溶液。3小时后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺(1mL)稀释并用三氟乙酸(0.116mL)猝灭。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。

[3070] 2.97.96-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-(2-(2-(3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰胺基)乙氧基)乙氧基)苄基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[3071] 将实例2.97.8(0.027g)、2,5-二氧吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(7.92mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.017mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中

的溶液一起搅拌1小时。用水和N,N-二甲基甲酰胺(2mL)的1:1混合物猝灭反应。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ ppm 12.81(s,1H),8.03(d,2H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.54-7.40(m,3H),7.36(td,2H),7.28(s,1H),7.18(d,1H),6.98(s,2H),6.95(d,1H),6.69(d,1H),6.60(d,1H),5.03(d,3H),4.96(s,2H),4.05(s,2H),3.93(d,2H),3.88(t,2H),3.80(d,2H),3.75-3.67(m,2H),3.59(t,6H),3.29(q,6H),3.17(q,2H),3.01(t,2H),2.47(d,2H),2.33(t,2H),2.09(s,3H),1.44-0.88(m,12H),0.82(d,6H);MS(ESI)m/e 1396.5(M-H)$^-$。

[3072] 2.98 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-3-磺基-L-丙氨酰-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子NO)的合成

[3073] 2.98.1 3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3074] 将实例1.25.2(0.059g)、(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯(0.053g)和N,N-二异丙基乙胺(0.055mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液在室温搅拌过夜。将二乙胺(0.066mL)添加至该反应,并将搅拌继续30分钟。将反应用N,N-二甲基甲酰胺和水(2mL)的1:1混合物稀释,并且通过加入三氟乙酸(0.073mL)猝灭。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1223.8(M+H)$^+$。

[3075] 2.98.23-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((R)-2-氨基-3-磺基丙酰氨基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸,三氟乙酸盐

[3076] 将(R)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-磺基丙酸(0.021g)、O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(0.020g)和N,N-二异丙基乙胺(0.031mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的溶液搅拌3分钟。将溶液添加到实例2.98.1(0.043g)的N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)溶液中。搅拌30分钟后,添加氢氧化锂一水合物(0.022g)的水(0.5mL)溶液,并且搅拌反应1小时。将反应用N,N-二甲基甲酰胺和水(2mL)的1:1混合物稀释,并且通过加入三氟乙酸(0.054mL)猝灭。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1376.5(M+1)。

[3077] 2.98.36-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-羧乙基)(((4-((S)-2-((S)-2-((R)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡

咯-1-基)己酰胺基)-3-磺基丙酰氨基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[3078] 将实例2.98.2(0.025g)、2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(7.77mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.015mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的溶液搅拌1小时。用水和N,N-二甲基甲酰胺(2mL)的1:1混合物稀释反应。将混合物通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的10%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),9.46(s,1H),8.20(d,1H),8.07(d,1H),8.03(d,1H),8.00(d,1H),7.79(d,1H),7.69(d,2H),7.61(d,1H),7.51(d,1H),7.49-7.45(m,1H),7.43(d,1H),7.36(td,2H),7.29(s,1H),7.25(d,2H),6.97(s,2H),6.95(d,1H),4.98(s,2H),4.96(s,2H),4.73(s,2H),4.16(s,2H),4.03(dd,2H),3.88(t,2H),3.81(s,2H),3.51-3.32(m,6H),3.28(t,2H),3.09(dd,1H),3.06-2.94(m,4H),2.89(dd,1H),2.46(d,2H),2.16(dd,1H),2.09(d,4H),1.74(s,2H),1.62-1.29(m,8H),1.29-0.92(m,12H),0.92-0.78(m,12H)。MS(ESI)m/e1566.6(M-H)$^-$。

[3079] 2.99对照合成子4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子H)的合成

[3080] 2.99.1(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-甲酰基-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3081] 向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(4g)在乙腈(100mL)中的溶液中添加氧化银(I)(10.04g)和4-羟基-3-硝基苯甲醛(1.683g)。将反应混合物在室温搅拌4小时并过滤。将滤液浓缩,并将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的5%-50%乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e(M+18)$^+$。

[3082] 2.99.2(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(羟甲基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3083] 向实例2.99.1(6g)在氯仿(75mL)和异丙醇(18.75mL)的混合物中的溶液中添加0.87g的硅胶。将所得混合物冷却至0℃,添加$NaBH_4$(0.470g),并将所得悬浮液在0℃搅拌45分钟。将反应混合物用二氯甲烷(100mL)稀释并通过硅藻土过滤。将滤液用水和盐水洗涤并浓缩,以得到粗产物,将该粗产物不经进一步纯化而使用。MS(ESI)m/e(M+NH_4)$^+$:

[3084] 2.99.3(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-氨基-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3085] 将实例2.99.2(7g)在乙酸乙酯(81mL)中的搅拌的溶液在20℃在1大气压H_2下氢化(使用10%Pd/C(1.535g)作为催化剂)12小时。将反应混合物通过硅藻土过滤,并且将溶剂在减压下蒸发。将残余物通过硅胶色谱法(用95/5二氯甲烷/甲醇洗脱)进行纯化以给出标题化合物。

[3086] 2.99.43-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酸

[3087] 将3-氨基丙酸(4.99g)溶于500mL烧瓶中的10%Na_2CO_3水溶液(120mL)中并用冰浴

冷却。向所得溶液中逐渐添加(9H-芴-9-基)氯甲酸甲酯(14.5g)在1,4-二噁烷(100mL)中的溶液。将反应混合物在室温搅拌4小时,并且然后添加水(800mL)。将水相层与反应混合物分离并用二乙醚(3×750mL)洗涤。将水层用2N HCl水溶液酸化至pH值为2,并用乙酸乙酯(3×750mL)萃取。合并有机层并浓缩,以得到粗产物。将粗产物在乙酸乙酯:己烷1:2(300mL)的混合溶剂中重结晶,得到标题化合物。

[3088] 2.99.5(9H-芴-9-基)甲基(3-氯-3-氧丙基)氨基甲酸酯

[3089] 向实例2.99.4在二氯甲烷(160mL)中的溶液中添加二氯化硫(50mL)。将混合物在60℃搅拌1小时。将混合物冷却并浓缩,得到标题化合物。

[3090] 2.99.6(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3091] 向实例2.99.3(6g)在二氯甲烷(480mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(4.60mL)。添加实例2.99.5(5.34g),并将该混合物在室温搅拌30分钟。将混合物倒入饱和碳酸氢钠水溶液中并用乙酸乙酯萃取。将合并的萃取物用水和盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。过滤并浓缩,得到残余物,将残余物经径向色谱法(用在石油醚中的0-100%乙酸乙酯作为流动相)进行纯化,以得到标题化合物。

[3092] 2.99.7(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3093] 向实例2.99.6(5.1g)在N,N-二甲基甲酰胺(200mL)中的混合物中添加双(4-硝基苯基)碳酸酯(4.14g)和N,N-二异丙基乙胺(1.784mL)。将混合物在室温搅拌16小时,并且在减压下进行浓缩。将粗物质溶解在二氯甲烷中,并直接吸到1mm径向Chromatotron板上,并用在己烷中的50%-100%乙酸乙酯洗脱,以得到标题化合物。MS(ESI)m/e(M+H)$^+$。

[3094] 2.99.83-(1-((3-(2-((((3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3095] 在0℃下,向实例1.13.7(325mg)和实例2.99.7(382mg)在N,N-二甲基甲酰胺(9mL)中的溶液中添加N,N-二异丙胺(49.1mg)。将反应混合物在0℃搅拌5小时,并添加乙酸(22.8mg)。将所得混合物用乙酸乙酯稀释并用水和盐水洗涤。将有机层经Na_2SO_4干燥、过滤、并浓缩。将残余物溶于四氢呋喃(10mL)和甲醇(5mL)的混合物中。在0℃,向该溶液中添加1M氢氧化锂水溶液(3.8mL)。将所得混合物在0℃搅拌1小时,用乙酸酸化并浓缩。将浓缩物冻干,得到粉末。将粉末溶解在N,N-二甲基甲酰胺(10mL)中,在冰浴中冷却,并且在0℃添加哌啶(1mL)。将混合物在0℃搅拌15分钟并且添加1.5mL的乙酸。将溶液通过反相HPLC(使用吉尔森系统,用含有0.1%v/v三氟乙酸的30%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1172.2(M+H)$^+$。

[3096] 2.99.9 4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[3097] 在0℃，向在N,N-二甲基甲酰胺(5mL)中的实例2.99.8(200mg)中添加2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(105mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.12mL)。将混合物在0℃搅拌15分钟，温热至室温，并通过反相HPLC(在吉尔森系统上使用100g C18柱，用含有0.1％v/v三氟乙酸的30％-80％乙腈水溶液洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,2H)9.07(s,1H)8.18(s,1H)8.03(d,1H)7.87(t,1H)7.79(d,1H)7.61(d,1H)7.41-7.53(m,3H)7.36(q,2H)7.28(s,1H)7.03-7.09(m,1H)6.96-7.03(m,3H)6.94(d,1H)4.95(s,4H)4.82(t,1H)3.88(t,3H)3.80(d,2H)3.01(t,2H)2.86(d,3H)2.54(t,2H)2.08(s,3H)2.03(t,2H)1.40-1.53(m,4H)1.34(d,2H)0.90-1.28(m,12H)0.82(d,6H)。MS(ESI)m/e 1365.3$(M+H)^{+}$。

[3098] 2.100对照合成子4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-2-({N-[19-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-17-氧代-4,7,10,13-四氧杂-16-氮杂十九烷-1-酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子I)的合成

[3099] 使用实例2.99.9中的程序，用2,5-二氧吡咯烷-1-基1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-氧代-7,10,13,16-四氧杂-4-氮杂十九烷-19-酯替换2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm8.95(s,1H)8.16(s,1H)7.99(d,1H)7.57-7.81(m,4H)7.38-7.50(m,3H)7.34(q,2H)7.27(s,1H)7.10(d,1H)7.00(d,1H)6.88-6.95(m,2H)4.97(d,4H)4.76(d,2H)3.89(t,2H)3.84(d,2H)3.80(s,2H)3.57-3.63(m,4H)3.44-3.50(m,4H)3.32-3.43(m,6H)3.29(t,2H)3.16(q,2H)3.02(t,2H)2.87(s,3H)2.52-2.60(m,2H)2.29-2.39(m,3H)2.09(s,3H)1.37(s,2H)1.20-1.29(m,4H)1.06-1.18(m,4H)0.92-1.05(m,2H)0.83(s,6H)。MS(ESI)m/e 1568.6$(M-H)^{-}$。

[3100] 2.101 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{[(43S,46S)-43-({[(4-{[(2S)-2-{[(2S)-2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}丙酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}氨基)-46-甲基-37,44,47-三氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂-38,45,48-三氮杂五十烷-50-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子OK)的合成

[3101] 如在实例2.7中描述的，用实例1.66.7替换实例1.13.8来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(s,1H),8.21-7.97(m,4H),7.79(d,4H),7.71-7.32(m,15H),7.28(t,4H),7.02-6.91(m,3H),4.95(d,5H),4.33-4.12(m,3H),3.98-3.76(m,11H),3.41-3.21(m,22H),3.21-2.90(m,12H),2.24-2.05(m,7H),1.81-0.90(m,46H),0.90-0.78(m,17H)。MS(ESI)m/e 2014.0$(M+H)^{+}$,1007.5$(M+2H)^{2+}$,672.0$(M+3H)^{3+}$。

[3102] 2.102 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^{5}-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子OW)的合成

[3103] 如实例2.1中描述的，用实例1.62.5取代实例1.2.9，来制备标题化合物^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.95(s,1H),8.36(s,1H),8.02(d,1H),7.96(d,1H),7.88-7.68(m,4H),7.57(d,2H),7.42(s,2H),7.34(t,1H),7.25(dd,3H),7.19(t,1H),6.95(s,2H),5.96(s,1H),4.96(s,2H),4.35(q,1H),4.15(dd,1H),3.93(t,2H),3.83(d,2H),3.32(t,2H),3.27(d,1H),2.93(dtd,1H),2.80(t,2H),2.47(p,19H),2.24-2.02(m,5H),1.91(p,3H),1.74-1.25(m,8H),1.27-0.89(m,10H),0.79(dd,13H)。MS(ESI)m/e 1414.4$(M+H)^+$。

[3104] 2.103 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子PC)的合成

[3105] 如在实例2.1中描述的，用实例1.68.7替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.07(s,1H),9.95(s,1H),8.99(s,1H),8.33(dd,1H),8.25-8.09(m,3H),8.12-7.95(m,3H),7.90(d,1H),7.76(dd,2H),7.73-7.63(m,1H),7.56(s,3H),7.41-7.29(m,1H),6.95(s,2H),5.97(s,1H),4.96(s,2H),4.35(d,2H),4.15(dd,1H),3.50-3.22(m,10H),2.92(dtd,3H),2.29-2.00(m,6H),1.92(q,1H),1.75-0.88(m,24H),0.79(dd,15H)。MS(ESI)m/e 1409.5$(M+H)^+$。

[3106] 2.104 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基){[(2-{[(2R,3S,4R,5R,6R)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-4-[2-(2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苄基)氧基]羰基}氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子PI)的合成

[3107] 2.104.1 3-(1-((3-(2-((((4-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-2-(((2R,3S,4R,5R,6R)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸

[3108] 向实例2.97.7(26.9mg)和实例1.68.7(23.5mg)在N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中的冷却的(0℃)混合物中添加N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.043mL)。将该反应缓慢温热至室温并搅拌过夜。LC/MS显示期望产物为主峰。向反应混合物中添加水(1mL)和LiOH H_2O(20mg)。将混合物在室温搅拌3小时。将混合物用N,N-二甲基甲酰胺(2mL)稀释，过滤，并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上，用含有0.1％三氟乙酸的20％-80％乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 1242.2$(M-H)^-$。

[3109] 2.104.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基){[(2-{[(2R,3S,4R,5R,6R)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-4-[2-(2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苄基)氧基]羰基}氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[3110] 如在实例2.97.9中描述的，用实例2.104.1取代实例2.97.8以及用2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯取代2,5-二氧吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚

砜-d_6)δppm 13.06(s,2H),8.99(s,1H),8.34(dd,1H),8.25-8.10(m,3H),8.04(d,1H),7.98(d,1H),7.90(d,1H),7.78(d,2H),7.72-7.63(m,1H),7.50-7.42(m,2H),7.34(t,1H),7.16(d,1H),6.94(s,2H),6.65(d,1H),6.56(dd,1H),4.02(t,2H),3.90(d,1H),3.83(s,2H),3.66(t,3H),3.28(q,4H),3.15(q,2H),2.19(s,3H),1.99(t,2H),1.51-1.30(m,6H),1.28-0.88(m,11H),0.81(d,6H)。MS(ESI)m/e 1433.4$(M+H)^+$。

[3111] 2.105 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子PJ)的合成

[3112] 如在实例2.1中描述的,用实例1.69.6替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.23(s,1H),9.99(s,1H),9.73(d,1H),9.45(s,1H),8.33(t,2H),8.18(d,1H),8.07(dd,2H),8.02(dd,1H),7.97(dd,1H),7.80(t,2H),7.65-7.55(m,2H),7.53-7.44(m,2H),7.37(t,1H),7.27(d,2H),6.98(s,2H),4.98(d,2H),4.38(d,1H),4.18(d,1H),3.56-3.31(m,3H),3.26(d,2H),3.08-2.89(m,2H),2.64(t,2H),2.23(d,3H),2.12(dp,2H),1.95(s,1H),1.68(s,1H),1.62-1.29(m,7H),1.29-0.90(m,9H),0.90-0.74(m,12H)。MS(ESI)m/e 1446.3$(M-H)^-$。

[3113] 2.106 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子PU)的合成

[3114] 如在实例2.1中描述的,用实例1.70替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.97(s,1H),9.12(d,1H),8.93(s,1H),8.60(dd,1H),8.24(dd,2H),8.05(dd,2H),7.99-7.87(m,2H),7.78(dd,2H),7.67-7.51(m,3H),7.43-7.31(m,1H),7.26(d,2H),6.97(s,2H),5.98(s,1H),4.97(s,2H),4.37(d,2H),4.17(dd,1H),3.49-3.22(m,11H),2.95(ddd,3H),2.20(s,4H),2.19-1.86(m,3H),1.74-0.89(m,22H),0.81(dd,15H)。MS(ESI)m/e 1410.4$(M-H)^-$。

[3115] 2.107 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子PV)的合成

[3116] 如在实例2.1中描述的,用实例1.70.5替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.96(s,1H),9.11(d,1H),8.92(s,1H),8.60(dd,1H),8.23(dd,2H),8.12-7.97(m,2H),7.98-7.92(m,2H),7.77(dd,2H),7.56(t,2H),7.51-7.42(m,2H),7.42-7.31(m,1H),7.24(d,2H),6.95(s,2H),4.95(d,2H),4.36(q,1H),3.90-3.80(m,3H),3.52-3.27(m,3H),3.23(t,2H),3.06-2.83(m,2H),2.67-2.58(m,2H),2.19(s,3H),2.09(dp,2H),1.93(d,1H),1.72-1.25(m,7H),1.27-0.88(m,10H),0.88-0.70(m,13H)。MS(ESI)m/e 1446.3$(M-H)^-$。

[3117] 2.108 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-2-羧基吡啶-3-基}-

5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子PW)的合成

[3118] 如在实例2.1中描述的,用实例1.71替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.97(s,1H),9.70(d,1H),9.40(d,1H),8.31(dd,2H),8.16(d,1H),8.05(t,2H),8.01-7.91(m,2H),7.78(dd,2H),7.59(d,3H),7.52-7.44(m,2H),7.36(t,1H),7.26(d,2H),6.96(s,2H),5.99(s,1H),4.97(s,2H),4.37(d,2H),4.16(dd,1H),3.53-3.20(m,9H),2.94(dtd,2H),2.21(s,3H),2.17-1.85(m,3H),1.71-0.89(m,22H),0.81(dd,14H)。MS(ESI)m/e 1410.4(M-H)$^-$。

[3119] 2.109 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子QW)的合成

[3120] 通过用实例1.72.8取代实例2.1中的实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜d_6)δppm 11.07(bs,1H),10.00(bs,1H),8.27(bs,1H),8.12(m,2H),8.07(d,1H),7.99(d,1H),7.84-7.74(m,2H),7.65(d,1H),7.59(m,2H),7.54-7.44(m,1H),7.42-7.31(m,2H),7.28(m,2H),7.21(q,1H),7.00(m,1H)6.94-6.92(m,2H),6.04(bs,1H),5.14(s,2H),4.99(m,3H),4.39(m,2H),4.30(bs,2H),4.20(m,2H),4.12(bs,2H),3.70-3.64(m,2H),3.50(m,2H),3.44-3.35(m,2H),3.27(m,2H),3.02(m,2H),2.95(m,2H),2.68(t,2H),2.14(m,4H),1.96(m,1H),1.69(m,1H),1.58(m,1H),1.47(m,4H),1.36(m,2H),1.30-1.02(m,8H),0.98(m,2H),0.85-0.80(m,16H)。

[3121] 2.110 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[7-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吲哚-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子RM)的合成

[3122] 通过用实例1.74.6取代实例2.1中的实例1.2.9来制备实例2.110。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 11.30(s,1H),9.93(s,1H),8.26(d,1H),8.17(d,1H),8.02(d,1H),7.92-7.84(m,3H),7.76(d,1H),7.69(d,1H),7.54(d,3H),7.47(s,1H),7.35(dd,2H),7.22(t,3H),7.08(t,1H),6.93(s,2H),4.90(s,2H),4.84(t,2H),4.33(q,1H),4.16-4.09(m,1H),3.32(t,4H),2.99(m,6H),2.21(s,3H),2.09(m,2H),1.91(m,1H),1.71-0.71(m,25H)。MS(ESI)m/e 1434.4(M-H)$^-$。

[3123] 2.111 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[{3-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-(6-羧基-5-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基]丙基}(甲基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子RR)的合成

[3124] 如在实例2.1中描述的,用实例1.75.14替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.60(bs,1H),9.98(s,1H),8.33(m,2H),8.02(d,2H),7.75(d,2H),7.55(d,2H),7.49(m,3H),7.29(m,1H),7.25(s,4H),6.99(d,2H),6.95(d,1H),5.90

(m,1H),5.42(m,2H),4.95(s,2H),4.90(m,2H),4.35(t,1H),4.18(t,1H),3.85(m,2H),3.80(s,3H),3.55(s,3H),3.52(m,2H),3.35(m,4H),3.22(m,4H),3.08(m,2H),2.99(m,2H),2.92(m,2H),2.85(m,2H),2.79(t,2H),2.52(m,1H),2.15(m,1H),2.09(s,3H),1.94(m,1H),1.88(m,1H),1.68(m,1H),1.54(m,1H),1.42(m,4H),1.38(m,4H),1.27(m,4H),

[3125] 1.13(m,4H),1.02(m,2H),0.85(s,6H),0.78(m,6H)。MS(ESI)m/e1523.3$(M+H)^+$,1521.6$(M-H)^-$。

[3126] 2.112 N-(6-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}己酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子SJ)的合成

[3127] 2.112.1 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[3128] 将在N,N-二甲基甲酰胺(5mL)中的实例1.2.9的三氟乙酸盐(390mg)、叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯(286mg)和1-羟基苯并三唑水合物(185mg)在冰浴中冷却并添加N,N-二异丙基乙基胺(0.35mL)。将混合物在0℃搅拌30分钟并且在室温搅拌过夜。将反应混合物用二甲基亚砜稀释至10mL,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 680.1$(M+2H)^{2+}$。

[3129] 2.112.2 3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3130] 在0℃,将在10mL二氯甲烷中的实例2.112.1(300mg)用三氟乙酸(4mL)处理30分钟,并将混合物浓缩。将残余物溶于乙腈和水的混合物中并冻干,得到呈TFA盐的希望产物。MS(ESI)m/e 1257.4$(M-H)^-$。

[3131] 2.112.3 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((4-((13S,16S)-13-异丙基-2,2-二甲基-4,11,14-三氧代-16-(3-脲基丙基)-3-氧杂-5,12,15-三氮杂十七烷酰氨基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[3132] 将在N,N-二甲基甲酰胺(3mL)中的实例2.112.2(三氟乙酸盐,385mg)和1-羟基苯并三唑水合物(140mg)在冰水浴中冷却。逐滴添加N,N-二异丙基乙胺(226μL),然后添加2,5-二氧吡咯烷-1-基6-((叔丁氧基羰基)氨基)己酸酯(127mg),并将混合物搅拌过夜。将混合物通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 1470.2$(M-H)^-$。

[3133] 2.112.4 3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-(6-氨基己酰胺基)-3-甲基丁酰氨

基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3134] 使用实例2.112.2中的程序,用实例2.112.3替换实例2.112.1来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1370.5(M-H)⁻。

[3135] 2.112.5 N-(6-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}己酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[3136] 在0℃,将在N,N-二甲基甲酰胺(0.3mL)中的实例2.112.4(25mg)和2,5-二氧吡咯烷-1-基2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸酯(9.19mg)用N,N-二异丙基乙胺(25.4μL)处理30分钟。将反应混合物通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用在4mM乙酸铵水混合物中的35%-65%乙腈洗脱)进行纯化以提供呈铵盐的标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.81(s,1H),9.94(s,1H),8.01(dd,2H),7.75(d,2H),7.56(s,3H),7.51-7.45(m,1H),7.45-7.37(m,2H),7.36-7.28(m,2H),7.24(t,3H),7.17(s,2H),7.05(s,3H),7.04(s,2H),6.92(s,3H),5.93(s,1H),5.36(s,2H),5.05-4.85(m,4H),4.36(q,1H),4.16(dd,1H),3.95(s,2H),3.85(t,2H),3.76(d,2H),3.22(d,1H),3.05-2.81(m,6H),2.68-2.53(m,2H),2.09(d,4H),1.76-0.86(m,14H),0.86-0.71(m,12H)。MS(ESI)m/e 1507.5(M-H)⁻。

[3137] 2.113 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][3-(β-L-吡喃葡糖醛酸基氧基)丙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子SM)的合成

[3138] 如在实例2.1中描述的,用实例1.87.3替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.08(s,1H),9.96(s,1H),9.00(s,1H),8.35(dd,1H),8.24-8.13(m,3H),8.09-8.02(m,2H),8.00(d,1H),7.91(d,1H),7.77(dd,2H),7.71-7.64(m,1H),7.58(t,2H),7.49-7.44(m,2H),7.39-7.32(m,1H),7.26(d,2H),6.96(s,2H),5.97(s,1H),4.96(s,2H),4.37(d,1H),4.22-4.12(m,2H),3.84(s,1H),3.37-3.20(m,6H),3.15(t,1H),3.04-2.81(m,2H),2.20(s,3H),2.11(dp,2H),1.99-1.88(m,1H),1.71(q,2H),1.62-1.26(m,8H),1.29-0.88(m,11H),0.80(dd,14H)。MS(ESI)m/e 1571.4(M-H)⁻。

[3139] 2.114 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)异喹啉-6-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子SN)的合成

[3140] 如在实例2.1中描述的,用实例1.78.5替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.95(s,1H),9.61(s,1H),9.08(s,1H),9.00(s,1H),8.54(dd,1H),8.43(d,1H),8.24(d,1H),8.08-7.95(m,3H),7.77(dd,2H),7.63-7.51(m,2H),

7.50-7.42(m,2H),7.40-7.31(m,1H),7.24(d,2H),6.95(s,2H),6.00(s,1H),4.95(d,2H),4.36(q,1H),4.15(t,1H),3.27(dt,4H),3.10-2.79(m,2H),2.68-2.56(m,2H),2.20(s,3H),1.98-1.84(m,1H),1.72-0.87(m,19H),0.79(dd,13H)。MS(ESI)m/e 1446.4(M-H)$^-$。

[3141] 2.115 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-α-谷氨酰-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子SS)的合成

[3142] 2.115.1 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((4-((6S,9S,12S)-6-(3-(叔丁氧基)-3-氧丙基)-9-异丙基-2,2-二甲基-4,7,10-三氧代-12-(3-脲基丙基)-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十三烷酰氨基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[3143] 在0℃,向实例2.112.2(85mg)、1-羟基苯并三唑水合物(41.3mg)、和(S)-5-叔丁基1-(2,5-二氧吡咯烷-1-基)2-((叔丁氧基羰基)氨基)戊二酸酯(54.0mg)在N,N-二甲基甲酰胺(3mL)中的混合物中逐滴添加N,N-二异丙基乙基胺(118μL),并将该混合物在0℃搅拌1小时。将混合物通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的35%-100%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 773.4(M+2H)$^{2+}$。

[3144] 2.115.2 3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-氨基-4-羧基丁酰氨基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3145] 在0℃,将在二氯甲烷(11mL)中的实例2.115.1(100mg)用三氟乙酸(4mL)处理。将混合物在0℃搅拌3.5小时并浓缩。将残余物通过反相HPLC(用在0.1%三氟乙酸水混合物中的5%-60%乙腈洗脱)进行纯化以提供标题化合物。

[3146] 2.115.3 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-α-谷氨酰-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[3147] 在0℃,向1-羟基苯并三唑水合物(2.87mg)、2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(5.77mg)和实例2.115.2(13mg)的混合物中添加N,N-二异丙基乙胺(13.08μL),并将该混合物在0℃搅拌1小时。将反应通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.83(s,1H),9.99(s,1H),8.13(d,1H),8.02(dd,1H),7.97(d,1H),7.80-7.74(m,1H),7.64(t,1H),7.61-7.48(m,4H),7.47-7.38(m,2H),7.38-7.30(m,2H),7.29-7.23(m,3H),6.96(s,2H),6.93(d,1H),5.99(s,1H),5.06-4.88(m,5H),4.37(q,1H),4.28(q,1H),4.18(dd,1H),3.86(t,2H),3.78(d,2H),3.34(t,3H),3.23(d,2H),2.99(t,3H),2.97-2.85(m,1H),2.62(dt,1H),2.26-2.15(m,2H),2.16-2.00(m,

5H),2.01-1.79(m,1H),1.75-1.50(m,3H),1.50-0.87(m,17H),0.81(dd,14H)。MS(ESI)m/e 1579.6(M-H)⁻。

[3148] 2.116 N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-α-谷氨酰-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子TA)的合成

[3149] 使用实例2.115.3中的程序,用2,5-二氧代吡咯烷-1-基2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸酯替换2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ10.02(s,1H),8.38(d,1H),8.14(d,1H),8.03(d,1H),7.82(dd,2H),7.60(t,3H),7.55-7.40(m,3H),7.35(td,2H),7.31-7.24(m,3H),7.07(s,2H),6.95(d,1H),4.97(d,4H),4.37(ddd,2H),4.23-4.05(m,3H),3.88(t,6H),3.80(d,2H),3.25(d,2H),3.09-2.88(m,4H),2.64(s,2H),2.22(dd,2H),2.09(s,3H),2.02-1.49(m,5H),1.47-0.89(m,12H),0.83(dd,12H)。MS(ESI)m/e 1523.5(M-H)⁻。

[3150] 2.1171-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-D-缬氨酰基-N^5-氨基甲酰基-D-鸟氨酰}氨基)苄基]氧基}羰基)氨基}-1,2-双脱氧-D-阿拉伯-己糖醇(合成子TW)的合成

[3151] 通过用实例1.77.2取代实例2.1中的实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.85(bs,1H),9.98(s,1H),8.06(d,1H),8.03(d,1H),7.78(t,2H),7.60(m,3H),7.52-7.42(m,4H),7.36(q,2H),7.28(s,1H),7.27(d,2H),6.99(s,1H),6.95(d,1H),5.97(bs,1H),5.00(m,2H),4.95(s,2H),4.39(m,1H),4.19(m,2H),3.88(t,2H),3.79(m,4H),3.58(m,4H),3.46-3.33(m,10H),3.26(m,4H),3.01(m,2H),2.94(m,1H),2.14(m,2H),2.09(s,3H),1.96(m,1H),1.69(m,2H),1.59(m,1H),1.47(m,4H),1.35(m,4H),1.28-1.03(m,10H),0.95(m,2H),0.82(m,12H)。MS(ESI)m/e 1493(M+H)$^+$,1491(M-H)⁻。

[3152] 2.118 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-氧化异喹啉-6-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子ST)的合成

[3153] 如在实例2.1中描述的,用实例1.88.4替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.29(s,2H),9.95(s,1H),9.18(s,1H),8.67(s,1H),8.57-8.36(m,1H),8.29-7.87(m,4H),7.77(dd,2H),7.56(d,2H),7.53-7.41(m,2H),7.24(d,2H),6.95(s,2H),5.95(s,1H),4.94(s,2H),4.35(q,1H),4.15(dd,1H),3.84(s,3H),3.28(dt,4H),3.06-2.77(m,3H),2.19(d,3H),2.17-1.80(m,3H),1.74-0.88(m,22H),0.79(dd,13H)。MS(ESI)m/e 1368.4(M-H)⁻。

[3154] 2.119 N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-

苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子ZL)的合成

[3155] 2.119.1(3R,7aS)-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

[3156] 在干燥管下,使用迪安-斯脱克分水器(Dean-Stark trap)将(S)-5-(羟甲基)吡咯烷-2-酮(25g)、苯甲醛(25.5g)和对甲苯磺酸一水合物(0.50g)在甲苯(300mL)中的混合物加热至回流,持续16小时。将反应冷却至室温,并且从不溶物中滗析出溶剂。将有机层用饱和碳酸氢钠水溶液混合物(2x)和盐水(1x)洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过快速硅胶色谱法(用35/65庚烷/乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(DCI)m/e204.0(M+H)+。

[3157] 2.119.2(3R,6R,7aS)-6-溴-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

[3158] 向实例2.119.1(44.6g)在四氢呋喃(670mL)中的冷(-77℃)混合物中经40分钟逐滴添加双(三甲基甲硅烷基)酰胺锂(1.0M,在己烷中,250mL),保持Trxn<73℃。将反应在-77℃搅拌2小时,并经20分钟逐滴添加溴(12.5mL),保持Trxn<-64℃。将反应在-77℃搅拌75分钟,并通过添加150mL冷的10%水性硫代硫酸钠混合物猝灭至-77℃反应。将反应升温至室温并在半饱和水性氯化铵混合物和乙酸乙酯之间分配。将各层分离,并将有机层用水和盐水洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用80/20、75/25、和70/30庚烷/乙酸乙酯的梯度洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(DCI)m/e 299.0和301.0$(M+NH_3+H)^+$。

[3159] 2.119.3(3R,6S,7aS)-6-溴-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

[3160] 从实例2.119.2中分离出作为副产物的标题化合物。MS(DCI)m/e299.0和301.0$(M+NH_3+H)^+$。

[3161] 2.119.4(3R,6S,7aS)-6-叠氮基-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

[3162] 向实例2.119.2(19.3g)在N,N-二甲基甲酰胺(100mL)中的混合物中添加叠氮化钠(13.5g)。将反应加热至60℃持续2.5小时。将反应冷却至室温并通过添加水(500mL)和乙酸乙酯(200mL)猝灭。分离各层,并将有机层用盐水洗涤。将合并的水层用乙酸乙酯(50mL)反萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥、过滤、并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用78/22庚烷/乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(DCI)m/e 262.0$(M+NH_3+H)^+$。

[3163] 2.119.5(3R,6S,7aS)-6-氨基-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

[3164] 向实例2.119.4(13.5g)在四氢呋喃(500mL)和水(50mL)中的混合物中添加聚合物支载的三苯基膦(55g)。将反应在室温下机械搅拌过夜。将反应通过硅藻土过滤,用乙酸乙酯和甲苯洗脱。将该混合物在减压下浓缩、溶解于二氯甲烷(100mL)中、经硫酸钠干燥、然后过滤并浓缩以提供标题化合物,将该标题化合物不经进一步纯化用于随后的步骤。MS(DCI)m/e 219.0$(M+H)^+$。

[3165] 2.119.6(3R,6S,7aS)-6-(二苄基氨基)-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

[3166] 向实例2.119.5(11.3g)在N,N-二甲基甲酰胺(100mL)中的混合物中添加碳酸钾(7.0g)、碘化钾(4.2g)、和苄基溴(14.5mL)。将反应在室温下搅拌过夜,并通过添加水和乙酸乙酯猝灭反应。分离各层,并将有机层用盐水洗涤。将合并的水层用乙酸乙酯反萃取。将

合并的有机层经硫酸钠干燥、过滤、并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的10％至15％乙酸乙酯的梯度洗脱)进行纯化以给出固体,将该固体用庚烷研磨以提供标题化合物。MS(DCI)m/e399.1(M+H)$^+$。

[3167] 2.119.7(3S,5S)-3-(二苄基氨基)-5-(羟甲基)吡咯烷-2-酮

[3168] 向实例2.119.6(13g)在四氢呋喃(130mL)中的混合物中添加对甲苯磺酸一水合物(12.4g)和水(50mL),并将反应加热至65℃持续6天。将反应冷却至室温,并通过添加饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯猝灭。将各层分离、并将有机层用盐水洗涤。将合并的水层用乙酸乙酯反萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥、过滤、并在减压下浓缩。将蜡状固体用庚烷(150mL)研磨以提供标题化合物。MS(DCI)m/e 311.1(M+H)$^+$。

[3169] 2.119.8(3S,5S)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-(二苄基氨基)吡咯烷-2-酮

[3170] 向实例2.119.7(9.3g)和1H-咪唑(2.2g)在N,N-二甲基甲酰胺中的混合物中添加叔丁基氯二甲基硅烷(11.2mL,在甲苯中的50重量％),并将该反应混合物搅拌过夜。通过添加水和乙醚猝灭反应混合物。将各层分离、并将有机层用盐水洗涤。将合并的水层用二乙醚反萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥、过滤、并在减压下浓缩。将残余物经由硅胶色谱法(用在庚烷中的35％乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(DCI)m/e 425.1(M+H)$^+$。

[3171] 2.119.9叔丁基2-((3S,5S)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-(二苄基氨基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸酯

[3172] 向实例2.119.8(4.5g)在四氢呋喃(45mL)中的冷(0℃)混合物中以两部分添加95％氢氧化钠(320mg)。将冷混合物搅拌40分钟,并添加叔丁基2-溴乙酸酯(3.2mL)。将该反应温热至室温并搅拌过夜。添加水和乙酸乙酯猝灭反应。将各层分离、并将有机层用盐水洗涤。将合并的水层用乙酸乙酯反萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥、过滤、并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的5％-12％乙酸乙酯梯度洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(DCI)m/e 539.2(M+H)$^+$。

[3173] 2.119.10叔丁基2-((3S,5S)-3-(二苄基氨基)-5-(羟甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸酯

[3174] 向实例2.119.9(5.3g)在四氢呋喃(25mL)中的混合物中添加四丁基氟化铵(11mL,1.0M,在95/5四氢呋喃/水中)。将反应在室温下搅拌一小时,并且然后通过添加饱和水性氯化铵混合物、水和乙酸乙酯猝灭反应。将各层分离、并将有机层用盐水洗涤。将合并的水层用乙酸乙酯反萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥、过滤、并在减压下浓缩。将残余物经由硅胶色谱法(用在庚烷中的35％乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(DCI)m/e 425.1(M+H)$^+$。

[3175] 2.119.11叔丁基2-((3S,5S)-5-((2-((4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-3-(二苄基氨基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸酯

[3176] 向实例2.119.10(4.7g)在二甲基亚砜(14mL)中的混合物中添加4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(14.5g)在二甲基亚砜(14mL)中的混合物。添加碳酸钾(2.6g)和水(28μL),并将该反应在60℃在氮下加热一天。将反应冷却至室温,并且然后通过添加盐水混合物、水和二乙醚猝灭。将各层分离、并将有机层用盐水洗涤。将合

并的水层用二乙醚反萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥、过滤、并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的15%-25%乙酸乙酯梯度洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI+)m/e 871.2(M+H)$^+$。

[3177] 2.119.12叔丁基2-((3S,5S)-3-氨基-5-((2-((4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸酯

[3178] 将实例2.119.11(873mg)溶解于乙酸乙酯(5mL)和甲醇(15mL)中,并添加氢氧化钯碳(按重量计20%(180mg))。将反应混合物在氢气氛(30psi)下在室温搅拌30小时,然后在50℃搅拌一小时。将反应冷却至室温,过滤并浓缩,得到希望产物。MS(ESI+)m/e 691.0(M+H)$^+$。

[3179] 2.119.134-(((3S,5S)-1-(2-(叔丁氧基)-2-氧乙基)-5-((2-((4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-2-氧代吡咯烷-3-基)氨基)-4-氧代丁-2-烯酸

[3180] 将马来酸酐(100mg)溶解于二氯甲烷(0.90mL)中,并逐滴添加实例2.119.12(650mg)在二氯甲烷(0.90mL)中的混合物,然后在40℃加热2小时。通过硅胶色谱法(用在含有0.2%乙酸的二氯甲烷中的1.0%-2.5%甲醇的梯度洗脱)直接纯化反应混合物。在浓缩具有产物的级分后,添加甲苯(10mL)并将混合物再次浓缩以提供标题化合物。MS(ESI-)m/e 787.3(M-H)$^-$。

[3181] 2.119.14叔丁基2-((3S,5S)-5-((2-((4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸酯

[3182] 将实例2.119.13(560mg)在甲苯(7mL)中浆化,并添加三乙胺(220μL)和硫酸钠(525mg)。在氮气氛下,将反应在回流加热6小时,并将该反应混合物在室温搅拌过夜。将反应过滤,并将固体用乙酸乙酯冲洗。将洗脱液在减压下浓缩,并将残余物通过硅胶色谱法(用45/55庚烷/乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。

[3183] 2.119.152-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酸

[3184] 将实例2.119.14(1.2g)溶解于三氟乙酸(15mL)中,并在氮下加热至65℃-70℃过夜。将三氟乙酸在减压下去除。将残余物溶解于乙腈(2.5mL)中,并通过制备型反相液相色谱法(在Luna C18(2)AXIA柱(250×50mm,10μm粒度)上,经30分钟使用含有在水中的0.1%三氟乙酸的5%-75%乙腈的梯度)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI-)m/e 375.2(M-H)$^-$。

[3185] 2.119.163-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸

[3186] 通过用实例1.43.7取代实例2.49.1中的实例1.2.9来制备标题化合物。MS(ESI-)m/e 1252.4(M-H)$^-$。

[3187] 2.119.17 N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲

基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[3188] 将实例2.119.15(7mg)溶解在N,N-二甲基甲酰胺(0.15mL)、和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(9mg)中,并且添加N,N-二异丙基乙胺(7μL)。将混合物在室温搅拌3分钟并添加到实例2.119.16(28mg)和N,N-二异丙基乙胺(15μL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.15mL)中的混合物中。1小时后,将反应用N,N-二甲基甲酰胺/水(1/1,1.0mL)稀释,并通过反相色谱法(C18柱)(用在0.1%TFA水中的5%-75%乙腈洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.95(s,1H),9.02(s,1H),8.37(d,1H),8.22(m,2H),8.18(m,2H),8.08(m,2H),8.03(m,1H),7.96(br d,1H),7.81(d,1H),7.70(t,1H),7.61(br m,3H),7.48(m,2H),7.37(t,1H),7.27(br m,2H),7.08(s,2H),4.99(br d,3H),4.68(t,1H),4.39(m,1H),4.20(m,2H),4.04(m,1H),3.87(br d,2H),3.74(brm,1H)3.65(br t,2H),3.48(br m,4H),3.43(br m,2H),3.26(br m,2H),3.00(br m,2H),2.80(m,1H),2.76(m,1H),2.66(br m,2H),2.36(br m,1H),2.22(s,3H),2.00(m,1H),1.87(m,1H),1.69(br m,1H),1.62(brm,1H),1.40(br m,4H),1.31-1.02(m,10H),0.96(m,2H),0.85(m,12H)。MS(ESI-)m/e 1610.3(M-H)$^-$。

[3189] 2.120 N-{(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子SX)的合成

[3190] 2.120.1(S)-甲基3-(4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)丙酸酯

[3191] 向2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基4-甲基苯磺酸酯(82.48g)和碳酸钾(84.97g)于乙腈(1.5L)中的混合物中添加(S)-甲基2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-(4-羟苯基)丙酸酯(72.63g),并将反应混合物在30℃搅拌12小时。在LC/MS显示起始物质被消耗,并且主要产物为希望产物之后,过滤反应,并浓缩滤液,得到粗产物,将粗产物通过制备型HPLC纯化,得到标题化合物。MS(ESI):m/e 811(M+H_2O)$^+$。

[3192] 2.120.2 3-(4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)丙酸

[3193] 向实例2.120.1(90.00g)在四氢呋喃(1.5L)和水(500mL)中的混合物中添加氢氧化锂一水合物(14.27g)。将反应混合物在30℃搅拌12小时,并且LC/MS显示起始物质被消耗,并且主要产物为希望产物。用HCl水溶液调节反应混合物至pH=6,并且浓缩混合物,得到粗标题化合物。MS(ESI):m/e 778.3(M-H)$^-$。

[3194] 2.120.3 3-(4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)-2-氨基丙酸

[3195] 在25℃,在N_2下,向实例2.120.2(88.41g)在二氯甲烷(1.5L)中的混合物中添加三氟乙酸(100mL),并将反应混合物在40℃搅拌12小时。LC/MS显示起始物质被消耗,并且主要产物为希望产物。浓缩混合物,得到粗产物,将该粗产物通过制备型HPLC纯化,得到呈三氟乙酸盐的标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 7.20(d,J=8.6Hz,2H),6.93(d,J=

8.2Hz,2H),4.22(dd,J＝5.5,7.4Hz,1H),4.14-4.06(m,2H),3.84-3.79(m,2H),3.68-3.50(m,40H),3.33(s,3H),3.21(d,J＝5.5Hz,1H),3.12-3.05(m,1H)。MS(ESI)m/e 680.1(M+H)+。

[3196] 2.120.4 4-((2-(4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)-1-羧乙基)氨基)-4-氧代丁-2-烯酸

[3197] 向实例2.120.3(80.00g)在二噁烷(1L)中的混合物中添加呋喃-2,5-二酮(35g),并将反应混合物在120℃搅拌4小时。LC/MS显示起始物质被消耗,并且主要产物为希望产物。浓缩混合物,得到粗标题化合物,将其不经纯化用于下一步骤。MS(ESI)m/e 795.4(M+H)+。

[3198] 2.120.5(S)-3-(4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸

[3199] 向实例2.120.4(96g,粗制)在甲苯(1.5L)中的混合物中添加三乙胺(35.13g),并将反应混合物在120℃搅拌4小时。LC/MS显示起始物质被消耗,并且主要产物为希望产物。过滤反应以分离有机相,并且浓缩有机物,得到粗产物,将粗产物通过制备型HPLC(仪器:Shimadzu LC-20AP制备型HPLC,柱:Phenomenex® Luna® (2)C18250*50mm i.d.10u,流动相:A代表H_2O(0.09%三氟乙酸)并且B代表CH_3CN,梯度:B在20分钟内从15%到43%,流速:80ml/分钟,波长:220nm和254nm,注射量:每次注射1克)进行纯化,然后通过SFC-HPLC进行纯化,提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 6.98(d,2H),6.74(d,2H),6.56(s,2H),4.85(dd,1H),4.03(t,2H),3.84-3.76(m,2H),3.71-3.66(m,2H),3.65-3.58(m,39H),3.55-3.50(m,2H),3.41-3.30(m,4H)。MS(ESI)m/e 760.3(M+H)+。

[3200] 2.120.6 N-{(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[3201] 通过用实例2.120.5取代实例2.119.17中的实例2.119.15来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 10.03(s,1H),9.02(s,1H),8.37(d,1H),8.22(m,3H),8.16(d,1H),8.12(br m,1H),8.07(d,1H),8.01(d,1H),7.96(br d,1H),7.81(d,1H),7.70(t,1H),7.59(br m,2H),7.48(m,2H),7.37(t,1H),7.28(d,2H),7.02(d,2H),6.89(s,2H),6.77(d,2H),4.98(br d,2H),4.79(dd,1H),4.39(br m,1H),4.23(br m,2H),3.99(br m,2H),3.88(br m,2H),3.69(br m,4H),3.55(m,4H),3.50(s,32H),3.42(m,4H),3.27(m,4H),3.23(s,3H),3.20(m,1H),3.03(br m,1H),2.98(m,1H),2.65(br t,2H),2.22(s,3H),1.97(br m,1H),

[3202] 1.69(br m,1H),1.61(br m,1H),1.39(m,4H),1.31-0.91(m,12H),0.85(m,9H),0.77(d,3H)。MS(ESI)m/e 1993.7(M-H)-。

[3203] 2.121 N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰

基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子SW)的合成

[3204] 通过用实例2.49.1取代实例2.119.17中的实例2.119.16来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.96(s,1H),8.17(br d,1H),8.03(d,2H),7.79(d,1H),7.61(m,3H),7.55(d,1H),7.45(m,2H),7.37(m,3H),7.27(d,2H),7.08(s,2H),6.98(d,1H),4.97(m,4H),4.68(t,1H),4.37(br m,1H),4.22(br s,1H),4.17(d,1H),4.03(d,1H),3.89(brt,2H),3.83(br d,2H),3.74(brm,1H),3.65(t,2H),3.49(m,3H),3.40(br m,4H),3.25(br m,2H),3.02(br m,4H),2.80(m,2H),2.67(br m,2H),2.37(br m,1H),2.10(s,3H),1.99(m,1H),1.86(m,1H),1.69(br m,1H),1.61(br m,1H),1.52-0.91(m,16H),0.85(m,12H)。MS(ESI)m/e 1615.4$(M-H)^-$。

[3205] 2.122 N-{(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子TV)的合成

[3206] 向实例2.120.5(19.61mg)和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(9.81mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.8mL)中的混合物中添加N,N-二异丙基乙基胺(27.7μL)。将混合物搅拌5分钟,并在0℃添加到实例2.112.2在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的冷混合物中。将反应混合物在0℃搅拌40分钟,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ9.99(s,1H),8.19(d,1H),8.14-8.04(m,1H),8.00(dd,1H),7.75(d,1H),7.62-7.52(m,3H),7.49(d,1H),7.46-7.37(m,2H),7.36-7.29(m,2H),7.28-7.21(m,3H),6.99(d,2H),6.92(d,1H),6.85(s,2H),6.79-6.71(m,2H),4.94(d,3H),4.76(dd,1H),4.35(d,1H),4.20(t,1H),3.96(dd,2H),3.85(t,2H),3.77(d,2H),3.66(dd,2H),3.52(dd,2H),3.50-3.47(m,2H),3.39(dd,2H),3.20(s,4H),2.97(t,3H),2.60(t,2H),2.13-2.01(m,3H),1.93(s,1H),1.61(d,2H),1.49-0.88(m,10H),0.87-0.59(m,12H)。MS(ESI)m/e 1998.7$(M-H)^-$。

[3207] 2.123(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸(合成子SZ)的合成

[3208] 2.123.1(3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三(苄氧基)-6-(苄氧基甲基)-四氢吡喃-2-酮

[3209] 在0℃,向(3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三(苄氧基)-6-((苄氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-醇(75g)在二甲基亚砜(400mL)中的混合物中添加乙酸酐(225mL)。将混合物在室温搅拌16小时,然后将其冷却至0℃。添加大量水,并且停止搅拌使反应混合物静置3小时(粗内酯移动到烧瓶底部)。除去上清液,并将粗混合物用乙酸乙酯稀释,并用水洗涤3次,用饱和$NaHCO_3$水性混合物中和,并且再用水洗涤两次。然后将有机层经硫酸镁干燥,过滤并浓缩以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 561$(M+Na)^+$。

[3210] 2.123.2(3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三(苄氧基)-6-(苄氧基甲基)-2-乙炔基-四氢-2H-吡喃-2-醇

[3211] 向在氮下以及在干冰/丙酮浴(内部温度-65℃)中的乙炔基三甲基硅烷(18.23g)在四氢呋喃(400mL)中的混合物中逐滴添加于己烷中的2.5M BuLi(55.7mL),保持温度低于-60℃。将混合物在冷浴中搅拌40分钟,随后在冰水浴中搅拌40分钟(内部温度升高至0.4℃),并最终再次冷却至-75℃。逐滴添加实例2.123.1(50g)在四氢呋喃(50mL)中的混合物,保持内部温度低于-70℃。将混合物在干冰/丙酮浴中搅拌另外的3小时。将反应用饱和水性$NaHCO_3$混合物(250mL)猝灭。允许混合物温至室温,用乙酸乙酯(3x 300mL)萃取,经$MgSO_4$干燥,过滤,并在真空中浓缩以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 659$(M+Na)^+$。

[3212] 2.123.3三甲基(((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三(苄氧基)-6-(苄氧基甲基)-四氢-2H-吡喃-2-基)乙炔基)硅烷

[3213] 在-15℃在冰盐浴中,向实例2.123.2(60g)在乙腈(450mL)和二氯甲烷(150mL)中的混合的混合物中逐滴添加三乙基硅烷(81mL),随后以一定速率添加三氟化硼二乙醚复合物(40.6mL),在此速率下内部温度不超过-10℃。然后将混合物在-15℃至-10℃搅拌2小时。将反应用饱和水性$NaHCO_3$混合物(275mL)猝灭,并在室温搅拌1小时。然后将混合物用乙酸乙酯(3×550mL)萃取。将萃取物经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。将残余物通过快速色谱法(用0%至7%乙酸乙酯/石油醚梯度洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 643$(M+Na)^+$。

[3214] 2.123.4(2R,3R,4R,5S)-3,4,5-三(苄氧基)-2-(苄氧基甲基)-6-乙炔基-四氢-2H-吡喃

[3215] 向实例2.123.3(80g)在二氯甲烷(200mL)和甲醇(1000mL)中的混合的混合物中添加1N水性NaOH混合物(258mL)。将混合物在室温搅拌2小时。除去溶剂。然后将残余物在水和二氯甲烷之间分配。将萃取物用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并浓缩以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 571$(M+Na)^+$。

[3216] 2.123.5(2R,3R,4R,5S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-乙炔基-四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3217] 向通过冰/水浴冷却的实例2.123.4(66g)在乙酸酐(500mL)中的混合物中逐滴添加三氟化硼二乙醚复合物(152mL)。将该混合物在室温搅拌16小时,用冰/水浴冷却并用饱和水性$NaHCO_3$混合物中和。将混合物用乙酸乙酯(3×500mL)萃取,经Na_2SO_4干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过快速色谱法(用0%至30%乙酸乙酯/石油醚梯度洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 357$(M+H)^+$。

[3218] 2.123.6(3R,4R,5S,6R)-2-乙炔基-6-(羟甲基)-四氢-2H-吡喃-3,4,5-三醇

[3219] 向实例2.123.5(25g)在甲醇(440mL)中的混合物中添加甲醇钠(2.1g)。将该混合物在室温搅拌2小时,然后用在二噁烷中的4M HCl中和。除去溶剂,并且将残余物吸附在硅胶上,并加载到硅胶柱上。将该柱用0至100%乙酸乙酯/石油醚的梯度、然后0%至12%甲醇/乙酸乙酯的梯度洗脱以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 211$(M+Na)^+$。

[3220] 2.123.7(2S,3S,4R,5R)-6-乙炔基-3,4,5-三羟基-四氢-2H-吡喃-2-甲酸

[3221] 将三颈圆底烧瓶用实例2.123.6(6.00g)、KBr(0.30g)、四丁基溴化铵(0.41g)和60mL的饱和水性$NaHCO_3$混合物填充。添加在60mL二氯甲烷中的TEMPO((2,2,6,6-四甲基哌

啶-1-基)烃氧基,0.15g)。将混合物剧烈搅拌并在冰盐浴中冷却至-2℃的内部温度。逐滴添加盐水(12mL)、水性$NaHCO_3$混合物(24mL)和NaOCl(154mL)的混合物,使得内部温度维持在低于2℃。通过添加固体Na_2CO_3将反应混合物的pH保持在8.2-8.4范围内。总计6小时后,将反应混合物冷却至3℃内部温度,并逐滴添加乙醇(约20mL)。将混合物搅拌约30分钟。将混合物转移到分液漏斗中,并且弃去二氯甲烷层。使用1M HCl水溶液将水层的pH调节至2-3。然后将水层浓缩至干燥,得到固体。向干燥固体中加入甲醇(100mL),并且搅拌浆液约30分钟。将混合物经硅藻土垫过滤,并且将漏斗中的残余物用约100mL的甲醇洗涤。将滤液在减压下浓缩,以得到标题化合物。

[3222] 2.123.8(2S,3S,4R,5R)-甲基6-乙炔基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-甲酸酯

[3223] 将500mL三颈圆底烧瓶用实例2.123.7(6.45g)在甲醇(96mL)中的悬浮液填充并在冰盐浴中冷却,其中内部温度为-1℃。小心地加入纯亚硫酰氯(2.79mL)。在整个添加过程中内部温度保持上升但不超过10℃。使反应在2.5小时内缓慢升温至15℃-20℃。在2.5小时后,将反应浓缩以提供标题化合物。

[3224] 2.123.9(3S,4R,5S,6S)-2-乙炔基-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3225] 向实例2.123.8(6.9g)在N,N-二甲基甲酰胺(75mL)中的混合物中添加4-(二甲氨基)吡啶(0.17g)和乙酸酐(36.1mL)。将悬浮液在冰浴中冷却,并在15分钟内通过注射器添加吡啶(18.04mL)。允许将反应物温热至室温过夜。添加另外的乙酸酐(12mL)和吡啶(6mL)并继续搅拌另外的6小时。将反应在冰浴中冷却,并且添加250mL饱和NaHCO3水溶液混合物并搅拌1小时。添加水(100mL),并且将混合物用乙酸乙酯萃取。将有机萃取物用饱和$CuSO_4$混合物洗涤两次,干燥,过滤并浓缩。将残余物通过快速色谱法(用50%乙酸乙酯/石油醚洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^1H NMR(500MHz,甲醇-d_4)δppm 5.29(t,1H),5.08(td,2H),4.48(dd,1H),4.23(d,1H),3.71(s,3H),3.04(d,1H),2.03(s,3H),1.99(s,3H),1.98(s,4H)。

[3226] 2.123.102-碘-4-硝基苯甲酸

[3227] 在氮气氛下向装有机械搅拌器、温度探针和加料漏斗的3L全夹套烧瓶中添加2-氨基-4-硝基苯甲酸(69.1g,Combi-Blocks)和硫酸(1.5M水溶液(696mL))。将所得悬浮液冷却至0℃内部温度,并经43分钟逐滴添加亚硝酸盐(28.8g)在水(250mL)中的混合物,其中温度保持低于1℃。将反应在约0℃搅拌1小时。经44分钟逐滴添加碘化钾(107g)在水(250mL)的混合物,其中内部温度保持低于1℃。(最初添加是放热的并且存在气体逸出)。将反应在0℃搅拌1小时。将温度升至20℃,并且然后在环境温度下搅拌过夜。反应混合物变成悬浮液。将反应混合物过滤并将收集的固体用水洗涤。将湿固体(约108g)在10%亚硫酸钠(350ml,用约200mL水洗涤固体)中搅拌30分钟。将悬浮液用浓盐酸(35mL)酸化,并且通过过滤收集固体并用水洗涤。将固体在水(1L)中浆化并重新过滤,并将固体在漏斗中干燥过夜。然后将固体在真空烘箱中在60℃干燥2小时。将所得固体用二氯甲烷(500mL)研磨,并且过滤悬浮液并用另外的二氯甲烷洗涤。将固体风干,以给出标题化合物。

[3228] 2.123.11(2-碘-4-硝基苯基)甲醇

[3229] 将火焰干燥的3L 3-颈烧瓶用实例2.123.10(51.9g)和四氢呋喃(700mL)填充。将混合物在冰浴中冷却至0.5℃,并经50分钟逐滴添加(气体逸出)硼烷-四氢呋喃复合物

(443mL,1M,在THF中),达到1.3℃的最终内部温度。将反应混合物搅拌15分钟,并且移除冰浴。使反应经30分钟静置达到环境温度。安装加热套,并且将反应加热至65.5℃的内部温度持续3小时,并且然后冷却至室温,同时搅拌过夜。将反应混合物在冰浴中冷却至0℃并通过滴加甲醇(400mL)猝灭。在短暂的孵育期后,温度迅速升高至2.5℃并伴随气体逸出。在约30分钟内加入第一批100mL后,加入不再放热,而且气体逸出停止。将冰浴移除并且将混合物在环境温度下在氮气下搅拌过夜。将混合物浓缩成固体,溶于二氯甲烷/甲醇中并吸附到硅胶(约150g)上。将残余物加载在硅胶塞(3000mL)上,并用二氯甲烷洗脱以提供标题化合物。

[3230] 2.123.12(4-氨基-2-碘代苯基)甲醇

[3231] 将装备有机械搅拌器、由JKEM温度探针控制的加热套和冷凝器的5L烧瓶用实例2.123.11(98.83g)和乙醇(2L)填充。迅速搅拌反应,并添加铁(99g),随后添加氯化铵(20.84g)在水(500mL)中的混合物。当反应开始剧烈回流时,将反应经20分钟的时间加热至80.3℃的内部温度。移除套直到回流平静。之后,将混合物加热至80℃持续1.5小时。将反应通过膜过滤器热过滤,并将铁残余物用热的50%乙酸乙酯/甲醇(800mL)洗涤。使洗脱液流经硅藻土垫,并且浓缩滤液。将残余物在50%盐水(1500mL)与乙酸乙酯(1500mL)之间分配。将各层分离,并将水层用乙酸乙酯(400mL×3)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩以提供标题化合物,将其不经进一步纯化而使用。

[3232] 2.123.134-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-碘苯胺

[3233] 将具有机械搅拌器的5L烧瓶用实例2.123.12(88g)和二氯甲烷(2L)填充。将悬浮液在冰浴中冷却至内部温度为2.5℃,并在8分钟内分批加入叔丁基氯二甲基硅烷(53.3g)。10分钟后,将1H-咪唑(33.7g)分批加入到冷反应中。将反应搅拌90分钟,同时内部温度升至15℃。将反应混合物用水(3L)和二氯甲烷(1L)稀释。将各层分离,并且将有机层经硫酸钠干燥,过滤,并浓缩成油状物。将残余物通过硅胶色谱法(1600g硅胶)(在庚烷中的0-25%乙酸乙酯的梯度洗脱)进行纯化,以给出呈油状物的标题化合物。

[3234] 2.123.14(S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酸

[3235] 向(S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酸(6.5g)在二甲氧基乙烷(40mL)中的混合物中添加(S)-2-氨基丙酸(1.393g)和在水(40mL)中的碳酸氢钠(1.314g)。添加四氢呋喃(20mL)以辅助溶解。将所得混合物在室温下搅拌16小时。添加柠檬酸水溶液(15%,75mL),并将混合物用在乙酸乙酯(2×100mL)中的10%2-丙醇萃取。在有机层中形成沉淀物。将合并的有机层用水(2×150mL)洗涤。将有机层在减压下浓缩,并且然后用二乙醚(80mL)研磨。在短暂的超声处理后,通过过滤收集标题化合物。MS(ESI)m/e 411(M+H)$^+$。

[3236] 2.123.15(9H-芴-9-基)甲基((S)-1-(((S)-1-((4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-碘代苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯

[3237] 向实例2.123.13(5.44g)和实例2.123.14(6.15g)在二氯甲烷(70mL)和甲醇(35.0mL)的混合物中的混合物中添加乙基2-乙氧基喹啉-1(2H)-甲酸酯(4.08g),并将该反应搅拌过夜。将反应混合物浓缩,并加载在硅胶上,用在乙酸乙酯中的10%至95%庚烷梯度、随后用在二氯甲烷中的5%甲醇洗脱。将含有产物的级分浓缩,溶于0.2%甲醇的二氯甲

烷(50mL)溶液中,加载到硅胶上,并用0.2%至2%甲醇的二氯甲烷溶液梯度洗脱。收集含有产物的级分以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 756.0(M+H)$^+$。

[3238] 2.123.16(2S,3S,4R,5S,6S)-2-((5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)乙炔基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3239] 将实例2.123.9(4.500g)、实例2.123.15(6.62g)、碘化亚铜(I)(0.083g)和双(三苯基膦)二氯化钯(II)(0.308g)的混合物在小瓶中合并,并且脱气。添加N,N-二甲基甲酰胺(45mL)和N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(4.55mL),并将反应容器用氮气冲洗并在室温下搅拌过夜。将反应在水(100mL)与乙酸乙酯(250mL)之间分配。将各层分离,并且将有机层经硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在庚烷中的5%至95%乙酸乙酯梯度洗脱)进行纯化。收集含有产物的级分,浓缩并通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的0.25%至2.5%甲醇的梯度洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 970.4(M+H)$^+$。

[3240] 2.123.17(2S,3S,4R,5S,6S)-2-(5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯乙基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3241] 将实例2.123.16(4.7g)和四氢呋喃(95mL)添加到50mL压力瓶中的5%Pt/C(2.42g,湿)中,并在室温在50psi氢气下振荡90分钟。将反应过滤并浓缩,以得到标题化合物。MS(ESI)m/e 974.6(M+H)$^+$。

[3242] 2.123.18(2S,3S,4R,5S,6S)-2-(5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(羟甲基)苯乙基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3243] 将实例2.123.17(5.4g)在四氢呋喃(7mL)、水(7mL)和冰醋酸(21mL)中的混合物在室温搅拌过夜。将反应用乙酸乙酯(200mL)稀释并用水(100mL)、饱和水性$NaHCO_3$混合物(100mL)、盐水(100mL)洗涤,经硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的0.5%至5%甲醇梯度洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 860.4(M+H)$^+$。

[3244] 2.123.19(2S,3S,4R,5S,6S)-2-(5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯乙基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3245] 在室温向实例2.123.18(4.00g)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(2.83g)在乙腈(80mL)中的混合物中添加N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(1.22mL)。在搅拌过夜后,将反应浓缩,溶解于二氯甲烷(250mL)中并用饱和水性$NaHCO_3$混合物(4×150mL)洗涤。将有机层用硫酸镁干燥,过滤并浓缩。将所得泡沫通过硅胶色谱法(用在己烷中的5%至75%乙酸乙酯的梯度洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 1025.5(M+H)$^+$。

[3246] 2.123.203-(1-((3-(2-((((4-((R)-2-((R)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3247] 向实例2.123.19(70mg)和实例1.2.9(58.1mg)在N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中的冷

却的(0℃)混合物中添加N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.026mL)。将该反应缓慢温热至室温并搅拌过夜。向反应混合物中添加水(1mL)和LiOH H_2O(20mg)。将混合物在室温搅拌3小时。将混合物用三氟乙酸酸化,过滤,并通过反相HPLC(在系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物吉尔森。MS(ESI)m/e 1564.4 $(M-H)^-$。

[3248] 2.123.21(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸

[3249] 如在实例2.54中描述的,用实例2.123.20替换实例2.49.1来制备标题化合物。^1H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.86(s,1H),9.92(d,1H),8.35-8.19(m,2H),8.04(d,1H),7.80(d,1H),7.61(d,1H),7.57-7.32(m,8H),7.28(s,1H),7.22(d,1H),7.08(s,2H),6.95(d,1H),5.12-4.91(m,5H),4.39(t,1H),4.32-4.19(m,1H),4.12(s,2H),3.89(t,2H),3.80(d,2H),3.14(t,1H),3.06-2.87(m,4H),2.69-2.58(m,4H),2.37(p,1H),2.09(d,4H),2.04-1.91(m,4H),1.54(d,1H),1.40-0.99(m,20H),0.99-0.74(m,16H)。MS(ESI)m/e 1513.5$(M-H)^-$。

[3250] 2.124 3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-(4-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡糖醛酸基氧基)苄基]氧基}羰基)氨基}丙基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子ZM)的合成

[3251] 2.124.1A(9H-芴-9-基)甲基丁-3-炔-1-基氨基甲酸酯

[3252] 将丁-3-炔-1-胺盐酸盐(9g)和N,N-二异丙基乙胺(44.7mL)的混合物在二氯甲烷(70mL)中搅拌并冷却至0℃。添加(9H-芴-9-基)甲基氯甲酸酯(22.06g)在二氯甲烷(35mL)中的混合物,并将该反应搅拌2小时。将反应浓缩,并将残余物通过硅胶色谱法(用在乙酸乙酯(10%-25%)中的石油醚洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 314$(M+Na)^+$。

[3253] 2.124.1B(3R,4S,5S,6S)-2-(2-甲酰基-5-碘苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3254] 向搅拌的2-羟基-4-碘苯甲醛(0.95g)的乙腈(10ml)溶液中添加(3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(2.5g)和氧化银(2g)。将混合物用铝箔覆盖并在室温下搅拌过夜。通过硅藻土过滤后,将滤液用乙酸乙酯洗涤,浓缩溶液。将反应混合物通过快速色谱法(使用ISCO CombiFlash系统,SF40-80g柱)进行纯化,用15%-30%乙酸乙酯/庚烷(流速:60ml/min)洗脱,得到标题化合物。MS(ESI)m/e 586.9$(M+Na)^+$。

[3255] 2.124.2(2S,3S,4S,5R,6S)-甲基6-(5-(4-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)丁-1-炔基)-2-甲酰基苯氧基)-3,4,5-三乙氧基-四氢-2H-吡喃-2-甲酸酯

[3256] 将实例2.124.1B(2.7g)、实例2.124.1A(2.091g)、双(三苯基膦)氯化钯(II)(0.336g)和碘化亚铜(I)(0.091g)称重至小瓶中,并用氮流冲洗。添加三乙胺(2.001mL)和四氢呋喃(45mL),并将该反应在室温搅拌。搅拌16小时后,将反应用乙酸乙酯(200mL)稀释,

并且用水(100mL)和盐水(100mL)洗涤。将有机层用硫酸镁干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在乙酸乙酯(10%-50%)中的石油醚洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 750$(M+Na)^+$。

[3257] 2.124.3(2S,3S,4S,5R,6S)-甲基6-(5-(4-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)丁基)-2-甲酰基苯氧基)-3,4,5-三乙氧基-四氢-2H-吡喃-2-甲酸酯

[3258] 将实例2.124.2(1.5g)和四氢呋喃(45mL)添加到在100mL压力瓶中的10%Pd-C(0.483g)中,并在室温在1atm H_2下搅拌16小时。将反应过滤并浓缩,以得到标题化合物。MS(ESI)m/e 754$(M+Na)^+$。

[3259] 2.124.4(2S,3S,4S,5R,6S)-甲基6-(5-(4-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)丁基)-2-(羟甲基)苯氧基)-3,4,5-三乙氧基-四氢-2H-吡喃-2-甲酸酯

[3260] 将实例2.124.3(2.0g)在四氢呋喃(7.00mL)和甲醇(7mL)中的混合物冷却至0℃,并一次性添加$NaBH_4$(0.052g)。在30分钟后,将反应用乙酸乙酯(150mL)和水(100mL)稀释。将有机层分离,用盐水(100mL)洗涤,经硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用在乙酸乙酯(10%-40%)中的石油醚洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 756$(M+Na)^+$。

[3261] 2.124.5(2S,3S,4S,5R,6S)-甲基6-(5-(4-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)丁基)-2-(((4-硝基苯氧基)羰基氧基)甲基)苯氧基)-3,4,5-三乙氧基-四氢-2H-吡喃-2-甲酸酯

[3262] 在0℃,向实例2.124.4(3.0g)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(2.488g)在干乙腈(70mL)中的混合物中添加N,N-二异丙基乙胺(1.07mL)。在室温搅拌16小时后,将反应浓缩,以给出残余物,将该残余物通过硅胶色谱法(用在乙酸乙酯(10%-50%)中的石油醚洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 921$(M+Na)^+$。

[3263] 2.124.6 3-(1-((3-(2-((((4-(4-氨基丁基)-2-(((2R,3S,4R,5R,6R)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(3-(((2S,3S,4R,5R,6R)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸

[3264] 向实例2.124.5(44mg)和实例1.87.3(47.4mg)在N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中的冷却的(0℃)混合物中添加N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.026mL)。将该反应缓慢温热至室温并搅拌过夜。向反应混合物中添加水(1mL)和LiOH H_2O(20mg)。将混合物在室温搅拌3小时。将混合物用三氟乙酸酸化,过滤,并通过反相HPLC(在系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物吉尔森。MS(ESI)m/e 1564.4$(M-H)^-$。

[3265] 2.124.7 3-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-(4-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡糖醛酸基氧基)苄基]氧基}羰基)氨基}丙基β-D-吡喃葡糖苷酸

[3266] 如在实例2.5.4中描述的,用实例2.124.6替换实例2.5.3来制备标题化合物。^1H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.06(s,2H),8.99(s,1H),8.34(dd,1H),8.25-8.09(m,3H),8.08-8.02(m,1H),7.98(d,1H),7.89(d,1H),7.78(d,1H),7.66(q,2H),7.50-7.41(m,

2H),7.37-7.31(m,1H),7.14(t,1H),6.94(s,2H),6.90(s,1H),6.82(d,1H),5.14-5.02(m,2H),4.97(d,1H),4.19(d,1H),3.85(dd,3H),3.37-3.23(m,9H),3.14(t,1H),3.04-2.92(m,4H),2.19(s,3H),1.96(t,2H),1.73(s,2H),1.55-0.87(m,21H),0.81(d,6H)。MS(ESI)m/e 1564.4$(M-H)^-$。

[3267] 2.125 N-{[(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基]乙酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子SV)的合成

[3268] 2.125.1叔丁基2-((3S,5S)-3-(二苄基氨基)-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸酯

[3269] 向实例2.119.10(1.4g)在N,N-二甲基甲酰胺(5mL)中的混合物中添加碘代甲烷(0.8mL)。将反应冷却至0℃,并且添加95%氢化钠(80mg)。在五分钟后,移除冷却浴,并将反应在室温下搅拌2.5小时。通过添加水(20ml)和乙酸乙酯(40ml)猝灭反应。将各层分离、并将有机层用盐水洗涤。将合并的水层用乙酸乙酯(10mL)反萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥、过滤、并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(用80/20庚烷/乙酸乙酯洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(DCI)m/e 439.2$(M+H)^+$。

[3270] 2.125.2叔丁基2-((3S,5S)-3-氨基-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸酯

[3271] 向实例2.125.1(726mg)在2,2,2-三氟乙醇(10mL)中的混合物中添加氢氧化钯碳(按重量计20%,150mg)。将反应在氢气氛(50psi)下、在室温搅拌两小时。将反应过滤并浓缩,以得到标题化合物。MS(DCI)m/e 259.0$(M+H)^+$。

[3272] 2.125.3 4-(((3S,5S)-1-(2-(叔丁氧基)-2-氧乙基)-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-3-基)氨基)-4-氧代丁-2-烯酸

[3273] 通过用实例2.125.2取代实例2.119.13中的实例2.119.12来制备标题化合物。MS(DCI)m/e 374.0$(M+NH_3+H)^+$。

[3274] 2.125.4叔丁基2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸酯

[3275] 通过用实例2.125.3取代实例2.119.14中的实例2.119.13来制备标题化合物。MS(DCI)m/e 356.0$(M+NH_3+H)^+$。

[3276] 2.125.5 2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸

[3277] 向实例2.125.4(120mg)在二氯甲烷(8mL)中的混合物中添加三氟乙酸(4mL)。将反应在室温搅拌90分钟并且然后在减压下浓缩。将残余物溶解于乙腈(4mL)中,并通过制备型反相HPLC(用Luna C18(2)AXIA柱,250×50mm,10μ粒度,经30分钟使用在0.1%三氟乙酸水溶液的5%-75%乙腈的梯度)进行纯化以提供标题化合物。MS(DCI)m/e 300.0$(M+NH_3+H)^+$。

[3278] 2.125.6 N-{[(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基]乙酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-

1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[3279] 通过用实例2.125.5取代实例2.119.17中的实例2.119.15、以及用实例2.49.1取代实例2.119.17中的实例2.119.16来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.98(s,1H),8.19(br d,1H),8.03(d,1H),7.96(d,1H),7.79(d,1H),7.61(m,3H),7.55(d,1H),7.45(m,2H),7.37(m,2H),7.32(s,1H),7.27(d,2H),7.08(s,2H),6.96(d,1H),5.00(m,2H),4.96(s,2H),4.69(t,1H),4.39(br m,1H),4.28(m,1H),4.20(d,1H),3.88(t,3H),3.81(br m,3H),3.46(m,3H),3.40(m,2H),3.26(br m,2H),3.25(s,3H),3.01(m,3H),2.96(m,1H),2.65(t,2H),2.36(brm,1H),2.10(s,3H),2.00(m,1H),1.94(m,1H),1.69(br m,1H),1.59(brm,1H),1.49-0.92(m,16H),0.88(d,3H),0.83(m,9H)。MS(ESI)m/e 1521.5(M-H)$^-$。

[3280] 2.126(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸(合成子SY)的合成

[3281] 如在实例2.123.21中描述的,用2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯替换2,5-二氧吡咯烷-1-基2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸酯来制备标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.83(s,1H),9.87(s,1H),8.09(d,1H),8.05-7.95(m,1H),7.77(d,2H),7.59(d,1H),7.55-7.31(m,7H),7.28(s,1H),7.20(d,1H),6.97(s,2H),6.94(d,1H),5.08-4.84(m,5H),4.36(p,1H),3.78(d,2H),3.54(t,1H),3.48-3.28(m,9H),3.21(s,2H),3.12(t,2H),3.02-2.84(m,4H),2.81-2.54(m,6H),2.19-1.84(m,9H),1.63-1.39(m,6H),1.35(s,1H),1.29-0.86(m,18H),0.80(td,15H)。MS(ESI)m/e 1568.4(M-H)$^-$。

[3282] 2.127 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(4-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}丁基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子TK)的合成

[3283] 2.127.1 3-(1-((3-(2-((((4-(4-氨基丁基)-2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3284] 向实例1.2.9(0.030g)、实例2.124.5(0.031g)和1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-醇水合物(5mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的混合物中添加N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.017mL),并将反应混合物搅拌3小时。将反应混合物浓缩,溶于四氢呋喃(0.4mL)和甲醇(0.4mL)中,并用氢氧化锂水合物(0.020g)的水(0.5mL)混合物处理。1小时后,将反应用2,2,2-三氟乙酸(0.072mL)猝灭,用N,N-二甲基甲酰胺:水(1:1)(1mL)稀释,并通过制备性反相HPLC(使用吉尔森PLC 2020系统,用5%至75%乙腈/水的梯度洗脱)进行纯化。将含有产

物的级分合并并冻干，得到标题化合物。MS(ESI)m/e 1251.7$(M+H)^+$。

[3285] 2.127.2 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(4-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}丁基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[3286] 向实例2.127.1(0.027g)和2,5-二氧吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(6.32mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的混合物中添加N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.017mL)，并将该反应在室温搅拌1小时。将反应用2,2,2-三氟乙酸(0.038mL)、水(1.5mL)和N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)的混合物猝灭，并通过制备型反相HPLC(在吉尔森2020系统上，使用5％至75％乙腈/水梯度)进行纯化。将含有产物的级分冻干，以得到标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.84(s,1H),8.03(dd,1H),7.91-7.85(m,1H),7.78(d,1H),7.61(dd,1H),7.52(dd,1H),7.50-7.40(m,2H),7.39-7.31(m,2H),7.31(s,1H),7.17(dd,1H),6.99-6.90(m,4H),6.83(d,1H),5.15-5.04(m,2H),5.05-4.96(m,1H),4.95(s,2H),3.91-3.83(m,4H),3.81(d,3H),3.58(t,2H),3.42(td,3H),3.33-3.24(m,5H),3.00(q,4H),2.68(dt,2H),2.29(t,2H),2.09(d,3H),1.49(d,3H),1.34(td,5H),1.21(dd,5H),1.15-1.07(m,2H),1.07(s,4H),0.95(q,1H),0.82(d,6H)。MS(ESI)m/e 1402.1$(M+H)^+$。

[3287] 2.128 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[4-({(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基}氨基)丁基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子TR)的合成

[3288] 将实例2.120.5(0.035g)、O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N’,N’-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(0.015g)和N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.015mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的混合物搅拌5分钟。将该混合物添加至实例2.127.1(0.030g)和N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.015mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的混合物中，并在室温搅拌3小时。将反应用水(1.5mL)、N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)和2,2,2-三氟乙酸(0.034mL)的混合物稀释，并通过制备型反相HPLC(在吉尔森2020系统上，使用5％至85％乙腈/水梯度)进行纯化。将含有产物的级分冻干，以得到标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.83(s,1H),8.04-7.93(m,2H),7.76(d,1H),7.58(dd,1H),7.53-7.36(m,3H),7.37-7.25(m,3H),7.15(d,1H),6.97-6.88(m,4H),6.87(d,2H),6.85-6.77(m,1H),6.76-6.69(m,2H),5.13-4.96(m,3H),4.92(s,2H),3.95(dd,2H),3.84(d,2H),3.78(s,8H),3.69-3.60(m,2H),3.47(d,38H),3.48-3.35(m,6H),3.20(s,8H),3.10(dd,2H),2.98(t,2H),2.69-2.60(m,2H),2.50(d,1H),2.06(s,3H),1.49(t,2H),1.35(s,4H),1.21(d,4H),1.05(s,6H),0.79(d,6H)。MS(ESI)m/e 1991.6$(M-H)^-$。

[3289] 2.129(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-

[(N-{(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸(合成子TY)的合成

[3290] 将实例2.120.5(0.033g)、O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(0.014g)和N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.015mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的混合物搅拌5分钟。将此混合物添加至实例2.123.20(0.032g)和N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.015mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的混合物中,并在室温搅拌3小时。将反应用水(1.5mL)、N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)和2,2,2-三氟乙酸(0.033mL)的混合物稀释,并通过制备型反相HPLC(在吉尔森2020系统上,使用5%至85%乙腈/水梯度)进行纯化。将含有产物的级分冻干,以得到标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δ9.90(d,1H),8.25(d,1H),8.12(m,1),8.01(m,1H),1.78(m,1H),7.59(d,1H),7.53-7.40(m,4H),7.43-7.30(m,4H),7.27(s,1H),7.18(d,2H),7.06(s,1H),7.00(d,2H),6.97-6.91(m,2H),6.87(s,2H),6.76(d,2H),5.02-4.92(m,4H),4.77(dd,1H),4.20(t,1H),3.98(dd,2H),3.86(t,2H),3.78(d,2H),3.70-3.65(m,2H),3.54(s,2H),3.55-3.45(m,38H),3.45-3.37(m,2H),3.35-3.25(m,2H),3.21(s,4H),3.17-3.06(m,2H),2.99(t,2H),2.73(s,2H),2.61(s,4H),2.07(d,4H),2.01(s,2H),1.94(s,2H),1.54(s,2H),1.27(d,4H),1.22(s,2H),1.11(s,6H),1.08-0.99(m,2H),0.90-0.79(m,6H),0.76(d,6H)。MS(ESI)m/e705.6(M-3H)$^{3-}$。

[3291] 2.1306-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)-4-((S)-2-((S)-2-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸(合成子TX)的合成

[3292] 通过用实例2.123.20取代实例2.119.17中的实例2.119.16来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.85(s,1H),8.17(br d,1H),8.01(d,2H),7.77(d,1H),7.59(d,1H),7.53(d,1H),7.43(m,4H),7.34(m,3H),7.19(d,1H),7.06(s,2H),6.96(d,1H),4.99(m,2H),4.95(s,2H),4.63(t,1H),4.36(t,1H),4.19(br m,1H),4.16(d,1H),3.98(d,1H),3.87(br t,2H),3.81(br d,2H),3.73(brm,1H),3.63(t,2H),3.53(m,2H),3.44(m,4H),3.31(t,2H),3.21(br m,2H),3.17(m,2H),3.00(m,2H),2.92(br m,1H),2.75(m,3H),2.65(br m,3H),2.35(br m,1H),2.07(s,3H),1.98(brm,2H),1.85(m,1H),1.55(br m,1H),1.34(br m,1H),1.26(br m,6H),1.09(brm,7H),0.93(br m,1H),0.87,0.83,0.79(全部为d,总计12H)。MS(ESI)m/e 1733.4(M-H)$^-$。

[3293] 2.1316-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-(4-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)丁基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸(合成子TZ)的合成

[3294] 通过用实例2.127.1取代实例2.119.17中的实例2.119.16来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.02(d,1H),7.82(br t,1H),7.77(d,1H),7.60(d,1H),

7.53(br d,1H),7.45(ddd,1H),7.42(d,1H),7.36(d,1H),7.35(s,1H),7.33(m,1H),7.15(d,1H),7.05(s,2H),6.97(d,1H),6.94(s,1H),6.83(d,1H),5.07(br m,2H),5.00(d,1H),4.95(s,2H),4.69(t,1H),4.04(d,2H),3.87(m,3H),3.82(m,3H),3.73(br m,1H),3.61(m,2H),3.47(br m,3H),3.40(m,4H),3.29(m,4H),3.06(br m,2H),3.00(t,2H),2.73(br m,2H)2.69(br m,2H),2.52(br t,2H),2.35(br m,1H),2.08(s,3H),1.81(m,1H),1.53(brm,2H),1.40(m,2H),1.35(br m,2H),1.29-0.88(br m,10H),0.82,0.80(两者均为s,总计6H)。MS(ESI-)m/e 1607.5(M-H)$^-$。

[3295] 2.132 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子UA)的合成

[3296] 向实例2.127.1(0.032g)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的混合物中添加N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.025mL),并将该混合物冷却至0℃。一次性添加2,5-二氧吡咯烷-1-基2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸酯(8.86mg)并在0℃搅拌45分钟。将反应用水(1.5mL)、N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)和2,2,2-三氟乙酸(0.036mL)的混合物稀释,并通过制备型反相HPLC(在吉尔森2020系统上,使用5%至75%乙腈/水梯度)进行纯化。将含有产物的级分冻干,以得到标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.86(s,1H),8.06(s,1H),8.02(dd,1H),7.77(d,1H),7.60(dd,1H),7.51(dd,1H),7.49-7.39(m,2H),7.38-7.28(m,3H),7.17(dd,1H),7.06(d,2H),6.98-6.89(m,2H),6.83(d,1H),5.13-5.03(m,2H),5.04-4.96(m,1H),4.94(s,2H),3.97(s,2H),3.90-3.77(m,6H),3.50(s,1H),3.50-3.41(m,2H),3.41(dt,3H),3.28(dt,4H),3.06-2.96(m,4H),2.66(dt,2H),2.51(s,2H),2.08(d,3H),1.52(s,2H),1.42-1.32(m,4H),1.23(d,4H),1.11(q,2H),1.06(s,4H),0.81(d,6H)。MS(ESI)m/e 1388.0(M+H)$^+$。

[3297] 2.133 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子UZ)的合成

[3298] 2.133.1 3-(1-((3-(2-((((4-(4-氨基丁基)-2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸

[3299] 向实例2.124.5(0.060g)、实例1.43.7(0.056g)和1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-醇(8mg)在二甲基亚砜(0.5mL)中的混合物中添加N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.056mL),并且在室温下搅拌反应3小时。将反应用氢氧化锂水合物(0.026g)在水(1mL)中的混合物处理并搅拌30分钟。将甲醇(0.5mL)添加至该反应并将搅拌继续30分钟。向反应中添加二乙胺(0.033mL)并继续搅拌过夜。将反应用2,2,2-三氟乙酸(0.120mL)猝灭,并通过制备型反相HPLC(在吉尔森2020系统上,使用5%至75%乙腈/水梯度)进行纯化。将含有产物的级分冻干,以得到标题化合物。MS(ESI)m/e 1247.7(M+H)$^+$。

[3300] 2.133.2 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[3301] 向实例2.133.1(0.030g)在N,N-二甲基甲酰胺(0.400mL)中的混合物中添加N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.023mL)并将该混合物冷却至0℃。一次性加入2,5-二氧吡咯烷-1-基2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸酯(8.34mg),并将该混合物在0℃搅拌30分钟。将反应用水(1.5mL)、N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)和2,2,2-三氟乙酸(0.034mL)的混合物稀释,并通过制备型反相HPLC(在吉尔森2020系统上,使用5%至75%乙腈/水梯度)进行纯化。将含有产物的级分冻干,以得到标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ13.08(s,1H),9.01(s,1H),8.39-8.31(m,1H),8.25-8.11(m,3H),8.06(d,2H),7.99(d,1H),7.94(d,1H),7.79(d,1H),7.68(t,1H),7.51-7.42(m,1H),7.46(s,1H),7.35(t,1H),7.22-7.13(m,1H),7.06(d,2H),6.93(d,1H),6.83(d,1H),5.15-5.00(m,2H),4.99(d,1H),3.97(s,2H),3.86(d,3H),3.42(d,4H),3.29(d,5H),3.03(p,2H),2.72-2.62(m,2H),2.51(d,3H),2.21(s,3H),1.51(q,2H),1.37(q,4H),1.24(d,4H),1.10(s,5H),0.83(d,6H),0.61(s,2H)。MS(ESI)m/e 1383.0$(M+H)^+$。

[3302] 2.134 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[4-({(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基}氨基)丁基]苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子UK)的合成

[3303] 将实例2.120.5(0.028g)、O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(0.013g)和N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.015mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的混合物搅拌5分钟。将该混合物添加至实例2.133.1(0.030g)和N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.015mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的混合物中,并在室温搅拌1小时。将反应用水(1.5mL)、N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)和2,2,2-三氟乙酸(0.042mL)的混合物稀释,并通过制备型反相HPLC(在吉尔森2020系统上,使用5%至75%乙腈/水梯度)进行纯化。将含有产物的级分冻干,以得到标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ9.01(s,1H),8.35(dd,1H),8.27-8.13(m,3H),8.06(d,1H),8.00(d,1H),7.94(d,1H),7.79(d,1H),7.73-7.64(m,1H),7.53-7.43(m,2H),7.42-7.32(m,1H),7.17(d,1H),7.06(s,1H),7.04-6.91(m,3H),6.89(d,2H),6.83(d,1H),6.74(d,1H),5.16-4.93(m,4H),4.63(dd,2H),3.96(t,2H),3.86(d,4H),3.66(s,4H),3.55-3.46(m,36H),3.45-3.35(m,8H),3.35-3.24(m,6H),3.21(s,2H),3.11(s,2H),2.99(d,2H),2.83-2.59(m,3H),2.52(d,2H),2.21(s,3H),1.57-0.86(m,14H),0.83(d,4H)。MS(ESI)m/e 1986.6$(M-H)^-$。

[3304] 2.135 N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(4-羧基丁基)苯基}-L-丙氨酰胺(合成子UU)的合成

[3305] 2.135.1甲基4-((叔丁氧基羰基)氨基)-2-碘苯甲酸酯

[3306] 将3-碘-4-(甲氧基羰基)苯甲酸(9g)溶于叔丁醇(100mL)中,并添加叠氮磷酸二苯酯(7.6mL)和三乙胺(4.9mL)。将混合物加热至83℃(内部温度)过夜。将混合物浓缩至干燥并通过快速色谱法(用在庚烷中的0%至20%乙酸乙酯的梯度洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 377.9$(M+H)^+$。

[3307] 2.135.2甲基4-氨基-2-碘苯甲酸酯

[3308] 将实例2.135.1(3g)在室温下在二氯甲烷(30mL)和三氟乙酸(10mL)中搅拌1.5小时。将反应浓缩至干燥并在水(用盐酸调节至pH 1)和二乙醚之间分配。将各层分离,并且将水层用碳酸氢钠水溶液混合物洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩至干燥。将所得固体用甲苯研磨,得到标题化合物。MS(ESI)m/e 278.0$(M+H)^+$。

[3309] 2.135.3甲基4-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-碘苯甲酸酯

[3310] 向烧瓶中填充实例2.135.2(337mg)和实例2.123.14(500mg)。添加乙酸乙酯(18mL),随后添加吡啶(0.296mL)。将所得悬浮液在冰浴中冷却,并且滴加2,4,6-三丙基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三膦杂环己烷2,4,6-三氧化物(50%乙酸乙酯混合物,1.4mL)。在0℃继续搅拌45分钟,并将反应置于-20℃冰箱中过夜。使反应温热至室温并用水猝灭。分离各层,并将水层再用乙酸乙酯萃取两次。将合并的萃取物经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物溶于二氯甲烷中并用二乙醚稀释,以沉淀标题化合物,通过过滤收集该标题化合物。MS(ESI)m/e 669.7$(M+H)^+$。

[3311] 2.135.4(9H-芴-9-基)甲基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-碘代苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯

[3312] 将实例2.54.3(1g)溶解于四氢呋喃(15mL)中,并将该混合物在冰丙酮浴中冷却至-15℃。然后滴加氢化铝锂(1N,在四氢呋喃中,3mL),保持温度低于-10℃。将反应搅拌1小时并小心地用10%柠檬酸(25mL)猝灭。分离各层,并将水层用乙酸乙酯萃取三次。将合并的有机层用水和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物吸附在硅胶上,并通过快速色谱法(用在二氯甲烷中的5%至6%甲醇梯度洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 664.1$(M+H)^+$。

[3313] 2.135.5甲基5-(5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(羟甲基)苯基)戊-4-炔酸酯

[3314] 向甲基戊-4-炔酸酯(50mg)、实例2.135.4(180mg)和N,N-二异丙基乙基胺(0.15mL)在N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中的搅拌混合物中添加双(三苯基膦)二氯化钯(II)(20mg)和碘化亚铜(5mg)。将混合物用氮气吹扫三次并在室温下搅拌过夜。将反应用乙酸乙酯稀释并用水和盐水洗涤。将水层用乙酸乙酯反萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过反相HPLC(在吉尔森系统上,用含有0.1%v/v三氟乙酸的20%-90%乙腈水溶液洗脱)进行纯化。合并所需的级分并冷冻干燥,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 608.0$(M-H_2O)^+$。

[3315] 2.135.6甲基5-(5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(羟甲基)苯基)戊酸

[3316] 将实例2.135.5(0.084g)和10%Pd/C(0.02g)在四氢呋喃(5mL)中的混合物在20

℃,在50psi H_2的气氛下搅拌1小时。将反应混合物通过硅藻土过滤,并且将溶剂在减压下蒸发,以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 612.0$(M-H_2O)^+$。

[3317] 2.135.7甲基5-(5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)戊酸

[3318] 通过用实例2.135.7取代实例2.55.7中的实例2.55.6来制备实例2.135.7。MS(ESI)m/e 795.4$(M+H)^+$。

[3319] 2.135.8 3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(4-羧基丁基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3320] 通过用2.135.7取代实例2.49.1中的(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯来制备实例2.135.8。MS(ESI)m/e 1271.4$(M-H)^-$。

[3321] 2.135.9 N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(4-羧基丁基)苯基}-L-丙氨酰胺

[3322] 通过用实例2.135.8取代实例2.54中的实例2.49.1来制备实例2.135.9。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.88(d,1H),8.3-8.2(m,2H),8.01(dd,1H),7.77(d,1H),7.59(dd,1H),7.52(dd,1H),7.47-7.29(m,8H),7.23-7.18(m,1H),7.05(s,2H),6.95(d,1H),5.00(d,2H),4.94(s,2H),4.37(p,1H),3.51-3.28(m,5H),3.26-3.14(m,2H),2.99(t,2H),2.65(t,2H),2.57(s,2H),2.26-2.17(m,3H),2.07(d,3H),1.94(dd,1H),1.61-0.69(m,35H)。MS(ESI)m/e 1408.5$(M-H)^+$。

[3323] 2.136 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(3-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丙基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子UV)的合成

[3324] 2.136.1(3R,4S,5S,6S)-2-(5-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3325] 通过用(9H-芴-9-基)甲基丙-2-炔-1-基氨基甲酸酯取代在实例2.124.2中的2.124.1A来制备实例2.136.1。MS(ESI)m/e 714.1$(M+H)^+$。

[3326] 2.136.2(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙基)-2-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3327] 通过用实例2.136.1取代实例2.124.3中的实例2.124.2来制备实例2.136.2。MS(ESI)m/e 718.5$(M+H)^+$。

[3328] 2.136.3(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙基)-2-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3329] 通过用实例2.136.2取代实例2.124.4中的实例2.124.3来制备实例2.136.3。MS

(ESI)m/e 742.2(M+Na)$^+$。

[3330] 2.136.4(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧基羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

[3331] 通过用实例2.136.3取代实例2.124.5中的实例2.124.4来制备实例2.136.4。MS(ESI)m/e 885.2(M+Na)$^+$。

[3332] 2.136.5 3-(1-((3-(2-((((4-(3-氨基丙基)-2-(((3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3333] 通过用实例2.136.4取代实例2.49.1中的(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯来制备实例2.136.5。MS(ESI)m/e 1237.7(M+H)$^+$。

[3334] 2.136.6 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(3-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丙基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[3335] 通过用实例2.136.5取代实例2.54中的实例2.49.1来制备实例2.136.6。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.14(d,1H),8.01(d,1H),7.59(d,1H),7.53-7.39(m,4H),7.38-7.28(m,3H),7.22-7.15(m,2H),7.13-6.91(m,5H),6.84(d,1H),5.17-4.91(m,5H),3.35-3.2(m,4H),3.10-2.90(m,4H),2.75-2.65(m,2H),2.08(s,3H),1.65(s,2H),1.39-0.71(m,21H)。MS(ESI)m/e 1372.3(M-H)$^-$。

[3336] 2.137 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[({[2-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-4-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)苄基]氧基}羰基)(3-{[1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙烷-2-基]氨基}-3-氧丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子UZ)的合成

[3337] 2.137.1 3-(1-((3-(2-((((4-(4-氨基丁基)-2-(((2R,3S,4R,5R,6R)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(3-((1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙烷-2-基)氨基)-3-氧丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3338] 如在实例2.124.6中描述的,用实例1.84替换实例1.87.3来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1319.4(M-H)$^-$。

[3339] 2.137.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[({[2-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-4-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)苄基]氧基}羰基)(3-{[1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙烷-2-基]氨基}-3-氧丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

[3340] 如在实例2.54中描述的,用实例2.137.1替换实例2.49.1来制备标题化合物。^{1}H

NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.83(s,2H),8.12(s,0H),8.06(s,1H),8.03-7.99(m,1H),7.77(d,1H),7.72(s,0H),7.60(d,1H),7.52-7.39(m,3H),7.34(td,2H),7.26(s,1H),7.21-7.11(m,2H),7.05(s,2H),6.93(d,2H),6.83(d,1H),5.09(d,2H),5.00(d,1H),4.94(s,2H),4.12(t,1H),3.97(s,2H),3.87(q,4H),3.79(d,2H),3.29(q,2H),3.12-2.93(m,5H),2.47-2.23(m,1H),2.07(d,3H),1.50(d,3H),1.36(d,5H),1.31-0.85(m,9H),0.81(d,7H)。MS(ESI)m/e1568.4(M-H)$^-$。

[3341] 2.1386-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)-3-(1-((3-(2-((((2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-(4-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)丁基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸(合成子VB)的合成

[3342] 通过用实例2.133.1取代实例2.119.17中的实例2.119.16来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.99(s,1H),8.34(dd,1H),8.19(d,1H),8.17(d,1H),8.13(d,1H),8.04(d,1H),7.97(d,1H),7.93(d,1H),7.80(br t,1H),7.77(d,1H),7.67(dd,1H),7.45(s,1H),7.45(dd,1H),7.34(dd,1H),7.14(d,1H),7.03(s,2H),6.93(s,1H),6.82(br d,1H),5.06(br m,2H),4.98(d,1H),4.67(t,1H),4.02(d,2H),3.85(m,3H),3.71(brm,1H),3.59(t,2H),3.45(br m,3H),3.41(m,4H),3.27(m,4H),3.03(m,2H),2.70(m,2H)2.65(br m,2H),2.50(br t,2H),2.31(brm,1H),2.19(s,3H),1.80(m,1H),1.52(br m,2H),1.38(m,2H),1.35(br m,2H),1.29-0.88(br m,10H),0.82(s,3H),0.80(s,3H)。MS(ESI)m/e 1602.4(M-H)$^-$。

[3343] 2.139 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][3-羟基-2-(羟甲基)丙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(3-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丙基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子VC)的合成

[3344] 2.139.1 3-(1-((3-(2-((((4-(3-氨基丙基)-2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(3-羟基-2-(羟甲基)丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3345] 通过用实例2.136.4取代实例2.49.1中的(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯,以及用实例1.79.3取代实例2.49.1中的实例1.2.9来制备实例2.139.1。MS(ESI)m/e 1217.7(M+H)$^+$。

[3346] 2.139.2 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基][3-羟基-2-(羟甲基)丙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(3-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丙基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[3347] 通过用实例2.139.1取代实例2.54中的实例2.49.1来制备实例2.139.1。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(s,2H),8.11(t,1H),8.00(dd,1H),7.76(d,1H),

7.62-7.56(m,1H),7.50-7.37(m,3H),7.37-7.29(m,2H),7.25(s,1H),7.16(d,1H),7.04(s,2H),6.96-6.88(m,2H),6.82(d,1H),5.06(s,2H),4.98(d,1H),4.92(s,2H),3.97(s,2H),3.44-3.18(m,11H),3.07-2.90(m,4H),2.05(s,3H),1.80(s,1H),1.64(p,2H),1.38-0.67(m,19H)。(m,21H).MS(ESI)m/e 1352.5$(M-H)^-$。

[3348] 2.140 N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三-52-炔-53-基)苯基}-L-丙氨酰胺(合成子VS)的合成

[3349] 2.140.1 2-碘-4-硝基苯甲酸

[3350] 在0℃,将2-氨基-4-硝基苯甲酸(50g)添加到浓H_2SO_4(75mL)和水(750mL)的混合物中,并将混合物搅拌1小时。在0℃,向该混合物中添加亚硝酸钠(24.62g)在水(300mL)中的混合物。将所得混合物在0℃搅拌3小时。将碘化钠(65.8g)在水(300mL)中的混合物缓慢添加到上述混合物中。在添加完成后,将所得混合物在0℃下搅拌2小时,然后在室温下搅拌16小时,并且在60℃下搅拌2小时。将所得混合物冷却至室温并用冰水(300mL)稀释。将固体通过过滤收集,用水(100mL×5)洗涤,并在空气中干燥16小时,得到标题化合物。MS(LC-MS)m/e 291.9$(M-H)^-$。

[3351] 2.140.2甲基2-碘-4-硝基苯甲酸酯

[3352] 将实例2.140.1(130g)在甲醇(1000mL)和硫酸(23.65mL)的混合物中的混合物在85℃下搅拌16小时并浓缩至干燥。将残余物与甲醇(100mL)一起研磨,并将悬浮液搅拌10分钟。将固体通过过滤收集,用水(200mL×3)和甲醇(20mL)洗涤,并且空气干燥16小时,得到标题化合物。MS(LC-MS)m/e 308.0$(M+H)^+$。

[3353] 2.140.3甲基4-氨基-2-碘苯甲酸酯

[3354] 在室温下,向氯化铵(122g)和铁(38.2g)在乙醇(1000mL)和水(100mL)中的混合物中添加实例2.140.2(70g)。将混合物在80℃下搅拌4小时并过滤,以除去不溶物质。在减压下浓缩滤液。将残余物溶解于乙酸乙酯(1000mL)中并用水(500mL)洗涤。将水相用乙酸乙酯(1000mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩以给出标题化合物。MS(LC-MS)m/e 278.0$(M+H)^+$。

[3355] 2.140.4(4-氨基-2-碘代苯基)甲醇

[3356] 在-50℃下,向实例2.140.3(40g)在四氢呋喃(800mL)中的混合物中滴加1M二异丁基氢化铝(505mL)。将混合物在-50℃下搅拌3小时并冷却至-20℃。向混合物中滴加冰水(180mL)(保持温度低于0℃)。添加冰水后,将混合物搅拌10分钟并过滤。将滤液浓缩,并将残余物溶于乙酸乙酯(800mL)和水(200mL)中。将水相用乙酸乙酯(300mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩以给出标题化合物。MS(LC-MS)m/e 250.0$(M+H)^+$。

[3357] 2.140.5 4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-碘苯胺

[3358] 向实例2.140.4(40g)和咪唑(21.87g)在二氯甲烷(600mL)和四氢呋喃(150mL)中的混合物中添加叔丁基二甲基氯硅烷(29.0g)。将该混合物在室温搅拌16小时并过滤以除

去固体。向滤液中添加冰水(50mL)。将混合物搅拌10分钟并且添加水(100mL)。将混合物用二氯甲烷(500mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(用15/1至10/1石油醚/乙酸乙酯洗脱)纯化残余物,以给出标题化合物。MS(LC-MS)m/e364.0$(M+H)^+$。

[3359] 2.140.6(S)-叔丁基(1-((4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-碘代苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸酯

[3360] 在0℃,向(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)丙酸(15.62g)和实例2.140.5(30g)在二氯甲烷(600mL)中的混合的混合物中滴加$POCl_3$(15.39mL)。将混合物在0℃搅拌2小时。小心地将冰水(60mL)滴加到混合物中(保持温度低于5℃)。将混合物搅拌30分钟并浓缩以除去二氯甲烷。将残余物悬浮在乙酸乙酯(500mL)和水(100mL)中。过滤悬浮液。将有机相用水(200mL×2)和盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩,得到标题化合物。MS(LC-MS)m/e 533.0$(M-H)^+$。

[3361] 2.140.7(S)-叔丁基(1-((4-(羟甲基)-3-碘代苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸酯

[3362] 在0℃下,向实例2.140.6(60g)在四氢呋喃(600mL)中的混合物中添加在四氢呋喃(120mL)中的四丁基氟化铵(28.2g)。将混合物在室温下搅拌16小时并过滤。向滤液中添加水(100mL)。将混合物搅拌10分钟,并且然后浓缩。将残余物用乙酸乙酯(800mL)和水(300mL)稀释。将水相用乙酸乙酯(200mL×3)萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(用3/1至1/1石油醚/乙酸乙酯洗脱)纯化残余物,以给出标题化合物。MS(LC-MS)m/e 443.0$(M+Na)^+$。

[3363] 2.140.8(S)-2-氨基-N-(4-(羟甲基)-3-碘代苯基)丙酰胺

[3364] 将实例2.140.7(20g)在二氯甲烷(80mL)和三氟乙酸(40mL)的混合物中的混合物在室温下搅拌2小时并浓缩。将残余物溶于二氯甲烷(80mL)中,并且添加三乙胺(16.95mL)以将pH调节至8。得到呈在二氯甲烷中的游离碱的标题化合物,该标题化合物无需进一步纯化即可用于下一步骤。MS(LC-MS)m/e 321.1$(M+H)^+$。

[3365] 2.140.9叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-碘代苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯

[3366] 将(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酸(6.79g)、三乙胺(9.58mL)和1-羟基苯并三唑水合物(5.26g)在二氯甲烷(250mL)中的混合物搅拌20分钟。在0℃下,将所得混合物滴加到实例2.140.8(10g)和1-乙基-3-[3-(二甲基氨基)丙基]-碳二亚胺盐酸盐(6.59g)在二氯甲烷(100mL)中的混合物中。添加完成后,将混合物在0℃下搅拌2小时。添加冰水(200mL),并将所得混合物搅拌20分钟。将有机相用饱和碳酸氢钠水溶液混合物(100mL×2)、水(100mL×2)和盐水(100mL)洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(用3/1至1/1石油醚/乙酸乙酯洗脱)纯化残余物,以给出标题化合物。LC-MS m/e 542.1$(M+Na)^+$。

[3367] 2.140.10叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三-52-炔-53-基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯

[3368] 向实例2.140.9(50mg)、2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三-52-炔(149mg)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(27.0mg)和N,N-二异丙基乙

胺(0.05mL)在N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的混合物中加入碘化亚铜(I)(3.67mg)。将反应用氮气流吹扫10分钟并搅拌过夜。将反应用二甲基亚砜稀释,通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-70%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(LC-MS)m/e 1164.2(M-H)$^-$。

[3369] 2.140.11叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三-52-炔-53-基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯

[3370] 向实例2.140.10(80mg)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(31.3mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.2mL)中的混合物中添加N,N-二异丙基乙胺(0.06mL)。将混合物搅拌3小时并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的35%-75%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。

[3371] 2.140.126-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三-52-炔-53-基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[3372] 向实例1.2.9(95mg)、实例2.140.11(148mg)和1-羟基苯并三唑水合物(68.1mg)在N,N-二甲基甲酰胺(2.5mL)中的混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(97μL)。将混合物搅拌3.5小时并通过反相HPLC(在系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的35%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物吉尔森。

[3373] 2.140.133-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三-52-炔-53-基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3374] 将实例2.140.12(135mg)在二氯甲烷(4mL)中的冷(0℃)混合物用三氟乙酸(1mL)处理5小时。将混合物浓缩并且通过反相HPLC(在系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-60%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物吉尔森。MS(ESI)m/e 973.4(M+2H)$^{2+}$。

[3375] 2.140.14 N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三-52-炔-53-基)苯基}-L-丙氨酰胺

[3376] 将实例2.119.15(20.88mg)和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(21.1mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的混合物用N,N-二异丙基乙胺(16.2μL)处理7分钟,并缓慢地添加实例2.140.13(60mg)和N,N-二异丙基乙胺(32.3μL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.6mL)中的混合物。将反应混合物搅拌10分钟并通过反相HPLC(在吉尔森系统

(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-70%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。1H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d6)δ10.01(d,1H),8.22(d,1H),8.02(t,2H),7.90-7.75(m,2H),7.66-7.50(m,3H),7.50-7.39(m,3H),7.35(q,3H),7.05(s,2H),7.00(d,1H),5.08(d,2H),4.97(s,2H),4.65(t,1H),4.47-4.31(m,4H),4.23-4.14(m,2H),3.90-3.69(m,5H),3.68-3.58(m,4H),3.57-3.53(m,2H),3.52-3.43(m,57H),3.42-3.33(m,4H),3.22(s,5H),3.01(t,2H),2.49(p,3H),2.09(d,3H),2.04-1.77(m,1H),1.40-1.17(m,6H),1.06(dd,6H),0.97-0.63(m,11H)。MS(ESI)m/e1153.3$(M+2H)^{2+}$。

[3377] 2.141 N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苯基}-L-丙氨酰胺(合成子VT)的合成

[3378] 2.141.1叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十二烷-52-基)-4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯

[3379] 将实例2.140.10(304mg)和10%Pd/C(90mg,干的)在四氢呋喃(20mL)中的混合物在压力瓶中在50psi氢气下振荡2小时。滤出不溶物质,并且浓缩滤液,以得到标题化合物。MS(ESI)m/e1168.3$(M-H)^-$。

[3380] 2.141.2叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十二烷-52-基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯

[3381] 使用实例2.140.11中的程序,用实例2.141.1替换实例2.140.10来制备标题化合物。

[3382] 2.141.3 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[3383] 使用实例2.140.12中的程序,用实例2.141.2替换实例2.140.11来制备标题化合物。

[3384] 2.141.4 3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3385] 使用实例2.140.13中的程序,用实例2.141.3替换实例2.140.12来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1948.8$(M-H)^-$。

[3386] 2.141.5 N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-

[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苯基}-L-丙氨酰胺

[3387] 使用实例2.140.14中的程序,用实例2.141.4替换实例2.140.13来制备标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.87(s,1H),9.84(s,1H),8.18(d,1H),8.03(dd,2H),7.78(d,1H),7.61(d,1H),7.52(d,1H),7.45(ddd,4H),7.40-7.32(m,2H),7.30(s,1H),7.22(d,1H),7.07(s,2H),6.96(d,1H),5.01(d,2H),4.95(s,2H),4.64(t,1H),4.38(t,1H),4.24-4.12(m,2H),4.00(d,1H),3.88(t,2H),3.78(t,3H),3.64(ddt,2H),3.49(dd,62H),3.43-3.37(m,6H),3.23(s,3H),3.01(t,2H),2.84-2.68(m,1.5H),2.63(dd,4H),2.36(d,0.5H),2.08(d,3H),1.74(t,2H),1.25(dt,6H),1.17-1.00(m,6H),0.99-0.72(m,11H)。MS(ESI)m/e1153.0$(M-2H)^{2-}$。

[3388] 2.142 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(3-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丙基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子VY)的合成

[3389] 2.142.1 3-(1-((3-(2-((((4-(3-氨基丙基)-2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3390] 通过用实例2.136.4取代(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯,以及用实例1.85取代实例2.49.1中的实例1.2.9来制备实例2.142.1。MS(ESI)m/e 1217.3$(M+H)^{+}$。

[3391] 2.142.2 2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(3-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丙基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[3392] 通过用实例2.142.1取代实例2.54中的实例2.49.1来制备实例2.142.2。1H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d6)δppm 8.14(d,1H),8.03(dt,1H),7.81-7.76(m,1H),7.61(dd,1H),7.53-7.41(m,3H),7.38-7.32(m,2H),7.28(s,1H),7.18(d,1H),7.06(d,2H),6.97-6.92(m,2H),6.85(dd,1H),5.10(q,2H),5.01(d,1H),4.96(s,2H),3.48-3.18(m,12H),3.06(q,2H),3.00(t,2H),2.08(s,3H),1.77-0.66(m,16H)。MS(ESI)m/e 1352.5$(M-H)^{-}$。

[3393] 2.143 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡糖醛酸基氧基)苄基]氧基}羰基)氨基}-1,2-双脱氧-D-阿

拉伯-己糖醇(合成子WI)的合成

[3394] 2.143.1 3-(1-((3-(2-((((4-(4-氨基丁基)-2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)((3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3395] 通过用实例1.77.2取代实例2.97.8中的实例1.25、以及用实例2.124.5取代实例2.97.8中的实例2.97.7来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1291(M+H)$^+$,1289(M-H)$^-$。

[3396] 2.143.2 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡糖醛酸基氧基)苄基]氧基}羰基)氨基}-1,2-双脱氧-D-阿拉伯-己糖醇

[3397] 通过用实例2.143.1取代实例2.54中的实例2.49.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.04(d,1H),7.81(d,1H),7.61(d,1H),7.54-7.43(m,3H),7.41-7.35(m,2H),7.29(s,1H),7.18(m,1H),7.03(s,2H),6.97(d,1H),6.93(s,1H),6.86(d,1H),5.18-5.05(m,3H),5.03(d,1H),4.97(s,2H),4.01(s,2H),3.91(d,1H),3.87(t,2H),3.83(m,2H),3.72(s,2H),3.67(m,2H),3.59(dd,2H),3.50-3.27(m,16H),3.14(d,2H),3.04(m,4H),2.09(s,3H),1.68(m,2H),1.52(m,2H),1.44-1.31(m,4H),1.26-1.14(m,4H),1.10(m,4H),0.98(q,2H),0.85(m,6H)。MS(ESI)m/e 1428(M+H)$^+$,1426(M-H)$^-$。

[3398] 2.144 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡糖醛酸基氧基)苄基]氧基}羰基)氨基}-1,2-双脱氧-D-赤-戊五醇(合成子WK)合成

[3399] 2.144.1 3-(1-((3-(2-((((4-(4-氨基丁基)-2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)((3S,4R)-3,4,5-三羟基戊基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3400] 通过用实例1.80取代实例2.97.8中的实例1.25、以及用实例2.124.5取代实例2.97.8中的实例2.97.7来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1261(M+H)$^+$,1259(M-H)$^-$。

[3401] 2.144.2 1-{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡糖醛酸基氧基)苄基]氧基}羰基)氨基}-1,2-双脱氧-D-赤-戊五醇

[3402] 通过用实例2.144.1取代实例2.54中的实例2.49.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.08(t,1H),8.03(d,1H),7.79(d,1H),7.62(d,1H),7.53-7.42(m,3H),7.38-7.33(m,2H),7.20(s,1H),7.17(m,1H),7.07(s,2H),6.97-6.93(m,2H),6.85(d,1H),5.17-5.05(m,3H),5.02(d,1H),4.96(s,2H),3.98(s,2H),3.88(m,4H),3.80

(m,4H),3.67(m,2H),3.42(m,4H),3.36-3.23(m,13H),3.08-2.99(m,5H),2.09(s,3H),1.86(m,1H),1.53(m,2H),1.38(m,4H),1.25(m,4H),1.11(m,4H),0.96(m,2H),0.83(m,6H)。MS(ESI)m/e 1398$(M+H)^+$,1396$(M-H)^-$。

[3403] 2.145 N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基]苯基}-L-丙氨酰胺(合成子WP)的合成

[3404] 2.145.1叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(3-(((苄氧基)羰基)氨基)丙-1-炔-1-基)-4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯

[3405] 向叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-碘代苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯(0.5g)在N,N-二甲基甲酰胺(6mL)中的混合物中添加苄基丙-2-炔-1-基氨基甲酸酯(0.182g)、CuI(9.2mg)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(35mg)和N,N-二异丙基乙胺(1.0mL)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将混合物在真空下浓缩。将残余物溶解在乙酸乙酯(300mL)中,用水、盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。蒸发溶剂,并且通过硅胶色谱法(用在二氯甲烷中的30%乙酸乙酯洗脱)纯化残余物,得到标题化合物。MS(APCI)m/e 581.2$(M-H)^-$。

[3406] 2.145.2叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(3-氨基丙基)-4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯向实例2.145.1(1.7g)在乙醇(30mL)中的混合物中添加5%Pd/C(0.3g)和环己烯(远远过量)。将反应在100℃搅拌45分钟。将反应过滤并在减压下浓缩。将残余物溶解于N,N-二甲基甲酰胺中,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 451.1$(M-H)^-$。

[3407] 2.145.3叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基)-4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯

[3408] 向实例2.145.2(45mg)在二氯甲烷(4mL)中的混合物中添加2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基(79mg),然后添加$NaH(OAc)_3$(63.5mg)。将混合物在室温搅拌3小时并且然后在减压下浓缩。将残余物溶解于N,N-二甲基甲酰胺中,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 1212.1$(M-H)^-$。

[3409] 2.145.4叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯

[3410] 向实例2.145.3(80mg)在N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中的混合物中添加双(4-硝基苯基)碳酸酯(26mg),然后添加N,N-二异丙胺(0.012mL)。将混合物在室温搅拌过夜并直接通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 1376.97$(M-H)^-$。

[3411] 2.145.5 3-(1-((3-(2-((((2-(27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基)-4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸

[3412] 向实例2.145.4(30mg)在N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中的混合物中添加实例1.43(18.68mg),然后添加1-羟基苯并三唑水合物(3.4mg)和N,N-二异丙胺(3.84uL)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将三氟乙酸(0.55mL)添加到混合物中并在室温下搅拌3小时。将混合物通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 1986.6(M-H)$^-$。

[3413] 2.145.6 N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基]苯基}-L-丙氨酰胺

[3414] 如在实例2.123.21中描述的,用实例2.145.5替换实例2.123.20来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 13.10(s,1H),9.92(s,1H),9.43(s,1H),9.02(s,1H),8.37(dd,1H),8.30-8.14(m,5H),8.07(d,1H),8.02(d,1H),7.96(d,1H),7.81(d,1H),7.74-7.68(m,1H),7.57(s,1H),7.52-7.45(m,2H),7.42-7.34(m,2H),7.28(d,1H),7.08(s,2H),5.05(d,2H),4.39(t,1H),4.21(dd,1H),4.12(s,2H),3.88(s,2H),3.49(d,55H),3.34(s,200H),3.23(s,5H),3.13(d,4H),2.79-2.65(m,5H),2.23(s,3H),1.94(d,8H),1.47-0.94(m,15H),0.92-0.76(m,12H)。

[3415] 2.146(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2S)-3-[3,4-双(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸(合成子XD)的合成

[3416] 2.146.1(S)-2-(((苄氧基)羰基)氨基)-3-(3,4-二羟基苯基)丙酸

[3417] 向(S)-2-氨基-3-(3,4-二羟基苯基)丙酸(1.00kg)和$NaHCO_3$(1.28kg)在二噁烷(5.00L)和水(5.00L)中的混合物中滴加氯甲酸苄酯(1.04k)。将反应混合物在25℃下搅拌12小时。通过添加6N HCl水溶液将反应混合物调节至pH=3.0至4.0,并用乙酸乙酯(25L)萃取。将有机层经Na_2SO_4干燥,过滤,并在真空中浓缩,得到标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.73(s,1H),7.54-7.26(m,8H),6.64-6.45(m,3H),4.98(s,2H),4.49(s,1H),2.87(d,J=9.60Hz,1H),2.68-2.62(m,1H)。

[3418] 2.146.2(S)-苄基2-(((苄氧基)羰基)氨基)-3-(3,4-二羟基苯基)丙酸酯

[3419] 在20℃,向实例2.146.1(800.00g)和Cs_2CO_3(1.18kg)的混合物中添加溴甲基苯(259.67g)。将反应混合物搅拌1小时,并且TLC显示反应完成。将残余物用H_2O(5L)稀释,并用乙酸乙酯(三次,5L)萃取。将合并的有机层用盐水(5L)洗涤,经Na_2SO_4(150g)干燥,过滤,

并在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝100:1至1:1)纯化两次,得到标题化合物。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 2.77-3.02(m,2H),4.47(br.s.,1H),4.61(d,J＝7.94Hz,1H),5.01-5.17(m,4H),5.35-5.47(m,1H),6.32(br.s.,1H),6.38(d,J＝7.94Hz,1H),6.51(s,1H),6.65(d,J＝7.94Hz,1H),7.17-7.42(m,9H)。

[3420] 2.146.3(S)-苄基2-(((苄氧基)羰基)氨基)-3-(3,4-双(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)丙酸酯

[3421] 向K_2CO_3(27.04g)和KI(5.95g)在N,N-二甲基甲酰胺(150mL)中的混合物中添加实例2.146.2(8.12g)和在二甲基甲酰胺(150mL)中的2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基4-甲基苯磺酸酯(27.00g)。在N_2下将混合物在75℃下搅拌12小时。如上所述设置两个另外的小瓶。将所有三种反应混合物合并用于纯化。将混合物倒入NH_4Cl含水混合物(9L)中,并用乙酸乙酯萃取(用900mL萃取五次)。将合并的有机层用盐水(1500mL)洗涤,经Na_2SO_4(150g)干燥,过滤,并在减压下浓缩,得到粗残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,二氯甲烷/甲醇＝100/1至20:1)进行纯化,得到标题化合物。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 2.95-3.08(m,2H),3.38(s,6H),3.57-3.68(m,80H),3.78(t,J＝4.85Hz,2H),3.83(t,J＝5.29Hz,2H),4.01(t,J＝5.07Hz,2H),4.10(t,J＝5.07Hz,2H),4.58-4.70(m,1H),5.09(s,2H),5.14(d,J＝3.53Hz,2H),6.55(d,J＝8.38Hz,1H),6.62(d,J＝1.76Hz,1H),6.74(d,J＝7.94Hz,1H),7.27-7.49(m,10H)。

[3422] 2.146.4(S)-2-氨基-3-(3,4-双(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)丙酸

[3423] 向实例2.146.3(16.50g)在甲醇(200mL)中的混合物中添加Pd/C(9.00g),并将混合物在50℃下在H_2(50psi)下搅拌16小时。如上所述设置另外的反应。LC/MS显示反应完成,并且将两种反应混合物合并用于纯化。将混合物过滤并浓缩。粗标题化合物无需进一步纯化即可用于下一步骤。

[3424] 2.146.5(S)-3-(3,4-双(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸

[3425] 向实例2.146.4(5.94g)在H_2O(60.00mL)中的混合物中添加Na_2CO_3(790.67mg)和甲基2,5-二氧代吡咯-1-甲酸酯(1.19g)。将混合物在25℃搅拌3小时。如上所述设置了四个另外的反应。将所有五个反应混合物合并用于纯化。添加4M HCl水溶液以将pH调节至2。将合并的混合物通过制备型反相HPLC(三氟乙酸条件)进行纯化,得到标题化合物。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 3.35-3.40(m,6H),3.51-3.58(m,4H),3.58-3.75(m,78H),3.81(q,J＝4.70Hz,4H),4.11(dt,J＝10.14,5.07Hz,4H),4.91(dd,J＝11.47,5.29Hz,1H),6.53-6.69(m,3H),6.71-6.89(m,2H)。MS(ESI)m/e638.0$(M+H)^+$。

[3426] 2.146.6(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2S)-3-[3,4-双(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸

[3427] 将实例2.146.5(0.020mL)、O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六

氟磷酸盐(0.014g)和N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.020mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的混合物搅拌5分钟。将该混合物添加至实例2.123.20(0.042g)和N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(0.020mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的混合物中,并将其在室温搅拌3小时。将反应用水(1.5mL)、N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)和2,2,2-三氟乙酸(0.054mL)的混合物稀释,并通过制备型反相HPLC(在吉尔森2020系统上,使用5%至85%乙腈/水梯度)进行纯化。将含有产物的级分冻干,以得到标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.86(s,4H),9.92(s,2H),8.26(d,1H),8.10(s,1H),8.02(dd,1H),7.77(d,1H),7.64(s,1H),7.54-7.49(m,1H),7.49-7.39(m,2H),7.39-7.31(m,2H),7.28(s,1H),7.20(d,1H),6.94(d,1H),6.87(s,2H),6.77(d,1H),6.60-6.53(m,1H),5.05-4.91(m,5H),4.80(dd,2H),4.37(t,2H),4.21(t,2H),3.97(dt,3H),3.86(t,3H),3.78(d,3H),3.68(dt,4H),3.65-3.28(m,102H),3.20-3.08(m,2H),2.99(t,2H),2.92(d,2H),2.68(dd,2H),2.07(d,4H),1.54(s,2H),1.37-0.71(m,16H)。MS(ESI)m/e 2631.2$(M-H)^-$。

[3428] 2.147 N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)-β-丙氨酰-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苯基}-L-丙氨酰胺(合成子XK)的合成

[3429] 2.147.1苄基2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂-35-氮杂三十八烷-38-酸酯

[3430] 向2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-胺(1g)在N,N-二甲基甲酰胺(4mL)和水(3mL)中的混合物中滴加丙烯酸苄酯(0.377g)。将反应混合物搅拌过夜,通过反相HPLC(在系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-70%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物吉尔森。MS(ESI)m/e 678.4$(M+H)^+$。

[3431] 2.147.2 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂-35-氮杂三十八烷-38-酸

[3432] 将在四氢呋喃(10mL)中的实例2.147.1(220mg)和10%Pd/C(44mg,干的)在压力瓶中在50psi氢气下摇动1小时。将反应过滤并将滤液进行浓缩。将残余物在高真空下干燥,得到标题化合物。MS(ESI)m/e 588.3$(M+H)^+$。

[3433] 2.147.3 2,5-二氧吡咯烷-1-基35-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基)-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂-35-氮杂三十八烷-38-酸酯

[3434] 将2,5-二氧吡咯烷-1-基2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸酯(566mg)、1-羟基苯并三唑水合物(229mg)、1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(86mg)和实例2.147.2(440mg)在N,N-二甲基甲酰胺(3mL)中的冷(0℃)混合物用N,N-二异丙基乙胺(785μL)处理25分钟。将反应用二甲基亚砜稀释,并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的5%-55%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 822.3$(M+H)^+$。

[3435] 2.147.4 N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)-β-丙氨酰-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-

3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苯基}-L-丙氨酰胺

[3436] 向实例2.141.4(28mg)、实例2.147.3(27.1mg)和1-羟基苯并三唑水合物(6.6mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.8mL)中的冷(0℃)混合物中加入N,N-二异丙基乙胺-2(20.1μL)。将混合物搅拌10分钟并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的30%-70%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.81(s,1H),9.84(s,1H),8.21-7.86(m,2H),7.75(d,1H),7.57(d,1H),7.52-7.28(m,7H),7.27-7.15(m,2H),7.04(d,2H),6.91(d,1H),4.94(d,4H),4.36(dt,3H),4.19(dt,1H),3.84(t,2H),3.75(d,2H),3.63(d,1H),3.46(dd,104H),3.36(s,2H),3.19(s,5H),2.97(t,2H),2.57(t,5H),2.42-2.26(m,1H),2.03(s,7H),2.00-1.83(m,1H),1.70(t,2H),1.38-0.96(m,13H),0.96-0.69(m,13H)。MS(ESI)m/e 1327.7$(M-2H)^{2-}$。

[3437] 2.148 N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)-β-丙氨酰-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子XL)的合成

[3438] 使用实例2.147.4中的程序,用实例2.112.2替换实例2.141.4来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.83(s,1H),9.96(d,1H),8.18-7.85(m,3H),7.75(d,1H),7.64-7.37(m,7H),7.32(td,2H),7.28-7.20(m,3H),7.04(s,2H),6.92(d,1H),5.17-4.79(m,4H),4.59-4.31(m,3H),4.21(dt,1H),3.84(t,2H),3.77(d,2H),3.52(s,4H),3.39(d,2H),3.19(s,5H),2.94(dt,4H),2.60(t,3H),2.43-2.27(m,1H),2.05(s,4H),1.60(d,2H),1.44-0.57(m,22H)。MS(ESI)m/e1964.8$(M-H)^-$。

[3439] 2.149 N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基]苯基}-L-丙氨酰胺(合成子YJ)的合成

[3440] 2.149.1 3-(1-((3-(2-((((2-(27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基)-4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3441] 如在实例2.145.5中描述的,用实例1.2.9替换实例1.43来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1991.4$(M-H)^-$。

[3442] 2.149.2 N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧

基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基]苯基}-L-丙氨酰胺

[3443] 如在实例2.145中描述的,用实例2.149.1替换实例2.145.5来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.83(s,1H),9.90(s,1H),9.41(s,1H),8.24(d,2H),8.01(d,1H),7.77(d,1H),7.67-7.29(m,8H),7.26(s,2H),7.06(s,2H),6.93(d,1H),5.03(d,2H),4.93(s,2H),4.37(t,1H),4.19(dd,1H),4.11(s,2H),3.86(t,2H),3.79(s,2H),3.70-3.26(m,226H),3.21(s,6H),3.11(s,5H),2.99(t,2H),2.66(d,4H),2.08(s,3H),1.89(s,8H),1.44-0.90(m,14H),0.89-0.68(m,11H)。

[3444] 2.150 N-{(3S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子YQ)的合成

[3445] 2.150.1 3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)戊-4-炔酸

[3446] 向3-氨基戊-4-炔酸三氟乙酸盐(1.9g)在四氢呋喃(30mL)中的混合物中添加甲基2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-羧酸酯(1.946g),然后快速添加N,N-二异丙基乙胺(8.04mL)。将所得混合物在60℃下搅拌16小时。将混合物浓缩至干燥。将残余物通过反相HPLC(在系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物吉尔森。MS(LC-MS)m/e 194(M+H)。^{1}H-NMR(二甲基亚砜-d_6,400MHz)δ2.92-3.07(m,2H),3.38(d,1H),5.07-5.12(m,1H),7.08(s,2H),12.27(bs,0.6H)。

[3447] 2.150.2 3-(1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸

[3448] 向实例2.150.1(700mg)在叔丁醇/H_2O(2:1,15mL)中的混合物中添加37-叠氮基-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷(2123mg)。依序向混合物中添加(R)-2-((S)-1,2-二羟乙基)-4-羟基-5-氧代-2,5-二氢呋喃-3-钠(71.8mg)和硫酸铜(II)(28.9mg)。将所得混合物在室温下搅拌16小时并浓缩。将残余物通过反相HPLC(在系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物吉尔森。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ3.24(s,3H),3.15-3.28(m,2H),3.41-3.52(m,44H),3.79(t,2H),4.48(t,2H),5.56-5.60(m,1H),7.05(s,2H),8.03(s,1H)。MS(LC-MS)m/e 779$(M+H)^+$。

[3449] 2.150.3 N-{(3S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

[3450] 将O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(8.45mg)和实

例2.150.2(20mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.3mL)中的混合物中在0℃缓慢添加N,N-二异丙基乙胺(22.19μL),并将反应混合物搅拌1分钟。添加实例2.112.2(20mg)和N,N-二异丙基乙胺(22μL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.4mL)中的冷(0℃)混合物。将所得混合物搅拌10分钟并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。(位置3的绝对构型是任意指定的。)^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δ9.95(s,1H),8.07(d,3H),8.04-7.96(m,2H),7.77(d,1H),7.64-7.53(m,3H),7.50(s,1H),7.48-7.39(m,2H),7.34(q,2H),7.30-7.23(m,3H),6.98(s,2H),6.93(d,1H),5.61(t,1H),4.96(d,4H),4.54-4.27(m,3H),4.14(t,1H),3.86(t,2H),3.77(q,4H),3.43(d,71H),3.21(s,6H),3.00(d,5H),2.61(s,2H),2.07(d,3H),1.92(s,1H),1.60(d,2H),1.47-0.86(m,10H),0.85-0.67(m,12H)。MS(ESI)m/e 1010.6(M-2H)$^{2-}$。

[3451] 2.151 N-{(3R)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N^5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子YR)的合成

[3452] 在2.150.3的制备过程中分离实例2.151。(位置3的绝对构型是任意指定的。)^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δ9.91(s,1H),8.11(dd,2H),8.04-7.99(m,1H),7.96(s,1H),7.77(d,1H),7.58(t,3H),7.54-7.39(m,2H),7.39-7.31(m,2H),7.31-7.24(m,3H),7.00(s,2H),6.94(d,1H),5.61(dd,1H),5.08-4.79(m,4H),4.40(dt,3H),4.16(s,1H),3.86(t,2H),3.82-3.73(m,4H),3.51-3.30(m,46H),3.21(s,7H),3.05-2.87(m,3H),2.62(t,2H),2.07(d,3H),1.95(s,2H),1.69(s,1H),1.51-0.86(m,10H),0.88-0.70(m,13H)。MS(ESI)m/e 1010.6(M-2H)$^{2-}$。

[3453] 2.152 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({[(2-{2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]乙基}-4-{[(2S)-2-{[(2S)-2-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}丙酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}[(3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基]氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(合成子YS)的合成

[3454] 2.152.1 3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)苄基)氧基)羰基)((3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3455] 通过用实例1.77.2取代实例2.97.8中的实例1.25、以及用实例2.123.19取代实例2.97.8中的实例2.97.7来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1417(M+H)$^+$,1415(M-H)$^+$。

[3456] 2.152.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({[(2-{2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]乙基}-4-{[(2S)-2-{[(2S)-2-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}-3-

甲基丁酰基]氨基}丙酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}[(3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基]氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[3457] 通过用实例2.152.1取代实例2.54中的实例2.49.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.85(m,1H),8.18(t,2H),7.96(d,1H),7.73(d,1H),7.55(d,1H),7.46-7.25(m,8H),7.21(s,1H),7.15(d,1H),7.00(s,1H),6.99(d,1H),6.88(d,1H),4.95(bs,2H),4.88(s,2H),4.32(m,1H),4.15(t,1H),4.05(s,2H),3.82(t,2H),3.72(m,4H),3.58-3.29(m,6H),3.19(m,4H),3.11-3.00(m,6H),2.97(t,2H),2.91(t,2H),2.72(m,2H),2.55(m,2H),2.04(s,3H),2.02-1.85(m,3H),

[3458] 1.54(m,4H),1.44(s,1H),1.33(bs,1H),1.22(m,6H),1.04(m,6H),0.86(m,2H),0.77(m,12H)。MS(ESI)m/e 1554$(M+H)^+$,1552$(M-H)^-$。

[3459] 2.1536-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({[(2-{2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]乙基}-4-{[(2S)-2-({(2S)-2-[({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)氨基]-3-甲基丁酰基}氨基)丙酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}[(3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基]氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(合成子YY)的合成

[3460] 将实例2.119.15(11mg)溶解于N,N-二甲基甲酰胺(0.1mL)中。添加2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲鎓六氟磷酸盐(V)(11mg)和N,N-二异丙基乙胺(7.4mg)。将混合物在室温下搅拌五分钟。然后将混合物添加到实例2.152.1(34mg)和N,N-二异丙基乙胺(16.3mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.2mL)中的另一种混合物中。将反应在室温下搅拌60分钟,并用三氟乙酸(36mg)猝灭。将混合物用水(0.75mL)和二甲基亚砜(0.75mL)稀释,并通过反相HPLC(在装备有Luna柱:C18(2)、100A、150×30mm的Grace Reveleris上经30分钟使用10%-75%乙腈水溶液(w/0.1%TFA))进行纯化。将产物级分合并,冷冻,并冻干以产生为三氟乙酸盐的标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.85(m,1H),8.18(d,1H),8.05(d,1H),8.04(d,1H),7.79(d,1H),7.53-7.39(m,8H),7.36(q,2H),7.29(s,1H),7.22(d,1H),7.07(s,1H),6.96(d,1H),5.18(bs,2H),4.96(s,2H),4.65(t,1H),4.37(t,1H),4.19(t,1H),4.16(s,1H),4.01(d,2H),3.89(t,2H),3.78(m,4H),3.73(m,2H),3.49-3.44(m,4H),3.40-3.20(m,8H),3.24(m,4H),3.17-3.07(m,4H),3.02(t,2H),2.95(t,2H),2.76(m,4H),2.62(m,1H),2.37(m,1H),2.09(s,3H),1.99(m,2H),1.86(q,1H),1.62(m,4H),1.38(bs,2H),1.28(m,6H),1.18-1.02(m,6H),0.96(m,2H),0.91-0.79(m,12H)。MS(ESI)m/e 1773$(M-H)^-$。

[3461] 2.154(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)-β-丙氨酰-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸(合成子YT)的合成

[3462] 2.154.1 3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺

基)-2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3463] 将实例1.2.9(200mg)、实例2.123.19(288mg)和1-羟基苯并三唑水合物(50.2mg)在N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中的混合物在冰浴中冷却,并且添加N,N-二异丙基乙胺(143μL)。将反应混合物在室温下搅拌2.5小时并浓缩。将四氢呋喃(0.5mL)和甲醇(0.5mL)添加到残余物中。将所得混合物在冰浴中冷却,并缓慢添加在水(2.5mL)中的氢氧化锂水合物(147mg)。将混合物在室温下搅拌1.5小时,并在冰浴中冷却。滴加三氟乙酸(361μL)直至pH达到6。将混合物通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的35%-45%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(ESI)m/e 1375.5(M-H)$^-$。

[3464] 2.154.2(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)-β-丙氨酰-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸

[3465] 在0℃,向1-羟基苯并三唑水合物(5.22mg)、实例2.154.1(23.5mg)和实例2.147.3(24mg)在N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的混合物中缓慢添加N,N-二异丙基乙胺(23.84μL)。将反应混合物在室温搅拌15分钟,并通过反相HPLC(在系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的35%-50%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物吉尔森。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.83(s,1H),9.88(s,1H),8.23-8.04(m,2H),8.02(dd,1H),7.92(s,1H),7.77(d,1H),7.59(d,1H),7.55-7.30(m,7H),7.27(s,1H),7.20(d,1H),7.07(d,2H),6.93(d,1H),5.07-4.88(m,4H),4.47-4.32(m,3H),4.22(dt,1H),3.97-3.73(m,4H),3.62-3.45(m,35H),3.31(t,3H),3.21(s,3H),3.06(d,2H),2.83-2.54(m,5H),2.47-2.29(m,1H),2.13-1.84(m,5H),1.52(d,1H),1.43-0.69(m,26H)。MS(ESI)m/e 1043.0(M-2H)$^{2-}$。

[3466] 2.155(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸(合成子YU)的合成

[3467] 2.155.1 3-(1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸

[3468] 使用实例2.150.2中的程序,用2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)戊-4-炔酸替换实例2.150.1来制备标题化合物。

[3469] 2.155.2(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,

26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸

[3470] 使用实例2.150.3中的程序,分别用实例2.155.1和实例2.154.1替换实例2.150.2和实例2.112.2来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.83(s,1H),9.87(d,1H),8.25-8.06(m,2H),8.00(d,1H),7.75(d,1H),7.71(s,1H),7.57(d,1H),7.54-7.28(m,6H),7.25(s,1H),7.18(d,1H),6.98-6.85(m,3H),5.09-4.89(m,4H),4.76(ddd,1H),4.36(ddd,3H),4.17(q,1H),3.84(t,2H),3.76(d,2H),3.72-3.66(m,2H),3.49-3.44(m,37H),3.20(s,5H),3.01-2.82(m,3H),2.13-1.81(m,5H),1.52(s,1H),1.39-0.50(m,23H)。MS(ESI)m/e 1069.7$(M+2H)^{2+}$。

[3471] 2.156(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{(3S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸(合成子YV)的合成

[3472] 在实例2.155.2的制备过程中,分离呈纯非对映异构体的实例2.156。(位置3处的绝对构型是任意指定的。)^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.82(s,1H),9.85(s,1H),8.08(d,2H),8.03-7.95(m,2H),7.75(d,1H),7.57(d,1H),7.51-7.29(m,6H),7.24(s,1H),7.18(d,1H),6.95(s,2H),6.91(d,1H),5.59(dd,1H),5.06-4.86(m,4H),4.43(dt,2H),4.32(t,1H),4.11(t,1H),3.84(t,2H),3.75(t,3H),3.55-3.41(m,43H),3.41-3.36(m,2H),3.19(s,5H),3.10(t,1H),3.03-2.86(m,3H),2.59(s,3H),2.13-1.82(m,6H),1.52(s,1H),1.37-0.65(m,26H)。MS(ESI)m/e 1067.8$(M-2H)^{2-}$。

[3473] 2.157(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{(3R)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸(合成子YW)的合成

[3474] 在实例2.155.2的制备过程中,分离呈纯非对映异构体的实例2.157。(位置3处的绝对构型是任意指定的。)^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.81(s,1H),9.81(s,1H),8.10(d,2H),8.00(d,1H),7.94(s,1H),7.75(d,1H),7.57(d,1H),7.51-7.28(m,6H),7.24(s,1H),7.18(d,1H),6.98(s,2H),6.91(d,1H),5.59(t,1H),5.06-4.87(m,4H),4.46-4.26(m,2H),4.12(d,1H),3.84(t,2H),3.75(d,3H),3.46(d,27H),3.40-3.36(m,2H),3.19(s,5H),3.01-2.85(m,3H),2.60(s,3H),1.99(d,4H),1.52(s,1H),1.35-0.65(m,23H)。MS(ESI)m/e 1067.8$(M-2H)^{2-}$。

[3475] 2.158(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{(3S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(3-磺丙基)-1H-1,2,3-三唑-

4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸(合成子ZB)的合成

[3476] 2.158.1 3-叠氮基丙烷-1-磺酸钠

[3477] 向叠氮化钠(3.25g)在水(25mL)中的混合物中添加在丙酮(25mL)中的1,2-氧硫杂环戊烷2,2-二氧化物(6.1g)。将所得混合物在室温搅拌24小时并浓缩至干燥。将该固体悬浮在二乙醚(100mL)中并在回流下搅拌1小时。将悬浮液冷却至室温,并且将固体通过过滤收集,用丙酮和二乙醚洗涤,并在真空下干燥,得到标题化合物。MS(LC-MS)m/e 164(M-H)$^-$。

[3478] 2.158.2异丙基3-叠氮基丙烷-1-磺酸酯

[3479] 将实例2.158.1(6.8g)在浓HCl(90mL)中的混合物在室温下搅拌1小时。将混合物浓缩至干燥。将残余物溶于二氯甲烷(350mL)中,并将三异丙氧基甲烷(42.0mL)一次性添加到混合物中。将所得混合物在50℃搅拌2小时并浓缩至干燥。将粗残余物通过硅胶色谱法(用10/1石油醚/乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H-NMR($CDCl_3$,400MHz):1.42(s,3H),1.44(s,3H),2.08-2.15(m,2H),3.17(t,2H),3.51(t,2H),4.95-5.01(m,1H)。

[3480] 2.158.3 3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-(1-(3-磺丙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)丙酸

[3481] 向实例2.150.1(450mg)在叔-丁醇/H_2O(2:1,9mL)中的混合物中添加实例2.158.2(483mg),随后添加硫酸铜(II)(18.59mg)和(R)-2-((S)-1,2-二羟乙基)-4-羟基-5-氧代-2,5-二氢呋喃-3-钠(46.2mg)。将所得混合物在室温搅拌16小时并将混合物浓缩至干燥。将残余物通过反相HPLC(在系统(C18柱)上,用含有0.1%三氟乙酸的20%-80%乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物吉尔森。^{1}H-NMR(二甲基亚砜-d_6,400MHz):2.06-2.10(m,2H),2.45-2.48(m,2H),3.21-3.23(m,2H),4.40-4.44(m,2H),5.55-5.59(m,1H),7.05(s,2H),8.10(s,1H)。MS(LCMS)m/e 359(M+H)$^+$。

[3482] 2.158.4(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{(3S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(3-磺丙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸

[3483] 使用实例2.150.3中的程序,分别用实例2.158.3和实例2.154.1替换实例2.150.2和实例2.112.2来制备标题化合物。分离呈纯非对映异构体的化合物。(位置3的绝对构型是任意指定的。)^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ10.14-9.66(m,1H),8.07(d,2H),8.04-7.96(m,2H),7.75(d,1H),7.57(d,1H),7.52-7.29(m,7H),7.26(s,1H),7.18(d,1H),6.92(d,3H),5.58(t,1H),5.09-4.84(m,4H),4.35(dt,3H),4.15-4.02(m,1H),3.89-3.65(m,4H),3.28(d,1H),3.21(dd,2H),3.14-3.02(m,2H),3.01-2.86(m,4H),2.62(d,3H),2.37(t,2H),2.29(s,0H),2.02(dt,5H),1.52(s,1H),1.40-0.59(m,24H)。MS(ESI)m/e 1715.3(M-H)$^-$。

[3484] 2.159(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{(3R)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(3-磺丙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸(合成子ZC)的合成

[3485] 在实例2.158的制备过程中,分离呈纯非对映异构体的实例2.159。(位置3的绝对

构型是任意指定的。)^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ9.97(d,1H),8.21(d,1H),8.13(d,1H),8.04-7.96(m,2H),7.75(d,1H),7.57(d,1H),7.55-7.37(m,4H),7.36-7.25(m,3H),7.17(d,1H),6.98(s,2H),6.93(d,1H),5.58(t,1H),4.94(d,4H),4.50-4.26(m,3H),4.10(s,1H),3.98-3.73(m,3H),3.51(d,1H),3.42(s,3H),3.34-3.01(m,6H),3.01-2.83(m,4H),2.63(d,4H),2.42(d,1H),2.18-1.80(m,8H),1.53(s,1H),1.39-0.68(m,27H)。MS(ESI)m/e 1715.4$(M-H)^-$。

[3486] 2.160(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-[2-(2-磺基乙氧基)乙基]-β-丙氨酰-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸(合成子ZJ)的合成

[3487] 2.160.1 4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基2-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙氧基)乙烷磺酸酯

[3488] 在20℃,向叔丁基(2-羟乙基)氨基甲酸酯(433mg)在二甲基亚砜(0.9mL)中的混合物中添加4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(500mg)和K_2CO_3(210mg)。将混合物温热至60℃并在加盖的瓶中搅拌16小时。将混合物用乙酸乙酯稀释,用水和盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱法(用石油醚/乙酸乙酯(10:1-2:1)洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(LC-MS)m/e 630.3$(M+Na)^+$。

[3489] 2.160.2 4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基2-(2-氨基乙氧基)乙烷磺酸酯

[3490] 在20℃,向实例2.160.1(1.5g)在无水二氯甲烷(100mL)中的混合物中添加溴化锌(II)(0.445g)。将混合物在室温搅拌16小时。将另外的溴化锌(II)(278mg)添加到上述混合物中,并将反应再搅拌16小时。用1M水性Na_2CO_3混合物(5mL)猝灭反应,并且将水层用乙酸乙酯萃取三次。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法(用二氯甲烷/甲醇(10:1)洗脱)进行纯化以获得标题化合物。MS(LC-MS)m/e 508.2$(M+H)^+$。

[3491] 2.160.3叔丁基3-((2-(2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)乙基)氨基)丙酸酯

[3492] 向实例2.160.2(0.365g)于N,N-二甲基甲酰胺(5.5mL)和水(0.55mL)中的混合物中添加丙烯酸叔丁酯(0.105mL)和三乙胺(10.02μL)。将混合物在60℃搅拌30小时。将混合物浓缩。将残余物与1M水性Na_2CO_3混合物(5mL)混合。将水层用乙酸乙酯萃取三次。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法(用二氯甲烷/乙酸乙酯(3:1)和二氯甲烷/甲醇(10:1)洗脱)进行纯化,得到标题化合物。MS(LC-MS)m/e 636.3$(M+H)^+$。

[3493] 2.160.4叔丁基3-(N-(2-(2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)乙基)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基)丙酸酯

[3494] 在0℃,向实例2.160.3(557.5mg)、2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸(272mg)和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(667mg)在N,N-二甲基甲酰胺(1.75mL)中的混合物中添加N,N-二异丙基乙基胺(0.459mL)。将所得混合物在0℃搅拌1小时。将反应混合物与饱和水性NH_4Cl混合物混合,用乙酸乙酯萃取并用盐水洗

涤。将有机层经硫酸钠干燥，过滤并浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法(用石油醚/乙酸乙酯(2/1)洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(LC-MS)m/e 795.3(M+Na)$^+$。

[3495] 2.160.5 3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-N-(2-(2-磺基乙氧基)乙基)乙酰胺基)丙酸

[3496] 向实例2.160.4(230mg)在二氯甲烷(4mL)中的混合物中添加三氟乙酸(3mL)。将混合物在20℃搅拌16小时并浓缩。将残余物通过反相HPLC(在系统(C18柱)上，用含有0.1％三氟乙酸的20％-80％乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物吉尔森。MS(LC-MS)m/e 379.0(M+Na)$^+$。

[3497] 2.160.6 2-(2-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-N-(3-((2,5-二氧吡咯烷-1-基)氧基)-3-氧丙基)乙酰胺基)乙氧基)乙烷-1-磺酸

[3498] 将1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(16.43mg)、实例2.160.5(30mg)、1-乙基-3-[3-(二甲氨基)丙基]-碳二亚胺盐酸化物(45.6mg)在N,N-二甲基甲酰胺中的混合物搅拌过夜。将反应混合物通过反相HPLC(在系统(C18柱)上，用含有0.1％三氟乙酸的2％-30％乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物吉尔森。MS(ESI)m/e 475.9(M+H)$^+$。

[3499] 2.160.7(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-[2-(2-磺基乙氧基)乙基]-β-丙氨酰-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸

[3500] 在0℃，向1-羟基苯并三唑水合物(4.45mg)、实例2.160.6(8.97mg)和实例2.154.1(20mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.8mL)中的混合物中滴加N,N-二异丙基乙胺(20μL)。将反应混合物在室温搅拌1小时，并通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上，用含有0.1％三氟乙酸的30％-55％乙腈水溶液洗脱)进行纯化以给出标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δ12.87(s,1H),9.88(d,1H),8.28-8.10(m,1H),8.03(d,1H),7.95(d,1H),7.78(d,1H),7.60(d,1H),7.56-7.31(m,7H),7.28(s,1H),7.21(d,1H),7.06(d,2H),6.95(d,1H),5.06-4.90(m,4H),4.38(q,3H),4.28-4.11(m,1H),3.87(t,2H),3.79(d,2H),3.71-3.49(m,5H),3.21(d,2H),3.12(q,2H),2.97(dt,3H),2.84-2.57(m,6H),2.38(dd,1H),2.13-1.86(m,5H),1.55(s,1H),1.39-0.64(m,25H)。MS(ESI)m/e 867.6(M-2H)$^{2-}$。

[3501] 2.161 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-[1-({3-[2-({[(2-{2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟噁烷-2-基]乙基}-4-{[(2S)-2-{[(2S)-2-{[(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-{4-[(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)氧基]苯基}丙酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}丙酰基]氨基}苯基)甲氧基]羰基}[(3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基]氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(合成子ZE)的合成

[3502] 通过用实例2.120.5取代实例2.153中的实例2.119.15来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 12.84(bs,2H),9.92(m,1H),8.26(d,1H),8.13(d,1H),8.03(d,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.52-7.41(m,4H),7.36(m,3H),7.27(s,1H),7.21(d,1H),7.02(d,2H),6.95(d,1H),6.89(s,2H),6.78(d,2H),5.02(bs,4H),4.96(s,2H),4.59

(dd,1H),4.38(m,2H),4.21(t,1H),3.99(t,2H),3.88(t,2H),3.79(m,2H),3.69(t,2H),3.64(m,1H),3.57(m,4H),3.53(m,4H),3.50(s,40H),3.42(m,2H),3.38(m,1H),3.30(m,2H),3.23(s,6H),3.20-3.08(m,6H),3.01(t,2H),2.94(t,1H),2.76(m,1H),2.61(m,1H),2.08(s,3H),2.06-1.92(m,2H),1.67-1.52(m,3H),1.38(m,1H),1.32-1.22(m,6H),1.18-1.01(m,6H),0.92(m,2H),0.84(m,6H),0.78(m,6H)。MS(ESI)m/e 1078(M-2H)⁻。

[3503] 2.162 4-{[({2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基}[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基}-3-(2-{2-[2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]乙氧基}乙氧基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子ZS)的合成

[3504] 2.162.1 3-(1-((3-(2-((((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3505] 通过用实例2.62.6取代实例2.49.1中的(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯,以及用实例1.85取代实例2.49.1中的实例1.2.9来制备实例2.162.1。MS(ESI)m/e 1261.4(M-H)⁻。

[3506] 2.162.2 4-{[({2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)氧基]乙基}[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基}-3-(2-{2-[2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]乙氧基}乙氧基)苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[3507] 通过用实例2.162.1取代实例2.54中的实例2.49.1来制备实例2.162.2。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ8.18(t,1H),8.00(dd,1H),7.76(d,1H),7.58(dd,1H),7.50-7.29(m,6H),7.26(s,1H),7.17(d,1H),7.03(s,2H),6.92(d,1H),6.64(d,1H),6.57(dd,1H),4.94(d,4H),4.08(hept,2H),4.00(s,2H),3.92-3.68(m,8H),3.51-3.13(m,12H),2.98(t,2H),2.06(s,3H),1.65(s,1H),1.43-0.66(m,18H)。MS(ESI)m/e 1398.5(M-H)⁻。

[3508] 2.163 2,6-脱水-8-[2-({[{2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)-5-{[(79S,82S)-74-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-82-甲基-77,80,83-三氧代-79-(丙烷-2-基)-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-74,78,81-三氮杂八十三烷-83-基]氨基}苯基]-7,8-双脱氧-L-丙三基-L-古洛糖-辛酸(合成子ZW)的合成

[3509] 2.163.1苄基2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-74-氮杂七十七烷-77-酸酯

[3510] 使用实例2.147.1中的程序,用2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂七十三烷-73-胺替换2,5,8,11,14,17,20,23,

26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-胺来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 625.9(M+2H)$^{2+}$。

[3511] 2.163.2 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-74-氮杂七十七烷-77-酸

[3512] 使用实例2.147.2中的程序,用实例2.163.1替换实例2.147.1来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1160.7(M+H)$^{+}$。

[3513] 2.163.3 2,5-二氧吡咯烷-1-基74-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯 -1- 基) 乙 酰基)-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-74-氮杂七十七烷-77-酸酯

[3514] 使用实例2.147.3中的程序,用实例2.163.2替换实例2.147.2来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 698.1(M+2H)$^{2+}$。

[3515] 2.163.4 2,6-脱水-8-[2-({[{2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)-5-{[(79S,82S)-74-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-82-甲基-77,80,83-三氧代-79-(丙烷-2-基)-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-74,78,81-三氮杂八十三烷-83-基]氨基}苯基]-7,8-双脱氧-L-丙三基-L-古洛糖-辛酸

[3516] 使用实例2.147.4中的程序,分别用实例2.163.3和实例2.154.1替换实例2.147.3和实例2.141.4来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ9.86(s,1H),8.23-7.87(m,3H),7.76(d,1H),7.58(dd,1H),7.53-7.25(m,7H),7.19(d,1H),7.05(d,2H),6.92(d,1H),5.07-4.85(m,4H),4.49-4.30(m,3H),4.20(dt,1H),3.52(d,8H),3.46-3.26(m,7H),3.20(s,4H),3.15-2.82(m,4H),2.61(s,3H),2.38(dq,1H),2.11-1.82(m,5H),1.53(s,1H),1.39-0.66(m,24H)。MS(ESI)m/e1326.9(M-2H)$^{2-}$。

[3517] 2.1646-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[(3-{2-[{[(4-{[(2S,5S)-2-[3-(氨基甲酰基氨基)丙基]-10-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-4,7-二氧代-5-(丙烷-2-基)-15-磺基-13-氧杂-3,6,10-十五烷-1-酰基]氨基}苯基)甲氧基]羰基}(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子ZX)的合成

[3518] 将1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(2.74mg)、1-乙基-3-[3-(二甲氨基)丙基]-碳二亚胺盐酸化物(4.26mg)和实例2.160.5(9.01mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.3mL)中的混合物在室温搅拌过夜。将混合物在冰浴中冷却。添加1-羟基苯并三唑水合物(3.65mg)、以及实例2.112.2(20mg)和N,N-二异丙基乙基胺(22.19μL)的混合物。将所得混合物在0℃搅拌10分钟并通过反相HPLC(用在0.1%三氟乙酸水溶液中的30%-55%乙腈洗脱)进行纯化以提供标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ9.95(d,1H),8.18-7.89(m,3H),7.76(d,1H),7.57(d,3H),7.52-7.21(m,8H),7.04(d,2H),6.92(d,1H),4.94(d,4H),4.37(d,2H),4.19(d,1H),3.85(t,2H),3.77(d,2H),3.22(d,2H),2.96(dt,4H),2.73(dt,2H),2.66-2.55(m,2H),2.36(s,1H),2.06(s,3H),1.91(s,1H),1.61(d,3H),1.47-0.86(m,11H),0.80(ddd,12H)。MS(ESI)m/e1617.5(M-H)$^{-}$。

[3519] 2.165此段落有意留空。

[3520] 2.1666-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)-4-((S)-2-((S)-2-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸(合成子AAA)的合成

[3521] 通过用实例2.167.1取代实例2.119.17中的实例2.119.16来制备标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.86(brd,1H),8.17(br d,1H),8.04(m,2H),7.78(d,1H),7.61(d,1H),7.51(br d,1H),7.49-7.39(m,4H),7.36(m,2H),7.29(s,1H),7.21(d,1H),7.07(s,2H),6.95(d,1H),5.00(s,2H),4.96(s,2H),4.64(t,1H),4.36(m,1H),4.19(m,1H),4.16(d,1H),4.01(d,1H),3.88(br t,2H),3.82(br m,3H),3.75(br m,1H),3.64(t,2H),3.54(d,2H),3.47(m,4H),3.43(br m,4H),3.23(br m,5H),3.13(t,1H),3.10(br m,1H),3.01(br m,2H),2.93(t,1H),2.83-2.68(m,3H),2.37(m,1H),2.08(s,3H),1.99(br m,2H),1.85(m,1H),1.55(br m,1H),1.37(br m,1H),1.28(br m,6H),1.10(br m,7H),0.93(brm,1H),0.88-0.69(m,12H)。MS(ESI)m/e 1713.6$(M-H)^-$。

[3522] 替代性6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)-4-((S)-2-((S)-2-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸(合成子AAA)的合成

[3523] 2.166.1 3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3524] 向实例1.85(0.065g)、1-羟基苯并三唑(0.013g)和N,N-二异丙基乙基胺(0.06mL)在N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中的搅拌溶液中添加实例2.123.19(0.085g),并将该混合物在室温搅拌2小时。在减压下浓缩反应。将残余物溶于甲醇(0.5mL)和四氢呋喃(0.5mL)的溶剂混合物中,并添加氢氧化锂一水合物(30mg)。将反应在环境温度下搅拌1小时,然后在减压下浓缩反应。将残余物溶于含有0.1mL三氟乙酸的甲醇/水(1:1,1mL)中。将样品通过反相HPLC(Phenomenex® Luna®C18250×50mm柱,100mL/min),用含有0.01%三氟乙酸的20%-100%乙腈水溶液洗脱40分钟进行纯化。将含有产物的级分冻干以给出标题化合物。MS(ESI)m/z 1357.5$(M+H)^+$。

[3525] 2.166.2 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((((2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)-4-((S)-2-((S)-2-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-

1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸(合成子AAA)

[3526] 向实例2.119.15(16mg)于N,N-二甲基甲酰胺(200μL)中的溶液中添加1-[双(二甲氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐(16mg,HATU)和N,N-二异丙基乙基胺(17μL)。将反应搅拌5分钟,并添加实例2.166.1(48mg)和N,N-二异丙基乙胺(20μL)在N,N-二甲基甲酰胺(200μL)中的溶液。将反应搅拌一小时,并用N,N-二甲基甲酰胺/水(1/1,1.5mL)的混合物稀释。将样品通过反相HPLC(Phenomenex® Luna®C18250×50mm柱,100mL/min),用含有0.01%三氟乙酸的20%-70%乙腈水溶液洗脱40分钟进行纯化。将含有产物的级分冻干以给出标题化合物。^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.86(br d,1H),8.17(br d,1H),8.04(m,2H),7.78(d,1H),7.61(d,1H),7.51(br d,1H),7.49-7.39(m,4H),7.36(m,2H),7.29(s,1H),7.21(d,1H),7.07(s,2H),6.95(d,1H),5.00(s,2H),4.96(s,2H),4.64(t,1H),4.36(m,1H),4.19(m,1H),4.16(d,1H),4.01(d,1H),3.88(br t,2H),3.82(br m,3H),3.75(br m,1H),3.64(t,2H),3.54(d,2H),3.47(m,4H),3.43(br m,4H),3.23(br m,5H),3.13(t,1H),3.10(br m,1H),3.01(br m,2H),2.93(t,1H),2.83-2.68(m,3H),2.37(m,1H),2.08(s,3H),1.99(br m,2H),1.85(m,1H),1.55(br m,1H),1.37(br m,1H),1.28(br m,6H),1.10(br m,7H),0.93(br m,1H),0.88-0.69(m,12H)。MS(ESI)m/z 1713.6(M-H)$^-$。

[3527] 2.1672,6-脱水-8-(2-{[({2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)氧基]乙基}[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基}-5-{[(2S)-2-({(2S)-2-[2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]-3-甲基丁酰基}氨基)丙酰基]氨基}苯基)-7,8-双脱氧-L-丙三基-L-古洛糖-辛酸(合成子AAD)的合成

[3528] 2.167.1 3-(1-((3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰氨基)丙酰胺基)-2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3529] 通过用实例2.123.19取代实例2.49.1中的(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯,以及用实例1.85取代实例2.49.1中的实例1.2.9来制备实例2.167.1。MS(ESI)m/e 1355.5(M-H)$^-$。

[3530] 2.167.2 2,6-脱水-8-(2-{[({2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)氧基]乙基}[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基}-5-{[(2S)-2-({(2S)-2-[2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]-3-甲基丁酰基}氨基)丙酰基]氨基}苯基)-7,8-双脱氧-L-丙三基-L-古洛糖-辛酸

[3531] 通过用实例2.167.1取代实例2.54中的实例2.49.1来制备实例2.167.2。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δ9.90(d,1H),8.25(m,2H),8.01(d,1H),7.77(d,1H),7.59(d,1H),7.51-7.40(m,4H),7.40-7.31(m,3H),7.26(s,1H),7.20(d,1H),7.05(s,2H),6.93(d,

1H),4.96(d,4H),4.36(t,1H),4.22-4.06(m,3H),3.85(t,2H),3.26-3.17(m,4H),3.14-2.88(m,5H),2.78-2.55(m,2H),2.10-1.88(m,5H),1.69-1.49(m,2H),1.39-0.73(m,28H)。MS(ESI)m/e 1492.5(M-H)⁻。

[3532] 2.1682-{[({2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)氧基]乙基}[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基}-5-{4-[2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]丁基}苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子AAE)的合成2.168.1 3-(1-((3-(2-((((4-(4-氨基丁基)-2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

[3533] 通过用实例2.124.5取代实例2.49.1中的(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯,以及用实例

[3534] 1.85取代实例2.49.1中的实例1.2.9来制备实例2.168.1。MS(ESI)m/e1229.5(M-H)⁻。

[3535] 2.168.2 2-{[({2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)氧基]乙基}[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基}-5-{4-[2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]丁基}苯基β-D-吡喃葡糖苷酸

[3536] 通过用实例2.168.1取代实例2.54中的实例2.49.1来制备实例2.168.2。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δ8.07(s,1H),8.01(dt,1H),7.77(dt,1H),7.63-7.57(m,1H),7.51-7.39(m,3H),7.38-7.31(m,2H),7.26(s,1H),7.16(d,1H),7.05(s,2H),6.93(d,2H),6.84-6.80(m,1H),5.14-4.98(m,3H),4.94(s,2H),3.79(d,2H),3.48-3.19(m,10H),3.08-2.96(m,4H),2.52(s,4H),2.07(s,2H),1.77-0.72(m,14H)。MS(ESI)m/e 1366.5(M-H)⁻。

[3537] 2.169 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[(3-{2-[{[(4-{[(2S)-5-(氨基甲酰基氨基)-2-{[(2S)-2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}戊酰基]氨基}苯基)甲氧基]羰基}(2-磺乙基)氨基]乙酰胺基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子ABG)的合成

[3538] 如在实例2.54中描述的,用实例1.89.12替换实例2.49.1来制备标题化合物。^{1}H NMR(501MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.95(d,1H),8.10-7.96(m,1H),7.75(t,2H),7.57(dd,3H),7.51-7.18(m,8H),6.95(d,3H),6.92(s,0H),5.03-4.86(m,4H),4.36(d,1H),3.85(t,2H),3.78-3.67(m,4H),3.42(s,2H),3.33(t,2H),3.04-2.86(m,4H),2.63(d,2H),2.13(dd,1H),2.07(s,3H),1.98-1.87(m,0H),1.71-1.23(m,10H),1.24-0.85(m,6H),0.78(t,11H)。MS(ESI)m/e 1463.5(M-H)⁻。

[3539] 2.170 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{4-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}硫

烷基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子ABL)的合成

[3540] 通过用实例1.90.11取代实例2.1中的实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR (500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 10.0(s,1H),8.08(br s,1H),8.03(d,1H),7.81(br s,1H) 7.78(d,1H),7.60(m,3H)7.52(t,1H),7.47(t,1H),7.43(d,1H),7.37(d,1H),7.34(d,1H) 7.32(s,1H),7.28(d,2H),6.99(s,1H),6.96(d,2H),5.00(s,2H),4.96(s,2H),4.39(m,1H), 4.18(m,2H),3.88(m,2H),3.82(s,1H),3.77(s,1H),3.46(br m,2H),3.58(t,2H),3.29(v br m,2H),3.01(br m,3H),2.95(br m,1H),2.47(m,2H),2.61(br m,2H)2.16(m,1H),2.10 (m,4H),1.96(br m,1H),1.69(v br m,1H),1.59(v br m,1H),1.53-1.40(m,7H),1.39-1.22(m,5H),1.17(m,3H),1.13-0.88(m,6H),0.87-0.77(m,9H),0.75(s,3H)。MS(ESI)m/e 1466.5(M-H)$^-$。

[3541] 2.171 N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[(3-{3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}丙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N5-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子ABN)的合成

[3542] 如在实例2.1中描述的,用实例1.91.13替换实例1.2.9来制备标题化合物。^{1}H NMR (501MHz,DMSO-d_6)δppm 12.83(s,1H),9.96(s,1H),8.03(t,2H),7.77(d,2H),7.64-7.52 (m,3H),7.45(ddd,3H),7.34(td,2H),7.29-7.21(m,3H),7.03-6.91(m,3H),4.95(d,4H), 4.37(q,1H),4.17(s,1H),3.86(t,2H),3.45-3.29(m,4H),3.10(t,2H),2.95(dt,4H),2.61 (q,2H),2.15(td,2H),2.07(s,3H),2.00-1.89(m,1H),1.74-

[3543] 1.24(m,10H),1.25-0.87(m,13H),0.88-0.70(m,12H)。MS(ESI)m/e1450.2(M+H)$^+$。

[3544] 2.1722-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-{4-[({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)氨基]丁基}苯基β-D-吡喃葡糖苷酸(合成子AAF)的合成

[3545] 如在实例2.119.17中描述的,用实例2.168.1替换实例2.119.16来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 8.03(d,1H),7.84(br t,1H),7.78(d,1H),7.61 (d,1H),7.50(br d,1H),7.45(dd,1H),7.43(d,1H),7.36(m,2H),7.29(s,1H),7.17(brm, 1H),7.06(s,2H),6.95(m,2H),6.85(d,1H),5.08(s,2H),5.02(d,1H),4.96(s,2H),4.70(t, 1H),4.06(d,2H),3.88(m,4H),3.81(m,2H),3.73(br m,1H),3.62(m,2H),3.47(br m,4H), 3.40(m,4H),3.35(m,2H),3.29(m,4H),3.07(m,2H),3.00(t,2H),2.73(m,2H),2.54(m,2H), 2.36(br m,1H),2.09(s,3H),1.83(m,1H),1.71(brm,1H),1.55(br m,2H),1.40(br m,5H), 1.24(br m,4H),1.10(br m,5H),0.94(br m,1H),0.83,0.81(两者均为s,总计6H)。MS(ESI) m/e 1587.5(M-H)$^-$。

[3546] 2.1732,6-脱水-8-[2-({[{2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)-5-

{[N-({(3R,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-L-丙氨酰]氨基}苯基]-7,8-双脱氧-L-丙三基-L-古洛糖-辛酸(合成子ABO)的合成

[3547] 2.173.1(3R,6R,7aS)-6-叠氮基-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

[3548] 通过用实例2.119.3取代实例2.119.4中的实例2.119.2来制备标题化合物。MS(DCI)m/e 262.0$(M+NH_4)^+$。

[3549] 2.173.2(3R,6R,7aS)-6-氨基-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

[3550] 通过用实例2.173.1取代实例2.119.5中的实例2.119.4来制备标题化合物。MS(DCI)m/e 219.0$(M+H)^+$。

[3551] 2173.3(3R,6R,7aS)-6-(二苄基氨基)-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

[3552] 通过用实例2.173.2取代实例2.119.6中的实例2.119.5来制备标题化合物。MS(DCI)m/e 399.1$(M+H)^+$。

[3553] 2.173.4(3R,5S)-3-(二苄基氨基)-5-(羟甲基)吡咯烷-2-酮

[3554] 除了将该反应在65℃下加热1天而非6天之外,通过用实例2.173.3取代实例2.119.7中的实例2.119.6来制备标题化合物。MS(DCI)m/e 311.1(M+H)+。

[3555] 2.173.5(3R,5S)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-(二苄基氨基)吡咯烷-2-酮

[3556] 通过用实例2.173.4取代实例2.119.8中的实例2.119.7来制备标题化合物。将标题化合物不经纯化而用于下一步骤。MS(DCI)m/e425.2$(M+H)^+$。

[3557] 2.173.6叔丁基2-((3R,5S)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-(二苄基氨基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸酯

[3558] 通过用实例2.173.5取代实例2.119.9中的实例2.119.8来制备标题化合物。将标题化合物不经纯化而用于下一步骤。MS(DCI)m/e539.3$(M+H)^+$。

[3559] 2.173.7叔丁基2-((3R,5S)-3-(二苄基氨基)-5-(羟甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸酯

[3560] 通过用实例2.173.6取代实例2.119.10中的实例2.119.9来制备标题化合物。MS(DCI)m/e 425.2$(M+H)^+$。

[3561] 2.173.8叔丁基2-((3R,5S)-5-((2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-3-(二苄基氨基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸酯

[3562] 通过用实例2.173.7取代实例2.119.11中的实例2.119.10来制备标题化合物。

[3563] 2.173.9叔丁基(S)-2-(2-((2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-5-氧代吡咯烷-1-基)乙酸酯

[3564] 通过用实例2.173.8取代实例2.119.12中的实例2.119.11来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 691.1$(M+H)^+$。

[3565] 2.173.104-(((3R,5S)-1-(2-(叔丁氧基)-2-氧乙基)-5-((2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-2-氧代吡咯烷-3-基)氨基)-4-氧代丁-2-烯酸

[3566] 通过用实例2.173.9取代实例2.119.13中的实例2.119.12来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 789.0$(M+H)^+$。

[3567] 2.173.11叔丁基2-((3R,5S)-5-((2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸酯

[3568] 通过用实例2173.10取代实例2.119.14中的实例2.119.13来制备标题化合物。

[3569] 2.173.122-((3R,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酸

[3570] 通过用实例2.173.11取代实例2.119.15中的实例2.119.14来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 377.0$(M+H)^+$。

[3571] 2.173.132,6-脱水-8-[2-({[{2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)-5-{[N-({(3R,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰基-L-丙氨酰]氨基}苯基]-7,8-双脱氧-L-丙三基-L-古洛糖-辛酸

[3572] 通过用实例2.123.20取代实例2.119.17中的实例2.119.16、以及用实例2.173.12取代实例2.119.17中的实例2.119.15来制备标题化合物。^{1}H NMR(400MHz,二甲基亚砜-d_6)δ ppm 9.94(d,1H),8.28(br d,1H),8.01(d,2H),7.77(d,1H),7.59(d,1H),7.53(d,1H),7.43(m,4H),7.34(m,3H),7.19(d,1H),7.06(s,2H),6.96(d,1H),4.99(m,2H),4.95(s,2H),4.78(t,1H),4.36(t,1H),4.19(br m,1H),4.16(d,1H),3.98(d,1H),3.87(br t,2H),3.81(br d,2H),3.73(brm,1H),3.63(t,2H),3.53(m,2H),3.44(m,4H),3.31(t,2H),3.21(br m,2H),3.17(m,2H),3.00(m,2H),2.92(br m,1H),2.75(m,3H),2.65(br m,3H),2.35(br m,1H),2.16(m,1H),2.07(s,3H),1.98(br m,2H),1.55(br m,1H),1.34(br m,1H),

[3573] 1.26(br m,6H),1.09(br m,7H),0.93(br m,1H),0.87,0.83,0.79(全部为d,总计12H)。MS(ESI)m/e 1733.3$(M-H)^-$。

[3574] 2.1742,6-脱水-8-{2-({[{2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基)氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)-5-[(N-{[(3R,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-(41-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三烷氧杂-42-氮杂四十三烷-43-基)吡咯烷-1-基]乙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}-7,8-双脱氧-L-丙三基-L-古洛糖-辛酸(合成子ABM)的合成

[3575] 2.174.1叔丁基[(3R,5S)-5-{[双(叔丁氧基羰基)氨基]甲基}-3-(二苄基氨基)-2-氧代吡咯烷-1-基]乙酸酯

[3576] 向实例2.173.7(1.6g)在二氯甲烷(15mL)中的冷却的(0℃)溶液中逐滴添加三乙胺(0.70mL)和甲磺酰氯(0.39mL)。移去冰浴,并将反应在室温搅拌两小时。将反应通过添加饱和碳酸氢钠水溶液猝灭。将各层分离、并将有机层用盐水洗涤。将合并的水层用二氯甲烷反萃取。将合并的有机层用无水硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩,得到中间体甲磺酸盐(1.9g)。将残余物溶于乙腈(15mL)中,并且添加二叔丁基亚氨基二羧酸酯(1.0g)和碳酸铯(2.4g)。在氮下将反应加热至回流持续一天。通过添加水和二乙醚将反应冷却并猝灭。将各

层分离，并将有机层用盐水洗涤。将合并的水层用二乙醚反萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥、过滤、并在减压下浓缩。将残余物经由硅胶色谱法(用在庚烷中的20％乙酸乙酯洗脱)进行纯化以给出标题化合物。MS(DCI)m/e 624.3$(M+H)^+$。

[3577] 2.174.2叔丁基[(3R,5S)-3-氨基-5-{[双(叔丁氧基羰基)氨基]甲基}-2-氧代吡咯烷-1-基]乙酸酯

[3578] 向实例2.174.1(1.0g)在乙酸乙酯(6mL)和甲醇(18mL)中的溶液中添加氢氧化钯碳(100mg，按重量计20％)。将反应在室温在氢气囊下搅拌一天。将反应通过硅藻土过滤，用乙酸乙酯洗脱。将滤液在减压下浓缩，溶于二氯甲烷(10mL)中，并通过Teflon 40微米针头过滤器进行过滤。将滤液在减压下浓缩，以得到标题化合物。MS(DCI)m/e 444.1$(M+H)^+$。

[3579] 2.174.3 4-{[(3R,5S)-5-{[双(叔丁氧基羰基)氨基]甲基}-1-(2-叔丁氧基-2-氧乙基)-2-氧代吡咯烷-3-基]氨基}-4-氧代丁-2-烯酸

[3580] 通过用实例2.174.2取代实例2.119.13中的实例2.119.12来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 540.2$(M-H)^-$。

[3581] 2.174.4叔丁基[(3R,5S)-5-{[双(叔丁氧基羰基)氨基]甲基}-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代吡咯烷-1-基]乙酸酯

[3582] 通过用实例2.174.3取代实例2.119.14中的实例2.119.13来制备标题化合物。MS(DCI)m/e 541.1$(M+NH_4)^+$。

[3583] 2.174.5 2-((3R,5S)-5-(氨甲基)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸

[3584] 向实例2.174.4(284mg)在二氯甲烷(10mL)中的溶液中添加三氟乙酸(5mL)。将反应在室温搅拌2小时并在减压下浓缩。将残余物溶于水/乙腈7/3(5mL)中，冷冻并冻干，得到标题化合物，将该标题化合物不经进一步纯化用于后续步骤。MS(ESI)m/e 266.1$(M-H)^-$。

[3585] 2.174.6 2-((3R,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-(41-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氧杂-42-氮杂四十三烷-43-基)吡咯烷-1-基)乙酸

[3586] 向2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氧杂四十一烷-41-酸(160mg)在N,N-二甲基甲酰胺(1.0mL)中的溶液中添加O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N’,N’-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(85mg)和N,N-二异丙基乙基胺(130μL)。将反应混合物在室温搅拌三分钟，并添加实例2.174.5(70mg)和N,N-二异丙基乙胺(130μL)在N,N-二甲基甲酰胺(1.0mL)中的溶液。将反应在室温搅拌一小时并用N,N-二甲基甲酰胺/水1/1(3.5mL)稀释。将溶液通过反相HPLC(在吉尔森系统(C18柱)上，用有0.1％TFA水中的20％-70％乙腈洗脱)进行纯化以提供标题化合物。MS(ESI)m/e 880.4$(M-H)^-$。

[3587] 2.174.7 2,6-脱水-8-{2-({[{2-[(3-{[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.$1^{3,7}$]癸-1-基)氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)-5-[(N-{[(3R,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-(41-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氧杂-42-氮杂四十三烷-43-基)吡咯烷-1-基]乙酰基}-L-缬氨酰基-L-丙氨酰)氨基]苯基}-7,8-双脱氧-L-丙三基-L-古洛糖-辛酸

[3588] 在实例2.119.17中，通过实例2.174.6取代实例2.119.15和实例2.123.20取代实

例2.119.16来制备标题化合物^{1}H NMR(500MHz,二甲基亚砜-d_6)δppm 9.93(br d,1H),8.28(d,1H),8.03(d,1H),8.02(br s,1H),7.91(br d,1H),7.79(d,1H),7.61(d,1H),7.51(br d,1H),7.49-7.42(m,3H),7.40(br d,1H),7.36(m,2H),7.28(s,1H),7.22(d,1H),7.06(s,2H),6.95(d,1H),5.00(br d,2H),4.95(s,2H),4.70(t,1H),4.39(m,1H),4.28(m,1H),4.00(dd,2H),3.88(br m,2H),3.85(br m,1H),3.80(br m,2H),3.62(t,2H),3.50(s,44H),3.48(d,4H),3.43(br m,2H),3.34(br m,2H),3.23(s,3H),3.21(v br m,2H),3.14(t,2H),3.10(v br m,1H),3.00(t,2H),2.94(br m,1H),2.76(v br m,1H),2.64(v br m,3H),2.34(br t,2H),2.32(m,1H),2.17(m,1H),2.09(br d,3H),2.00(brm,1H),1.56(br m,1H),1.39-1.19(br m,8H),1.19-0.92(br m,8H),0.88(br d,3H),0.87(br m,1H),0.82(br d,6H),0.79(br s,3H)。MS(ESI)m/e 1119.2[(M-2H)/2]$^-$。

[3589] 2.175(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)-b-丙氨酰-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸(合成子ABU)的合成

[3590] 使用实例2.147.4中的程序,用实例2.167.1替换实例2.141.4来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 1033.4(M+2H)$^{2+}$。

[3591] 2.176(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.13,7]癸-1-基}氧基)乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-[2-(2-磺基乙氧基)乙基]-b-丙氨酰-L-缬氨酰基-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸(合成子ABV)的合成

[3592] 使用实例2.160.7中的程序,用实例2.167.1替换实例2.154.1来制备标题化合物。MS(ESI)m/e 859.4(M+2H)$^{2+}$。

[3593] 实例3:通过小鼠杂交瘤技术生产小鼠抗B7-H3单克隆抗体

[3594] 使用小鼠杂交瘤技术得到B7-H3特异性抗体。具体地,使用表达全长人B7-H3的小鼠成纤维细胞系(3T12)以及重组人或小鼠B7-H3-ECD-人Fc融合蛋白作为免疫原,其序列在表1中提供。使用表达人B7-H3的人HCT116细胞系来测定抗血清滴度并筛选抗原特异性抗体。在免疫前将细胞系暴露于约3000mREM的γ源辐射。在Gerbu MM辅助剂(Cooper-Casey公司,山谷中心(Valley Center),CA,美国)的存在下,将两种不同的小鼠品系在跗关节处用含有5×10^6细胞/小鼠/注射或10ug的蛋白/小鼠/注射的剂量免疫,用于初级和加强免疫接种。为了提高对小鼠B7-H3的免疫响应,用人和小鼠B7-H3-ECD-人Fc蛋白的混合物进一步对小鼠免疫加强,用于最终加强。简言之,在PBS中制备如下抗原:200×10^6细胞/mL或400ug/mL蛋白。将计算的抗原体积转移到无菌微量离心管中,然后加入等体积的Gerbu MM。通过轻轻涡旋混合溶液1分钟。然后将佐剂-抗原溶液吸入合适的注射器中,用于动物注射。将总共25μL的混合物注射到小鼠的每条腿的跗关节中。将每只动物加强3次,然后测定各组的血清滴度。在融合前,用佐剂中的小鼠B7-H3-ECD-人Fc和人B7-H3-ECD-人Fc蛋白的等量混合物

给予所有动物2次额外的加强。

[3595] 表1:用于免疫或筛选的重组蛋白的氨基酸序列

蛋白质	氨基酸序列
人全长B7-H3	MLRRRGSPGMGVHVGAALGALWFCLTGALEVQVPEDPVVALVGTDATLCCSFSPEPG FSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFAEGQDQGSAYANRTALFPDLLAQGNASLRLQRVRV ADEGSFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYQGY PEAEVFWQDGQGVPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSILRVVLGANGTYSCLVRNPVLQ QDAHSSVTITPQRSPTGAVEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLIW QLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFPDLLAQGNASLRLQRVRVADEGSFTCFV SIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYRGYPEAEVFWQDG QGVPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQDAHGSVTIT GQPMTFPPEALWVTVGLSVCLIALLVALAFVCWRKIKQSCEEENAGAEDQDGEGEGS KTALQPLKHSDSKEDDGQEIA (SEQ ID NO: 149)
人B7-H3-ECD(fc融合)	MLRRRGSPGMGVHVGAALGALWFCLTGALEVQVPEDPVVALVGTDATLCCSFSPEPG FSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFAEGQDQGSAYANRTALFPDLLAQGNASLRLQRVRV ADEGSFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYQGY PEAEVFWQDGQGVPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSILRVVLGANGTYSCLVRNPVLQ QDAHSSVTITPQRSPTGAVEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLIW QLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFPDLLAQGNASLRLQRVRVADEGSFTCFV SIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYRGYPEAEVFWQDG QGVPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQDAHGSVTIT GQPMTFAAADKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK (SEQ ID NO: 150)
[3596] 小鼠B7-H3-ECD(fc融合)	MLRGWGGPSVGVCVRTALGVLCLCLTGAVEVQVSEDPVVALVDTDATLRCSFSPEPG FSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYSNRTALFPDLLVQGNASLRLQRVRV TDEGSYTCFVSIQDFDSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGNMVTITCSSYQGY PEAEVFWKDGQGVPLTGNVTTSQMANERGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNPVLQ QDAHGSVTITGQPLTFAAADKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 151)
人B7-H3-ECD(His标签)	MEFGLSWLFLVAILKGVQCGALEVQVPEDPVVALVGTDATLCCSFSPEPGFSLAQLN LIWQLTDTKQLVHSFAEGQDQGSAYANRTALFPDLLAQGNASLRLQRVRVADEGSFT CFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYQGYPEAEVFW QDGQGVPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSILRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQDAHSSV TITPQRSPTGAVEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQ LVHSFTEGRDQGSAYANRTALFPDLLAQGNASLRLQRVRVADEGSFTCFVSIRDFGS AAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYRGYPEAEVFWQDGQGVPLTG NVTTSQMANEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQDAHGSVTITGQPMTHH HHHH (SEQ ID NO: 152)
小鼠B7-H3-ECD(His标签)	MEFGLSWLFLVAILKGVQCVEVQVSEDPVVALVDTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLI WQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYSNRTALFPDLLVQGNASLRLQRVRVTDEGSYTCF VSIQDFDSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGNMVTITCSSYQGYPEAEVFWKD GQGVPLTGNVTTSQMANERGLFDVHSVLRVVLGANGTYS CLVRNPVLQQDAHGSVTITGQPLTFHHHHHH (SEQ ID NO: 153)
食蟹猴(Cyno)B7-H3-ECD(His标签)	MLHRRGSPGMGVHVGAALGALWFCLTGALEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFSPEPG FSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFLDLLAQGNASLRLQRVRV ADEGSFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYRGY PEAEVFWQDGQGAPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNPVLQ QDAHGSITITPQRSPTGAVEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLIW QLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFLDLLAQGNASLRLQRVRVADEGSFTCFV SIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYRGYPEAEVFWQDG QGAPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQDAHGSVTIT GQPMTFAAAHHHHHHH (SEQ ID NO: 154)

[3597]

注意:前导序列、Fc和His序列加下划线

[3598] 杂交瘤融合和筛选

[3599] 在融合之前培养鼠骨髓瘤细胞系(NS-0,ECACC No.85110503)的细胞以达到对数期阶段。从每只小鼠中取出腘和腹股沟淋巴结,且无菌制备单细胞悬浮液。将淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合(E.Harlow,D.Lane,Antibody:ALaboratory Manual[抗体:实验室手册],Cold Spring Harbor Laboratory Press[冷泉港出版社],冷泉港,纽约,1998);Kohler G.和Milstein C.,"Continuous cultures of fused cell secreting antibody of predefined specificity[融合细胞分泌预定特异性抗体的连续培养物]"Nature[自然],256:495-497(1975);BTX Harvard Apparatus[哈佛仪器公司](美国马萨诸塞霍丽斯顿)ECM 2001technical manual[ECM 2001技术手册])。将融合的杂交细胞分配到96孔板的DMEM/10%FBS/HAT培养基中。使用表达重组人B7-H3的人细胞系对来自存活的杂交瘤集落的上清液进行基于细胞的筛选。简言之,将表达人B7-H3的人细胞系解冻并在生长培养基中以50,000个细胞/孔直接分配到96孔(黑色,具有用于成像的透明底部)板中,并在37℃下孵育2天以达到50%汇合。将杂交瘤上清液(50μL/孔)转移至各板并在室温下孵育30分钟。从每个孔中除去培养基,并使用InCell Analyzer 2000(GE)将山羊抗小鼠IgG-AF488(Invitrogen[英杰公司],No.A11029,美国纽约州格兰德岛)用于检测。扩增命中并通过FACS使用表达人B7-H3和山羊抗小鼠IgG-PE的不同人细胞系或小鼠细胞系进行检测来确认结合。根据以下程序使用ELISA形式确定物种特异性。在室温下将ELISA板用人B7-H3-ECD-人Fc、食蟹猴B7-H3-ECD-his或小鼠B7-H3-ECD-人Fc蛋白包被过夜。洗涤板并向每个孔中添加杂交瘤上清液(sup)(100μL),并在室温下孵育1小时。洗涤板,使用驴抗小鼠IgG-HRP(Jackson Immunochemicals[杰克逊免疫化学品公司],No.115-035-071,美国宾夕法尼亚州西格罗夫)进行检测,并在650nm处观察结合OD。

[3600] 使用MoFlo(Beckman[贝克曼],美国印第安纳州印第安纳波利斯)通过将每孔单个细胞沉积到96孔细胞培养板中来亚克隆选择的命中,以确保细胞系的克隆性。使用表达人B7-H3、食蟹猴B7-H3或小鼠B7-H3的小鼠3T12成纤维细胞系,通过FACS针对特异性对得到的菌落进行筛选。使用Mouse Monoclonal Isostyping Kit[小鼠单克隆同种分型试剂盒](Roche[罗氏],No.11-493-027-001,美国印第安纳州印第安纳波利斯)测定每种单克隆抗体的同种型。亚克隆并纯化杂交瘤克隆,所述杂交瘤克隆产生针对人和食蟹猴B7-H3抗原显示出高特异性结合活性的抗体(表2)。

[3601] 表2:使用小鼠杂交瘤技术产生的抗B7-H3抗体的列表

[3602]

克隆名称	物种/同种型	FACS 结合（EC_{50} nM）		
		人 B7-H3	食蟹猴 B7-H3	小鼠 B7-H3
Ab1	小鼠 IgG1/k	2.10	1.79	299.0
Ab2	小鼠 IgG1/k	1.70	1.50	1.00
Ab3	小鼠 IgG1/k	1.66	1.42	0.94
Ab4	小鼠 IgG2b/k	4.06	3.10	1.75
Ab5	小鼠 IgG1/k	2.71	1.91	6.01
Ab6	小鼠 IgG1/k	1.59	1.53	未结合
Ab7	小鼠 IgG1/k	3.22	2.67	67.13
Ab8	小鼠 IgG1/k	3.83	8.63	193.0
Ab9	小鼠 IgG1/k	4.49	259.0	0.72
Ab10	小鼠 IgG2b/k	3.97	4.46	3.80
Ab11	小鼠 IgG1/k	23.40	2.03	568.60
Ab12	小鼠 IgG1/k	3.88	6.71	8.72
Ab13	小鼠 IgG1/k	1.94	4.12	25.80

[3603]

Ab14	小鼠 IgG1/k	3.03	2.97	102.2
Ab15	小鼠 IgG1/k	5.37	6.52	4.61
Ab16	小鼠 IgG1/k	3.94	4.28	318.7
Ab17	小鼠 IgG2b/k	2.75	2.60	2.39
Ab18	小鼠 IgG1/k	5.98	6.49	未结合

[3604] 实例4:抗B7-H3小鼠单克隆抗体的体外表征。

[3605] 通过表面等离子体共振测量纯化的抗B7-H3单克隆抗体的结合亲和力。表3显示了一系列小鼠杂交瘤衍生的抗B7-H3单克隆抗体(mAb)与人B7-H3和食蟹猴B7-H3的可溶性ECD结合的结合速率常数(k_a)、解离速率常数(k_d)和平衡解离常数(K_D)。使用Biacore T200仪和mAb捕获方法(如下面的材料和方法中所述),从SPR测量得到结合动力学。

[3606] 表3:抗B7-H3小鼠杂交瘤抗体与人和食蟹猴B7-H3结合的Biacore动力学

[3607]

	huB7-H3			*cynoB7-H3*		
鼠抗体名称	k_a(1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
Ab17	5.4E+05	1.9E-05	3.4E-11	5.1E+05	1.0E-05	1.9E-11
Ab18	2.1E+05	3.6E-05	1.7E-10	2.4E+05	2.9E-05	1.2E-10
Ab15	8.0E+04	3.4E-05	4.3E-10	7.7E+04	7.0E-05	9.1E-10
Ab4	6.9E+05	1.1E-03	1.6E-09	5.4E+05	9.6E-04	1.8E-09
Ab8	5.8E+04	9.9E-05	1.7E-09	1.6E+05	2.6E-04	1.7E-09
Ab10	4.1E+04	1.9E-04	4.6E-09	2.0E+05	4.2E-03	2.0E-08
Ab12	3.8E+04	2.5E-04	6.7E-09	5.5E+04	1.0E-05	1.8E-10
Ab5	1.3E+06	1.2E-02	9.2E-09	1.4E+06	2.8E-01	2.0E-07
Ab14	1.1E+05	1.4E-03	1.3E-08	6.9E+05	3.0E-03	4.3E-09
Ab9	6.6E+04	1.1E-03	1.7E-08	动力学拟合不佳		
Ab13	3.3E+05	5.8E-03	1.7E-08	4.4E+05	3.7E-03	8.4E-09
Ab3	5.2E+05	1.0E-02	1.9E-08	3.8E+05	1.0E-02	2.6E-08
Ab16	1.4E+05	3.2E-03	2.4E-08	7.5E+05	5.6E-03	7.5E-09
Ab2	1.2E+05	2.9E-03	2.4E-08	2.3E+05	1.1E-02	5.0E-08
Ab11	2.0E+04	8.9E-04	4.5E-08	2.7E+04	7.2E-05	2.6E-09

[3608]

Ab6	1.2E+04	1.0E-02	8.4E-07	2.8E+04	1.2E-02	4.1E-07
Ab1		无可观察到的结合			无可观察到的结合	
Ab7		少许可观察到的结合			少许可观察到的结合	

[3609] 使用在Biacore T200 SPR仪上进行的成对结合测定来确定鼠抗B7-H3 mAb的相对表位分组，如以下方法中所述。图1显示了表位分组描述，其描述了本文鉴定的一系列抗B7-H3 mAb的相对人B7-H3表位多样性和重叠。表位组以单个椭圆形表示，其中一些椭圆形相互重叠。不同表位组中的抗体可以同时结合B7-H3并且可能结合不同的表位，而给定表位组内的抗体不能同时结合B7-H3并且可能结合重叠的表位。分组信息源自材料和方法中描述的同时结合测定。Ab3、Ab4、Ab5、Ab11、Ab12、和Ab8分组不明确。

[3610] 材料和方法:结合动力学

[3611] 使用Biacore T200 SPR仪来测量人B7-H3(分析物)与各种mAb(配体)结合的结合动力学。测定形式是通过固定化抗小鼠(Fc)(Pierce 31170)或固定化抗人(Fc)(Pierce 31125)进行的基于Fc的捕获。采用标准胺偶联方案将捕获试剂通过伯胺固定在CM5传感器芯片(Biacore)的羧甲基(CM)葡聚糖表面上;以约5000RU的水平偶联捕获抗体。对于结合动力学测量，测定缓冲液是HBS-EP+(Biacore):10mM Hepes,pH 7.4,150mM NaCl,3mM EDTA,0.05％聚山梨醇酯20。在测定期间，所有测量仅参考捕获表面。每个测定循环由以下步骤组成:1)将配体捕获为约50RU;2)遍布参比和测试表面进行分析物注射，240μL(以80μL/min)，

之后以80μL/min持续900秒监测解离;3)用低pH甘氨酸再生捕获表面。对于动力学测定,分析物注射是900nM、100nM和11.11nM的3点、9倍稀释系列,包括仅缓冲液注射(用于二次参考)。使用Biacore T200评估软件处理数据并拟合至1:1结合模型以确定结合动力学速率常数k_a(结合速率)和k_d(解离速率),以及平衡解离常数(亲和力,K_D)。

[3612] 材料和方法:表位分组

[3613] 使用在Biacore T200 SPR仪上进行的成对结合测定来确定一系列抗B7-H3 mAb的相对表位分组。测定形式是通过固定化抗小鼠(Fc)(Pierce 31170)或固定化抗人(Fc)(Pierce 31125)进行的基于Fc的捕获。采用标准胺偶联方案将捕获试剂通过伯胺固定在CM5传感器芯片(Biacore)的羧甲基(CM)葡聚糖表面上;以约2000RU的水平偶联捕获抗体。表位分组测量在12℃进行(低温允许对快速解离速率mAb信息进行分组),测定缓冲液为HBS-EP+(Biacore):10mM Hepes,pH 7.4,150mM NaCl,3mM EDTA,0.05%聚山梨醇酯20。每个测定循环由在四流通池系统(four flowcell system)中的以下步骤组成:1)在流通池2、3和4中捕获单独的测试mAb(流通池1是参比,无测试mAb);2)然后通过注射50μg/mL的同种型对照mAb或同种型mAb混合物阻断所有4个流通池;3)然后用仅抗原或仅缓冲液注射所有4个流通池(仅缓冲液用于双重参比,分别针对每个mAb对进行);4)然后向所有4个流通池注射10μg/mL的第2测试mAb;5)然后用甘氨酸(pH 1.5)再生所有4个流通池。以互反取向对每个测试mAb对进行测定。检查第二测试mAb响应与Ag响应的比率(RU_{mAb2}/RU_{Ag}),评估同时结合;如果该比率等于或大于0.2,则将相互作用评定为同时结合剂。从该成对结合测定数据,手动构建"venn"样式图以描绘相对表位分组。

[3614] 实例5:抗hB7-H3嵌合抗体的生产

[3615] 在鉴定小鼠抗B7-H3杂交瘤抗体后,使用逆转录酶-聚合酶链式反应(RT-PCR)从细胞确定对应于分泌型抗体的重链和轻链可变区(VH和VL)。在人免疫球蛋白恒定区的背景下,在哺乳动物宿主细胞中表达鼠可变区以提供嵌合抗体。下表4提供了小鼠嵌合杂交瘤的可变区氨基酸序列。

[3616] 表4:来自小鼠杂交瘤的抗B7-H3抗体的可变区氨基酸序列

[3617]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
1	chAb2	VH		QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKAS**GYTFTSYWMH**WVKQRPGQGLEWIG**MIHPDSGTTNYNEKFRS**KATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAV**YYGSTYWYFDV**WGTGTTVTVSS
2	chAb2	CDR-H1	SEQ ID NO:1 的残基 26-35	**GYTFTSYWMH**
3	chAb2	CDR-H2	SEQ ID NO:1 的残基 50-66	**MIHPDSGTTNYNEKFRS**
4	chAb2	CDR-H3	SEQ ID NO:1 的残基 99-109	**YYGSTYWYFDV**
5	chAb2	VL		DVVMTQTPLSLPVSLGDQAYISC**RSSQSLVHINGNTYLH**WYRQKPGQSPKLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC**SQSTHFPFT**FGSGTKLEIK
6	chAb2	CDR-L1	SEQ ID NO:5 的残基 24-39	**RSSQSLVHINGNTYLH**
7	chAb2	CDR-L2	SEQ ID NO:5 的残基 55-61	**KVSNRFS**
8	chAb2	CDR-L3	SEQ ID NO:5 的残基 94-102	**SQSTHFPFT**
9	chAb3	VH		QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKAS**GYTFSSYWMH**WVKQRPGQGLEWIG**LIHPDSGSTNYNEMFKN**KATLTVDRSSSTAYVQLSSLTSEDSAVYFCAG**GGRLYFDY**WGQGTTLTVSS
10	chAb3	CDR-H1	SEQ ID NO:9 的残基 26-35	**GYTFSSYWMH**
11	chAb3	CDR-H2	SEQ ID NO:9 的残基 50-66	**LIHPDSGSTNYNEMFKN**
12	chAb3	CDR-H3	SEQ ID NO:9 的残基 99-106	**GGRLYFDY**
13	chAb3	VL		DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISC**RSSQSLVHSNGDTYLR**WYLQKPGQSPKLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKITRVEAEDLGVYFC**SQSTHVPYT**FGGGTKLEIK

[3618]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
14	chAb3	CDR-L1	SEQ ID NO:13 的残基 24-39	**RSSQSLVHSNGDTYLR**
7	chAb3	CDR-L2	SEQ ID NO:13 的残基 55-61	**KVSNRFS**
15	chAb3	CDR-L3	SEQ ID NO:13 的残基 94-102	**SQSTHVPYT**
16	chAb4	VH		QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKAS**GY SFTSYWMH**WVKQRPGQGLEWIG**MIHPN SGSNNYNEKFKS**KATLTVDKSSNTAYM QLSSLTSEDSAVYYCAR**RLGLHFDY**WG QGTTLTVSS
17	chAb4	CDR-H1	SEQ ID NO:16 的残基 26-35	**GYSFTSYWMH**
18	chAb4	CDR-H2	SEQ ID NO:16 的残基 50-66	**MIHPNSGSNNYNEKFKS**
19	chAb4	CDR-H3	SEQ ID NO:16 的残基 99-106	**RLGLHFDY**
20	chAb4	VL		DIVMTQSQKFMSTPVGDRVSITC**KASQ NVGTAVA**WYQQKPGQSPKLLIY**SASNR YT**GVPDRFTGSGSGTDFTLTISNMQSE DLADYFC**QQYSSYPYT**FGGGTKLEIK
21	chAb4	CDR-L1	SEQ ID NO:20 的残基 24-34	**KASQNVGTAVA**
22	chAb4	CDR-L2	SEQ ID NO:20 的残基 50-56	**SASNRYT**
23	chAb4	CDR-L3	SEQ ID NO:20 的残基 89-97	**QQYSSYPYT**
24	chAb18	VH		QVQLQQSAAELARPGASVKMSCKAS**GY SFTSYTIH**WVKQRPGQGLEWIG**YINPN SRNTDYNQKFKD**ETTLTADRSSSTAYM QLISLTSEDSAVYYCAR**YSGSTPYWYF DV**WGAGTTVTVSS
25	chAb18	CDR-H1	SEQ ID NO:24 的残基 26-35	**GYSFTSYTIH**
26	chAb18	CDR-H2	SEQ ID NO:24 的残基 50-66	**YINPNSRNTDYNQKFKD**
27	chAb18	CDR-H3	SEQ ID NO:24 的残基 99-110	**YSGSTPYWYFDV**
28	chAb18	VL		QIVLTQSPAILSASPGEKVTMTC**RASS SVSYMN**WYQQKPGSSPKPWIY**ATSNLA S**GVPARFSVSVSGTSHSLTISRVEAED AATYYC**QQWSSNPLT**FGAGTKLELK

[3619]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
29	chAb18	CDR-L1	SEQ ID NO:28 的残基 24-33	**RASSSVSYMN**
30	chAb18	CDR-L2	SEQ ID NO:28 的残基 49-55	**ATSNLAS**
31	chAb18	CDR-L3	SEQ ID NO:28 的残基 88-96	**QQWSSNPLT**
32	chAb13	VH		DVQLQESGPDLVKPSQSLSLTCTVT**GYSITSGYSWH**WIRQFPGNKLEWMG**YIHSSGSTNYNPSLKS**RISINRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCAG**YDDYFEY**WGQGTTLTVSS
33	chAb13	CDR-H1	SEQ ID NO:32 的残基 26-36	**GYSITSGYSWH**
34	chAb13	CDR-H2	SEQ ID NO:32 的残基 51-66	**YIHSSGSTNYNPSLKS**
35	chAb13	CDR-H3	SEQ ID NO:32 的残基 99-105	**YDDYFEY**
36	chAb13	VL		DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTC**KASQNVGFNVA**WYQQKPGQSPKALIY**SASYRYS**GVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFC**QQYNSYPFT**FGSGTKLEIK
37	chAb13	CDR-L1	SEQ ID NO:36 的残基 24-34	**KASQNVGFNVA**
38	chAb13	CDR-L2	SEQ ID NO:36 的残基 50-56	**SASYRYS**
182	chAb13	CDR-L3	SEQ ID NO:36 的残基 89-97	**QQYNSYPFT**
40	chAb12	VH		EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAAS**GFTFSSYAMS**WVRQTPEKRLEWVA**TISSGTNYTYYPDSVKG**RFTISRDNAKNTLYLQMTSLRSEDTAMYYCAR**QGRYSWIAY**WGQGTLVTVSA
41	chAb12	CDR-H1	SEQ ID NO:40 的残基 26-35	**GFTFSSYAMS**
42	chAb12	CDR-H2	SEQ ID NO:40 的残基 50-66	**TISSGTNYTYYPDSVKG**
43	chAb12	CDR-H3	SEQ ID NO:40 的残基 99-107	**QGRYSWIAY**
44	chAb12	VL		DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC**RASKSVSTSDYSYMH**WNQQKPGQPPKLLIY**LASNLES**GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC**QHSRELLT**FGAGTKLELK

[3620]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
45	chAb12	CDR-L1	SEQ ID NO:44 的残基 24-38	**RASKSVSTSDYSYMH**
46	chAb12	CDR-L2	SEQ ID NO:44 的残基 54-60	**LASNLES**
47	chAb12	CDR-L3	SEQ ID NO:44 的残基 93-100	**QHSRELLT**
48	chAb14	VH		EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAAS**GF TFSSYGMS**WVRQTPEKRLEWVA**TISGG GTNTYYPDSVEG**RFTISRDNAKNFLYL QMSSLRSEDTALYYCAR**HYGSQTMDY**W GQGTSVTVSS
49	chAb14	CDR-H1	SEQ ID NO:48 的残基 26-35	**GFTFSSYGMS**
50	chAb14	CDR-H2	SEQ ID NO:48 的残基 50-66	**TISGGGTNTYYPDSVEG**
51	chAb14	CDR-H3	SEQ ID NO:48 的残基 99-107	**HYGSQTMDY**
52	chAb14	VL		DIQMTQSPASLSASVGETVTITC**RTSG NIHNYLT**WYQQKQGKSPQLLVY**NAKTL AD**GVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPE DFGSYYC**QHFWSIMWT**FGGGTKLEIK
53	chAb14	CDR-L1	SEQ ID NO:52 的残基 24-34	**RTSGNIHNYLT**
54	chAb14	CDR-L2	SEQ ID NO:52 的残基 50-56	**NAKTLAD**
55	chAb14	CDR-L3	SEQ ID NO:52 的残基 89-97	**QHFWSIMWT**
56	chAb6	VH		QVQLQQSGAELMKPGASVKISCKAT**GY TFSRYWIE**WVKQRPGHGLEWIG**EILPG SGSTNYNEKFKG**KATFTADTSSNTAYM QVSSLTSEDSAVHYCAR**RGYGYVPYAL DY**WGQGTSVTVSS
57	chAb6	CDR-H1	SEQ ID NO:56 的残基 26-35	**GYTFSRYWIE**
58	chAb6	CDR-H2	SEQ ID NO:56 的残基 50-66	**EILPGSGSTNYNEKFKG**
59	chAb6	CDR-H3	SEQ ID NO:56 的残基 99-110	**RGYGYVPYALDY**
60	chAb6	VL		EIQMTQTTSSLSASLGDRVTISC**RASQ DISNSLN**WYQQKPDGTVNLLIY**YTSRL YS**GVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQE DIATYFC**QQGNTLPYT**FGGGTKLEIK

[3621]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
61	chAb6	CDR-L1	SEQ ID NO:60 的残基 24-34	**RASQDISNSLN**
62	chAb6	CDR-L2	SEQ ID NO:60 的残基 50-56	**YTSRLYS**
63	chAb6	CDR-L3	SEQ ID NO:60 的残基 89-97	**QQGNTLPYT**
64	chAb11	VH		EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATS**GFTFTNYYMS**WVRQPPGKALEWLG**FIRNKANDYTTEYSASVKG**RFTISRDNSQSILYLQMNTLRAEDSATYYCAR**ESPGNPFAY**WGQGTLVTVSA
65	chAb11	CDR-H1	SEQ ID NO:64 的残基 26-35	**GFTFTNYYMS**
66	chAb11	CDR-H2	SEQ ID NO:64 的残基 50-68	**FIRNKANDYTTEYSASVKG**
67	chAb11	CDR-H3	SEQ ID NO:64 的残基 101-109	**ESPGNPFAY**
68	chAb11	VL		DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMTC**KSSQSLLNSGTQKNFLT**WYQQKPGQPPKLLIY**WASTRES**GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYFC**QNDYIYPLT**FGAGTKLELK
69	chAb11	CDR-L1	SEQ ID NO:68 的残基 24-40	**KSSQSLLNSGTQKNFLT**
70	chAb11	CDR-L2	SEQ ID NO:68 的残基 56-62	**WASTRES**
71	chAb11	CDR-L3	SEQ ID NO:68 的残基 95-103	**QNDYIYPLT**
72	chAb16	VH		EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFDFSRYWMS**WVRQAPGKGLEWIG**EINPDSSTINYTPSLKD**KFIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCAR**PGFGNYIYAMDY**WGQGTSVTVSS
73	chAb16	CDR-H1	SEQ ID NO:72 的残基 26-35	**GFDFSRYWMS**
74	chAb16	CDR-H2	SEQ ID NO:72 的残基 50-66	**EINPDSSTINYTPSLKD**
75	chAb16	CDR-H3	SEQ ID NO:72 的残基 99-110	**PGFGNYIYAMDY**
76	chAb16	VL		DIQMTQTTSSLSASLGDRVTINC**RASQDISNFLN**WYQQKPDGTVKLLIY**YTSRLYL**GVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFC**QQGNTLPPT**FGGGTKLEIK

[3622]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
77	chAb16	CDR-L1	SEQ ID NO:76 的残基 24-34	**RASQDISNFLN**
78	chAb16	CDR-L2	SEQ ID NO:76 的残基 50-56	**YTSRLYL**
79	chAb16	CDR-L3	SEQ ID NO:76 的残基 89-97	**QQGNTLPPT**
80	chAb10	VH		DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVT**GYSITSDYAWN**WIRQFPGNRLEWMG**HINYSGITNYNPSLKS**RISITRDTSKNQFFLQLYSVTTEDTATYFCAR**RSLFYYYGSSLYAMDY**WGQGTSVTVSS
81	chAb10	CDR-H1	SEQ ID NO:80 的残基 26-36	**GYSITSDYAWN**
82	chAb10	CDR-H2	SEQ ID NO:80 的残基 51-66	**HINYSGITNYNPSLKS**
83	chAb10	CDR-H3	SEQ ID NO:80 的残基 99-114	**RSLFYYYGSSLYAMDY**
84	chAb10	VL		DVVMTQSPFSLPVSLGDQASISC**RSSQSLVHSNGNTYLH**WYLQKPGQSPKLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC**SQSTHVPWT**FGGGTKLEIK
85	chAb10	CDR-L1	SEQ ID NO:84 的残基 24-39	**RSSQSLVHSNGNTYLH**
7	chAb10	CDR-L2	SEQ ID NO:84 的残基 55-61	**KVSNRFS**
86	chAb10	CDR-L3	SEQ ID NO:84 的残基 94-102	**SQSTHVPWT**
87	chAb7	VH		EVQLVESGENLVKPGGSLKLSCAAS**GFSFRGYGMS**WVRQTPDKRLEWVA**AISTGGNYTYYPDSVQG**RFTISRDNANNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCAR**RGGNYAGFAY**WGQGTLVTVSA
88	chAb7	CDR-H1	SEQ ID NO:87 的残基 26-35	**GFSFRGYGMS**
89	chAb7	CDR-H2	SEQ ID NO:87 的残基 50-66	**AISTGGNYTYYPDSVQG**
90	chAb7	CDR-H3	SEQ ID NO:87 的残基 99-108	**RGGNYAGFAY**
91	chAb7	VL		DIQMTQSPASLSVSVGETVTITC**RPSENIYSNLA**WYQQKQGKSPQLLVY**AATNLAD**GVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGTYYC**QHFWGTPFT**FGSGTKLEIK

[3623]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
92	chAb7	CDR-L1	SEQ ID NO:91 的残基 24-34	**RPSENIYSNLA**
93	chAb7	CDR-L2	SEQ ID NO:91 的残基 50-56	**AATNLAD**
94	chAb7	CDR-L3	SEQ ID NO:91 的残基 89-97	**QHFWGTPFT**
95	chAb8	VH		EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAAS**GF TFSSYGMS**WVRQTPEKRLEWVA**TISGG GNYTYCPDSVKG**RFTISRDNAKNNLYL QMSSLRSEDTALYYCTR**QRGYDYHYAM DF**WGQGTSVTVSS
49	chAb8	CDR-H1	SEQ ID NO:95 的残基 26-35	**GFTFSSYGMS**
96	chAb8	CDR-H2	SEQ ID NO:95 的残基 50-66	**TISGGGNYTYCPDSVKG**
97	chAb8	CDR-H3	SEQ ID NO:95 的残基 99-110	**QRGYDYHYAMDF**
98	chAb8	VL		DIQMTQSPASLSVSVGETVTITC**RASE NIYSNLA**WHQQKQGKSPQLLVY**AATNL AD**GVPSRFSGNGSDTQYSLKINSLQSE DFGSYFC**QNFWGTSWT**FGGGTKLEIK
99	chAb8	CDR-L1	SEQ ID NO:98 的残基 24-34	**RASENIYSNLA**
93	chAb8	CDR-L2	SEQ ID NO:98 的残基 50-56	**AATNLAD**
100	chAb8	CDR-L3	SEQ ID NO:98 的残基 89-97	**QNFWGTSWT**
101	chAb17	VH		EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GF TFSSYIMS**WVRQTPEKRLEWVA**SIVSS NITYYPDSMKG**RFTISRDNARNILYLQ MSSLKSEDTAMYYCAR**SGTRAWFAY**WG QGTLVTVSA
102	chAb17	CDR-H1	SEQ ID NO:101 的残基 26-35	**GFTFSSYIMS**
103	chAb17	CDR-H2	SEQ ID NO:101 的残基 50-65	**SIVSSNITYYPDSMKG**
104	chAb17	CDR-H3	SEQ ID NO:101 的残基 98-106	**SGTRAWFAY**

[3624]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
105	chAb17	VL		DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC**RASK SVSTSAYSYMH**WYQQKPGQPPKLLIY**L ASNLES**GVPARFSGSGSGTDFTLNIHP VEEEDAATYYC**QHSRELPYT**FGGGTKL EIK
106	chAb17	CDR-L1	SEQ ID NO:105 的残基 24-38	**RASKSVSTSAYSYMH**
46	chAb17	CDR-L2	SEQ ID NO:105 的残基 54-60	**LASNLES**
107	chAb17	CDR-L3	SEQ ID NO:105 的残基 93-101	**QHSRELPYT**
108	chAb5	VH		QVQLQQPGDELVKPGASVKLSCKTS**GY TFTTDWMH**WVKQRPGQGLEWIG**MIHPN SGTTNYNEKFKS**KAALTVDKSSSTACM QLSSLTSEDSAVYYCAR**SYWKWYFDV**W GTGTTVTVSS
109	chAb5	CDR-H1	SEQ ID NO:108 的残基 26-35	**GYTFTTDWMH**
110	chAb5	CDR-H2	SEQ ID NO:108 的残基 50-66	**MIHPNSGTTNYNEKFKS**
111	chAb5	CDR-H3	SEQ ID NO:108 的残基 99-107	**SYWKWYFDV**
112	chAb5	VL		QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTC**SASS SVSYMH**WYQQKSGTSPKLLIY**STSNLA S**GVPSRFSGSGSGTFYSLTISSVEAED SADYYC**HQWTSYMYT**FGGGTKLEIK
113	chAb5	CDR-L1	SEQ ID NO:112 的残基 24-33	**SASSSVSYMH**
114	chAb5	CDR-L2	SEQ ID NO:112 的残基 49-55	**STSNLAS**
115	chAb5	CDR-L3	SEQ ID NO:112 的残基 88-96	**HQWTSYMYT**

[3625] 实例6:嵌合抗B7-H3抗体的结合特性

[3626] 为了产生纯化的嵌合抗体,将表达载体瞬时转染到HEK2936E悬浮细胞培养物中,比例为60%比40%轻链比重链构建体。将1mg/ml的聚乙烯亚胺(PEI)或2.6μL/mL的Expifectamine用于转染细胞。在摇瓶中五天后收获细胞上清液,离心以沉淀细胞,并通过0.22μm过滤器过滤以将IgG与培养污染物分离。使用蛋白A mAb SelectSure在Akta Pure上纯化含有抗体的上清液。将柱在pH 7.4的PBS中平衡,然后使上清液穿过柱并用PBS pH 7.4

进行洗涤。用pH 3.5的0.1M乙酸洗脱IgG,并以几个等分试样收集。合并含有IgG的级分并在PBS中在4℃下透析过夜。使用下文描述的方法,通过FACS,针对以下表征成功表达的抗B7-H3嵌合抗体:结合过表达B7-H3的人非小细胞肺癌细胞系NCI-H1650(ATCC®No.CRL-5883)能力。表5总结了抗B7-H3嵌合抗体的结合特性。

[3627] 表5:B7-H3嵌合抗体的体外表征

[3628]

嵌合 Ab 名称	同种型	亲本杂交瘤	FACS 结合（EC_{50} nM）
chAb2	huIgG1/k	Ab2	0.10
chAb3	huIgG1/k	Ab3	0.61
chAb4	huIgG1/k	Ab4	0.56
chAb18	huIgG1/k	Ab18	1.14
chAb13	huIgG1/k	Ab13	1.53
chAb11	huIgG1/k	Ab11	1.12
chAb6	huIgG1/k	Ab6	0.33
chAb16	huIgG1/k	Ab16	0.27
chAb14	huIgG1/k	Ab14	0.81

[3629] FACS结合方法

[3630] 当使用Gibco®细胞解离缓冲液大约80％汇合时,从烧瓶中收集细胞。将细胞在PBS/1％FBS(FACS缓冲液)中洗涤一次,然后以2.5x10^6个细胞/mL重悬于FACS缓冲液中。向圆底96孔板中添加100μL细胞/孔。10μL的10x浓度的mAb/ADC(最终浓度在图中指出)。将孔用FACS缓冲液洗涤两次,并重悬于50μL的在FACS缓冲液中稀释的第二Ab(AlexaFluor488)中。将板在4℃下孵育1小时并用FACS缓冲液洗涤两次。将细胞重悬于100μL的PBS/1％甲醛中,并在Becton Dickinson LSRII流式细胞仪上进行分析。使用WinList流式细胞术分析软件分析数据。

[3631] 实例7:抗B7-H3嵌合抗体作为Bcl-xL抑制性抗体药物偶联物的表征

[3632] 使用以下描述的偶联方法A,将九种抗B7-H3嵌合抗体与Bcl-xL抑制(Bcl-xLi)合成子CZ(实例2.1)偶联。通过FACS(如实例6中所述)测试所得ADC(与合成子CZ偶联的抗B7-H3抗体)与细胞表面人B7-H3的结合,并测试表达B7-H3的细胞系中的细胞毒性。在九种抗体中,三种抗体(chAb2、chAb6和chAb16)在偶联至合成子CZ后沉淀,并且在表达人B7-H3的细胞中显示出弱的细胞毒性。表6提供了抗B7-H3嵌合体ADC对表达人B7-H3的乳腺癌细胞HCC38的细胞表面结合和细胞毒性活性。

[3633] 表6:B7-H3嵌合-CZ偶联物的体外表征

[3634]

ADC 名称	偶联观察	FACS 结合人 B7-H3 EC_{50} nM	细胞毒性（HCC38 细胞系 IC_{50}nM）	偶联方法	通过 MS 获得的 DAR	通过 SEC 获得的%聚集
chAb2-CZ	沉淀	2.60	4.77	A	1.0	5.9
chAb3-CZ	清澈	0.65	0.17	A	4.6	6.3
chAb4-CZ	清澈	0.54	0.26	A	1.4	5.7
chAb18-CZ	清澈	1.78	0.28	A	2.3	4.3
chAb13-CZ	清澈	1.49	0.18	A	3.8	8.3
chAb11-CZ	清澈	1.12	2.34	A	3.2	5.6
chAb6-CZ	沉淀	0.56	80.98	A	1.3	0.5
chAb16-CZ	沉淀	0.62	21.89	A	0.9	2.3
chAb14-CZ	清澈	0.50	2.01	A	1.4	1.9

[3635] 材料和方法:Bcl-xL抑制性ADC的偶联

[3636] 使用下述方法之一合成ADC。使用如下所述的九种示例性方法之一合成示例性ADC。

[3637] 方法A.将Bond-Breaker™三(2-羧乙基)膦(TCEP)溶液(10mM,0.017mL)的溶液添加至预加热至37℃的抗体(10mg/mL,1mL)的溶液中。将反应混合物在37℃保持1小时。将还原抗体的溶液添加至合成子(3.3mM,0.160mL,在DMSO中)的溶液中并轻轻地混合30分钟。将反应溶液加载到脱盐柱(PD10,在使用前,用杜氏磷酸盐缓冲液盐水[DPBS]洗涤3次),随后加载DPBS(3mL)。将纯化的ADC溶液通过0.2微米、低蛋白结合13mm注射器式滤器进行过滤并储存在4℃。

[3638] 方法B.将Bond-Breaker™三(2-羧基乙基)膦(TCEP)溶液(10mM,0.017mL)的溶液添加至预加热至37℃的抗体的溶液(10mg/mL,1mL)中。将反应混合物在37℃保持1小时。通过添加含硼缓冲液(0.05mL,0.5M,pH 8)将还原的抗体的溶液调节至pH＝8,添加至合成子的溶液(3.3mM,0.160mL于DMSO中)中,并轻轻混合4小时。将该反应溶液加载至脱盐柱(PD10,使用前用DPBS(3x)洗涤),随后加载DPBS(1.6mL)并用另外的DPBS(3mL)洗脱。将纯化的ADC溶液通过0.2微米、低蛋白结合13mm注射器式滤器进行过滤并储存在4℃。

[3639] 方法C.使用PerkinElmer Janus(产品型号AJL8M01)机器人液体处理系统进行偶联,该系统配备有I235/96尖头ModuLar Dispense Technology(MDT)、包含夹持器臂(产品型号7400358)的一次性头部(产品型号70243540)和在扩展平台上的8-尖头Varispan移液臂(产品型号7002357)。使用WinPREP版本4.8.3.315软件控制PerkinElmer Janus系统。

[3640] 使用MDT将Pall过滤板5052用100μL 1x DPBS预润湿。将真空施加到过滤板上10秒钟,然后进行5秒钟的通气以从过滤板上除去DPBS。将DPBS中的50％的蛋白A树脂(GE MabSelect Sure)浆液倒入配备有磁球的8孔储存器中,并通过使移动磁体通过储存板下方来混合树脂。使用配备有1mL导电尖头的8尖头Varispan臂吸出树脂(250μL)并转移至96孔过滤板。对2个循环施加真空以除去大部分缓冲液。使用MDT,吸出150μL的1xPBS并分配到承

载树脂的96孔滤板中。施加真空以将缓冲液从树脂去除。冲洗/真空循环重复3次。将2mL、96孔收集板安装在Janus平台上，并且MDT将450μL的5x DPBS转移至收集板以供以后使用。如上文针对条件A所述制备作为(200μL)DPBS中的溶液的还原抗体(2mg)并预加载到96孔板中。将还原抗体的溶液转移到含有树脂的滤板孔中，并通过在孔内重复抽吸/分配100μL体积将混合物用MDT混合45秒/循环。在5分钟的过程中重复抽吸/分配循环共5次。对2个循环向过滤板施加真空，从而除去过量的抗体。将MDT尖头用水冲洗5个循环(200μL，总体积1mL)。MDT将150μL的DPBS吸出并分配到含有树脂结合抗体的过滤板孔中，并对两个循环施加真空。再重复两次洗涤和真空顺序。在最后一次真空循环后，将100μL的1x DPBS分配到含有树脂结合的抗体的孔中。然后MDT收集以96孔形式铺板的合成子的3.3mM二甲基亚砜溶液，每个30μL，并将其分配到含有DPBS中的树脂结合抗体的过滤板中。通过在孔内重复抽吸/分配100μL体积将含有偶联混合物的孔用MDT混合45秒/循环。经5分钟的过程中重复抽吸/分配顺序共5次。对2个循环施加真空以除去过量合成子至废料。将MDT尖头用水冲洗5个循环(200μL，总体积1mL)。MDT吸出并分配DPBS(150μL)到偶联混合物中，并对两个循环施加真空。再重复两次洗涤和真空顺序。然后MDT夹持器将过滤板和套环移动到保持台。MDT将含有450μL的10x DPBS的2mL收集板置于真空歧管内。通过布置过滤板和套环，MDT重新组装真空歧管。将MDT尖头用水冲洗5个循环(200μL，总体积1mL)。MDT吸出并分配100μL的IgG洗脱缓冲液3.75(Pierce)至偶联混合物中。一分钟后，对2个循环施加真空，并将洗脱液捕获在含有450μL的5x DPBS的接收板中。将抽吸/分配顺序再重复3次，以在pH 7.4在DPBS中递送浓度范围为1.5-2.5mg/mL的ADC样品。

[3641] 方法D.使用PerkinElmer Janus(产品型号AJL8M01)机器人液体处理系统进行偶联，该系统配备有I235/96尖头ModuLar Dispense Technology(MDT)、包含夹持器臂(产品型号7400358)的一次性头部(产品型号70243540)和在扩展平台上的8-尖头Varispan移液臂(产品型号7002357)。使用WinPREP版本4.8.3.315软件控制PerkinElmer Janus系统。

[3642] 使用MDT将Pall过滤板5052用100μL 1x DPBS预润湿。将真空施加到过滤板上10秒钟，然后进行5秒钟的通气以从过滤板上除去DPBS。将DPBS中的50％的蛋白A树脂(GE MabSelect Sure)浆液倒入配备有磁球的8孔储存器中，并通过使移动磁体通过储存板下方来混合树脂。使用配备有1mL导电尖头的8尖头Varispan臂吸出树脂(250μL)并转移至96孔过滤板。对2个循环向过滤板施加真空以除去大部分缓冲液。MDT将150μL的DPBS吸出并分配到含有树脂的过滤板中。再重复两次洗涤和真空顺序。将2mL、96孔收集板安装在Janus平台上，并且MDT将450μL的5x DPBS转移至收集板以供以后使用。如上文针对条件A所述制备作为(200μL)DPBS中的溶液的还原抗体(2mg)并分配到96孔板中。然后MDT收集以96孔形式铺板的合成子的3.3mM二甲基亚砜溶液，每个30μL，并将其分配到加载有DPBS中的还原抗体的板中。通过在孔内两次重复抽吸/分配100μL体积将混合物用MDT混合。5分钟后，将偶联反应混合物(230μL)转移到含有树脂的96孔过滤板中。通过在孔内重复抽吸/分配100μL体积将含有偶联混合物和树脂的孔用MDT混合45秒/循环。经5分钟的过程中重复抽吸/分配顺序共5次。对2个循环施加真空以除去过量合成子和蛋白至废料。将MDT尖头用水冲洗5个循环(200μL，总体积1mL)。MDT吸出并分配DPBS(150μL)到偶联混合物中，并对两个循环施加真空。再重复两次洗涤和真空顺序。然后MDT夹持器将过滤板和套环移动到保持台。MDT将含有450μL的10x DPBS的2mL收集板置于真空歧管内。通过布置过滤板和套环，MDT重新组装真空

歧管。将MDT尖头用水冲洗5个循环(200μL,总体积1mL)。MDT吸出并分配100μL的IgG洗脱缓冲液3.75(P)至偶联混合物中。一分钟后,对2个循环施加真空,并将洗脱液捕获在含有450μL的5x DPBS的接收板中。将抽吸/分配顺序再重复3次,以在pH 7.4在DPBS中递送浓度范围为1.5-2.5mg/mL的ADC样品。

[3643] 方法E.在室温,将Bond-Breaker™三(2-羧乙基)膦(TCEP)溶液(10mM,0.017mL)的溶液添加至的抗体(10mg/mL,1mL)的溶液中。将反应混合物加热至37℃持续75分钟。将还原抗体的溶液冷却至室温并添加至合成子(10mM,0.040mL,在DMSO中)的溶液中,随后添加硼缓冲液(0.1mL,1M,pH 8)。将反应溶液在室温静置3天,加载在脱盐柱(PD10,在使用前用DPBS 3x5 mL洗涤)上,随后加载DPBS(1.6mL),并用另外的DPBS(3mL)洗脱。将纯化的ADC溶液通过0.2微米、低蛋白结合13mm注射器式滤器过滤并储存在4℃。

[3644] 方法F.使用Tecan Freedom Evo机器人液体处理系统进行偶联。将抗体的溶液(10mg/mL)预加热至37℃并等分至加热的96深孔板上,每孔(0.3mL)量为3mg并保持在37℃。将Bond-Breaker™三(2-羧乙基)膦(TCEP)溶液(1mM,0.051mL/孔)的溶液添加至抗体,并将该反应混合物保持在37℃持续75分钟。将还原抗体的溶液转移至未加热的96深孔板。将合成子的相应溶液(5mM,0.024mL于DMSO中)添加至具有还原抗体的孔,并处理15分钟。将反应溶液加载至脱盐柱(NAP5,在使用前用DPBS(4x)洗涤)的平台(8×12)上,随后加载DPBS(0.3mL)并用额外的DPBS(0.8mL)洗脱。将纯化的ADC溶液进一步等分用于分析并储存在4℃。

[3645] 方法G.使用Tecan Freedom Evo机器人液体处理系统进行偶联。将抗体的溶液(10mg/mL)预加热至37℃并等分至加热的96深孔板上,每孔(0.3mL)量为3mg并保持在37℃。将Bond-Breaker™三(2-羧乙基)膦(TCEP)溶液(1mM,0.051mL/孔)的溶液添加至抗体,并将该反应混合物保持在37℃持续75分钟。将还原抗体的溶液转移至未加热的96深孔板。将合成子的相应溶液(5mM,0.024mL/孔于DMSO中)添加至具有还原的抗体的孔,接着添加含硼缓冲液(pH＝8,0.03mL/孔),并处理3天。将反应溶液加载至脱盐柱(NAP5,在使用前用DPBS(4x)洗涤)的平台(8×12)上,随后加载DPBS(0.3mL)并用额外的DPBS(0.8mL)洗脱。将纯化的ADC溶液进一步等分用于分析并储存在4℃。

[3646] 方法H.在室温,将Bond-Breaker™三(2-羧乙基)膦(TCEP)溶液(10mM,0.17mL)的溶液添加至抗体(10mg/mL,10mL)的溶液中。将反应混合物加热至37℃持续75分钟。将合成子(10mM,0.40mL,于DMSO中)的溶液添加至冷却至室温的还原抗体的溶液中。使反应溶液在室温静置30分钟。将ADC的溶液用饱和硫酸铵溶液(约2-2.5mL)处理直至形成轻微浑浊的溶液。将此溶液加载至用相A中的30％相B(相A:1.5M硫酸铵、25mM磷酸盐;相B:25mM磷酸盐、25％异丙醇v/v)平衡的丁基琼脂糖柱(5mL的丁基琼脂糖)上。将具有DAR2(也称为“E2”)和DAR4(也称为“E4”)的单个级分在应用梯度A/B升高至75％相B后洗脱。使用离心集中器或TFF将每个ADC溶液浓缩或进行缓冲液转换以用于更大规模。将纯化的ADC溶液通过0.2微米、低蛋白结合13mm注射器式滤器进行过滤并储存在4℃。

[3647] 方法I.将Bond-Breaker™三(2-羧乙基)膦(TCEP)溶液(10mM,0.17mL)的溶液添加至在室温的抗体(10mg/mL,10mL)的溶液中。将反应混合物加热至37℃持续75分钟。将合成子(10mM,0.40mL,在DMSO中)的溶液添加至冷却至室温的还原抗体的溶液中。将反应溶液在室温静置30分钟。将ADC溶液用饱和硫酸铵溶液(约2-2.5mL)处理直至形成轻微浑浊的溶

液。将此溶液加载在用相A中的30％相B(相A:1.5M硫酸铵、25mM磷酸盐;相B:25mM磷酸盐、25％异丙醇v/v)平衡的丁基琼脂糖柱(5mL的丁基琼脂糖)上。具有DAR2(也称为“E2”)和DAR4(也称为“E4”)的各个级分在应用梯度A/B升高至75％相B后洗脱。使用离心集中器或TFF将每个ADC溶液浓缩或缓冲转换以用于更大规模,将ADC溶液用硼缓冲液(0.1mL,1M,pH8)处理。将反应溶液在室温静置3天,然后加载在脱盐柱(PD10,在使用前用DPBS 3x5mL洗涤)上,随后加载DPBS(1.6mL),并用另外的DPBS(3mL)洗脱。将纯化的ADC溶液通过0.2微米、低蛋白结合13mm注射器式滤器过滤,并储存在4℃。

[3648] DAR和ADC的聚集

[3649] 分别通过LC-MS和尺寸排阻色谱(SEC)测定合成的ADC的DAR和百分比聚集。

[3650] LC-MS通用方法学

[3651] 使用与Agilent LC/MSD TOF 6220ESI质谱仪接口的Agilent 1100HPLC系统进行LC-MS分析。将ADC用5mM(终浓度)Bond-Breaker®TCEP溶液(Thermo Scientific[赛默科技],伊利诺伊州罗克福德)还原,加载到Protein Microtrap(Michrom Bioresorces公司,加利福尼亚州奥本)脱盐柱上,并在环境温度下在0.2分钟内以10％B至75％B的梯度洗脱。流动相A为含有0.1％甲酸(FA)的H_20,流动相B为含有0.1％FA的乙腈,且流速为0.2mL/min。使用Agilent MassHunter™采集软件获得共洗脱轻链和重链的电喷雾电离飞行时间质谱。使用MassHunter软件的最大熵特征对提取的强度与m/z光谱进行解卷积,以确定每个还原的抗体片段的质量。通过对轻链和重链的裸峰和修饰峰的强度求和,从解卷积谱计算DAR,归一化通过将强度乘以附接的药物的数量进行。将求和的归一化强度除以强度的总和,并且两条轻链和两条重链的求和结果产生完整ADC的最终平均DAR值。

[3652] 生物偶联物的硫代琥珀酰亚胺水解可以通过电喷雾质谱法监测,因为向偶联物中添加水导致偶联物的可观察分子量增加18道尔顿。当通过完全还原人IgG1抗体的链间二硫化物并将马来酰亚胺衍生物与每个所得半胱氨酸偶联来制备偶联物时,抗体的每个轻链将含有单个马来酰亚胺修饰,并且每个重链将包含三个马来酰亚胺修饰,如图2所示。在所得硫代琥珀酰亚胺完全水解后,轻链的质量将因此增加18道尔顿,而每条重链的质量将增加54道尔顿。这示于图5中,其中示例性马来酰亚胺药物-接头(合成子TX,分子量1736Da)与完全还原的huAb13v1抗体偶联并随后水解。

[3653] 尺寸排阻色谱法通用方法学

[3654] 使用Shodex KW802.5柱在0.2M磷酸钾pH 6.2中用0.25mM氯化钾和15％IPA以0.75ml/min的流速进行尺寸排阻色谱法。通过积分曲线下面积确定每种高分子量和单体洗脱液在280nm处的峰面积吸光度。通过将高分子量洗脱液在280nM处的峰面积吸光度除以高分子量和单体洗脱液在280nm处的峰面积吸光度之和乘以100％来确定偶联物样品的％聚集分数。

[3655] 体外细胞活力测定方法

[3656] 肿瘤细胞系HCC38(乳腺癌)、NCI-H1650(NSCLC)、和NCI-H847(小细胞肺癌细胞系)获得自美国典型培养物保藏中心(ATCC)。使用推荐的生长培养基使细胞在96孔培养板中生长过夜,每孔密度为5×103(HCC38)或20×10^3(NCI-H847)或40×10^3(NCI-H1650)。第二天,向添加至一式三份的孔中的新鲜培养基中添加处理。5天后使用CellTiter-Glo发光细胞活力测定试剂盒(Promega[普洛麦格公司]),如制造商的方案中所述,测定细胞活力。将细胞

活力评估为对照未处理细胞的百分比。

[3657] 实例8:抗B7-H3抗体药物偶联物的体内效力

[3658] 在体外测试的与CZ合成子偶联的九种嵌合抗体中,四种显示亚纳摩尔细胞毒性(表6)。chAb3-CZ、chAb18-CZ和chAb13-CZ达到的DARS范围为2.6至4.2(参见表7),并使用下面描述的方法评估了来源于人的小鼠小细胞肺癌细胞系异种移植模型NCI-H146的抗肿瘤活性。将抗体MSL109(与巨细胞病毒(CMV)糖蛋白H结合的IgG1抗体)用作对照,作为裸抗体和ADC(偶联至相同的合成子(CZ),如chAb3、chAb18和chAb13抗体)两者的对照。MSL109是同种型匹配的非靶向对照。该异种移植测定的方法如下所述。结果示于表7中。结果显示,相对于裸抗体对照(MSL109)或非靶特异性Bcl-xL ADC对照(MSL109-CZ),抗B7-H3 Bcl-xL抑制性ADC中的每种能够显著抑制肿瘤生长。

[3659] 表7:抗B7-H3嵌合抗体作为Bcl-xL药物偶联物的体内效力

ADC	偶联方法	DAR	剂量[a]/途径/方案	小鼠数量	TGI_{max} (%)	TGD (%)
MSL109	-	-	10mg/kg/IP/QDx1	8	0	0
MSL109-CZ	A	4.2	10mg/kg/IP/QDx1	8	34	10
chAb3-CZ	A	3.5	10mg/kg/IP/QDx1	8	87	109
chAb18-CZ	A	2.6	10mg/kg/IP/QDx1	8	90	100
chAb13-CZ	A	3.7	10mg/kg/IP/QDx1	8	81	104

[a]剂量是以mg/kg/天给出的异种移植模型方法的效力的评估

[3660] NCI-H146细胞、NCI-1650细胞和EBC-1细胞获得自美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection)(ATCC,马纳萨斯,VA)。将细胞在RPMI-1640(NCI-H146,NCI-H1650)或MEM(EBC-1)培养基(英杰公司,加利福尼亚州卡尔斯巴德)中以单层培养,该培养基补充有10%胎牛血清(FBS,Hyclone公司,犹他州洛根)。为了产生异种移植物,将$5x10^6$个活细胞分别皮下接种到免疫缺陷雌性SCID/bg小鼠(Charles River Laboratories[查尔斯河实验室],马萨诸塞州威尔明顿)的右肋腹中。注射体积为0.2mL并且由S MEM和Matrigel(BD公司,新泽西州富兰克林湖)的1:1混合物构成。肿瘤尺寸匹配在大约200mm^3。将抗体和偶联物配制在用于注射的0.9%氯化钠中并腹膜内注射。注射量不超过200μL。治疗在肿瘤尺寸匹配后24小时内开始。在治疗开始时,小鼠体重大约22g。每周对肿瘤体积进行两到三次评估。通过电子卡尺测量肿瘤的长度(L)和宽度(W),并根据以下等式计算体积:$V=L\times W^2/2$。当肿瘤体积达到3,000mm3或发生皮肤溃疡时,对小鼠实施安乐死。每笼饲养八只小鼠。食物和水可以随意获得。在开始实验之前使小鼠适应动物设施至少一周的时间段。将动物在12小时光照的光照阶段:12小时的黑暗时间安排(06:00开灯)下测试。如上所述,将人IgG对照抗体(MSL109)用作阴性对照剂。

[3661] 为了指示治疗剂的效力,使用治疗响应的振幅(TGI_{max})、持久性(TGD)参数。TGI_{max}是实验过程中最大的肿瘤生长抑制。通过$100*(1-T_v/C_v)$(其中T_v和C_v分别是治疗组和对照组的平均肿瘤体积)计算肿瘤生长抑制。TGD或肿瘤生长延迟是相对于对照组达到1cm^3体积所需的治疗肿瘤的延长的时间。通过$100*(T_t/C_t-1)$(其中T_t和C_t分别是处理组和对照组的达到1cm^3的中值时间段)计算TGD。

[3662] 实例9:抗B7-H3抗体chAb18的人源化

[3663] 选择抗B7-H3嵌合抗体chAb18用于人源化，该选择基于其结合特征和作为ADC的有利性质，包括其与Bcl-xL抑制剂偶联时(上文描述为示例性偶联物CZ)的性质。

[3664] 基于chAb18的可变重链(VH)及可变轻链(VL)CDR序列产生人源化抗体。具体而言，选择人类种系序列来构建CDR移植的人源化chAb18抗体，其中VH及VL链的CDR域被移植至不同的人类重链及轻链受体序列上。基于与单克隆抗体chAb18的VH和VL序列的比对，选择以下人序列作为受体：

[3665] • IGHV1-69*06和IGHJ6*01，用于构建重链受体序列

[3666] • IGKV1-9*01和IGKJ2*01，用于构建轻链受体序列

[3667] • IGKV6-21*01和IGKJ2*01，作为构建轻链的备用受体

[3668] 由此，chAb18的VH和VL CDR被移植到所述受体序列中。

[3669] 为了产生人源化抗体，可以通过从头合成可变域、或诱变寡核苷酸引物和聚合酶链式反应、或均通过本领域已知的方法，鉴定框架回复突变或将其引入CDR移植的抗体序列中。针对如下所述CDR移植中的每一者，如下构建回复突变与其他突变的不同组合。这些突变的残基编号是基于Kabat编号系统。

[3670] 关于重链huAb18VH.1，使以下游标残基及VH/VL介接残基中的一个或多个发生回复突变：L46P、L47W、G64V、F71H。另外的突变包括以下：Q1E、N60A、K64Q、D65G。关于轻链huAb18VL.1，使以下游标残基及VH/VL介接残基中的一个或多个发生回复突变：A43S、L46P、L47W、G64V、G66V、F71H。关于轻链huAb18VL.2，使以下游标残基及VH/VL介接残基中的一个或多个发生回复突变：L46P、L47W、K49Y、G64V、G66V、F71H。

[3671] 人源化抗体的可变区及CDR氨基酸序列描述于下表8中。

[3672] 表8：人源化版本的chAb18的VH及VL氨基酸序列

[3673]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
116	huAb18VH.1	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS **GYSFTSYTIH**WVRQAPGQGLEWMG**Y INPNSRNTDYNQKFKD**RVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**YS GSTPYWYFDV**WGQGTTVTVSS
25	huAb18VH.1	CDR-H1	SEQ ID NO:116 的残基 26-35	**GYSFTSYTIH**
26	huAb18VH.1	CDR-H2	SEQ ID NO:116 的残基 50-66	**YINPNSRNTDYNQKFKD**
27	huAb18VH.1	CDR-H3	SEQ ID NO:116 的残基 99-110	**YSGSTPYWYFDV**

[3674]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
117	huAb18VH.1a	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS **GYSFTSYTIH**WVRQAPGQGLEWIG**Y INPNSRNTDYNQKFKD**RTTLTADRS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**YS GSTPYWYFDV**WGQGTTVTVSS
25	huAb18VH.1a	CDR-H1	SEQ ID NO:117 的残基 26-35	**GYSFTSYTIH**
26	huAb18VH.1a	CDR-H2	SEQ ID NO:117 的残基 50-66	**YINPNSRNTDYNQKFKD**
27	huAb18VH.1a	CDR-H3	SEQ ID NO:117 的残基 99-110	**YSGSTPYWYFDV**
118	huAb18VH.1b	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS **GYSFTSYTIH**WVRQAPGQGLEWMG**Y INPNSRNTDYAQKFQG**RVTLTADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**YS GSTPYWYFDV**WGQGTTVTVSS
25	huAb18VH.1b	CDR-H1	SEQ ID NO:118 的残基 26-35	**GYSFTSYTIH**
119	huAb18VH.1b	CDR-H2	SEQ ID NO:118 的残基 50-66	**YINPNSRNTDYAQKFQG**
27	huAb18VH.1b	CDR-H3	SEQ ID NO:118 的残基 99-110	**YSGSTPYWYFDV**
120	huAb18VL.1	VL		DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC**RA SSSVSYMN**WYQQKPGKAPKLLIY**AT SNLAS**GVPSRFSGSGSGTEFTLTIS SLQPEDFATYYC**QQWSSNPLT**FGQG TKLEIK
29	huAb18VL.1	CDR-L1	SEQ ID NO:120 的残基 24-33	**RASSSVSYMN**
30	huAb18VL.1	CDR-L2	SEQ ID NO:120 的残基 49-55	**ATSNLAS**
31	huAb18VL.1	CDR-L3	SEQ ID NO:120 的残基 88-96	**QQWSSNPLT**
121	huAb18VL.1a	VL		DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC**RA SSSVSYMN**WYQQKPGKSPKPWIY**AT SNLAS**GVPSRFSVSVSGTEHTLTIS SLQPEDFATYYC**QQWSSNPLT**FGQG TKLEIK
29	hu18AbVL.1a	CDR-L1	SEQ ID NO:121 的残基 24-33	**RASSSVSYMN**

[3675]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
30	huAb18VL.1a	CDR-L2	SEQ ID NO:121 的残基 49-55	**ATSNLAS**
31	huAb18VL.1a	CDR-L3	SEQ ID NO:121 的残基 88-96	**QQWSSNPLT**
122	huAb18VL.1b	VL		DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC**RA SSSVSYMN**WYQQKPGKAPKPWIY**AT SNLAS**GVPSRFSVSGSGTEHTLTIS SLQPEDFATYYC**QQWSSNPLT**FGQG TKLEIK
29	huAb18VL.1b	CDR-L1	SEQ ID NO:122 的残基 24-33	**RASSSVSYMN**
30	huAb18VL.1b	CDR-L2	SEQ ID NO:122 的残基 49-55	**ATSNLAS**
31	huAb18VL.1b	CDR-L3	SEQ ID NO:122 的残基 88-96	**QQWSSNPLT**
123	huAb18VL.2	VL		EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC**RA SSSVSYMN**WYQQKPDQSPKLLIK**AT SNLAS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTIN SLEAEDAATYYC**QQWSSNPLT**FGQG TKLEIK
29	huAb18VL.2	CDR-L1	SEQ ID NO:123 的残基 24-33	**RASSSVSYMN**
30	huAb18VL.2	CDR-L2	SEQ ID NO:123 的残基 49-55	**ATSNLAS**
31	huAb18VL.2	CDR-L3	SEQ ID NO:123 的残基 88-96	**QQWSSNPLT**
124	huAb18VL.2a	VL		EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC**RA SSSVSYMN**WYQQKPDQSPKPWIY**AT SNLAS**GVPSRFSVSVSGTDHTLTIN SLEAEDAATYYC**QQWSSNPLT**FGQG TKLEIK
29	huAb18VL.2a	CDR-L1	SEQ ID NO:124 的残基 24-33	**RASSSVSYMN**
30	huAb18VL.2a	CDR-L2	SEQ ID NO:124 的残基 49-55	**ATSNLAS**
31	huAb18VL.2a	CDR-L3	SEQ ID NO:124 的残基 88-96	**QQWSSNPLT**

[3676] 将鼠单克隆Ab18(如上所述)的人源化可变区克隆至IgG表达载体中,用于功能表征:

[3677] • 人源化Ab18VH.1(huAb18VH.1)是CDR-移植的人源化Ab18VH,包含IGHV1-69*06和IGHJ6*01框架序列。它还包含Q1E改变以防止形成焦谷氨酸盐。huAb18VH.1的可变及CDR氨基酸序列描述于表8中。

[3678] • 人源化Ab18VH1.a(huAb18VH.1a)是基于huAb18VH.1的人源化设计且含有4个所提出的框架回复突变:M48I、V67T、L69I、K73R。huAb18VH.1a的可变及CDR氨基酸序列描述于表8中。

[3679] • 人源化Ab18VH1.b(huAb18VH.1b)是基于huAb18VH.1和huAb18VH.1a的人源化设

计且含有1个所提出的框架回复突变L69I和3个HCDR2种系改变N60A、K64Q、D65G。huAb18VH.1b的可变及CDR氨基酸序列描述于表8中。

[3680] • 人源化Ab18VL.1(huAb18VL.1)是CDR-移植的人源化Ab18VL,包含IGKV1-9*01和IGKJ2*01框架序列。huAb18VL.1的可变及CDR氨基酸序列描述于表8中。

[3681] • 人源化Ab18VL.1a(huAb18VL.1a)是基于huAb18VL.1的人源化设计且含有6个所提出的框架回复突变:A43S、L46P、L47W、G64V、G66V、F71H。huAb18VL.11的可变及CDR氨基酸序列描述于表8中。

[3682] • 人源化Ab18VL.1b(huAb18VL.1b)是基于huAb18VL.1和huAb18VL.1a的人源化设计,含有4个所提出的框架回复突变:L46P、L47W、G64V、F71H。huAb18VL.1b的可变及CDR氨基酸序列描述于表8中。

[3683] • 人源化Ab18VL.2(huAb18VL.2)是CDR-移植的人源化Ab18VL,包含IGKV6-21*01和IGKJ2*01框架序列。huAb18VL.2的可变及CDR氨基酸序列描述于表8中。

[3684] • 人源化Ab18VL.2a(huAb18VL.2a)是基于huAb18VL.2的人源化设计且含有6个所提出的框架回复突变:L46P、L47W、K49Y、G64V、G66V、F71H。huAb18VL.2a的可变及CDR氨基酸序列描述于表8中。

[3685] 因此,chAb18的人源化产生10种人源化抗体,包括huAb18v1、huAb18v2、huAb18v3、huAb18v4、huAb18v5、huAb18v6、huAb18v7、huAb18v8、huAb18v9、和huAb18v10。Ab18的这些人源化版本中的每一种的可变重链和轻链如下所示:

[3686] 表9:抗B7-H3 Ab18人源化抗体

[3687]

huAb18v1	huAb18 VH1/huAb18VL1
huAb18v2	huAb18 VH1b/huAb18VL1
huAb18v3	huAb18 VH1a/huAbVL1a
huAb18v4	huAb18 VH1b/huAb18VL1a
huAb18v5	huAn18 VH1/huAb18VL2
huAb18v6	huAb18 VH1b/huAb18VL2
huAb18v7	huAb18 VH1b/huAb18 VL2a
huAb18v8	huAb18 VH1a/huAb18 VL1b
huAb18v9	huAb18 VH1a/huAb18 VL2a
huAb18v10	huAb18 VH1b/huAb18 VL1b

[3688] 实例10:抗B7-H3 chAb18人源化变体的体外表征

[3689] chAb18的人源化产生10种变体(如上在表9中描述),如通过FACS(其方法如上在实例6中描述)评估的,这些变体保留与人和食蟹猴B7-H3的结合。这些变体进一步通过SPR表征其结合,并使用方法A(如上所述)成功偶联至Bcl-xL抑制剂合成子CZ,并如实例7中所述评估细胞毒性。表10总结了各种人源化Ab18变体的体外特征。衍生变体的亲本chAb18也作为比较物进行了测试。所有人源化变体具有如biacore评估的相似的结合特性,并保留对细胞表面的结合活性(表示为与CZ合成子的偶联)。作为CZ合成子的所有变体的细胞毒性与它们来源的chAb18相似。

[3690] 表10:人源化抗B7-H3 Ab18变体的体外表征

[3691]

变体名称	序列编号	通过MS获得的DAR	通过SEC获得的%聚集	FACS结合至hu B7-H3)	裸mAb的亲和力(Biacore, K_D)	细胞毒性(HCC38细胞系 IC_{50})
chAb18-CZ	24, 28	2.3		1.14	1.70E-10	0.28
huAb18v1-CZ	116, 120	2.6	3.3	1.27	5.20E-10	0.39
huAb18v2-CZ	118, 120	1.8	3.3	2.25	6.90E-10	1.19
huAb18v3-CZ	117, 121	2.4	3.6	1.27	2.30E-10	0.32
huAb18v4-CZ	118, 121	2.5	5.5	0.90	5.70E-10	0.29
huAb18v5-CZ	116, 123	3.4	4.2	2.91	2.30E-10	0.12
huAb18v6-CZ	118, 123	3.4	3.5	2.09	2.00E-10	0.14
huAb18v7-CZ	118, 124	4.3	3.6	1.92	4.00E-10	0.03
huAb18v8-CZ	117, 122	2.6	3.5	1.98	2.50E-10	1.3
huAb18v9-CZ	117, 124	2.4	3.8	1.58	3.80E-10	0.9
huAb18v10-CZ	118, 122	2.7	3.2	1.19	2.50E-10	0.57

[3692] 将人源化chAb18变体与CZ合成子偶联，并测试HCC38细胞系中的细胞毒性。如表10中所述，大多数人源化抗体显示出有效的细胞毒性，类似于用对照抗体chAb18观察到的那些。

[3693] 实例11：人源化Ab18变体作为Bcl-xL抑制剂ADC的体内效力

[3694] 基于实例10中描述的体外细胞毒性结果选择人源化chAb18变体中的六种。具体地，抗体huAb18v1、huAb18v3、huAb18v4、huAb18v6、huAb18v7、和huAb18v9各自与CZ合成子偶联(以形成抗B7-H3 CZ ADC)，用于在小细胞肺癌(使用NCI-H146细胞)的体内异种移植模型中进行评估，如实例8中所述。荷瘤小鼠的单剂量治疗导致肿瘤生长抑制和肿瘤生长延迟，并且结果总结在表11中。Ab095用作施用IgG的效果的阴性对照，因为它是针对破伤风类毒素产生的同种型匹配的非靶特异性抗体。参见Larrick等人，1992，Immunological Reviews[免疫学评论]69-85。对小鼠腹膜内QDx1给予6mg/kg的ADC。

[3695] 表11：抗B7-H3 ADCS(人源化chAb18-CZ变体)的体内效力

[3696]

ADC	偶联方法	通过MS获得的DAR	剂量[a]//途径/方案	小鼠数量	TGI_{max} (%)	TGD(%)
AB095	-	n/a	6mg/kg/IP/QDx1	8	0	0
huAb18v1-CZ	A	2.6	6mg/kg/IP/QDx1	8	79	45
huAb18v3-CZ	A	2.4	6mg/kg/IP/QDx1	8	81	39
huAB18v4-CZ	A	2.5	6mg/kg/IP/QDx1	8	85	48
huAB18v6-CZ	A	3.4	6mg/kg/IP/QDx1	8	86	45
huAb18v7-CZ	A	4.3	6mg/kg/IP/QDx1	8	87	42
huAb18v9-CZ	A	2.4	6mg/kg/IP/QDx1	8	83	35

[3697] [a]剂量是以mg/kg/天给出的

[3698] 如表11中所述，测试的人源化抗体中的每种都能够抑制小鼠异种移植模型中的肿瘤生长。

[3699] 实例12：抗B7-H3抗体chAb3的人源化

[3700] 选择抗B7-H3嵌合抗体chAb3用于人源化，该选择基于其作为Bcl-xL抑制性(Bcl-xLi)偶联剂的有利性质。基于chAB3的可变重链(VH)及可变轻链(VL)CDR序列产生人源化抗体。具体而言，选择人类种系序列来构建CDR移植的人源化chAb3抗体，其中chAb3的VH及VL链的CDR域被移植至不同的人重链及轻链受体序列上。基于与单克隆抗体chAb3的VH和VL序列的比对，选择以下人序列作为受体：

[3701] • IGHV1-69*06和IGHJ6*01，用于构建重链受体序列

[3702] • IGKV2-28*01和IGKJ4*01，用于构建轻链受体序列IGHV1-69*06_IGHJ6

[3703] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASggtfssyaisWVRQAPGQGLEWMGgiipifgtanyaqkfqgRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARxxxxxxxxWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 174)；

[3704] 其中xxxxxxxx代表CDR-H3区。

[3705] IGKV2-28*01_IGKJ4

[3706] DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCrssqsllhsngynyldWYLQKPGQSPQLLIYlgsnrasGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCxxxxxxxxxFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 175)；

[3707] 其中xxxxxxxxx代表CDR-L3区。

[3708] 通过将chAb3的对应的VH和VL CDR移植到所述受体序列中来制备CDR-移植的、人源化的和修饰的VH和VL序列。为了产生具有潜在框架回复突变的人源化抗体，可以通过从头合成可变域、或诱变寡核苷酸引物和聚合酶链式反应、或两者，鉴定突变或将突变引入CDR移植的抗体序列中。针对CDR移植中的每一者，如下构建回复突变与其他突变的不同组合。这些突变的残基编号是基于Kabat编号系统。

[3709] 各种人源化重链和轻链可变区的氨基酸序列描述于下表12中。

[3710] 对于重链huAb3VH.1，使以下游标残基及VH/VL介接残基中的一个或多个发生回复突变：M48I、V67A、I69L、A71V、K73R、M80V、Y91F、R94G。对于轻链huAb31 VL.1，使以下游标残基及VH/VL介接残基中的一个或多个发生回复突变：I2V、Y87F。

[3711] 将鼠单克隆chAb3抗体的以下人源化可变区克隆至IgG表达载体中，用于功能表征：

[3712] • 人源化Ab3 VH.1(huAb3VH.1)是CDR-移植的人源化Ab3VH，包含IGHV1-69*06和IGHJ6*01框架序列。它还包含Q1E改变以防止形成焦谷氨酸盐。

[3713] • 人源化Ab3 VH.1a(huAb3VH.1a)是基于huAb3VH.1的人源化设计且含有8个所提出的框架回复突变：M48I、V67A、I69L、A71V、K73R、M80V、Y91F、R94G。

[3714] • 人源化Ab3 VH.1b(huAb3VH.1b)是huAb3VH.1和huAb3VH.1a之间的人源化设计且含有6个所提出的框架回复突变：M48I、V67A、I69L、A71V、K73R、R94G。

[3715] • 人源化Ab3 VL.1(huAb3VL.1)是CDR-移植的人源化Ab3 VL，包含IGKV2-28*01和

IGKJ4*01框架序列。

[3716] • 人源化Ab3 VL.1a(huAb3VL.1a)是基于huAb3VL.1的人源化设计且含有2个所提出的框架回复突变:I2V、Y87F。

[3717] • 人源化Ab3 VL.1b(huAb3VL.1b)是人源化设计,仅含有1个所提出的框架回复突变:I2V。

[3718] 以上人源化抗体的可变区及CDR氨基酸序列描述于下表12中。

[3719] 表12:人源化版本的chAb3的VH及VL序列

[3720]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
125	huAb3VH.1	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS**GYTFSSYWMH**WVRQAPGQGLEWMG**LIHPDSGSTNYNEMFKN**RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**GGRLYFDY**WGQGTTVTVSS
10	huAb3VH.1	CDR-H1	SEQ ID NO:125的残基26-35	**GYTFSSYWMH**
11	huAb3VH.1	CDR-H2	SEQ ID NO:125的残基50-66	**LIHPDSGSTNYNEMFKN**
12	huAb3VH.1	CDR-H3	SEQ ID NO:125的残基99-106	**GGRLYFDY**

[3721]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
126	huAb3VH.1a	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKAS**GYTFSSYWMH**WVRQAPG QGLEWIG**LIHPDSGSTNYNEM FKN**RATLTVDRSTSTAYVELS SLRSEDTAVYFCAG**GGRLYFD Y**WGQGTTVTVSS
10	huAb3VH.1a	CDR-H1	SEQ ID NO:126 的残基 26-35	**GYTFSSYWMH**
11	huAb3VH.1a	CDR-H2	SEQ ID NO:126 的残基 50-66	**LIHPDSGSTNYNEMFKN**
12	huAb3VH.1a	CDR-H3	SEQ ID NO:126 的残基 99-106	**GGRLYFDY**
127	huAb3VH.1b	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKAS**GYTFSSYWMH**WVRQAPG QGLEWIG**LIHPDSGSTNYNEM FKN**RATLTVDRSTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCAG**GGRLYFD Y**WGQGTTVTVSS
10	huAb3VH.1b	CDR-H1	SEQ ID NO:127 的残基 26-35	**GYTFSSYWMH**
11	huAb3VH.1b	CDR-H2	SEQ ID NO:127 的残基 50-66	**LIHPDSGSTNYNEMFKN**
12	huAb3VH.1b	CDR-H3	SEQ ID NO:127 的残基 99-106	**GGRLYFDY**
128	huAb3VL.1	VL		DIVMTQSPLSLPVTPGEPASI SC**RSSQSLVHSNGDTYLR**WYL QKPGQSPQLLIY**KVSNRFS**GV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYC**SQSTHVPYT**FGG GTKVEIK
14	huAb3VL.1	CDR-L1	SEQ ID NO:128 的残基 24-39	**RSSQSLVHSNGDTYLR**
7	huAb3VL.1	CDR-L2	SEQ ID NO:128 的残基 55-61	**KVSNRFS**
15	huAb3VL.1	CDR-L3	SEQ ID NO:128 的残基 94-102	**SQSTHVPYT**

[3722]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
129	huAb3VL.1a	VL		DVVMTQSPLSLPVTPGEPASI SC**RSSQSLVHSNGDTYLR**WYL QKPGQSPQLLIY**KVSNRFS**GV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYFC**SQSTHVPYT**FGG GTKVEIK
14	huAb3VL.1a	CDR-L1	SEQ ID NO:129 的残基 24-39	**RSSQSLVHSNGDTYLR**
7	huAb3VL.1a	CDR-L2	SEQ ID NO:129 的残基 55-61	**KVSNRFS**
15	huAb3VL.1a	CDR-L3	SEQ ID NO:129 的残基 94-102	**SQSTHVPYT**
130	huAb3VL.1b	VL		DVVMTQSPLSLPVTPGEPASI SC**RSSQSLVHSNGDTYLR**WYL QKPGQSPQLLIY**KVSNRFS**GV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYC**SQSTHVPYT**FGG GTKVEIK
14	huAb3VL.1b	CDR-L1	SEQ ID NO:130 的残基 24-39	**RSSQSLVHSNGDTYLR**
7	huAb3VL.1b	CDR-L2	SEQ ID NO:130 的残基 55-61	**KVSNRFS**
15	huAb3VL.1b	CDR-L3	SEQ ID NO:130 的残基 94-102	**SQSTHVPYT**

[3723] chAb3的人源化产生6种人源化抗体，包括huAb3v1、huAb3v2、huAb3v3、huAb3v4、huAb18v5、和huAb3v6。Ab18的这些人源化版本中的每一种的可变和重轻链在下表13中提供。

[3724] 表13：人源化Ab3抗体

[3725]

huAb3v1	huAb3 VH1/huAb3 VL1
huAb3v2	huAb3 VH1b/huAb3 VL1
huAb3v3	huAb3 VH1a/huAb3 VL1a
huAb3v4	huAb3 VH1/huAb3 VL1b
huAb3v5	huAb3 VH1b/huAb3 VL1b
huAb3v6	huAb3 VH1a/huAb3 VL1b

[3726] 实例13：chAb3人源化变体的体外表征

[3727] chAb3的人源化产生6种变体(在表13中描述)，如通过FACS(如在实例6中描述)评估的，这些变体保留与人B7-H3的结合。这些变体进一步通过SPR表征其结合对其作为与Bcl-xL抑制剂合成子(接头弹头)CZ偶联的ADC进行表征。还评估了人源化Ab3抗体的细胞毒性(使用上文实例7中所述的测定)。表14总结了chAb3人源化变体的体外特征。使用包含与合成子CZ偶联的chAb3的ADC用作对照。

[3728] 表14:chAb3的人源化变体的体外表征

[3729]

ADC	Seq. Id. 编号	偶联方法	通过MS获得的DAR	通过SEC获得的%聚集	FACS(结合至huB7-H3) EC_{50} (nM)	裸mAb的亲和力(Biacore, K_D)	细胞毒性(HCC38细胞系 IC_{50})(nM)
chAb3-CZ	9, 13	A	3.8		0.61	1.90E-08	0.17
huAb3v1-CZ	125, 128	A	3.6	3.3	1.45	5.20E-10	0.53
huAb3v2-CZ	127, 128	A	3.8	10.1	0.73	6.90E-10	0.13
huAb3v3-CZ	126, 129	A	3.6	2.5	1.68	2.30E-10	9.22
huAb3v4-CZ	125, 130	A	3.1	3.1	n/a	5.70E-10	n/a
huAb3v5-CZ	127, 130	A	3.1	5.9	0.85	2.30E-10	0.17
huAb3v6-CZ	126, 130	A	3.3	4.9	1.78	2.00E-10	0.13

[3730] 实例14:chAb3人源化变体作为Bcl-xL ADC的体内效力

[3731] 如在实例8中的材料和方法中描述的,基于作为CZ偶联物的有效的体内细胞毒性和可接受的聚集性质选择人源化变体中的两种(huAb3v2和huAb3v6),用于评价小细胞肺癌细胞(NCI-H146细胞)的体内鼠异种移植模型。对于与示例性Bcl-xL抑制剂偶联的两种人源化抗体,荷瘤小鼠的单剂量治疗导致肿瘤生长抑制和肿瘤生长延迟,并且结果总结在表15中。

[3732] 表15:人源化chAb3-CZ变体的体内效力

ADC	偶联方法	DAR	剂量[a]/途径/方案	小鼠数量	TGI_{max} (%)	TGD (%)
AB095	-		6mg/kg/IP/QDx1	8	0	0
huAb3v2-CZ	A	3.8	6mg/kg/IP/QDx1	8	83	52
huAb3v6-CZ	A	3.3	6mg/kg/IP/QDx1	8	91	88

[a]剂量是以mg/kg/天给出的

[3733] 实例15:人源化变体抗体huAb3v2的CDR的修饰

[3734] huAb3v2显示出有利的结合和细胞杀伤特性。然而,对huAb3v2的可变区氨基酸序列的检查揭示了潜在的脱酰胺和/或异构化位点。

[3735] huAb3可变区的氨基酸序列如下所述,包括轻链(huAb3VL1)和重链(huAb3VH1b)。VH(氨基酸"ds"处的CDR2)和VL(氨基酸"ng"处的CDR1)的CDR中的潜在脱酰胺和/或异构化位点用斜体表示,并因此被工程化以改善抗体制造。在下面的序列中,CDR以小写字母描述。

[3736] 为了制备缺乏这些潜在的脱酰胺和/或异构化位点的huAb3v2变体，诱变下面指出的每个氨基酸(x和z；代表VL的CDR1和VH的CDR2中的潜在位点)。将得到的30个VL变体与原始huAb3v2 VH配对并测试结合。将得到的29个VH变体与原始huAb3v2 VL配对并测试结合。将成功的VH变体与含有LCDR1变化的生产性VL变体进行组合并测试，以使最终的人源化变体缺乏CDR中潜在的脱酰胺和/或异构化位点。变体的氨基酸序列提供于下表16中。huAb3v2变体huAb3v2.5的重链和轻链的全长氨基酸序列分别在SEQ ID NO:170和171中提供。huAb3v2变体huAb3v2.6的重链和轻链的全长氨基酸序列分别在SEQ ID NO:172和173中提供。

[3737] huAb3 VL1

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCrssqslvhs***ng***dtylrWYLQKPGQSPQLLI

[3738] YkvsnrfsGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCsqsthvpytFG GGTKVEIK (SEQ ID NO: 128)

[3739] xg(15种变体)(SEQ ID NO:178)

[3740] nz(15种变体)(SEQ ID NO:179)

[3741] huAb3 VH1b

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASgytfssywmhWVRQAPGQGLE

[3742] WIGlihp***ds***gstnynemfknRATLTVDRSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AGggrlyfdyWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 127)

[3743] (15种变体)xs(SEQ ID NO:180)

[3744] (14种变体)dz(SEQ ID NO:181)

[3745] 其中(对于VL和VH两者)，

[3746] x＝所有氨基酸，以下除外：M、C、N、D、或Q。

[3747] z＝所有氨基酸，以下除外：M、C、G、S、N、或P。

[3748] 所提出的框架回复突变加下划线(参见实例12)。

[3749] 表16：huAb3v2抗体变体的可变区序列

[3750]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
131	huAb3v2.1	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLEWIGLIHPWSGSTNYNEMFKNRATLTVDRSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAGGGRLYFDYWGQGTTVTVSS
10	huAb3v2.1	CDR-H1	SEQ ID NO:131的残基26-35	GYTFSSYWMH

[3751]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
132	huAb3v2.1	CDR-H2	SEQ ID NO:131 的残基 50-66	**LIHPWSGSTNYNEMFKN**
12	huAb3v2.1	CDR-H3	SEQ ID NO:131 的残基 99-106	**GGRLYFDY**
133	huAb3v2.1	VL		DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC **RSSQSLVHSSGDTYLR**WYLQKPG QSPQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY C**SQSTHVPYT**FGGGTKVEIK
134	huAb3v2.1	CDR-L1	SEQ ID NO:133 的残基 24-39	**RSSQSLVHSSGDTYLR**
7	huAb3v2.1	CDR-L2	SEQ ID NO:133 的残基 55-61	**KVSNRFS**
15	huAb3v2.1	CDR-L3	SEQ ID NO:133 的残基 94-102	**SQSTHVPYT**
131	huAb3v2.2	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLE WIG**LIHPWSGSTNYNEMFKN**RAT LTVDRSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCAG**GGRLYFDY**WGQGTTVTV SS
10	huAb3v2.2	CDR-H1	SEQ ID NO:131 的残基 26-35	**GYTFSSYWMH**
132	huAb3v2.2	CDR-H2	SEQ ID NO:131 的残基 50-66	**LIHPWSGSTNYNEMFKN**
12	huAb3v2.2	CDR-H3	SEQ ID NO:131 的残基 99-106	**GGRLYFDY**
135	huAb3v2.2	VL		DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC **RSSQSLVHSNRDTYLR**WYLQKPG QSPQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY C**SQSTHVPYT**FGGGTKVEIK
136	huAb3v2.2	CDR-L1	SEQ ID NO:135 的残基 24-39	**RSSQSLVHSNRDTYLR**
7	huAb3v2.2	CDR-L2	SEQ ID NO:135 的残基 55-61	**KVSNRFS**
15	huAb3v2.2	CDR-L3	SEQ ID NO:135 的残基 94-102	**SQSTHVPYT**

[3752]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
131	huAb3v2.3	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLE WIGLIHPWSGSTNYNEMFKNRAT LTVDRSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCAGGGRLYFDYWGQGTTVTV SS
10	huAb3v2.3	CDR-H1	SEQ ID NO:131 的残基 26-35	GYTFSSYWMH
132	huAb3v2.3	CDR-H2	SEQ ID NO:131 的残基 50-66	LIHPWSGSTNYNEMFKN
12	huAb3v2.3	CDR-H3	SEQ ID NO:131 的残基 99-106	GGRLYFDY
137	huAb3v2.3	VL		DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC RSSQSLVHSNQDTYLRWYLQKPG QSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CSQSTHVPYTFGGGTKVEIK
138	huAb3v2.3	CDR-L1	SEQ ID NO:137 的残基 24-39	RSSQSLVHSNQDTYLR
7	huAb3v2.3	CDR-L2	SEQ ID NO:137 的残基 55-61	KVSNRFS
15	huAb3v2.3	CDR-L3	SEQ ID NO:137 的残基 94-102	SQSTHVPYT
139	huAb3v2.4	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLE WIGLIHPESGSTNYNEMFKNRAT LTVDRSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCAGGGRLYFDYWGQGTTVTV SS
10	huAb3v2.4	CDR-H1	SEQ ID NO:139 的残基 26-35	GYTFSSYWMH
140	huAb3v2.4	CDR-H2	SEQ ID NO:139 的残基 50-66	LIHPESGSTNYNEMFKN
12	huAb3v2.4	CDR-H3	SEQ ID NO:139 的残基 99-106	GGRLYFDY

[3753]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
133	huAb3v2.4	VL		DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC **RSSQSLVHSSGDTYLR**WYLQKPG QSPQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY C**SQSTHVPYT**FGGGTKVEIK
134	huAb3v2.4	CDR-L1	SEQ ID NO:133 的残基 24-39	**RSSQSLVHSSGDTYLR**
7	huAb3v2.4	CDR-L2	SEQ ID NO:133 的残基 55-61	**KVSNRFS**
15	huAb3v2.4	CDR-L3	SEQ ID NO:133 的残基 94-102	**SQSTHVPYT**
139	huAb3v2.5	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASG**YTFSSYWMH**WVRQAPGQGLE WIG**LIHPESGSTNYNEMFKN**RAT LTVDRSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCAG**GGRLYFDY**WGQGTTVTV SS
10	huAb3v2.5	CDR-H1	SEQ ID NO:139 的残基 26-35	**GYTFSSYWMH**
140	huAb3v2.5	CDR-H2	SEQ ID NO:139 的残基 50-66	**LIHPESGSTNYNEMFKN**
12	huAb3v2.5	CDR-H3	SEQ ID NO:139 的残基 99-106	**GGRLYFDY**
135	huAb3v2.5	VL		DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC **RSSQSLVHSNRDTYLR**WYLQKPG QSPQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY C**SQSTHVPYT**FGGGTKVEIK
136	huAb3v2.5	CDR-L1	SEQ ID NO:135 的残基 24-39	**RSSQSLVHSNRDTYLR**
7	huAb3v2.5	CDR-L2	SEQ ID NO:135 的残基 55-61	**KVSNRFS**
15	huAb3v2.5	CDR-L3	SEQ ID NO:135 的残基 94-102	**SQSTHVPYT**

[3754]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
139	huAb3v2.6	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLE WIGLIHPESGSTNYNEMFKNRAT LTVDRSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCAGGGRLYFDYWGQGTTVTV SS
10	huAb3v2.6	CDR-H1	SEQ ID NO:139 的残基 26-35	GYTFSSYWMH
140	huAb3v2.6	CDR-H2	SEQ ID NO:139 的残基 50-66	LIHPESGSTNYNEMFKN
12	huAb3v2.6	CDR-H3	SEQ ID NO:139 的残基 99-106	GGRLYFDY
137	huAb3v2.6	VL		DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC RSSQSLVHSNQDTYLRWYLQKPG QSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CSQSTHVPYTFGGGTKVEIK
138	huAb3v2.6	CDR-L1	SEQ ID NO:137 的残基 24-39	RSSQSLVHSNQDTYLR
7	huAb3v2.6	CDR-L2	SEQ ID NO:137 的残基 55-61	KVSNRFS
15	huAb3v2.6	CDR-L3	SEQ ID NO:137 的残基 94-102	SQSTHVPYT
141	huAb3v2.7			EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLE WIGLIHPISGSTNYNEMFKNRAT LTVDRSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCAGGGRLYFDYWGQGTTVTV SS
10	huAb3v2.7	CDR-H1	SEQ ID NO:141 的残基 26-35	GYTFSSYWMH
142	huAb3v2.7	CDR-H2	SEQ ID NO:141 的残基 50-66	LIHPISGSTNYNEMFKN
12	huAb3v2.7	CDR-H3	SEQ ID NO:141 的残基 99-106	GGRLYFDY

[3755]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
133	huAb3v2.7			DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC **RSSQSLVHSSGDTYLR**WYLQKPG QSPQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY C**SQSTHVPYT**FGGGTKVEIK
134	huAb3v2.7	CDR-L1	SEQ ID NO:133 的残基 24-39	**RSSQSLVHSSGDTYLR**
7	huAb3v2.7	CDR-L2	SEQ ID NO:133 的残基 55-61	**KVSNRFS**
15	huAb3v2.7	CDR-L3	SEQ ID NO:133 的残基 94-102	**SQSTHVPYT**
141	huAb3v2.8	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK AS**GYTFSSYWMH**WVRQAPGQGLE WIG**LIHPISGSTNYNEMFKN**RAT LTVDRSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCAG**GGRLYFDY**WGQGTTVTV SS
10	huAb3v2.8	CDR-H1	SEQ ID NO:141 的残基 26-35	**GYTFSSYWMH**
142	huAb3v2.8	CDR-H2	SEQ ID NO:141 的残基 50-66	**LIHPISGSTNYNEMFKN**
12	huAb3v2.8	CDR-H3	SEQ ID NO:141 的残基 99-106	**GGRLYFDY**
135	huAb3v2.8	VL		DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC **RSSQSLVHSNRDTYLR**WYLQKPG QSPQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY C**SQSTHVPYT**FGGGTKVEIK
136	huAb3v2.8	CDR-L1	SEQ ID NO:135 的残基 24-39	**RSSQSLVHSNRDTYLR**
7	huAb3v2.8	CDR-L2	SEQ ID NO:135 的残基 55-61	**KVSNRFS**
15	huAb3v2.8	CDR-L3	SEQ ID NO:135 的残基 94-102	**SQSTHVPYT**

[3756]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
141	huAb3v2.9	VH		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLE WIGLIHPISGSTNYNEMFKNRAT LTVDRSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCAGGGRLYFDYWGQGTTVTV SS
10	huAb3v2.9	CDR-H1	SEQ ID NO:141 的残基 26-35	GYTFSSYWMH
142	huAb3v2.9	CDR-H2	SEQ ID NO:141 的残基 50-66	LIHPISGSTNYNEMFKN
12	huAb3v2.9	CDR-H3	SEQ ID NO:141 的残基 99-106	GGRLYFDY
137	huAb3v2.9	VL		DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC RSSQSLVHSNQDTYLRWYLQKPG QSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CSQSTHVPYTFGGGTKVEIK
138	huAb3v2.9	CDR-L1	SEQ ID NO:137 的残基 24-39	RSSQSLVHSNQDTYLR
7	huAb3v2.9	CDR-L2	SEQ ID NO:137 的残基 55-61	KVSNRFS
15	huAb3v2.9	CDR-L3	SEQ ID NO:137 的残基 94-102	SQSTHVPYT

[3757] 实例16:huAb3v2变体的体外表征

[3758] 去除潜在的脱酰胺和/或异构化位点(在实例15中描述)仅产生6种变体,如通过FACS(如实例6的方法中所述)评估的,所述变体保留与小鼠3T12成纤维细胞上外源表达的人和食蟹猴B7-H3的结合。

[3759] 这些新抗B7-H3抗体进一步通过SPR表征其结合并与Bcl-xLi合成子CZ偶联并评估细胞毒性(使用实例7中描述的方法)。表17提供了六种huAb3v2人源化变体的体外特征。

[3760] 表17:人源化huAb3v2变体(包括裸抗体和ADC)的体外表征

[3761]

ADC	序列编号	偶联方法	通过MS获得的DAR	通过SEC获得的%聚集	ELISA hB7-H3 EC_{50} nM	FACS(EC_{50} nM)		裸mAb的亲和力(Biacore, K_D)	细胞毒性(H847细胞系 IC_{50})(nM)
						hB7-H3	cyB7-H3		
huAb3v2-CZ	127, 128	A	3.5		0.44	5.11	2.87	2.30E-09	1.49
huAb3v2.2-CZ	131, 135	A	0.7	1.8	0.10	5.29	3.68	拟合不佳	26.7
huAb3v2.3-CZ	131, 137	A	1.1	1.5	0.11	6.50	4.03	拟合不佳	--
huAb3v2.5-CZ	139, 135	A	3.4	15.6	0.13	5.14	4.86	5.30E-09	1.57
huAb3v2.6-CZ	139, 137	A	3.3	15	0.09	5.64	3.31	5.80E-08	1.70
huAb3v2.8-CZ	141, 135	A	2.0	5.7	0.14	3.94	3.01	拟合不佳	2.36
huAb3v2.9-CZ	141, 137	A	2.7	4.3	0.16	6.16	4.64	拟合不佳	2.30

[3762] 如表17中所述,结果显示,与亲本huAb3v2相比,所有六种huAb3v2变体与表达人或食蟹猴B7-H3的细胞具有相似的结合特性。当与示例性Bcl-xLi合成子CZ偶联时,在六种huAb3v2变体中,四种抗体(huAb3v2.5、huAb3v2.6、huAb3v2.8、huAb3v2.9)在H847细胞中显示出有效的细胞毒性。

[3763] 实例17:抗B7-H3抗体chAb13的人源化

[3764] 选择抗B7-H3嵌合抗体chAb13用于人源化,该选择基于其结合特征和作为ADC(与Bcl-xL抑制剂偶联)的有利性质。

[3765] 在人源化之前,修饰chAb13以最小化轻链CDR3(QQYNSYPFT(SEQ ID NO:182);潜在的脱酰胺位点表示为残基"NS"(斜体))中潜在的脱酰胺作用)。引入对应于chAb13的轻链CDR3内的"N"和/或"S"的氨基酸位置的点突变,产生30种变体。然后针对保留chAb13的结合特征的能力,筛选含有这些CDR3轻链变体的抗体。包含具有色氨酸(W)点突变而不是"NS"基序中的丝氨酸"S"的CDR3的变体(即,QQYNWYPFT(SEQ ID NO:39))保留了亲本chAb13抗体的结合特征。鉴于丝氨酸和色氨酸之间的结构差异以及CDR3在抗原结合中起重要作用,用CDR3内的W残基取代S残基是令人惊讶的。

[3766] 基于chAb13的可变重链(VH)及可变轻链(VL)CDR序列(包括"NW"轻链CDR3)产生人源化抗体。具体而言,选择人类种系序列来构建CDR移植的人源化chAb13抗体,其中VH及VL链的CDR域被移植至不同的人类重链及轻链受体序列上。基于与单克隆抗体chAb13的VH和VL序列的比对,选择以下人序列作为受体:

[3767] • IGHV4-b*01(0-1)和IGHJ6*01,用于构建重链受体序列

[3768] • IGKV1-39*01和IGKJ2*01,用于构建轻链受体序列

[3769] •

[3770] IGHV4-b_IGHJ6

[3771] QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSgysissgyywgWIRQPPGKGLEWIGsiyhsgstyynpslksRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARxxxxxxxxWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 176);

[3772] 其中xxxxxxx代表CDR-H3区。

[3773] IGKV1-39_IGKJ2

[3774] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCrasqsissylnWYQQKPGKAPKLLIYaasslqsGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCxxxxxxxxxFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 177);

[3775] 其中xxxxxxxxx代表CDR-L3区。

[3776] 通过将chAb13的"NW"轻链CDR3以及剩余五个对应的VH和VL CDR移植到所述受体序列中来制备CDR-移植的、人源化的和修饰的VH和VL序列。为了产生具有潜在框架回复突变的人源化抗体,可以通过从头合成可变域、或诱变寡核苷酸引物和聚合酶链式反应、或均通过本领域已知的方法,鉴定突变或将突变引入CDR移植的抗体序列中。针对CDR移植中的每一者,如下构建回复突变与其他突变的不同组合。这些突变的残基编号是基于Kabat编号系统。

[3777] 将鼠单克隆chAb13抗体的以下人源化可变区克隆至IgG表达载体中,用于功能表征。

[3778] • 人源化Ab13 VH.1(huAb13VH.1)是CDR-移植的人源化Ab13VH,包含IGHV4-b*01(0-1)和IGHJ6*01框架序列。它还包含Q1E改变以防止形成焦谷氨酸盐。

[3779] • 人源化Ab13 VH.1(huAb13 VH.1a)是基于huAb13VH.1的人源化设计且含有9个所提出的框架回复突变:S25T、P40F、K43N、I48M、V67I、T68S、V71R、S79F、R94G。

[3780] • 人源化Ab13 VH.1b(huAb13VH.1b)是huAb13VH.1和huAb13VH.1a之间的中间体设计且含有4个所提出的框架回复突变:K43N、I48M、V67I、V71R。

[3781] • 人源化Ab13 VL.1(huAb13VL.1)是CDR-移植的人源化Ab13VL,包含IGKV1-39*01和IGHJ6*01框架序列。

[3782] • 人源化Ab13 VL.1a(huAb13VL.1a)是基于huAb13VL.1的人源化设计且含有4个所提出的框架回复突变:A43S、L46A、T85E、Y87F。

[3783] • 人源化Ab13 VL.1b(huAb13VL.1b)是huAb13VL.1和huAb13VL.1a之间的中间体设计且含有1个所提出的框架回复突变:Y87F。

[3784] 前述可变区及CDR氨基酸序列描述于下表18中。

[3785] 表18:人源化Ab13的氨基酸可变区序列

[3786]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
143	huAb13VL.1	VL		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**KASQNVGFNVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASYRYS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYNWYPFT**FGQGTKLEIK
37	huAb13VL.1	CDR-L1	SEQ ID NO:143的残基24-34	**KASQNVGFNVA**

[3787]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
38	huAb13VL.1	CDR-L2	SEQ ID NO:143 的残基 50-56	**SASYRYS**
39	huAb13VL.1	CDR-L3	SEQ ID NO:143 的残基 89-97	**QQYNWYPFT**
144	huAb13VL.1a	VL		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT C**KASQNVGFNVA**WYQQKPGKSP KALIY**SASYRYS**GVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFAEYFC **QQYNWYPFT**FGQGTKLEIK
37	huAb13VL.1a	CDR-L1	SEQ ID NO:144 的残基 24-34	**KASQNVGFNVA**
38	huAb13VL.1a	CDR-L2	SEQ ID NO:144 的残基 50-56	**SASYRYS**
39	huAb13VL.1a	CDR-L3	SEQ ID NO:144 的残基 89-97	**QQYNWYPFT**
146	huAb13VH.1	VH		EVQLQESGPGLVKPSETLSLTC AVS**GYSITSGYSWH**WIRQPPGK GLEWIG**YIHSSGSTNYNPSLKS** RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTA ADTAVYYCAR**YDDYFEY**WGQGT TVTVSS
33	huAb13VH.1	CDR-H1	SEQ ID NO:146 的残基 26-36	**GYSITSGYSWH**
34	huAb13VH.1	CDR-H2	SEQ ID NO:146 的残基 51-66	**YIHSSGSTNYNPSLKS**
35	huAb13VH.1	CDR-H3	SEQ ID NO:146 的残基 99-105	**YDDYFEY**
145	huAB13VL.1b	VL		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT C**KASQNVGFNVA**WYQQKPGKAP KLLIY**SASYRYS**GVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYFC **QQYNWYPFT**FGQGTKLEIK
37	huAb13VL.1b	CDR-L1	SEQ ID NO:145 的残基 24-34	**KASQNVGFNVA**

[3788]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
38	huAb13VL.1b	CDR-L2	SEQ ID NO:145 的残基 50-56	**SASYRYS**
39	huAb13VL.1b	CDR-L3	SEQ ID NO:145 的残基 89-97	**QQYNWYPFT**
147	huAb13VH.1a	VH		EVQLQESGPGLVKPSETLSLTC AVT**GYSITSGYSWH**WIRQFPGN GLEWMG**YIHSSGSTNYNPSLKS** RISISRDTSKNQFFLKLSSVTA ADTAVYYCAG**YDDYFEY**WGQGT TVTVSS
33	huAb13VH.1a	CDR-H1	SEQ ID NO:147 的残基 26-36	**GYSITSGYSWH**
34	huAb13VH.1a	CDR-H2	SEQ ID NO:147 的残基 51-66	**YIHSSGSTNYNPSLKS**
35	huAb13VH.1a	CDR-H3	SEQ ID NO:147 的残基 99-105	**YDDYFEY**
148	huAb13VH.1b	VH		EVQLQESGPGLVKPSETLSLTC AVS**GYSITSGYSWH**WIRQPPGN GLEWMG**YIHSSGSTNYNPSLKS** RITISRDTSKNQFSLKLSSVTA ADTAVYYCAR**YDDYFEY**WGQGT TVTVSS
33	huAb13VH.1b	CDR-H1	SEQ ID NO:148 的残基 26-36	**GYSITSGYSWH**
34	huAb13VH.1b	CDR-H2	SEQ ID NO:148 的残基 51-66	**YIHSSGSTNYNPSLKS**
35	huAb13VH.1b	CDR-H3	SEQ ID NO:148 的残基 99-105	**YDDYFEY**

[3789] 实例18:huAb13变体的生产

[3790] 将描述于表18中的人源化Ab13变体的3个VH和3个VL区氨基酸序列配对在一起以生产描述于表19中的9种huAb13变体。huAb13v1变体、huAb13v1的重链和轻链的全长氨基酸序列分别在SEQ ID NO:168和169中提供。

[3791] 表19:工程化huAb13变体的可变区序列

[3792]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
147	huAb13v1	VH		EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV TGYSITSGYSWHWIRQFPGNGLEW MGYIHSSGSTNYNPSLKSRISISR DTSKNQFFLKLSSVTAADTAVYYC AGYDDYFEYWGQGTTVTVSS
33	huAb13v1	CDR-H1	SEQ ID NO:147 的残基 26-36	GYSITSGYSWH
34	huAb13v1	CDR-H2	SEQ ID NO:147 的残基 51-66	YIHSSGSTNYNPSLKS
35	huAb13v1	CDR-H3	SEQ ID NO:147 的残基 99-105	YDDYFEY
144	huAb13v1	VL		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVGFNVAWYQQKPGKSPKALI YSASYRYSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFAEYFCQQYNWYPF TFGQGTKLEIK
37	huAb13v1	CDR-L1	SEQ ID NO:144 的残基 24-34	KASQNVGFNVA
38	huAb13v1	CDR-L2	SEQ ID NO:144 的残基 50-56	SASYRYS
39	huAb13v1	CDR-L3	SEQ ID NO:144 的残基 89-97	QQYNWYPFT
146	huAb13v2	VH		EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV SGYSITSGYSWHWIRQPPGKGLEW IGYIHSSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC ARYDDYFEYWGQGTTVTVSS
33	huAb13v2	CDR-H1	SEQ ID NO:146 的残基 26-36	GYSITSGYSWH
34	huAb13v2	CDR-H2	SEQ ID NO:146 的残基 51-66	YIHSSGSTNYNPSLKS

[3793]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
35	huAb13v2	CDR-H3	SEQ ID NO:146 的残基 99-105	**YDDYFEY**
143	huAb13v2	VL		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**K ASQNVGFNVA**WYQQKPGKAPKLLI Y**SASYRYS**GVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYC**QQYNWYPF T**FGQGTKLEIK
37	huAb13v2	CDR-L1	SEQ ID NO:143 的残基 24-34	**KASQNVGFNVA**
38	huAb13v2	CDR-L2	SEQ ID NO:143 的残基 50-56	**SASYRYS**
39	huAb13v2	CDR-L3	SEQ ID NO:143 的残基 89-97	**QQYNWYPFT**
146	huAb13v3	VH		EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV S**GYSITSGYSWH**WIRQPPGKGLEW IG**YIHSSGSTNYNPSLKS**RVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC AR**YDDYFEY**WGQGTTVTVSS
33	huAb13v3	CDR-H1	SEQ ID NO:146 的残基 26-36	**GYSITSGYSWH**
34	huAb13v3	CDR-H2	SEQ ID NO:146 的残基 51-66	**YIHSSGSTNYNPSLKS**
35	huAb13v3	CDR-H3	SEQ ID NO:146 的残基 99-105	**YDDYFEY**
144	huAb13v3	VL		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**K ASQNVGFNVA**WYQQKPGKSPKALI Y**SASYRYS**GVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFAEYFC**QQYNWYPF T**FGQGTKLEIK
37	huAb13v3	CDR-L1	SEQ ID NO:144 的残基 24-34	**KASQNVGFNVA**
38	huAb13v3	CDR-L2	SEQ ID NO:144 的残基 50-56	**SASYRYS**
39	huAb13v3	CDR-L3	SEQ ID NO:144 的残基 89-97	**QQYNWYPFT**

[3794]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
146	huAb13v4	VH		EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV SGYSITSGYSWHWIRQPPGKGLEW IGYIHSSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC ARYDDYFEYWGQGTTVTVSS
33	huAb13v4	CDR-H1	SEQ ID NO:146 的残基 26-36	GYSITSGYSWH
34	huAb13v4	CDR-H2	SEQ ID NO:146 的残基 51-66	YIHSSGSTNYNPSLKS
35	huAb13v4	CDR-H3	SEQ ID NO:146 的残基 99-105	YDDYFEY
145	huAb13v4	VL		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVGFNVAWYQQKPGKAPKLLI YSASYRYSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYFCQQYNWYPF TFGQGTKLEIK
37	huAb13v4	CDR-L1	SEQ ID NO:145 的残基 24-34	KASQNVGFNVA
38	huAb13v4	CDR-L2	SEQ ID NO:145 的残基 50-56	SASYRYS
39	huAb13v4	CDR-L3	SEQ ID NO:145 的残基 89-97	QQYNWYPFT
147	huAb13v5	VH		EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV TGYSITSGYSWHWIRQFPGNGLEW MGYIHSSGSTNYNPSLKSRISISR DTSKNQFFLKLSSVTAADTAVYYC AGYDDYFEYWGQGTTVTVSS
33	huAb13v5	CDR-H1	SEQ ID NO:147 的残基 26-36	GYSITSGYSWH
34	huAb13v5	CDR-H2	SEQ ID NO:147 的残基 51-66	YIHSSGSTNYNPSLKS
35	huAb13v5	CDR-H3	SEQ ID NO:147 的残基 99-105	YDDYFEY
143	huAb13v5	VL		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVGFNVAWYQQKPGKAPKLLI YSASYRYSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQYNWYPF TFGQGTKLEIK

[3795]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
37	huAb13v5	CDR-L1	SEQ ID NO:143 的残基 24-34	**KASQNVGFNVA**
38	huAb13v5	CDR-L2	SEQ ID NO:143 的残基 50-56	**SASYRYS**
39	huAb13v5	CDR-L3	SEQ ID NO:143 的残基 89-97	**QQYNWYPFT**
147	huAb13v6	VH		EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV T**GYSITSGYSWH**WIRQFPGNGLEW MG**YIHSSGSTNYNPSLKS**RISISR DTSKNQFFLKLSSVTAADTAVYYC AG**YDDYFEY**WGQGTTVTVSS
33	huAb13v6	CDR-H1	SEQ ID NO:147 的残基 26-36	**GYSITSGYSWH**
34	huAb13v6	CDR-H2	SEQ ID NO:147 的残基 51-66	**YIHSSGSTNYNPSLKS**
35	huAb13v6	CDR-H3	SEQ ID NO:147 的残基 99-105	**YDDYFEY**
145	huAb13v6	VL		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**K ASQNVGFNVA**WYQQKPGKAPKLLI Y**SASYRYS**GVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYFC**QQYNWYPF T**FGQGTKLEIK
37	huAb13v6	CDR-L1	SEQ ID NO:145 的残基 24-34	**KASQNVGFNVA**
38	huAb13v6	CDR-L2	SEQ ID NO:145 的残基 50-56	**SASYRYS**
39	huAb13v6	CDR-L3	SEQ ID NO:145 的残基 89-97	**QQYNWYPFT**
148	huAb13v7	VH		EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV S**GYSITSGYSWH**WIRQPPGNGLEW MG**YIHSSGSTNYNPSLKS**RITISR DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC AR**YDDYFEY**WGQGTTVTVSS
33	huAb13v7	CDR-H1	SEQ ID NO:148 的残基 26-36	**GYSITSGYSWH**
34	huAb13v7	CDR-H2	SEQ ID NO:148 的残基 51-66	**YIHSSGSTNYNPSLKS**

[3796]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
35	huAb13v7	CDR-H3	SEQ ID NO:148 的残基 99-105	**YDDYFEY**
143	huAb13v7	VL		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**K ASQNVGFNVA**WYQQKPGKAPKLLI Y**SASYRYS**GVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYC**QQYNWYPF T**FGQGTKLEIK
37	huAb13v7	CDR-L1	SEQ ID NO:143 的残基 24-34	**KASQNVGFNVA**
38	huAb13v7	CDR-L2	SEQ ID NO:143 的残基 50-56	**SASYRYS**
39	huAb13v7	CDR-L3	SEQ ID NO:143 的残基 89-97	**QQYNWYPFT**
148	huAb13v8	VH		EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV S**GYSITSGYSWH**WIRQPPGNGLEW MG**YIHSSGSTNYNPSLKS**RITISR DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC AR**YDDYFEY**WGQGTTVTVSS
33	huAb13v8	CDR-H1	SEQ ID NO:148 的残基 26-36	**GYSITSGYSWH**
34	huAb13v8	CDR-H2	SEQ ID NO:148 的残基 51-66	**YIHSSGSTNYNPSLKS**
35	huAb13v8	CDR-H3	SEQ ID NO:148 的残基 99-105	**YDDYFEY**
144	huAb13v8	VL		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**K ASQNVGFNVA**WYQQKPGKSPKALI Y**SASYRYS**GVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFAEYFC**QQYNWYPF T**FGQGTKLEIK
37	huAb13v8	CDR-L1	SEQ ID NO:144 的残基 24-34	**KASQNVGFNVA**
38	huAb13v8	CDR-L2	SEQ ID NO:144 的残基 50-56	**SASYRYS**
39	huAb13v8	CDR-L3	SEQ ID NO:144 的残基 89-97	**QQYNWYPFT**

[3797]

SEQ ID NO:	克隆	蛋白区	残基	氨基酸序列
148	huAb13v9	VH		EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV SGYSITSGYSWHWIRQPPGNGLEW MGYIHSSGSTNYNPSLKSRITISR DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC ARYDDYFEYWGQGTTVTVSS
33	huAb13v9	CDR-H1	SEQ ID NO:148 的残基 26-36	GYSITSGYSWH
34	huAb13v9	CDR-H2	SEQ ID NO:148 的残基 51-66	YIHSSGSTNYNPSLKS
35	huAb13v9	CDR-H3	SEQ ID NO:148 的残基 99-105	YDDYFEY
145	huAb13v9	VL		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVGFNVAWYQQKPGKAPKLLI YSASYRYSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYFCQQYNWYPF TFGQGTKLEIK
37	huAb13v9	CDR-L1	SEQ ID NO:145 的残基 24-34	KASQNVGFNVA
38	huAb13v9	CDR-L2	SEQ ID NO:145 的残基 50-56	SASYRYS
39	huAb13v9	CDR-L3	SEQ ID NO:145 的残基 89-97	QQYNWYPFT

[3798] 实例19:huAb13 VL.1a人源化变体的表征

[3799] 产生实例17和18中描述的九种huAb13变体,并通过FACS(根据实例6中描述的方法)测试其与B7-H3的结合。六种变体不与人B7-H3结合。剩余的三种变体进一步通过SPR表征其结合并与Bcl-xL抑制剂(特别是接头弹头(或合成子)CZ)偶联(通过方法A)并评估细胞的细胞毒性(根据实例7中描述的方法)。表20提供了这些变体的体外特征。

[3800] 表20:与合成子(或接头负载)CZ偶联的huAb13 VL.1a变体的体外表征

[3801]

变体名称	序列编号	通过MS获得的DAR	通过SEC获得的%聚集	ELISA hB7-H3 EC_{50} nM	FACS（EC_{50} nM）		裸mAb的亲和力（Biacore，K_D）	细胞毒性H847细胞系 IC_{50}）（nM）
					hB7-H3	cyB7-H3		
chAb13-CZ	32, 36	-	-	0.26	6.27	18.35	5.7E-09	-
huAb13v1-CZ	147, 144	4.0	5.1	0.12	6.01	10.0	6.2E-09	0.09
huAb13v5-CZ	147, 143	3.4	2.4	0.19	5.21	10.59	拟合不佳	1.60
huAb13v6-CZ	147, 145	3.6	7.3	0.14	5.83	12.95	拟合不佳	0.84

[3802] 选择huAb13v1用于进一步研究,部分原因在于其对H847细胞的有效和优异的细胞

毒性以及与chAb13(huAb13v1从其衍生)相似的结合特征。相反,huAb13v5和huAb13v6在Biacore实验中显示出拟合动力学不佳,表明它们与亲本chAb13的结合特性比huAb13v1与亲本chAb13的结合特性更加趋异,并且在细胞杀伤测定中具有降低的活性。

[3803] 实例20:选择的人源化B7-H3抗体与示例性Bcl-xL抑制剂接头弹头(合成子)的体外效能

[3804] 选择人源化抗体huAb13v1、huAb3v2.5和huAb3v2.6以与若干种Bcl-xL抑制剂有效载荷(或合成子)以3mg规模使用如实例7中所述的方法A、E或G进行偶联。如实例7中描述,使用NCI-H1650非小细胞肺癌细胞系在细胞毒性测定中测试这些ADC的抗肿瘤活性。作为对照,还评估了包含非靶向抗体MSL109(结合与Bcl-xL抑制剂有效载荷(或合成子)偶联的CMV糖蛋白H的单克隆抗体)的ADC的体外抗肿瘤活性。结果描述于表21中。

[3805] 表21:选择的人源化B7-H3 ADC与示例性Bcl-xL抑制剂接头弹头(合成子)的体外肿瘤细胞细胞毒性

[3806]

ADC	偶联方法	通过 MS 获得的 DAR	通过 SEC 获得的% 聚集	ADC 浓度（mg/ml）	EC_{50} nM H1650
huAb13v1-CZ	G	4	3.9	3	0.18
huAb13v1-TX	G	3.6	2.8	2.6	0.22
huAb13v1-TV	G	2.4	3	3.9	0.43
huAb13v1-AAA	G	2	20.2	2.7	0.37
huAb13v1-AAD	G	3.7	3.3	2.7	0.21
huAb13v1-WD	E	3	5.4	5.8	0.45
huAb13v1-LB	A	2.2	21.9	3.7	>133
huAb13v1-ZT	G	2.4	10.6	1.7	0.3
huAb13v1-ZZ	G	1.4	20.3	2.5	0.42
huAb13v1-XW	G	4.3	6.3	2.6	0.86
huAb13v1-SE	A	3.7	4	5.4	0.63
huAb13v1-SR	A	2.6	49.5	4.5	0.59
huAb13v1-YG	E	3.3	2.1	3.8	0.33
huAb13v1-KZ	A	2.8	16.8	3.5	178.8
huAb3v2.5-CZ	G	3.3	15.6	3.6	0.40
huAb3v2.5-TX	G	3.3	8.9	2.9	0.62
huAb3v2.5-TV	G	3.7	10.4	3.5	0.53
huAb3v2.5-YY	G	2.3	16.2	3.2	0.71
huAb3v2.5-AAA	G	2	14.8	3.3	0.85
huAb3v2.5-AAD	G	3.4	11.3	3.7	0.49
huAb3v2.5-WD	E	2.8	11.5	5.4	0.83
huAb3v2.5-LB	A	2.2	24.4	3.9	2.59
huAb3v2.5-ZT	G	1.6	20.1	3.3	0.95
huAb3v2.5-ZZ	G	1.2	19.4	3.7	1.1
huAb3v2.5-XW	G	3.9	16.4	3.4	2.18
huAb3v2.5-SE	A	3.7	10.6	5.4	0.85
huAb3v2.5-SR	A	1.8	48.5	5.1	0.59
huAb3v2.5-YG	E	4	8.6	3.3	0.71
huAb3v2.5-KZ	A	2.6	24.5	3.4	0.87

[3807]

huAb3v2.6-CZ	G	3.4	15	3.6	0.40
huAb3v2.6-TX	G	3.2	10.4	3.4	0.47
huAb3v2.6-TV	G	3.3	10.7	3.8	0.52
huAb3v2.6-YY	G	2.2	19.9	3.4	0.72
huAb3v2.6-AAA	G	1.9	20.2	3.6	1.24
huAb3v2.6-AAD	G	3.4	11.9	3.7	0.85
huAb3v2.6-WD	E	3.1	12.4	5.3	0.79
huAb3v2.6-LB	A	2.4	27.2	3.9	2.07
huAb3v2.6-ZT	G	1.7	21.6	3.7	1.11
huAb3v2.6-ZZ	G	1.2	20.7	3.5	1.35
huAb3v2.6-XW	G	4	16.8	3.2	2.4
huAb3v2.6-SE	A	3.6	11.8	5.7	1.01
huAb3v2.6-SR	A	2.5	48.2	5.2	0.71
huAb3v2.6-YG	E	3.7	9.9	4.8	0.68
huAb3v2.6-KZ	A	3.5	26.1	3.6	5.52
MSL109-CZ	G	3.2	0.5	3.7	19.50
MSL109-TX	G	3.5	0.7	3	20.00
MSL109-TV	G	3.6	0	2.6	31.13
MSL109-YY	G	2.9	0	1.8	26.53
MSL109-AAA	G	1.9	13.7	3.2	23.52
MSL109-AAD	G	3	0.4	3.8	>67
MSL109-WD	E	2.9	0	7.06	18.22
MSL109-LB	A	1.8	0	4.2	9.88
MSL109-ZT	G	2.3	7.5	2.2	>67
MSL109-ZZ	G	1.4	15	3.5	>67
MSL109-XW	G	3.3	3.7	3.2	>67
MSL109-SE	A	3.6	33.4	6.0	29.56
MSL109-SR	A	1.8	2.3	3.8	53.29
MSL109-YG	E	3.1	13.2	4.0	19.93
MSL109-KZ	A	2.5	18	4.3	50.16

[3808] 与包含与Bcl-xL抑制剂有效负载偶联的非靶向抗体MSL109的ADC表现出的低抗肿瘤活性相反，靶向B7-H3的ADC显示出更大的肿瘤细胞杀伤，这反映了将靶向B7-H3的ADC抗原依赖性递送至表达B7-H3的肿瘤细胞。

[3809] 如实例7中描述，使用NCI-H146小细胞肺癌细胞系在细胞毒性测定中测试这些ADC中的两种的抗肿瘤活性。结果描述于表22中。表22:选择的人源化B7-H3 ADC与示例性Bcl-

xL抑制剂合成子的体外肿瘤细胞细胞毒性

[3810]

ADC	偶联方法	DAR	通过SEC获得的%聚集	ADC 浓度（mg/ml）	EC_{50} nM H146
huAb13v1-AAA E2	I	2	3.3	11.6	2
huAb13v1-WD E2	I	2	4.5	14.5	2

[3811] 使用H146细胞测试huAb13v1-AAA E2和huAb13v1-WD E2的细胞毒性。两种偶联物都显示出有效和相当的细胞毒性。

[3812] 实例21:抗B7-H3 ADC的体内分析

[3813] 选择人源化抗B7-H3抗体huAb13v1、huAb3v2.5和huAb3v2.6,以与若干种Bcl-xL抑制剂有效负载偶联,并使用实例7和实例8中描述的方法,使用多种Bcl-xL抑制剂弹头(合成子),在小细胞肺癌(H146)的异种移植模型中作为偶联物进行评估。这些结果总结于表23和表24中。

[3814] 表23:人源化抗B7-H3 ADC的体内效力

[3815]

ADC	偶联方法	DAR	剂量[a]/途径/方案	小鼠数量	TGI_{max}（%）	TGD（%）
AB095	-	n/a	6mg/kg/IP/QDx1	8	0	0

[3816]

ADC	偶联方法	DAR	剂量[a]/途径/方案	小鼠数量	TGI_{max}（%）	TGD（%）
huAb3v2.5-CZ	A	3.5	6mg/kg/IP/QDx1	8	92	122
huAb3v2.6-CZ	A	3.4	6mg/kg/IP/QDx1	8	93	130
huAb3v2.9-CZ	A	2.8	6mg/kg/IP/QDx1	8	94	135
huAb3v2.9-TX	E	1.7	6mg/kg/IP/QDx1	8	93	109
huAb3v2.6-TX	E	2.7	6mg/kg/IP/QDx1	8	92	130
huAb3v2.5-TX	E	2.5	6mg/kg/IP/QDx1	8	86	89

[3817] [a]剂量是以mg/kg/天给出的

[3818] 表24:人源化抗B7-H3 ADC的体内效力

[3819]

ADC	偶联方法	DAR	剂量[a]/途径/方案	小鼠数量	TGI_{max}（%）
AB095	-	n/a	6mg/kg/IP/QDx1	8	0
huAb3v2.5-AAA	E	2.3	6mg/kg/IP/QDx1	8	65
huAb3v2.5-XW	E	3.1	6mg/kg/IP/QDx1	8	51
huAb3v2.6-AAA	E	3.5	6mg/kg/IP/QDx1	8	47
huAb3v2.6-XW	E	4.0	6mg/kg/IP/QDx1	8	43
huAb13v1-AAA	E	3.5	6mg/kg/IP/QDx1	8	76
huAb13v1-XW	E	4.2	6mg/kg/IP/QDx1	8	35
huAb13v1-TX E2	I	2	6mg/kg/IP/QDx1	8	88

[3820] [a]剂量是以mg/kg/天给出的

[3821] 将人源化抗B7-H3抗体huAb13v1与Bcl-xL抑制剂合成子WD偶联，并使用实例7和实例8中描述的方法，在B7-H3阳性小细胞肺癌(H1650)的异种移植模型中作为缀合物进行评估。作为对照，还评估了非靶向IgG同种型匹配的抗体(AB095)的体内抗肿瘤活性。结果总结于表25中。

[3822] 表25：人源化抗B7-H3 ADC huAb13v1-WD在H1650中的体内效力

[3823]

ADC	DAR/偶联方法	剂量 mg/kg/天	途径/方案	TGI_{max}（%）	TGD（%）
AB095[(a)]	N.A.	10	IP/QDx1	0	0
huAb13v1-WD-E2	2/I	1	IP/QDx1	46*	47*
huAb13v1-WD-E2	2/I	3	IP/QDx1	48*	47*
huAb13v1-WD-E2	2/I	10	IP/QDx1	62*	77*

[(a)] IgG1 mAb
* = 与对照处理（AB095）相比，$p < 0.05$
¥ = 与药物组合中最具活性的伴侣相比，$p < 0.05$
N.A.= 不适用

[3824] 与使用非靶向IgG同种型匹配的抗体Ab095观察到的活性缺乏相反，靶向B7-H3的Bcl-xL ADC表现出肿瘤生长抑制(TGI)和肿瘤生长延迟(TGD)，如表24和25中所示，反映了在该异种移植小鼠模型中将Bcl-xL抑制剂递送至表达B7-H3的肿瘤细胞的、靶向B7-H3的ADC的抗原依赖性递送。作为另外的对照，在B7-H3阳性小细胞肺癌(H1650)的异种移植模型中评估包含与Bcl-xL抑制剂合成子偶联的非靶向抗体MSL109的ADC的体内抗肿瘤活性。将这些ADC的活性与非靶向IgG同种型匹配的抗体(AB095，作为对照)的活性进行比较。如表26所示，包含与Bcl-xL抑制剂合成子偶联的非靶向抗体MSL109的ADC表现出非常适度的肿瘤生长抑制和低或无肿瘤生长延迟。相反，靶向B7-H3的Bcl-xL ADC(如表25中所示)表现出大

得多的肿瘤生长抑制(TGI)和肿瘤生长延迟(TGD),反映了在此小鼠异种移植模型中将这些ADC抗原依赖性递送至表达B7-H3的细胞中。

[3825] 表26.非靶向(MSL109)BCL-xL抑制性ADC在NSCLC的NCI-H1650模型中的体内效力

[3826]

		生长抑制	
治疗	剂量[a]/途径/方案	TGI_{max} (%)	TGD (%)
MSL109†-H	3/IP/Q4Dx6	18*	0
MSL109†-H	10/IP/Q4Dx6	43*	20*
MSL109†-H	30/IP/Q4Dx6	8	0
MSL109†-CZ	3/IP/Q4Dx6	29*	0
MSL109†-CZ	3/IP/Q7Dx6	18*	0
MSL109†-CZ	10/IP/Q4Dx6	32*	16
MSL109†-CZ	30/IP/Q4Dx6	32*	12

† 非靶向抗体
[a] 剂量是以mg/kg/天给出的
* = 与对照处理（AB095）相比，$p < 0.05$
Q4Dx6表示每4天一个剂量，总共6个剂量

[3827] 实例22:B7-H3组合疗法

[3828] 使用实例8中描述的方法,在人源非小细胞肺癌(H1650、H1299、H1975、和EBC1)的异种移植模型中表征huAb13v1作为CZ或TX偶联物(为纯化的DAR2(E2)偶联物)的抗肿瘤活性。作为单一疗法和与多西他赛组合评估抗肿瘤活性(H1650、H1299、H1975、和EBC1)。结果示于表27中。

[3829] 表27:人源化huAb13v1抗B7-H3偶联物作为单一疗法和与多西他赛组合的体内效力

[3830]

ADC	DAR/偶联方法	剂量 mg/kg/天	途径/方案	TGI_{max} (%)	TGD (%)
EBC1					
AB095	-	10	Q4Dx6/IP	0	0
huAb13v1-TX E2	2/I	10	Q4Dx6/IP	58	67
多西他赛	-	7.5	QDx1/IV	85	80
huAb13v1-TX E2 + 多西他赛	2/I	10+7.5	Q4Dx6/IP+QDx1/IV	140	140
NCI-H1299					
AB095		10	Q4Dx6/IP	0	0
huAb13v1-TX E2	2/I	10	Q4Dx6/IP	80	24

[3831]

ADC	DAR/ 偶联方法	剂量 mg/kg/天	途径/ 方案	TGI_{max} (%)	TGD (%)
多西他赛	-	7.5	QDx1/IV	87	48
huAb13v1-TX E2 + 多西他赛	2/I	10+7.5	Q4Dx6/IP+QDx1/IV	97	83
NCI-H1975					
AB095		10	Q4Dx6/IP	0	0
huAb13v1-TX E2	2/I	10	Q4Dx6/IP	52	62
多西他赛		7.5	QDx1/IV	81	77
huAb13v1-TX E2 + 多西他赛	2/I	10+7.5	Q4Dx6/IP+QDx1/IV	92	108
NCI-H1650					
AB095	-	8	Q7Dx6/IP	0	0
huAb13v1-CZ	2/I	10	QDx1/IP	80	100
多西他赛	-	7.5	QDx1/IV	84	143
huAb13v1-CZ +多 西他赛	-	10+7.5	QDx1/IP+QDx1/IV	99	>600
NCI-H1650					
AB095[(a)]	N.A.	10	IP/ Q14Dx3	0	0
DTX	N.A.	7.5	IV/Q14Dx3	80*	158*
huAb13v1-WD E2	2/I	10	IP/ Q14Dx3	67*	83*
huAb13v1-WD E2 + DTX)	2/I + N.A.	10 + 7.5	IP/ Q14Dx3 + IV/Q14Dx3	98*¥	>717*¥
huAb13v1-WD E2	2/.	3	IP/ Q14Dx3	56*	75*
huAb13v1-WD E2 + DTX)	2/I + N.A.	3 + 7.5	IP/ Q14Dx3 + IV/Q14Dx3	99*¥	>717*¥
huAb13v1-WD E2	2/I	1	IP/ Q14Dx3	60*	67*
huAb13v1-WD E2 + DTX	2/I + N.A	1 + 7.5	IP/ Q14Dx3 + IV/Q14Dx3	88*¥	467*¥
huAb13v1-AAA E2	2/I	10	IP/ Q14Dx3	63*	117*
huAb13v1-AAA E2 + DTX	2/I + N.A	10 + 7.5	IP/ Q14Dx3 + IV/Q14Dx3	99*¥	>717*¥
huAb13v1-AAA E2	2/I	3	IP/ Q14Dx3	60*	117*

[3832]

ADC	DAR/ 偶联方法	剂量 mg/kg/天	途径/ 方案	TGI_{max} (%)	TGD (%)
huAb13v1-AAA E2 + DTX	2/I + N.A	3 + 7.5	IP/ Q14Dx3 + IV/Q14Dx3	99*¥	>717*¥
huAb13v1-AAA E2	2/I	1	IP/ Q14Dx3	50*	67*
huAb13v1-AAA E2 + DTX	2/I + N.A	1 + 7.5	IP/ Q14Dx3 + IV/Q14Dx3	92*¥	>717*¥
[a] IgG1 mAb * = 与对照处理（AB095）相比，$p < 0.05$ ¥ = 与药物组合中最具活性的伴侣相比，$p < 0.05$ N.A.= 不适用					

[3833] 表27中显示的结果证明，作为单一疗法，上述huAb13v1作为CZ、TX、WD或AAA纯化的DAR2(E2)偶联物抑制所有四种NSCLC异种移植物模型的生长。此外，huAb13v1作为CZ、TX、WD或AAA纯化的DAR2(E2)偶联物与多西他赛有效组合产生更持久的肿瘤生长抑制。这在H1650异种移植模型中得到了最显著地说明，其中组合疗法导致在467％与>717％之间的TGD，而单独的单一疗法导致TGD在67％-158％的范围。这些结果支持Bcl-xL抑制剂(Bcl-xLi)ADC与化学疗法联合给药的临床效用。

[3834] 序列总结

[3835]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
1	chAb2 VH 氨基酸序列	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKA SGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWI GMIHPDSGTTNYNEKFRSKATLTV DKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC AVYYGSTYWYFDVWGTGTTVTVSS
2	chAb2 VH CDR1 氨基酸序列	GYTFTSYWMH
3	chAb2 VH CDR2 氨基酸序列	MIHPDSGTTNYNEKFRS
4	chAb2 VH CDR3 氨基酸序列	YYGSTYWYFDV
5	chAb2 VL 氨基酸序列	DVVMTQTPLSLPVSLGDQAYISCR SSQSLVHINGNTYLHWYRQKPGQS PKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQS THFPFTFGSGTKLEIK
6	chAb2 VL CDR1 氨基酸序列	RSSQSLVHINGNTYLH
7	chAb2、chAb3、chAb10、huAb3VL.1、huAb3VL.1a 、 huAb3VL.1b 、huAb3v2.1、huAb3v2.2、huAb3v2.3、huAb3v2.4、huAb3v2.5、huAb3v2.6、huAb3v2.7、huAb3v2.8、和 huAb3v2.9 VL CDR2 氨基酸序列	KVSNRFS
8	chAb2 VL CDR3 氨基酸序列	SQSTHFPFT
9	chAb3 VH 氨基酸序列	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKA SGYTFSSYWMHWVKQRPGQGLEWI GLIHPDSGSTNYNEMFKNKATLTV DRSSSTAYVQLSSLTSEDSAVYFC AGGGRLYFDYWGQGTTLTVSS
10	chAb3 、 huAb3VH.1 、 huAb3VH.1a 、huAb3VH.1b、huAb3v2.1、huAb3v2.2、huAb3v2.3、huAb3v2.4、huAb3v2.5、huAb3v2.6、huAb3v2.7、huAb3v2.8、和 huAb3v2.9 VH CDR1 氨基酸序列	GYTFSSYWMH
11	chAb3、huAb3VH.1、huAb3VH.1a、和 huAb3VH.1b VH CDR2 氨基酸序列	LIHPDSGSTNYNEMFKN
12	chAb3 、 huAb3VH.1 、 huAb3VH.1a 、huAb3VH.1b、huAb3v2.1、huAb3v2.2、huAb3v2.3、huAb3v2.4、huAb3v2.5、huAb3v2.6、huAb3v2.7、huAb3v2.8、和 huAb3v2.9 VH CDR3 氨基酸序列	GGRLYFDY

[3836]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
13	chAb3 VL 氨基酸序列	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISC**RSSQSLVHSNGDTYLR**WYLQKPGQSPKLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKITRVEAEDLGVYFC**SQSTHVPYT**FGGGTKLEIK
14	chAb3、huAb3VL.1、huAb3VL.1a、和 huAb3VL.1b VL CDR1 氨基酸序列	**RSSQSLVHSNGDTYLR**
15	chAb3、huAb3VL.1、huAb3VL.1a、huAb3VL.1b、huAb3v2.1、huAb3v2.2、huAb3v2.3、huAb3v2.4、huAb3v2.5、huAb3v2.6、huAb3v2.7、huAb3v2.8、和 huAb3v2.9 VL CDR3 氨基酸序列	**SQSTHVPYT**
16	chAb4 VH 氨基酸序列	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKAS**GYSFTSYWMH**WVKQRPGQGLEWIG**MIHPNSGSNNYNEKFKS**KATLTVDKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR**RLGLHFDY**WGQGTTLTVSS
17	chAb4 VH CDR1 氨基酸序列	**GYSFTSYWMH**
18	chAb4 VH CDR2 氨基酸序列	**MIHPNSGSNNYNEKFKS**
19	chAb4 VH CDR3 氨基酸序列	**RLGLHFDY**
20	chAb4 VL 氨基酸序列	DIVMTQSQKFMSTPVGDRVSITC**KASQNVGTAVA**WYQQKPGQSPKLLIY**SASNRYT**GVPDRFTGSGSGTDFTLTISNMQSEDLADYFC**QQYSSYPYT**FGGGTKLEIK
21	chAb4 VL CDR1 氨基酸序列	**KASQNVGTAVA**
22	chAb4 VL CDR2 氨基酸序列	SASNRYT
23	chAb4 VL CDR3 氨基酸序列	QQYSSYPYT
24	chAb18 VH 氨基酸序列	QVQLQQSAAELARPGASVKMSCKAS**GYSFTSYTIH**WVKQRPGQGLEWIG**YINPNSRNTDYNQKFKD**ETTLTADRSSSTAYMQLISLTSEDSAVYYCAR**YSGSTPYWYFDV**WGAGTTVTVSS
25	chAb18、huAb18VH.1、huAb18VH.1a、和 huAb18VH.1b VH CDR1 氨基酸序列	GYSFTSYTIH
26	chAb18、huAb18VH.1、和 huAb18VH.1a VH CDR2 氨基酸序列	YINPNSRNTDYNQKFKD

[3837]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
27	chAb18、huAb18VH.1、huAb18VH.1a、和 huAb18VH.1b VH CDR3 氨基酸序列	YSGSTPYWYFDV
28	chAb18 VL 氨基酸序列	QIVLTQSPAILSASPGEKVTMTC**R ASSSVSYMN**WYQQKPGSSPKPWIY **ATSNLAS**GVPARFSVSVSGTSHSL TISRVEAEDAATYYC**QQWSSNPLT** FGAGTKLELK
29	chAb18、huAb18VL.1、huAb18VL.1a、huAb18VL.1b 、 huAb18VL.2 、 和 huAb18VL.2a VL CDR1 氨基酸序列	RASSSVSYMN
30	chAb18、huAb18VL.1、huAb18VL.1a、huAb18VL.1b 、 huAb18VL.2 、 和 huAb18VL.2a VL CDR2 氨基酸序列	ATSNLAS
31	chAb18、huAb18VL.1、huAb18VL.1a、huAb18VL.1b 、 huAb18VL.2 、 和 huAb18VL.2a VL CDR3 氨基酸序列	QQWSSNPLT
32	chAb13 VH 氨基酸序列	DVQLQESGPDLVKPSQSLSLTCTV T**GYSITSGYSWH**WIRQFPGNKLEW MG**YIHSSGSTNYNPSLKS**RISINR DTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYC AG**YDDYFEY**WGQGTTLTVSS
33	chAb13、huAb13Vh.1、huAb13Vh.1a、huAb13Vh.1b、huAb13v1、huAb13v2、huAb13v3 、 huAb13v4 、 huAb13v5 、huAb13v6、huAb13v7、huAb13v8、和 huAb13v9 VH CDR1 氨基酸序列	GYSITSGYSWH
34	chAb13、huAb13Vh.1、huAb13Vh.1a、huAb13Vh.1b、huAb13v1、huAb13v2、huAb13v3 、 huAb13v4 、 huAb13v5 、huAb13v6、huAb13v7、huAb13v8、和 huAb13v9 VH CDR2 氨基酸序列	YIHSSGSTNYNPSLKS
35	chAb13、huAb13Vh.1、huAb13Vh.1a、huAb13Vh.1b、huAb13v1、huAb13v2、huAb13v3 、 huAb13v4 、 huAb13v5 、huAb13v6、huAb13v7、huAb13v8、和 huAb13v9 VH CDR3 氨基酸序列	YDDYFEY
36	chAb13 VL 氨基酸序列	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTC**K ASQNVGFNVA**WYQQKPGQSPKALI Y**SASYRYS**GVPDRFTGSGSGTDFT LTISNVQSEDLAEYFC**QQYNSYPF T**FGSGTKLEIK

[3838]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
37	chAb13、huAb13VL.1、huAb13VL.1a、huAb13VL.1b、huAb13v1、huAb13v2、huAb13v3 、 huAb13v4 、 huAb13v5 、huAb13v6、huAb13v7、huAb13v8、和huAb13v9 VL CDR1 氨基酸序列	KASQNVGFNVA
38	chAb13、huAb13VL.1、huAb13VL.1a、huAb13VL.1b、huAb13v1、huAb13v2、huAb13v3 、 huAb13v4 、 huAb13v5 、huAb13v6、huAb13v7、huAb13v8、和huAb13v9 VL CDR2 氨基酸序列	SASYRYS
39	huAb13VL.1 、 huAb13VL.1a 、huAb13VL.1b、huAb13v1、huAb13v2、huAb13v3 、 huAb13v4 、 huAb13v5 、huAb13v6、huAb13v7、huAb13v8、和huAb13v9 VL CDR3 氨基酸序列	QQYNWYPFT
40	chAb12 VH 氨基酸序列	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAA S**GFTFSSYAMS**WVRQTPEKRLEWV A**TISSGTNYTYYPDSVKG**RFTISR DNAKNTLYLQMTSLRSEDTAMYYC AR**QGRYSWIAY**WGQGTLVTVSA
41	chAb12 VH CDR1 氨基酸序列	GFTFSSYAMS
42	chAb12 VH CDR2 氨基酸序列	TISSGTNYTYYPDSVKG
43	chAb12 VH CDR3 氨基酸序列	QGRYSWIAY
44	chAb12 VL 氨基酸序列	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC**R ASKSVSTSDYSYMH**WNQQKPGQPP KLLIY**LASNLES**GVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVEEEDAATYYC**QHSR ELLT**FGAGTKLELK
45	chAb12 VL CDR1 氨基酸序列	RASKSVSTSDYSYMH
46	chAb12 和 chAb17 VL CDR2 氨基酸序列	LASNLES
47	chAb12 VL CDR3 氨基酸序列	QHSRELLT
48	chAb14 VH 氨基酸序列	EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAA S**GFTFSSYGMS**WVRQTPEKRLEWV A**TISGGGTNTYYPDSVEG**RFTISR DNAKNFLYLQMSSLRSEDTALYYC AR**HYGSQTMDY**WGQGTSVTVSS
49	chAb14 和 chAb8 VH CDR1 氨基酸序列	GFTFSSYGMS

[3839]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
50	chAb14 VH CDR2 氨基酸序列	TISGGGTNTYYPDSVEG
51	chAb14 VH CDR3 氨基酸序列	HYGSQTMDY
52	chAb14 VL 氨基酸序列	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC**RTSGNIHNYLT**WYQQKQGKSPQLLVY**NAKTLAD**GVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYYC**QHFWSIMWT**FGGGTKLEIK
53	chAb14 VL CDR1 氨基酸序列	RTSGNIHNYLT
54	chAb14 VL CDR2 氨基酸序列	NAKTLAD
55	chAb14 VL CDR3 氨基酸序列	QHFWSIMWT
56	chAb6 VH 氨基酸序列	QVQLQQSGAELMKPGASVKISCKAT**GYTFSRYWIE**WVKQRPGHGLEWIG**EILPGSGSTNYNEKFKG**KATFTADTSSNTAYMQVSSLTSEDSAVHYCAR**RGYGYVPYALDY**WGQGTSVTVSS
57	chAb6 VH CDR1 氨基酸序列	GYTFSRYWIE
58	chAb6 VH CDR2 氨基酸序列	**EILPGSGSTNYNEKFKG**
59	chAb6 VH CDR3 氨基酸序列	RGYGYVPYALDY
60	chAb6 VL 氨基酸序列	EIQMTQTTSSLSASLGDRVTISC**RASQDISNSLN**WYQQKPDGTVNLLIY**YTSRLYS**GVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFC**QQGNTLPYT**FGGGTKLEIK
61	chAb6 VL CDR1 氨基酸序列	RASQDISNSLN
62	chAb6 VL CDR2 氨基酸序列	YTSRLYS
63	chAb6 VL CDR3 氨基酸序列	QQGNTLPYT
64	chAb11 VH 氨基酸序列	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATS**GFTFTNYYMS**WVRQPPGKALEWLG**FIRNKANDYTTEYSASVKG**RFTISRDNSQSILYLQMNTLRAEDSATYYCAR**ESPGNPFAY**WGQGTLVTVSA
65	chAb11 VH CDR1 氨基酸序列	GFTFTNYYMS
66	chAb11 VH CDR2 氨基酸序列	FIRNKANDYTTEYSASVKG
67	chAb11 VH CDR3 氨基酸序列	ESPGNPFAY

[3840]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
68	chAb11 VL 氨基酸序列	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMTC**K SSQSLLNSGTQKNFLT**WYQQKPGQ PPKLLIY**WASTRES**GVPDRFTGSG SGTDFTLTISSVQAEDLAVYFC**QN DYIYPLT**FGAGTKLELK
69	chAb11 VL CDR1 氨基酸序列	KSSQSLLNSGTQKNFLT
70	chAb11 VL CDR2 氨基酸序列	WASTRES
71	chAb11 VL CDR3 氨基酸序列	QNDYIYPLT
72	chAb16 VH 氨基酸序列	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAA S**GFDFSRYWMS**WVRQAPGKGLEWI G**EINPDSSTINYTPSLKD**KFIISR DNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYC AR**PGFGNYIYAMDY**WGQGTSVTVS S
73	chAb16 VH CDR1 氨基酸序列	GFDFSRYWMS
74	chAb16 VH CDR2 氨基酸序列	EINPDSSTINYTPSLKD
75	chAb16 VH CDR3 氨基酸序列	PGFGNYIYAMDY
76	chAb16 VL 氨基酸序列	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTINC**R ASQDISNFLN**WYQQKPDGTVKLLI Y**YTSRLYL**GVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEQEDIATYFC**QQGNTLPP T**FGGGTKLEIK
77	chAb16 VL CDR1 氨基酸序列	RASQDISNFLN
78	chAb16 VL CDR2 氨基酸序列	**YTSRLYL**
79	chAb16 VL CDR3 氨基酸序列	QQGNTLPPT
80	chAb10 VH 氨基酸序列	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTV T**GYSITSDYAWN**WIRQFPGNRLEW MG**HINYSGITNYNPSLKS**RISITR DTSKNQFFLQLYSVTTEDTATYFC AR**RSLFYYYGSSLYAMDY**WGQGTS VTVSS
81	chAb10 VH CDR1 氨基酸序列	GYSITSDYAWN
82	chAb10 VH CDR2 氨基酸序列	HINYSGITNYNPSLKS
83	chAb10 VH CDR3 氨基酸序列	RSLFYYYGSSLYAMDY

[3841]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
84	chAb10 VL 氨基酸序列	DVVMTQSPFSLPVSLGDQASISC**R SSQSLVHSNGNTYLH**WYLQKPGQS PKLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDLGVYFC**SQS THVPWT**FGGGTKLEIK
85	chAb10 VL CDR1 氨基酸序列	RSSQSLVHSNGNTYLH
86	chAb10 VL CDR3 氨基酸序列	SQSTHVPWT
87	chAb7 VH 氨基酸序列	EVQLVESGENLVKPGGSLKLSCAA S**GFSFRGYGMS**WVRQTPDKRLEWV A**AISTGGNYTYYPDSVQG**RFTISR DNANNTLYLQMSSLKSEDTAMYYC AR**RGGNYAGFAY**WGQGTLVTVSA
88	chAb7 VH CDR1 氨基酸序列	GFSFRGYGMS
89	chAb7 VH CDR2 氨基酸序列	AISTGGNYTYYPDSVQG
90	chAb7 VH CDR3 氨基酸序列	RGGNYAGFAY
91	chAb7 VL 氨基酸序列	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITC**R PSENIYSNLA**WYQQKQGKSPQLLV Y**AATNLAD**GVPSRFSGSGSGTQYS LKINSLQSEDFGTYYC**QHFWGTPF T**FGSGTKLEIK
92	chAb7 VL CDR1 氨基酸序列	RPSENIYSNLA
93	chAb7 和 chAb8 VL CDR2 氨基酸序列	AATNLAD
94	chAb7 VL CDR3 氨基酸序列	QHFWGTPFT
95	chAb8 VH 氨基酸序列	EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAA S**GFTFSSYGMS**WVRQTPEKRLEWV A**TISGGGNYTYCPDSVKG**RFTISR DNAKNNLYLQMSSLRSEDTALYYC TR**QRGYDYHYAMDF**WGQGTSVTVS S
96	chAb8 VH CDR2 氨基酸序列	TISGGGNYTYCPDSVKG
97	chAb8 VH CDR3 氨基酸序列	QRGYDYHYAMDF
98	chAb8 VL 氨基酸序列	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITC**R ASENIYSNLA**WHQQKQGKSPQLLV Y**AATNLAD**GVPSRFSGNGSDTQYS LKINSLQSEDFGSYFC**QNFWGTSW T**FGGGTKLEIK
99	chAb8 VL CDR1 氨基酸序列	RASENIYSNLA

[3842]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
100	chAb8 VL CDR3 氨基酸序列	QNFWGTSWT
101	chAb17 VH 氨基酸序列	EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAA SGFTFSSYIMSWVRQTPEKRLEWV ASIVSSNITYYPDSMKGRFTISRD NARNILYLQMSSLKSEDTAMYYCA RSGTRAWFAYWGQGTLVTVSA
102	chAb17 VH CDR1 氨基酸序列	GFTFSSYIMS
103	chAb17 VH CDR2 氨基酸序列	SIVSSNITYYPDSMKG
104	chAb17 VH CDR3 氨基酸序列	SGTRAWFAY
105	chAb17 VL 氨基酸序列	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCR ASKSVSTSAYSYMHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSR ELPYTFGGGTKLEIK
106	chAb17 VL CDR1 氨基酸序列	RASKSVSTSAYSYMH
107	chAb17 VL CDR3 氨基酸序列	QHSRELPYT
108	chAb5 VH 氨基酸序列	QVQLQQPGDELVKPGASVKLSCKT SGYTFTTDWMHWVKQRPGQGLEWI GMIHPNSGTTNYNEKFKSKAALTV DKSSSTACMQLSSLTSEDSAVYYC ARSYWKWYFDVWGTGTTVTVSS
109	chAb5 VH CDR1 氨基酸序列	GYTFTTDWMH
110	chAb5 VH CDR2 氨基酸序列	MIHPNSGTTNYNEKFKS
111	chAb5 VH CDR3 氨基酸序列	SYWKWYFDV
112	chAb5 VL 氨基酸序列	QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCS ASSSVSYMHWYQQKSGTSPKLLIY STSNLASGVPSRFSGSGSGTFYSL TISSVEAEDSADYYCHQWTSYMYT FGGGTKLEIK
113	chAb5 VL CDR1 氨基酸序列	SASSSVSYMH
114	chAb5 VL CDR2 氨基酸序列	STSNLAS
115	chAb5 VL CDR3 氨基酸序列	HQWTSYMYT

[3843]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
116	huAb18VH.1、huAb18v1、和 huAb18v5 VH 氨基酸序列	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA S**GYSFTSYTIH**WVRQAPGQGLEWM G**YINPNSRNTDYNQKFKD**RVTITA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AR**YSGSTPYWYFDV**WGQGTTVTVS S
117	huAb18VH.1a、huAb18v3、huAb18v8、和 huAb18v9 VH 氨基酸序列	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA S**GYSFTSYTIH**WVRQAPGQGLEWI G**YINPNSRNTDYNQKFKD**RTTLTA DRSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AR**YSGSTPYWYFDV**WGQGTTVTVS S
118	huAb18VH.1b、huAb18v2、huAb18v4、huAb18v6、huAb18v7、和 huAb18v10 VH 氨基酸序列	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA S**GYSFTSYTIH**WVRQAPGQGLEWM G**YINPNSRNTDYAQKFQG**RVTLTA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AR**YSGSTPYWYFDV**WGQGTTVTVS S
119	huAb18VH.1b VH CDR2 氨基酸序列	**YINPNSRNTDYAQKFQG**
120	huAb18VL.1、huAb18v1、和 huAb18v2 VL 氨基酸序列	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC**R** **ASSSVSYMN**WYQQKPGKAPKLLIY **ATSNLAS**GVPSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPEDFATYYC**QQWSSNPLT** FGQGTKLEIK
121	huAb18VL.1a、huAb18v3、和 huAb18v4 VL 氨基酸序列	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC**R** **ASSSVSYMN**WYQQKPGKSPKPWIY **ATSNLAS**GVPSRFSVSVSGTEHTL TISSLQPEDFATYYC**QQWSSNPLT** FGQGTKLEIK
122	huAb18VL.1b 、 huAb18v8 、 和 huAb18v10 VL 氨基酸序列	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC**R** **ASSSVSYMN**WYQQKPGKAPKPWIY **ATSNLAS**GVPSRFSVSGSGTEHTL TISSLQPEDFATYYC**QQWSSNPLT** FGQGTKLEIK
123	huAb18VL.2、huAb18v5、和 huAb18v6 VL 氨基酸序列	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC**R** **ASSSVSYMN**WYQQKPDQSPKLLIK **ATSNLAS**GVPSRFSGSGSGTDFTL TINSLEAEDAATYYC**QQWSSNPLT** FGQGTKLEIK
124	huAb18VL.2a、huAb18v7、和 huAb18v9 VL 氨基酸序列	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC**R** **ASSSVSYMN**WYQQKPDQSPKPWIY **ATSNLAS**GVPSRFSVSVSGTDHTL TINSLEAEDAATYYC**QQWSSNPLT** FGQGTKLEIK

[3844]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
125	huAb3VH.1、huAb3v1、和 huAb3v4 VH 氨基酸序列	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA S**GYTFSSYWMH**WVRQAPGQGLEWM G**LIHPDSGSTNYNEMFKN**RVTITA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AR**GGRLYFDY**WGQGTTVTVSS
126	huAb3VH.1a、huAb3v3、和 huAb3v6 VH 氨基酸序列	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA S**GYTFSSYWMH**WVRQAPGQGLEWI G**LIHPDSGSTNYNEMFKN**RATLTV DRSTSTAYVELSSLRSEDTAVYFC AG**GGRLYFDY**WGQGTTVTVSS
127	huAb3VH.1b、huAb3v2、和 huAb3v5 VH 氨基酸序列	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA S**GYTFSSYWMH**WVRQAPGQGLEWI G**LIHPDSGSTNYNEMFKN**RATLTV DRSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AG**GGRLYFDY**WGQGTTVTVSS
128	huAb3VL.1、huAb3v1、和 huAb3v2 VL 氨基酸序列	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**R** **SSQSLVHSNGDTYLR**WYLQKPGQS PQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**SQS** **THVPYT**FGGGTKVEIK
129	huAb3VL.1a 和 huAb3v3 VL 氨基酸序列	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**R** **SSQSLVHSNGDTYLR**WYLQKPGQS PQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYFC**SQS** **THVPYT**FGGGTKVEIK
130	huAb3VL.1b、huAb3v4、huAb3v5、和 huAb3v6 VL 氨基酸序列	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**R** **SSQSLVHSNGDTYLR**WYLQKPGQS PQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**SQS** **THVPYT**FGGGTKVEIK
131	huAb3v2.1、huAb3v2.2、和 huAb3v2.3 VH 氨基酸序列	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA S**GYTFSSYWMH**WVRQAPGQGLEWI G**LIHPWSGSTNYNEMFKN**RATLTV DRSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AG**GGRLYFDY**WGQGTTVTVSS
132	huAb3v2.1、huAb3v2.2、和 huAb3v2.3 VH CDR2 氨基酸序列	**LIHPWSGSTNYNEMFKN**
133	huAb3v2.1、huAb3v2.4、和 huAb3v2.7 VL 氨基酸序列	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**R** **SSQSLVHSSGDTYLR**WYLQKPGQS PQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**SQS** **THVPYT**FGGGTKVEIK
134	huAb3v2.1、huAb3v2.4、和 huAb3v2.7 VL CDR1 氨基酸序列	**RSSQSLVHSSGDTYLR**

[3845]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
135	huAb3v2.2、huAb3v2.5、和 huAb3v2.8 VL 氨基酸序列	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**R SSQSLVHSNRDTYLR**WYLQKPGQS PQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**SQS THVPYT**FGGGTKVEIK
136	huAb3v2.2、huAb3v2.5、和 huAb3v2.8 VL CDR1 氨基酸序列	**RSSQSLVHSNRDTYLR**
137	huAb3v2.3、huAb3v2.6、和 huAb3v2.9 VL 氨基酸序列	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**R SSQSLVHSNQDTYLR**WYLQKPGQS PQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**SQS THVPYT**FGGGTKVEIK
138	huAb3v2.3、huAb3v2.6、和 huAb3v2.9 VL CDR1 氨基酸序列	**RSSQSLVHSNQDTYLR**
139	huAb3v2.4、huAb3v2.5、和 huAb3v2.6 VH 氨基酸序列	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA S**GYTFSSYWMH**WVRQAPGQGLEWI G**LIHPESGSTNYNEMFKN**RATLTV DRSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AG**GGRLYFDY**WGQGTTVTVSS
140	huAb3v2.4、huAb3v2.5、和 huAb3v2.6 VH CDR2 氨基酸序列	**LIHPESGSTNYNEMFKN**
141	huAb3v2.7、huAb3v2.8、和 huAb3v2.9 VH 氨基酸序列	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA S**GYTFSSYWMH**WVRQAPGQGLEWI G**LIHPISGSTNYNEMFKN**RATLTV DRSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AG**GGRLYFDY**WGQGTTVTVSS
142	huAb3v2.7、huAb3v2.8、和 huAb3v2.9 VH CDR2 氨基酸序列	**LIHPISGSTNYNEMFKN**
143	huAb13VL.1、huAb13v2、huAb13v5、和 huAb13v7 VL 氨基酸序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**K ASQNVGFNVA**WYQQKPGKAPKLLI Y**SASYRYS**GVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYC**QQYNWYPF T**FGQGTKLEIK
144	huAb13VL.1a、huAb13v1、huAb13v3、和 huAb13v8 VL 氨基酸序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**K ASQNVGFNVA**WYQQKPGKSPKALI Y**SASYRYS**GVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFAEYFC**QQYNWYPF T**FGQGTKLEIK
145	huAB13VL.1b、huAb13v4、huAb13v6、和 huAb13v9 VL 氨基酸序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**K ASQNVGFNVA**WYQQKPGKAPKLLI Y**SASYRYS**GVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYFC**QQYNWYPF T**FGQGTKLEIK

[3846]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
146	huAb13VH.1、huAb13v2、huAb13v3、和 huAb13v4 VH 氨基酸序列	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV S**GYSITSGYSWH**WIRQPPGKGLEW IG**YIHSSGSTNYNPSLKS**RVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC AR**YDDYFEY**WGQGTTVTVSS
147	huAb13VH.1a、huAb13v1、huAb13v5、和 huAb13v6 VH 氨基酸序列	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV T**GYSITSGYSWH**WIRQFPGNGLEW MG**YIHSSGSTNYNPSLKS**RISISR DTSKNQFFLKLSSVTAADTAVYYC AG**YDDYFEY**WGQGTTVTVSS
148	huAb13VH.1b、huAb13v7、huAb13v8、和 huAb13v9 VH 氨基酸序列	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV S**GYSITSGYSWH**WIRQPPGNGLEW MG**YIHSSGSTNYNPSLKS**RITISR DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC AR**YDDYFEY**WGQGTTVTVSS
149	B7-H3 氨基酸序列（人）	MLRRRGSPGMGVHVGAALGALWFC LTGALEVQVPEDPVVALVGTDATL CCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDT KQLVHSFAEGQDQGSAYANRTALF PDLLAQGNASLRLQRVRVADEGSF TCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSK PSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSY QGYPEAEVFWQDGQGVPLTGNVTT SQMANEQGLFDVHSILRVVLGANG TYSCLVRNPVLQQDAHSSVTITPQ RSPTGAVEVQVPEDPVVALVGTDA TLRCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLT DTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTA LFPDLLAQGNASLRLQRVRVADEG SFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPY SKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCS SYRGYPEAEVFWQDGQGVPLTGNV TTSQMANEQGLFDVHSVLRVVLGA NGTYSCLVRNPVLQQDAHGSVTIT GQPMTFPPEALWVTVGLSVCLIAL LVALAFVCWRKIKQSCEEENAGAE DQDGEGEGSKTALQPLKHSDSKED DGQEIA

[3847]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
150	人 B7-H3-ECD（fc 融合） 注意：Fc 序列加下划线	MLRRRGSPGMGVHVGAALGALWFC LTGALEVQVPEDPVVALVGTDATL CCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDT KQLVHSFAEGQDQGSAYANRTALF PDLLAQGNASLRLQRVRVADEGSF TCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSK PSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSY QGYPEAEVFWQDGQGVPLTGNVTT SQMANEQGLFDVHSILRVVLGANG TYSCLVRNPVLQQDAHSSVTITPQ RSPTGAVEVQVPEDPVVALVGTDA TLRCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLT DTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTA LFPDLLAQGNASLRLQRVRVADEG SFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPY SKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCS SYRGYPEAEVFWQDGQGVPLTGNV TTSQMANEQGLFDVHSVLRVVLGA NGTYSCLVRNPVLQQDAHGSVTIT GQPMTFAAADKTHTCPPCPAPEAE GAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3848]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
151	小鼠 B7-H3-ECD（fc 融合） 注意：Fc 序列加下划线	MLRGWGGPSVGVCVRTALGVLCLC LTGAVEVQVSEDPVVALVDTDATL RCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDT KQLVHSFTEGRDQGSAYSNRTALF PDLLVQGNASLRLQRVRVTDEGSY TCFVSIQDFDSAAVSLQVAAPYSK PSMTLEPNKDLRPGNMVTITCSSY QGYPEAEVFWKDGQGVPLTGNVTT SQMANERGLFDVHSVLRVVLGANG TYSCLVRNPVLQQDAHGSVTITGQ PLTFAAADKTHTCPPCPAPEAEGA PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK

[3849]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
152	人 B7-H3-ECD（His 标签）	MEFGLSWLFLVAILKGVQCGALEV QVPEDPVVALVGTDATLCCSFSPE PGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSF AEGQDQGSAYANRTALFPDLLAQG NASLRLQRVRVADEGSFTCFVSIR DFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEP NKDLRPGDTVTITCSSYQGYPEAE VFWQDGQGVPLTGNVTTSQMANEQ GLFDVHSILRVVLGANGTYSCLVR NPVLQQDAHSSVTITPQRSPTGAV EVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFS PEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVH SFTEGRDQGSAYANRTALFPDLLA QGNASLRLQRVRVADEGSFTCFVS IRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTL EPNKDLRPGDTVTITCSSYRGYPE AEVFWQDGQGVPLTGNVTTSQMAN EQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCL VRNPVLQQDAHGSVTITGQPMTHH HHHH
153	小鼠 B7-H3-ECD（His 标签）	MEFGLSWLFLVAILKGVQCVEVQV SEDPVVALVDTDATLRCSFSPEPG FSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTE GRDQGSAYSNRTALFPDLLVQGNA SLRLQRVRVTDEGSYTCFVSIQDF DSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNK DLRPGNMVTITCSSYQGYPEAEVF WKDGQGVPLTGNVTTSQMANERGL FDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNP VLQQDAHGSVTITGQPLTFHHHHH H

[3850]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
154	食蟹猴 B7-H3-ECD（His 标签）	MLHRRGSPGMGVHVGAALGALWFC LTGALEVQVPEDPVVALVGTDATL RCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDT KQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALF LDLLAQGNASLRLQRVRVADEGSF TCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSK PSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSY RGYPEAEVFWQDGQGAPLTGNVTT SQMANEQGLFDVHSVLRVVLGANG TYSCLVRNPVLQQDAHGSITITPQ RSPTGAVEVQVPEDPVVALVGTDA TLRCSF SPEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLV HSFTEGRDQGSAYANRTALFLDLL AQGNASLRLQRVRVADEGSFTCFV SIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMT LEPNKDLRPGDTVTITCSSYRGYP EAEVFWQDGQGAPLTGNVTTSQMA NEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSC LVRNPVLQQDAHGSVTITGQPMTF AAAHHHHHHHH
155	IGHV1-69*06 的氨基酸序列	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWM GGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AR
156	IGHJ6*01 的氨基酸序列	WGQGTTVTVSS
157	IGKV1-9*01 的氨基酸序列	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLI YAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFT LTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPP
158	IGKJ2*01 的氨基酸序列	FGQGTKLEIK

[3851]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
159	Ig γ-1 恒定区	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
160	Ig γ-1 恒定区突变体	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
161	Ig κ 恒定区	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
162	Igλ 恒定区	QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKAT LVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPV KAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLS LTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS
163	IGKV6-21*01 的氨基酸序列	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCR ASQSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLI KYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFT LTINSLEAEDAATYYCHQSSSLPX

[3852]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
164	IGKV2-28*01 的氨基酸序列	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR SSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQS PQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQA LQTPP
165	IGKJ4*01 的氨基酸序列	FGGGTKVEIK
166	IGHV-b*01(0-1)的氨基酸序列	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV SGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYHSGSTYYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC AR
167	IGKv1-39*01 的氨基酸序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPP
168	huAb13v1 重链的氨基酸序列 注意：Ig γ-1 恒定区突变体序列是加下划线的。	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV TGYSITSGYSWHWIRQFPGNGLEW MGYIHSSGSTNYNPSLKSRISISR DTSKNQFFLKLSSVTAADTAVYYC AGYDDYFEYWGQGTTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK

[3853]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
169	huAb13v1 轻链的氨基酸序列 注意：Ig κ 恒定区序列是加下划线的。	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVGFNVAWYQQKPGKSPKALI YSASYRYSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFAEYFCQQYNWYPF TFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
170	huAb3v2.5 重链的氨基酸序列 注意：Ig γ-1 恒定区突变体序列是加下划线的。	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLEWI GLIHPESGSTNYNEMFKNRATLTV DRSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AGGGRLYFDYWGQGTTVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK

[3854]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
171	huAb3v2.5 轻链的氨基酸序列 注意：Ig κ 恒定区序列是加下划线的。	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR SSQSLVHSNRDTYLRWYLQKPGQS PQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQS THVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
172	huAb3v2.6 重链的氨基酸序列 注意：Ig γ-1 恒定区突变体序列是加下划线的。	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLEWI GLIHPESGSTNYNEMFKNRATLTV DRSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAGGGRLYFD YWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK

[3855]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
173	huAb3v2.6 轻链的氨基酸序列 注意：Ig κ恒定区序列是加下划线的。	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR SSQSLVHSNQDTYLRWYLQKPGQS PQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQS THVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
174	IGHV1-69*06_IGHJ6 的氨基酸序列	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWM GGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARXXXXXXXXWGQGTTVTVSS
175	IGKV2-28*01_IGKJ4 的氨基酸序列	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR SSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQS PQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCXXX XXXXXXFGGGTKVEIK
176	IGHV4-b_IGHJ6 的氨基酸序列	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAV SGYSISSGYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYHSGSTYYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC ARXXXXXXXWGQGTTVTVSS
177	IGKV1-39_IGKJ2 的氨基酸序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXX XFGQGTKLEIK
178	huAb3 VL1 变体的氨基酸序列 注意：X可以是任何氨基酸，以下除外：M、C、N、D、或Q	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR SSQSLVHSXGDTYLRWYLQKPGQS PQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQS THVPYTFGGGTKVEIK
179	huAb3 VL1 变体的氨基酸序列 注意：X可以是任何氨基酸，以下除外：M、C、G、S、N、或P	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR SSQSLVHSNXDTYLRWYLQKPGQS PQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQS THVPYTFGGGTKVEIK
180	huAb3 VH1b 变体的氨基酸序列 注意：X可以是任何氨基酸，以下除外：M、C、N、D、或Q	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLEWI GLIHPXSGSTNYNEMFKNRATLTV DRSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AGGGRLYFDYWGQGTTVTVSS

[3856]

SEQ ID NO:	说明	氨基酸序列
181	huAb3 VH1b 变体的氨基酸序列 注意：X 可以是任何氨基酸，以下除外：M、C、G、S、N、或 P	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLEWI GLIHPDXGSTNYNEMFKNRATLTV DRSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AGGGRLYFDYWGQGTTVTVSS
182	chAb13 VL CDR3 氨基酸序列	QQYNSYPFT

[3857] 通过引用结合

[3858] 贯穿本申请引用的所有参考文献、专利、未决专利申请和公开的专利的内容清楚地特此通过引用而结合。

[3859] 等同物

[3860] 本领域技术人员仅使用常规实验就将认识到或能够确定本文描述的本发明的具体实施例的许多等同物。此类等同物意在由以下权利要求书涵盖。

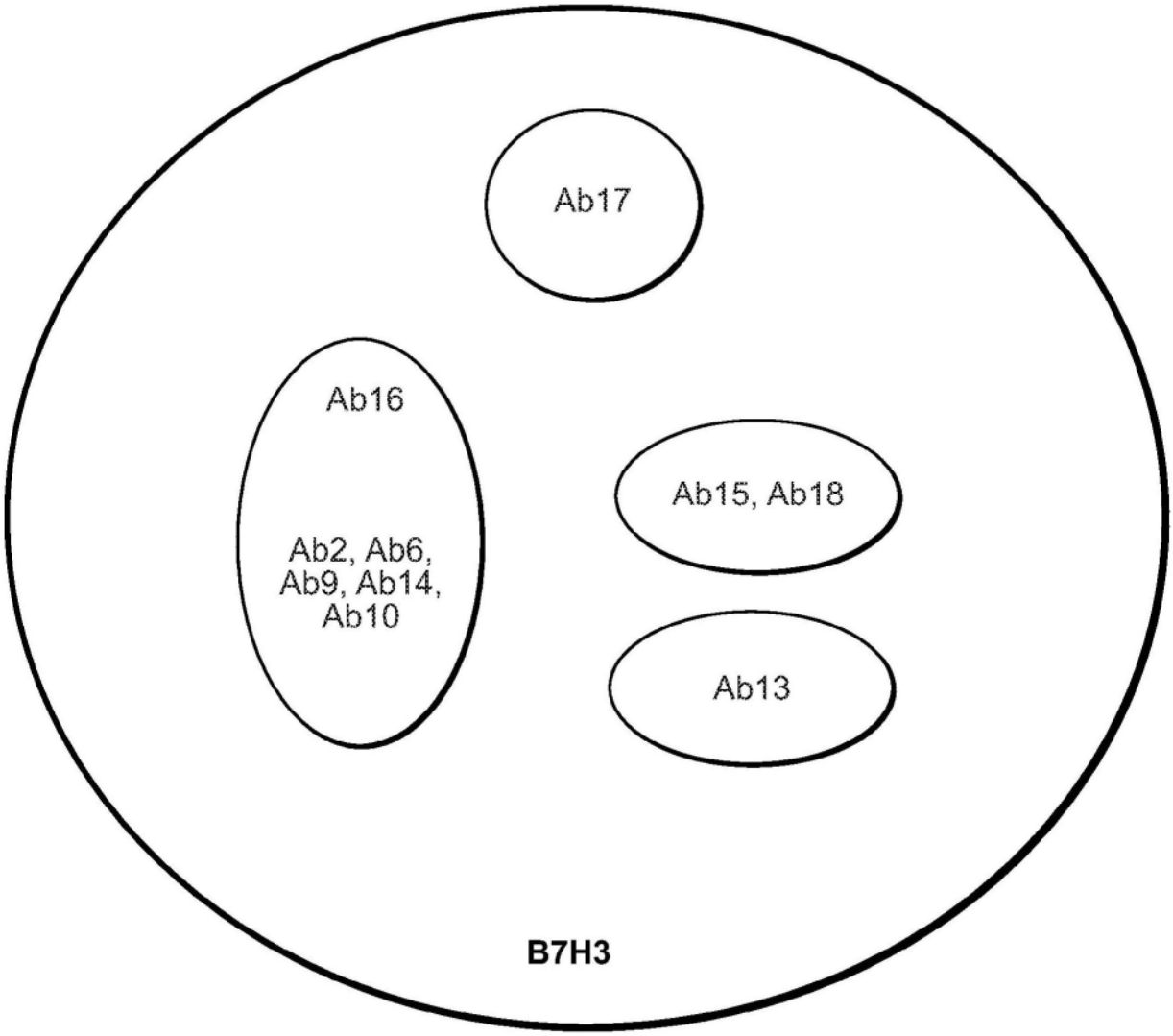


图1

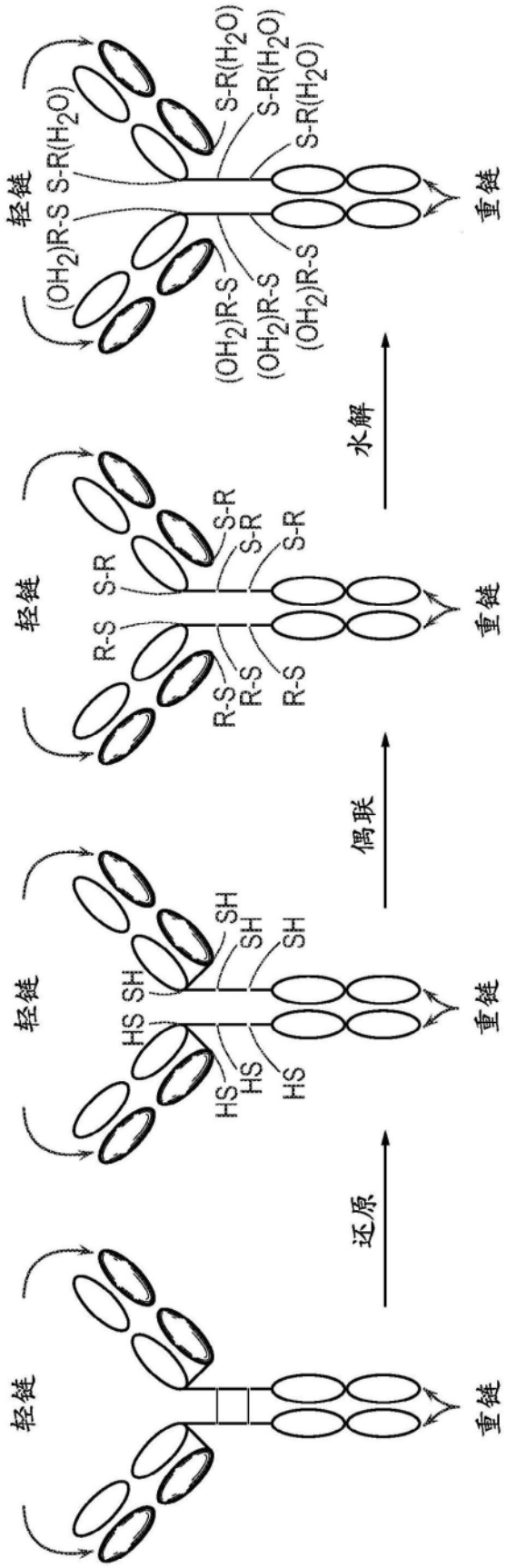


图2

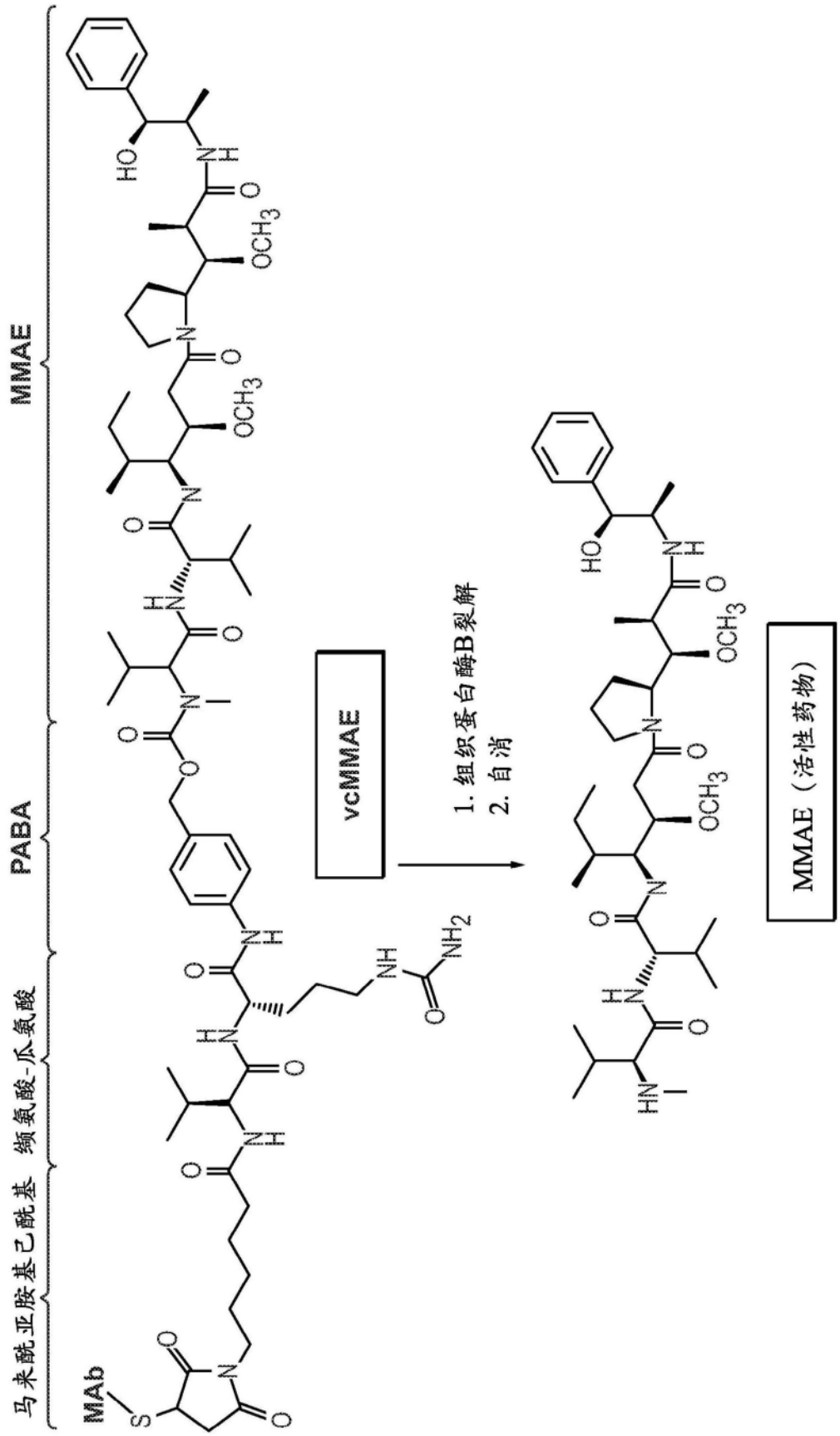

MMAE
PABA
缬氨酸-瓜氨酸
马来酰亚胺基己酰基
MAb
vcMMAE
1. 组织蛋白酶B裂解
2. 自消
MMAE（活性药物）

图3

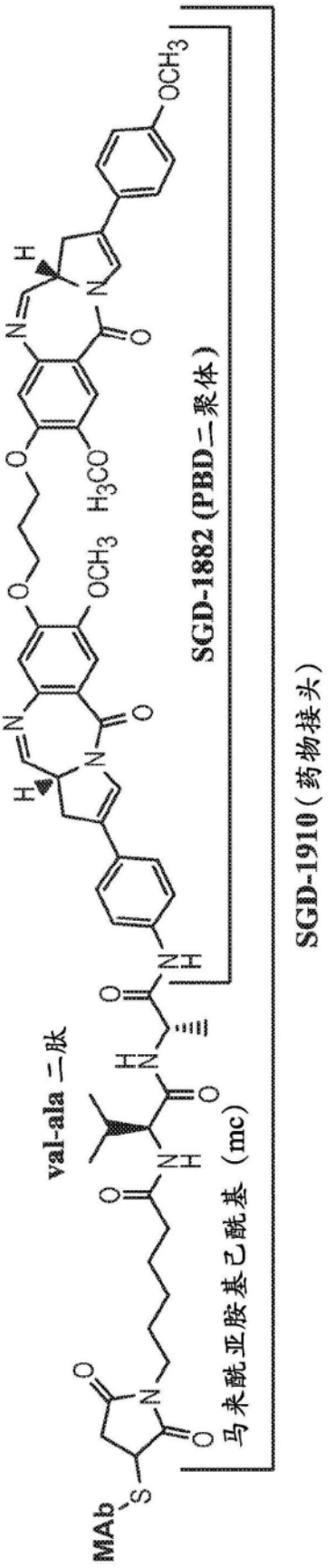

SGD-1910（药物接头）
SGD-1882 (PBD二聚体)
马来酰亚胺基己酰基（mc）
val-ala 二肽
MAb
OCH3
H3CO
OCH3

图4

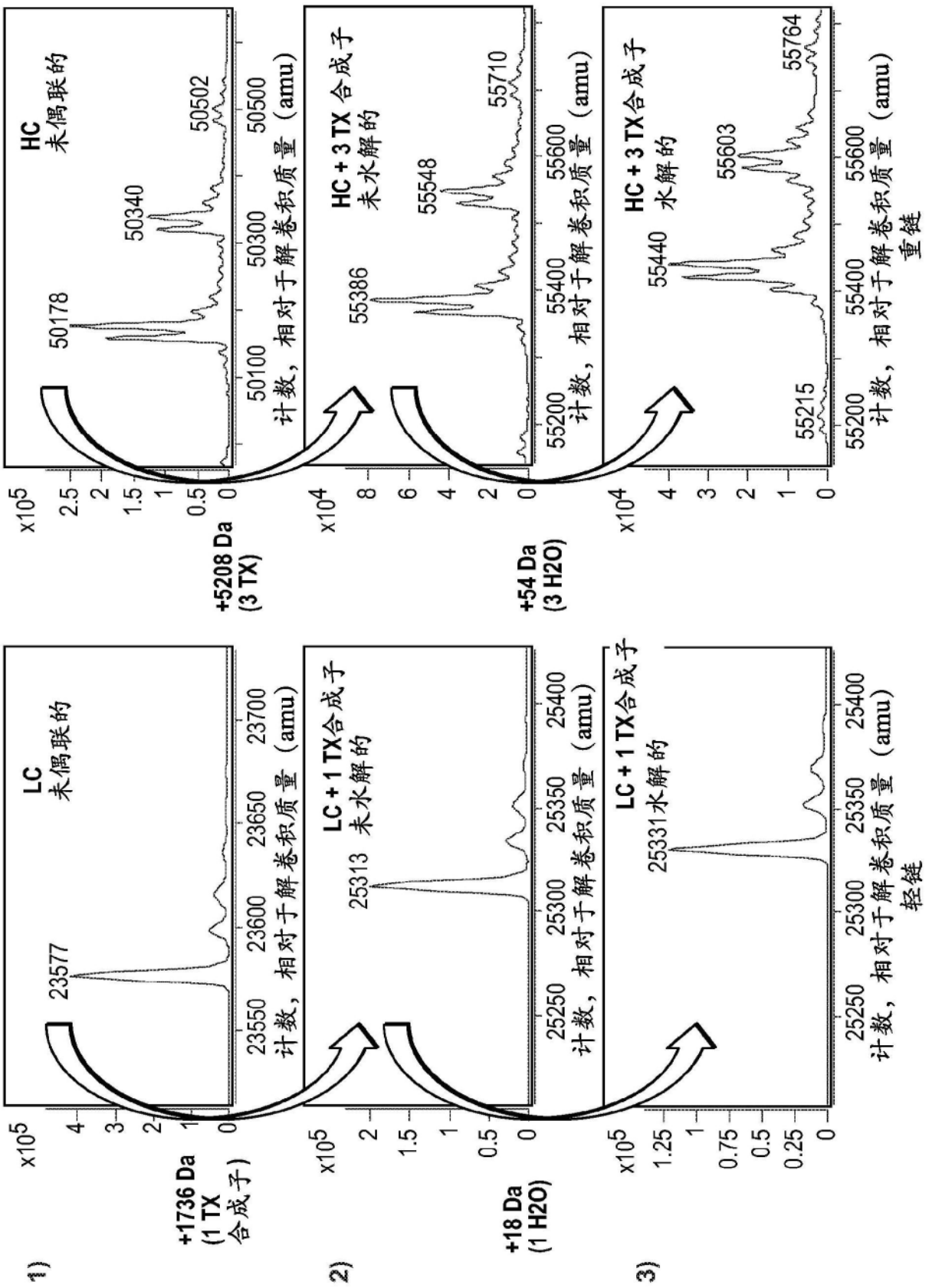

1)
2)
3)
LC
未偶联的
23577
计数，相对于解卷积质量（amu）
+1736 Da
(1 TX
合成子)
LC + 1 TX合成子
未水解的
25313
+18 Da
(1 H2O)
LC + 1 TX合成子
水解的
25331
轻链
HC
未偶联的
50178
50340
50502
+5208 Da
(3 TX)
HC + 3 TX 合成子
未水解的
55386
55548
55710
+54 Da
(3 H2O)
HC + 3 TX合成子
水解的
55440
55603
55764
重链

图5