

(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109475528 B

(45) 授权公告日 2022.01.11

(21) 申请号 201780025159.0

M·艾克 P·詹尼

(22) 申请日 2017.04.21

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

(65) 同一申请的已公布的文献号

代理人 陈文平 侯宝光

申请公布号 CN 109475528 A

(51) Int.CI.

A61K 31/4035 (2006.01)

C07D 403/10 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

(43) 申请公布日 2019.03.15

(30) 优先权数据

62/326,574 2016.04.22 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2018.10.22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/028950 2017.04.21

(87) PCT国际申请的公布数据

W02017/185036 EN 2017.10.26

(73) 专利权人 达纳-法伯癌症研究所股份有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 N·格雷 J·蒋 D·德克莱尔

(56) 对比文件

CN 104736569 A, 2015.06.24

CN 105452244 A, 2016.03.30

WO 2013106646 A2, 2013.07.18

US 2015291562 A1, 2015.10.15

WO 2013106643 A2, 2013.07.18

WO 2010039534 A2, 2010.04.08

CN 104736569 A, 2015.06.24

CN 105452244 A, 2016.03.30

审查员 耿立冬

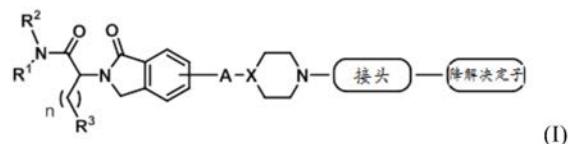
权利要求书12页 说明书131页 附图5页

(54) 发明名称

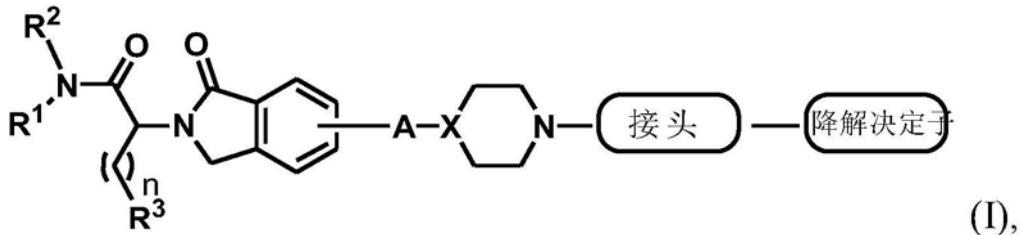
用于EGFR降解的双功能分子和使用方法

(57) 摘要

本申请提供了式(I)：靶向配体双功能化合物，其作为EGFR和/或其突变体的蛋白质降解诱导部分。本申请还描述了通过使用将泛素连接酶结合部分与能够结合EGFR和/或其突变体的配体连接的双功能化合物靶向降解EGFR和/或其突变体的方法，该方法可以用于治疗由EGFR或其突变体调节的病症。

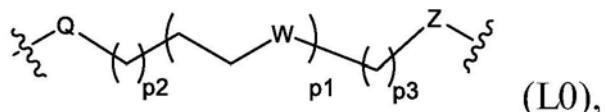


1. 一种双功能化合物，具有下式：



或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐，  
其中：

所述接头具有式L0：



或其对映异构体、非对映异构体或立体异构体，

其中p1是选自0-12的整数；p2是选自0-12的整数；p3是选自1-6的整数；每个W独立地为不存在、CH<sub>2</sub>、O、S、NH或NR<sup>10</sup>；

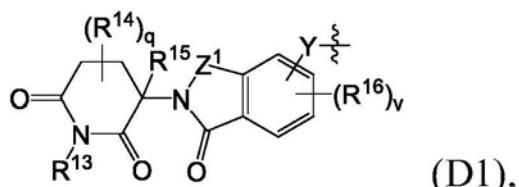
Z为不存在、CH<sub>2</sub>、O、NH、NR<sup>10</sup>、C(0)(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>或NHC(0)(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>；

每个R<sup>10</sup>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基；和

Q为不存在、CH<sub>2</sub>C(0)NH、或杂环；

其中所述接头与 和降解决定子共价结合；

所述降解决定子具有式D1：



或其对映异构体、非对映异构体或立体异构体，其中：

Y为键、(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-O、(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-C(0)NR<sup>11</sup>、(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-NR<sup>11</sup>C(0)、(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-NH或(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-NR<sup>12</sup>；

Z<sup>1</sup>为C(0)或C(R<sup>13</sup>)<sub>2</sub>；

R<sup>11</sup>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；

R<sup>12</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或C(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；

每个R<sup>13</sup>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基；

每个R<sup>14</sup>独立地为C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基；

R<sup>15</sup>为H、氘、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基、F或Cl；

每个R<sup>16</sup>独立地为卤素、OH、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基；

q为0、1或2；

v为0、1、2或3；

其中所述降解决定子通过——与所述接头共价结合；

A是苯基或毗啶基；

X是CH、C(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基或N；

R<sup>1</sup>是H或(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基；

R<sup>2</sup>是(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)芳基，或包含一个或两个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基，其中所述芳基和杂芳基各自任选地被一个或多个R<sup>4</sup>取代；

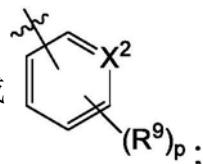
每个R<sup>4</sup>独立地选自(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基、卤素、NO<sub>2</sub>、OH、CN、C(O)R<sup>6</sup>、C(O)OR<sup>6</sup>、C(O)NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>、NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>、(C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)环烷基、包含5-至7-元环和1-3个选自N、O和S的杂原子的杂环基、(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)芳基和包含一个或两个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基，其中所述烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自任选地被一个或多个R<sup>5</sup>取代；

每个R<sup>5</sup>独立地选自(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基、卤素、NO<sub>2</sub>、OH和CN；

每个R<sup>6</sup>独立地为H或(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基；

每个R<sup>7</sup>独立地为H或(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基；

R<sup>3</sup>为(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基或



X<sup>2</sup>为N或CR<sup>8</sup>；

R<sup>8</sup>为H、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基、卤素、NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、OH或CN；

每个R<sup>9</sup>独立地选自(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基、卤素、NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、OH和CN；

n为0或1；和

p为0、1、2或3。

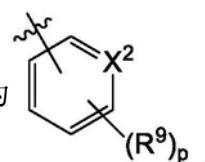
2. 根据权利要求1所述的双功能化合物，其中X为CH。

3. 根据权利要求1所述的双功能化合物，其中X为N。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的双功能化合物，其中A是苯基。

5. 根据权利要求1-3中任一项所述的双功能化合物，其中n为0。

6. 根据权利要求1-3中任一项所述的双功能化合物，其中R<sup>3</sup>为



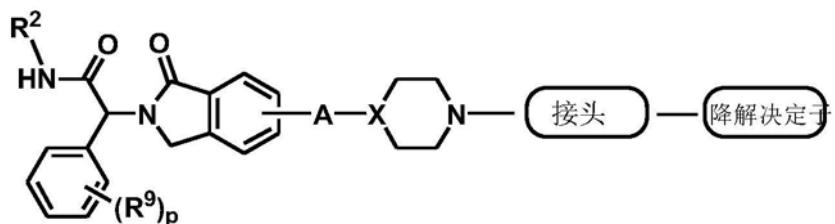
7. 根据权利要求1-3中任一项所述的双功能化合物，其中X<sup>2</sup>为CH。

8. 根据权利要求1-3中任一项所述的双功能化合物，其中R<sup>1</sup>为H。

9. 根据权利要求1-3中任一项所述的双功能化合物，其中R<sup>2</sup>是包含一个或两个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子并且任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代的杂芳基。

10. 根据权利要求1-3中任一项所述的双功能化合物,其中R<sup>2</sup>是噻唑。

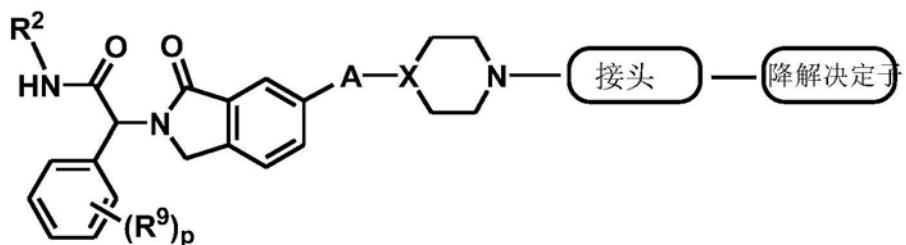
11. 根据权利要求1所述的双功能化合物,其中所述化合物具有下式:



或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐,  
其中:所述接头、降解决定子、R<sup>2</sup>、R<sup>9</sup>、p、X和A如权利要求1中所定义。

12. 根据权利要求11所述的双功能化合物,其中X为N。

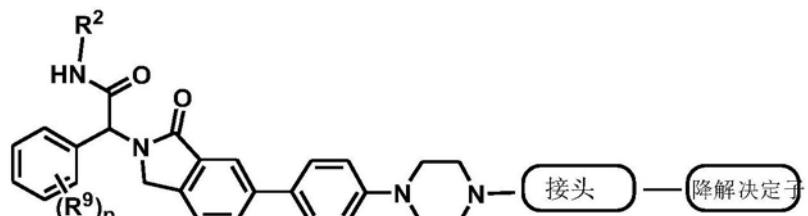
13. 根据权利要求1所述的双功能化合物,其中所述化合物具有下式:



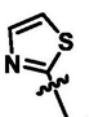
或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐,  
其中:所述接头、降解决定子、R<sup>2</sup>、R<sup>9</sup>、p、X和A如权利要求1中所定义。

14. 根据权利要求13所述的双功能化合物,其中X为N。

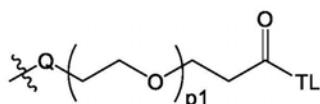
15. 根据权利要求1所述的双功能化合物,其中所述化合物具有下式:



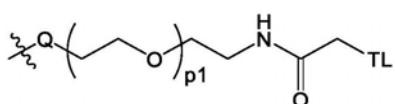
或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐,  
其中:所述接头、降解决定子、R<sup>2</sup>、R<sup>9</sup>和p如权利要求1中所定义。

16. 根据权利要求1所述的双功能化合物,其中R<sup>2</sup>是 。

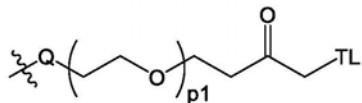
17. 根据权利要求1所述的双功能化合物,其中所述接头选自:



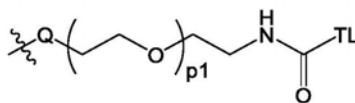
L7



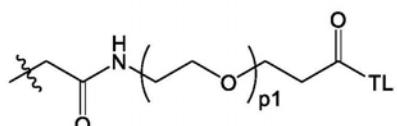
L8



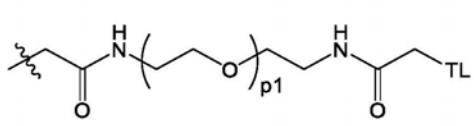
L9



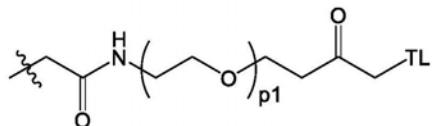
L10



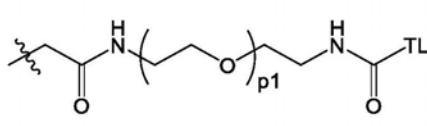
L17



L18



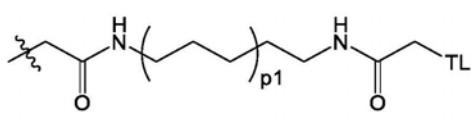
L19



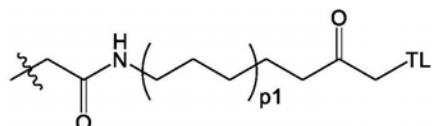
L20



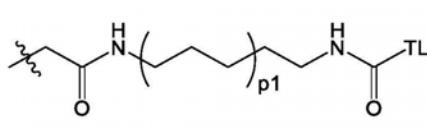
L22



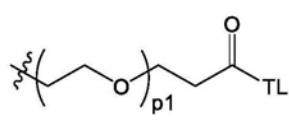
L23



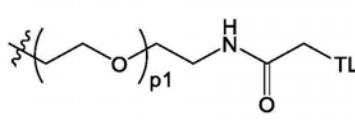
L24



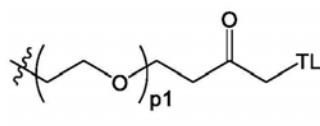
L25



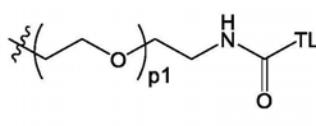
L32



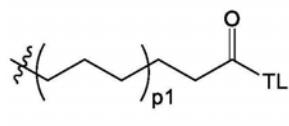
L33



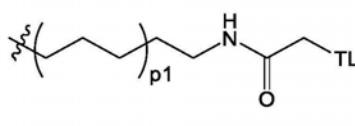
L34



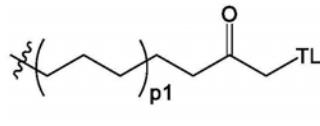
L35



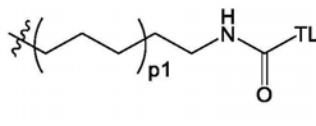
L37



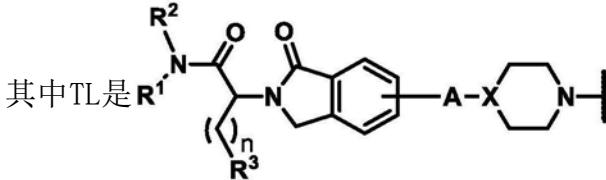
L38



L39

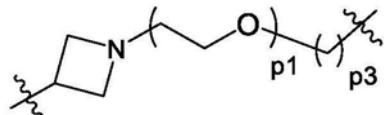


L40



。

18. 根据权利要求1所述的双功能化合物，其中所述接头是：

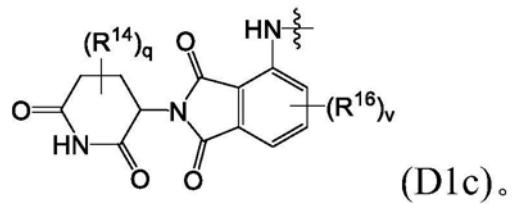
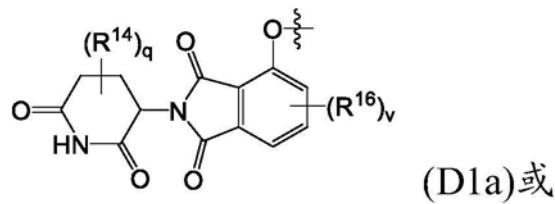


L47。

19. 根据权利要求1所述的双功能化合物，其中Z<sup>1</sup>是C(0)。

20. 根据权利要求1或19所述的双功能化合物，其中Y是键。

21. 根据权利要求1或19所述的双功能化合物，其中所述降解决定子具有式D1a、或D1c：

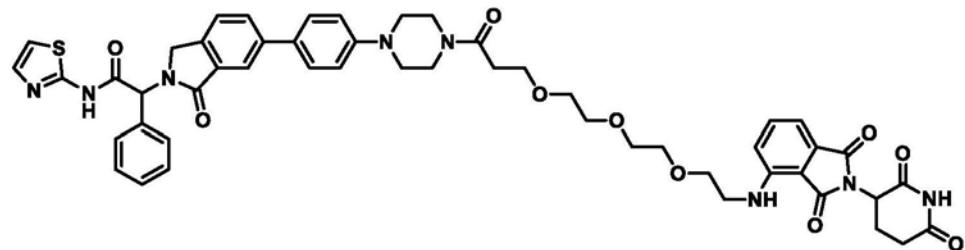


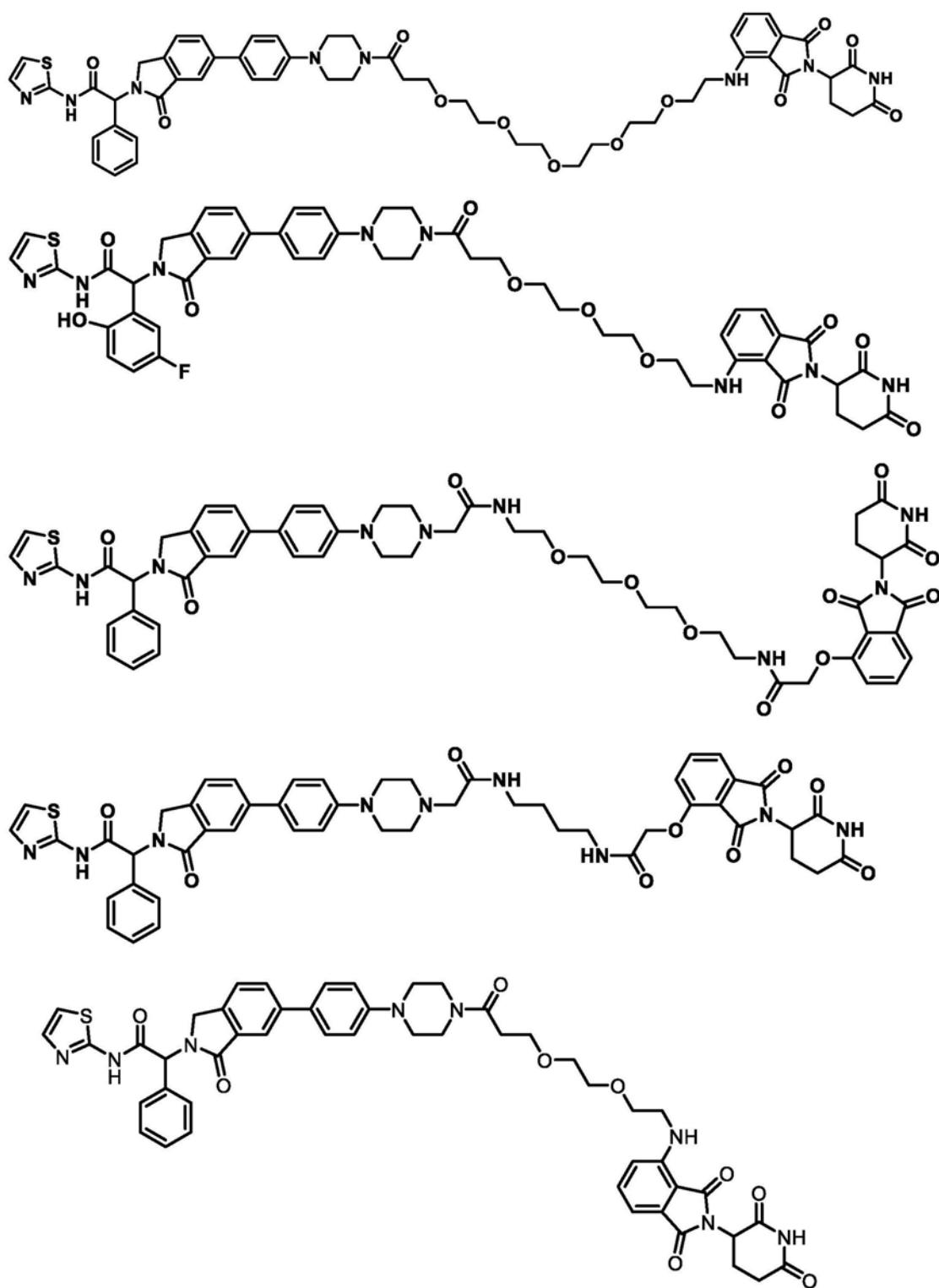
22. 药物组合物，其包含治疗有效量的如权利要求1-21中任一项所述的双功能化合物或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。

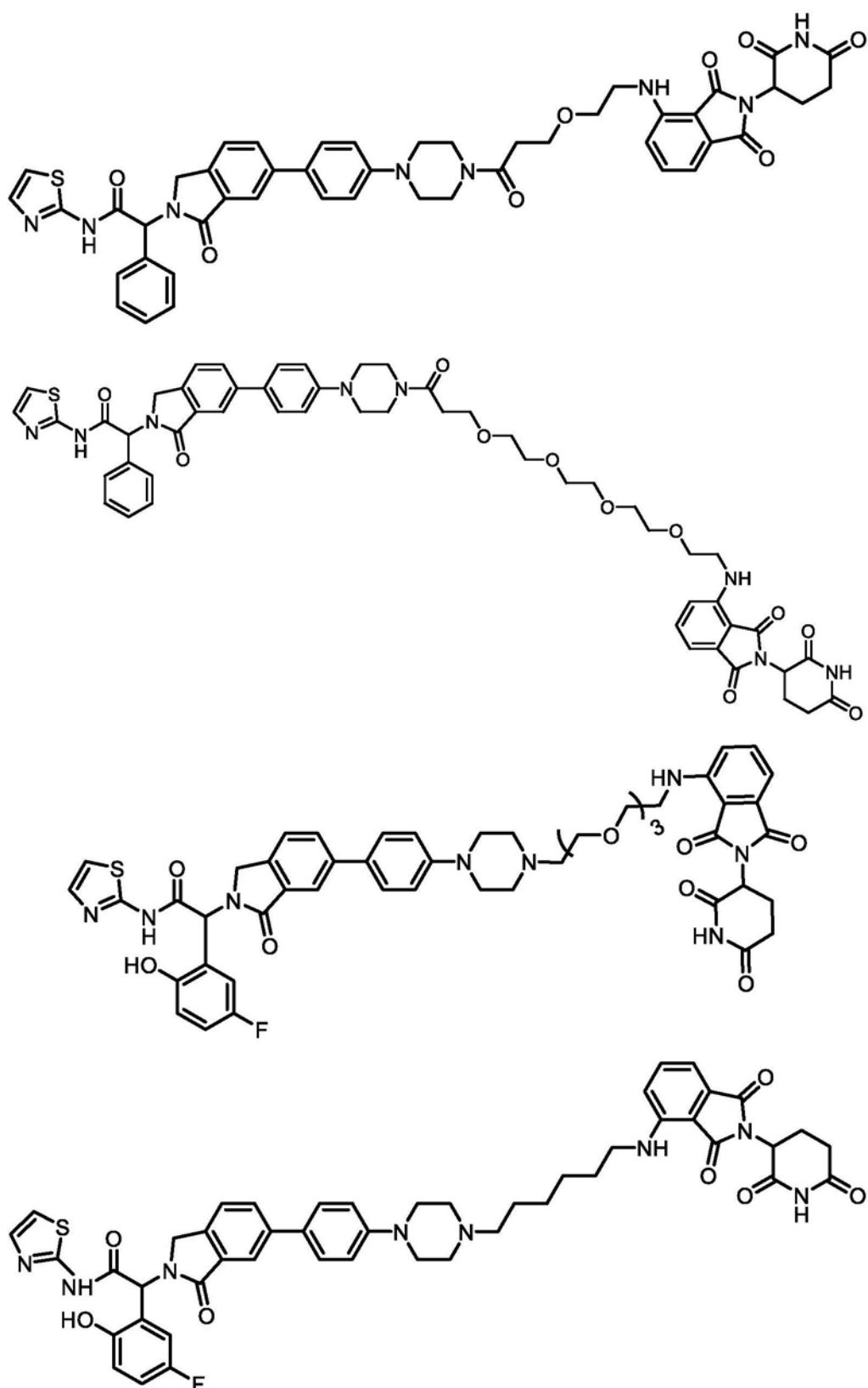
23. 根据权利要求1-21中任一项所述的化合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

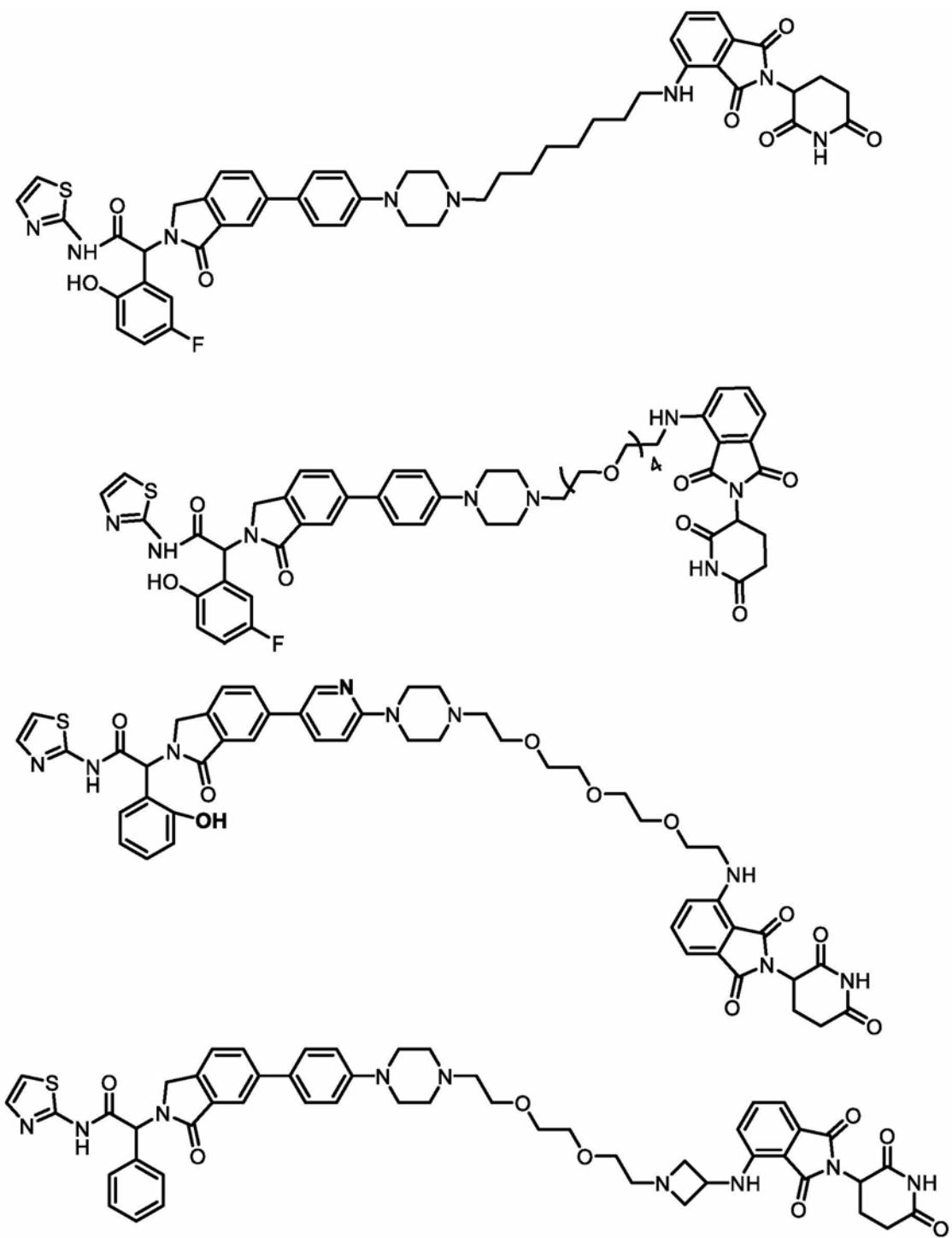
24. 根据权利要求23所述的用途，其中所述癌症是肺癌、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌、脑癌、肾癌、卵巢癌、胃癌、皮肤癌、骨癌、胰腺癌、神经胶质瘤、头颈部鳞状细胞癌、白血病、淋巴瘤、或骨髓瘤。

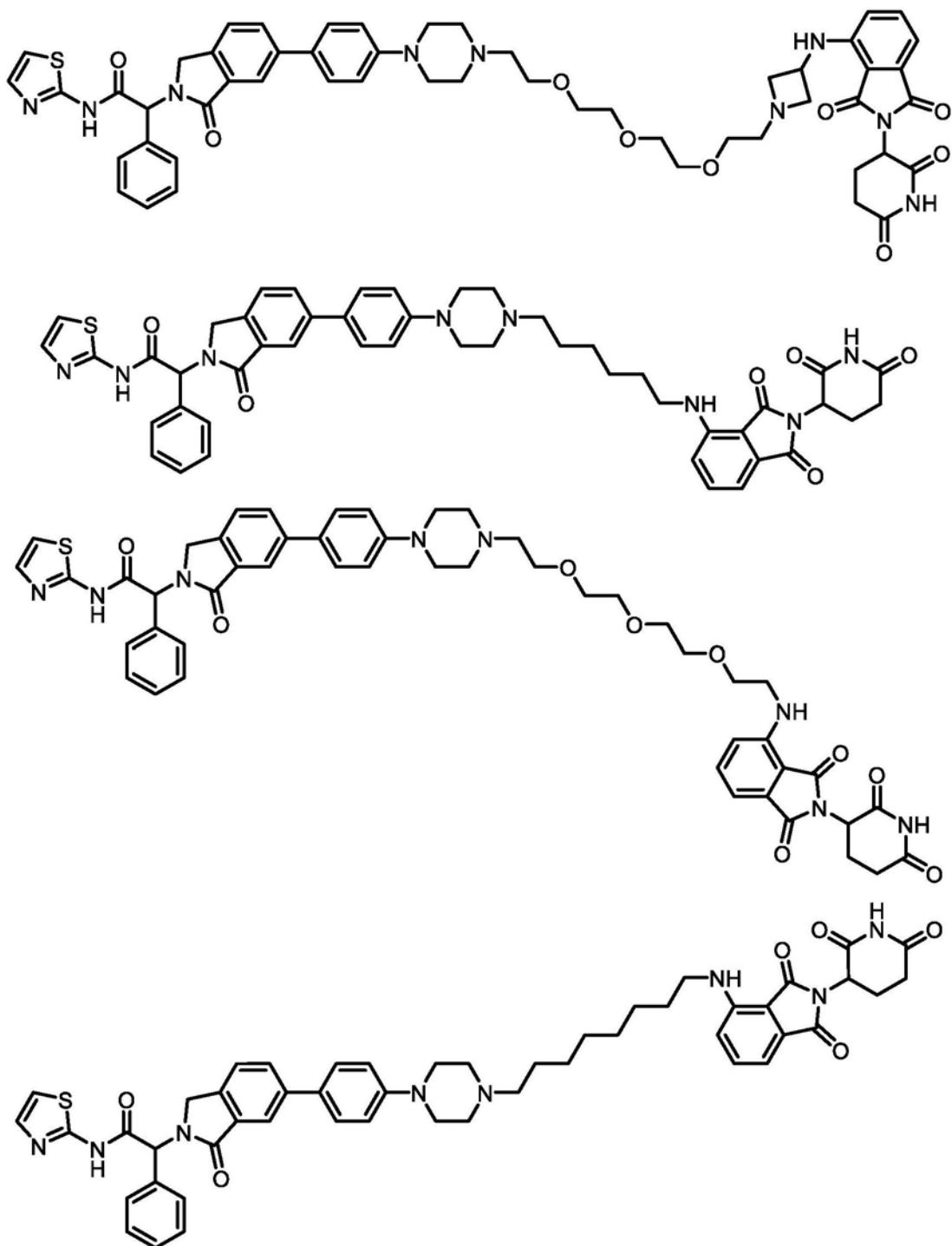
25. 根据权利要求1所述的双功能化合物，其中所述式I化合物选自：

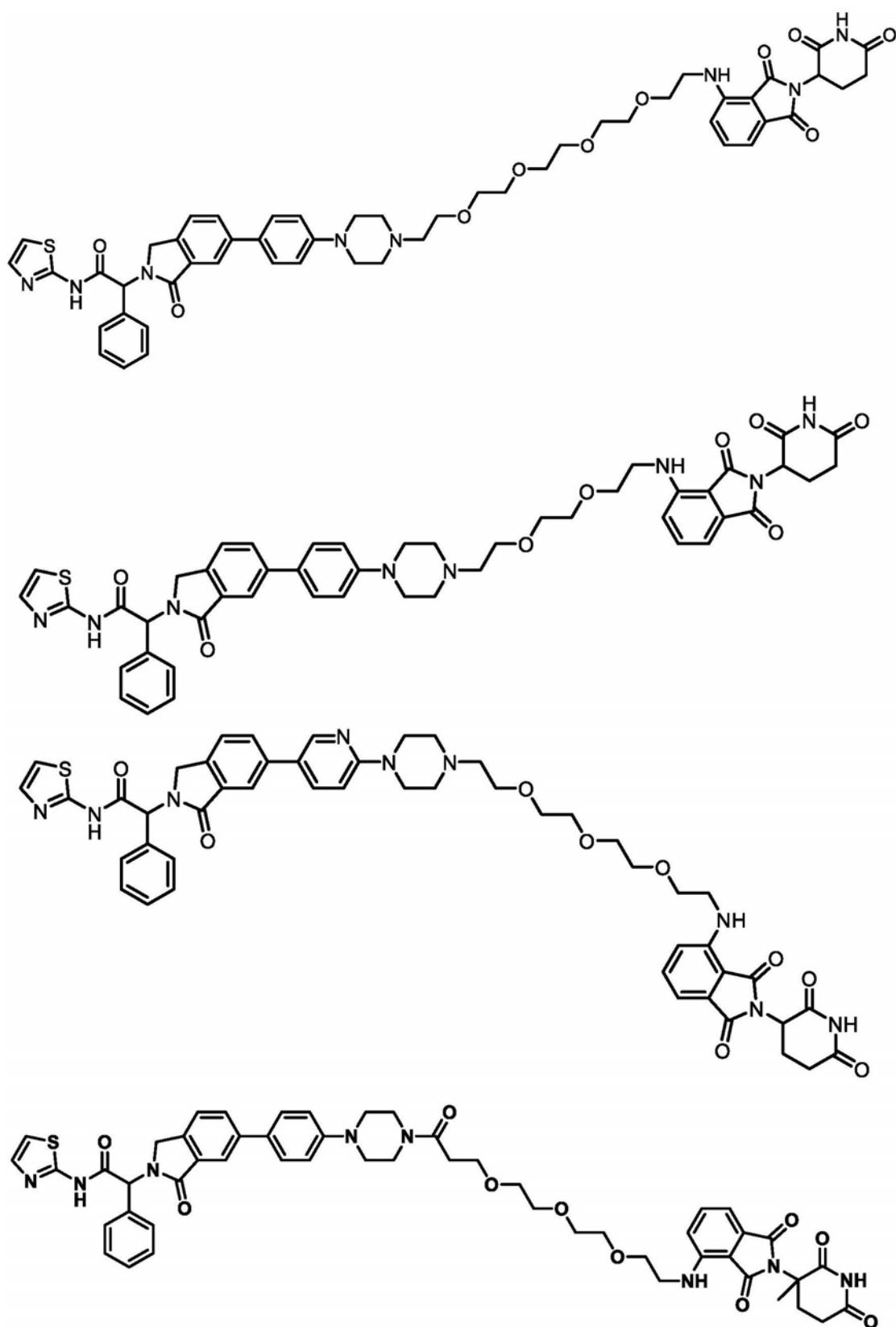


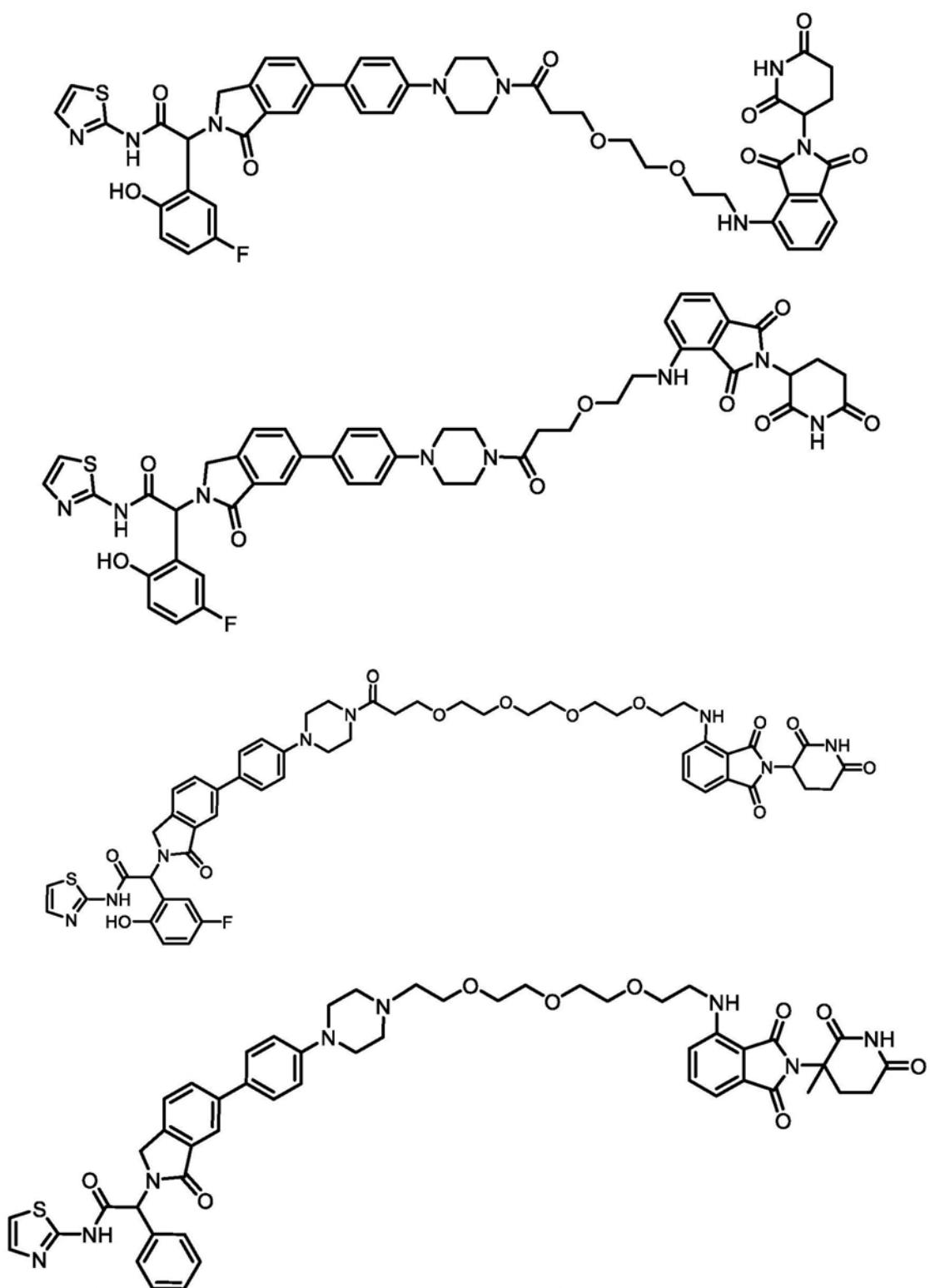


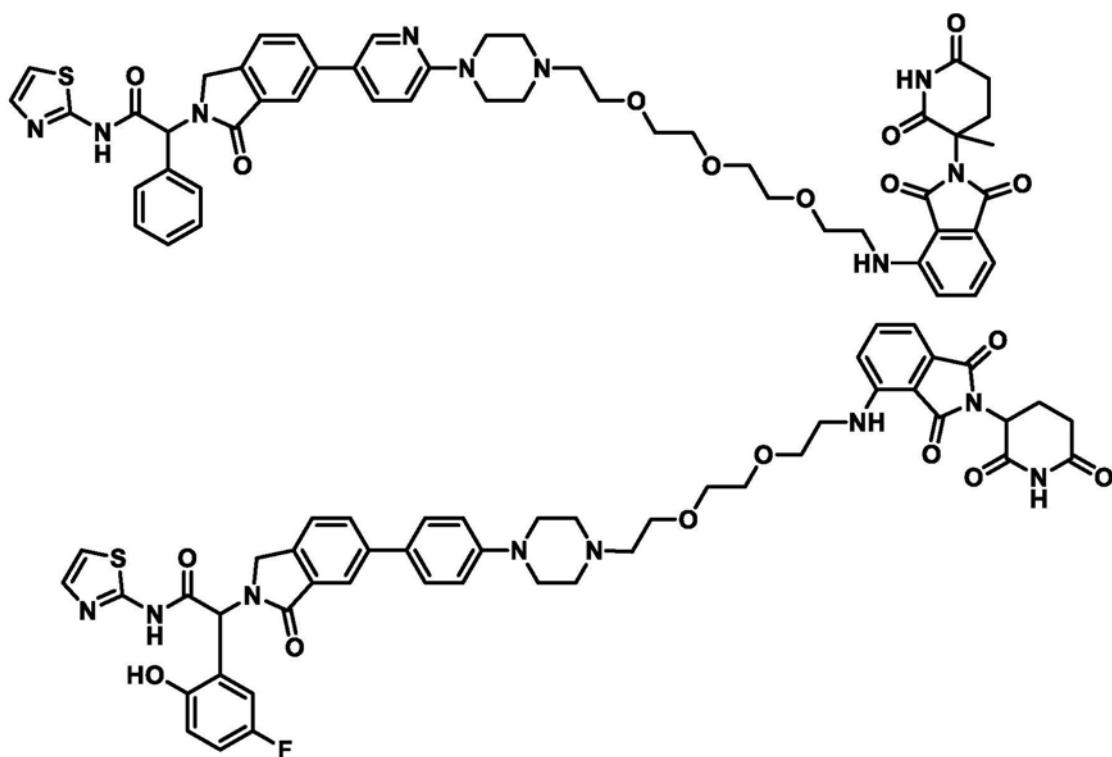












或其药学上可接受的盐。

26. 根据权利要求24所述的用途,其中所述淋巴瘤是B细胞淋巴瘤。
27. 根据权利要求24所述的用途,其中所述白血病是慢性粒细胞白血病(CML)、急性髓性白血病(AML)或急性早幼粒细胞白血病(APL)。

## 用于EGFR降解的双功能分子和使用方法

[0001] 政府支持

[0002] 本发明是在国立卫生研究院授予的授权号P01 CA154303的政府支持下完成的。政府拥有本发明的某些权利。

[0003] 相关发明的声明

[0004] 本申请要求2016年4月22日提交的美国临时专利申请第62/326,574号的权益。出于所有目的,本申请的全部内容通过引用并入本文。

### 背景技术

[0005] 泛素-蛋白酶体途径(UPP)是调节蛋白质和降解错误折叠或异常蛋白质的关键途径。UPP是多种细胞过程的核心,如果有缺陷或不平衡,则会导致多种疾病的发病机制。通过E3泛素连接酶的作用实现泛素与特定蛋白质底物的共价连接。这些连接酶包含超过500种不同的蛋白质,并且被分类为由其E3功能活性的结构元件限定的多个类别。例如,cereblon(CRBN)与受损的DNA结合蛋白1相互作用并与Cullin 4形成E3泛素连接酶复合物,其中被CRBN识别的蛋白质被泛素化并且被蛋白酶体降解。各种免疫调节药物(IMiD)例如沙利度胺和来那度胺结合CRBN并调节CRBN在参与维持正常细胞功能的蛋白质因子的泛素化和降解中的作用。

[0006] 利用泛素-蛋白酶体途径进行治疗性干预已引起科学界的极大兴趣。Gosink等人(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1995,92,9117-9121)的标题为“通过修饰泛素-偶联酶重定向泛素化的特异性”的出版物在体外证明了工程化肽可以选择性地将泛素化引导至细胞内蛋白质。Nawaz等人(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1999,96,1858-1862)的标题为“人雌激素受体的蛋白酶体依赖性降解”的出版物描述了ER降解作为泛素蛋白-蛋白酶体途径的靶标。Zhou等人(Mol.Cell 2000,6,751-756)的标题为“利用泛素化机制以靶向特定细胞蛋白质的降解”的出版物证明了能够在哺乳动物和酵母细胞中引导泛素化的工程化受体。

[0007] 转让给Proteinex, Inc.的1999年提交的标题为“控制真核生物中的蛋白质水平”的美国专利6,306,663似乎是结合泛素化识别元件和靶蛋白识别元件的泛素化分子的首次专利公开。

[0008] 标题为“蛋白质水解靶向嵌合药物”的美国专利7,041,298于2000年9月由Deshales等人提交并于2006年5月授权。Sakamoto等人(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 2001,98,8554-8559)的标题为“Protacs:将蛋白质靶向Skp1-Cullin-Fbox复合物用于泛素化和降解的嵌合分子”的出版物描述了由连接能够结合F-box蛋白β-TRCP的肽的MAP-AP-2的小分子结合剂组成的“PROTAC”,其公开内容也在相应的美国专利7,041,298中提供。Sakamoto等人(Mol.Cell.Proteomics 2003,2,1350-1358)的标题为“开发Protacs以靶向癌症-促进蛋白质用于泛素化和降解”的出版物描述了一种类似的PROTAC(PROTAC2),它不是降解MAP-AP-2,而是降解雌激素和雄激素受体。Schneekloth等人(J.Am.Chem.Soc.2004,126,3748-3754)的标题为“蛋白质水平的化学遗传控制:选择性体内靶向降解”的出版物描述了靶向FK506结合蛋白(FKBP12)的类似降解剂(PROTAC3),并使用绿色荧光蛋白(GFP)成像显示

PROTAC2和PROTAC3均分别命中各自目标。Schneekloth等人(ChemBioChem 2005, 6, 40-46)的标题为“控制细胞内蛋白质降解的化学方法”的出版物描述了当时的领域状态。Schneekloth等人(Bioorg. Med. Chem. Lett. 2008, 18, 5904-5908)的标题为“由小分子诱导的靶向细胞内蛋白质降解:通向化学蛋白质组学的途径”的出版物描述了一种降解剂,其由两个通过PEG连接的小分子组成,通过同时结合雄激素受体和泛素E3连接酶而在体内降解雄激素受体。Crews等人提交的标题为“可用于促进蛋白质降解的化合物和使用它们的方法”的W02013/170147描述了包含与接头共价结合的蛋白质降解部分的化合物,其中化合物的ClogP等于或高于1.5。Buckley等人(Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 2014, 53, 2312-2330)的标题为“通过调节泛素蛋白酶体系统的细胞内蛋白质水平的小分子控制”的综述描述了各种出版物。转让给Arvinas Inc.的标题为“基于酰亚胺的蛋白水解调节剂和相关的使用方法”的W02015/160845描述了使用包括沙利度胺的降解化合物来利用cereblon作为E3连接酶蛋白。Lu等人(Chem. Biol. 2015, 22, 755-763)的标题为“劫持E3泛素连接酶cereblon以有效靶向Brd4”的出版物描述了用于降解BRD4的基于沙利度胺的降解化合物。其他出版物包括Bondeson等人(Nat. Chem. Biol. 2015, 11, 611-617)的标题为“小分子Protacs催化体内蛋白质敲除”;Gustafson等人(Angewandte Chemie, International Edition in English 2015, 54, 9659-9662)的标题为“小分子介导的通过疏水标记降解雄激素受体”;Buckley等人(J. Am. Chem. Soc. 2012, 134, 4465-4468)的标题为“使用小分子靶向Von Hippel-Lindau E3泛素连接酶以破坏Vhl/Hif-1alpha相互作用”;转让给Arvinas Inc.的标题为“基于酰亚胺的蛋白质水解调节剂及相关使用方法”的US2016/0058872;转让给Arvinas Inc.标题为“基于雌激素的α相关受体的PROTAC的化合物和相关的使用方法”的US 2016/0045607;转让给耶鲁大学、葛兰素史克公司和剑桥大学剑桥企业有限公司的标题为“通过E3泛素连接酶增强靶向蛋白质和其他多肽降解的化合物和方法”的US 2014/0356322;Lai等人(Angewandte Chemie, International Edition in English 2016, 55, 807-81)的标题为“用于降解致癌Bcr-Abl的模块化Protac设计”;和Toure等人(Angew. Chem. Int. Ed. 2016, 55, 1966-1973)的标题为“小分子Protacs:蛋白质降解的新方法”。还参见US 2016/0176916、US 2016/0235730、US 2016/0235731、US 2016/0243247、W02016/105518、W02016/077380、W02016/105518、W02016/077375、W02017/007612和W02017/024317。

[0009] 2010年发现并报道沙利度胺与cereblon结合(参见Ito等人,(Science 2010, 327, 1345-1350)的标题为“鉴定沙利度胺致畸性的主要靶点”和Fischer等人(Nature 2014, 512, 49-53)的标题为“与沙利度胺复合的Ddb1-Crbn E3泛素连接酶的结构”。Itoh等人还描述了与利用E3泛素蛋白连接酶降解视黄酸结合蛋白的肽连接的小分子(参见J. Am. Chem. Soc. 2010, 132, 5820-5826,标题为“使用甲基靛红-配体杂合分子的蛋白质敲除:泛素化介导的细胞视黄酸结合蛋白降解的诱导物的设计与合成”)。

[0010] 本发明的目的是提供用于治疗严重疾病包括激酶介导的疾病的双功能化合物和组合物。

## 发明内容

[0011] 本申请提供了新的双功能化合物以及其制备方法和用途,该双功能化合物的功能

是将靶蛋白募集到E3泛素连接酶中用于E3泛素连接酶的降解。双功能化合物具有式X：

[0012] 靶向配体 —— 接头 —— 降解决定子 (X),

[0013] 其中：

[0014] 靶向配体能够结合靶蛋白,如EGFR和/或突变的EGFR;

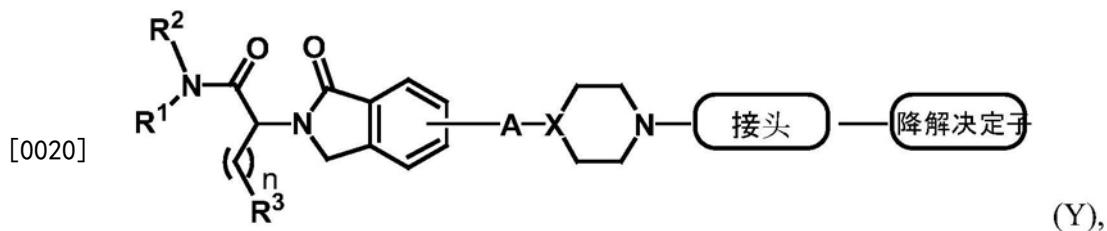
[0015] 接头是与靶向配体和降解决定子共价结合的基团;并且

[0016] 降解决定子能够结合泛素连接酶,例如E3泛素连接酶。

[0017] 在一个实施方案中,E3泛素连接酶是脑电素。

[0018] 本申请还通过使用双功能化合物提供蛋白质的靶向降解,所述双功能化合物包括将E3泛素连接酶结合部分连接至结合靶蛋白的配体的双功能化合物。

[0019] 本申请还描述了式Y的双功能化合物或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐,任选地在药学上可接受的载体中,



### 靶向配体

[0021] 其中：

[0022] A是苯基或吡啶基;

[0023] X是CH、C(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基或N;

[0024] R<sup>1</sup>是H或(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基;

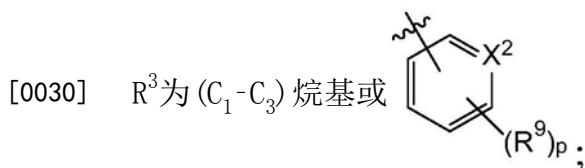
[0025] R<sup>2</sup>是(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)芳基,或包含一个或两个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其中芳基和杂芳基各自任选地被一个或多个R<sup>4</sup>取代;

[0026] 每个R<sup>4</sup>独立地选自(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基、卤素、NO<sub>2</sub>、OH、CN、C(O)R<sup>6</sup>、C(O)OR<sup>6</sup>、C(O)NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>、NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>、(C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)环烷基、包含5-至7-元环和1-3个选自N、O和S的杂原子的杂环基、(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)芳基和包含一个或两个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其中烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自任选地被一个或多个R<sup>5</sup>取代;

[0027] 每个R<sup>5</sup>独立地选自(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基、卤素、NO<sub>2</sub>、OH和CN;

[0028] 每个R<sup>6</sup>独立地为H或(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基;

[0029] 每个R<sup>7</sup>独立地为H或(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基;



[0031] X<sup>2</sup>为N或CR<sup>8</sup>;

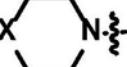
[0032] R<sup>8</sup>为H、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基、卤素、

$\text{NO}_2$ 、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{OH}$ 或 $\text{CN}$ ；

[0033] 每个 $R^9$ 独立地选自( $C_1-C_4$ )烷基、( $C_1-C_4$ )卤代烷基、( $C_1-C_4$ )烷氧基、( $C_1-C_4$ )卤代烷氧基、卤素、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{OH}$ 和 $\text{CN}$ ；

[0034]  $n$ 为0或1；和

[0035]  $p$ 为0、1、2或3；

[0036] 接头是与和降解决定子共价结合的基团；

[0037] 降解决定子能够与泛素连接酶结合；且

[0038] 靶向配体能够结合EGFR或突变的EGFR。

[0039] 在一个实施方案中，E3泛素连接酶是脑电素。

[0040] 在一个实施方案中，靶向配体能够结合EGFR。

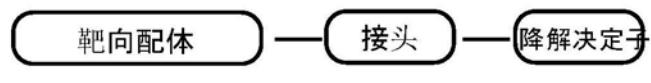
[0041] 在一个实施方案中，靶向配体能够结合突变的EGFR。

[0042] 在进一步的实施方案中，靶向配体能够结合T790M/L858R EGFR突变体。

[0043] 在进一步的实施方案中，靶向配体能够结合T790M/L858R/C797S EGFR突变体。

[0044] 本申请描述了新的双功能化合物以及其制备方法和用途，该双功能化合物的功能是将靶蛋白募集到E3泛素连接酶中用于降解。

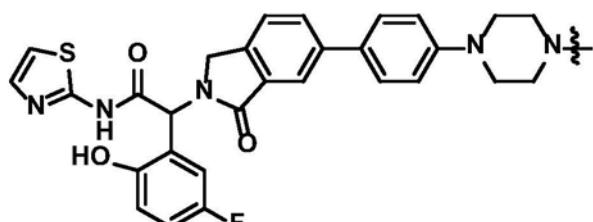
[0045] 在一个实施方案中，双功能化合物具有式Z：

[0046] 

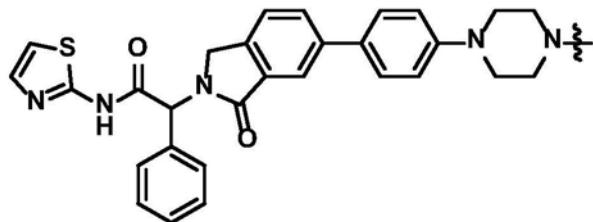
[0047] 或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐，任选地在药学上可接受的载体中，

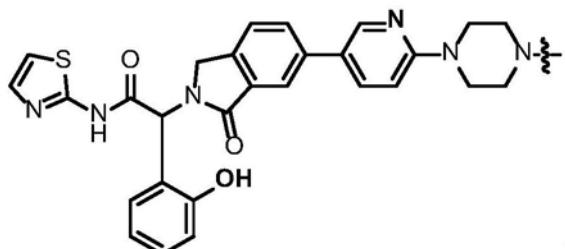
[0048] 其中：

[0049] 靶向配体选自



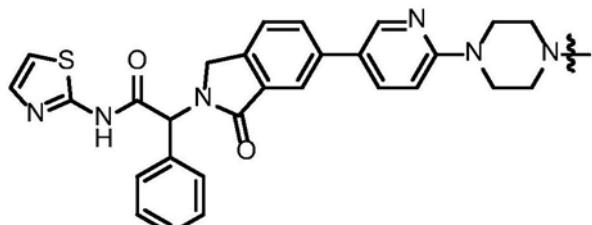
[0050] ，





[0051]

和



；

[0052] 接头是与靶向配体和降解决定子共价结合的基团；并且

[0053] 降解决定子能够与泛素连接酶结合。

[0054] 在一个实施方案中，E3泛素连接酶是脑电素。

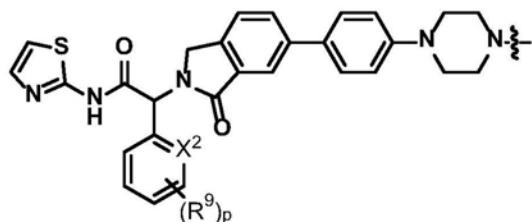
[0055] 在一个实施方案中，双功能化合物具有式A：

[0056] (A),

[0057] 或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐，任选地在药学上可接受的载体中，

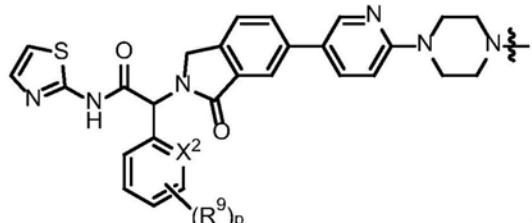
[0058] 其中：

[0059] 靶向配体选自



和

[0060]



；

[0061] 接头是与靶向配体和降解决定子共价结合的基团；并且

[0062] 降解决定子能够与泛素连接酶结合。

[0063] 在一个实施方案中，E3泛素连接酶是脑电素。

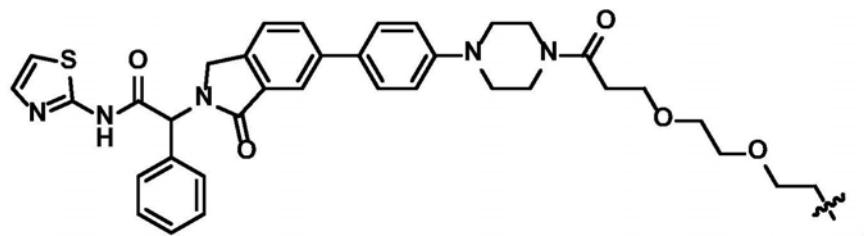
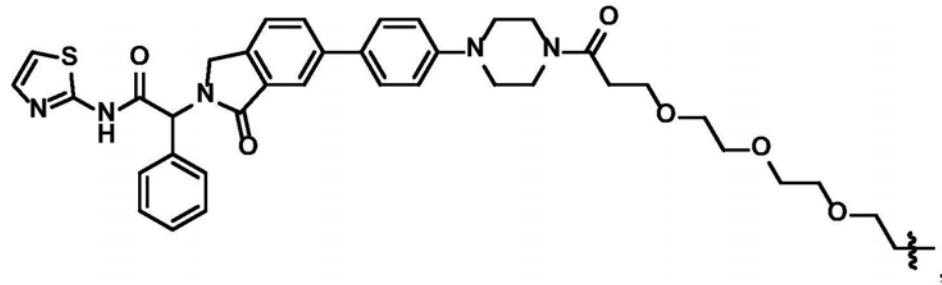
[0064] 在一个实施方案中，双功能化合物具有式B：

[0065] (B),

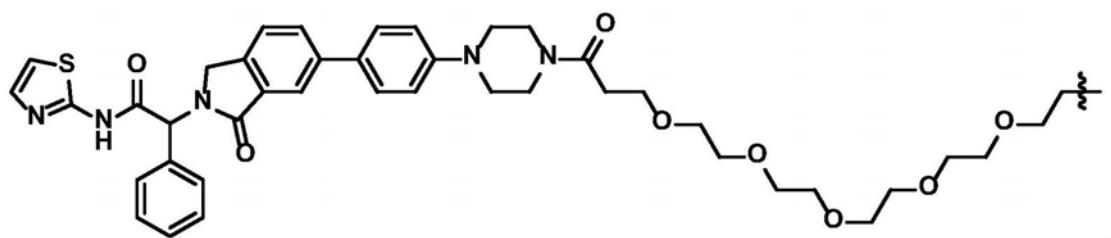
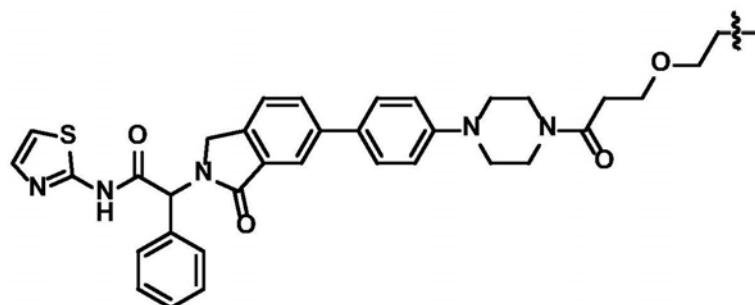
[0066] 或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐，任选地在药学上可接受的载体中，

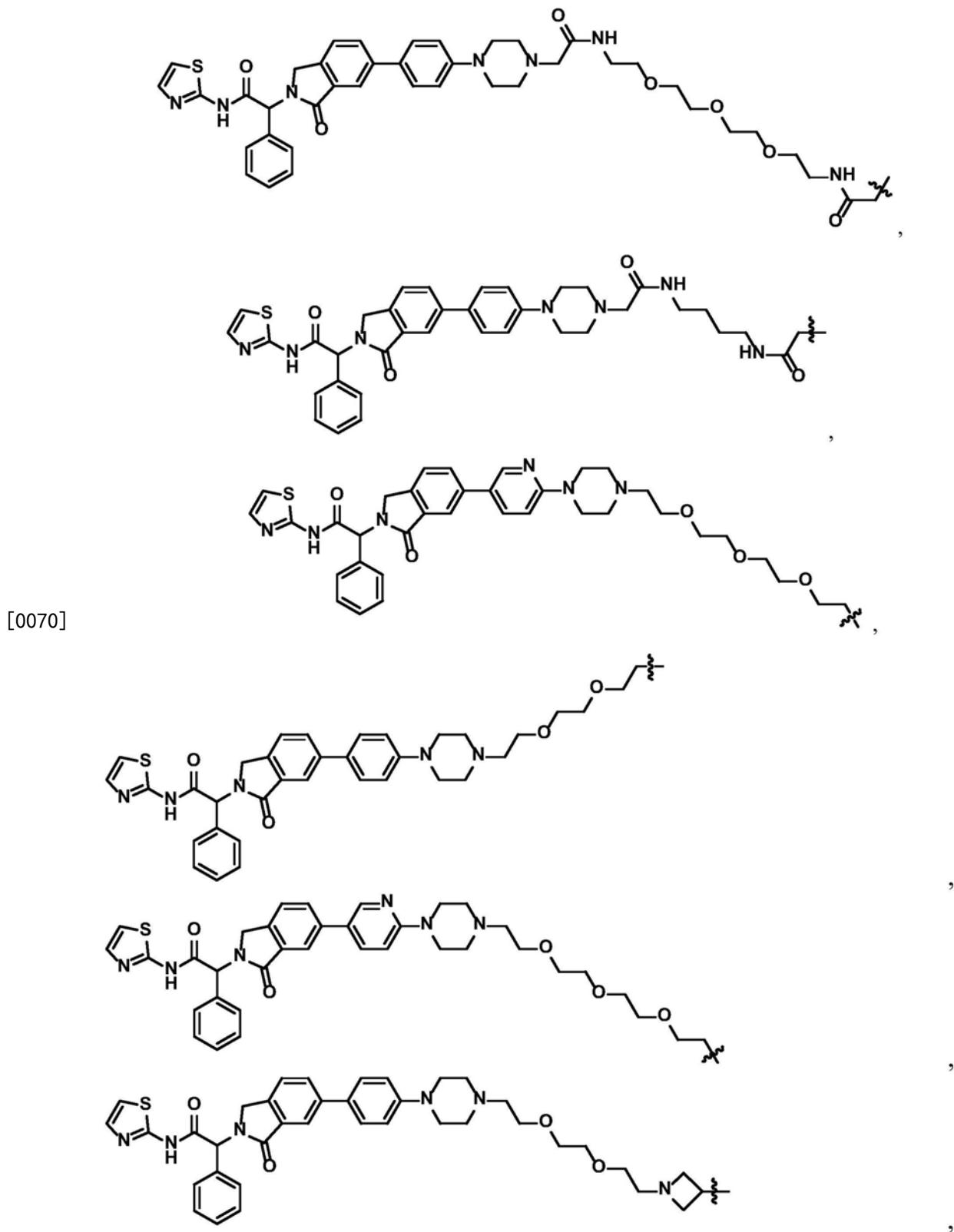
[0067] 其中：

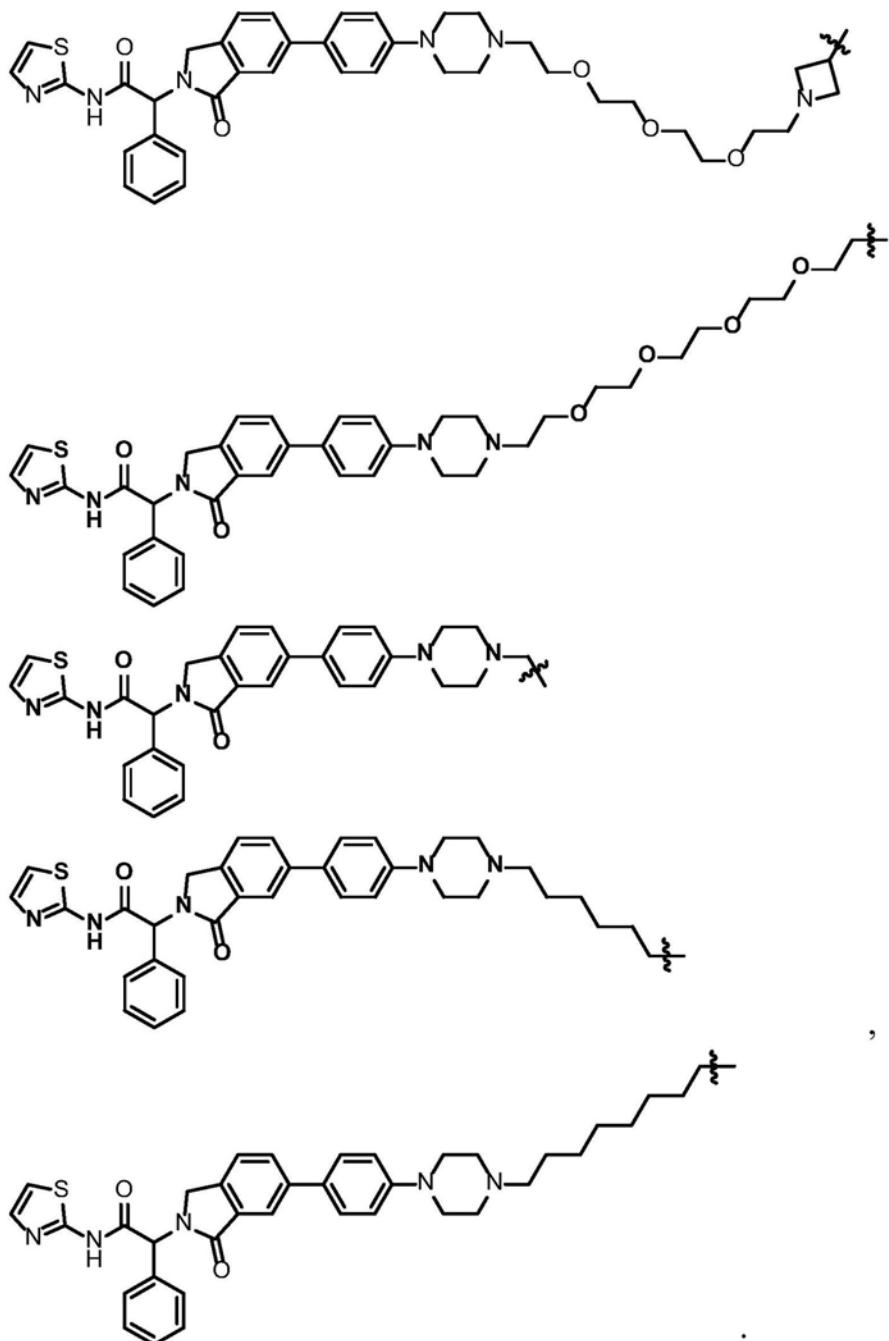
[0068] 靶向配体-接头选自



[0069]







[0072] 降解决定子能够与泛素连接酶结合。

[0073] 在一个实施方案中,E3泛素连接酶是脑电素。

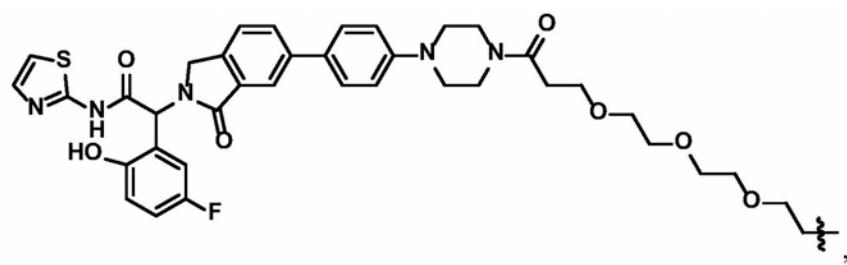
[0074] 在一个实施方案中,双功能化合物具有式C:

[0075] 靶向配体 —— 接头 —— 降解决定子 (C),

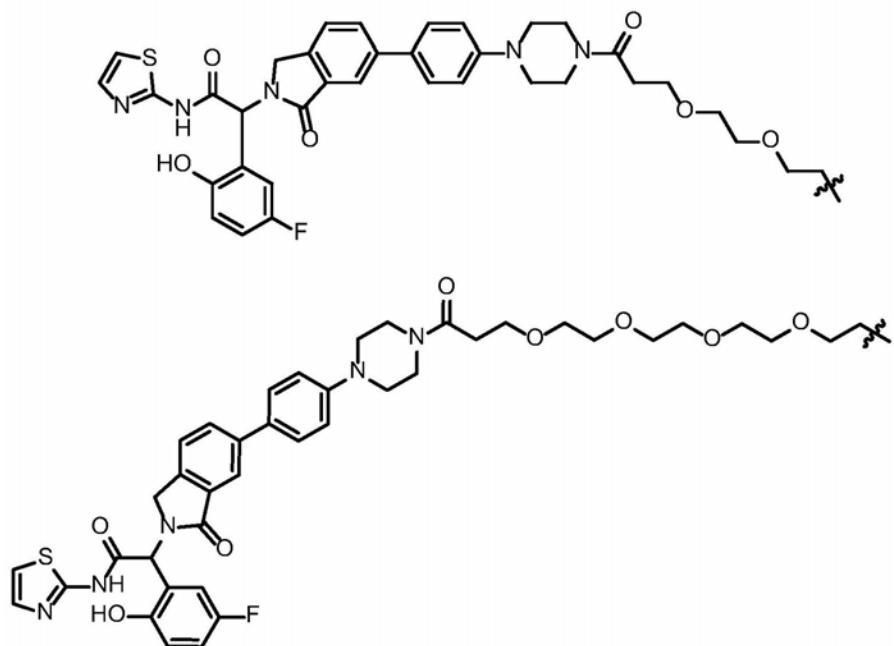
[0076] 或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐，任选地在药学上可接受的载体中，

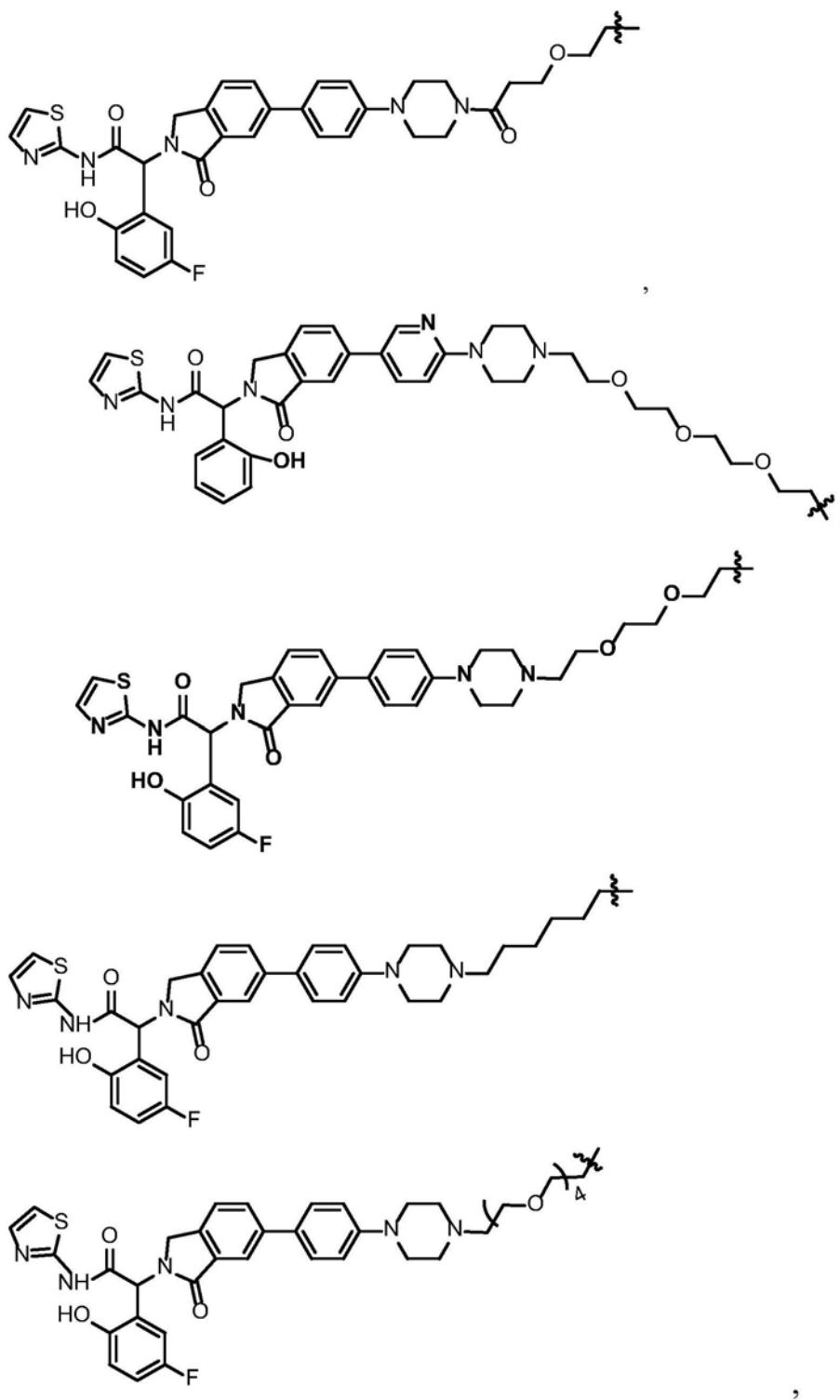
[0077] 其中：

[0078] 靶向配体-接头选自



[0079]

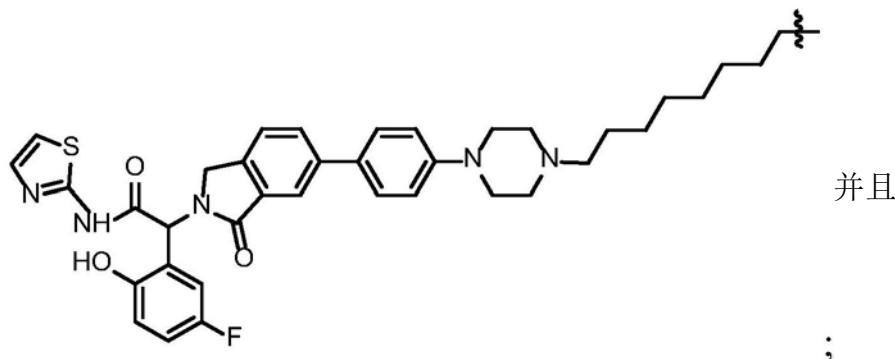




[0080]

和

[0081]



[0082] 降解决定子能够与泛素连接酶结合。

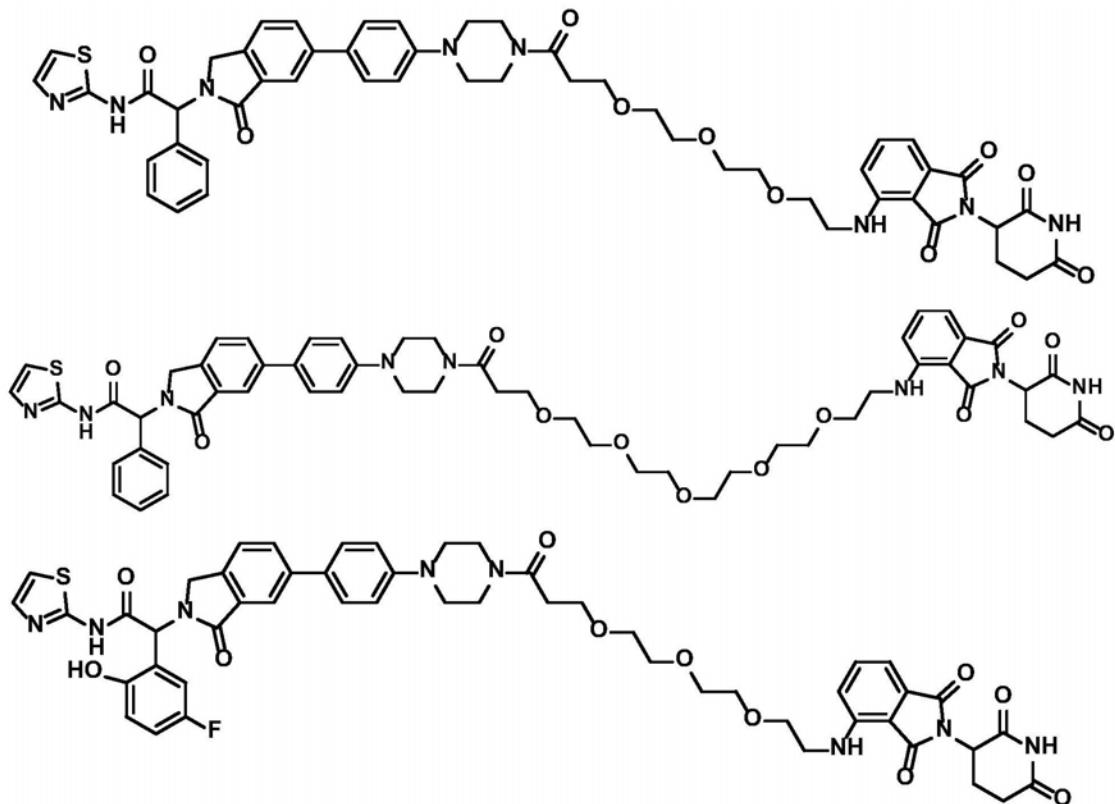
[0083] 在一个实施方案中，E3泛素连接酶是脑电素。

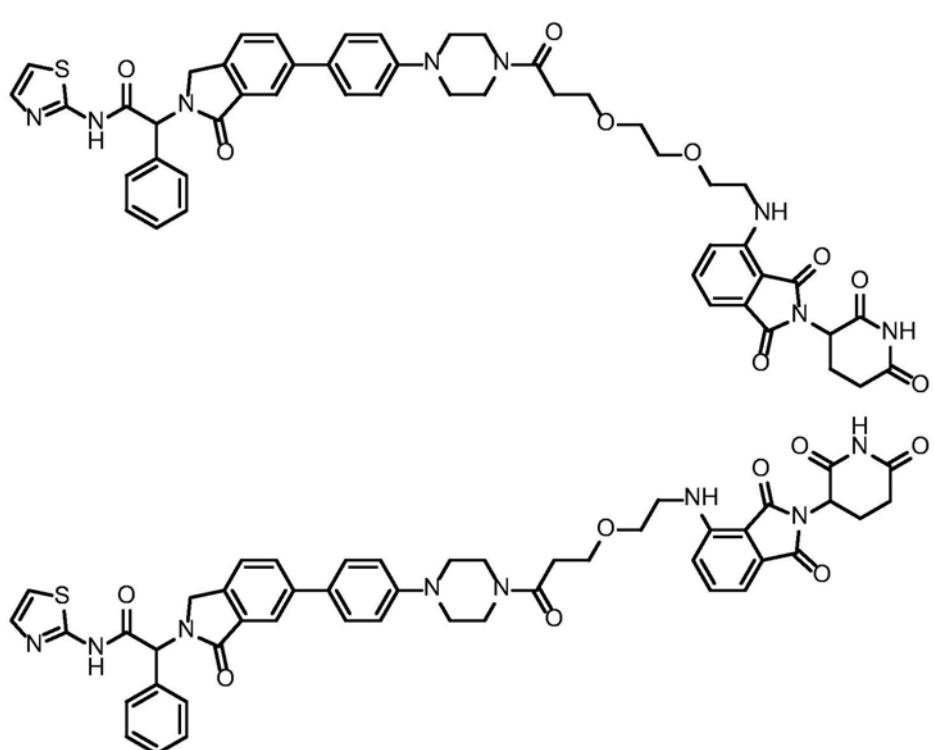
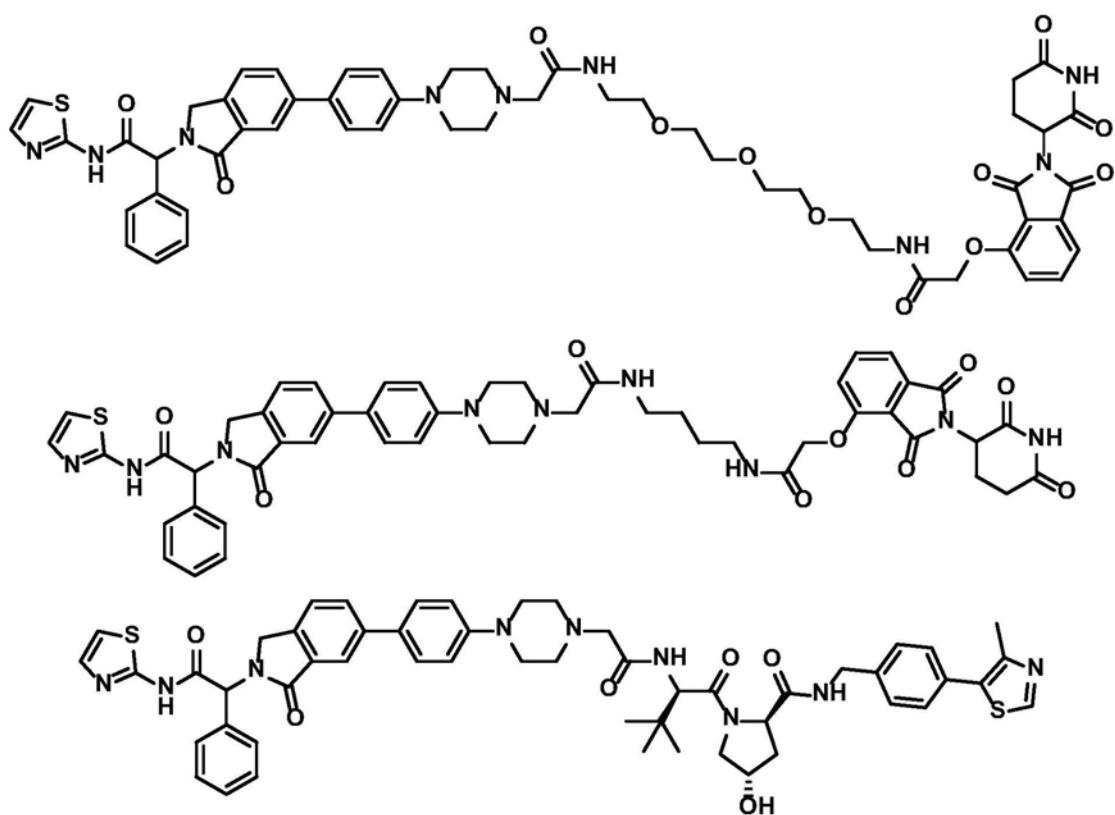
[0084] 本申请还描述了通过使用双功能化合物靶向降解蛋白质，所述双功能化合物包括将E3泛素连接酶结合部分与结合靶蛋白的配体连接的双功能化合物。

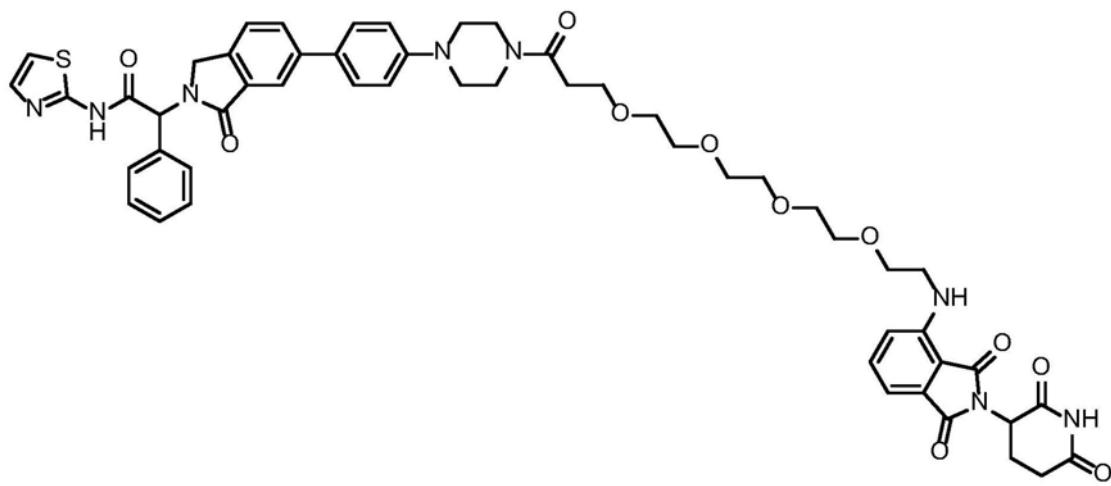
[0085] 本申请还提供了式D的双功能化合物。

[0086] 式D是选自以下的化合物：

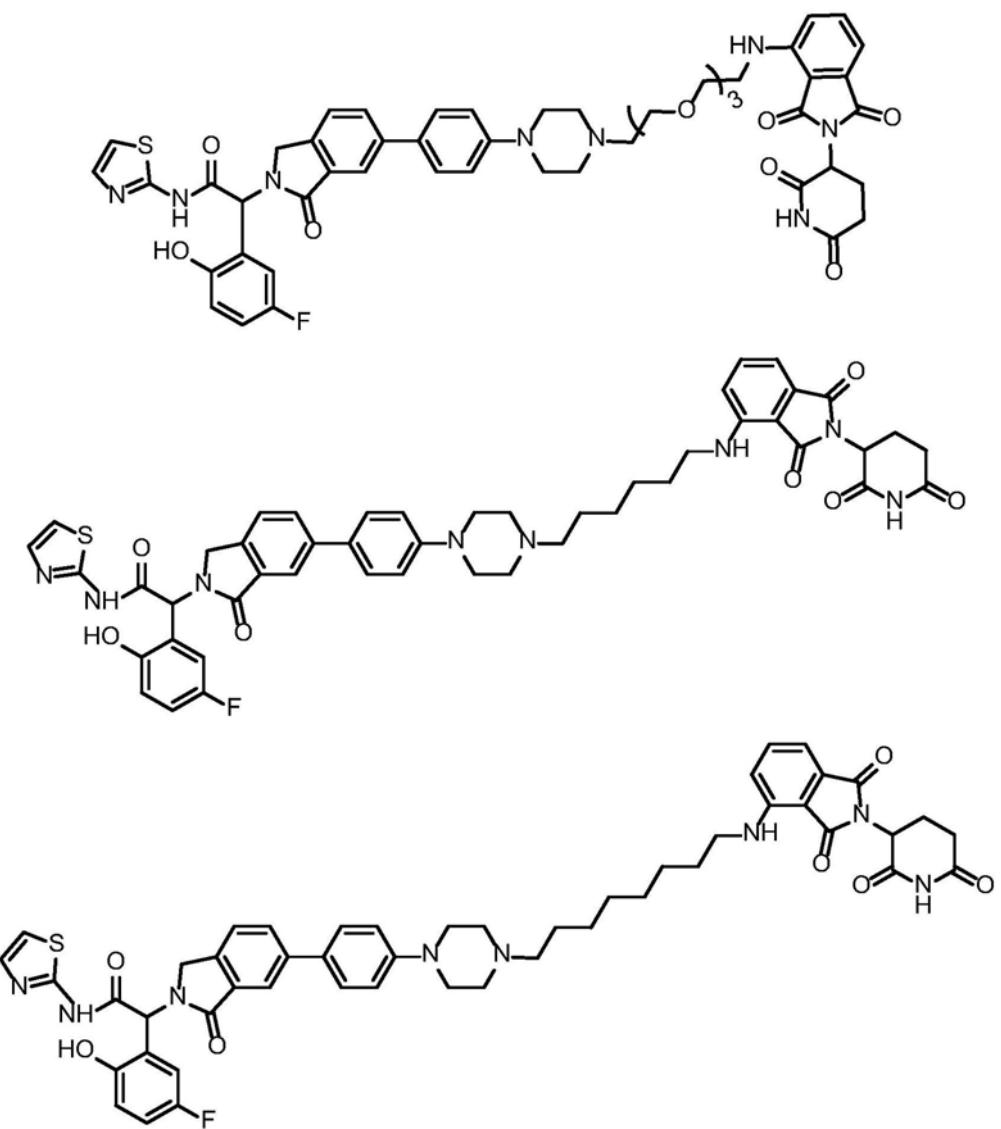
[0087]

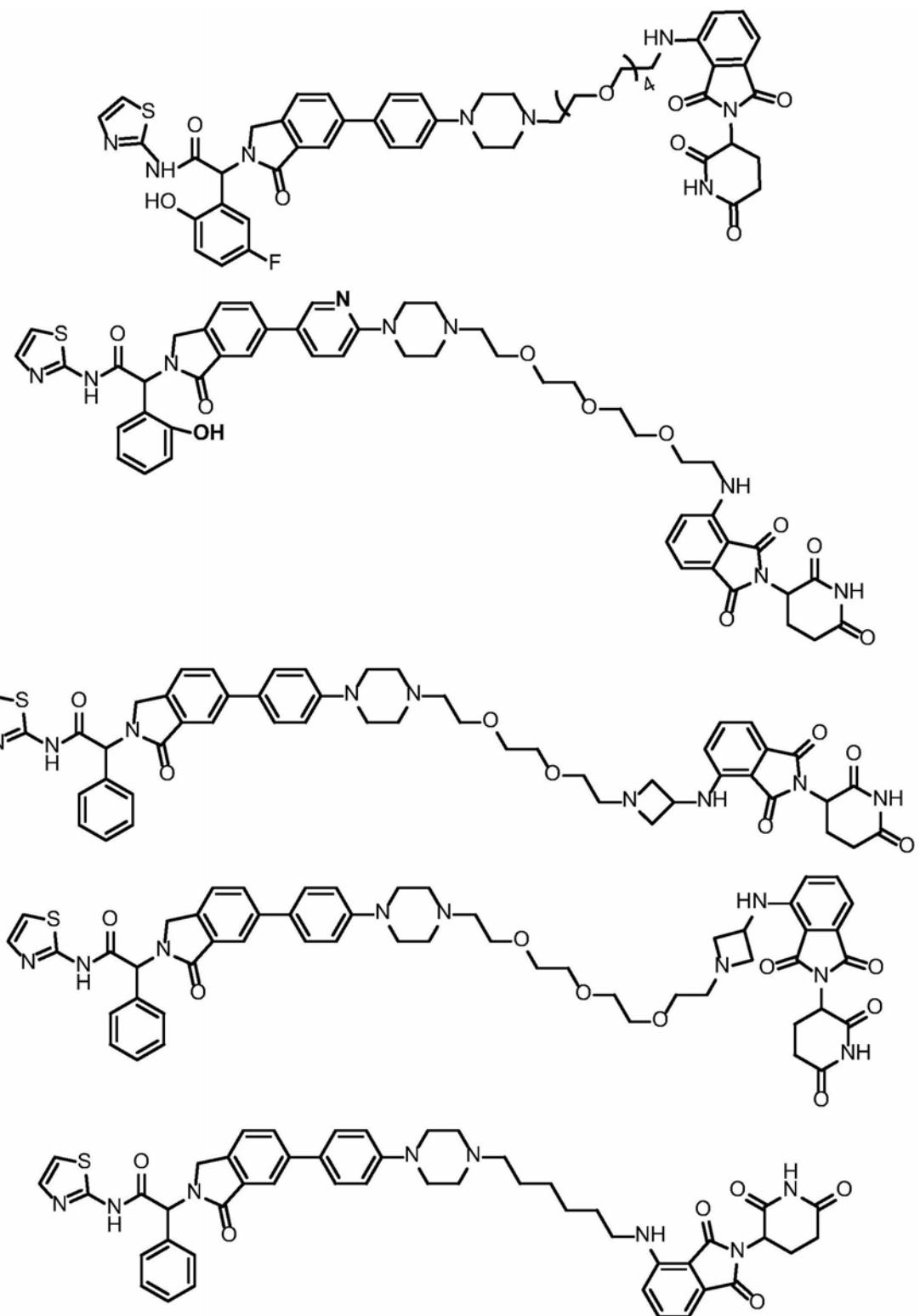


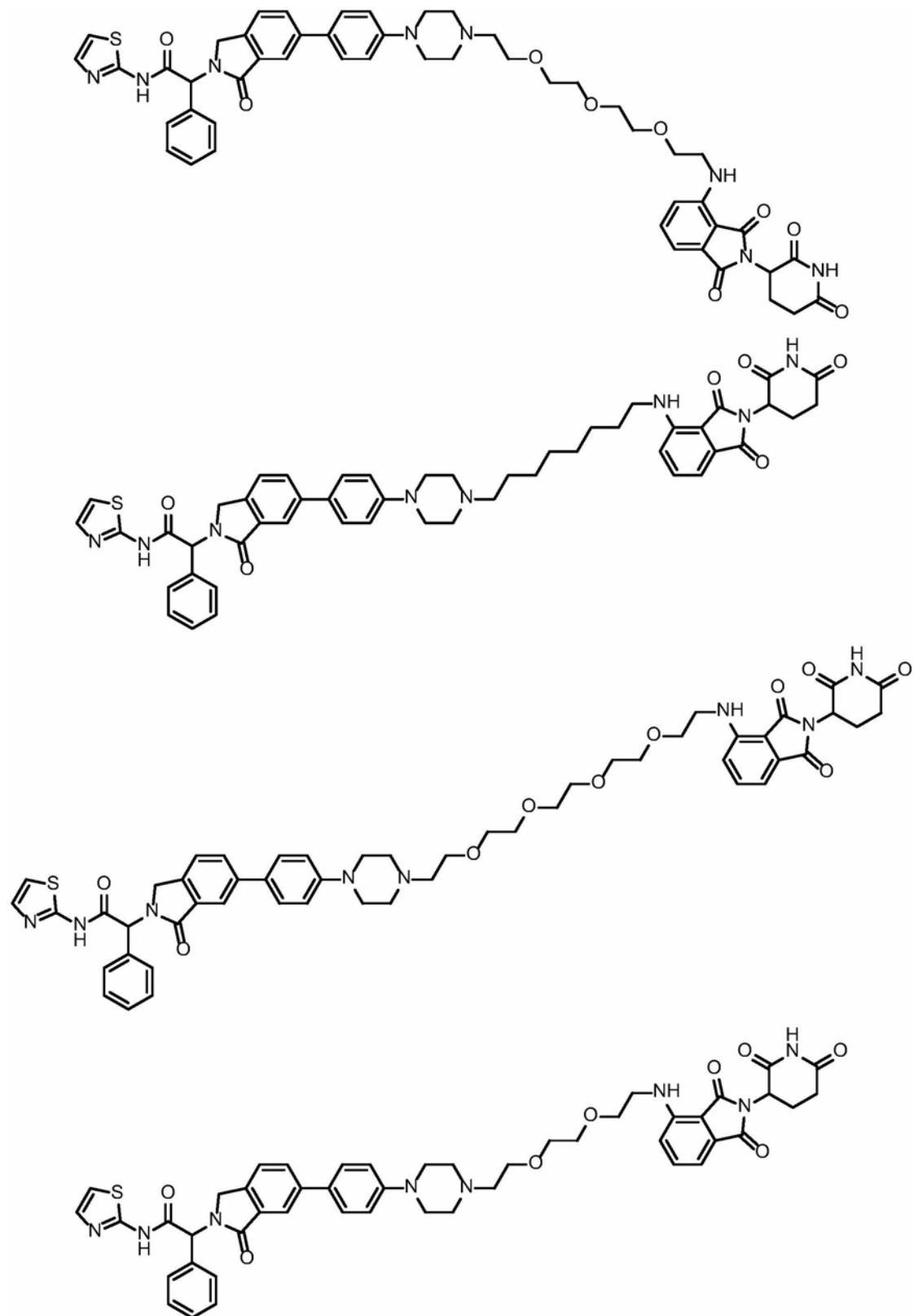


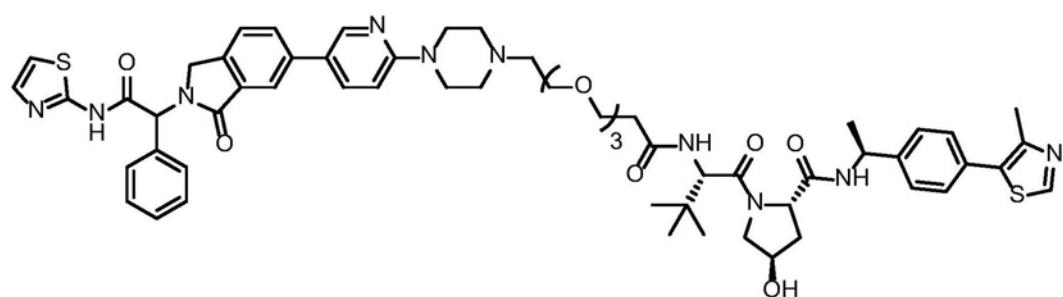
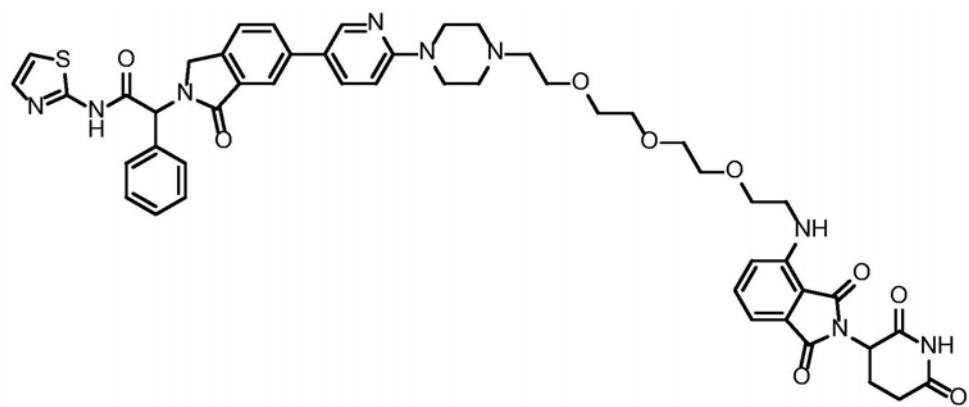


[0089]

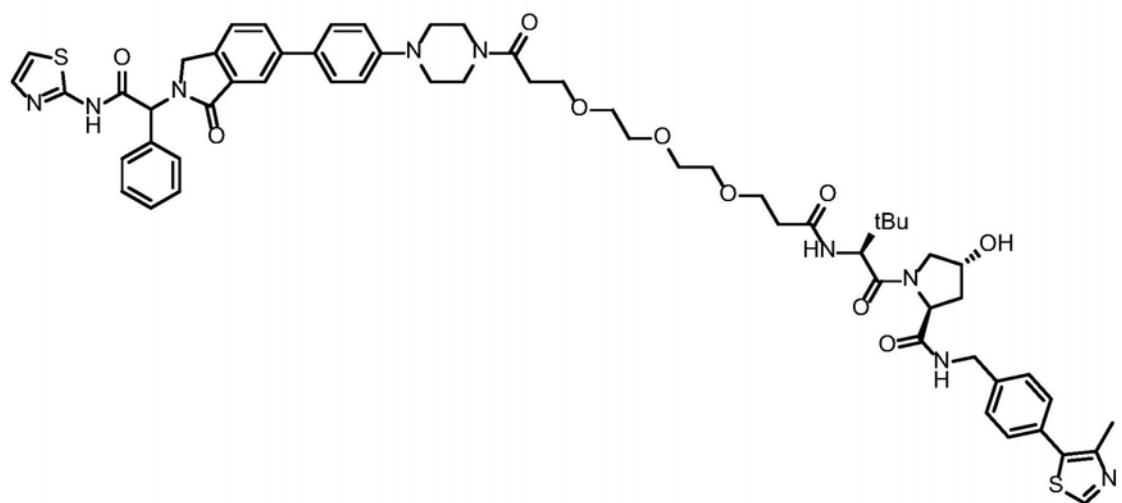
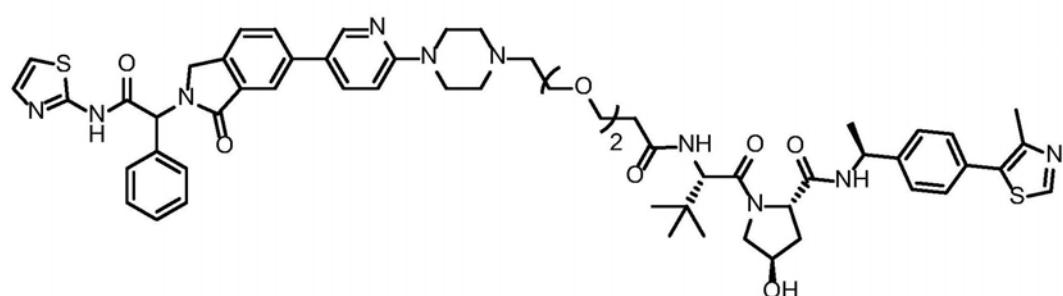


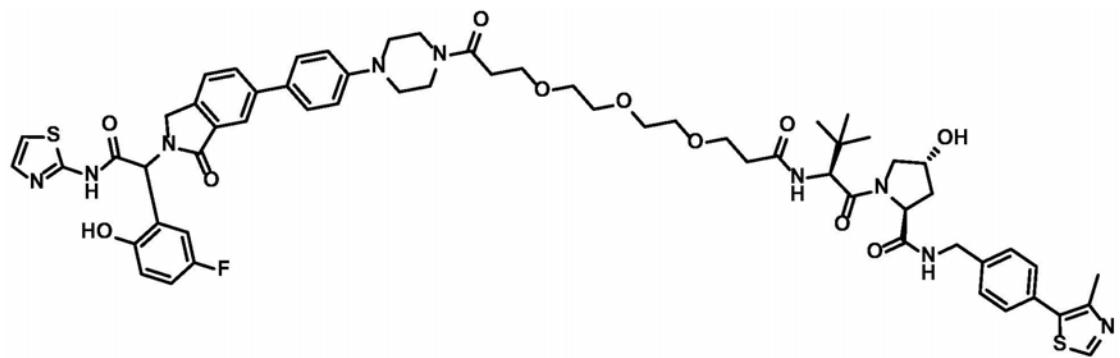




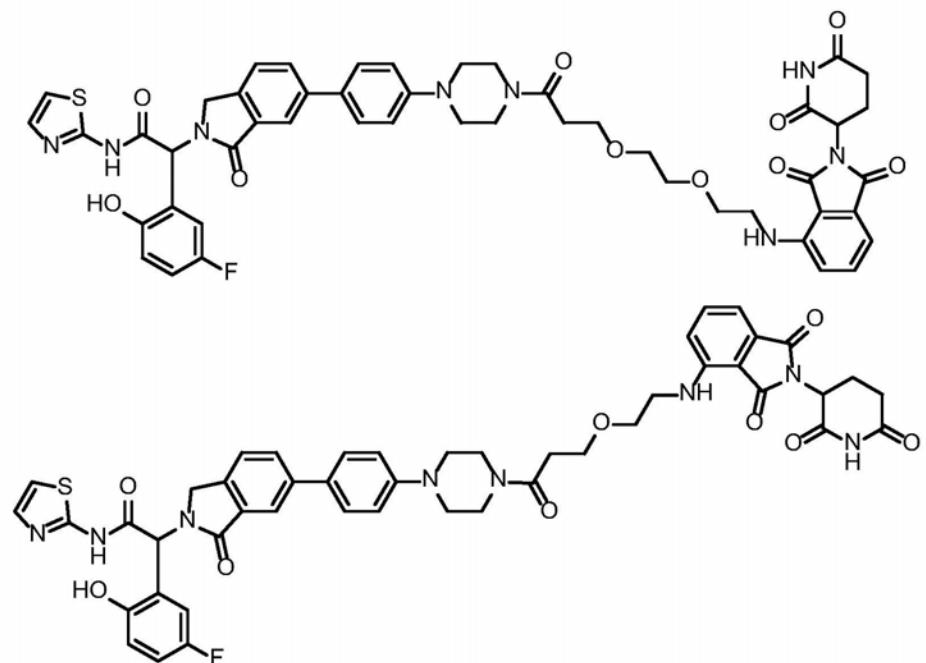


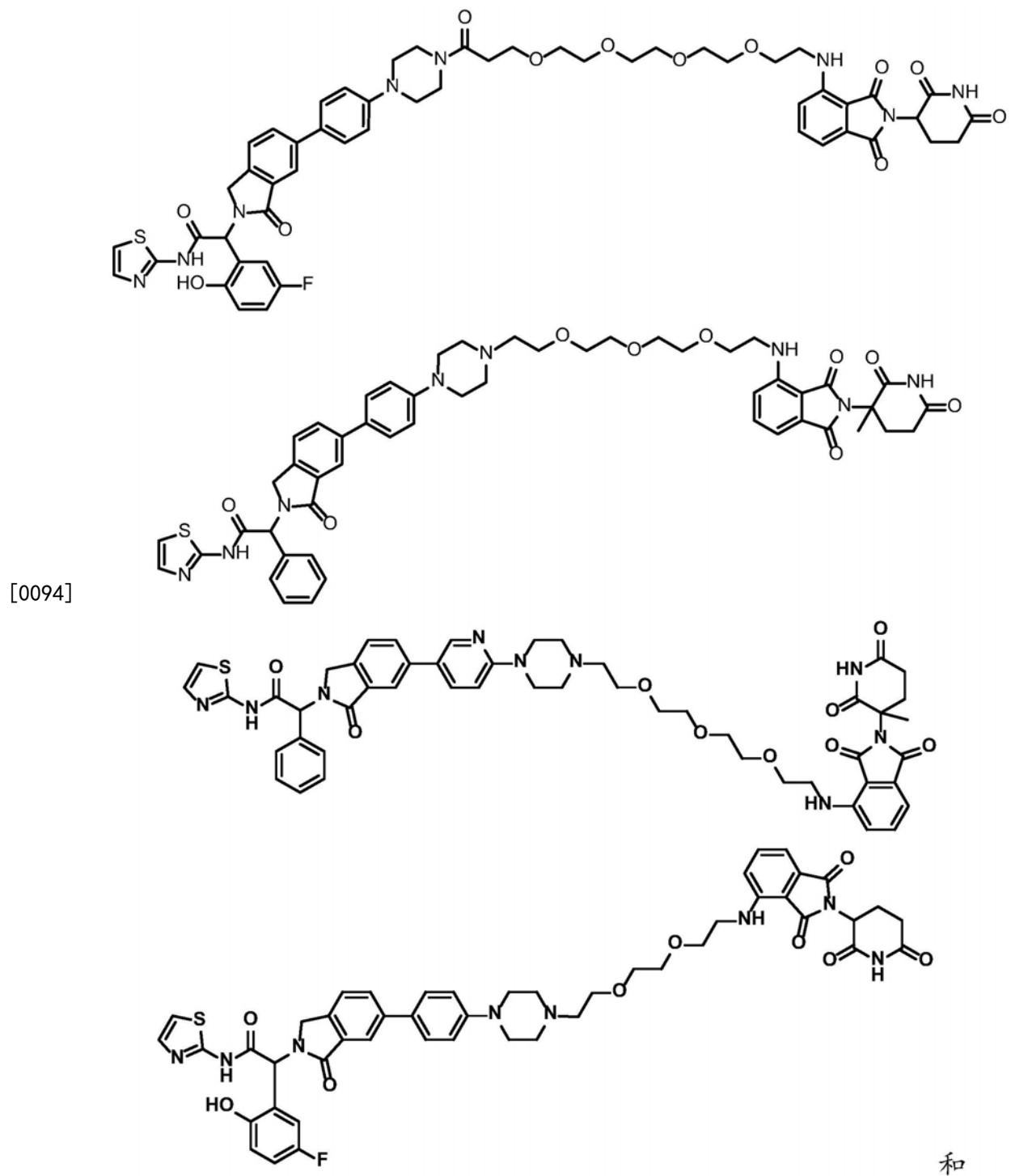
[0092]

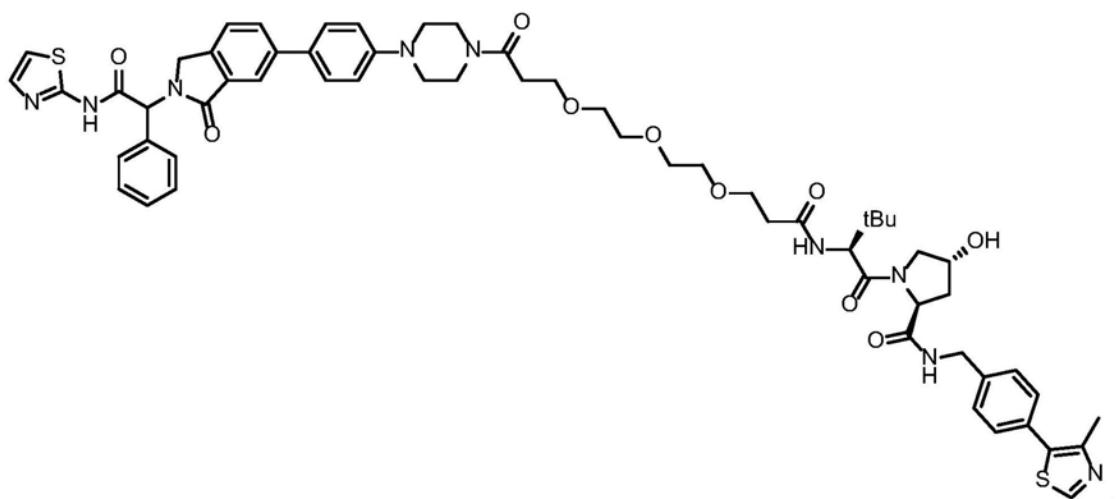




[0093]

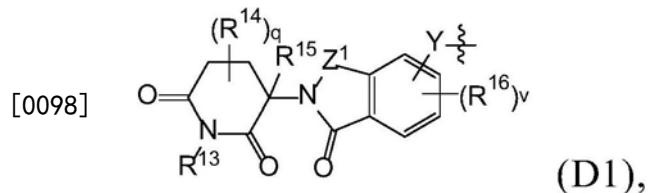






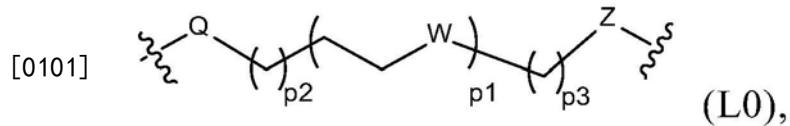
[0096] 或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐,任选地在药学上可接受的载体中。

[0097] 本申请还包括式D1的降解决定子:



[0099] 或其对映异构体,非对映异构体或立体异构体,其中Y、Z<sup>1</sup>、R<sup>13</sup>、R<sup>14</sup>、R15、R16、v和q各自如本文所定义。

[0100] 本申请还包括式L0的接头:



[0102] 或其对映异构体、非对映异构体或立体异构体,其中p1、p2、p3、W、Q和Z各自如本文所定义,所述接头用邻接Q的— $\xi$ —的与降解决定子共价结合,用邻接Z的— $\xi$ —与靶向配体共价结合。

[0103] 本申请还描述了药物组合物,其包含治疗有效量的式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。

[0104] 本申请提供调节或减少激酶的量的方法,其包括向有需要的个体施用治疗有效量的式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物。

[0105] 本申请提供调节或减少表皮生长因子受体(EGFR)和/或其突变体的量的方法,其包括向有需要的个体施用治疗有效量的式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物。

[0106] 本申请提供治疗或预防EGFR或其突变体在其中发挥作用的疾病或对EGFR靶向治

疗(例如用吉非替尼、埃罗替尼、AZD9291、CO-1686或WZ4002治疗)具有抗性的疾病的方法,其包括向有需要的个体施用治疗有效量的式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物。

[0107] 本申请提供治疗或预防癌症的方法,其包括向有需要的个体施用治疗有效量的式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物。

[0108] 本申请提供治疗或预防有需要的个体中癌症的方法,其中所述癌细胞包含激活的EGFR或其突变体,或者其中所述个体被鉴定为需要抑制EGFR或其突变体用于治疗或预防癌症,包括给予个体治疗有效量的式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物。

[0109] 本申请提供治疗或预防有需要的个体的癌症的方法,其中所述癌细胞包含激活的ERBB2或其中所述个体被鉴定为需要抑制ERBB2以治疗或预防癌症,包括给予有需要的个体治疗有效量的式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物。

[0110] 本申请提供包含能够调节或减少EGFR或其突变体的量的化合物的试剂盒,所述化合物选自式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体。

[0111] 本申请提供式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物,用于调节或减少激酶的量。

[0112] 本申请提供式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物,用于调节或减少EGFR和/或其突变体的量。

[0113] 本申请提供式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物,用于治疗或预防EGFR或其突变体在其中起作用的疾病或对EGFR靶向治疗(例如用吉非替尼、埃罗替尼、AZD9291、CO-1686或WZ4002治疗)具有抗性的疾病。

[0114] 本申请提供式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物,用于治疗或预防癌症的用途。

[0115] 本申请涉及式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物,用于治疗或预防个体癌症,其中所述个体被鉴定为需要抑制EGFR或其突变体用于治疗或预防癌症,或其中所述癌细胞包含激活的EGFR或其突变体。

[0116] 本申请提供式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物,用于治疗或预防个体癌症,其中所述个体被鉴定为需要抑制ERBB2以治疗或预防癌症,或者其中所述癌细胞包含激活的ERBB2。

[0117] 本申请提供式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物,用于制备调节或减少激酶的量的药物。

[0118] 本申请提供式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物,用于制备调节或减少EGFR和/或其突变体的量的药物。

[0119] 本申请提供式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物,用于制备治疗或预防EGFR或其突变体在其中起作用的疾病或者对EGFR靶向治疗(例如用吉非替尼、埃罗替尼、AZD9291、CO-1686或WZ4002治疗)具有抗性的疾病的药物。

[0120] 本申请提供式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物,用于制备治疗或预防癌症的药物。

[0121] 本申请提供式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物,用于制备治疗或预防个体癌症的药物,其中所述个体被鉴定为需要抑制EGFR或其突变体用于治疗或预防癌症,或者其中癌细胞包含激活的EGFR或其突变体。

[0122] 本申请提供式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物,用于制备治疗或预防个体癌症的药物,其中所述个体被鉴定为需要抑制ERBB2以治疗或预防癌症,或者其中所述癌细胞包含激活的ERBB2。

[0123] 本申请还提供相对于已知EGFR抑制剂具有改善的功效和/或安全性的化合物和组合物。本申请还提供在治疗各种类型的疾病(包括癌症和转移)中对EGFR激酶具有新作用机制的药剂。

[0124] 在下面的随附描述中阐述了本公开的细节。尽管与本文描述的那些类似或等同的方法和材料可用于本申请的实践或测试,但现在描述了说明性方法和材料。根据说明书和权利要求,本公开的其他特征、目的和优点将显而易见。除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语均符合本领域普通技术人员通常已知的含义。在说明书和所附权利要求中,除非上下文另有明确规定,否则单数形式还包括复数形式。除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。本说明书中引用的所有专利和出版物均通过引用整体并入本文。

## 附图说明

[0125] 图1是显示用各种浓度的TL化合物1(1)、TL化合物2(2)、化合物I-1(3)或化合物I-3(4)处理细胞后表达EGFR/L858R突变体的BaF3细胞中EGFR活性的图。x轴是以 $\mu\text{M}$ 测量的浓度,y轴是以对照的百分比测量的EGFR活性。

[0126] 图2是显示用各种浓度的TL化合物1、化合物I-1或化合物I-2处理细胞后表达EGFR/L858R/T790M突变体的BaF3细胞中EGFR活性的图。x轴是以 $\mu\text{M}$ 测量的浓度,y轴是以对照的百分比测量的EGFR活性。

[0127] 图3是显示用不同浓度的化合物I-1处理8小时后,在西妥昔单抗不存在或存在下,表达EGFRL858R/T790M突变体的BaF3细胞中EGFR和微管蛋白的水平(1 $\mu$ g/ml)的蛋白质印迹。

[0128] 图4是显示用不同浓度的EAI045(L858R/T790M EGFR突变体的抑制剂)、TL化合物1、TL化合物2、化合物I-1或化合物I-3处理细胞后表达EGFRL858R突变体的BaF3细胞中EGFR活性的图。x轴是以 $\mu$ M测量的浓度,y轴是以对照的百分比测量的EGFR活性。

[0129] 图5A是在暴露于化合物I-1和化合物I-18的72小时内定量表达EGFRL858R/T790M突变体的BaF3细胞中的磷酸化EGFR(pEGFR)、EGFR和微管蛋白的水平的蛋白质印迹。

[0130] 图5B是用增加浓度的化合物I-1和化合物I-18处理8小时后,定量表达EGFRL858R/T790M突变体的BaF3细胞中磷酸化EGFR(pEGFR)、EGFR和微管蛋白的水平的蛋白质印迹。

[0131] 图6是用增加浓度的中间体2-48A、化合物I-32、化合物I-22和化合物I-18处理24小时后,定量含有EGFRL858R/T790M突变体的患者来源的肺癌细胞系(H1975)中磷酸化EGFR(pEGFR)、EGFR、磷酸化AKt、Akt、磷酸化ERK1、ERK2、磷酸化ERK1、磷酸化ERK2和微管蛋白的水平的蛋白质印迹。将化合物与在1 $\mu$ M浓度下测试的已知的EGFR抑制剂AZD9291进行比较。

[0132] 图7是在存在或不存在1 $\mu$ g/ml西妥昔单抗下用DMSO、沙利度胺(10 $\mu$ M)或TL化合物1(10 $\mu$ M)预处理4小时然后进行24小时的化合物I-1处理后,定量表达EGFRL858R/T790M的BaF3细胞中EGFR蛋白和微管蛋白水平的蛋白质印迹。

[0133] 图8是在存在或不存在化合物I-1的24小时处理下用不同浓度的NEDD8-活化酶(NAE)抑制剂MLN4924预处理4小时后,定量表达EGFRL858R/T790M突变体的BaF3细胞中磷酸化EGFR(pEGFR)、EGFR和微管蛋白水平的蛋白质印迹。

## 具体实施方式

[0134] EGFR靶蛋白

[0135] 表皮生长因子受体(EGFR,Erb-B1)属于蛋白质家族,参与正常细胞和恶性细胞的增殖。表皮生长因子受体(EGFR)的过表达存在于至少70%的人类癌症中。表皮生长因子受体(EGFR)酪氨酸激酶抑制剂(TKI)是EGFR突变型晚期非小细胞肺癌(NSCLC)患者的有效疗法。然而,绝大多数患者在用EGFR TKI成功治疗后会发展疾病进程。获得抗性的一种机制是亮氨酸取代位于受体外显子21内的858位的精氨酸(L858R)。在60%的患者中检测到的最常见的获得抗性的机制是在T790位置的EGFR的二次突变(T790M)。该突变导致ATP亲和力的增加并且使得可逆EGFR TKI(例如,第一代抑制剂吉非替尼和埃罗替尼,第二代抑制剂阿法替尼、奈拉替尼和达克替尼)更难以结合EGFR TKI结构域。

[0136] 所有目前的EGFR TKI靶向ATP位点,尽管第三代不可逆抑制剂可以克服T790M,但它们都被C797S突变导致无效,这已经在治疗患者中出现。第三代抑制剂包括osimertinib(Tagrisso)、rociletinib(CO-1686)、olmutinib(Olita;BI 1482694;HM61713)、naquotinib(ASP8273)、nazartinib(EGF816)和PF-06747775。西妥昔单抗是一种阻断受体二聚化的抗EGFR抗体,在EGFR突变体NSCLC中无效,因为激酶的突变激活实际上在受体二聚化的“下游”。

[0137] 最近,发现已知为EAI045的第四代抑制剂对抗药物EGFR突变体比野生型EGFR更具有选择性。目前正在开发EAI045作为C797S突变的抑制剂(Wang S等人Cancer Lett. 2017,

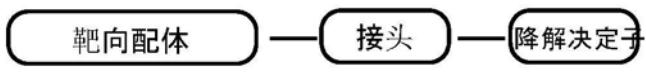
385:51-54)。

[0138] 另外,已经鉴定了EGFR的小分子抑制剂,包括如Dana-Farber Cancer Institute提交的W02017/004383中所述的含噻唑的抑制剂。当在EGFR T790M/L858R Ba/F3细胞系中测试时,许多化合物在诱导突变细胞系的抑制方面是有效的,并且据报道有效化合物具有小于0.5μM的IC<sub>50</sub>值。

[0139] 本申请描述了双功能化合物,其可用作靶向蛋白质的泛素蛋白化和蛋白酶体降解的调节剂,尤其是包含能够结合多肽或蛋白质的部分的化合物,所述多肽或蛋白质被本发明的双功能化合物降解和/或不然就抑制。特别地,本申请涉及含有能够结合E3泛素连接酶(例如脑电素)的小分子部分以及能够结合靶蛋白的配体(以这种方式使得靶蛋白被放置于接近泛素连接酶以实现该蛋白质的降解(和/或抑制))的化合物。在一个实施方案中,小分子部分的分子量低于2,000、1,000、500或200道尔顿。在一个实施方案中,小分子部分是沙利度胺样部分。在一个实施方案中,E3泛素连接酶是脑电素。

[0140] 本申请的化合物

[0141] 本申请提供了新的双功能化合物以及其制备方法和用途,该双功能化合物的功能是将靶蛋白募集到E3泛素连接酶中用于降解。双功能化合物具有式X:

[0142]  (X),

[0143] 其中:靶向配体能够结合靶蛋白,如EGFR和/或突变的EGFR;

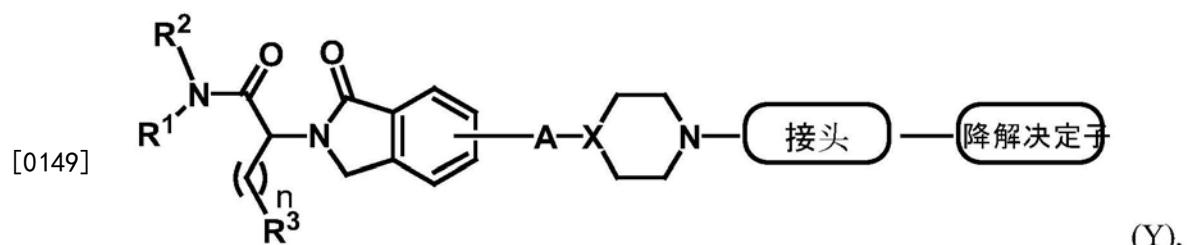
[0144] 接头是与靶向配体和降解决定子共价结合的基团;并且

[0145] 降解决定子能够结合泛素连接酶,例如E3泛素连接酶。

[0146] 在一个实施方案中,E3泛素连接酶是脑电素。

[0147] 本申请还通过使用双功能化合物提供蛋白质的靶向降解,所述双功能化合物包括将E3泛素连接酶结合部分连接至结合靶蛋白的配体的双功能化合物。

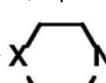
[0148] 本申请还描述了式Y的双功能化合物:



[0150] 或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐,任选地在药学上可接受的载体中,

[0151] 其中:

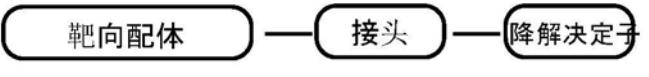
[0152] R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、A、X和n各自如本文所述;

[0153] 接头是与和降解决定子共价结合的基团;

[0154] 降解决定子能够与泛素连接酶结合;且

[0155] 靶向配体能够结合EGFR或突变的EGFR。

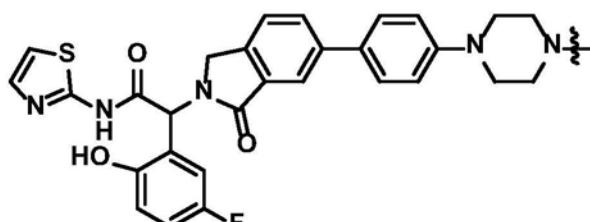
- [0156] 在一个实施方案中,E3泛素连接酶是脑电素。  
 [0157] 在一个实施方案中,靶向配体能够结合EGFR。  
 [0158] 在一个实施方案中,靶向配体能够结合突变的EGFR。  
 [0159] 在进一步的实施方案中,靶向配体能够结合T790M/L858R EGFR突变体。  
 [0160] 在进一步的实施方案中,靶向配体能够结合T790M/L858R/C797S EGFR突变体。  
 [0161] 在一个实施方案中,双功能化合物具有式Z:

[0162] 

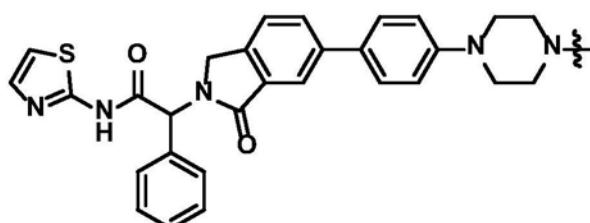
[0163] 或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐,任选地在药学上可接受的载体中,

[0164] 其中:

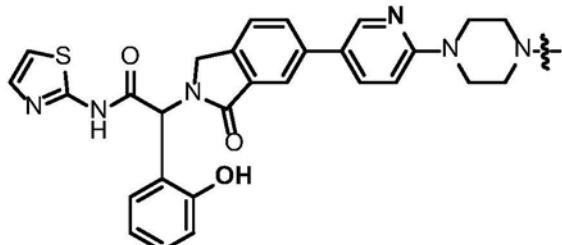
[0165] 靶向配体选自



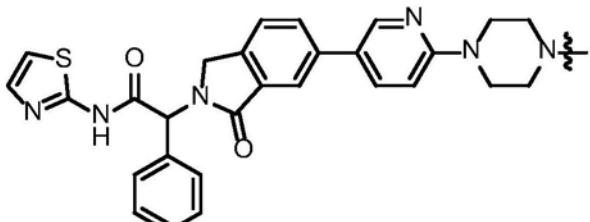
,



,



和



;

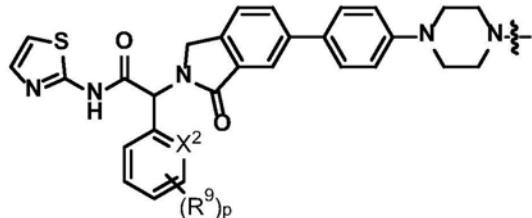
- [0168] 接头是与靶向配体和降解决定子共价结合的基团;并且  
 [0169] 降解决定子能够与泛素连接酶结合。  
 [0170] 在一个实施方案中,E3泛素连接酶是脑电素。  
 [0171] 在一个实施方案中,双功能化合物具有式A:

[0172] 靶向配体 —— 接头 —— 降解决定子 (A),

[0173] 或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐,任选地在药学上可接受的载体中,

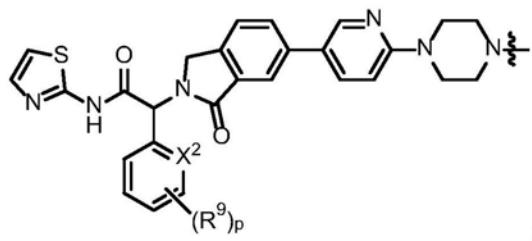
[0174] 其中:

[0175] 靶向配体选自



和

[0176]



;

[0177] 接头是与靶向配体和降解决定子共价结合的基团;并且

[0178] 降解决定子能够与泛素连接酶结合。

[0179] 在一个实施方案中,E3泛素连接酶是脑电素。

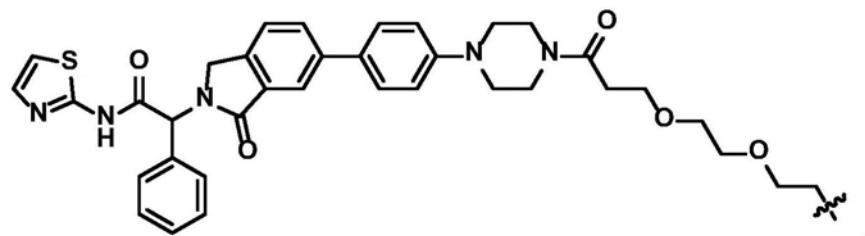
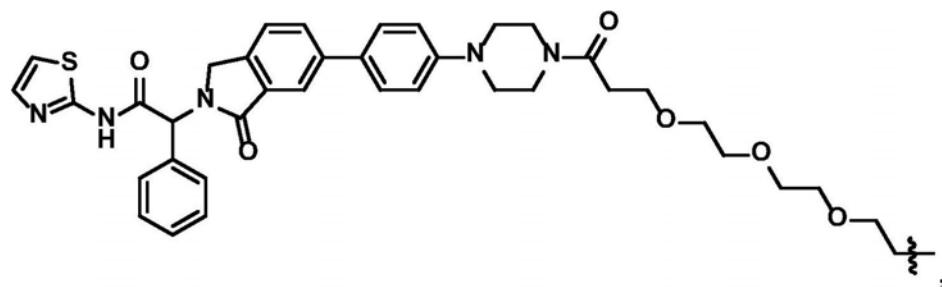
[0180] 在一个实施方案中,双功能化合物具有式B:

[0181] 靶向配体 —— 接头 —— 降解决定子 (B),

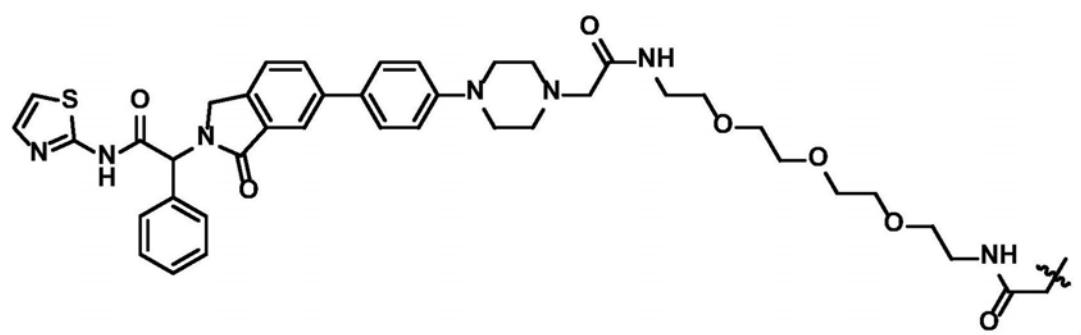
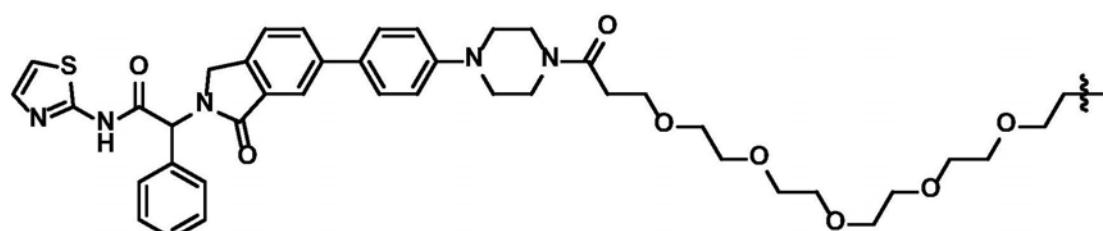
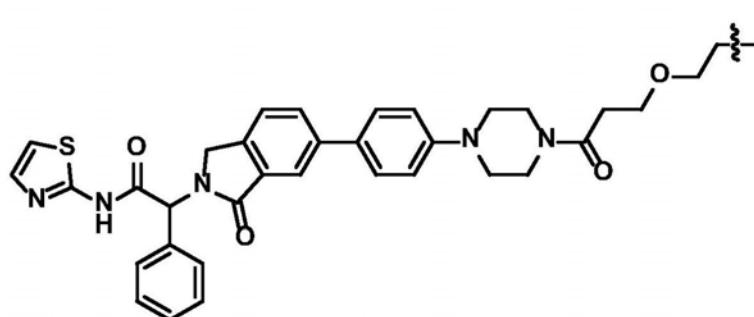
[0182] 或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐,任选地在药学上可接受的载体中,

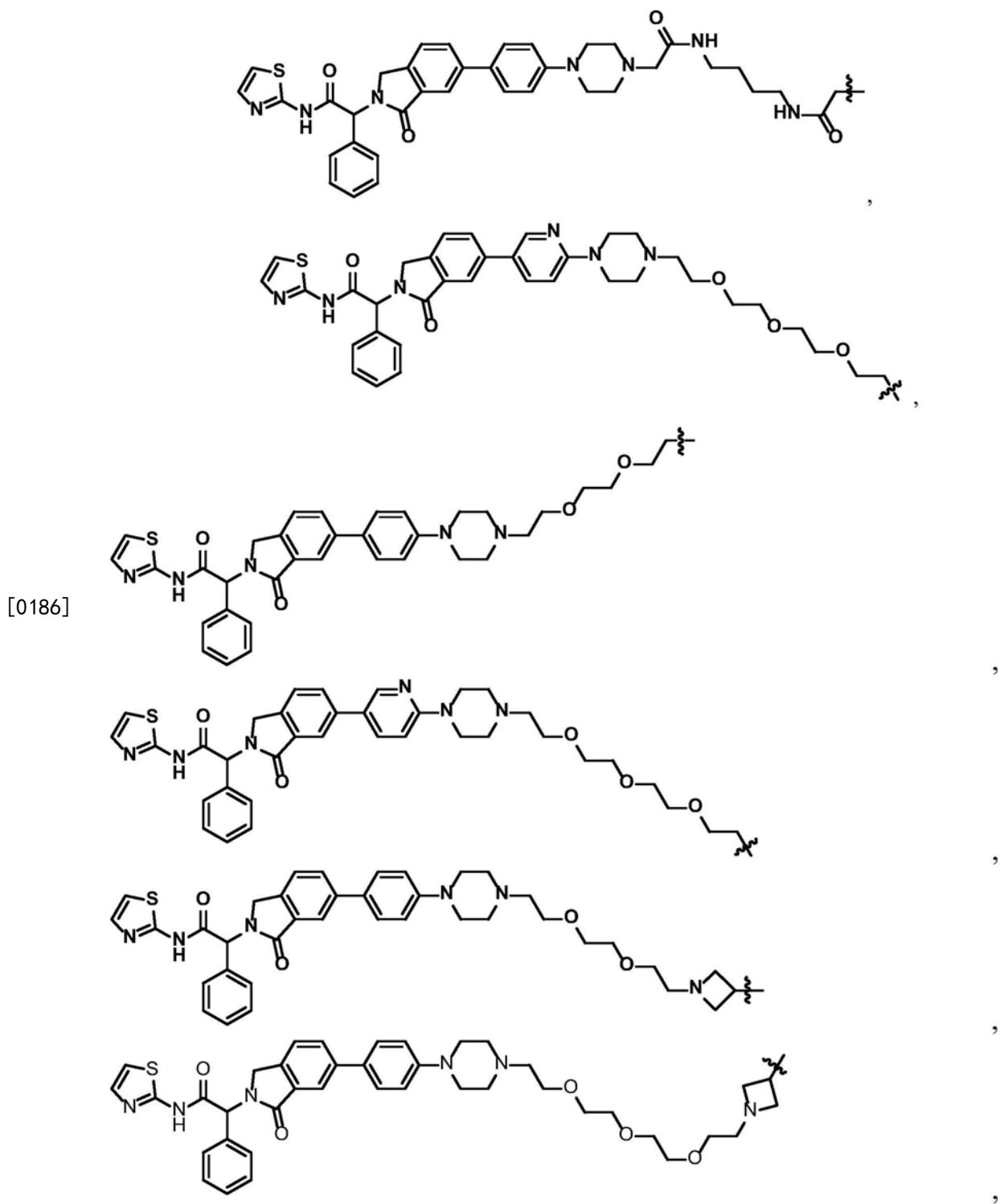
[0183] 其中:

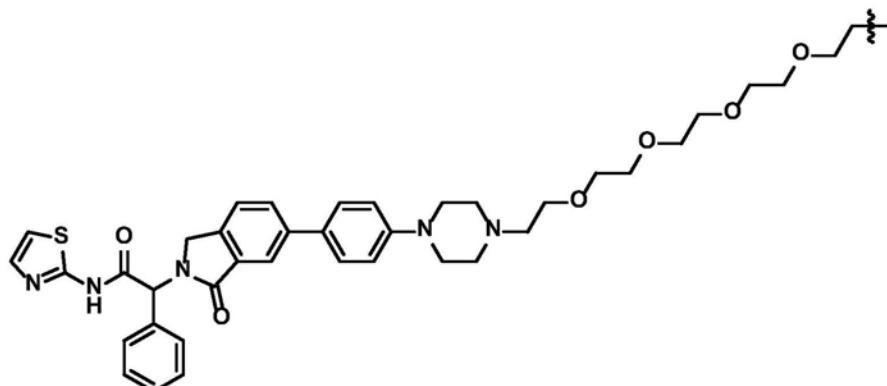
[0184] 靶向配体-接头选自



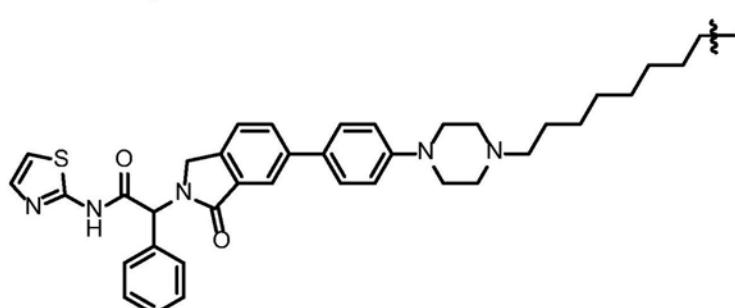
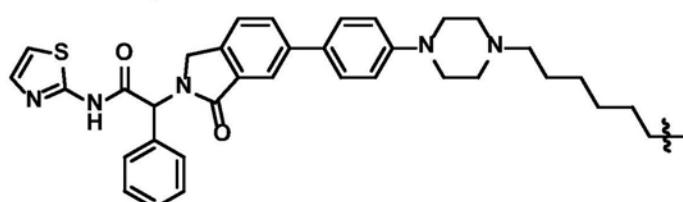
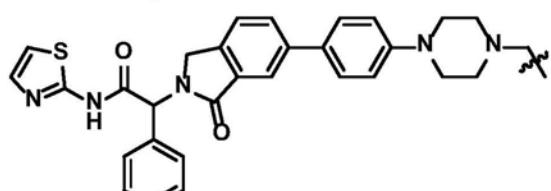
[0185]







[0187]



[0188] 降解决定子能够与泛素连接酶结合。

[0189] 在一个实施方案中, E3泛素连接酶是脑电素。

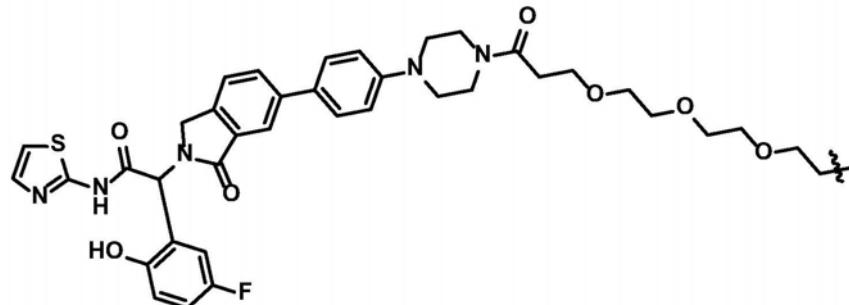
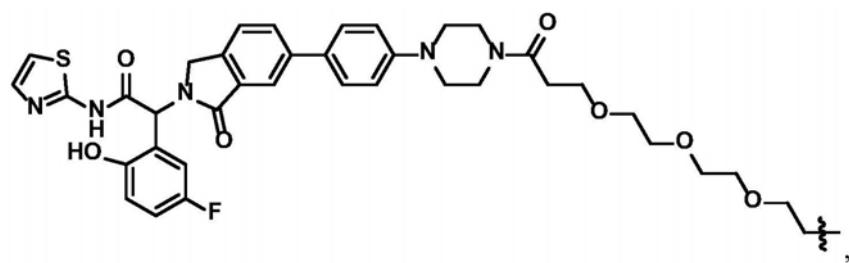
[0190] 在一个实施方案中, 双功能化合物具有式C:

[0191] 靶向配体 —— 接头 —— 降解决定子 (C),

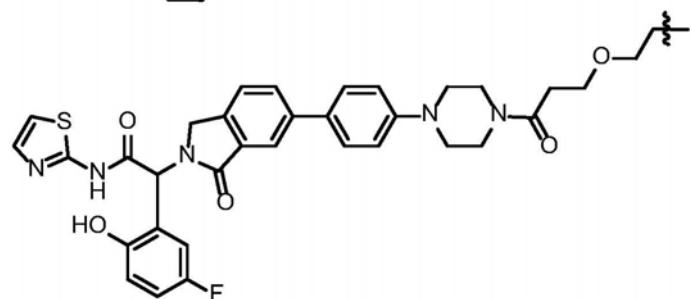
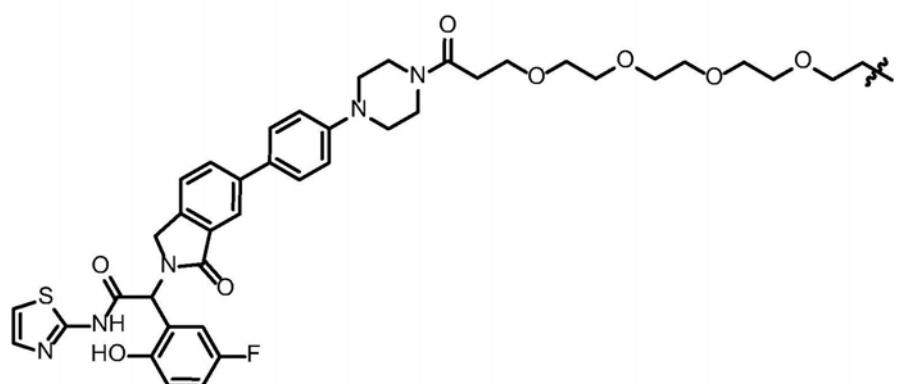
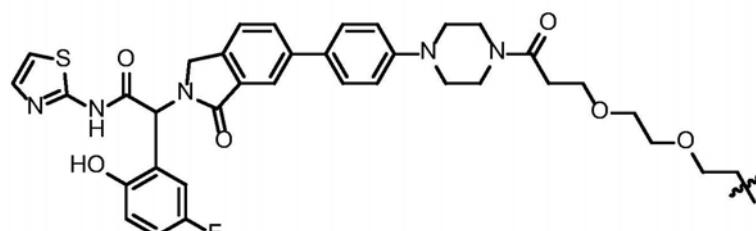
[0192] 或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐, 任选地在药学上可接受的载体中,

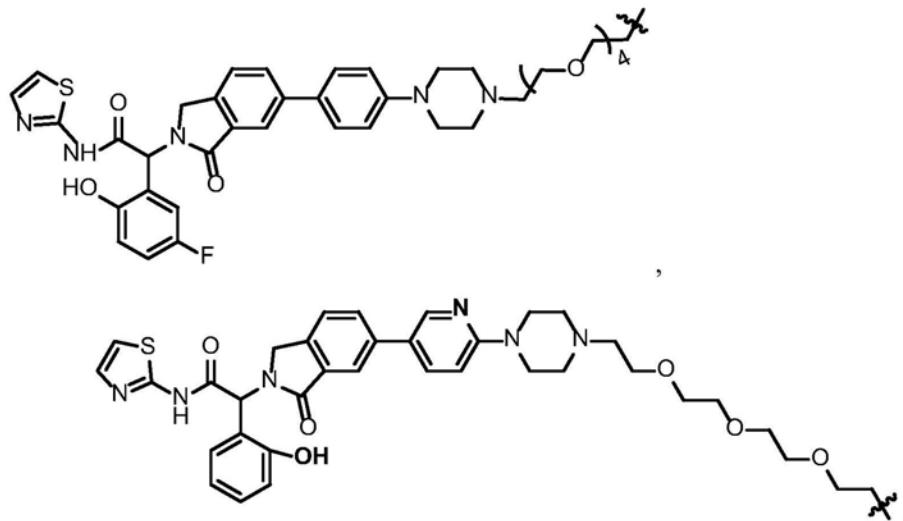
[0193] 其中:

[0194] 靶向配体-接头选自

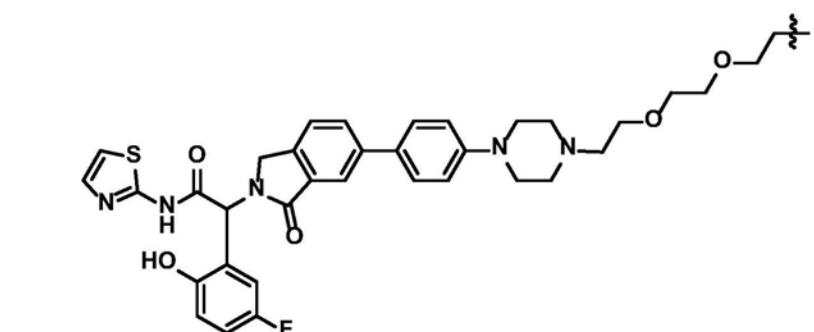


[0195]

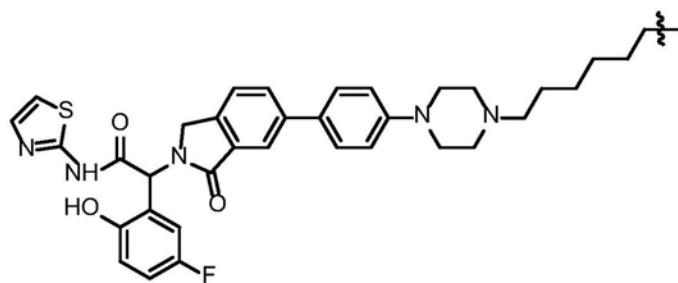




[0196]

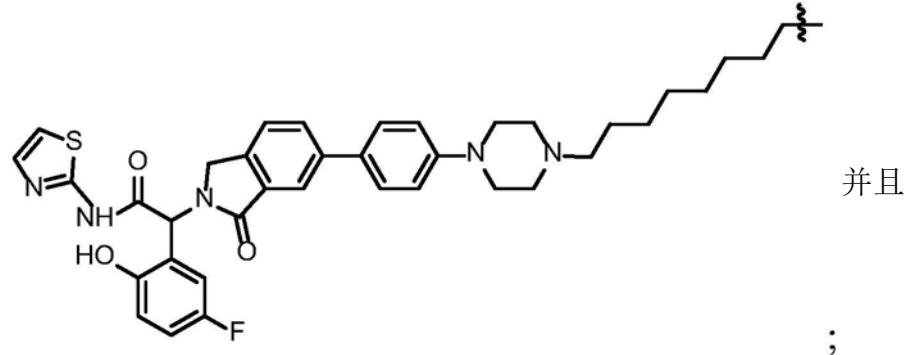


3



2

和



•

[0197] 降解决定子能够与泛素连接酶结合。

[0198] 在一个实施方案中,E3泛素连接酶是脑电素。

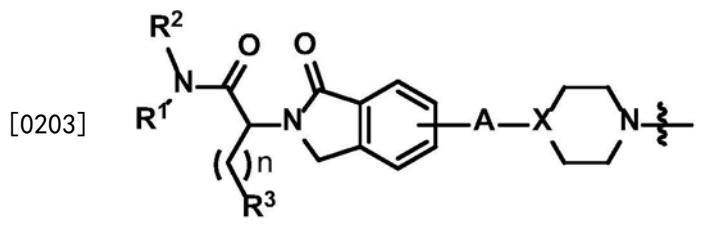
[0199] 本申请还描述了通过使用双功能化合物靶向降解蛋白质，所述双功能化合物包括将E3泛素连接酶结合部分与结合靶蛋白的配体连接的双功能化合物。

## [0200] 靶向配体

[0201] 鞣向配体(TL)(或鞣蛋白部分或鞣蛋白配体或配体)是能够结合感兴趣的鞣蛋白

例如EGFR或其突变体的小分子。

[0202] 在一个实施方案中,靶向配体是式TL-I的化合物:



[0204] 或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的盐,

[0205] 其中:

[0206] A是苯基或吡啶基;

[0207] X是CH、C(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基或N;

[0208] R<sup>1</sup>是H或(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基;

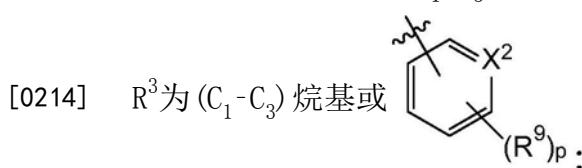
[0209] R<sup>2</sup>是(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)芳基或包含一个或两个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其中芳基和杂芳基各自任选地被一个或多个R<sup>4</sup>取代;

[0210] 每个R<sup>4</sup>独立地选自(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基、卤素、NO<sub>2</sub>、OH、CN、C(O)R<sup>6</sup>、C(O)OR<sup>6</sup>、C(O)NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>、NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>、(C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)环烷基、包含5-至7-元环和1-3个选自N、O和S的杂原子的杂环基、(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)芳基和包含一个或两个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其中烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自任选地被一个或多个R<sup>5</sup>取代;

[0211] 每个R<sup>5</sup>独立地选自(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基、卤素、NO<sub>2</sub>、OH和CN;

[0212] 每个R<sup>6</sup>独立地为H或(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基;

[0213] 每个R<sup>7</sup>独立地为H或(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基;



[0215] X<sup>2</sup>为N或CR<sup>8</sup>;

[0216] R<sup>8</sup>为H、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基、卤素、NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、OH或CN;

[0217] 每个R<sup>9</sup>独立地选自(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基、卤素、NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、OH和CN;

[0218] n为0或1;且

[0219] p为0、1、2或3;

[0220] 其中靶向配体通过邻近X的—N—与接头结合。

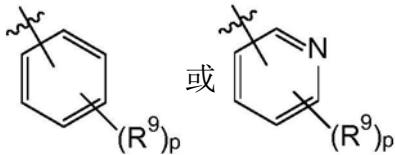
[0221] 在一些实施方案中,X是N。在一些实施方案中,X是CH。在一些实施方案中,X是C(CH<sub>3</sub>)、C(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)或C(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)。

[0222] 在一些实施方案中,A是苯基。在一些实施方案中,A是吡啶基。

[0223] 在一些实施方案中,n为0。在一些实施方案中,n为1。

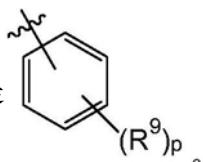
[0224] 在一些实施方案中,R<sup>3</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。在一些实施方案中,R<sup>3</sup>选自甲基、乙基、丙基或异丙基。在一个实施方案中,R<sub>3</sub>是甲基。

[0225] 在一些实施方案中,R<sup>3</sup>是



(如2-吡啶、3-吡啶基或4-吡

啶基)。在一些实施方案中,R<sup>3</sup>是



[0226] 在一些实施方案中,X<sup>2</sup>是N。在一些实施方案中,X<sup>2</sup>是CR<sup>8</sup>。

[0227] 在一些实施方案中,R<sup>8</sup>是H。在一些实施方案中,R<sup>8</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基(例如甲基、乙基、丙基、异丙基或丁基)、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基(例如CH<sub>2</sub>F、CHF<sub>2</sub>或CF<sub>3</sub>)、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基(例如甲氧基、乙氧基、丙氧基或丁氧基)、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基(例如OCH<sub>2</sub>F、OCHF<sub>2</sub>或OCF<sub>3</sub>)、卤素(例如F、Cl、Br或I)、NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、OH或CN。在一些实施方案中,R<sup>8</sup>是H、NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、OH或F。在一些实施方案中,R<sup>8</sup>是OH或F。

[0228] 在一些实施方案中,p为0。在一些实施方案中,p为1。在一些实施方案中,p为2。在一些实施方案中,p为3。在一些实施方案中,p为0、1或2。在一些实施方案中,p为0或1。在一些实施方案中,p为1或1。在一些实施方案中,p为1、2或3。

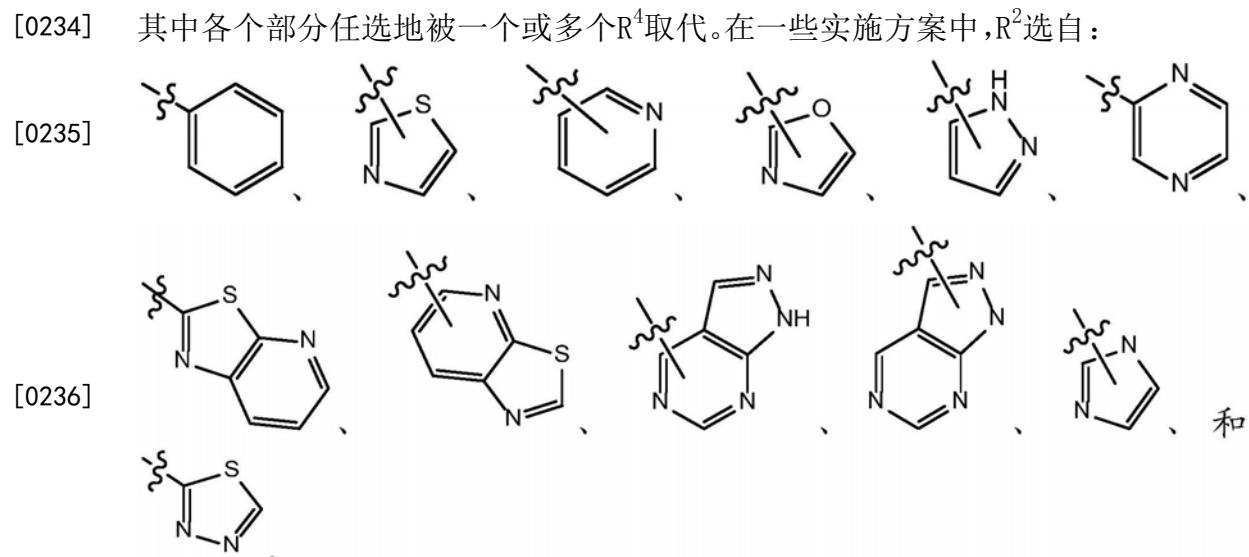
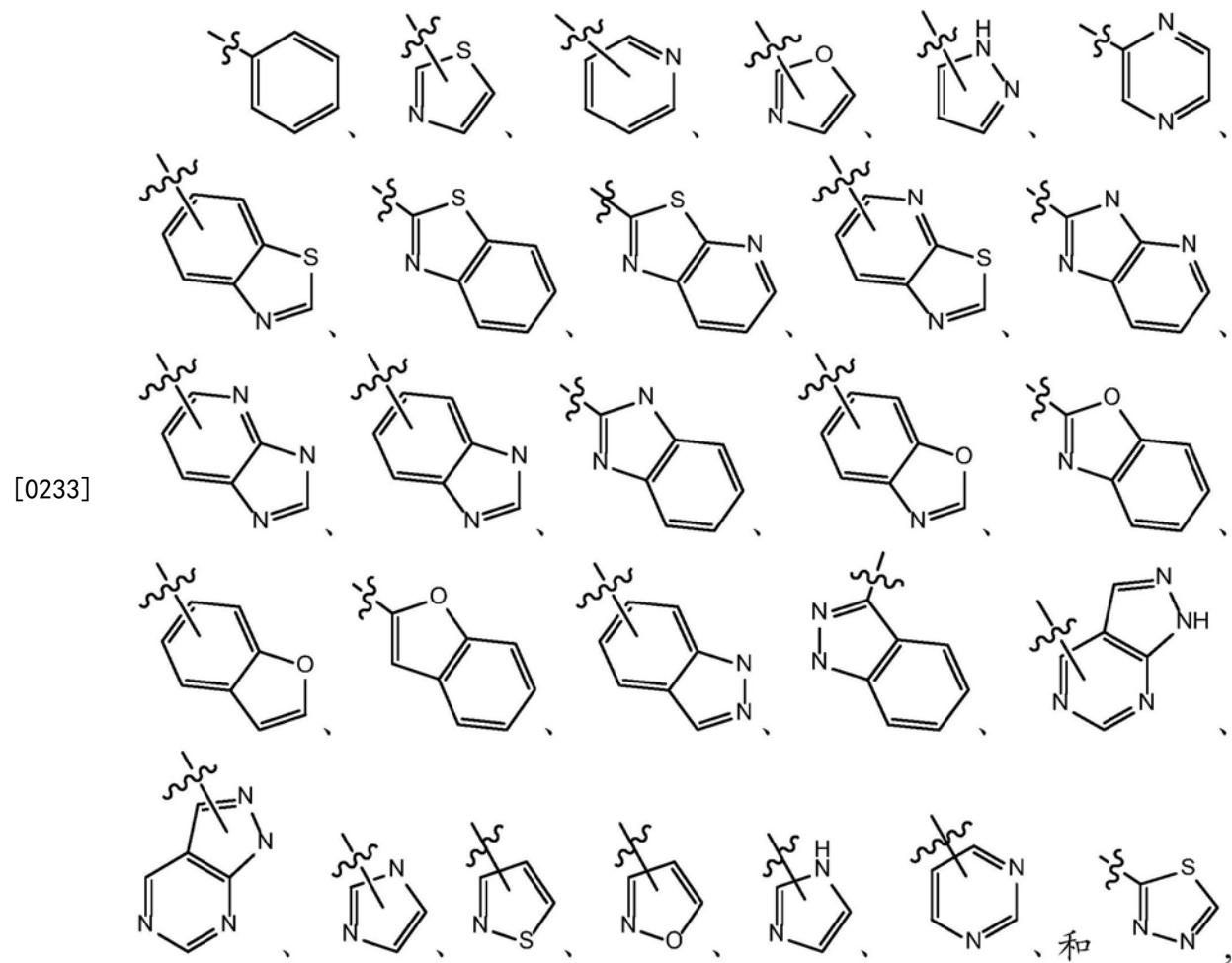
[0229] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>9</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基(例如甲基、乙基、丙基、异丙基或丁基)、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基(例如CH<sub>2</sub>F、CHF<sub>2</sub>或CF<sub>3</sub>)、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基(例如甲氧基、乙氧基、丙氧基或丁氧基)、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基(例如OCH<sub>2</sub>F、OCHF<sub>2</sub>或OCF<sub>3</sub>)、卤素(例如F、Cl、Br或I)、NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、OH或CN。在一些实施方案中,至少一个R<sup>9</sup>是NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、OH或F。在一些实施方案中,至少一个R<sup>9</sup>是OH或F。

[0230] 在一些实施方案中,R<sup>1</sup>是H。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基(例如甲基、乙基、丙基或异丙基)。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>是H、甲基或乙基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>是H或甲基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>是H。

[0231] 在一些实施方案中,R<sup>2</sup>是任选地被一个或多个R<sup>4</sup>取代的(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)芳基。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>是任选地被一个或多个R<sup>4</sup>取代的苯基。

[0232] 在一些实施方案中,R<sup>2</sup>是包含一个或两个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基(例如,吡咯基、吡唑基、咪唑基、三唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、二噁唑基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、二噻唑基、噻吩基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、三嗪基、苯并噻唑基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、喹啉基、噻唑并吡啶基、吡唑并嘧啶基等),其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>是包含5-元环和1-3个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其任选地被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>是包含5-元环和1-2个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其任选地被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>是包含6元环和1-3个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其任选地被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>是包含6元环和1-2个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其任选地被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>是包含与6元环稠合的5元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其任选

地被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>选自:



[0237] 其中各个部分任选地被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>是任选地被一个

或多个R<sup>4</sup>取代的  
或多个R<sup>4</sup>取代的

[0238] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基、卤素、NO<sub>2</sub>、OH或CN。

[0239] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是任选被一个或多个R<sup>5</sup>取代的(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基(例如甲基、乙基、丙基、异丙基或丁基)。在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是任选地被一个或多个R<sup>5</sup>取代的甲基。在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基(例如,CH<sub>2</sub>F、CHF<sub>2</sub>或CF<sub>3</sub>)。在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是CF<sub>3</sub>。

[0240] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基(例如甲氧基、乙氧基、丙氧基或丁氧基)。在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基(例如,OCH<sub>2</sub>F、OCHF<sub>2</sub>或OCF<sub>3</sub>)。

[0241] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是卤素(例如F、Cl、Br或I)。

[0242] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是NO<sub>2</sub>、OH或CN。

[0243] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是C(O)R<sup>6</sup>或C(O)OR<sup>6</sup>。

[0244] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是C(O)NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>或NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>。

[0245] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是任选地被一个或多个R<sup>5</sup>取代的(C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)环烷基(例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基或环庚基)。

[0246] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是包含5-至7-元环和1-3个选自N、O和S的杂原子的任选被一个或多个R<sup>5</sup>取代的杂环基(例如,吡咯烷基、吡唑烷基、咪唑烷基、三唑烷基、噁唑烷基、异噁唑烷基、噁二唑烷基、二噁唑烷基、噻唑烷基、异噻唑烷基、噻二唑烷基、二噻唑烷基、哌啶基、六氢哒嗪基、六氢嘧啶基、吗啉基、二噁烷基、吖庚因基、二氮杂草基等)。

[0247] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是任选地被一个或多个R<sup>5</sup>取代的(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)芳基。在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是任选地被一个或多个R<sup>5</sup>取代的苯基。

[0248] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是包含一个或两个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的任选被一个或多个R<sup>5</sup>取代的杂芳基(例如,吡咯基、吡唑基、咪唑基、三唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、二噁唑基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、二噻唑基、噻吩基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、三嗪基、苯并噻唑基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、喹啉基等)。在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是包含5-元环的任选地被一个或多个R<sup>5</sup>取代的杂芳基(例如,吡咯基、吡唑基、咪唑基、三唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、二噁唑基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、二噻唑基、噻吩基苯基等)。在一些实施方案中,至少一个R<sup>4</sup>是包含6元环的任选地被一个或多个R<sup>5</sup>取代的杂芳基(例如,吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、三嗪基等)。

[0249] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>5</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基(例如甲基、乙基、丙基、异丙基或丁基)。在一些实施方案中,至少一个R<sup>5</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷基(例如CH<sub>2</sub>F、CHF<sub>2</sub>或CF<sub>3</sub>)。

[0250] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>5</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基(例如,甲氧基、乙氧基、丙氧基或丁氧基)。在一些实施方案中,至少一个R<sup>5</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)卤代烷氧基(例如,OCH<sub>2</sub>F、OCHF<sub>2</sub>或OCF<sub>3</sub>)。

[0251] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>5</sup>是卤素(例如,F、Cl、Br或I)。

[0252] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>5</sup>是NO<sub>2</sub>、OH或CN。

[0253] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>6</sup>是H。在一些实施方案中,至少一个R<sup>6</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基(例如甲基、乙基、丙基或异丙基)。

[0254] 在一些实施方案中,至少一个R<sup>7</sup>是H。在一些实施方案中,至少一个R<sup>7</sup>是(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基(例如甲基、乙基、丙基或异丙基)。

[0255] 本文所述的用于A、X、X<sup>2</sup>、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>、n和p的任何基团可以与本文

描述的用于A、X、X<sup>2</sup>、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>、n和p的剩余部分中的一个或多个的任何基团组合，并且可以进一步与本文描述的用于接头的任何基团组合。

[0256] 对于式TL-I的靶向配体：

[0257] (1) 在一个实施方案中，X是N且A是苯基。

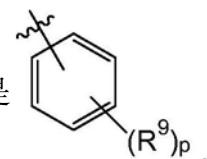
[0258] (2) 在一个实施方案中，X是CH且A是苯基。

[0259] (3) 在一个实施方案中，X是N，A是苯基，并且n是0。

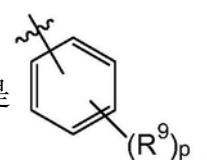
[0260] (4) 在一个实施方案中，X是N，A是苯基，n是0，并且R<sup>1</sup>是H。

[0261] (5) 在一个实施方案中，X是N，A是苯基，n是1，并且R<sup>1</sup>是H。

[0262] (6) 在一个实施方案中，X是N，A是苯基，n是0，R<sup>1</sup>是H，并且R<sup>3</sup>是



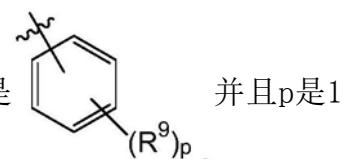
[0263] (7) 在一个实施方案中，X是N，A是苯基，n是1，R<sup>1</sup>是H，并且R<sup>3</sup>是



[0264] (8) 在一个实施方案中，X是N，A是苯基，n是0，R<sup>1</sup>是H，并且R<sup>3</sup>是苯基。

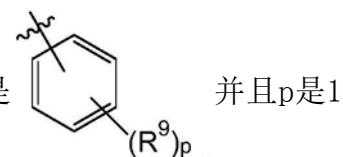
[0265] (9) 在一个实施方案中，X是N，A是苯基，n是1，R<sup>1</sup>是H，并且R<sup>3</sup>是苯基。

[0266] (10) 在一个实施方案中，X是N，A是苯基，n是0，R<sup>1</sup>是H，R<sup>3</sup>是



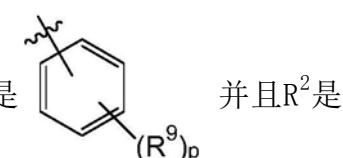
或2。

[0267] (11) 在一个实施方案中，X是N，A是苯基，n是1，R<sup>1</sup>是H，R<sup>3</sup>是



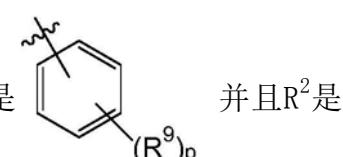
或2。

[0268] (12) 在一个实施方案中，X是N，A是苯基，n是0，R<sup>1</sup>是H，R<sup>3</sup>是

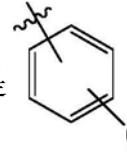


包含1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元杂芳基，其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。

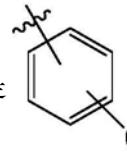
[0269] (13) 在一个实施方案中，X是N，A是苯基，n是1，R<sup>1</sup>是H，R<sup>3</sup>是



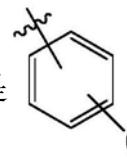
包含1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元杂芳基，其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。

[0270] (14) 在一个实施方案中,X是N,A是苯基,n是0,R<sup>1</sup>是H,R<sup>3</sup>是，并且R<sup>2</sup>是

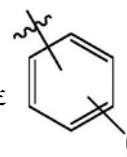
包含1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元或6-元杂芳基,其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。

[0271] (15) 在一个实施方案中,X是N,A是苯基,n是1,R<sup>1</sup>是H,R<sup>3</sup>是，并且R<sup>2</sup>是

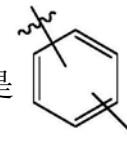
包含1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元或6-元杂芳基,其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。

[0272] (16) 在一个实施方案中,X是N,A是苯基,n是0,R<sup>1</sup>是H,R<sup>3</sup>是，并且R<sup>2</sup>是

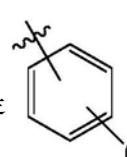
包含1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元杂芳基。

[0273] (17) 在一个实施方案中,X是N,A是苯基,n是1,R<sup>1</sup>是H,R<sup>3</sup>是，并且R<sup>2</sup>是

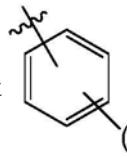
包含1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元杂芳基。

[0274] (18) 在一个实施方案中,X是N,A是苯基,n是0,R<sup>1</sup>是H,R<sup>3</sup>是，并且R<sup>2</sup>是

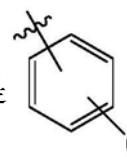
包含1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元或6-元杂芳基。

[0275] (19) 在一个实施方案中,X是N,A是苯基,n是1,R<sup>1</sup>是H,R<sup>3</sup>是，并且R<sup>2</sup>是

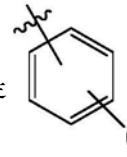
包含1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元或6-元杂芳基。

[0276] (20) 在一个实施方案中,X是N,A是苯基,n是0,R<sup>1</sup>是H,R<sup>3</sup>是，R<sup>2</sup>是包含

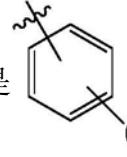
1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元杂芳基,并且至少一个R<sup>9</sup>是NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、OH或F。

[0277] (21) 在一个实施方案中,X是N,A是苯基,n是1,R<sup>1</sup>是H,R<sup>3</sup>是，R<sup>2</sup>是包含

1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元杂芳基,并且至少一个R<sup>9</sup>是NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、OH或F。

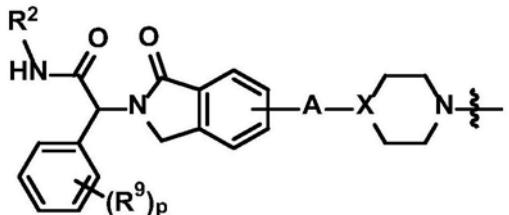
[0278] (22) 在一个实施方案中,X是N,A是苯基,n是0,R<sup>1</sup>是H,R<sup>3</sup>是并且R<sup>2</sup>是

包含1-4个选自N、O和S的杂原子的任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代的5-元杂芳基,并且至少一个R<sup>9</sup>是NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、OH或F。

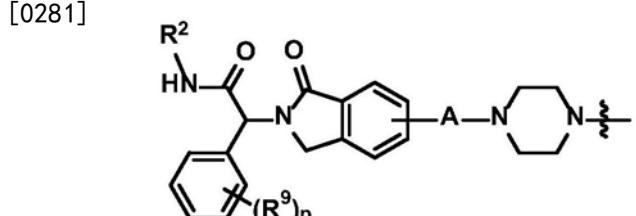
[0279] (23) 在一个实施方案中,X是N,A是苯基,n是1,R<sup>1</sup>是H,R<sup>3</sup>是R<sup>2</sup>是包含

1-4个选自N、O和S的杂原子的任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代的5-元杂芳基,并且至少一个R<sup>9</sup>是NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、OH或F。

[0280] 在一个实施方案中,式TL-I的化合物具有式TL-Ia或TL-Ib



(TL-Ia)或



(TL-Ib),

[0282] 其中A、X、R<sup>2</sup>、R<sup>9</sup>和p各自如上式TL-I中所定义。

[0283] 在一个实施方案中,A是苯基。

[0284] 在一个实施方案中,X是N。

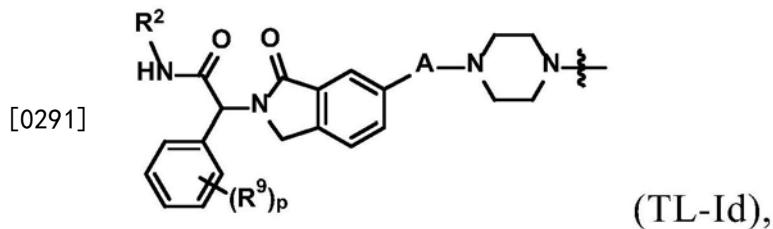
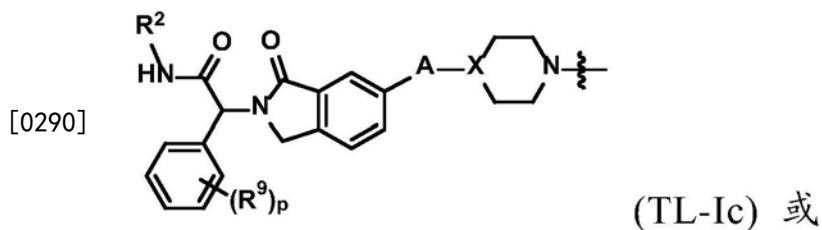
[0285] 在一个实施方案中,至少一个R<sup>9</sup>是F或OH。

[0286] 在一个实施方案中,p为0、1或2。

[0287] 在一个实施方案中,R<sup>2</sup>是包含一个或两个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在另一个实施方案中,R<sup>2</sup>是包含一个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在另一个实施方案中,R<sup>2</sup>是包含1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元杂芳基,其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在另一个实施方案中,R<sup>2</sup>是包含1-2个选自N、O和S的杂原子的5-元杂芳基,其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。

[0288] A、X、R<sup>2</sup>、R<sup>9</sup>和p各自可以选自任何基团并如上文在式TL-1中所述被组合。

[0289] 在另一个实施方案中,式TL-1的化合物具有式TL-1c或TL-1d



[0292] 其中A、X、R<sup>2</sup>、R<sup>9</sup>和p各自如上式TL-1中所定义。

[0293] 在一个实施方案中,A是苯基。

[0294] 在一个实施方案中,X是N。

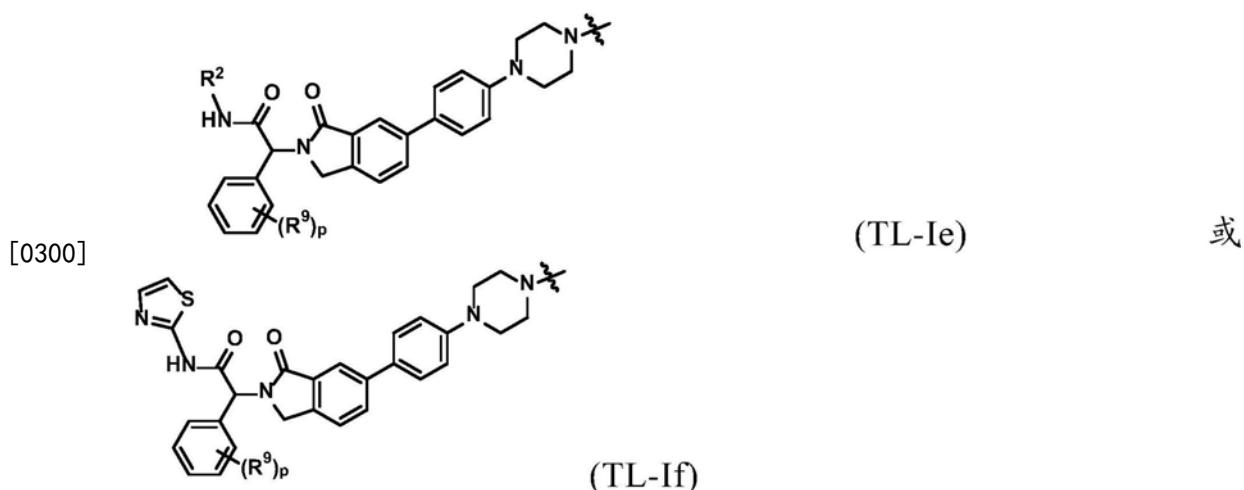
[0295] 在一个实施方案中,至少一个R<sup>9</sup>是F或OH。

[0296] 在一个实施方案中,p为0、1或2。

[0297] 在一个实施方案中,R<sup>2</sup>是包含一个或两个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在另一个实施方案中,R<sup>2</sup>是包含一个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在另一个实施方案中,R<sup>2</sup>是包含1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元杂芳基,其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在另一个实施方案中,R<sup>2</sup>是包含1-2个选自N、O和S的杂原子的5-元杂芳基,其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。

[0298] A、X、R<sup>2</sup>、R<sup>9</sup>和p各自可以选自任何基团并如上文在式TL-1中所述被组合。

[0299] 在另一个实施方案中,式TL-1的化合物具有式TL-1e或TL-1f:



[0301] 其中R<sup>2</sup>、R<sup>9</sup>和p各自如上式TL-1中所定义。

[0302] 在一个实施方案中,至少一个R<sup>9</sup>是F或OH。

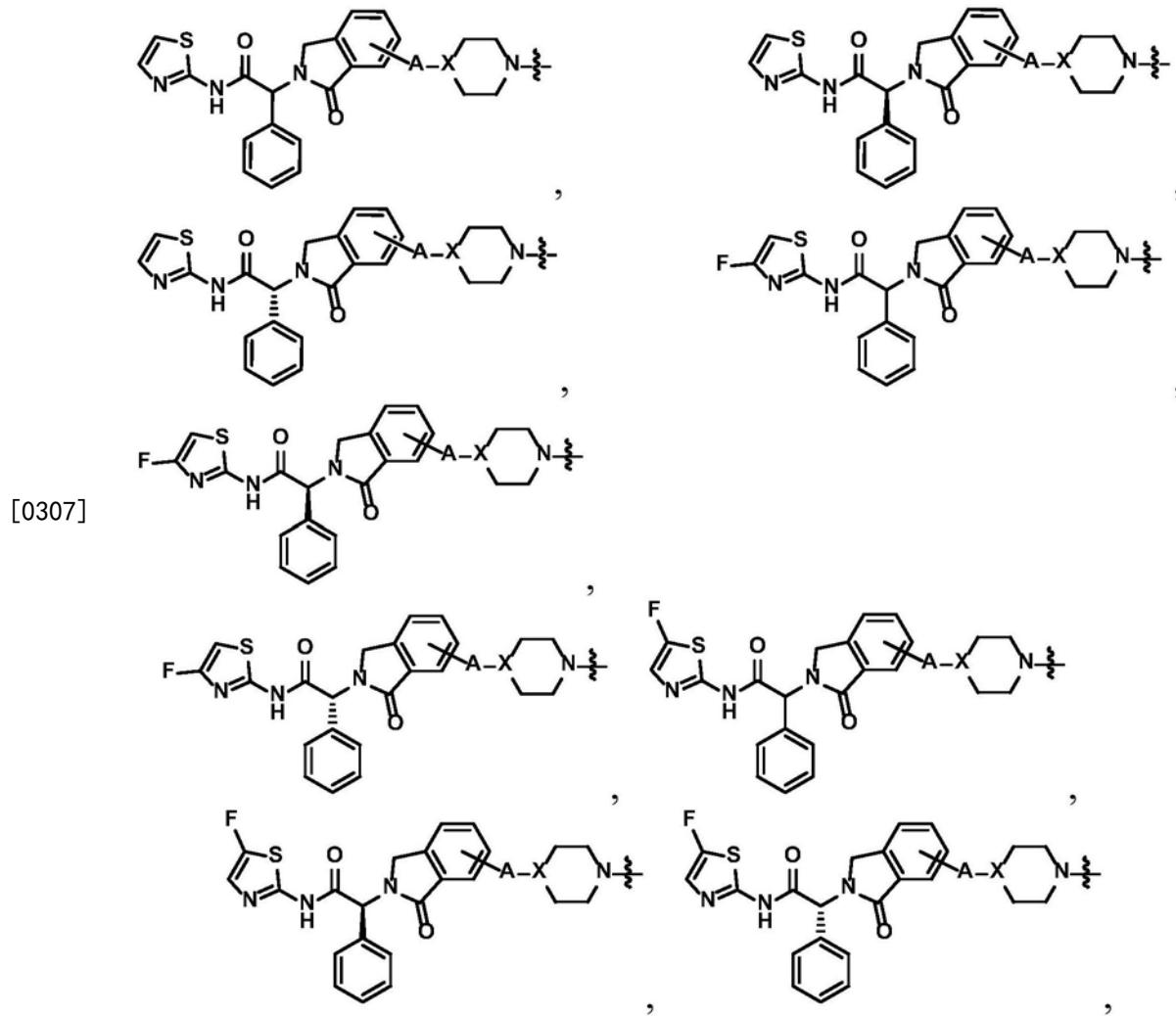
[0303] 在一个实施方案中,p为0、1或2。

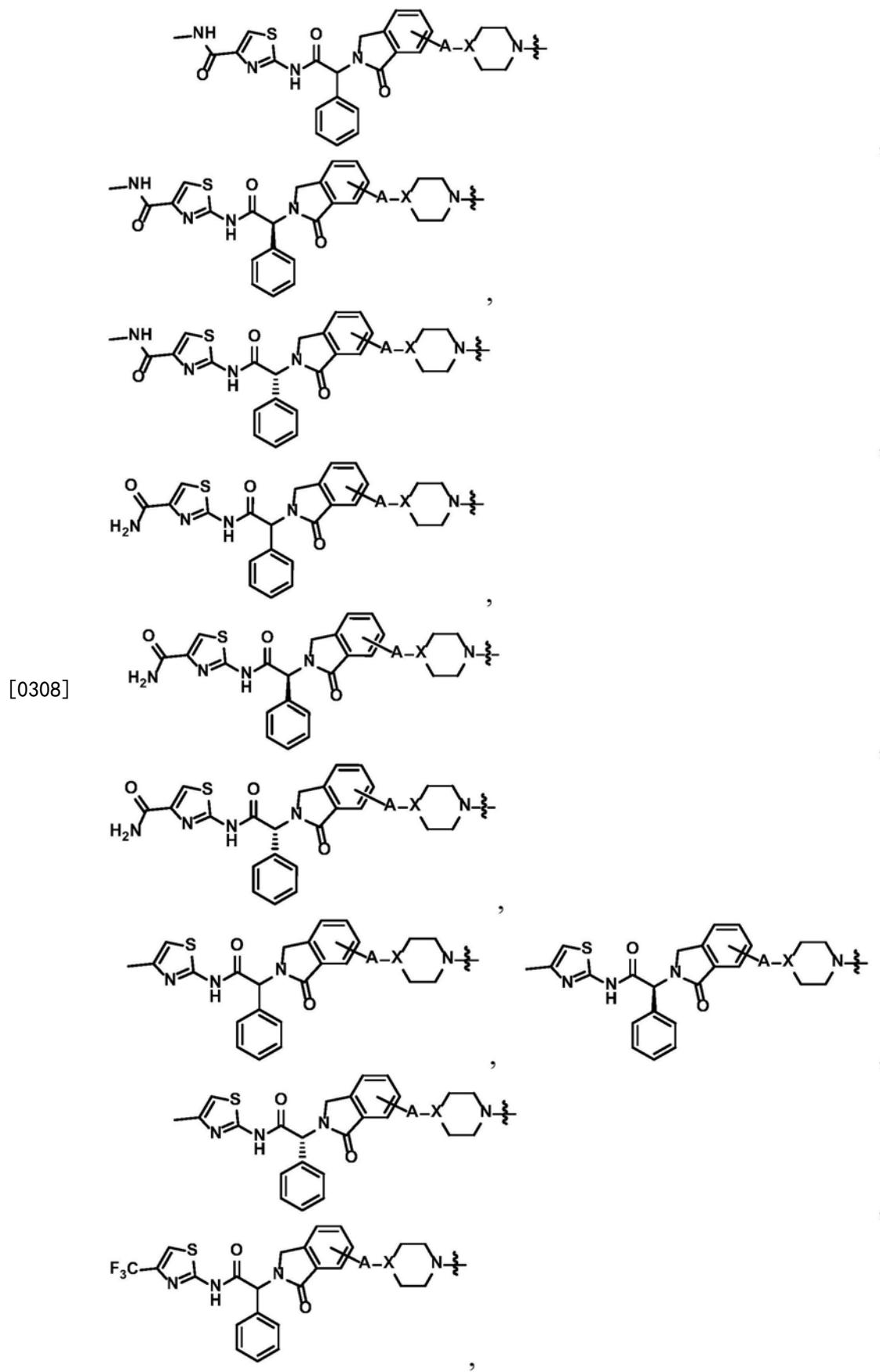
[0304] 在一个实施方案中,R<sup>2</sup>是包含一个或两个5-至7-元环和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基,其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在另一个实施方案中,R<sup>2</sup>是包含一个5-至7-元环

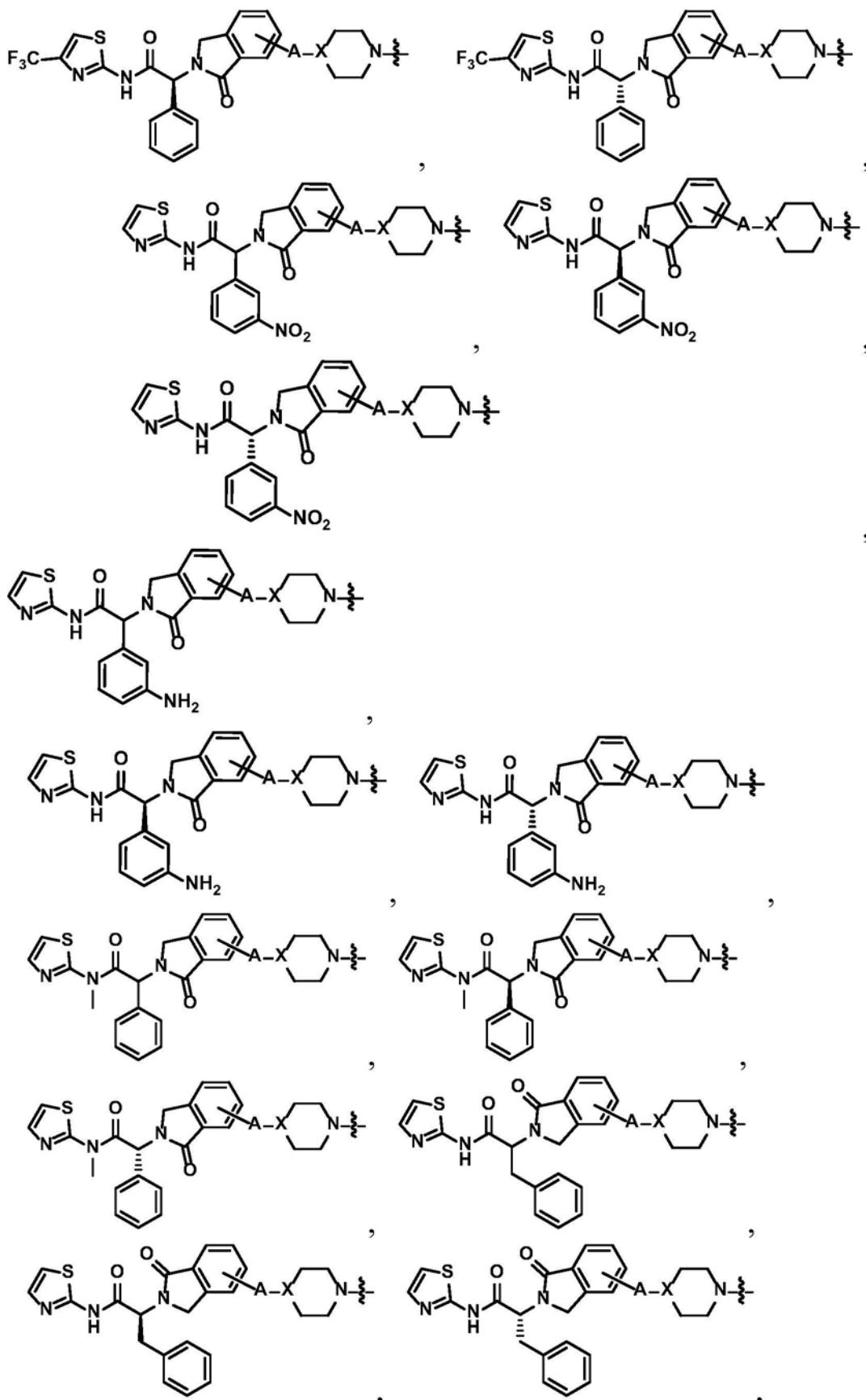
和1-4个选自N、O和S的杂原子的杂芳基，其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在另一个实施方案中，R<sup>2</sup>是包含1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元杂芳基，其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。在另一个实施方案中，R<sup>2</sup>是包含1-4个选自N、O和S的杂原子的5-元杂芳基，其任选被一个或多个R<sup>4</sup>取代。

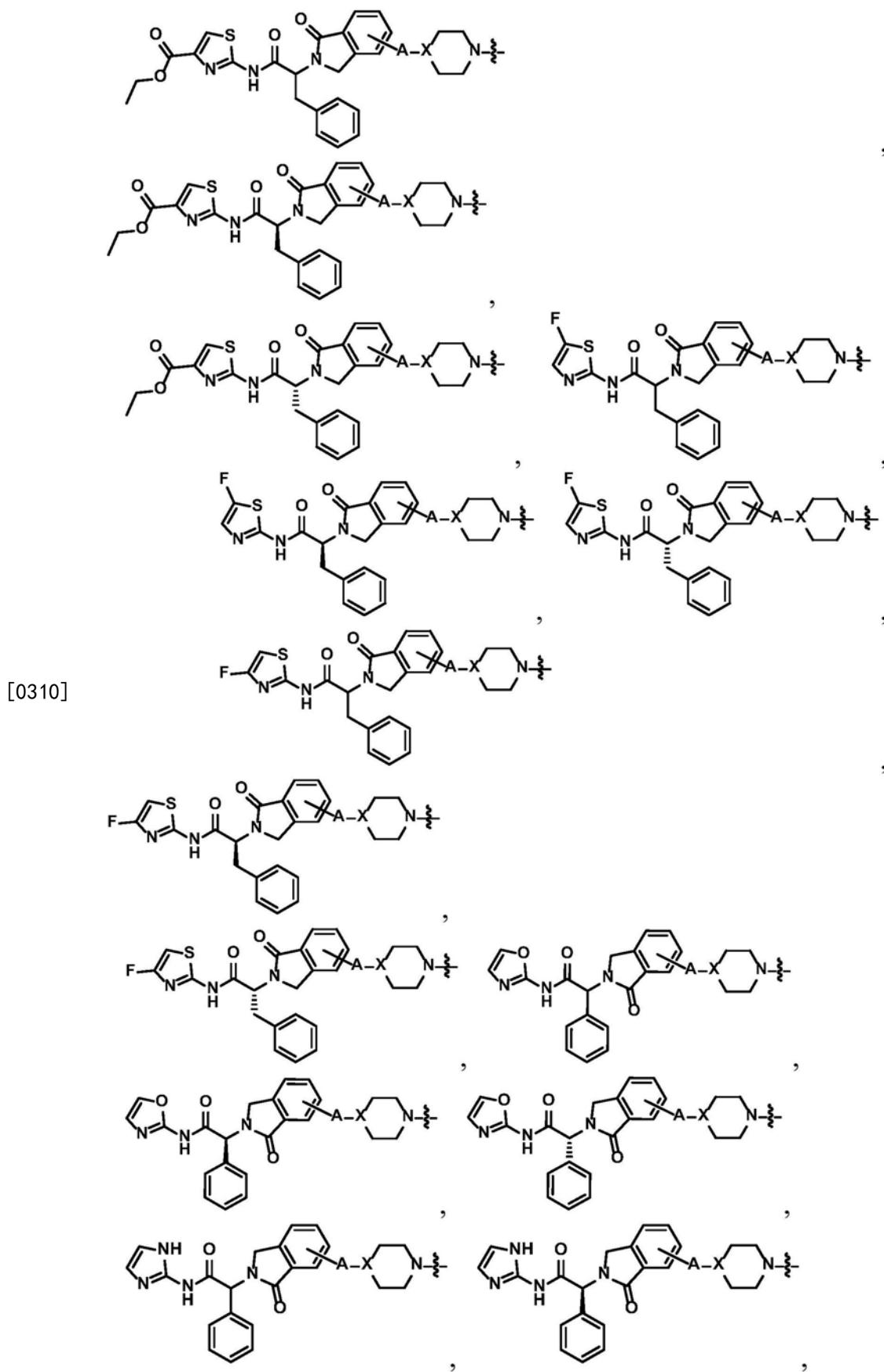
[0305] R<sup>2</sup>、R<sup>9</sup>和p各自可以选自任何基团并如上文在式TL-1中所述被组合。

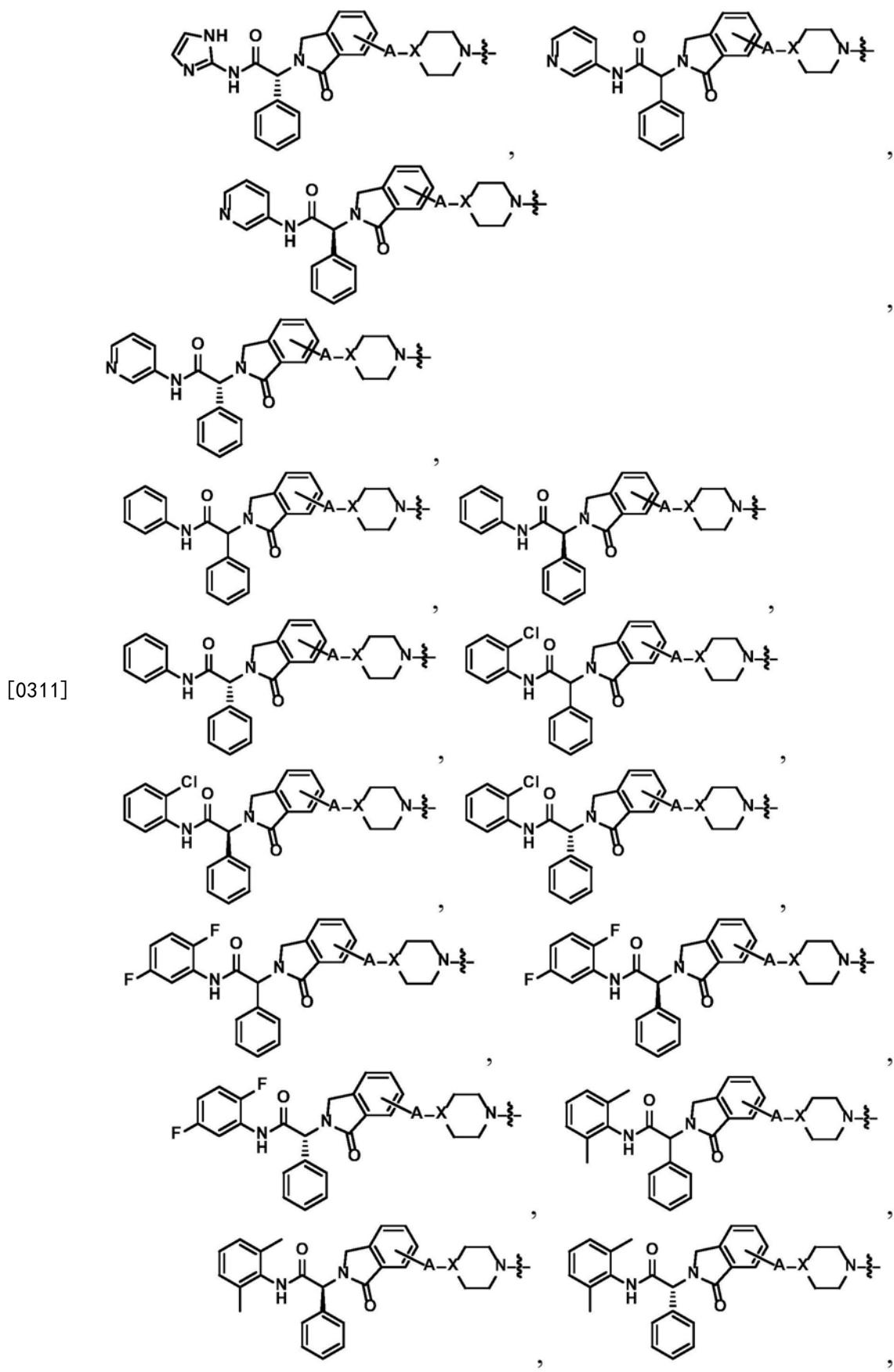
[0306] 在一个实施方案中，式TL-I的化合物是选自下组的式的化合物：



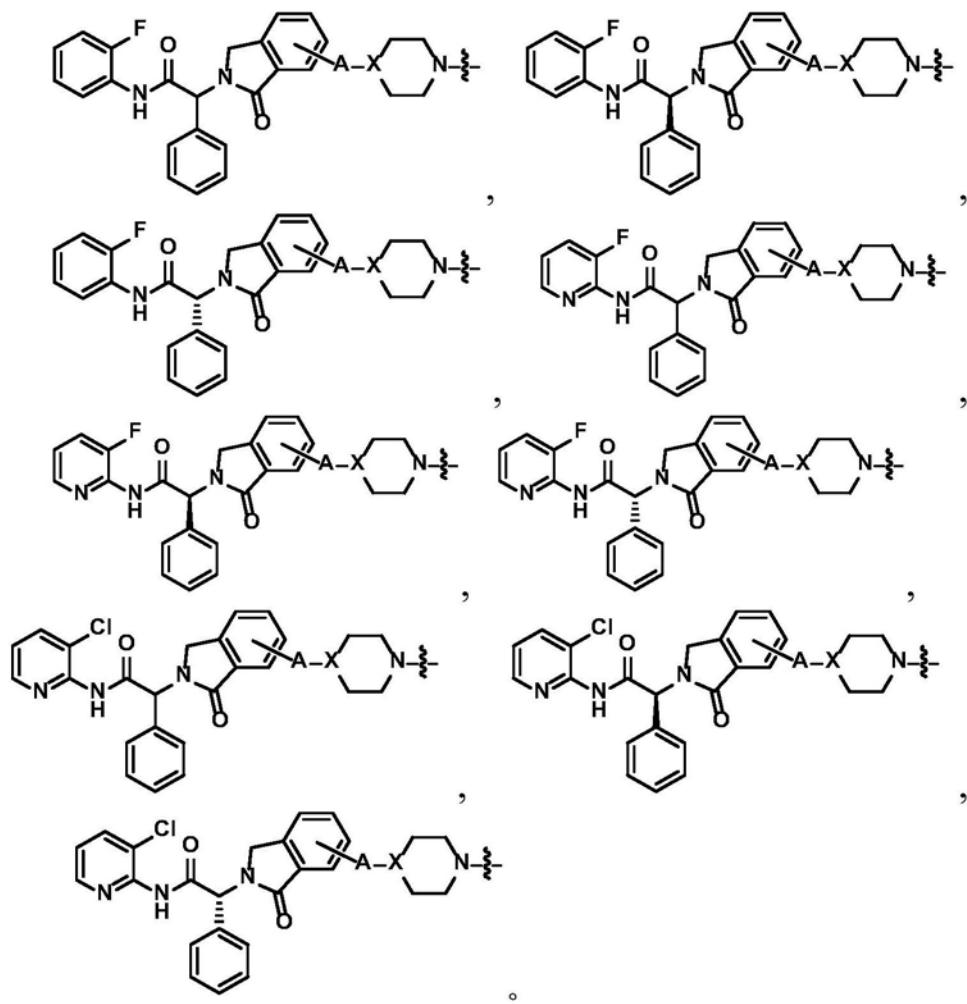








[0312]

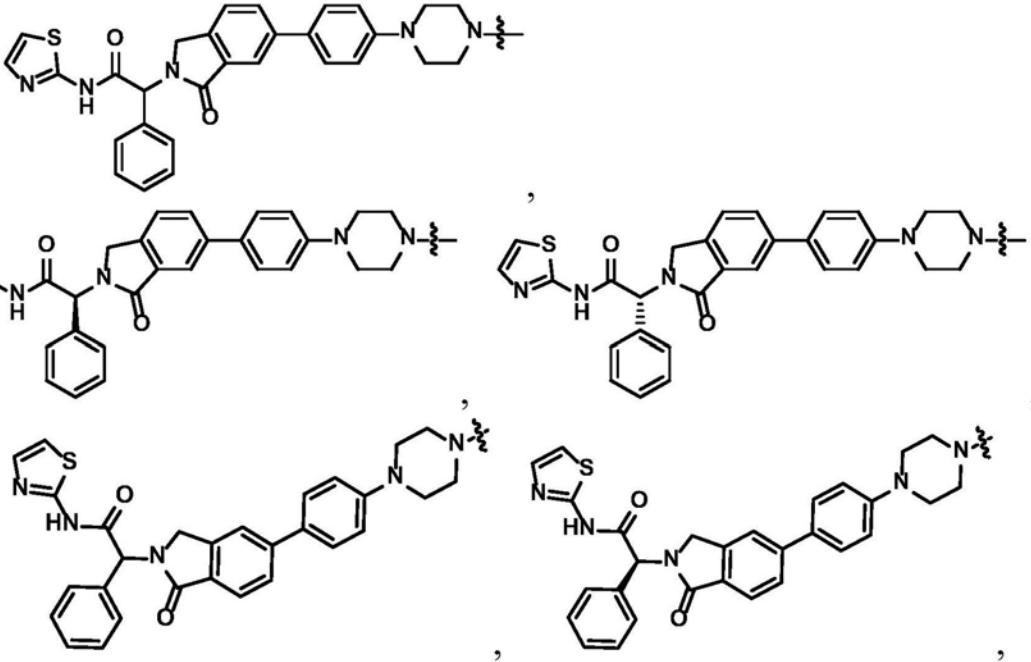


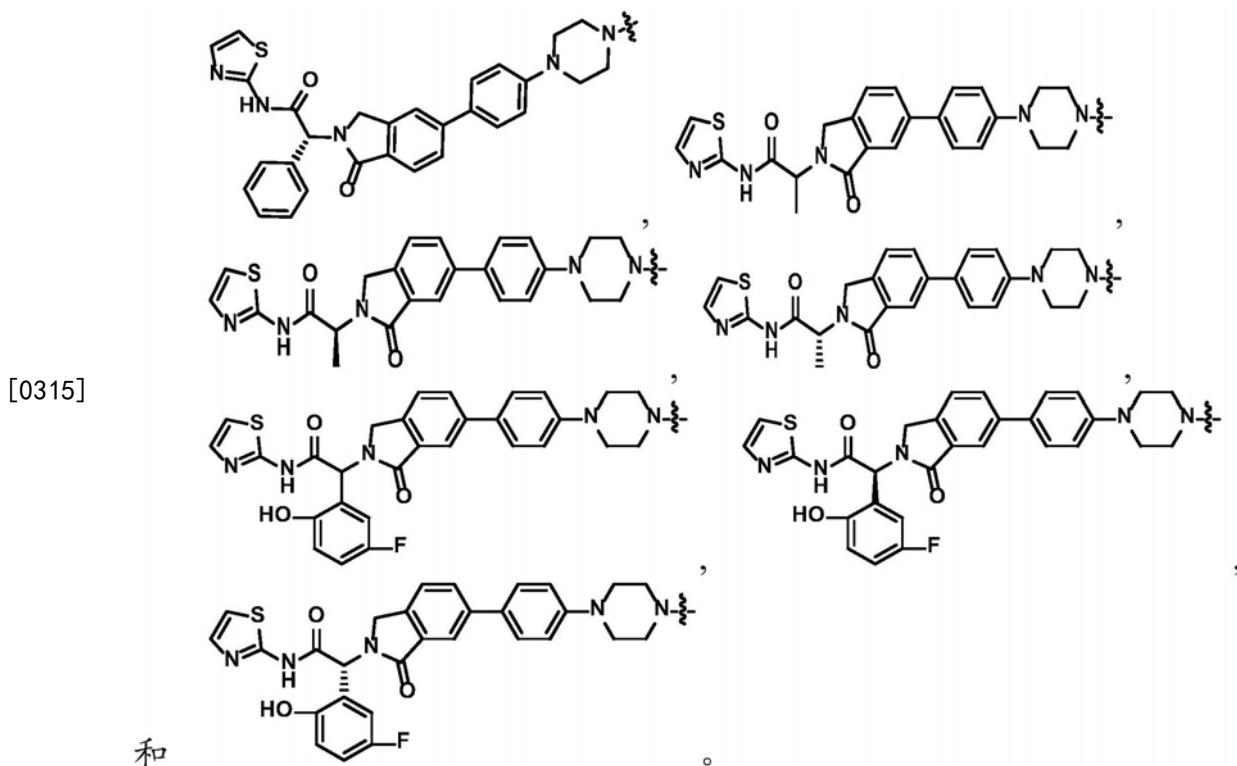
和

[0313]

在一个实施方案中,式TL-I的化合物是选自下组的式的化合物:

[0314]



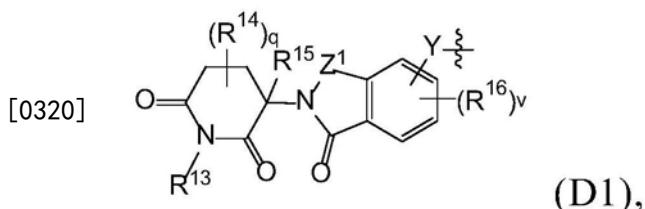


[0316] 靶向配体 (TL) (或靶蛋白部分或靶蛋白配体或配体) 是能够结合感兴趣的靶蛋白例如EGFR或其突变体的小分子。

[0317] 降解决定子

[0318] 降解决定子用于将靶蛋白通过接头和靶向配体连接到泛素连接酶以进行蛋白酶体降解。在一个实施方案中，降解决定子能够结合泛素连接酶，例如E3泛素连接酶。在一个实施方案中，降解决定子能够结合脑电素。

[0319] 在一个实施方案中，降解决定子具有式D1：



[0321] 或其对映异构体、非对映异构体或立体异构体，其中：

[0322] Y是键、 $(CH_2)_{1-6}$ 、 $(CH_2)_{0-6}-O$ 、 $(CH_2)_{0-6}-C(0)NR^{11}$ 、 $(CH_2)_{0-6}-NR^{11}C(0)$ 、 $(CH_2)_{0-6}-NH$ 或 $(CH_2)_{0-6}-NR^{12}$ ；

[0323]  $Z^1$ 为C(0)或C( $R^{13}$ )<sub>2</sub>；

[0324]  $R^{11}$ 为H或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；

[0325]  $R^{12}$ 为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或C(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；

[0326] 每个R<sup>13</sup>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基；

[0327] 每个R<sup>14</sup>独立地为C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基；

[0328] R<sup>15</sup>为H、氘、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基、F或Cl；

[0329] 每个R<sup>16</sup>独立地为卤素、OH、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基；

[0330] q为0、1或2；和

[0331] v为0、1、2或3,

[0332] 其中降解决定子通过— $\xi$ —与接头共价结合。

[0333] 在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(0)。

[0334] 在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(R<sup>13</sup>)<sub>2</sub>;并且每个R<sup>13</sup>是H。在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(R<sup>13</sup>)<sub>2</sub>;R<sup>13</sup>中的一个是H,另一个是选自甲基、乙基和丙基的C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(R<sup>13</sup>)<sub>2</sub>;每个R<sup>13</sup>独立地选自甲基、乙基和丙基。

[0335] 在一个实施方案中,Y是键。

[0336] 在一个实施方案中,Y是(CH<sub>2</sub>)<sub>1</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>或(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>。在一个实施方案中,Y是(CH<sub>2</sub>)<sub>1</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>或(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>。在一个实施方案中,Y是(CH<sub>2</sub>)<sub>1</sub>或(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>。

[0337] 在一个实施方案中,Y是0、CH<sub>2</sub>-0、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-0、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-0、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-0、(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-0或(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-0。在一个实施方案中,Y是0、CH<sub>2</sub>-0、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-0或(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-0。在一个实施方案中,Y是0或CH<sub>2</sub>-0。在一个实施方案中,Y是0。

[0338] 在一个实施方案中,Y是C(0)NR<sup>11</sup>、CH<sub>2</sub>-C(0)NR<sup>11</sup>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-C(0)NR<sup>11</sup>、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-C(0)NR<sup>11</sup>、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-C(0)NR<sup>11</sup>、(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-C(0)NR<sup>11</sup>或(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-C(0)NR<sup>11</sup>。在一个实施方案中,Y是C(0)NR<sup>11</sup>、CH<sub>2</sub>-C(0)NR<sup>11</sup>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-C(0)NR<sup>11</sup>或(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-C(0)NR<sup>11</sup>。在一个实施方案中,Y是C(0)NR<sup>11</sup>或CH<sub>2</sub>-C(0)NR<sup>11</sup>。在一个实施方案中,Y是C(0)NR<sup>11</sup>。

[0339] 在一个实施方案中,Y是NR<sup>11</sup>C(0)、CH<sub>2</sub>-NR<sup>11</sup>C(0)、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NR<sup>11</sup>C(0)、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NR<sup>11</sup>C(0)、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-NR<sup>11</sup>C(0)、(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-NR<sup>11</sup>C(0)或(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-NR<sup>11</sup>C(0)。在一个实施方案中,Y是NR<sup>11</sup>C(0)、CH<sub>2</sub>-NR<sup>11</sup>C(0)、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NR<sup>11</sup>C(0)或(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NR<sup>11</sup>C(0)。在一个实施方案中,Y是NR<sup>11</sup>C(0)或CH<sub>2</sub>-NR<sup>11</sup>C(0)。在一个实施方案中,Y是NR<sup>11</sup>C(0)。

[0340] 在一个实施方案中,R<sup>11</sup>是H。在一个实施方案中,R<sup>11</sup>选自甲基、乙基、丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、异戊基和己基。在一个实施方案中,R<sup>11</sup>是选自甲基、乙基和丙基的C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。

[0341] 在一个实施方案中,Y是NH、CH<sub>2</sub>-NH、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NH、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-NH、(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-NH或(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-NH。在一个实施方案中,Y是NH、CH<sub>2</sub>-NH、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NH或(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH。在一个实施方案中,Y是NH或CH<sub>2</sub>-NH。在一个实施方案中,Y是NH。

[0342] 在一个实施方案中,Y是NR<sup>12</sup>、CH<sub>2</sub>-NR<sup>12</sup>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NR<sup>12</sup>、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NR<sup>12</sup>、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-NR<sup>12</sup>、(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-NR<sup>12</sup>或(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-NR<sup>12</sup>。在一个实施方案中,Y是NR<sup>12</sup>、CH<sub>2</sub>-NR<sup>12</sup>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NR<sup>12</sup>或(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NR<sup>12</sup>。在一个实施方案中,Y是NR<sup>12</sup>或CH<sub>2</sub>-NR<sup>12</sup>。在一个实施方案中,Y是NR<sup>12</sup>。

[0343] 在一个实施方案中,R<sup>12</sup>选自甲基、乙基、丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、异戊基和己基。在一个实施方案中,R<sup>12</sup>是选自甲基、乙基和丙基的C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。

[0344] 在一个实施方案中,R<sup>12</sup>选自C(0)-甲基、C(0)-乙基、C(0)-丙基、C(0)-丁基、C(0)-异丁基、C(0)-叔丁基、C(0)-戊基、C(0)-异戊基和C(0)-己基。在一个实施方案中,R<sup>12</sup>是选自C(0)-甲基、C(0)-乙基和C(0)-丙基的C(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。

[0345] 在一个实施方案中,R<sup>13</sup>是H。

[0346] 在一个实施方案中,R<sup>13</sup>是选自甲基、乙基和丙基的C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。在一个实施方案中,R<sup>13</sup>是甲基。

[0347] 在一个实施方案中,q为0。

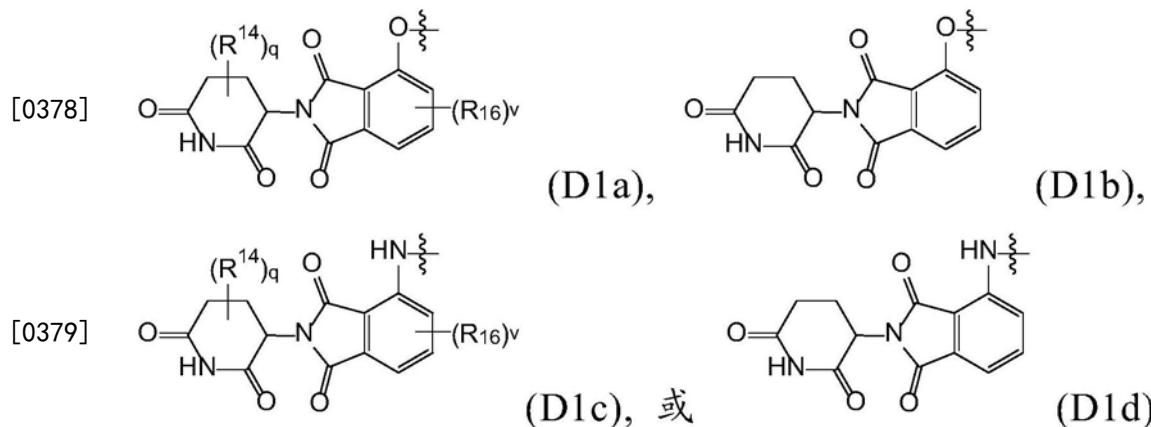
- [0348] 在一个实施方案中,q为1。
- [0349] 在一个实施方案中,q为2。
- [0350] 在一个实施方案中,每个R<sup>14</sup>独立地为选自甲基、乙基和丙基的C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。
- [0351] 在一个实施方案中,v为0。
- [0352] 在一个实施方案中,v为1。
- [0353] 在一个实施方案中,v为2。
- [0354] 在一个实施方案中,v为3。
- [0355] 在一个实施方案中,每个R<sup>16</sup>独立地选自卤素(例如F、Cl、Br和I)、OH、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(例如甲基、乙基、丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、异戊基和己基)和C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基(例如甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基和戊氧基)。在进一步的实施方案中,每个R<sup>16</sup>独立地选自F、Cl、OH、甲基、乙基、丙基、丁基、异丁基、叔丁基、甲氧基和乙氧基。
- [0356] 在一个实施方案中,R<sup>15</sup>是H、氘或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。在另一个实施方案中,R<sup>15</sup>是H或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。在进一步的实施方案中,R<sup>15</sup>为(S)或(R)构型。在进一步的实施方案中,R<sup>15</sup>为(S)构型。在一个实施方案中,化合物包含(S)-R<sup>15</sup>和(R)-R<sup>15</sup>的外消旋混合物。
- [0357] 在一个实施方案中,R<sup>15</sup>是H。
- [0358] 在一个实施方案中,R<sup>15</sup>是氘。
- [0359] 在一个实施方案中,R<sup>15</sup>是选自甲基、乙基和丙基的C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。
- [0360] 在一个实施方案中,R<sup>15</sup>是甲基。
- [0361] 在一个实施方案中,R<sup>15</sup>是F或Cl。在进一步的实施方案中,R<sup>15</sup>为(S)或(R)构型。在进一步的实施方案中,R<sup>15</sup>为(R)构型。在一个实施方案中,化合物包含(S)-R<sup>15</sup>和(R)-R<sup>15</sup>的外消旋混合物。在一个实施方案中,R<sup>15</sup>是F。
- [0362] 本文描述的用于Y、Z<sup>1</sup>、R<sup>11</sup>、R<sup>12</sup>、R<sup>13</sup>、R<sup>14</sup>、R<sup>15</sup>、R<sup>16</sup>、q和v中任一的任何基团可以与本文所述的用于Y、Z<sup>1</sup>、R<sup>11</sup>、R<sup>12</sup>、R<sup>13</sup>、R<sup>14</sup>、R<sup>15</sup>、R<sup>16</sup>、q的其余部分中的一个或多个的任何基团组合,并且还可以与本文描述的用于接头的任何基团组合。
- [0363] 对于式D1的降解决定子:
- [0364] (1) 在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(0)且Y是键。
- [0365] (2) 在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(0)且Y是(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-O。在进一步的实施方案中,Y是O。
- [0366] (3) 在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(0);Y是键;q和v各为0。
- [0367] (4) 在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(0);Y是键;并且R<sup>13</sup>是H。
- [0368] (5) 在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(0);Y是键;并且R<sup>15</sup>是H。
- [0369] (6) 在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(0);Y是键;R<sup>13</sup>是H;并且R<sup>15</sup>是H。
- [0370] (7) 在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(0);Y是(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-O;并且R<sup>13</sup>是H;在进一步的实施方案中,Y是O。
- [0371] (8) 在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(0);Y是(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-O;并且R<sup>15</sup>是H;在进一步的实施方案中,Y是O。
- [0372] (9) 在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(0);Y是(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-O;R<sup>13</sup>是H;并且R<sup>15</sup>是H。在进一步的实施方案中,Y是O。
- [0373] (10) 在一个实施方案中,Z<sup>1</sup>是C(0);Y是(CH<sub>2</sub>)<sub>0-6</sub>-NH;并且R<sup>13</sup>是H。在进一步的实施方案中,Y是NH。

[0374] (11) 在一个实施方案中,  $Z_1$  是 C(0); Y 是  $(\text{CH}_2)_{0-6}\text{-NH}$ ; 并且  $R^{15}$  是 H。在进一步的实施方案中, Y 是 NH。

[0375] (12) 在一个实施方案中,  $Z_1$  是 C(0); Y 是  $(\text{CH}_2)_{0-6}\text{-NH}$ ;  $R^{13}$  是 H; 并且  $R^{15}$  是 H。在进一步的实施方案中, Y 是 NH。

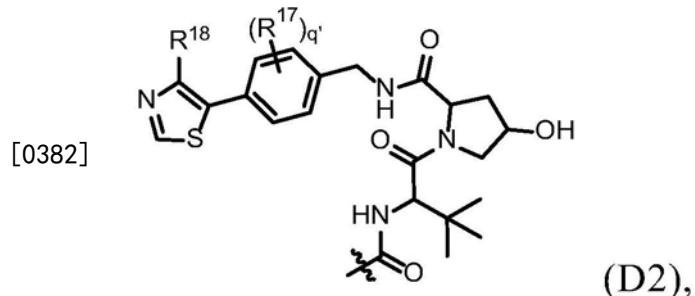
[0376] (13) 在一个实施方案中, q 和 v 各自为 0; Y、 $Z^1$ 、 $R^{13}$  和  $R^{15}$  各自如 (1) - (12) 中任一项所定义的。

[0377] 在一个实施方案中, 降解决定子具有式 D1a-D1d:



[0380] 或其对映异构体、非对映异构体或立体异构体, 其中  $R^{14}$ 、 $R^{16}$ 、q 和 v 各自如上式 D1 中所定义, 并且可选自上述任何部分或其组合。

[0381] 在一个实施方案中, 降解决定子具有式 D2:



[0383] 或其对映异构体、非对映异构体或立体异构体, 其中:

[0384] 每个  $R^{17}$  独立地为  $C_1-C_3$  烷基;

[0385]  $q'$  为 0、1、2、3 或 4; 和

[0386]  $R^{18}$  是 H 或  $C_1-C_3$  烷基,

[0387] 其中降解决定子通过  $\text{—}\ddot{\text{s}}\text{—}$  与另一部分共价结合。在一个实施方案中, 降解决定子通过  $\text{—}\ddot{\text{s}}\text{—}$  与接头共价结合。在一个实施方案中, 降解决定子是通过  $\text{—}\ddot{\text{s}}\text{—}$  与化合物共价结合。

[0388] 在一个实施方案中,  $q'$  是 0。

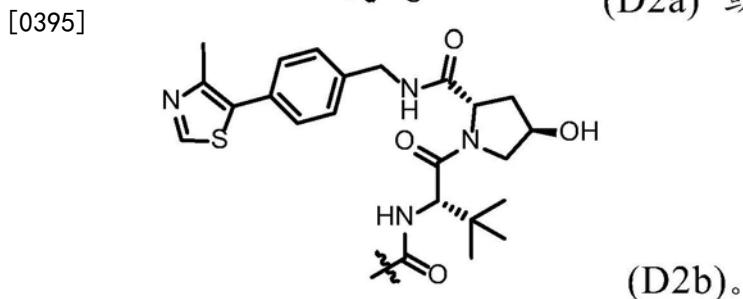
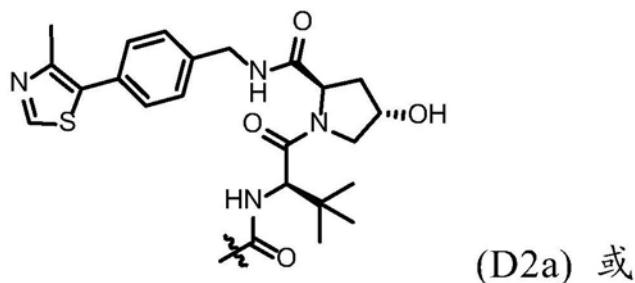
[0389] 在一个实施方案中,  $q'$  是 1。

[0390] 在一个实施方案中,  $q'$  是 2。

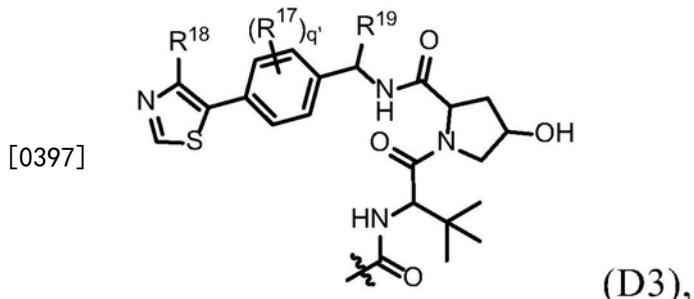
[0391] 在一个实施方案中,  $q'$  是 3。

[0392] 在一个实施方案中, 每个  $R^{17}$  独立地为选自甲基、乙基和丙基的  $C_1-C_3$  烷基。

- [0393] 在一个实施方案中,  $R^{18}$  是甲基、乙基或丙基。在一个实施方案中,  $R^{18}$  是甲基。  
 [0394] 在一个实施方案中, 降解决定子具有式D2a或D2b:



- [0396] 在替代实施方案中, 降解决定子具有式D3:



- [0398] 或其对映异构体、非对映异构体或立体异构体, 其中:

[0399] 每个 $R^{17}$ 独立地为 $C_1-C_3$ 烷基;

[0400]  $q'$ 为0、1、2、3或4;

[0401]  $R^{18}$ 为H或 $C_1-C_3$ 烷基; 和

[0402]  $R^{19}$ 是 $C_1-C_3$ 烷基,

[0403] 其中降解决定子通过— $\xi$ —与另一部分共价结合。在一个实施方案中, 降解决定子通过— $\xi$ —与接头共价结合。在一个实施方案中, 降解决定子是通过— $\xi$ —与化合物共价结合。

[0404] 在一个实施方案中,  $q'$ 是0。

[0405] 在一个实施方案中,  $q'$ 是1。

[0406] 在一个实施方案中,  $q'$ 是2。

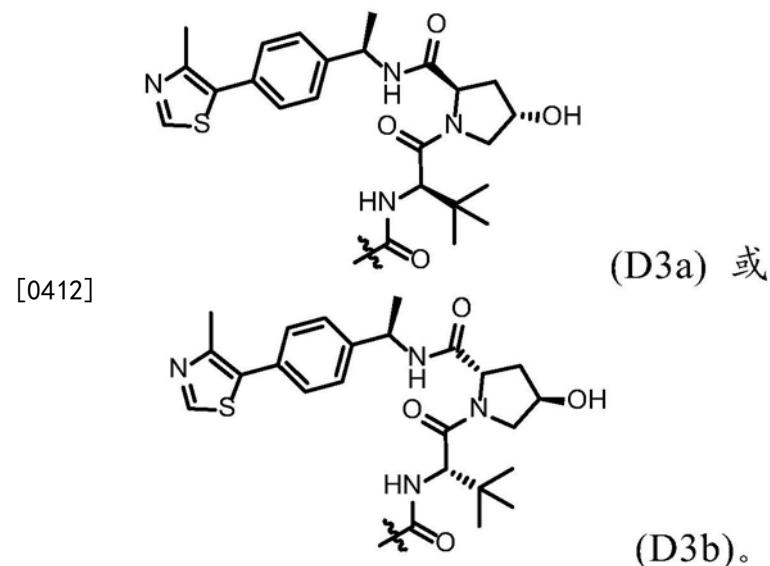
[0407] 在一个实施方案中,  $q'$ 是3。

[0408] 在一个实施方案中, 每个 $R^{17}$ 独立地为选自甲基、乙基和丙基的 $C_1-C_3$ 烷基。

[0409] 在一个实施方案中,  $R^{18}$ 是甲基、乙基或丙基。在一个实施方案中,  $R^{18}$ 是甲基。

[0410] 在一个实施方案中,  $R^{19}$ 是甲基、乙基或丙基。在一个实施方案中,  $R^{19}$ 是甲基。

[0411] 在一个实施方案中, 降解决定子具有式D3a或D3b:



[0413] 接头

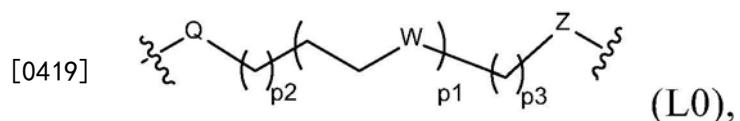
[0414] 接头是键或碳链,用于连接靶向配体和降解决定子。在一个实施方案中,碳链任选地包含一个、两个、三个或更多个选自N、O和S的杂原子。在一个实施方案中,碳链仅包含饱和链碳原子。在一个实施方案中,碳链任选地包含两个或更多个不饱和链碳原子(例如C=C或C≡C)。在一个实施方案中,碳链中的一个或多个链碳原子任选地被一个或多个取代基(例如氧代、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷氧基、OH、卤素、NH<sub>2</sub>、NH(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基)、N(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基)<sub>2</sub>、CN、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基、杂环基、苯基和杂芳基)取代。

[0415] 在一个实施方案中,接头包含至少5个链原子(例如C、O、N和S)。在一个实施方案中,接头包含少于25个链原子(例如C、O、N和S)。在一个实施方案中,接头包含少于20个链原子(例如C、O、N和S)。在一个实施方案中,接头包含5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个链原子(例如C、O、N和S)。在一个实施方案中,接头包含5、7、9、11、13、15、17或19个链原子(例如C、O、N和S)。在一个实施方案中,接头包含5、7、9或11个链原子(例如C、O、N和S)。在一个实施方案中,接头包含11、13、15、17或19个链原子(例如C、O、N和S)。在一个实施方案中,接头包含6、8、10、12、14、16、18或20个链原子(例如C、O、N和S)。在一个实施方案中,接头包含6、8、10或12个链原子(例如C、O、N和S)。在一个实施方案中,接头包含12、14、16、18或20个链原子(例如C、O、N和S)。

[0416] 在一个实施方案中,接头包含9至19个链原子(例如C、O、N和S)。

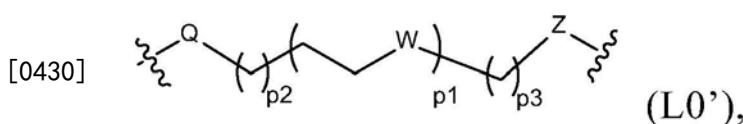
[0417] 在一个实施方案中,接头是任选被非大体积取代基(例如氧代、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷氧基、OH、卤素、NH<sub>2</sub>、NH(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基)、N(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基)<sub>2</sub>和CN)取代的碳链。在一个实施方案中,非大体积取代位于靠近降解决定子的链碳原子上(即,该碳原子与降解决定子键合的碳原子被接头中的至少3、4或5个链原子分开)。在一个实施方案中,非大体积取代位于靶向配体附近的链碳原子上(即,该碳原子与降解决定子键合的碳原子被接头中的至少3、4或5个链原子分开)。

[0418] 在一个实施方案中,接头具有式L0:



- [0420] 或其对映异构体、非对映异构体或立体异构体,其中
- [0421] p1是选自0至12的整数;
- [0422] p2是选自0至12的整数;
- [0423] p3是选自0至6的整数;
- [0424] 每个W独立地为不存在、 $\text{CH}_2$ 、O、S、NH或NR<sup>10</sup>;
- [0425] Z为不存在、 $\text{CH}_2$ 、O、NH、NR<sup>10</sup>、C(0) ( $\text{CH}_2$ )<sub>0-3</sub>或NHC(0) ( $\text{CH}_2$ )<sub>0-3</sub>;
- [0426] 每个R<sup>10</sup>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基;且
- [0427] Q不存在或为 $\text{CH}_2\text{C}(0)\text{NH}$ ,
- [0428] 其中接头通过邻近Q的— $\xi$ —与降解决定子共价结合,并且通过邻近Z的— $\xi$ —与靶向配体共价结合。

[0429] 在替代实施方案中,接头具有式L0':



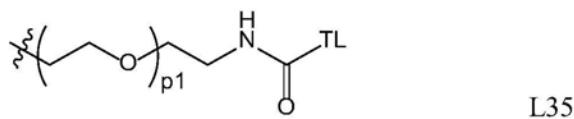
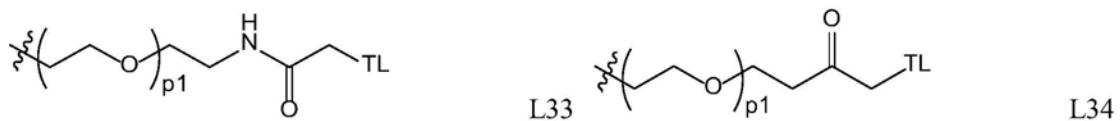
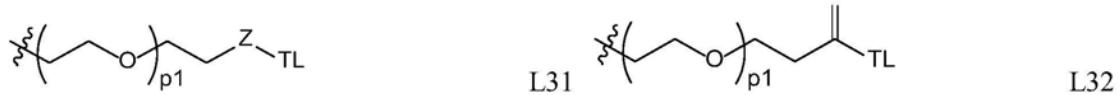
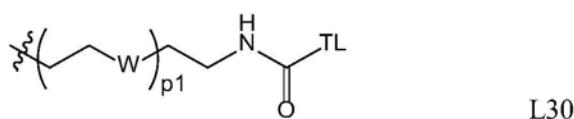
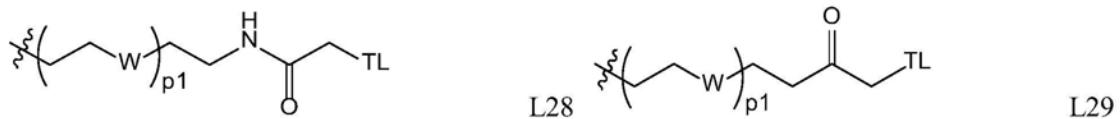
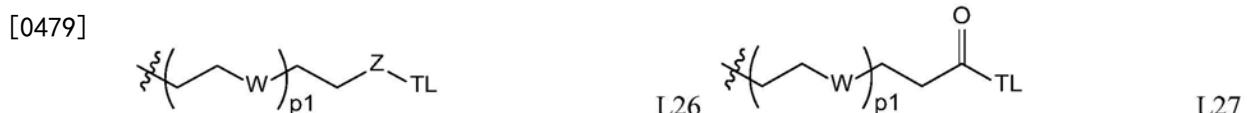
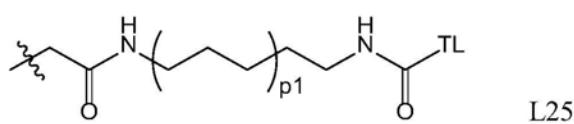
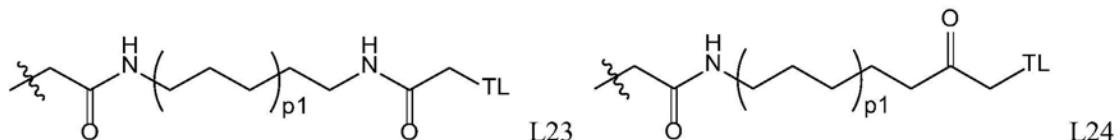
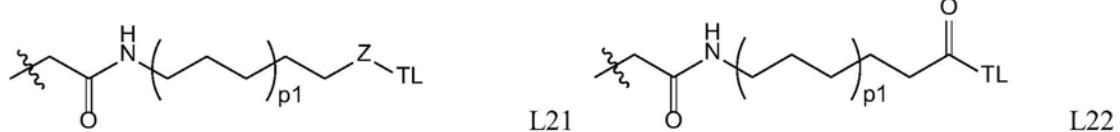
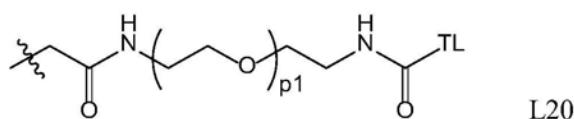
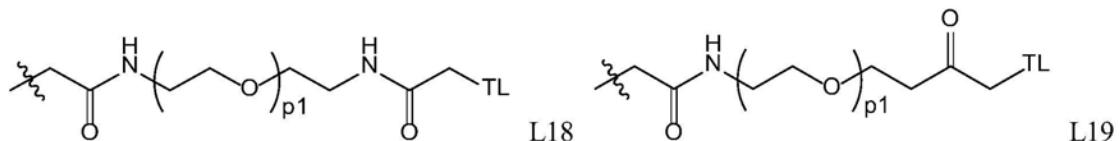
- [0431] 或其对映异构体、非对映异构体或立体异构体,其中:
- [0432] p1是选自0至12的整数;
- [0433] p2是选自0至12的整数;
- [0434] p3是选自0至6的整数;
- [0435] 每个W独立地为不存在、 $\text{CH}_2$ 、O、S、NH或NR<sup>10</sup>;
- [0436] Z为不存在、 $\text{CH}_2$ 、O、NH、NR<sup>10</sup>、C(0) ( $\text{CH}_2$ )<sub>0-3</sub>或NHC(0) ( $\text{CH}_2$ )<sub>0-3</sub>;
- [0437] 每个R<sup>10</sup>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基;且
- [0438] Q是杂环,
- [0439] 其中接头通过邻近Q的— $\xi$ —与降解决定子共价结合,并且通过邻近Z的— $\xi$ —与靶向配体共价结合。

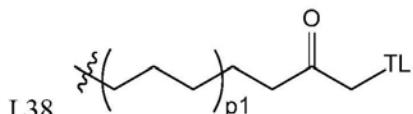
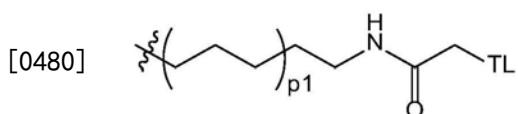
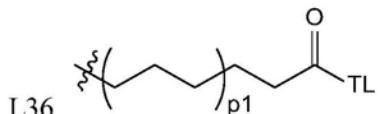
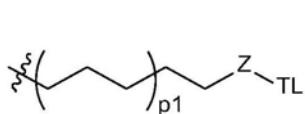
[0440] 在一个实施方案中,接头中链原子的总数小于30。在进一步的实施方案中,接头中链原子的总数小于20。

- [0441] 对于式L0的接头:
- [0442] 在一个实施方案中,p1是选自0至10的整数。
- [0443] 在一个实施方案中,p1是选自1至10的整数。
- [0444] 在一个实施方案中,p1选自1、2、3、4、5和6。
- [0445] 在一个实施方案中,p1是0、1、3或5。
- [0446] 在一个实施方案中,p1是0、1、2或3。
- [0447] 在一个实施方案中,p1是1。
- [0448] 在一个实施方案中,p1是3。
- [0449] 在一个实施方案中,p1是5。
- [0450] 在一个实施方案中,p2是选自0至10的整数。
- [0451] 在一个实施方案中,p2选自0、1、2、3、4、5和6。
- [0452] 在一个实施方案中,p2是0、1、2或3。

- [0453] 在一个实施方案中,p2是0。
- [0454] 在一个实施方案中,p2是1。
- [0455] 在一个实施方案中,p3是选自0至5的整数。
- [0456] 在一个实施方案中,p3是1、2、3、4或5。
- [0457] 在一个实施方案中,p3是1、2或3。
- [0458] 在一个实施方案中,p3是0。
- [0459] 在一个实施方案中,p3是2或3。
- [0460] 在一个实施方案中,p3是2。
- [0461] 在一个实施方案中,至少一个W为 $\text{CH}_2$ 。
- [0462] 在一个实施方案中,至少一个W是0。
- [0463] 在一个实施方案中,至少一个W是S。
- [0464] 在一个实施方案中,至少一个W是NH。
- [0465] 在一个实施方案中,至少一个W是 $\text{NR}^{10}$ ;R<sup>10</sup>是选自甲基、乙基和丙基的C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。
- [0466] 在一个实施方案中,每个W是0。
- [0467] 在一个实施方案中,Q不存在。
- [0468] 在一个实施方案中,Q为 $\text{CH}_2\text{C}(0)\text{NH}$ 。
- [0469] 在一个实施方案中,Z为C(0)、C(0)(CH<sub>2</sub>)、C(0)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>或C(0)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>。在一个实施方案中,Z为C(0)。
- [0470] 在一个实施方案中,Z为NHC(0)、NHC(0)(CH<sub>2</sub>)、NHC(0)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>或NHC(0)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>。在一个实施方案中,Z是NHC(0)(CH<sub>2</sub>)。
- [0471] 在一个实施方案中,Z不存在。
- [0472] 在一个实施方案中,Z为 $\text{CH}_2$ 。
- [0473] 在一个实施方案中,Z为0。
- [0474] 在一个实施方案中,Z为NH。
- [0475] 在一个实施方案中,Z为 $\text{NR}^{10}$ ;R<sup>10</sup>是选自甲基、乙基和丙基的C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。
- [0476] 在一个实施方案中,Z是与接头键合的靶向配体的一部分,即Z由靶向配体的官能团与接头反应形成。
- [0477] 在一个实施方案中,接头-靶向配体(TL)具有选自表L1的结构:

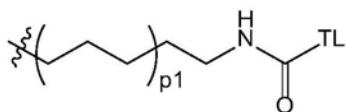






L37

L39



L40

[0481] 其中Q、Z和p1各自如上所述,TL是靶向配体。

[0482] 在一个实施方案中,p1是0、1、2、3、4或5。在一个实施方案中,p1是0。在一个实施方案中,p1是1、3或5。在一个实施方案中,p1是1。在一个实施方案中,p1是3。在一个实施方案中,p1是5。

[0483] 在一个实施方案中,Q为 $\text{CH}_2\text{C}(0)\text{NH}$ 。

[0484] 在一个实施方案中,Q不存在。

[0485] 在一个实施方案中,Z为 $\text{C}(0)(\text{CH}_2)_{0-3}$ 。在一个实施方案中,Z为 $\text{C}(0)$ 。在一个实施方案中,Z是 $\text{NHC}(0)(\text{CH}_2)_{0-3}$ 。在一个实施方案中,Z是 $\text{NHC}(0)(\text{CH}_2)$ 。

[0486] 在一个实施方案中,Q是 $\text{CH}_2\text{C}(0)\text{NH}$ ,并且Z是 $\text{NHC}(0)(\text{CH}_2)$ 。

[0487] 在一个实施方案中,Q是 $\text{CH}_2\text{C}(0)\text{NH}$ ,并且Z是 $\text{C}(0)$ 。

[0488] 在一个实施方案中,Q不存在,Z是 $\text{NHC}(0)(\text{CH}_2)$ 。

[0489] 在一个实施方案中,Q不存在,Z为 $\text{C}(0)$ 。

[0490] 对于式L0'的接头:

[0491] 在一个实施方案中,p1是选自0至10的整数。

[0492] 在一个实施方案中,p1是选自1至10的整数。

[0493] 在一个实施方案中,p1选自1、2、3、4、5和6。

[0494] 在一个实施方案中,p1是0、1、3或5。

[0495] 在一个实施方案中,p1是0、1、2或3。

[0496] 在一个实施方案中,p1是1。

[0497] 在一个实施方案中,p1是3。

[0498] 在一个实施方案中,p1是5。

[0499] 在一个实施方案中,p2是选自0至10的整数。

[0500] 在一个实施方案中,p2选自0、1、2、3、4、5和6。

[0501] 在一个实施方案中,p2是0、1、2或3。

[0502] 在一个实施方案中,p2是0。

[0503] 在一个实施方案中,p2是1。

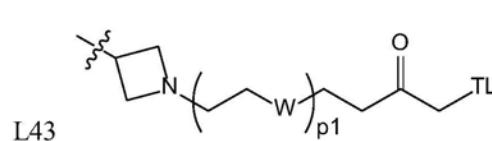
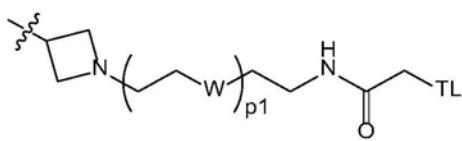
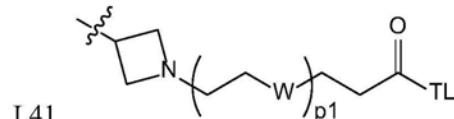
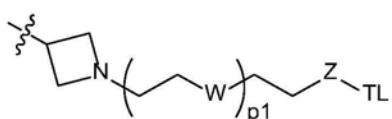
[0504] 在一个实施方案中,p3是选自0至5的整数。

[0505] 在一个实施方案中,p3是1、2、3、4或5。

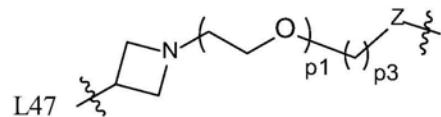
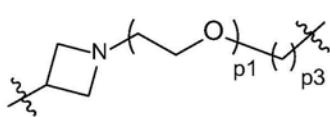
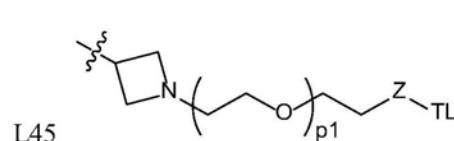
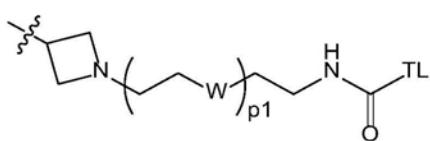
[0506] 在一个实施方案中,p3是1、2或3。

[0507] 在一个实施方案中,p3为0。

- [0508] 在一个实施方案中,p3是2或3。
- [0509] 在一个实施方案中,p3是2。
- [0510] 在一个实施方案中,至少一个W为 $\text{CH}_2$ 。
- [0511] 在一个实施方案中,至少一个W是0。
- [0512] 在一个实施方案中,至少一个W是S。
- [0513] 在一个实施方案中,至少一个W是NH。
- [0514] 在一个实施方案中,至少一个W是 $\text{NR}^{10}$ ;R<sup>10</sup>是选自甲基、乙基和丙基的C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。
- [0515] 在一个实施方案中,每个W为0。
- [0516] 在一个实施方案中,Q为杂环。
- [0517] 在一个实施方案中,Q是氮杂环丁烷。
- [0518] 在一个实施方案中,Z为C(0)、C(0)(CH<sub>2</sub>)、C(0)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>或C(0)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>。在一个实施方案中,Z为C(0)。
- [0519] 在一个实施方案中,Z为NHC(0)、NHC(0)(CH<sub>2</sub>)、NHC(0)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>或NHC(0)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>。在一个实施方案中,Z是NHC(0)(CH<sub>2</sub>)。
- [0520] 在一个实施方案中,Z不存在。
- [0521] 在一个实施方案中,Z为CH<sub>2</sub>。
- [0522] 在一个实施方案中,Z为0。
- [0523] 在一个实施方案中,Z为NH。
- [0524] 在一个实施方案中,Z为 $\text{NR}^{10}$ ;R<sup>10</sup>是选自甲基、乙基和丙基的C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。
- [0525] 在一个实施方案中,Z是与接头键合的靶向配体的一部分,即Z由靶向配体的官能团与接头反应形成。
- [0526] 在另一个实施方案中,接头-靶向配体(TL)具有选自表L2的结构:



[0527]

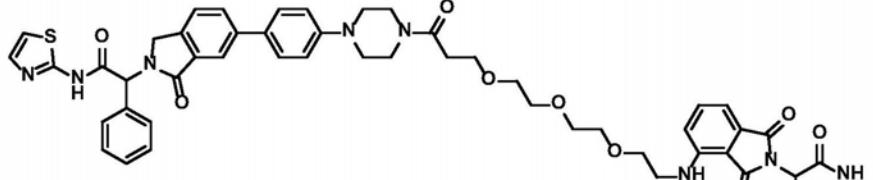
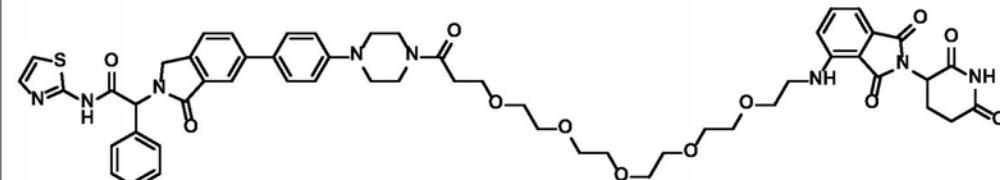
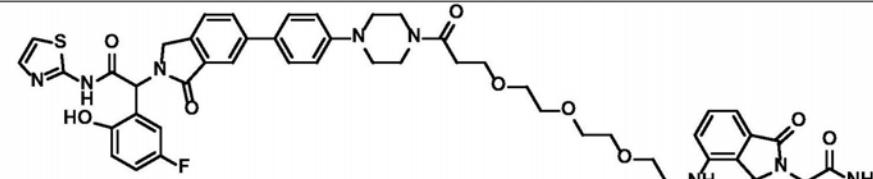
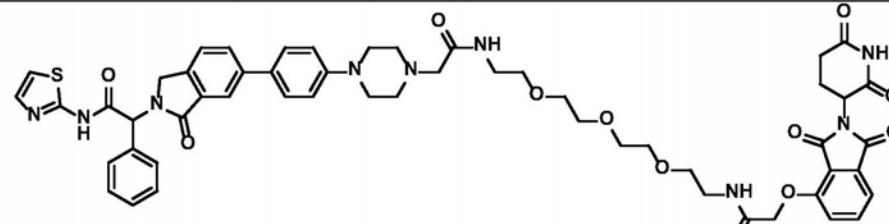
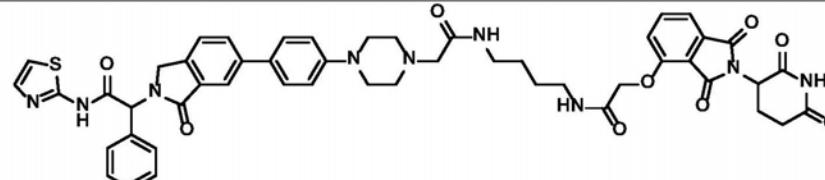
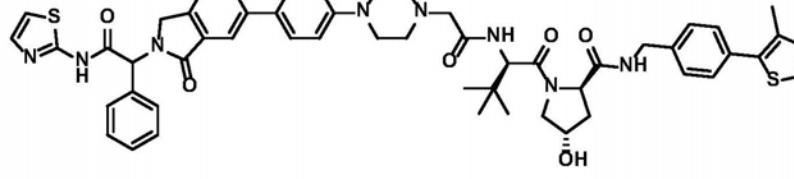


[0528] 在一个实施方案中,p1是0、1、2、3、4或5。在一个实施方案中,p1是0。在一个实施方案中,p1是1、3或5。在一个实施方案中,p1是1。在一个实施方案中,p1是3。在一个实施方案中,p1是5。

[0529] 在一个实施方案中,Q是杂环。

- [0530] 在一个实施方案中,Q是氮杂环丁烷。
- [0531] 在一个实施方案中,Z为C(0) ( $\text{CH}_2$ )<sub>0-3</sub>。在一个实施方案中,Z为C(0)。在一个实施方案中,Z是NHC(0) ( $\text{CH}_2$ )<sub>0-3</sub>。在一个实施方案中,Z是NHC(0) ( $\text{CH}_2$ )。
- [0532] 在一个实施方案中,Q是杂环,Z是NHC(0) ( $\text{CH}_2$ )。
- [0533] 在一个实施方案中,Q是杂环,Z是C(0)。
- [0534] 在一个实施方案中,Q是氮杂环丁烷,Z是NHC(0) ( $\text{CH}_2$ )。
- [0535] 在一个实施方案中,Q是氮杂环丁烷,Z是C(0)。
- [0536] 在一个实施方案中,接头-靶向配体具有选自L2、L3、L7、L8、L12、L13、L17、L18、L22、L23、L27、L28、L32、L33、L37、L38和L47的结构。在一个实施方案中,接头-靶向配体具有选自L18、L23、L32和L47的结构。
- [0537] 本文描述的任何一种降解决定子可以与本文描述的任何一种接头共价结合。本文描述的任何一种靶向配体可以与本文描述的任何一种接头共价结合。
- [0538] 在一个实施方案中,本申请包括降解决定子-接头(DL),其中降解决定子具有式D1,并且接头选自L1-L48。在一个实施方案中,本申请包括降解决定子-接头(DL),其中降解决定子是式D1a-D1d之一,并且接头选自L1-L48。在一个实施方案中,降解决定子是式D1a-D1d之一,并且接头选自L18、L23、L32和L47。在一个实施方案中,降解决定子具有式D1a或D1b,并且接头为L18或L23。在一个实施方案中,降解决定子具有式D1c或D1d,并且接头是L32。
- [0539] 在一个实施方案中,关于接头的连接位置,基于靶向配体的SAR(结构-活性关系)和X射线晶体学来设计和优化接头。
- [0540] 在一个实施方案中,最佳接头长度和组成因靶向配体而变化,并且可以基于与其靶标结合的靶向配体的X射线结构来评估。还可以改变接头长度和组成以调节代谢稳定性和药代动力学(PK)以及药效学(PD)参数。
- [0541] 本申请的一些实施方案涉及具有表A1和表A2中以下结构的双功能化合物:
- [0542] 表A1

| 化<br>合<br>物<br>编<br>号 | 结构 |
|-----------------------|----|
| [0543]                |    |

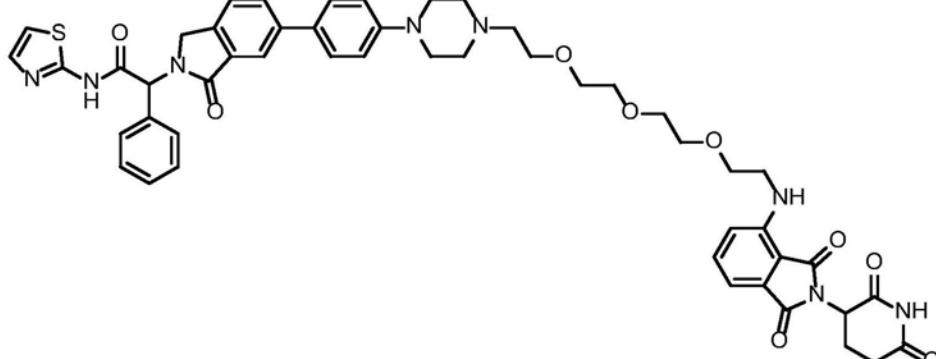
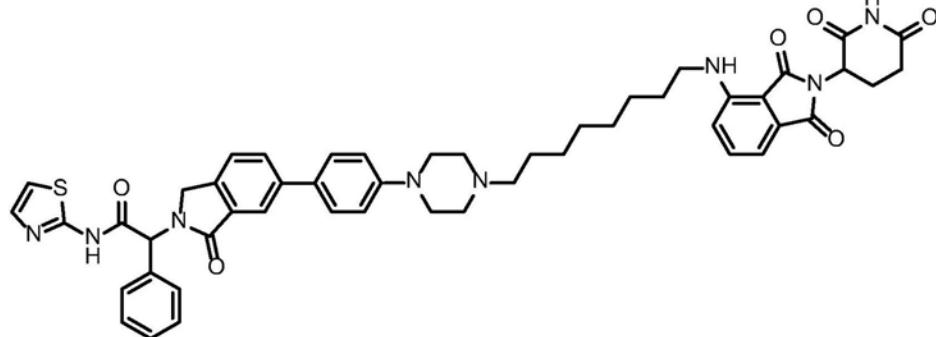
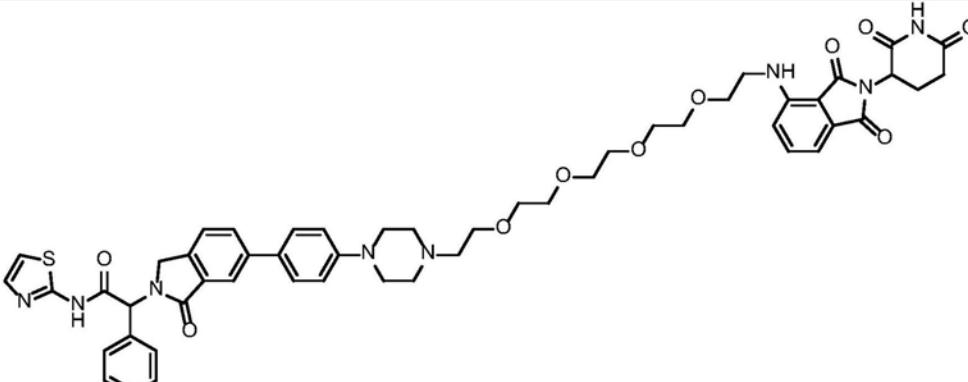
| 化<br>合<br>物<br>编<br>号 | 结构   |
|-----------------------|--|
| I-1                   |    |
| I-2                   |    |
| [0544]                |   |
| I-4                   |  |
| I-5                   |  |
| I-6                   |  |

[0545] 表A2

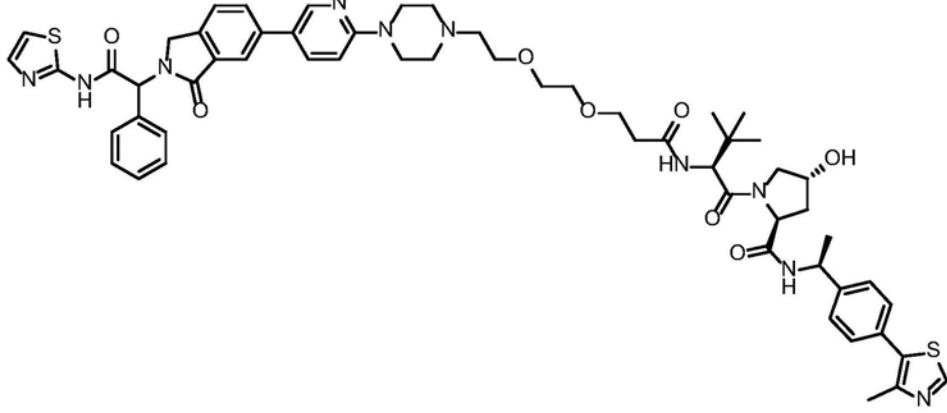
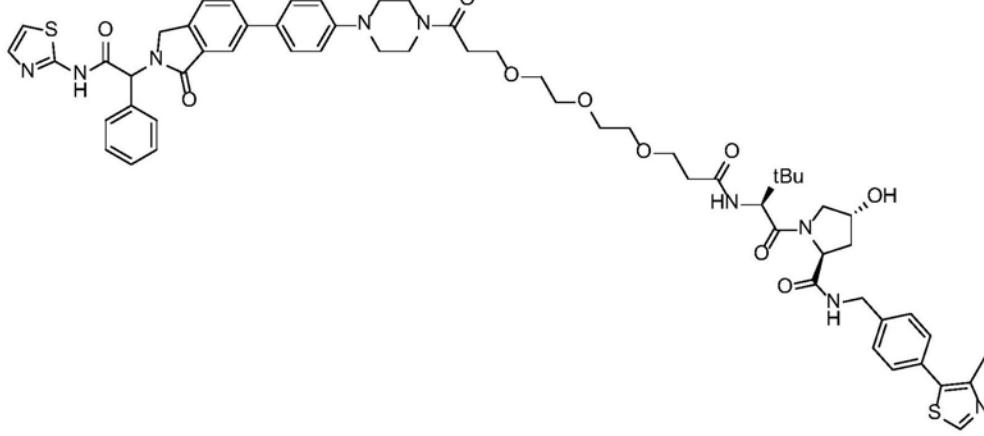
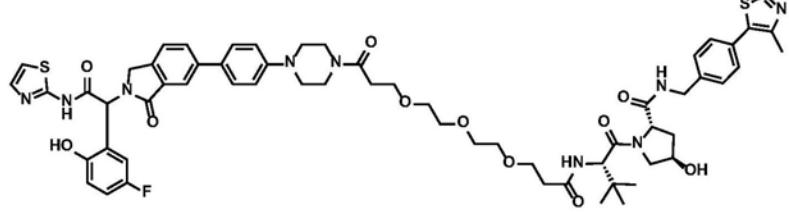
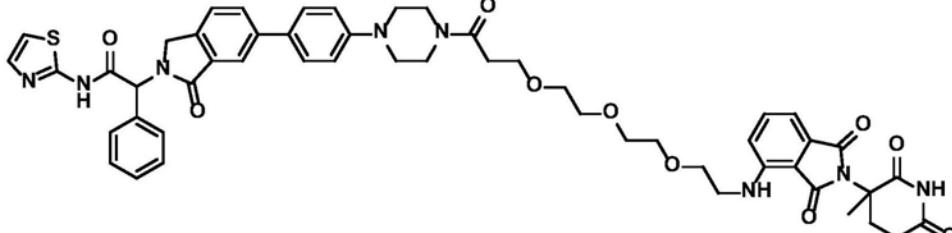
| 化<br>合<br>物<br>编<br>号 | 结构 |
|-----------------------|----|
| I-7                   |    |
| [0546]                |    |
| I-9                   |    |

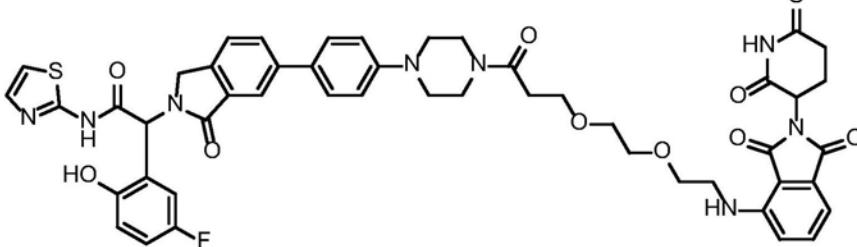
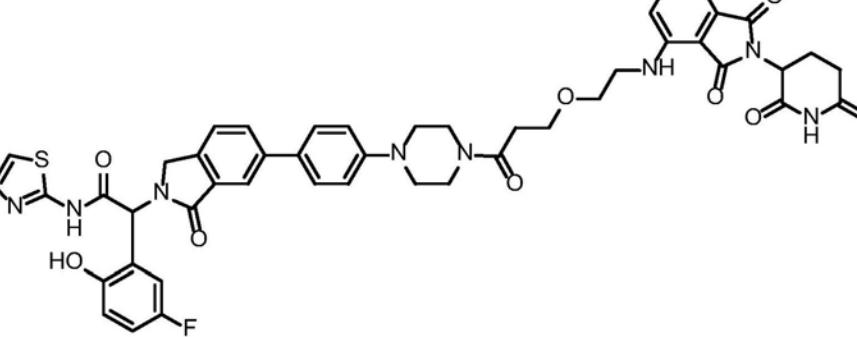
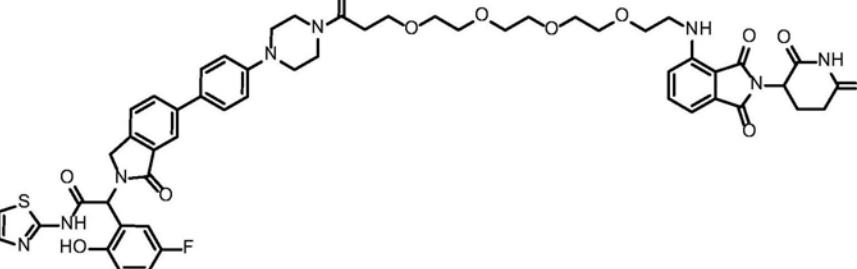
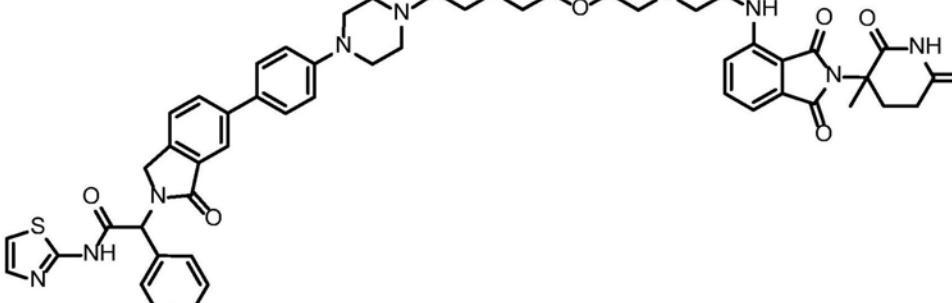
| 化<br>合<br>物<br>编<br>号 | 结构 |
|-----------------------|----|
| I-10                  |    |
| I-11<br>[0547]        |    |
| I-12                  |    |
| I-13                  |    |

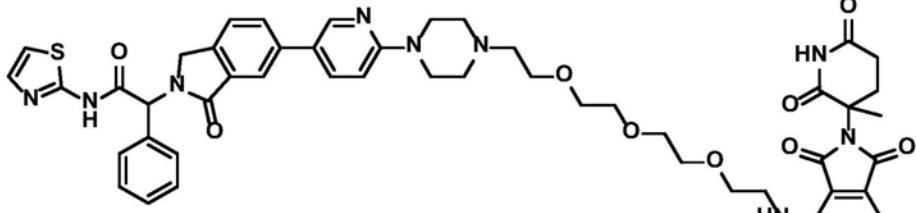
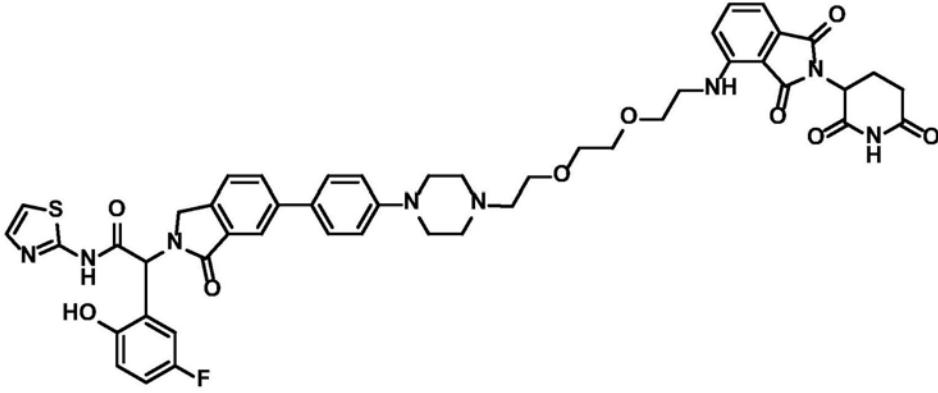
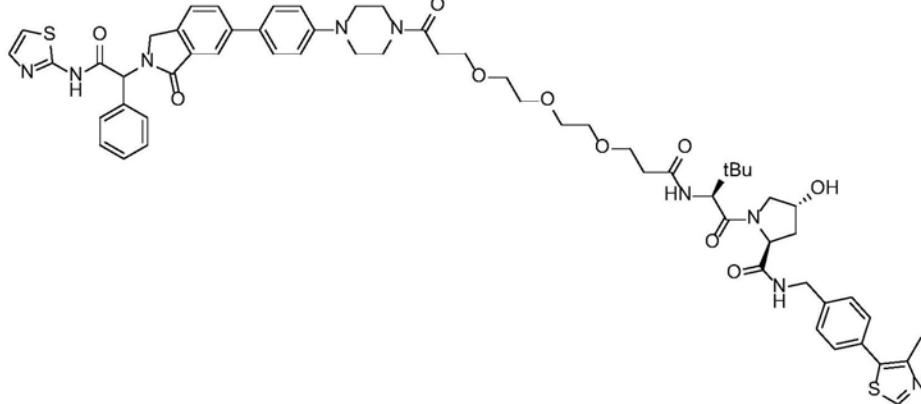
| 化<br>合<br>物<br>编<br>号 | 结构 |
|-----------------------|----|
| I-14                  |    |
| [0548]                |    |
| I-16                  |    |
| I-17                  |    |

| 化<br>合<br>物<br>编<br>号 | 结构   |
|-----------------------|--|
| I-18                  |    |
| [0549]                |   |
| I-20                  |  |

| 化<br>合<br>物<br>编<br>号 | 结构 |
|-----------------------|----|
| I-21                  |    |
| [0550]<br>I-22        |    |
| I-23                  |    |

| 化<br>合<br>物<br>编<br>号 | 结构   |
|-----------------------|--|
| I-24                  |    |
| [0551]                |   |
| I-26                  |  |
| I-27                  |  |

| 化<br>合<br>物<br>编<br>号 | 结构   |
|-----------------------|--|
| I-28                  |    |
| I-29<br>[0552]        |   |
| I-30                  |  |
| I-31                  |  |

| 化<br>合<br>物<br>编<br>号 | 结构  |
|-----------------------|---|
| I-32                  |               |
| [0553]                | <p>I-33</p>  |
| I-34                  |             |

| 化<br>合<br>物<br>编<br>号     | 结构 |
|---------------------------|----|
| [0554]<br><br><b>I-35</b> |    |

[0555] 前述化合物中的一些可包括一个或多个不对称中心,因此可以以各种异构形式存在。在一个实施方案中,化合物以立体异构体存在。在一个实施方案中,化合物以非对映异构体存在。因此,本申请的化合物可以是单一对映异构体、非对映异构体或几何异构体的形式,或可以是立体异构体混合物的形式。在一个实施方案中,本申请的化合物是对映体纯的化合物。在另一个实施方案中,提供了立体异构体或非对映异构体的混合物。

[0556] 此外,除非另有说明,否则如本文所述的某些化合物可具有一个或多个可以Z或E异构体存在的双键。该申请还包括作为基本上不含其它E/Z异构体的单独的Z/E异构体的化合物,或者作为各种异构体的混合物。

[0557] 在一个实施方案中,本申请提供靶向蛋白质的化合物,例如用于降解的EGFR,其具有优于蛋白质功能(例如,激酶活性)抑制剂的许多优点,并且可以a)在某些情况下克服抗性;b)通过破坏蛋白质来延长药物作用的动力学,因此即使化合物被代谢后也需要蛋白质的再合成;c)同时靶向蛋白质的所有功能而不是特定的催化活性或结合事件;d)通过包含可以开发配体的所有蛋白质,而不是其活性(例如,激酶活性)可以受小分子抑制剂、拮抗剂或激动剂影响的蛋白质来扩展药物靶标的数量;和e)由于小分子催化作用的可能性,与抑制剂相比具有增加的效力。

[0558] 本申请的一些实施方案涉及30%至100%的靶蛋白的降解或损失。一些实施方案涉及50-100%的靶蛋白的损失。其他实施方案涉及75-95%的靶蛋白的损失。

[0559] 式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物能够调节或降低靶蛋白(例如EGFR)的量。式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物还能够通过UPP途径降解靶蛋白(例如EGFR)。式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物也能够阻止EGFR二聚体形成。因此,本申请的双功能化合物(例如,本文所述的任何式的双功能化合物,或选自本文所述的任何双功能化合物)也能够治疗或预防其中EGFR起作用(例如通过EGFR二聚体形成)或其中EGFR失调(例如过表达)的疾病或病症。

[0560] 在一些实施方案中,本申请的双功能化合物共价结合EGFR或其突变体。在其他实施方案中,本申请的双功能化合物非共价地结合EGFR或其突变体。

[0561] 在一些实施方案中,式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物能够抑制或降低含有一个或多个突变的EGFR的活性。在一些实施方案中,突变型EGFR含有一个或多个选自T790M、L718Q、L844V、V948R、L858R、I941R、C797S和Del的突变。在其他实施方案中,突变型EGFR含有突变的组合,其中所述组合选自Del/L718Q、Del/L844V、Del/T790M、Del/T790M/L718Q、Del/T790M/L844V、L858R/L718Q、L858R/L844V、L858R/T790M、L858R/T790M/I941R、Del/T790M/Del/T790M/C797S、L858R/T790M/C797S和L858R/T790M/L718Q。在其他实施方案中,突变型EGFR含有突变的组合,其中所述组合选自Del/L844V、L858R/L844V、L858R/T790M/L858R/T790M/I941R、L858R/T790M/C797S、Del/T790M、Del/T790M/C797S和L858R/T790M。在其他实施方案中,突变型EGFR含有突变的组合,其中所述组合选自L858R/T790M、L858R/T790M/I941R、L858R/T790M/C797S、Del/T790M、Del/T790M/C797S和L858R/T790M。

[0562] 由式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物通过UPP介导的降解调节EGFR提供了治疗、预防或改善其中EGFR发挥作用的疾病或病症的新方法,疾病或病症包括但不限于癌症和转移、炎症、关节炎、系统性红斑狼疮、皮肤相关疾病、肺病、心血管疾病、缺血、神经退行性疾病、肝病、胃肠道疾病、病毒和细菌感染、中枢神经系统疾病、阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化症、脊髓损伤和周围神经病变。此外,由本申请的双功能化合物(例如本文所述的那些)通过UPP介导的降解调节EGFR还提供了治疗、预防或改善其中EGFR失调的疾病或病症的新范例。

[0563] 在一个实施方案中,式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物在治疗疾病或病症(例如癌症)方面比单独施用靶向配体时(即,未与接头和降解决定子结合)更有效或者能够治疗对靶向配体有抗性的疾病或病症。在一个实施方案中,本申请的双功能化合物(例如,本文所述的任何式的双功能化合物,或选自本文所述的任何双功能化合物)能够调节(例如,减少)EGFR的量,并因此可用于治疗其中EGFR发挥作用的疾病或病症(例如癌症)。

[0564] 在一个实施方案中,式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物在治疗疾病或病症方面比单独施用靶向配体时(即,不与接头和降解决定子结合)更有效,或者能够治疗对靶向配体有抗性的疾病或病症,比单独施用靶向配体时(即,不与接头和降解决定子结合)更有效地抑制细胞(例如,癌细胞)的生长或降低细胞(例如,癌细胞)的活力。在一个实施方案中,双功能化合物抑制细胞(例如,癌细胞)的生长或降低细胞(例如癌细胞)的活力的IC<sub>50</sub>低于单独施用靶向配体抑制细胞生长或降低细胞活力时(即,不与接头和降解决定子结合)的IC<sub>50</sub>。在一个实施方案中,双功能化合物的IC<sub>50</sub>为靶向配体的IC<sub>50</sub>的至多90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%、8%、5%、4%、3%、2%、1%、0.8%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%或0.1%。在一个实施方案中,双功能化合物的IC<sub>50</sub>为靶向配体的IC<sub>50</sub>的至多50%、40%、30%、20%、10%、8%、5%、4%、3%、2%、1%、0.8%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%或0.1%。在一个实施方案中,双功能化合物的IC<sub>50</sub>为靶向配体IC<sub>50</sub>的至多30%、20%、10%、8%、5%、4%、3%、2%、1%、0.8%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%或0.1%。在一个实施方案中,双功能化合物的IC<sub>50</sub>为靶向配体IC<sub>50</sub>的至多10%、8%、5%、4%、3%、2%、1%、0.8%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%或0.1%。在一个实施方案中,双功能化合物的IC<sub>50</sub>为靶向配体IC<sub>50</sub>的至多5%、4%、3%、2%、1%、0.8%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%或0.1%。在一个实施方案中,双功能化合物的IC<sub>50</sub>为靶向配体的IC<sub>50</sub>的至多2%、1%、0.8%、0.5%、0.4%、

0.3%、0.2%或0.1%。在一个实施方案中,双功能化合物的IC<sub>50</sub>为靶向配体的IC<sub>50</sub>的至多1%、0.8%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%或0.1%。在一个实施方案中,双功能化合物抑制细胞(例如癌细胞)的生长或降低细胞(例如癌细胞)的活力的Emax低于靶向配体(当靶向配体单独施用时(即,不与接头和降解决定子结合))抑制细胞的生长或降低细胞的活力的Emax。在一个实施方案中,双功能化合物的Emax为靶向配体Emax的至多90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%、8%、5%、4%、3%、2%或1%。在一个实施方案中,双功能化合物的Emax为靶向配体Emax的至多50%、40%、30%、20%、10%、8%、5%、4%、3%、2%或1%。在一个实施方案中,双功能化合物的Emax为靶向配体的Emax的至多90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%或10%。

[0565] 在一些实施方案中,式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物可以调节含有一个或多个突变的EGFR,例如本文所述的突变,但不是野生型EGFR。在一些实施方案中,相对于野生型EGFR,本申请的化合物对含有如本文所述的一种或多种突变的EGFR表现出更大的抑制。在某些实施方案中,本申请的双功能化合物对含有本文描述的一个或多个突变的EGFR显示出比对野生型EGFR大至少2倍、3倍、5倍、10倍、25倍、50倍或100倍的抑制。在各种实施方案中,本申请的双功能化合物对含有如本文所述的一种或多种突变的EGFR显示出比对野生型EGFR的大1000倍的抑制。在各种实施方案中,式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物对具有本文所述突变组合(例如L858R/T790M、L858R/T790M/I941R、L858R/T790M/C797S、Del/T790M、Del/T790M/C797S和L858R/T790M)的EGFR显示出比对野生型EGFR大10000倍的抑制。

[0566] 在一些实施方案中,式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物对含有本文描述的一个或多个突变的EGFR显示出比对野生型EGFR大约2倍至约10倍的抑制。在各种实施方案中,本申请的双功能化合物对含有本文描述的一个或多个突变的EGFR显示出比对野生型EGFR大约10倍至约100倍的抑制。在各种实施方案中,本申请的双功能化合物对含有本文描述的一个或多个突变的EGFR显示出比对野生型EGFR大约100倍至约1000倍的抑制。在各种实施方案中,本申请的双功能化合物对含有本文描述的一个或多个突变的EGFR显示出比对野生型EGFR大约1000倍至约10000倍的抑制。

[0567] 在某些实施方案中,式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物对具有选自L858R/T790M、L858R/T790M/I941R、L858R/T790M/C797S、Del/T790M、Del/T790M/C797S和L858R/T790M的突变组合的EGFR显示出比对野生型EGFR大至少2倍的抑制。在某些实施方案中,本申请的双功能化合物对具有选自L858R/T790M、L858R/T790M/I941R、L858R/T790M/C797S、Del/T790M、Del/T790M/C797S和L858R/T790M的突变组合的EGFR显示出比对野生型EGFR大至少3倍的抑制。在某些实施方案中,本申请的双功能化合物对具有选自L858R/T790M、L858R/T790M/I941R、L858R/T790M/C797S、Del/T790M、Del/T790M/C797S和L858R/T790M的突变组合的EGFR显示出比对野生型EGFR大至少5倍的抑制。在某些实施方案中,本申请的双功能化合物对具有选自L858R/T790M、L858R/T790M/I941R、L858R/T790M/C797S、Del/T790M、Del/T790M/C797S和L858R/T790M的突变组合的EGFR显示出比对野生型EGFR大至少10倍的抑制。在某些实施方案中,本申请的双功能化合物对具有选自L858R/T790M、L858R/T790M/I941R、L858R/T790M/C797S、Del/T790M、Del/T790M/C797S和L858R/T790M的突变组合的EGFR显示出比对野生型EGFR大至少25倍的抑制。在某些实施方案中,本申请的

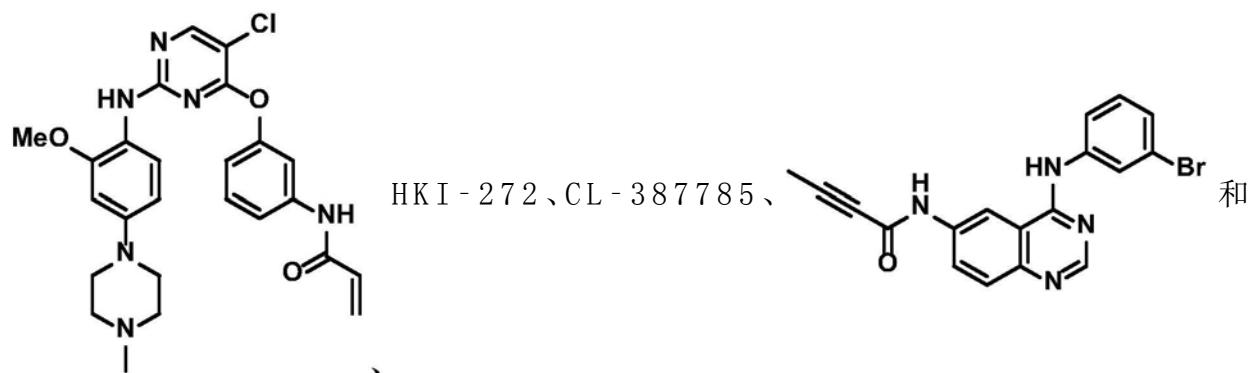
双功能化合物对具有选自L858R/T790M、L858R/T790M/I941R、L858R/T790M/C797S、Del/T790M、Del/T790M/C797S和L858R/T790M的突变组合的EGFR显示出比对野生型EGFR大至少50倍的抑制。在某些实施方案中,本申请的双功能化合物对具有选自L858R/T790M、L858R/T790M/I941R、L858R/T790M/C797S、Del/T790M、Del/T790M/C797S和L858R/T790M的突变组合的EGFR显示出比对野生型EGFR大至少100倍的抑制。

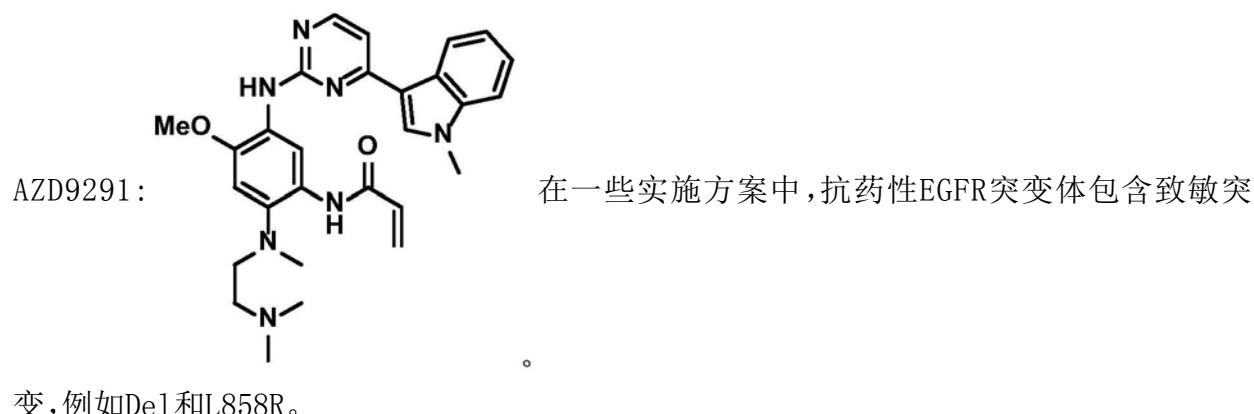
[0568] 在一些实施方案中,通过IC<sub>50</sub>测量EGFR活性的抑制。

[0569] 在一些实施方案中,通过EC<sub>50</sub>测量EGFR活性的抑制。

[0570] 在一些实施方案中,式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物与EGFR中的变构位点结合。在一些实施方案中,本申请的双功能化合物与选自Lys745、Leu788和Ala743的表皮生长因子受体(EGFR)的至少一个氨基酸残基相互作用。在其他实施方案中,本申请的双功能化合物与选自Cys755、Leu777、Phe856和Asp855的表皮生长因子受体(EGFR)的至少一个氨基酸残基相互作用。在其他实施方案中,本申请的双功能化合物与选自Met766、Ile759、Glu762和Ala763的表皮生长因子受体(EGFR)的至少一个氨基酸残基相互作用。在其他实施方案中,本申请的双功能化合物与选自Lys745、Leu788和Ala743的表皮生长因子受体(EGFR)的至少一个氨基酸残基、选自Cys755、Leu777、Phe856和Asp855的表皮生长因子受体(EGFR)的至少一个氨基酸残基以及选自Met766、Ile759、Glu762和Ala763的表皮生长因子受体(EGFR)的至少一个氨基酸残基相互作用。在其他实施方案中,本申请的双功能化合物不与选自Met793、Gly796和Cys797的表皮生长因子受体(EGFR)的任一氨基酸残基相互作用。

[0571] 在一些实施方案中,本申请提供了包含变构激酶抑制剂的双功能化合物,其中双功能化合物是比对野生型EGFR更有效的抗药性EGFR突变体抑制剂。例如,双功能化合物对抗药性EGFR突变体的激酶活性的抑制比对野生型EGFR更有效至少约2倍、3倍、5倍、10倍、25倍、50倍或约100倍。在一些实施方案中,抗药性EGFR突变体对一种或多种已知的EGFR抑制剂具有抗性,包括但不限于吉非替尼、埃罗替尼、拉帕替尼、WZ4002:





[0572] 在一些实施方案中,本申请提供了包含变构激酶抑制剂的双功能化合物,其中所述化合物抑制具有致敏突变(例如Del和L858R)和抗药性突变(例如,T790M、L718Q、C797S和L844V)的耐药性EGFR突变体的激酶活性与对具有致敏突变但不具有抗药性突变的EGFR突变体的效力差异小于10倍(例如,通过IC<sub>50</sub>测量)。在一些实施方案中,效力差异小于约9倍、8倍、7倍、6倍、5倍、4倍、3倍或2倍。

[0573] 在一些实施方案中,本申请提供了包含变构激酶抑制剂的双功能化合物,其中该化合物比一种或多种已知的EGFR抑制剂更有效,包括但不限于吉非替尼、埃罗替尼、拉帕替尼、WZ4002、HKI-272、CL-387785和AZD9291,其抑制含有如本文所述的一种或多种突变,例如T790M、L718Q、L844V、L858R、C797S和Del的EGFR的活性。例如,与吉非替尼、埃罗替尼、拉帕替尼、WZ4002、HKI-272、CL-387785和AZD9291相比,该化合物抑制含有如本文所述的一种或多种突变的EGFR的活性的效力可以是至少约2倍、3倍、5倍、10倍、25倍、50倍或约100倍(例如,通过IC<sub>50</sub>测量)。

[0574] 在一些实施方案中,本申请提供了包含变构激酶抑制剂的双功能化合物,其中双功能化合物抑制野生型EGFR的活性的效力低于一种或多种已知的EGFR抑制剂,包括但不限于吉非替尼、埃罗替尼、拉帕替尼、WZ4002、HKI-272、CL-387785和AZD9291。例如,双功能化合物抑制野生型EGFR的活性的效力可以是吉非替尼、埃罗替尼、拉帕替尼、WZ4002、HKI-272、CL-387785和AZD9291的至少约2倍、3倍、5倍、10倍、25倍、50倍或约100倍(例如通过IC<sub>50</sub>测量)。

[0575] 抑制剂的效力可以通过EC<sub>50</sub>值确定。具有在基本相似的条件下测定的较低EC<sub>50</sub>值的化合物相对于具有较高EC<sub>50</sub>值的化合物是更有效的抑制剂。在一些实施方案中,基本相似的条件包括在体外或体内确定EGFR依赖性磷酸化水平或确定细胞增殖或细胞死亡(例如,在表达野生型EGFR、突变型EGFR或其任何片段的3T3细胞中)。

[0576] 抑制剂的效力也可以通过IC<sub>50</sub>值确定。具有在基本相似的条件下测定的较低IC<sub>50</sub>值的化合物相对于具有较高IC<sub>50</sub>值的化合物是更有效的抑制剂。在一些实施方案中,基本相似的条件包括在体外或体内确定EGFR依赖性磷酸化水平或确定细胞增殖或细胞死亡(例如,在表达野生型EGFR、突变型EGFR或其任何片段的3T3细胞中)。

[0577] EGFR致敏突变包括但不限于L858R、G719S、G719C、G719A、L861Q、外显子19中的缺失和/或外显子20中的插入。抗药性EGFR突变体可以具有但不限于包含T790M、T854A、L718Q、C797S或D761Y的抗药性突变。

[0578] 野生型EGFR和含有如本文所述的一种或多种突变的EGFR之间的选择性也可以使

用细胞增殖测定来测量,其中细胞增殖依赖于激酶活性。例如,可以使用用合适形式的野生型EGFR(例如VIII;含有WT EGFR激酶结构域)转染的鼠Ba/F3细胞,或用L858R/T790M、Del/T790M/L718Q、L858R/T790M/L718Q、L858R/T790M/C797S、Del/T790M/C797S、L858R/T790M/I941R或外显子19缺失/T790M转染的Ba/F3细胞。在一系列抑制剂浓度(10μM、3μM、1.1μM、330nM、110nM、33nM、11nM、3nM、1nM)下进行增殖测定并计算EC<sub>50</sub>。

[0579] 测量对EGFR活性的影响的另一种方法是测定EGFR磷酸化。野生型或突变型(L858R/T790M、Del/T790M、Del/T790M/L718Q、L858R/T790M/C797S、Del/T790M/C797S、L858R/T790M/I941R或L858R/T790M/L718Q)EGFR可转染至NIH-3T3细胞(其通常不表达内源性EGFR),并且可以测定抑制剂(使用上述浓度)抑制EGFR磷酸化的能力。将细胞暴露于增加浓度的抑制剂6小时,并用EGF刺激10分钟。使用磷酸特异性(Y1068)EGFR抗体通过蛋白质印迹测定对EGFR磷酸化的影响。

[0580] 另一方面,本申请提供了与EGFR中的变构位点结合的双功能化合物,其中所述化合物对含有如本文所述的一个或多个突变(例如,L858R/T790M、Del/T790M、Del/T790M/L718Q、L858R/T790M/C797S、Del/T790M/C797S、L858R/T790M/I941R或L858R/T790M/L718Q)的EGFR比对野生型EGFR表现出大2倍、3倍、5倍、10倍、25倍、50倍、100倍或1000倍的抑制。

[0581] 在一个实施方案中,式X、式Y、式Z、式A、式B、式C或式D的双功能化合物可用作抗癌剂,因此可通过影响肿瘤细胞死亡或抑制肿瘤细胞的生长用于治疗癌症。在某些示例性实施方案中,所公开的抗癌剂可用于治疗癌症和其他增殖性疾病,包括但不限于乳腺癌、宫颈癌、结肠癌和直肠癌、白血病、肺癌(例如非小细胞肺癌)、黑色素瘤、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、白血病(例如、髓样、淋巴细胞、髓细胞和淋巴母细胞白血病)、恶性黑素瘤和T细胞淋巴瘤。

#### [0582] 定义

[0583] 下面列出的是本申请中使用的各种术语的定义。这些定义适用于整个说明书和权利要求书中使用的术语,或者单独地或者作为较大基团的一部分,除非在特定情况下另外限制。

[0584] 本文所用的术语“烷基”是指在某些实施方案中含有1-6个碳原子的饱和直链或支链烃基。C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、新戊基和正己基。

[0585] 本文所用的术语“烯基”表示衍生自烃部分的单价基团,在某些实施方案中,烃部分含有具有至少一个碳-碳双键的2-6个碳原子。双键可以是也可以不是与另一基团的连接点。烯基包括但不限于例如乙烯基、丙烯基、丁烯基、1-甲基-2-丁烯-1-基等。

[0586] 术语“烷氧基”是指-O-烷基。

[0587] 本文所用的术语“卤”、“卤代”和“卤素”是指选自氟、氯、溴和碘的原子。

[0588] 本文所用的术语“芳基”是指具有一个或多个稠合或非稠合芳环的单环或多环碳环系统,包括但不限于苯基、萘基、四氢萘基、茚满基、茚基等。

[0589] 本文所用的术语“芳烷基”是指与芳基环连接的烷基残基。实例包括但不限于苄基、苯乙基等。

[0590] 本文所用的术语“环烷基”表示衍生自单环或多环饱和或部分不饱和碳环化合物的单价基团。C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环

辛基;C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、双环[2.2.1]庚基和双环[2.2.2]辛基。还考虑了衍生自具有至少一个碳-碳双键的单环或多环碳环化合物通过去除单个氢原子的单价基团。这类基团的实例包括但不限于环丙烯基、环丁烯基、环戊烯基、环己烯基、环庚烯基、环辛烯基等。

[0591] 本文所用的术语“杂芳基”是指具有至少一个芳环具有5至10个环原子的单环或多环(例如,双环或三环或更多)稠合或非稠合的基团或环系统,其中一个环原子选自S、O和N;零个、一个或两个环原子是独立地选自S、O和N的另外的杂原子;剩下的环原子是碳。杂芳基包括但不限于吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、噻吩基、呋喃基、喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、喹喔啉基等。

[0592] 本文所用的术语“杂芳烷基”是指与杂芳基环连接的烷基残基。实例包括但不限于吡啶基甲基、嘧啶基乙基等。

[0593] 本文所用的术语“杂环基”或“杂环烷基”是指非芳族的3-,4-,5-,6-或7-元环或双-或三-环基团的稠合或非稠合系统,其中(i)每个环含有1至3个独立地选自氧、硫和氮的杂原子;(ii)每个5元环具有0至1个双键,每个6元环具有0至2个双键;(iii)氮和硫杂原子可任选被氧化,和(iv)氮杂原子可任选被季铵化。代表性的杂环烷基包括但不限于[1,3]二氧戊环、吡咯烷基、吡唑啉基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、哌啶基、哌嗪基、噁唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、噻唑烷基、异噻唑烷基和四氢呋喃基。

[0594] 术语“烷基氨基”是指具有结构-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基)例如-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)的基团,其中C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基如前所定义。

[0595] 术语“二烷基氨基”是指具有结构-N(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基)<sub>2</sub>例如-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)的基团,其中C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基如前所定义。

[0596] 术语“酰基”包括衍生自酸的残基,包括但不限于羧酸、氨基甲酸、碳酸、磺酸和亚磷酸。实例包括脂族羰基、芳族羰基、脂族磺酰基、芳族亚磺酰基、脂族亚磺酰基、芳族磷酸酯和脂族磷酸酯。脂族羰基的实例包括但不限于乙酰基、丙酰基、2-氟乙酰基、丁酰基、2-羟基乙酰基等。

[0597] 根据本申请,本文所述的任何芳基、取代的芳基、杂芳基和取代的杂芳基可以是任何芳族基团。芳族基团可以是取代的或未取代的。

[0598] 本文所用的术语“卤”、“卤代”和“卤素”是指选自氟、氯、溴和碘的原子。

[0599] 如本文所述,本申请的化合物可任选地被一个或多个取代基取代,例如上文一般性说明的,或如本申请的特定类别、亚类和种类所例示的。应理解,短语“任选取代的”可与短语“取代或未取代的”互换使用。通常,术语“取代的”,无论是否在术语“任选地”之后,是指用指定的取代基代替给定结构中的氢基团。除非另有说明,否则任选取代的基团可以在该基团的每个可取代的位置具有取代基,并且当任何给定结构中的多于一个位置可以被选自指定基团的多于一个取代基取代时,在每个位置的取代基可以相同或不同。本文所用的术语“任选取代的”、“任选取代的烷基”、“任选取代的烯基”、“任选取代的炔基”、“任选取代的环烷基”、“任选取代的环烯基”、“任选取代的芳基”、“任选取代的杂芳基”、“任选取代的芳烷基”、“任选取代的杂芳烷基”、“任选取代的杂环烷基”和任何其它任选取代的基团是指通过以下取代基独立地代替其上的一个、两个或三个或更多个氢原子取代或未取代的基

团,取代基包括但不限于:

[0600] -F、-Cl、-Br、-I、-OH、被保护的羟基、-NO<sub>2</sub>、-CN、-NH<sub>2</sub>、被保护的氨基、-NH-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-NH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-链烯基、-NH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NH-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-NH-芳基、-NH-杂芳基、-NH-杂环烷基、-二烷基氨基、-二芳基氨基、-二杂芳基氨基、-0-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-0-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-0-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-0-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-0-芳基、-0-杂芳基、-0-杂环烷基、-C(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-C(0)-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-C(0)-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-C(0)-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-C(0)-芳基、-C(0)-杂芳基、-C(0)-杂环烷基、-CONH<sub>2</sub>、-CONH-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-CONH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-CONH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-CONH-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-CONH-芳基、-CONH-杂芳基、-CONH-杂环烷基、-OCO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-OCO<sub>2</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-OCO<sub>2</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-OCO<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-OCO<sub>2</sub>-芳基、-OCO<sub>2</sub>-杂芳基、-OCO<sub>2</sub>-杂环烷基、-OCOCONH<sub>2</sub>、-OCOCONH-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-OCOCONH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-OCOCONH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-OCOCONH-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-OCOCONH-芳基、-OCOCONH-杂芳基、-OCOCONH-杂环烷基、-NHC(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-NHC(0)-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHC(0)-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHC(0)-杂芳基、-NHC(0)-杂环烷基、-NHCO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-NHCO<sub>2</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHCO<sub>2</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHCO<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-NHCO<sub>2</sub>-芳基、-NHCO<sub>2</sub>-杂芳基、-NHCO<sub>2</sub>-杂环烷基、NHC(0)NH<sub>2</sub>、-NHC(0)NH-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-NHC(0)NH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHC(0)NH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHC(0)NH-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-NHC(0)NH-芳基、-NHC(0)NH-杂芳基、NHC(0)NH-杂环烷基、-NHC(S)NH<sub>2</sub>、-NHC(S)NH-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-NHC(S)NH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHC(S)NH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHC(S)NH-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-NHC(S)NH-芳基、-NHC(S)NH-杂芳基、-NHC(S)NH-杂环烷基、-NHC(NH)NH<sub>2</sub>、-NHC(NH)NH-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-NHC(NH)NH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHC(NH)NH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHC(NH)NH-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-NHC(NH)NH-芳基、-NHC(NH)NH-杂芳基、-NHC(NH)NH-杂环烷基、-NHC(NH)-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-NHC(NH)-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHC(NH)-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHC(NH)-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-NHC(NH)-芳基、-NHC(NH)-杂芳基、-NHC(NH)-杂环烷基、-C(NH)NH-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-C(NH)NH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-C(NH)NH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-C(NH)NH-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-C(NH)NH-芳基、-C(NH)NH-杂芳基、-C(NH)NH-杂环烷基、-S(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-S(0)-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-S(0)-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-S(0)-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-S(0)-芳基、-S(0)-杂芳基、-S(0)-杂环烷基-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>NH-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-SO<sub>2</sub>NH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-SO<sub>2</sub>NH-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-SO<sub>2</sub>NH-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-SO<sub>2</sub>NH-芳基、-SO<sub>2</sub>NH-杂芳基、-SO<sub>2</sub>NH-杂环烷基、-NHSO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-NHSO<sub>2</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHSO<sub>2</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-NHSO<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-NHSO<sub>2</sub>-芳基、-NHSO<sub>2</sub>-杂芳基、-NHSO<sub>2</sub>-杂环烷基、-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-芳基、-芳基烷基、-杂芳基、-杂芳基烷基、-杂环烷基、-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、聚烷氧基烷基、聚烷氧基、-甲氧基甲氧基、-甲氧基乙氧基、-SH、-S-C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-烷基、-S-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-S-C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>-烯基、-S-C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-环烷基、-S-芳基、-S-杂芳基、-S-杂环烷基或甲硫基甲基。

[0601] 应理解,芳基、杂芳基、烷基等可以被取代。

[0602] 术语“癌症”包括但不限于以下癌症:表皮样口腔:口腔,唇,舌,口,咽;心脏:肉瘤(血管肉瘤,纤维肉瘤,横纹肌肉瘤,脂肪肉瘤),粘液瘤,横纹肌瘤,纤维瘤,脂肪瘤和畸胎瘤;肺:支气管肺癌(鳞状细胞或表皮样,未分化的小细胞,未分化的癌细胞,腺癌),肺泡(细支气管)癌,支气管腺癌,肉瘤,淋巴瘤,软骨瘤错构瘤,间皮瘤;胃肠道:食道(鳞状细胞癌,喉癌,腺癌,平滑肌肉瘤,淋巴瘤),胃(癌,淋巴瘤,平滑肌肉瘤),胰腺(导管腺癌,胰岛素瘤,胰高血糖素瘤,胃泌素瘤,类癌瘤,舒血管肠肽瘤),小肠或小肠(腺癌,淋巴瘤,类癌,卡波西肉瘤,平滑肌瘤,血管瘤,脂肪瘤,神经纤维瘤,纤维瘤),大肠或大肠(腺癌,管状腺癌,绒毛

状腺瘤,错构瘤,平滑肌瘤),结肠,结肠直肠,结直肠,直肠;泌尿生殖道:肾(腺癌,Wilm瘤(肾母细胞瘤),淋巴瘤,白血病),膀胱和尿道(鳞状细胞癌,移行细胞癌,腺癌),前列腺(腺癌,肉瘤),睾丸(精原细胞癌,畸胎瘤,胚胎癌,畸胎癌,绒毛膜癌,肉瘤,间质细胞癌,纤维瘤,纤维腺瘤,腺瘤样肿瘤,脂肪瘤);肝脏:肝癌(肝细胞癌),胆管癌,肝母细胞瘤,血管肉瘤,肝细胞腺瘤,血管瘤,胆道;骨:成骨肉瘤(骨肉瘤),纤维肉瘤,恶性纤维组织细胞瘤,软骨肉瘤,尤文氏肉瘤,恶性淋巴瘤(网状细胞肉瘤),多发性骨髓瘤,恶性巨细胞瘤脊索瘤,骨质疏松症(骨软骨外生骨疣),良性软骨瘤,软骨母细胞瘤,软骨瘤纤维瘤,类骨质骨瘤和巨细胞瘤;神经系统:颅骨(骨瘤,血管瘤,肉芽肿,黄瘤,变形性骨炎),脑膜(脑膜瘤,脑膜肉瘤,胶质瘤病),脑(星形细胞瘤,成神经管细胞瘤,胶质瘤,室管膜瘤,生殖细胞瘤(松果体瘤),多形性胶质母细胞瘤,少突神经胶质瘤,神经鞘瘤,视网膜母细胞瘤,先天性肿瘤),脊髓神经纤维瘤,脑膜瘤,胶质瘤,肉瘤);妇科:子宫(子宫内膜癌),子宫颈癌(宫颈癌,肿瘤前期子宫颈发育不良),卵巢(卵巢癌(浆液性囊腺癌,粘液性囊腺癌,未分类癌),颗粒细胞肿瘤,Sertoli-Leydig细胞瘤,无性细胞瘤,恶性肿瘤畸胎瘤),外阴(鳞状细胞癌,上皮内癌,腺癌,纤维肉瘤,黑色素瘤),阴道(透明细胞癌,鳞状细胞癌,葡萄状肉瘤(胚胎横纹肌肉瘤),输卵管(癌),乳腺;血液学:血液(骨髓性白血病)(急性和慢性),急性淋巴细胞白血病,慢性淋巴细胞白血病,骨髓增殖性疾病,多发性骨髓瘤,骨髓增殖异常综合征),霍奇金病,非霍奇金淋巴瘤(恶性淋巴瘤)多毛细胞;淋巴样疾病;皮肤:恶性黑色素瘤,基底细胞癌,鳞状细胞癌,卡波西肉瘤,角化棘皮瘤,痣发育不良痣,脂肪瘤,血管瘤,皮肤纤维瘤,瘢痕瘤,银屑病,甲状腺:甲状腺乳头状癌,滤泡性甲状腺癌;甲状腺髓样癌,未分化甲状腺癌,多发性内分泌腺瘤2A型,多发性内分泌腺瘤2B型,家族性甲状腺髓样癌,嗜铬细胞瘤,副神经节瘤;和肾上腺:神经母细胞瘤。因此,本文提供的术语“癌细胞”包括受上述任何一种病症折磨的细胞。

[0603] 术语“EGFR”在本文中是指表皮生长因子受体激酶。

[0604] 术语“HER”或“Her”在本文中是指人表皮生长因子受体激酶。

[0605] 本文所用的术语“个体”是指哺乳动物。因此,个体是指例如狗、猫、马、牛、猪、豚鼠等。优选地,个体是人。当个体是人时,个体在本文中可称为患者。

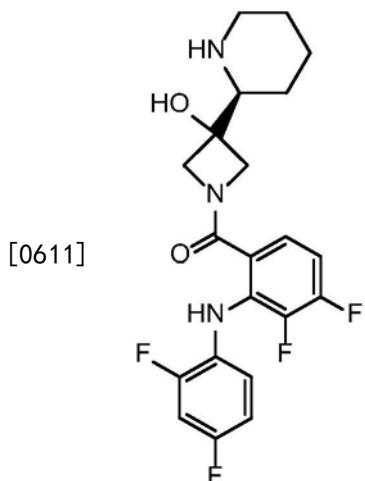
[0606] “治疗”、“治疗”和“治疗”是指改善或减轻疾病和/或其伴随症状的方法。

[0607] 如本文所用,“预防”或“预防”描述减少或消除疾病、病症或紊乱的症状或并发症的发作。

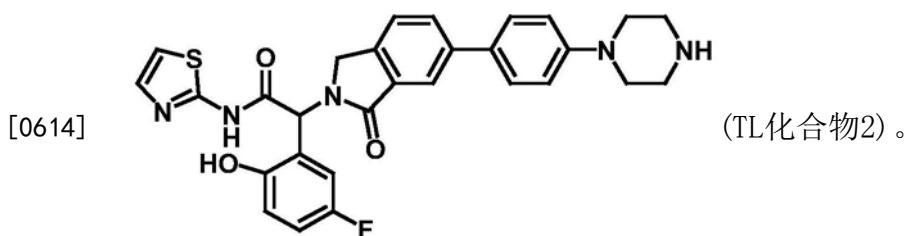
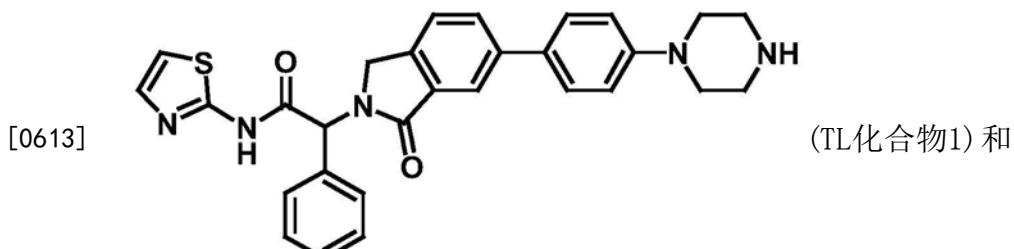
[0608] 如本文所用,术语“变构位点”是指EGFR上除ATP结合位点之外的位点,例如以EGFR的晶体结构表征的位点。“变构位点”可以是接近ATP结合位点的位点,例如以EGFR的晶体结构表征的位点。例如,一个变构位点包括下列表皮生长因子受体(EGFR)的一个或多个氨基酸残基:Lys745、Leu788、Ala 743、Cys755、Leu777、Phe856、Asp855、Met766、Ile759、Glu762和/或Ala763。

[0609] 如本文所用,术语“阻止EGFR二聚体形成的试剂”是指防止二聚体形成的试剂,其中“活化剂”亚基的C-叶撞击“接收者”亚基的N-叶。阻止EGFR二聚体形成的试剂的实例包括但不限于西妥昔单抗、cobimetinib、曲妥珠单抗、帕尼单抗和Mig6。

[0610] 如本文所用,术语“GDC0973”或“Cobimetinib”是指具有以下化学结构的化合物



[0612] 如本文所用，“TL化合物1”和“TL化合物2”是指具有以下化学结构的化合物



[0615] 除非上下文另有明确规定，否则术语“靶向蛋白”用于与“靶蛋白”互换使用。在一个实施方案中，“靶向蛋白”是EGFR。

[0616] 本文所用的术语“个体”是指哺乳动物。因此，个体是指例如狗，猫，马，牛，猪，豚鼠等。优选地，个体是人。当个体是人时，个体在本文中可称为患者。

[0617] 除非上下文另有明确规定，否则术语“疾病”、“紊乱”和“病症”可互换使用。

[0618] 如本文所用，术语本申请的双功能化合物或药物组合物的“治疗有效量”是指足够量的双功能化合物或药物组合物，以减少个体的病症症状。如在医学领域中充分理解的，治疗有效量的本申请的双功能化合物或药物组合物将具有适用于任何医学治疗的合理的利益/风险比。然而，应该理解，本申请的化合物和组合物的每日总用量将由主治医师在合理的医学判断范围内决定。任何特定患者的特定抑制剂量将取决于多种因素，包括所治疗的病症和紊乱的严重程度；所用特定化合物的活性；所用的具体成分；患者的年龄，体重，一般健康状况，性别和饮食；给药时间，给药途径和所用特定化合物的排泄率；治疗的持续时间；与所用特定化合物组合或巧合使用的药物；以及医学领域众所周知的因素。

[0619] 如本文所用，术语“药学上可接受的盐”是指通过本申请的方法形成的化合物的盐，其在合理的医学判断范围内适合用于与人和低等动物的组织接触，而没有不适当的毒性、刺激、过敏反应等，并且与合理的利益/风险比相称。药学上可接受的盐在本领域中是熟

知的。例如,S.M.Berge等人在J.Pharmaceutical Sciences,66:1-19(1977)中详细描述了药学上可接受的盐。盐可以在本申请化合物的最终分离和纯化过程中原位制备,或者通过使游离碱或酸官能团与合适的酸或碱反应而单独制备。

[0620] 药学上可接受的盐的实例包括但不限于无毒酸加成盐:与无机酸如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸形成的盐,或与有机酸如乙酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸形成的盐。其他药学上可接受的盐包括但不限于己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、十二烷基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、/7-甲苯磺酸盐、十一酸盐、戊酸盐等。代表性的碱金属盐或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁等。适当时,其它药学上可接受的盐包括使用抗衡离子形成的无毒铵、季铵和胺阳离子,例如卤化物、氢氧化物、羧酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、具有1至6个碳原子的烷基、磺酸盐和芳基磺酸盐。

[0621] 本文所用的术语“药学上可接受的酯”是指通过本申请的方法形成的在体内水解的双功能化合物的酯,并且包括在人体中容易分解以留下母体化合物或其盐的那些。合适的酯基包括例如衍生自药学上可接受的脂族羧酸,特别是链烷酸、链烯酸、环链烷酸和链烷二酸的那些,其中每个烷基或烯基部分有利地具有不超过6个碳原子。特定酯的实例包括但不限于甲酸酯、乙酸酯、丙酸酯、丁酸酯、丙烯酸酯和琥珀酸乙酯。

[0622] 本文所用的术语“药学上可接受的前药”是指通过本申请的方法形成的双功能化合物的那些前药,其在合理的医学判断的范围内适合用于与人和低等动物的组织接触,没有过度毒性、刺激性、过敏反应等,且与合理的益处/风险比相称,并且对于它们的预期用途有效,以及在可能的情况下本发明化合物的两性离子形式。如本文所用,“前药”是指通过代谢方式(例如通过水解)在体内可转化以提供由本申请的通式描述的任何化合物的化合物。本领域已知各种形式的前药,例如,如Bundgaard, (ed.), Design of Prodrugs, Elsevier (1985); Widder, et al. (ed.), Methods in Enzymology, vol. 4, Academic Press (1985); Krogsgaard-Larsen, et al., (ed). "Design and Application of Prodrugs, Textbook of Drug Design and Development, Chapter 5, 113-191 (1991); Bundgaard, et al., Journal of Drug Deliver Reviews, 8:1-38 (1992); Bundgaard, J.of Pharmaceutical Sciences, 77:285et seq. (1988); Higuchi and Stella (eds.) Prodrugs as Novel Drug Delivery Systems, American Chemical Society (1975); 和Bernard Testa&Joachim Mayer, "Hydrolysis In Drug And Prodrug Metabolism:Chemistry,Biochemistry And Enzymology," John Wiley and Sons, Ltd. (2002) 中所讨论的。

[0623] 本申请还包括含有本申请的双功能化合物的药学上可接受的前药的药物组合物和通过施用本申请的双功能化合物的药学上可接受的前药治疗病症的方法。例如,具有游离氨基、酰氨基、羟基或羧基的本申请的化合物可以转化为前药。前药包括其中氨基酸残基或两个或更多个(例如两个、三个或四个)氨基酸残基的多肽链通过酰胺或酯键共价连接至

本申请化合物的游离氨基、羟基或羧酸基团。氨基酸残基包括但不限于通常由三个字母符号表示的20种天然存在的氨基酸，还包括4-羟基脯氨酸、羟基赖氨酸、锁链赖氨酸、异锁链赖氨酸、3-甲基组氨酸、戊氨酸、 $\beta$ -丙氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸、瓜氨酸、高半胱氨酸、高丝氨酸、鸟氨酸和蛋氨酸砜。还包括其他类型的前药。例如，游离羧基可以衍生为酰胺或烷基酯。游离羟基可以使用包括但不限于半琥珀酸酯、磷酸酯、二甲基氨基乙酸酯和磷酰氧基甲氧基羧基的基团衍生化，如Advanced Drug Delivery Reviews, 1996, 19, 115中所述。还包括羟基和氨基的氨基甲酸酯前药，羟基的碳酸酯前药、磺酸酯和硫酸酯也是如此。还包括将羟基衍生为(酰氧基)甲基和(酰氧基)乙基醚，其中酰基可以是烷基酯，任选被包括但不限于醚、胺和羧酸官能团的基团取代，或者其中酰基是如上所述的氨基酸酯。这种类型的前药描述于J.Med.Chem. 1996, 39, 10。游离胺也可以衍生为酰胺、磺酰胺或膦酰胺。所有这些前药部分可以包括基团，包括但不限于醚、胺和羧酸官能团。

[0624] 本申请还提供药物组合物，其包含本文公开的双功能化合物或其药学上可接受的酯、盐或前药以及药学上可接受的载体。

[0625] 在另一个方面，本申请提供了试剂盒，其包含能够抑制EGFR活性的双功能化合物，所述双功能化合物选自本文公开的一种或多种化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体，并且任选地与阻止EGFR二聚体形成的第二种药剂和用于治疗癌症的说明书组合。

[0626] 另一方面，本申请提供合成本文公开的双功能化合物的方法。

[0627] 本申请的双功能化合物的合成可在本文和以下实施例中找到。

[0628] 其他实施方案是使用本文描述的反应中的任何一种或其组合制备本文任何式的双功能化合物的方法。该方法可包括使用本文描述的一种或多种中间体或化学试剂。

[0629] 另一方面是本文描述的任何式的同位素标记的双功能化合物。这些化合物具有一个或多个同位素原子，其可以是或不是放射性的(例如， $^3\text{H}$ 、 $^2\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{125}\text{I}$ 和 $^{131}\text{I}$ )引入双功能化合物中。这些化合物可用于药物代谢研究和诊断以及治疗应用。

[0630] 通过使化合物的游离碱形式与药学上可接受的无机酸或有机酸反应，可以将本申请的双功能化合物制备成药学上可接受的酸加成盐。或者，本申请的双功能化合物的药学上可接受的碱加成盐可以通过使双功能化合物的游离酸形式与药学上可接受的无机碱或有机碱反应来制备。

[0631] 或者，本申请的双功能化合物的盐形式可以使用原料或中间体的盐来制备。

[0632] 本申请的双功能化合物的游离酸或游离碱形式可分别由相应的碱加成盐或酸加成盐制备。例如，通过用合适的碱(例如氢氧化铵溶液、氢氧化钠等)处理，可以将酸加成盐形式的本申请的双功能化合物转化为相应的游离碱。通过用合适的酸(例如盐酸等)处理，可以将碱加成盐形式的本申请的双功能化合物转化为相应的游离酸。

[0633] 本申请的双功能化合物的前药可以通过本领域普通技术人员已知的方法制备(例如，进一步的细节参见Saulnier et al., (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol.4, p.1985)。例如，可以通过使本申请的非衍生化的双功能化合物与合适的氨基甲酰化试剂(例如，1,1-酰氧基烷基氯代甲酸酯、对硝基苯基碳酸酯等)反应来制备合适的前药。

[0634] 本申请的双功能化合物的保护衍生物可以通过本领域普通技术人员已知的方法

制备。适用于产生保护基团及其去除的技术的详细描述可参见T.W.Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3rd edition, John Wiley and Sons, Inc., 1999。

[0635] 本申请的化合物可以在应用过程中方便地制备或形成为溶剂化物(例如水合物)。本申请的双功能化合物的水合物可以通过使用有机溶剂如二噁英、四氢呋喃或甲醇从水/有机溶剂混合物中重结晶而方便地制备。

[0636] 可用于本文方法的酸和碱是本领域已知的。酸催化剂是任何酸性化学物质,其本质上可以是无机物(例如盐酸,硫酸,硝酸,三氯化铝)或有机物(例如樟脑磺酸,对甲苯磺酸,乙酸,三氟甲磺酸镱)。酸以催化量或化学计量的量使用以促进化学反应。碱是任何碱性化学物质,其本质上可以是无机物(例如碳酸氢钠、氢氧化钾)或有机物(例如三乙胺、吡啶)。碱以催化量或化学计量的量使用以促进化学反应。

[0637] 本申请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(例如,治疗性或预防性施用至个体)。

[0638] 当任何变量(例如 $R_{14}$ )在化合物的任何组分或化学式中出现不止一次时,其在每次出现时的定义与其在其它次出现时的定义无关。因此,例如,如果显示基团被一个或多个 $R_{14}$ 部分取代,则每次出现的 $R_{14}$ 独立地选自 $R_{14}$ 的定义。此外,取代基和/或变量的组合是允许的,但仅当这种组合产生指定原子的正常化合价内的稳定化合物时。

[0639] 此外,本申请的一些化合物具有一个或多个双键,或一个或多个不对称中心。这些化合物可以外消旋物、外消旋混合物、单一对映体、单独的非对映异构体、非对映异构体混合物和顺式-或反式-或E-或Z-双异构形式出现,以及可以根据绝对立体化学定义的其他立体异构形式,例如用于氨基酸的(R)-或(S)-或(D)-或(L)-。当本文所述的化合物含有烯属双键或其他几何不对称中心时,除非另有说明,否则所述化合物包括E和Z几何异构体。本文中出现的任何碳-碳双键的构型仅为方便起见而选择,并不旨在表示特定的构型,除非文本如此陈述;因此,本文任意描述为反式的碳-碳双键可以是顺式、反式或两者的任何比例的混合物。这些化合物的所有这些异构形式明确地包括在本申请中。

[0640] 光学异构体可以通过本文所述的方法由它们各自的光学活性前体制备,或者通过拆分外消旋混合物制备。拆分可以在拆分剂存在下,通过色谱法或通过重复结晶或通过本领域技术人员已知的这些技术的某种组合进行。关于拆分的进一步细节可以在Jacques, et al., Enantiomers, Racemates, and Resolutions (John Wiley&Sons, 1981) 中找到。

[0641] “异构”是指具有相同分子式但在原子键合顺序或原子的空间排列不同的化合物。原子空间排列不同的异构体被称为“立体异构体”。彼此不是镜像的立体异构体被称为“非对映异构体”,并且彼此是不可重叠的镜像的立体异构体被称为“对映异构体”或有时称为光学异构体。含有等量的相反手性的单个对映体形式的混合物称为“外消旋混合物”。

[0642] 与四个不相同的取代基键合的碳原子称为“手性中心”。

[0643] “手性异构体”是指具有至少一个手性中心的化合物。具有多于一个手性中心的化合物可以以单独的非对映异构体或以非对映异构体的混合物存在,称为“非对映异构体混合物”。当存在一个手性中心时,立体异构体可以通过该手性中心的绝对构型(R或S)表征。绝对构型是指与手性中心连接的取代基在空间上的排列。连接到所考虑的手性中心的取代基根据Sequence Rule of Cahn, Ingold and Prelog. (Cahn et al.,

Angew.Chem.Inter.Edit.1966,5,385;errata 511;Cahn et al.,Angew.Chem.1966,78,413;Cahn and Ingold,J.Chem.Soc.1951(London),612;Cahn et al.,Experientia 1956,12,81;Cahn,J.Chem.Educ.1964,41,116)排序。

[0644] “几何异构体”是指非对映异构体，它们的存在是由于双键的旋转受阻。这些构型的名称由前缀顺式和反式或Z和E区分，这表明根据Cahn-Ingold-Prelog规则基团位于分子中的双键的相同侧或相对侧。

[0645] 此外，本申请中讨论的结构和其他化合物包括其所有的阻转异构体。“阻转异构体”是一种立体异构体，其中两种异构体的原子在空间上排列不同。阻转异构体的存在归因于大基团围绕中心键的旋转障碍而导致的受限旋转。这种阻转异构体通常作为混合物存在，但是由于色谱技术的最新进展；在特定情况下，可以分离两种异位异构体的混合物。

[0646] “互变异构体”是平衡存在的两种或更多种结构异构体中的一种，其易于从一种异构形式转化为另一种异构形式。这种转化导致氢原子的形式迁移，伴随着相邻共轭双键的转换。互变异构体作为溶液中的一组互变异构体的混合物存在。在固体形式中，通常一种互变异构体占优势。在可能发生互变异构化的溶液中，将达到互变异构体的化学平衡。互变异构体的确切比例取决于几个因素，包括温度、溶剂和pH。通过互变异构化可相互转化的互变异构体的概念称为互变异构现象。

[0647] 在可能的各种类型的互变异构现象中，通常观察到两种。在酮-烯醇互变异构现象中，发生电子和氢原子的同时移动。环链互变异构现象是由于糖链分子中的醛基(-CHO)与同一分子中的一个羟基(-OH)反应而产生环状(环型)形式(如通过葡萄糖所示)产生的。常见的互变异构体对是：酮-烯醇、酰胺-腈、内酰胺-内酰亚胺、杂环中的酰胺-亚氨酸互变异构(例如，在诸如鸟嘌呤、胸腺嘧啶和胞嘧啶的核碱基中)、胺-烯胺和烯胺-烯胺。本申请的化合物还可以以多种互变异构体形式表示，在这种情况下，本申请明确包括本文所述化合物的所有互变异构体形式(例如，环系统的烷基化可导致多个位点的烷基化，本申请明确包括所有这些反应产物)。

[0648] 在本申请中，为了方便起见，双功能化合物的结构式在某些情况下代表某种异构体，但本申请包括所有异构体例如几何异构体、基于不对称碳的光学异构体、立体异构体、互变异构体等。在本说明书中，为了方便起见，在某些情况下，化合物的结构式代表某种异构体，但本申请包括所有异构体例如几何异构体、基于不对称碳的光学异构体、立体异构体、互变异构体等。

[0649] 另外，本申请的化合物，例如双功能化合物的盐，可以以水合或非水合(无水)形式存在或以与其他溶剂分子的溶剂化物存在。水合物的非限制性实例包括一水合物、二水合物等。溶剂化物的非限制性实例包括乙醇溶剂化物、丙酮溶剂化物等。

[0650] “溶剂化物”是指含有化学计量或非化学计量的溶剂的溶剂加成形式。一些化合物倾向于在结晶固态中捕获固定摩尔比的溶剂分子，从而形成溶剂化物。如果溶剂是水，则形成的溶剂化物是水合物；如果溶剂是醇，则形成的溶剂化物是醇化物。水合物通过一个或多个水分子与一分子物质的组合形成，其中水保持其分子状态为H<sub>2</sub>O。

[0651] 合成的双功能化合物可以从反应混合物中分离出来，并通过诸如柱色谱、高压液相色谱或重结晶的方法进一步纯化。如本领域技术人员可以理解的，合成本文通式的双功能化合物的其他方法对于本领域普通技术人员来说是显而易见的。另外，各种合成步骤可

以交替的顺序或次序进行,以得到所需的化合物。另外,本文描述的溶剂、温度、反应持续时间等仅用于说明的目的,本领域普通技术人员将认识到,反应条件的变化可以产生本申请的所需桥连大环产物。可用于合成本文所述化合物的合成化学转化和保护基团方法(保护和去保护)是本领域已知的,包括例如R.Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers (1989); T.W.Greene and P.G.M.Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 2d.Ed., John Wiley and Sons (1991); L.Fieser and M.Fieser, Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1994); and L.Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1995) 及其后续版本中所述的那些。

[0652] 本申请的化合物可以通过本文描述的任何合成方法附加各种官能团来修饰,以增强选择性生物学性质。这些修饰是本领域已知的并且包括增加生物渗透到给定生物系统(例如血液、淋巴系统、中枢神经系统)、增加口服利用度、增加溶解度以允许通过注射给药、改变代谢和改变排泄率的那些修饰。

[0653] 本申请的化合物在本文中通过其化学结构和/或化学名称来定义。当化合物由化学结构和化学名称表示,且化学结构和化学名称冲突时,化学结构决定化合物的确认。

[0654] 本文中对变量的任何定义中的化学基团列表的叙述包括该变量作为任何单个基团或所列基团的组合的定义。这里对变量的实施方案的描述包括作为任何单个实施方案或者与任何其他实施方案或其部分组合的实施方案。

[0655] 合成化合物的方法

[0656] 本申请的化合物可以使用市售原料、文献中已知的化合物或易于制备的中间体,通过采用本领域技术人员已知的或者根据本文的教导对于本领域技术人员来说是显而易见的标准合成方法和步骤以多种方式制备。用于制备有机分子和官能团转化和操作的标准合成方法和程序可以从相关科学文献或本领域的标准教科书中获得。虽然不限于任何一个或多个来源,但经典的教科书如Smith, M.B., March, J., March's Advanced Organic Chemistry:Reactions, Mechanisms, and Structure, 5<sup>th</sup> edition, John Wiley&Sons:New York, 2001; 和Greene, T.W., Wuts, P.G.M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3<sup>rd</sup> edition, John Wiley&Sons: New York, 1999(其通过引用并入本文)是本领域技术人员已知的有用且公认的有机合成的参考教科书。设计以下合成方法的描述是为了说明而不是限制制备本申请化合物的一般步骤。该方法通常在整个方法结束时或接近结束时提供所需的最终化合物,尽管在某些情况下可能需要进一步将化合物转化为其药学上可接受的盐、酯或前药。合适的合成路线描述于以下方案中。

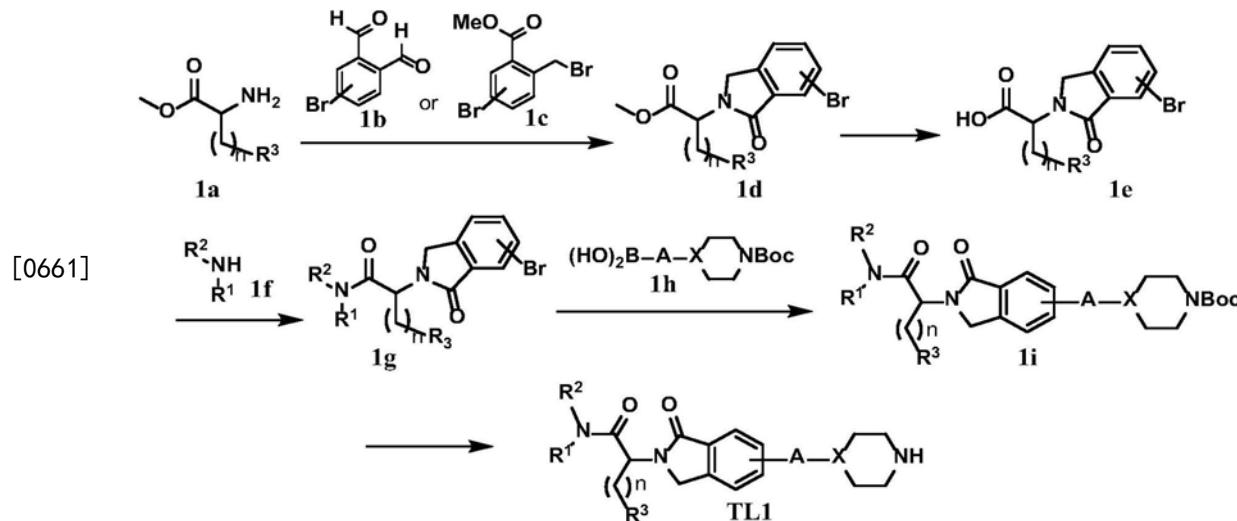
[0657] 本领域技术人员将认识到在本文公开的化合物中是否存在立体中心。因此,本申请包括两种可能的立体异构体(除非在合成中说明),并且不仅包括外消旋化合物,还包括单独的对映异构体和/或非对映异构体。当需要化合物作为单一对映异构体或非对映异构体时,可以通过立体特异性合成或通过拆分最终产物或任何方便的中间体来获得。最终产物、中间体或起始材料的拆分可受到本领域已知的任何合适方法的影响。参见例如"Stereochemistry of Organic Compounds" by E.L.Eliel, S.H.Wilen, and L.N.Mander (Wiley-Interscience, 1994)。

[0658] 本申请的化合物可以以有机合成领域技术人员熟知的多种方式制备。举例来说,

本申请的化合物可以使用下述方法以及合成有机化学领域中已知的合成方法或本领域技术人员所理解的其变体来合成。优选的方法包括但不限于下面描述的那些方法。

[0659] 本申请的化合物可以按照通用方案1-4中概述的步骤合成，所述方案包括组装中间体1a、1b、1c、1d、1e、1f、1g、1h、1i、1j、1k、1m、1n、1p、1q和1r的不同顺序。原料可以商购或通过报道文献中的已知方法制备或如图所示。

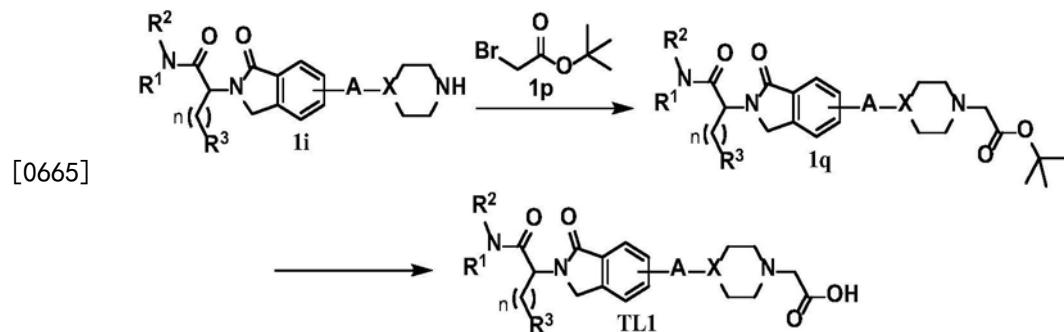
[0660] 通用方案1



[0662] 其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、A、X和n如本文所定义。

[0663] 式TL-I的靶配体化合物可以使用在通用方案1中概述的中间体1a, 1b, 1c, 1d, 1e, 1f和1g合成。在升高的温度下使用酸(例如乙酸)在溶剂(例如CHCl<sub>3</sub>)中环化1a和1b, 得到中间体1d。或者, 中间体1d可以通过使用碱例如N,N-二异丙基乙胺(DIEA)在溶剂(例如二甲基甲酰胺(DMF))中在升高的温度下环化1a和1c而获得。使用碱例如氢氧化锂(LiOH)在溶剂(例如四氢呋喃(THF)、甲醇(MeOH)和/或水(H<sub>2</sub>O))中水解中间体1d, 得到1e。酸1e和胺1f在标准偶联条件下使用偶联剂例如[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶-3-氧化物六氟磷酸盐(HATU)或O-苯并三唑-N,N,N',N'-四甲基-脲-六氟-磷酸盐(HBTU)和碱例如三乙胺或N,N-二异丙基乙胺(DIEA)在溶剂例如二氯甲烷或DMF中偶联提供1g。1g和1h在金属催化剂即[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)(PdCl<sub>2</sub>(dppf)<sub>2</sub>)、膦配体即2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基联苯(Xphos)和碱即碳酸钠(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)或碳酸钾(K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)的存在下在溶剂即二噁烷中Suzuki偶联提供1i。使用强酸即三氟乙酸(TFA)或盐酸(HCl)在溶剂(即二氯甲烷(DCM)或二噁烷中脱保护1i, 得到所需的式TL-I化合物。

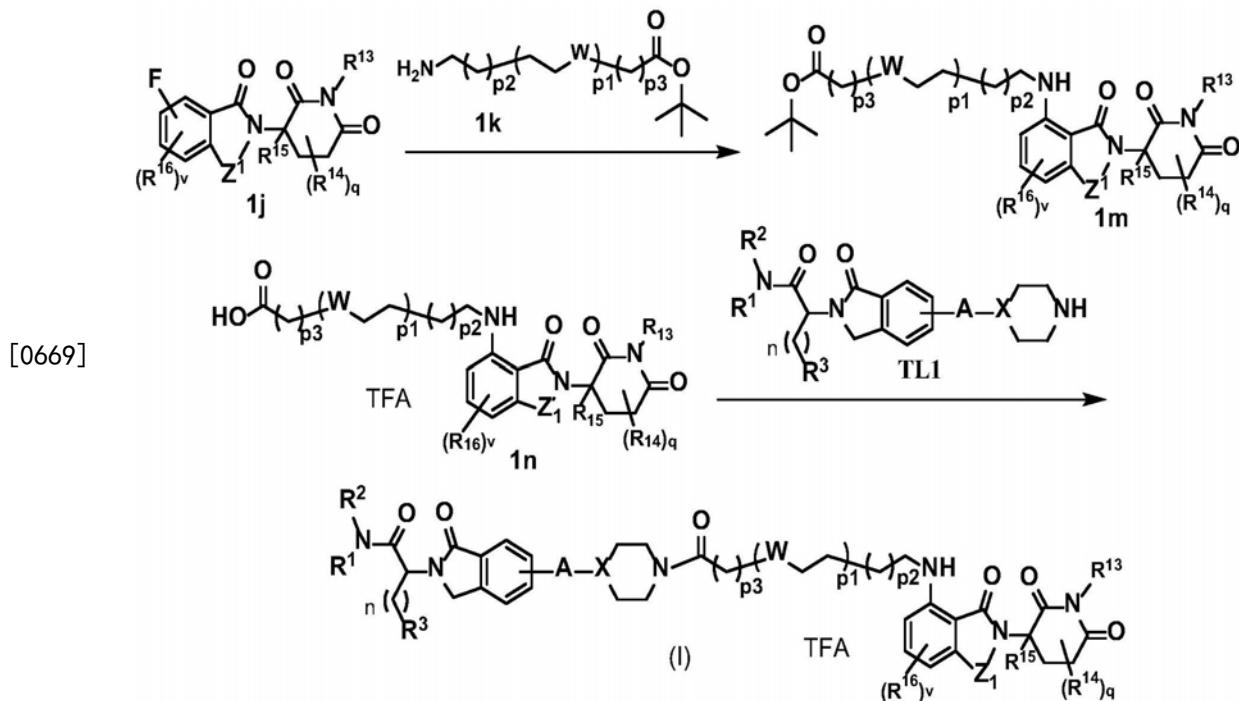
[0664] 通用方案2



[0666] 其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、A、X和n如本文所定义。

[0667] 式TL-I的靶配体化合物可以使用通用方案1中概述的中间体1i、1p和1q合成。1i与1p在碱(即K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)的存在下,在溶剂(即二甲基甲酰胺(DMF))中烷基化得到中间体1q。使用强酸即三氟乙酸(TFA)或盐酸(HCl)在溶剂(即二氯甲烷(DCM)或二噁烷)中脱保护1q,得到所需的式TL-I化合物。

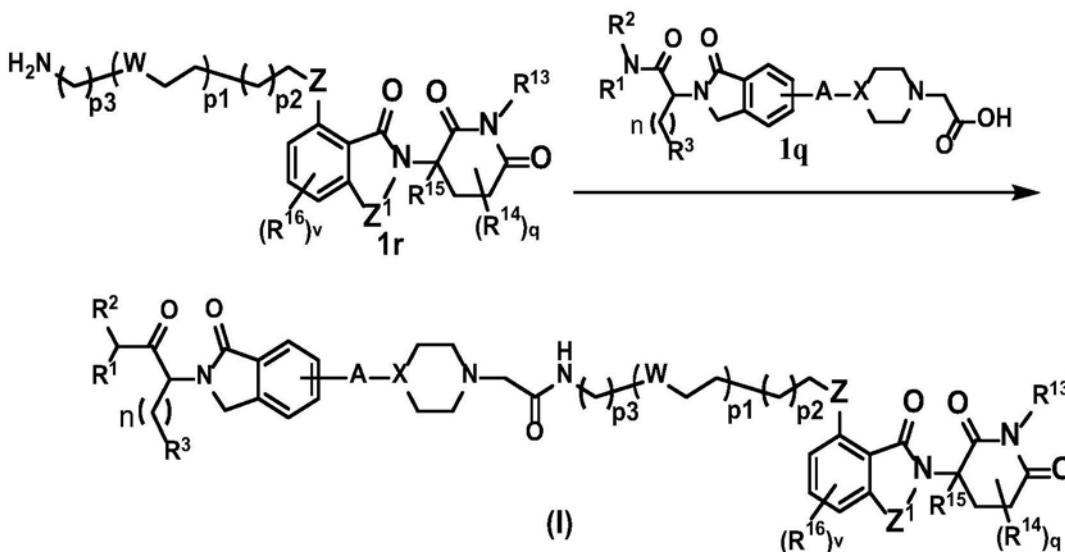
[0668] 通用方案3



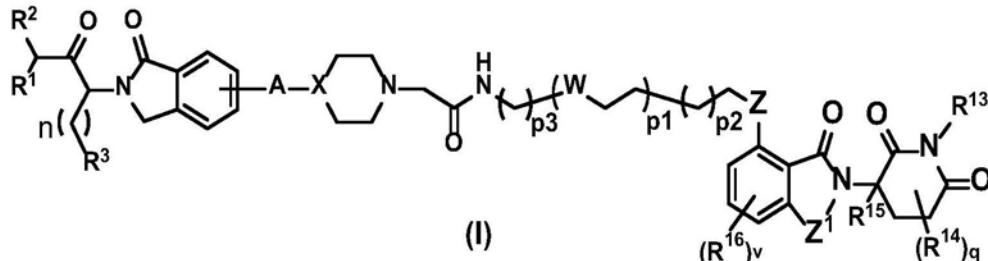
[0670] 其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>13</sup>、R<sup>14</sup>、R<sup>15</sup>、R<sup>16</sup>、A、X、W、Z<sub>1</sub>、p1、p2、p3、n、q和v在本文中定义。

[0671] 在通用方案3中概述了使用中间体1i、1j、1k、1m和1n制备本申请的代表性化合物(即,上文所示的式(I)化合物)的一般方法。在碱即N,N-二异丙基乙胺(DIEA)存在下,在溶剂(即DMF)中,在升高的温度下1j与1k的胺化得到中间体1m。使用强酸即三氟乙酸(TFA)或盐酸(HCl)在溶剂(即二氯甲烷(DCM)或二噁烷)中脱保护1m,得到羧酸1n。使用偶联剂例如1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺(EDCI)和碱例如DIEA在溶剂例如DCM或DMF中,在标准偶联条件下偶联酸1n和胺TL-I,得到化合物式(I)。

[0672] 通用方案4



[0673]



[0674] 其中 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $A$ 、 $X$ 、 $W$ 、 $Z$ 、 $Z_1$ 、 $p1$ 、 $p2$ 、 $p3$ 、 $n$ 、 $q$ 和 $v$ 在本文中定义。

[0675] 或者,可以使用如通用方案4中概述的中间体**1r**和**1a**制备本申请的化合物(即,上文所示的式**(I)**化合物)。使用偶联剂例如[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶-3-氧化物六氟磷酸盐(HATU)或O-苯并三唑-N,N,N',N'-四甲基-脲-六氟磷酸盐(HBTU)和碱例如三乙胺或DIEA在溶剂(例如二氯甲烷或DMF)中,在标准偶联条件下偶联酸**1q**和胺**1r**,提供所需的式**(I)**化合物。

[0676] 生物分析

[0677] 生化检测

[0678] 使用均相时间分辨荧光(HTRF)测定进行EGFR生化测定。反应混合物在反应缓冲液中含有生物素-Lck-肽底物、野生型或突变型EGFR酶。调节酶浓度以适应不同的激酶活性和ATP浓度。将本申请的化合物稀释到测定混合物中,并使用12点抑制曲线测定IC<sub>50</sub>值。

[0679] 磷酸化EGFR靶标调节分析和ELISA

[0680] 用含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的裂解缓冲液裂解细胞,摇动平板。然后将来自每个孔的等分试样转移至制备的ELISA板用于分析。收获并铺板后,用含有或不含EGF的培养基预处理细胞。然后加入本申请的化合物,并使用上述EGFR生化测定法测定IC<sub>50</sub>值。

[0681] 用山羊抗EGFR捕获抗体包被固体高结合ELISA板。然后用缓冲液中的BSA封闭平板,之后洗涤。将等份的裂解细胞加入ELISA板的每个孔中并孵育平板。然后加入抗磷酸-EGFR,之后进一步孵育。洗涤后,加入抗兔-HRP并再次孵育平板。用SuperSignal ELISA Pico底物进行化学发光检测。使用内置UltraLUM设置在EnVision读板器上读取信号。

[0682] 蛋白质印迹

[0683] 将细胞裂解物平衡至蛋白质含量并用运行缓冲液加载到凝胶上。用一抗探测膜,然后洗涤。加入HRP-偶联的二抗并在之后洗涤。使用HRP底物试剂检测HRP并用成像仪记录。

[0684] 在用本申请化合物剂量依赖性地或与西妥昔单抗组合处理细胞系后,通过蛋白质印迹评估EGFR蛋白质降解。

[0685] 细胞增殖分析

[0686] 将细胞系铺在培养基中。然后将本申请的化合物连续稀释并转移到细胞中。通过发光读数测量细胞活力。通过非线性回归曲线拟合分析数据。

[0687] 施用方法

[0688] 另一方面,本申请提供调节(例如,减少)激酶的量的方法,包括使激酶与本文公开的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体接触。在一些实施方案中,激酶包含突变的半胱氨酸残基。在进一步的实施方案中,突变的半胱氨酸残基位于EGFR中与Cys 797等同的位置或其附近,包括Jak3、Btk、Bmx、Btk、HER2 (ErbB2)、HER4 (ErbB4)、Itk、Tec和Txk中的位置。

[0689] 另一方面,本申请提供调节(例如,减少)激酶的量的方法,包括向有需要的个体施用有效量的本文公开的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体。在一些实施方案中,激酶是EGFR或其突变体。在其他实施方案中,激酶是Her-激酶。

[0690] 在另一方面,本申请提供抑制表皮生长因子受体(EGFR)的方法,该方法包括向有需要的个体施用有效量的本文公开的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体。

[0691] 本申请的另一方面提供治疗或预防疾病的方法,该方法包括向有需要的个体施用有效量的本文公开的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体。在一些实施方案中,疾病由激酶介导。在进一步的实施方案中,激酶包含突变的半胱氨酸残基。在进一步的实施方案中,突变的半胱氨酸残基位于EGFR中与Cys 797等同的位置或其附近,包括Jak3、Btk、Bmx、Btk、HER2 (ErbB2)、HER4 (ErbB4)、Itk、Tec和Txk中的这些位置。

[0692] 在一些实施方案中,疾病由EGFR介导(例如,EGFR在疾病的發生或发展中起作用)。在进一步的实施方案中,EGFR是Her-激酶。在进一步的实施方案中,Her-激酶是HER1、HER2或HER4。

[0693] 在某些实施方案中,所述疾病或病症是癌症或增殖疾病。

[0694] 在进一步的实施方案中,所述疾病或病症是肺癌、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌、胰腺癌、脑癌、肾癌、卵巢癌、胃癌、皮肤癌、骨癌、胃癌、乳腺癌、胰腺癌、神经胶质瘤、胶质母细胞瘤、肝细胞癌、乳头状肾癌、头颈部鳞状细胞癌、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤或实体瘤。

[0695] 在其他实施方案中,所述疾病或病症是炎症、关节炎、类风湿性关节炎、脊椎关节病、痛风性关节炎、骨关节炎、幼年型关节炎和其他关节炎病症、系统性红斑狼疮(SLE)、皮肤相关病症、牛皮癣、湿疹、烧伤、皮炎、神经炎症、过敏、疼痛、神经性疼痛、发热、肺部疾病、肺部炎症、成人呼吸窘迫综合征、肺部肉瘤病、哮喘、矽肺病、慢性肺部炎性疾病、慢性阻塞性肺病(COPD)、心血管疾病、动脉硬化、心肌梗塞(包括心肌梗死后适应症)、血栓形成、充血性心力衰竭、心脏再灌注损伤、以及与高血压和/或心力衰竭相关的并发症如血管器官损伤、再狭窄、心肌病、中风包括缺血性和出血性中风、再灌注损伤、肾脏再灌注损伤、缺血包括中风和脑缺血以及心脏/冠状动脉搭桥引起的缺血、神经退行性疾病、肝病和肾炎、胃肠道疾病、炎症性肠病、克罗恩病、胃炎、肠易激综合征、溃疡性结肠炎、溃疡性疾病、胃溃疡、病毒和细菌感染、败血症、感染性休克、革兰氏阴性脓毒症、疟疾、脑膜炎、HIV感染、机会性感染、继发于感染或恶性肿瘤的恶病质、继发于获得性免疫缺陷综合症(AIDS)的恶病质、AIDS、ARC (AIDS相关综合症)、肺炎、疱疹病毒、感染引起的肌痛、流行性感冒、自身免疫性疾病、移植植物抗宿主反应和同种异体移植排斥反应、治疗骨吸收疾病、骨质疏松症、多发性硬

化症、癌症、白血病、淋巴瘤、结肠直肠癌、脑癌、骨癌、上皮细胞-来源的肿瘤(上皮癌)、基底细胞癌、腺癌、胃肠癌、唇癌、口腔癌、食道癌、小肠癌、胃癌、结肠癌、肝癌、膀胱癌、胰腺癌、卵巢癌、宫颈癌、肺癌、乳腺癌、皮肤癌、鳞状细胞癌和/或基底细胞癌、前列腺癌、肾细胞癌和其他已知影响全身上皮细胞的癌症、慢性粒细胞白血病(CML)、急性髓性白血病(AML)和急性早幼粒细胞白血病(APL)、血管生成包括瘤形成、转移、中枢神经系统疾病、具有炎性或凋亡成分的中枢神经系统疾病、阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化、脊髓损伤和周围神经病或B细胞淋巴瘤。

[0696] 在进一步的实施方案中,所述疾病或病症是炎症、关节炎、类风湿性关节炎、脊柱关节病、痛风性关节炎、骨关节炎、幼年型关节炎和其他关节炎病症、系统性红斑狼疮(SLE)、皮肤相关病症、牛皮癣、湿疹、皮炎、疼痛、肺部疾病、肺部炎症、成人呼吸窘迫综合征、肺肉瘤病、哮喘、慢性肺部炎性疾病、慢性阻塞性肺病(COPD)、心血管疾病、动脉硬化、心肌梗塞(包括心肌梗死后适应症)、充血性心力衰竭、心脏再灌注损伤、炎症性肠病、克罗恩病、胃炎、肠易激综合征、白血病或淋巴瘤。

[0697] 本申请的另一方面提供了治疗激酶介导的病症的方法,该方法包括向有需要的个体施用有效量的本文公开的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或其互变异构体。在一些实施方案中,双功能化合物能够调节(例如,降低)EGFR的量。在其他实施方案中,双功能化合物能够调节(例如,降低)HER1、HER2或HER4的量。在其他实施方案中,向个体施用另外的治疗剂。在其他实施方案中,双功能化合物和另外的治疗剂同时或依次施用。

[0698] 在其他实施方案中,疾病或病症是癌症。在进一步的实施方案中,癌症是肺癌、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌、胰腺癌、脑癌、肾癌、卵巢癌、胃癌、皮肤癌、骨癌、胃癌、乳腺癌、胰腺癌、神经胶质瘤、胶质母细胞瘤、肝细胞癌、乳头状肾癌、头颈部鳞状细胞癌、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤或实体瘤。

[0699] 本申请的另一方面包括调节(例如,减少)表皮生长因子受体(EGFR)的量的方法。该方法包括向有需要的个体施用有效量的本申请的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或本申请的药物组合物。在一些实施方案中,双功能化合物阻止EGFR二聚体形成。

[0700] 本申请的另一方面描述了治疗或预防疾病的方法,其中所述疾病对EGFR靶向治疗具有抗性,例如用吉非替尼、埃罗替尼、AZD9291、CO-1686或WZ4002治疗。该方法包括向有需要的个体施用有效量的本申请的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体。

[0701] 另一方面,本申请提供了治疗或预防癌症的方法,其中癌细胞包含激活的EGFR,包括向有需要的个体施用有效量的本文公开的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体。

[0702] 在某些实施方案中,EGFR激活选自EGFR的突变、EGFR的扩增、EGFR的表达和配体介导的EGFR激活。

[0703] 在进一步的实施方案中,EGFR的突变位于G719S、G719C、G719A、L858R、L861Q、外显子19缺失突变或外显子20插入突变。

[0704] 本申请的另一方面提供了治疗或预防个体的癌症的方法,其中所述个体被鉴定为

需要抑制EGFR用于治疗癌症,包括向个体施用有效量的本文公开的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体。

[0705] 在某些实施方案中,鉴定为需要抑制EGFR的个体对已知的EGFR抑制剂具有抗性,包括但不限于吉非替尼或埃罗替尼。在某些实施方案中,进行诊断测试以确定个体是否在EGFR中具有激活突变。在某些实施方案中,进行诊断测试以确定个体是否具有携带激活和抗药性突变的EGFR。激活突变包括但不限于L858R、G719S、G719C、G719A、L718Q、L861Q、外显子19中的缺失和/或外显子20中的插入。抗药性EGFR突变体可以具有但不限于包含T790M、T854A、L718Q、C797S或D761Y的抗药性突变。诊断测试可包括测序、焦磷酸测序、PCR、RT-PCR或本领域技术人员已知的可检测核苷酸序列的类似分析技术。

[0706] 另一方面,本申请提供了治疗或预防癌症的方法,其中癌细胞包含激活的ERBB2,其包括向有需要的个体施用有效量的本文公开的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体。在某些实施方案中,ERBB2激活选自ERBB2的突变、ERBB2的表达和ERBB2的扩增。在进一步的实施方案中,突变是ERBB2的外显子20中的突变。

[0707] 在另一方面,本申请提供了治疗个体的癌症的方法,其中所述个体被鉴定为需要抑制ERBB2以治疗癌症,包括向有需要的个体施用有效量的本文所公开的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体。

[0708] 本申请的另一方面提供了预防疾病中对已知EGFR抑制剂(包括但不限于吉非替尼或埃罗替尼)的抗性的方法,其包括向有需要的个体施用有效量的本文公开的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体。

[0709] 在某些实施方案中,本申请提供治疗本文所述的任何病症的方法,其中所述个体是人。在某些实施方案中,本申请提供了预防本文所述的任何病症的方法,其中所述个体是人。

[0710] 在另一个方面,本申请提供了本文公开的双功能化合物,或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体,用于制备用于治疗或预防其中EGFR起作用的疾病的药物。

[0711] 在另一个方面,本申请提供了本申请的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体或药物组合物,用于治疗或预防其中EGFR起作用的疾病。

[0712] 本申请的双功能化合物和组合物特别可用于治疗或减轻疾病、病症或紊乱的严重程度,其中蛋白激酶与疾病、病症或紊乱有关。在一个方面,本申请提供了治疗或减轻疾病、病症或紊乱的严重程度的方法,其中蛋白激酶与疾病状态有关。另一方面,本申请提供了治疗或减轻激酶疾病、病症或紊乱的严重程度的方法,其中酶活性的抑制与疾病的治疗有关。另一方面,本申请提供了用双功能化合物治疗或减轻疾病、病症或紊乱的严重程度的方法,所述双功能化合物通过与蛋白激酶结合来抑制酶活性。另一方面提供了通过用蛋白激酶抑制剂抑制激酶的酶活性来治疗或减轻激酶疾病、病症或紊乱的严重程度的方法。

[0713] 在一些实施方案中,所述方法用于治疗或预防选自自身免疫疾病、炎性疾病、增殖性和过度增殖性疾病、免疫介导的疾病、骨疾病、代谢疾病、神经和神经变性疾病、心血管疾病、激素相关疾病、过敏、哮喘和阿尔茨海默病。在其他实施方案中,所述病症选自增殖性病

症和神经变性病症。

[0714] 本申请的一个方面提供了双功能化合物,其可用于治疗以过度或异常细胞增殖为特征的疾病、病症和紊乱。此类疾病包括但不限于增殖性或过度增殖性疾病和神经变性疾病。增殖性和过度增殖性疾病的实例包括但不限于癌症。术语“癌症”包括但不限于以下癌症:乳腺癌;卵巢癌;宫颈癌;前列腺癌;睾丸癌、泌尿生殖道癌;食管癌;喉癌,胶质母细胞瘤;神经母细胞瘤;胃癌;皮肤癌,角化棘皮瘤;肺癌,表皮样癌,大细胞癌,小细胞癌,肺腺癌;骨癌;结肠癌;结直肠癌;腺瘤;胰腺癌,腺癌;甲状腺癌,滤泡癌,未分化癌,乳头状癌;精原细胞瘤;黑色素瘤;肉瘤;膀胱癌;肝癌和胆道癌;肾癌;骨髓疾病;淋巴病,霍奇金瘤,毛细胞癌;口腔癌和咽部(口腔)癌,唇癌,舌癌,口癌,咽癌;小肠癌;结肠癌,大肠癌,直肠癌,脑癌和中枢神经系统癌;慢性粒细胞白血病(CML)和白血病。术语“癌症”包括但不限于以下癌症:骨髓瘤、淋巴瘤或选自胃癌、肾癌或以下癌症的癌症:头颈部癌、口咽癌、非小细胞肺癌(NSCLC)、子宫内膜癌、肝癌、非霍奇金淋巴瘤和肺癌。

[0715] 术语“癌症”是指由恶性肿瘤细胞增殖引起的任何癌症,例如肿瘤、赘生物、癌、肉瘤、白血病、淋巴瘤等。例如,癌症包括但不限于间皮瘤、白血病和淋巴瘤,例如皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL),非皮肤外周T细胞淋巴瘤,与人T细胞淋巴细胞病毒(HTLV)相关的淋巴瘤,例如成人T细胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、B细胞淋巴瘤、急性非淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、慢性髓性白血病、急性髓性白血病、淋巴瘤和多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性淋巴白血病(CLL)、霍奇金淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、成人T细胞白血病淋巴瘤、急性髓细胞白血病(AML)、慢性粒细胞白血病(CML)或肝细胞癌。进一步的实例包括骨髓增殖异常综合征、儿童实体瘤如脑肿瘤、神经母细胞瘤、视网膜母细胞瘤、肾母细胞瘤、骨肿瘤和软组织肉瘤、成人常见实体瘤如头颈癌(如口腔、喉、鼻咽和食管)、泌尿生殖系统癌症(如前列腺癌、膀胱癌、肾癌、子宫癌、卵巢癌、睾丸癌)、肺癌(如小细胞和非小细胞)、乳腺癌、胰腺癌、黑色素瘤和其他皮肤癌、胃癌、脑肿瘤、与Gorlin综合征相关的肿瘤(例如成神经管细胞瘤、脑膜瘤等)和肝癌。可由本发明双功能化合物治疗的其他示例性癌症形式包括但不限于骨骼肌癌或平滑肌癌、胃癌、小肠癌、直肠癌、唾液腺癌、子宫内膜癌、肾上腺癌、肛门癌、直肠癌、甲状旁腺癌和垂体癌。

[0716] 本文所述的双功能化合物可用于预防、治疗和研究的其他癌症是例如结肠癌、家族性腺瘤性息肉病和遗传性非息肉性结直肠癌或黑素瘤。此外,癌症包括但不限于唇癌、喉癌、下咽癌、舌癌、唾液腺癌、胃癌、腺癌、甲状腺癌(髓样和乳头状甲状腺癌)、肾癌、肾实质癌、子宫颈癌、子宫体癌、子宫内膜癌、绒毛膜癌、睾丸癌、尿癌、黑色素瘤、脑肿瘤如胶质母细胞瘤、星形细胞瘤、脑膜瘤、成神经管细胞瘤和外周神经外胚层肿瘤、胆囊癌、支气管癌、多发性骨髓瘤、基底细胞瘤、畸胎瘤、视网膜母细胞瘤、脉络膜黑色素瘤、精原细胞瘤、横纹肌肉瘤、颅咽肌瘤、骨肉瘤、软骨肉瘤、肌肉瘤、脂肪肉瘤、纤维肉瘤、尤文肉瘤和浆细胞瘤。在本申请的一个方面,本申请提供了本申请的一种或多种双功能化合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途,包括但不限于本文公开的各种类型的癌症。

[0717] 在一些实施方案中,本申请的双功能化合物可用于治疗癌症,例如结直肠癌、甲状腺癌、乳腺癌和肺癌;和骨髓增殖性疾病,例如真性红细胞增多症、血小板增多症、骨髓纤维化的骨髓化生、慢性髓性白血病、慢性髓单核细胞白血病、嗜酸性粒细胞增多症、青少年髓单核细胞白血病和系统性肥大细胞病。在一些实施方案中,本申请的双功能化合物可用于

治疗造血障碍、特别是急性髓性白血病(AML)、慢性髓性白血病(CML)、急性早幼粒细胞白血病和急性淋巴细胞白血病(ALL)。

[0718] 本申请进一步包括治疗或预防细胞增殖性疾病例如增殖、发育不良和癌前病变。发育不良是病理学家在活组织检查中可识别的最早形式的癌前病变。可以施用本发明的双功能化合物以防止所述增殖、发育不良或癌前病变继续扩张或出现癌变。癌前病变的实例可以发生在皮肤、食道组织、乳房和宫颈上皮内组织中。

[0719] 神经变性疾病的实例包括但不限于肾上腺脑白质营养不良(ALD)、亚历山大氏病、阿尔卑斯病、阿尔茨海默氏病、肌萎缩侧索硬化症(Lou Gehrig's病)、共济失调毛细血管扩张症、Batten病(也称为Spielmeyer-Vogt-Sjogren-Batten病)、牛海绵状脑病(BSE)、Canavan病、Cockayne综合征、皮质基底节变性、Creutzfeldt-Jakob病、家族性致命性失眠、额颞叶变性、亨廷顿病、HIV相关性痴呆、肯尼迪病、Krabbe病、路易体痴呆、神经疏松症、Machado-Joseph病(脊髓小脑性共济失调3型)、多系统萎缩、多发性硬化症、发作性睡病、尼曼病、帕金森病、Pelizaeus-Merzbacher病、皮克病、原发性侧索硬化症、朊病毒病、进行性核上性麻痹、Refsum病、Sandhoff病、Schilder's病、继发于恶性贫血的脊髓亚急性联合变性、Spielmeyer-Vogt-Sjogren-Batten病(也称Batten病)、脊髓小脑性共济失调(具有不同特征的多种类型)、脊髓性肌萎缩症、Steele-Richardson-Olszewski病、脊髓痨和毒性脑病变。

[0720] 本申请的另一方面提供了治疗或减轻选自增殖性或过度增殖性疾病或神经变性疾病的疾病的严重程度的方法，包括向有需要的个体给予有效量的双功能化合物或包含双功能化合物的药学上可接受的组合物。在其他实施方案中，该方法还包括施用第二药剂，其中所述第二药剂阻止EGFR二聚体形成。在一些实施方案中，阻止EGFR二聚体形成的第二药剂是抗体。在进一步的实施方案中，阻止EGFR二聚体形成的第二药剂是西妥昔单抗、曲妥珠单抗或帕尼单抗。在进一步的实施方案中，阻止EGFR二聚体形成的第二药剂是西妥昔单抗。

[0721] 本申请的双功能化合物和组合物也可用于生物样品。本申请的一个方面是抑制生物样品中的蛋白激酶活性，该方法包括使所述生物样品与本申请的双功能化合物或包含所述双功能化合物的组合物接触。如本文所用，术语“生物样品”是指体外或离体样品，包括但不限于细胞培养物或其提取物；从哺乳动物或其提取物中获得的活检材料；和血液、唾液、尿液、粪便、精液、眼泪或其他体液或其提取物。抑制生物样品中的蛋白激酶活性可用于本领域技术人员已知的各种目的。此类目的的实例包括但不限于输血、器官移植和生物样本储存。

[0722] 本申请的另一方面包括研究生物和病理现象中的Her激酶；研究这种蛋白激酶介导的细胞内信号转导通路；以及新蛋白激酶抑制剂的比较评价。此类用途的实例包括但不限于生物测定，例如酶测定和基于细胞的测定。

[0723] 本申请的双功能化合物和组合物作为Her激酶调节剂(例如，能够调节或降低Her激酶的量)的活性可以在体外、体内或细胞系中进行测定。体外测定包括确定对激活的激酶的激酶活性或ATP酶活性的抑制的测定。替代体外测定可定量抑制剂与蛋白激酶结合的能力，可通过在结合前对抑制剂进行放射性标记、分离抑制剂/激酶复合物并确定结合的放射性标记量或通过运行竞争实验(其中新的抑制剂与结合已知放射性配体的激酶一起孵育)来测量。用于测定本申请中使用的化合物作为各种激酶抑制剂的详细条件在下面的实施例

中列出。

[0724] 根据前述内容,本申请进一步提供了在需要这种治疗的个体中预防或治疗上述任何疾病或病症的方法,该方法包括给予所述个体治疗有效量的本申请的双功能化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、前药、立体异构体或互变异构体和任选的第二药剂,其中所述第二药剂阻止EGFR二聚体形成。对于任何上述用途,所需剂量将根据给药方式、待治疗的具体病症和所需效果而变化。

[0725] 药物组合物

[0726] 另一方面,本申请提供药物组合物,其包含治疗有效量的本申请的双功能化合物或其对映异构体、非对映异构体、立体异构体或药学上可接受的和药学上可接受的载体。

[0727] 本申请的双功能化合物可以作为药物组合物通过任何常规途径施用,特别是肠内,例如口服,例如以片剂或胶囊的形式,或胃肠外,例如以可注射溶液或悬浮液的形式,或局部施用,例如以洗剂、凝胶、软膏或乳膏的形式,或以鼻剂或栓剂的形式。包含本申请化合物的游离形式或药学上可接受的盐形式与至少一种药学上可接受的载体或稀释剂的药物组合物可以通过混合、制粒或包衣方法以常规方式制备。例如,口服组合物可以是片剂或明胶胶囊,其包含活性成分和a)稀释剂,例如乳糖、右旋糖、蔗糖、甘露醇、山梨糖醇、纤维素和/或甘氨酸; b)润滑剂,例如二氧化硅、滑石、硬脂酸、其镁盐或钙盐和/或聚乙二醇;对于片剂还有c)粘合剂,例如硅酸铝镁、淀粉糊、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮;如果需要,d)崩解剂,例如淀粉、琼脂、海藻酸或其钠盐,或泡腾混合物;和/或e)吸收剂、着色剂、调味剂和甜味剂。可注射组合物可以是水性等渗溶液或悬浮液,栓剂可以由脂肪乳剂或悬浮液制备。组合物可以是灭菌的和/或含有佐剂,例如防腐剂、稳定剂、润湿剂或乳化剂、溶液促进剂、调节渗透压的盐和/或缓冲剂。此外,它们还可含有其他有治疗价值的物质。用于透皮应用的合适制剂包括有效量的本申请化合物与载体。载体可包括可吸收的药理学上可接受的溶剂,以帮助通过宿主的皮肤。例如,透皮装置是绷带的形式,包括背衬构件、含有任选含载体的化合物的储库、任选的速率控制屏障以在受控和预定的速率下经延长的时间段将化合物递送至宿主的皮肤,以及将设备固定在皮肤上的装置。也可使用基质透皮制剂。用于局部施用(例如皮肤和眼睛)的合适制剂优选是本领域熟知的水溶液、软膏、乳膏或凝胶。这些可含有增溶剂、稳定剂、张力增强剂、缓冲剂和防腐剂。

[0728] 本申请的药物组合物包含与一种或多种药学上可接受的载体一起配制的治疗有效量的本申请化合物。如本文所用,术语“药学上可接受的载体”是指无毒的惰性固体、半固体或液体填充剂,稀释剂,包封材料或任何类型的制剂助剂。可用作药学上可接受的载体的材料的一些实例包括但不限于:离子交换剂,氧化铝,硬脂酸铝,卵磷脂,血清蛋白,例如人血清白蛋白,缓冲物质例如磷酸盐,甘氨酸,山梨酸,或山梨酸钾,饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物,水,盐或电解质,如硫酸鱼精蛋白,磷酸氢二钠,磷酸氢钾,氯化钠,锌盐,胶体二氧化硅,三硅酸镁,聚乙烯吡咯烷酮,聚丙烯酸酯,蜡,聚乙烯聚氧丙烯嵌段聚合物,羊毛脂,糖,如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素及其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;粉末黄蓍胶;麦芽;明胶;滑石;赋形剂,如可可脂和栓剂蜡;油,如花生油,棉籽油;红花油;芝麻油;橄榄油;玉米油和豆油;二醇如丙二醇或聚乙二醇;酯类,油酸乙酯和月桂酸乙酯,琼脂;缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;海藻酸;无热原水,等渗盐水;林格氏溶液;乙醇,磷酸盐缓冲溶液,以及其他无毒相容润滑剂,如十二烷基

硫酸钠和硬脂酸镁；以及着色剂，释放剂，被膜剂，甜味剂，调味剂和芳香剂，防腐剂和抗氧化剂也可以根据配方设计师的判断存在于组合物中。

[0729] 本申请的药物组合物可以口服、直肠、肠胃外、脑池内、阴道内、腹膜内、局部（如通过粉末、软膏或滴剂）、口腔或作为口腔或鼻腔喷雾给予人和其它动物。

[0730] 用于口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳液、微乳液、溶液、悬浮液、糖浆和酏剂。除活性化合物外，液体剂型可含有本领域常用的惰性稀释剂例如水或其它溶剂，增溶剂和乳化剂如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯基醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油（特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油）、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和脱水山梨糖醇脂肪酸酯以及它们的混合物。除惰性稀释剂外，口服组合物还可包括佐剂，如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、调味剂和芳香剂。

[0731] 可以使用合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂根据已知技术配制可注射制剂，例如无菌可注射水性或油性悬浮液。无菌可注射制剂还可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液、悬浮液或乳液，例如在1,3-丁二醇中的溶液。可以使用的可接受的载体和溶剂是水、林格氏溶液、U.S.P. 和等渗氯化钠溶液。另外，无菌的固定油通常用作溶剂或悬浮介质。为此目的，可以使用任何温和的固定油，包括合成的甘油单酯或甘油二酯。此外，脂肪酸如油酸用于制备注射剂。

[0732] 为了延长药物的作用，通常需要减缓皮下或肌内注射的药物吸收。这可以通过使用水溶性差的结晶或无定形材料的液体悬浮液来实现。然后，药物的吸收速率取决于其溶解速率，其反过来可取决于晶体大小和晶形。或者，通过将药物溶解或悬浮在油性载体中来实现胃肠外给药的药物形式的延迟吸收。

[0733] 用于直肠或阴道给药的组合物优选是栓剂，其可以通过将本申请的化合物与合适的无刺激性赋形剂或载体如可可脂、聚乙二醇或栓剂蜡混合来制备，所述载体在环境温度下为固体但在体温下为液体，因此在直肠或阴道腔内融化并释放出活性化合物。

[0734] 类似类型的固体组合物也可用作软的和硬的填充明胶胶囊中的填充剂，使用诸如乳糖或奶糖以及高分子量聚乙二醇等赋形剂。

[0735] 活性化合物也可以是具有一种或多种上述赋形剂的微胶囊形式。片剂、糖衣丸、胶囊、丸剂和颗粒剂的固体剂型可以用包衣和外壳制备，例如肠溶包衣、释放控制包衣和药物配制领域熟知的其它包衣。在这种固体剂型中，活性化合物可以与至少一种惰性稀释剂如蔗糖、乳糖或淀粉混合。正常情况下，这些剂型还可包含除惰性稀释剂以外的其它物质，例如压片润滑剂和其它压片助剂如硬脂酸镁和微晶纤维素。在胶囊、片剂和丸剂的情况下，剂型还可包含缓冲剂。

[0736] 用于局部或透皮施用本申请化合物的剂型包括软膏、糊剂、乳膏、洗剂、凝胶、粉末、溶液、喷雾剂、吸入剂或贴剂。在无菌条件下将活性成分与药学上可接受的载体和任何所需的防腐剂或缓冲剂混合。眼科制剂、滴耳液、眼用软膏、粉末和溶液也预期包括在本申请的范围内。

[0737] 除了本申请的活性化合物之外，软膏、糊剂、乳膏和凝胶可以含有赋形剂，例如动物和植物脂肪、油、蜡、石蜡、淀粉、黄蓍胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅氧烷、膨润土、硅酸盐、滑石和氧化锌或它们的混合物。

[0738] 除本申请化合物外，粉剂和喷雾剂还可含有赋形剂，如乳糖、滑石、硅酸、氢氧化

铝、硅酸钙和聚酰胺粉末或这些物质的混合物。喷雾剂可另外含有常规推进剂，例如氯氟烃。

[0739] 透皮贴剂具有提供化合物受控递送至身体的附加优点。这种剂型可以通过将化合物溶解或分散在适当的介质中来制备。吸收促进剂也可用于增加化合物透过皮肤的通量。可以通过提供速率控制膜或通过将化合物分散在聚合物基质或凝胶中来控制速率。

[0740] 本申请的化合物和组合物可以在与一种或多种治疗剂(药物组合)或方式例如第二药剂的组合疗法中以治疗有效量施用，其中第二药剂调节(例如，抑制)一种或多种其他EGFR和/或其他抗增殖、抗癌、免疫调节或抗炎物质。当本申请的化合物与其他疗法联合给药时，共同给药的化合物的剂量当然将根据所用的共同药物的类型、所用的特定药物、所治疗的病症等而变化。本申请的化合物和组合物可以在与一种或多种治疗剂(药物组合)或方式例如第二药剂、非药物疗法等的组合疗法中以治疗有效量施用，其中所述第二药剂阻止EGFR二聚体形成。例如，与阻止EGFR二聚体形成的药剂、其他抗增殖、抗癌、免疫调节或抗炎物质一起，可以发生协同作用。当本申请的化合物与其他疗法联合给药时，共同给药的化合物的剂量当然将根据所用的共同药物的类型、所用的特定药物、所治疗的病症等而变化。

[0741] 联合疗法包括将本发明化合物与一种或多种其他生物活性成分(例如但不限于第二药剂，其中所述第二药剂阻止EGFR二聚体形成，第二和不同的抗肿瘤剂，第二EGFR抑制剂)和非药物疗法(例如但不限于手术或放射治疗)联合给药。例如，本申请的化合物可以与其他药学活性化合物组合使用，优选能够增强本申请化合物的效果的化合物。本申请的化合物可以与其他药物疗法或治疗方式同时施用(作为单一制剂或单独的制剂)或顺序施用。通常，联合疗法设想在疗法的单个周期或期间施用两种或更多种药物。

[0742] 在本申请的一个方面，化合物可以与一种或多种阻止EGFR二聚体形成的药剂联合给药。在一些实施方案中，阻止EGFR二聚体形成的第二药剂是抗体。在进一步的实施方案中，阻止EGFR二聚体形成的第二药剂是西妥昔单抗、曲妥珠单抗或帕尼单抗。在进一步的实施方案中，阻止EGFR二聚体形成的第二药剂是西妥昔单抗。

[0743] 在本申请的另一个方面，化合物可以与一种或多种单独的药剂联合给药，例如化学治疗剂、免疫治疗剂或辅助治疗剂。在一个实施方案中，化学治疗剂降低或抑制ATP与EGFR的结合(例如吉非替尼、埃罗替尼、AZD9291、CO-1686或WZ4002)。

[0744] 实施例

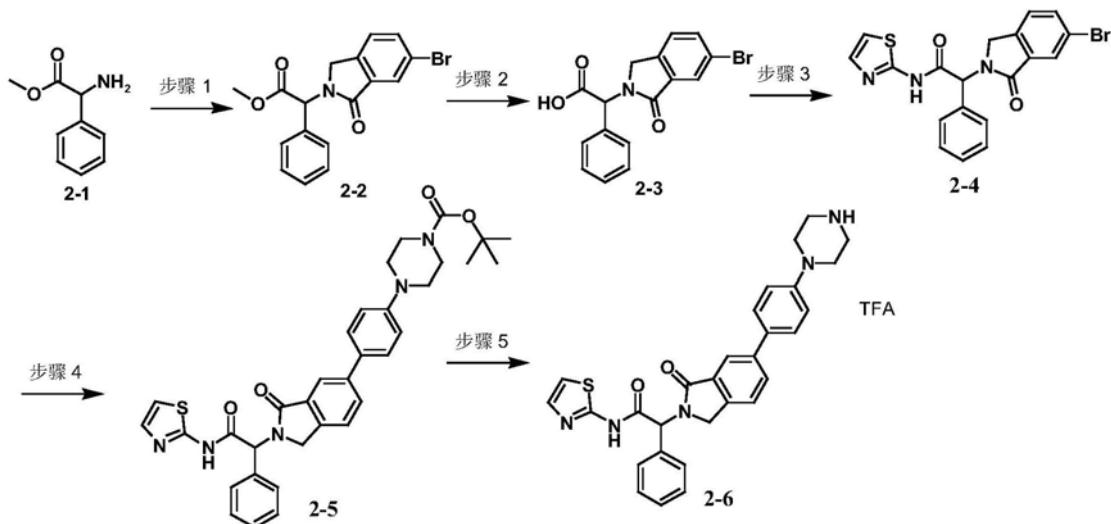
[0745] 分析方法、材料和仪器

[0746] 所有的反应通过Waters Acquity UPLC/MS系统(Waters PDA eλ检测器，QDa检测器，样品管理器-FL，二元溶剂管理器)使用Acquity **UPLC®BEHC18柱**( $2.1 \times 50\text{mm}$ ,  $1.7\mu\text{m}$ 粒径)：溶剂梯度=0分钟时90%A, 1.8分钟时1%A；溶剂A=0.1%甲酸的水溶液；溶剂B=0.1%甲酸的乙腈溶液；流速： $0.6\text{mL}/\text{min}$ 监测。反应产物通过快速柱色谱，使用具有Teledyne Isco **RediSep®Rf**高性能金或Silicycle SiliaSep™高效柱( $4\text{g}$ ,  $12\text{g}$ ,  $24\text{g}$ ,  $40\text{g}$ 或 $80\text{g}$ )的**CombiFlash®Rf**, Waters HPLC系统，使用SunFire™ Prep C18柱( $19 \times 100\text{mm}$ ,  $5\mu\text{m}$ 粒径)：溶剂梯度=0分钟时80%A, 25分钟时5%A；溶剂A=0.035%TFA水溶液；溶剂B=0.035%TFA的MeOH溶液；流速： $25\text{mL}/\text{min}$ (方法A)，和Waters Acquity UPLC/MS系统(Waters PDA eλ检测器，QDa检测器，样品管理器-FL，二元溶剂管理器)，使用Acquity **UPLC®BEHC18色谱柱**( $2.1 \times 50\text{mm}$ ,  $1.7\mu\text{m}$ 粒径)：溶剂梯度=0分钟时80%A, 2分钟时5%A；

溶剂A=0.1%甲酸的水溶液；溶剂B=0.1%甲酸的乙腈溶液；流速：0.6mL/min(方法B)纯化。所有化合物的纯度均超过95%，并用Waters LC/MS系统分析。使用500MHz Bruker Avance III获得<sup>1</sup>H NMR。对于<sup>1</sup>H NMR，报道了相对于二甲基亚砜( $\delta=2.50$ )的化学位移。数据报告为(br=宽,s=单峰,d=双峰,t=三重峰,q=四重峰,m=多重峰)。

[0747] 以下实施例和本文其他地方使用的缩写词是：

|        |  |   |
|--------|--|---|
| [0748] | atm  | 气氛  |
| [0749] | br   | 宽   |
| [0750] | DCM  | 二氯甲烷  |
| [0751] | DIEA   | N,N-二异丙基乙胺                                    |
| [0752] | DMA  | N,N-二甲基乙酰胺                                    |
| [0753] | DMF  | N,N-二甲基甲酰胺                                    |
| [0754] | DMSO   | 二甲基亚砜   |
| [0755] | EDCI   | 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺                        |
| [0756] | ESI  | 电喷雾电离   |
| [0757] | EtOAc  | 乙酸乙酯  |
| [0758] | HCl  | 盐酸  |
| [0759] | h  | 小时  |
| [0760] | HATU   | 双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶-3-氧化物六氟磷酸盐 |
| [0761] | HPLC   | 高效液相色谱  |
| [0762] | LCMS   | 液相色谱-质谱                                       |
| [0763] | m  | 多重峰   |
| [0764] | MeOH   | 甲醇  |
| [0765] | MHz  | 兆赫兹   |
| [0766] | min  | 分钟  |
| [0767] | MS   | 质谱  |
| [0768] | NMR  | 核磁共振  |
| [0769] | Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub>   | 三(二亚苄基丙酮)二钯(0)                                |
| [0770] | ppm  | 百万分率  |
| [0771] | TBAF   | 四正丁基氟化铵                                       |
| [0772] | THF  | 四氢呋喃  |
| [0773] | TLC  | 薄层色谱  |
| [0774] | Xphos  | 2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基联苯基                     |
| [0775] | 实施例1:2-(1-氧代-5-苯基异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺2-(1-氧代-6-(哌嗪-1-基)苯基)异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(2-6)的合成 |   |



[0777] 步骤1.2- (6-溴-1-氧化异吲哚啉-2-基)-2-苯基乙酸甲酯(2-2)

[0778] 向2-氨基-2-苯基乙酸甲酯(2-1, 2.8g, 13.9mmol)和5-溴-2-(溴甲基)苯甲酸甲酯(3.9g, 12.7mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(120mL)溶液中加入DIEA(6.6mL, 38.0mmol)并将所得混合物加热至80℃。搅拌过夜后,将反应混合物冷却至室温并用水(700mL)稀释。滤出沉淀物并使用氮气流干燥,得到2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基乙酸甲酯(2-2)(3.2g, 70%),为灰白色固体。

[0779] 步骤2.2- (6-溴-1-氧化异吲哚啉-2-基)-2-苯乙酸(2-3)

[0780] 向2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基乙酸甲酯(2-2, 3.2g, 8.89mmol)的THF/MeOH/水(150mL, 1:1:1)溶液中加入氢氧化锂一水合物(2.65g, 63.3mmol)。搅拌1小时后, 减压除去溶剂, 所得残余物用冰水稀释。将含水混合物用浓HCl酸化, 并通过过滤分离所得悬浮液。使用氮气流干燥固体, 得到2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基乙酸(2-3)(2.8g, 92%), 为灰白色固体。

[0781] 步骤3.2-(6-溴-1-氧化异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(2-4)

[0782] 向2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基乙酸(2-3, 2.0g, 5.78mmol)、噻唑-2-胺(1.1g, 11.6mmol)和HATU(4.4g, 11.6mmol)在N,N-二甲基甲酰胺(30mL)的溶液中加入DIEA(4.0mL, 23.1mmol)。搅拌6小时后, 将反应混合物用EtOAc稀释并用水洗涤五次。将有机层用硫酸钠干燥, 过滤, 在减压下浓缩, 并通过硅胶柱色谱(DCM:EtOAC=9:1至4:6)纯化, 得到2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(2-4, 1.8g, 73%), 为灰白色固体。

[0783] 步骤4.4-(4-(3-氧化-2-(2-氧化-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(2-5)

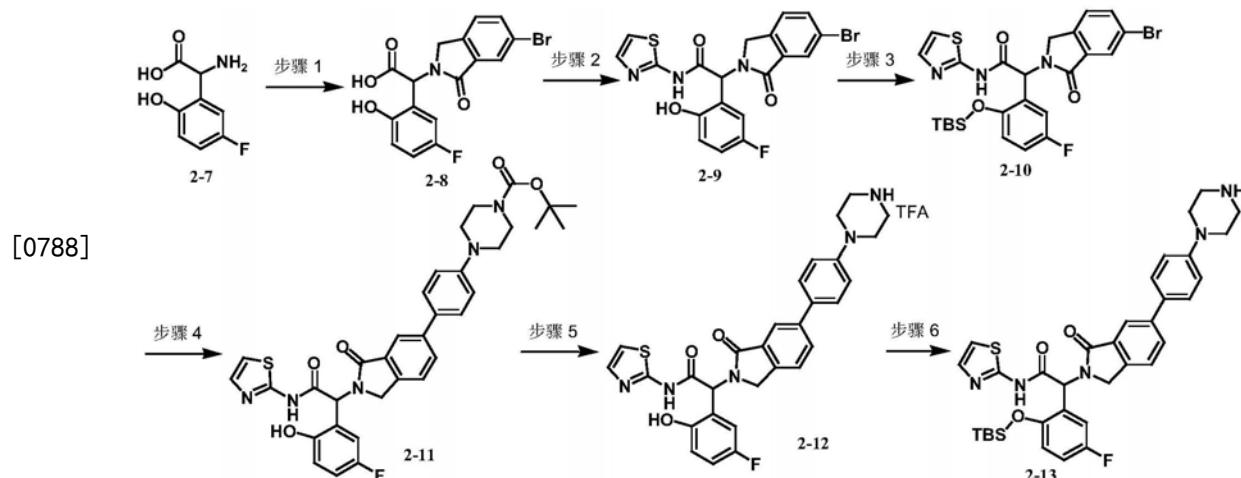
[0784] 将2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(50mg,0.117mmol)、(4-(4-(叔丁氧基羰基)哌嗪-1-基)苯基)硼酸(21mg,0.175mmol)和2N碳酸钠(0.18mL,0.351mmol)在二噁烷(1mL)溶液中的混合物脱气并加热至100℃。然后加入PdCl<sub>2</sub>(dppf)<sub>2</sub>(5mg,0.007mmol)和Xphos(4.5mg,0.011mmol),将所得反应混合物搅拌2小时。然后将反应混合物冷却至室温并用二氯甲烷稀释。将所得混合物用水和盐水洗涤,经硫酸钠干燥,过滤,并在减压下浓缩。通过制备型高效液相色谱(HPLC)纯化所得残余物,得到4-(4-(3-氧代-2-(2-氧代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-羧酸。

叔丁酯(2-5,25mg,50%),为白色固体。

[0785] 步骤5.2-(1-氧代-5-苯基异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺三氟乙酸盐(2-6)

[0786] 向4-(4-(3-氧代-2-(2-氧代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(2-5,25mg,0.058mmol)的DCM(1.0mL)溶液中加入三氟乙酸(0.2mL)。将所得溶液搅拌1小时,然后减压浓缩。通过制备型高效液相色谱(HPLC)纯化所得残余物,得到2-6。<sup>1</sup>H NMR 600MHz(DMSO-d<sub>6</sub>)δ12.69(bs,NH),7.89(d,J=1.3Hz,1H),7.86(dd,J=8.0,1.7Hz,1H),7.65(d,J=8.9Hz,2H),7.60(d,J=8.0Hz,1H),7.49-7.45(m,3H),7.44-7.40(m,1H),7.39-7.36(m,2H),7.27(d,J=3.5Hz,1H),7.09(d,J=8.9Hz,2H),6.31(s,1H),4.76(d,J=17.5Hz,1H),3.99(d,J=17.6Hz,1H),3.42-3.39(m,4H),3.25(s,4H).MS m/z:510.28[M+1].

[0787] 实施例2:2-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-氟苯基)-2-(1-氧代-6-(4-(哌嗪-1-基)苯基)异吲哚啉-2-基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(2-13)的合成



[0788] 步骤1.2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-(5-氟-2-羟基苯基)乙酸(2-8)

[0789] 向2-氨基-2-(5-氟-2-羟基苯基)乙酸(2-7)(250mg,1.13mmol)和5-溴-2-(溴甲基)苯甲酸甲酯(331mg,1.07mmol)的二噁烷(5mL)溶液中加入(DIEA)(0.49mL,2.83mmol),将所得混合物在0℃下搅拌2小时,然后在室温下搅拌2小时。然后将反应混合物温热至30℃并在30℃下再搅拌4小时。将混合物冷却至0℃并用EtOAc稀释。将所得溶液用1N HCl溶液和盐水洗涤,将有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩,得到2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-(5-氟-2-羟基苯基)乙酸(2-8),其不经进一步纯化即用于下一步骤。

[0790] 步骤2.2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-(5-氟-2-羟基苯基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(2-9)

[0791] 向2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-(5-氟-2-羟基苯基)乙酸(2-8)的DCM(15mL)溶液中加入N-(噻唑-2-基)-1H-咪唑-1-甲酰胺(300mg,1.70mmol)(按照Angew.Chem.Int.Ed.2014,5389-5393报道的类似方法合成N-(噻唑-2-基)-1H-咪唑-1-甲酰胺)。搅拌过夜后,过滤反应混合物,减压浓缩所得滤液。通过快速柱色谱(己烷/EtOAc=70:30至50:50)纯化残余物,得到2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-(5-氟-2-羟基苯基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(2-9),为灰白色固体。(430mg,50%)

[0792] 步骤3.2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-

5-氟苯基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(2-10)

[0794] 向2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-(5-氟-2-羟基苯基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(2-9)(250mg,0.54mmol)在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(5mL)的溶液中加入TBSCl(98mg,0.65mmol)和咪唑(55mg,0.81mmol)。搅拌6小时后,将反应混合物用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩,并通过硅胶柱色谱(DCM:MeOH=10:0至8:2)纯化,得到2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氨基)-5-氟苯基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(2-10)(296mg,95%)。

[0795] 步骤4.4-(4-(2-(1-(5-氟-2-羟基苯基)-2-氧代-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)-3-氧代异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(2-11)

[0796] 将2-(6-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氨基)-5-氟苯基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(2-10)(380mg,0.66mmol)、4-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(333mg,0.857mmol)和2M碳酸钠(1.32mL,2.64mmol)的二噁烷(7mL)溶液的混合物脱气并加热至100℃。然后加入PdCl<sub>2</sub>(dppf)<sub>2</sub>(48mg,0.066mmol)和Xphos(47mg,0.099mmol),将所得反应混合物搅拌2小时。然后将反应混合物冷却至室温并用二氯甲烷稀释。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。通过制备型高效液相色谱(HPLC)纯化所得残余物,得到4-(4-(2-(1-(5-氟-2-羟基苯基)-2-氧代-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)-3-氧代异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(2-11)(42mg,10%)。

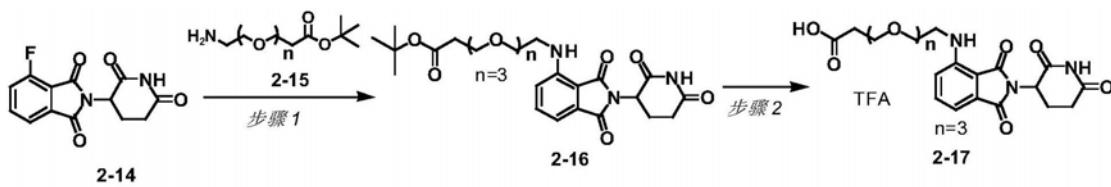
[0797] 步骤5.2-(5-氟-2-羟基苯基)-2-(1-氧代-6-(4-(哌嗪-1-基)苯基)异吲哚啉-2-基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺三氟乙酸盐(2-12)

[0798] 向4-(4-(2-(1-(5-氟-2-羟基苯基)-2-氧代-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)-3-氧代异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(2-11)的DCM(0.8mL)溶液加入三氟乙酸(0.2mL)。将所得溶液搅拌2小时,然后减压浓缩。减压浓缩所得残余物,得到2-(5-氟-2-羟基苯基)-2-(1-氧代-6-(4-(哌嗪-1-基)苯基)异吲哚啉-2-基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺三氟乙酸盐(2-12),其不经进一步纯化使用。

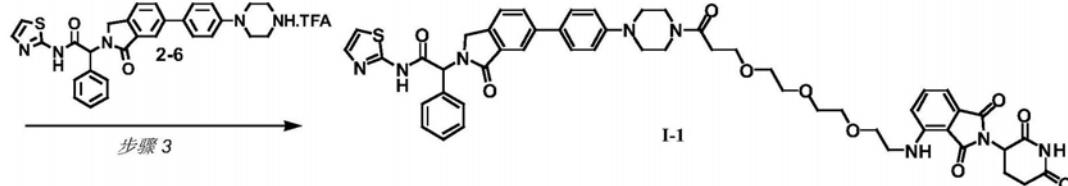
[0799] 步骤6.2-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氨基)-5-氟苯基)-2-(1-氧代-6-(4-(哌嗪-1-基)苯基)异吲哚啉-2-基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(2-13)

[0800] 按照上述实施例2步骤3的类似方法合成2-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氨基)-5-氟苯基)-2-(1-氧代-6-(4-(哌嗪-1-基)苯基)异吲哚啉-2-基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(145mg,80%)。

[0801] 实施例3:2-(6-(4-(3-(2-(2-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酰基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-1)的合成



[0802]



[0803] 步骤1:3-(2-(2-(2-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)丙酸叔丁酯(2-16)

[0804] 将2-14 (280mg, 1.01mmol)、3-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)丙酸叔丁酯(2-15, 其中n=3, 337mg, 1.22mmol)和DIEA (0.7mL, 4.04mmol)的DMF (5mL)溶液在80℃下搅拌过夜。将得到的混合物用EtOAc稀释并用水洗涤五次。将有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并减压浓缩。通过快速柱色谱 (DCM/EtOAc=90:10至50:50) 纯化得到的残余物,得到2-16,其中n=3。

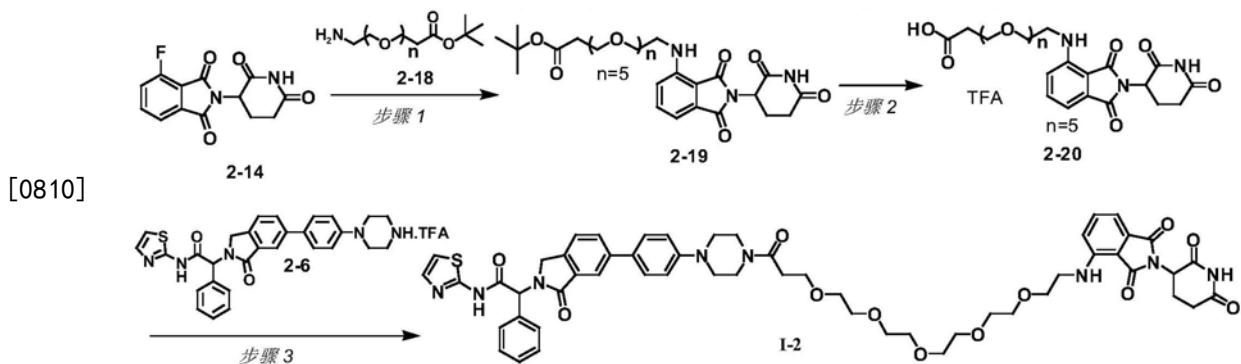
[0805] 步骤2:3-(2-(2-(2-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)丙酸三氟乙酸盐(2-17)

[0806] 向2-16 (n=3, 100mg, 0.19mmol)的DCM (1.6mL)溶液中加入三氟乙酸 (0.4mL)。将所得溶液搅拌1小时,然后减压浓缩。通过快速柱色谱 (DCM/MeOH=100:0至80:20) 纯化得到的残余物,得到2-17,其中n=3。

[0807] 步骤3:2-(6-(4-(3-(2-(2-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)乙酰基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-1)

[0808] 向2-17 (n=3, 50mg, 0.08mmol)和2-6 (56mg, 0.11mmol)的DMF (1mL)溶液中加入EDCI (49mg, 0.25mmol)和DIEA (59μL, 0.34mmol),将所得混合物搅拌8小时。然后将反应混合物用DMSO稀释,并通过制备型HPLC (方法A)纯化,得到所需产物I-1 (28mg, 32%),为黄色固体。<sup>1</sup>H NMR 500MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.71 (s, 1H), 11.09 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.86 (d, J=7.9Hz, 1H), 7.65-7.54 (m, 4H), 7.52-7.36 (m, 6H), 7.29 (d, J=3.4Hz, 1H), 7.12 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.08-6.99 (m, 3H), 6.61-6.56 (m, 1H), 6.34 (s, 1H), 5.06 (dd, J=5.8, 12.8Hz, 1H), 4.78 (d, J=17.4Hz, 1H), 4.00 (d, J=17.4Hz, 1H), 3.70-3.35 (m, 18H), 3.27-3.13 (m, 4H), 2.93-2.82 (m, 1H), 2.66-2.52 (m, 4H), 2.07-1.96 (m, 1H). MS m/z: 969.03 [M+1]<sup>+</sup>.

[0809] 实施例4:2-(6-(4-(1-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷-18-酰基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-2)的合成



[0811] 步骤1:1-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异𫫇唑-4-基)氨基)-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷-18-酸叔丁酯(2-19)

[0812] 将2-14(280mg,1.01mmol)、1-氨基-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷-18-酸叔丁酯(2-18,其中n=5,337mg,1.22mmol)和DIEA(0.7mL,4.04mmol)的DMF(5mL)溶液在80℃下搅拌过夜。将得到的混合物用EtOAc稀释并用水洗涤五次。将有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并减压浓缩。通过快速柱色谱(DCM/EtOAc=90:10至50:50)纯化得到的残余物,得到2-19,其中n=5。

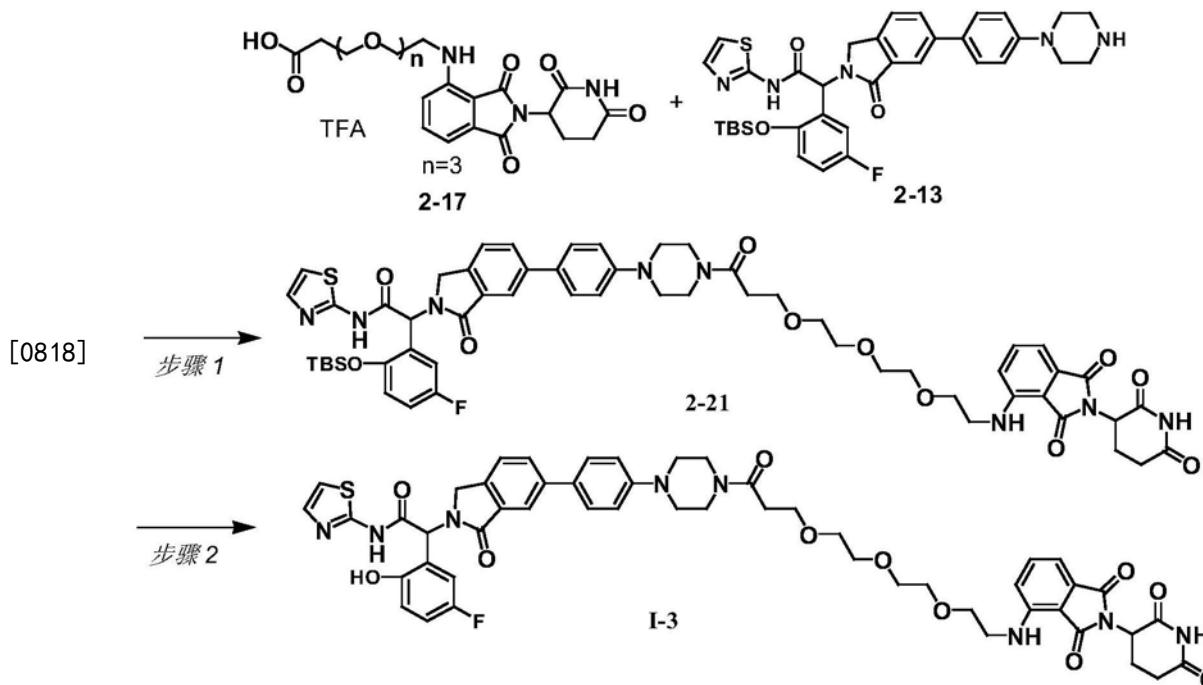
[0813] 步骤2:1-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异𫫇唑-4-基)氨基)-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷-18-酸三氟乙酸盐(2-20)

[0814] 向2-19(n=5,100mg,0.19mmol)的DCM(1.6mL)溶液中加入三氟乙酸(0.4mL)。将所得溶液搅拌1小时,然后减压浓缩。通过快速柱色谱(DCM/MeOH=100:0至80:20)纯化得到的残余物,得到2-20,其中n=5。

[0815] 步骤3:2-(6-(4-(4-(1-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异𫫇唑-4-基)氨基)-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷-18-酰基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异𫫇唑-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-2)

[0816] 向2-20(50mg,0.08mmol)和2-6(56mg,0.11mmol)的DMF(1mL)溶液中加入EDCI(49mg,0.25mmol)和DIEA(59μL,0.34mmol),将所得混合物搅拌8小时。然后将反应混合物用DMSO稀释,并通过制备型HPLC(方法A)纯化,得到所需产物I-2(12mg,28%)。<sup>1</sup>H NMR 500MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.70(s,1H), 11.09(s,1H), 7.88(s,1H), 7.85(d,J=7.6Hz,1H), 7.69-7.53(m,4H), 7.52-7.34(m,6H), 7.28(s,1H), 7.13(d,J=8.2Hz,1H), 7.08-7.00(m,3H), 6.62-6.56(m,1H), 6.32(s,1H), 5.09-5.02(m,1H), 4.77(d,J=17.7Hz,1H), 3.99(d,J=17.4Hz,1H), 3.74-3.27(m,26H), 3.25-3.11(m,4H), 2.93-2.81(m,1H), 2.67-2.50(m,4H), 2.07-1.96(m,1H). MS m/z: 1057.05 [M+1]<sup>+</sup>.

[0817] 实施例5:2-(6-(4-(4-(3-(2-(2-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异𫫇唑-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)丙酰基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异𫫇唑-2-基)-2-(5-氟-2-羟基苯基)-N-(噻唑-2-基)-乙酰胺(I-3)的合成



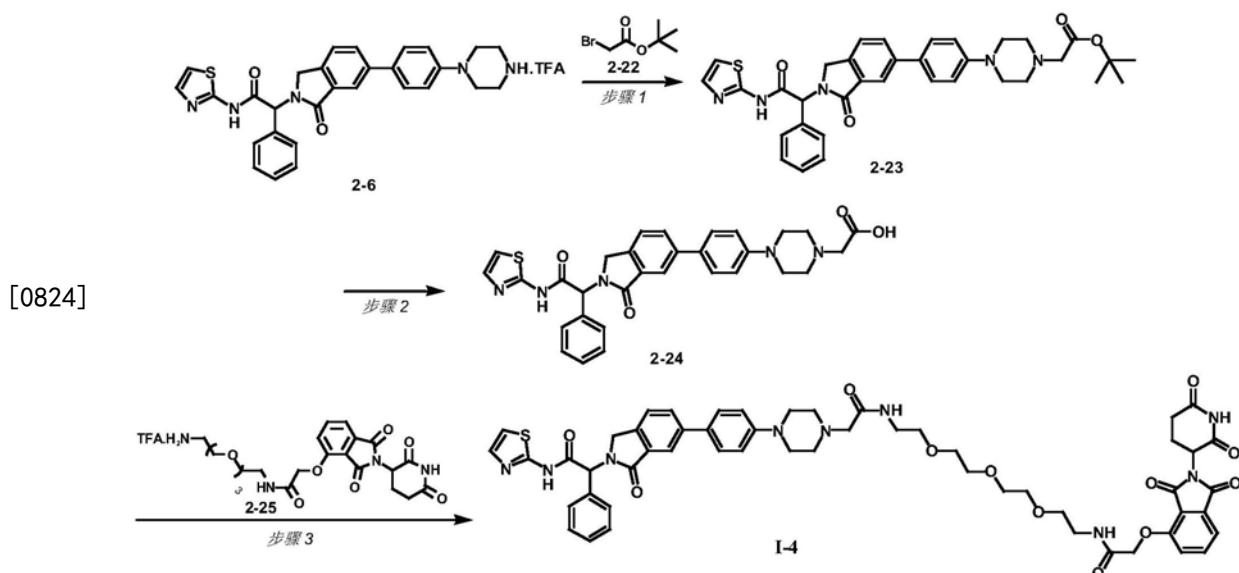
[0818] 步骤1: 2-((叔丁基二甲基甲硅烷基) 氧基)-5-氟苯基)-2-(6-(4-(3-(2-(2-((2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酰基)哌嗪-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(2-21)

[0819] 在0℃下向2-17(n=3, 158mg, 0.33mmol)和2-13(180mg, 0.28mmol)的DMF(2mL)溶液中加入HATU(160mg, 0.414mmol)和DIEA(0.19mL, 1.10mmol)。将得到的混合物在室温下搅拌6小时。将反应混合物用EtOAc稀释，并用水和盐水洗涤。将有机层用 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥，过滤，并减压浓缩。粗产物2-21无需进一步纯化即可用于下一步。

[0820] 步骤2: 2-((4-(3-(2-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)丙酰基)哌嗪-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-(5-氟-2-羟基苯基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-3)

[0821] 向粗品2-21的THF(1mL)溶液中加入1M TBAF的THF溶液(1mL)。搅拌1小时后，将所得混合物用DMSO稀释，并通过制备型HPLC(方法A)纯化，得到所需产物I-3(28mg, 两步10%)，为黄色固体。 $^1\text{H}$  NMR 500MHz(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12.6(s, 1H), 11.09(s, 1H), 9.95(s, 1H), 7.86(s, 1H), 7.85(d,  $J$ =8.2Hz, 1H), 7.65-7.52(m, 4H), 7.49(d,  $J$ =3.4Hz, 1H), 7.27(d,  $J$ =3.4Hz, 1H), 7.14-7.09(m, 2H), 7.07-7.00(m, 3H), 6.91(dd,  $J$ =4.9, 8.9Hz, 1H), 6.89(dd,  $J$ =3.1, 9.2Hz, 1H), 6.58(t,  $J$ =5.5Hz, 1H), 6.33(s, 1H), 5.05(dd,  $J$ =5.5, 12.8Hz, 1H), 4.63(d,  $J$ =17.4Hz, 1H), 4.00(d,  $J$ =17.3Hz, 1H), 3.67-3.40(m, 18H), 3.25-3.12(m, 4H), 2.93-2.83(m, 1H), 2.66-2.50(m, 4H), 2.07-1.95(m, 1H). MS m/z: 1002.96[M+1]<sup>+</sup>.

[0822] 实施例6: 2-((4-(17-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)-2,16-二氧代-6,9,12-三氧杂-3,15-二氮杂十七烷基)哌嗪-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-4)的合成



[0825] 步骤1:2-(4-(4-(3-氧代-2-(2-氧代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-基)乙酸叔丁酯(2-23)

[0826] 将2-6(300mg, 0.59mmol)、溴乙酸叔丁酯(2-22, 103μL, 0.71mmol)和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(244mg, 1.77mmol)在DMF(2.5mL)中的溶液在80℃搅拌8小时。然后将所得混合物用EtOAc稀释并用水洗涤四次。将有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并减压浓缩。通过快速柱色谱法(DCM/1M NH<sub>3</sub>在MeOH中的溶液=100:0至80:20)纯化残余物,得到产物2-23。

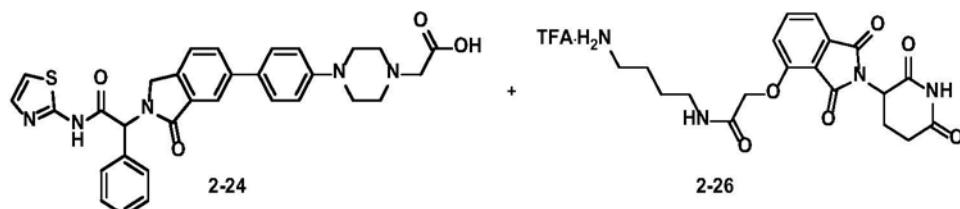
[0827] 步骤2:2-(4-(4-(3-氧代-2-(2-氧代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-基)乙酸(2-24)

[0828] 向2-23的DCM(4mL)溶液中加入TFA(1mL)并将所得混合物在室温下搅拌。反应完成后,浓缩反应混合物,粗品2-24不经进一步纯化用于下一步。

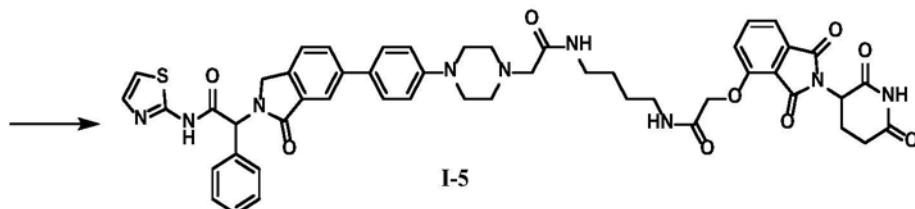
[0829] 步骤3:2-(6-(4-(4-(17-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚-4-基)氧基)-2,16-二氧代-6,9,12-三氧杂-3,15-二氮杂十七烷基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-4)

[0830] 向2-24(57mg, 0.10mmol)和2-25(50mg, 0.10mmol)的DMF(1mL)溶液中加入HATU(76mg, 0.20mmol)、DIEA(122μL, 0.70mmol),将所得混合物搅拌3小时。然后将反应混合物用DMSO稀释,并通过制备型HPLC纯化,得到所需产物I-4(34mg, 32%),为灰白色固体。<sup>1</sup>H NMR 500MHz(DMSO-d<sub>6</sub>)δ12.70(s, 1H), 11.12(s, 1H), 10.33-9.95(br, 1H), 8.77-8.43(br, 1H), 8.04-7.97(m, 1H), 7.90(s, 1H), 7.86(d, J=7.9Hz, 1H), 7.81(t, J=7.9Hz, 1H), 7.65(d, J=5.8Hz, 2H), 7.53-7.36(m, 8H), 7.28(d, J=3.1Hz, 1H), 7.08(d, J=8.2Hz, 2H), 6.32(s, 1H), 5.11(dd, J=5.2, 12.5Hz, 1H), 4.81-4.74(m, 3H), 4.00(d, J=17.4Hz, 1H), 3.52(s, 8H), 3.48-3.44(m, 4H), 3.44-3.29(m, 14H), 2.95-2.84(m, 1H), 2.65-2.50(m, 2H), 2.08-2.00(m, 1H). MS m/z: 1055.97 [M+1]<sup>+</sup>。

[0831] 实施例7:2-(6-(4-(4-(2-((4-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氧基)乙酰氨基)丁基)氨基)-2-氧代乙基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-5)

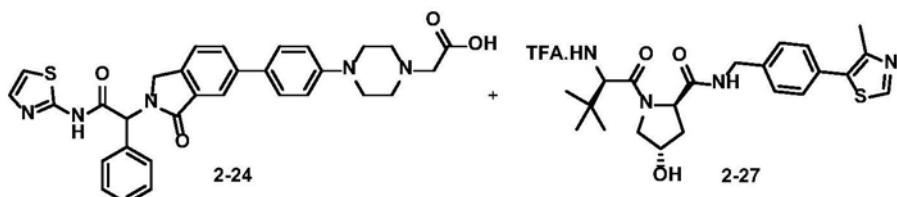


[0832]

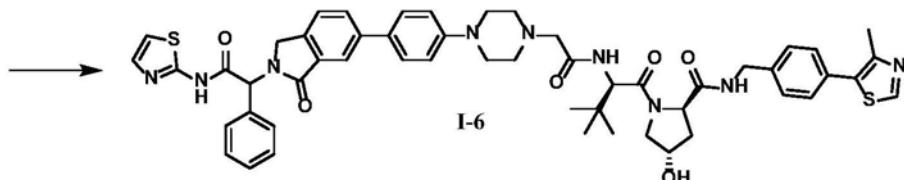


[0833] 向2-24 (57mg, 0.10mmol) 和2-26 (50mg, 0.10mmol) 的DMF (1mL) 溶液中加入HATU (76mg, 0.20mmol)、DIEA (122μL, 0.70mmol) ,并将所得混合物搅拌3小时。然后将反应混合物用DMSO稀释，并通过制备型HPLC纯化，得到所需产物I-5 (14mg, 28%) ,为灰白色固体。<sup>1</sup>H NMR 500MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ12.71 (s, 1H) ,11.12 (s, 1H) ,10.39-10.12 (br, 1H) ,8.69-8.48 (br, 1H) ,8.06-8.01 (m, 1H) ,7.91 (s, 1H) ,7.88 (d, J=7.9Hz, 1H) ,7.83 (t, J=7.9Hz, 1H) ,7.66 (d, J=8.5Hz, 2H) ,7.62 (d, J=8.5Hz, 1H) ,7.54-7.37 (m, 7H) ,7.29 (d, J=3.7Hz, 1H) ,7.09 (d, J=8.9Hz, 2H) ,6.33 (s, 1H) ,5.13 (dd, J=5.5, 13.1Hz, 1H) ,4.82-4.75 (m, 3H) ,4.01 (d, J=17.7Hz, 1H) ,3.42-3.29 (s, 10H) ,3.21-3.12 (m, 4H) ,2.95-2.85 (m, 1H) ,2.66-2.50 (m, 2H) ,2.08-2.00 (m, 1H) ,1.47 (br, 4H) .MS m/z:951.96 [M+1]<sup>+</sup>.

[0834] 实施例8. (2S,4R)-1-((2S)-3,3-二甲基-2-(2-(4-(3-氧代-2-(2-氧代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-基)乙酰氨基)丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(I-6)

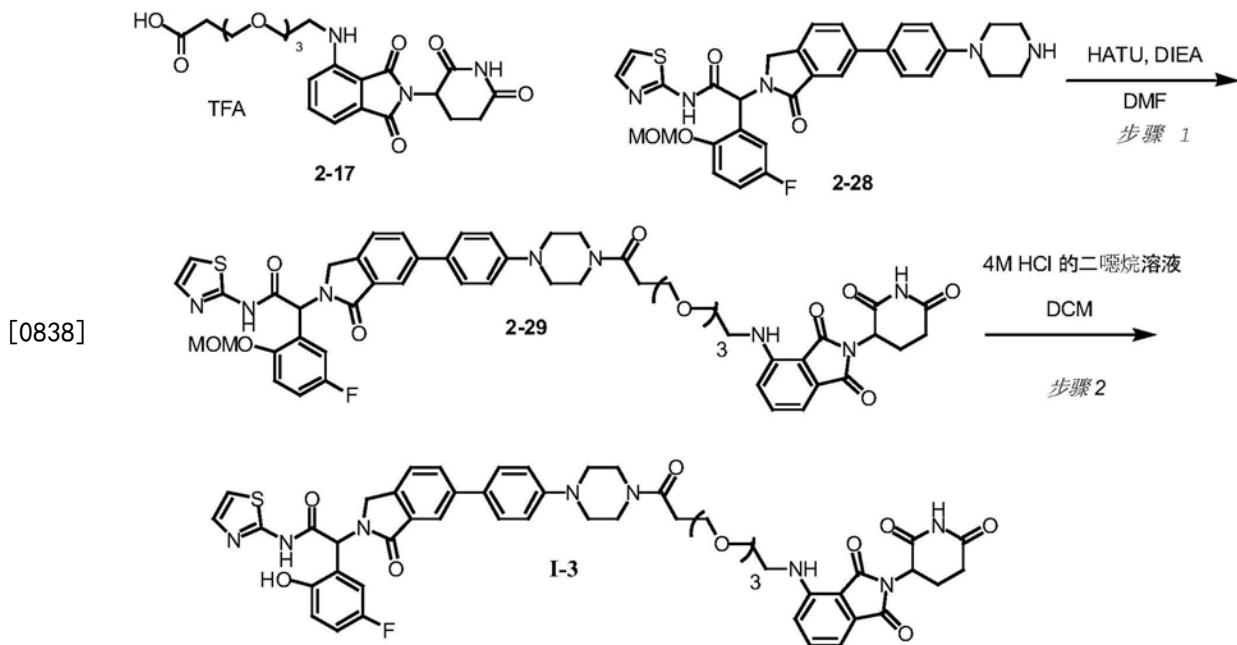


[0835]



[0836] 向2-24 (1当量, 基于叔丁酯) 和2-27 (24mg, 0.055mmol) 在CH<sub>2</sub>C<sub>12</sub> (1mL) 中的溶液加入EDCI (21mg, 0.11mmol)、DIEA (38μL, 0.22mmol) ,并将所得混合物搅拌6小时。减压浓缩反应混合物, 然后用DMSO稀释, 并通过制备型HPLC纯化, 得到所需产物I-6 (21mg, 40%) ,为灰白色固体。MS m/z:980.64 [M+1]<sup>+</sup>。

[0837] 实施例9.2-((6-(4-(3-(2-(2-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)丙酰基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-(5-氟-2-羟基苯基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-3)的替代合成



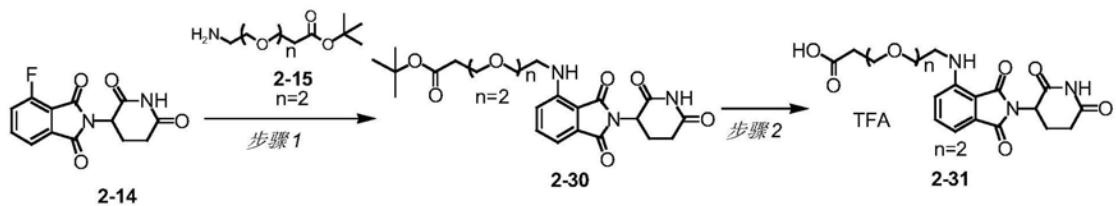
[0839] 步骤1: 2- (6- (4- (4- (3- (2- ((2- (2,6- 二氧代哌啶-3-基) -1,3- 二氧代异𫫇唑-4-基) 氨基) 乙氧基) 丙酰基) 哌嗪-1-基) 苯基) -1- 氧代异𫫇唑-2-基) -2- (5- 氟-2- (甲氨基甲氧基) 苯基) -N- (噻唑-2-基) 乙酰胺 (2-29)

[0840] 在0℃下向2-17(158mg, 0.33mmol)和2-28(180mg, 0.28mmol)的DMF(2mL)溶液中加入HATU(160mg, 0.414mmol)和DIEA(0.19mL, 1.10mmol)。将所得混合物在室温下搅拌6小时。将反应混合物用EtOAc稀释，并用水和盐水洗涤。将有机层用 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥，过滤，并减压浓缩。将残余物不经进一步纯化用于下一步骤。

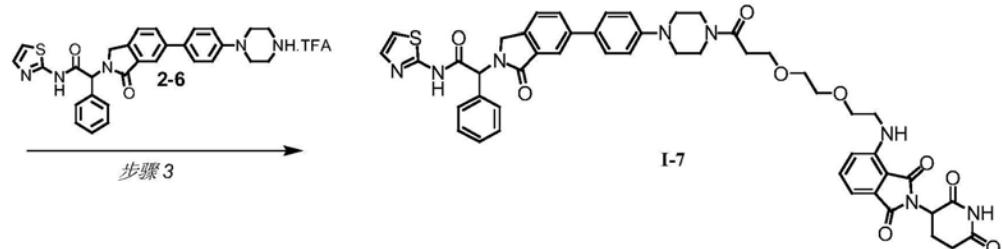
[0841] 步骤2:2- (6- (4- (4- (3- (2- (2- ((2- (2,6- 二氧代哌啶-3- 基) -1,3- 二氧代异𫫇唑啉-4- 基) 氨基) 乙氧基) 乙氧基) 乙氧基) 丙酰基) 哌嗪-1- 基) 苯基) -1- 氧代异𫫇唑啉-2- 基) -2- (5- 氟-2- 羟基苯基) -N- (噻唑-2- 基) 乙酰胺(1-3)

[0842] 向粗2-29的THF (1mL) 溶液中加入1M TBAF的THF溶液 (1mL)。搅拌1小时后,将所得混合物用DMSO稀释,并通过制备型HPLC纯化,得到所需产物 (28mg,两步10%),为黄色固体。  
 MS m/z: 1002.96 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR 500MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.6 (s, 1H), 11.09 (s, 1H), 9.95 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.85 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.65-7.52 (m, 4H), 7.49 (d, J=3.4Hz, 1H), 7.27 (d, J=3.4Hz, 1H), 7.14-7.09 (m, 2H), 7.07-7.00 (m, 3H), 6.91 (dd, J=4.9, 8.9Hz, 1H), 6.89 (dd, J=3.1, 9.2Hz, 1H), 6.58 (t, J=5.5Hz, 1H), 6.33 (s, 1H), 5.05 (dd, J=5.5, 12.8Hz, 1H), 4.63 (d, J=17.4Hz, 1H), 4.00 (d, J=17.3Hz, 1H), 3.67-3.40 (m, 18H), 3.25-3.12 (m, 4H), 2.93-2.83 (m, 1H), 2.66-2.50 (m, 4H), 2.07-1.95 (m, 1H).

[0843] 实施例10:2-(6-(4-(4-(3-(2-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)丙酰基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-7)的合成

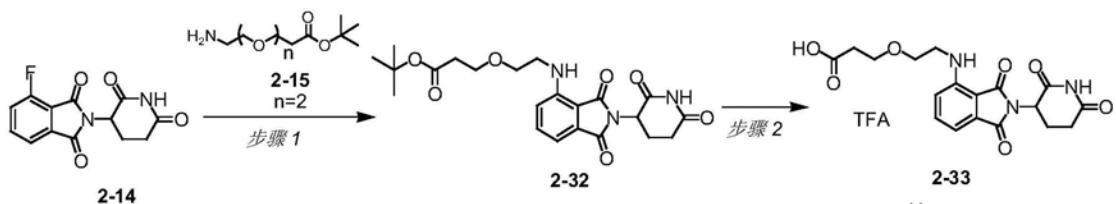


[0844]

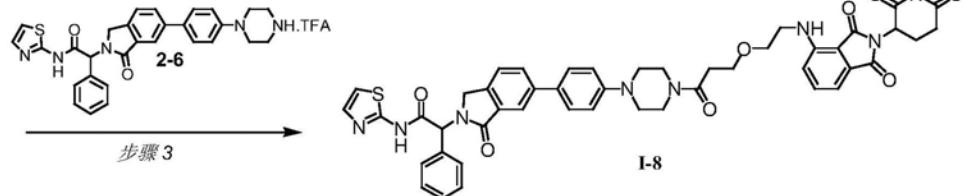


[0845] 根据实施例3中所示的化合物I-1的合成制备化合物1-7。MS m/z:925.78 [M+1]+; 1H NMR (500MHz, DMSO-d6) δ=12.70 (br s, 1H), 11.09 (br s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.85 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.66-7.54 (m, 4H), 7.52-7.36 (m, 6H), 7.31-7.25 (m, 1H), 7.13 (d, J=8.9Hz, 1H), 7.03 (d, J=7.3Hz, 3H), 6.64-6.55 (m, 1H), 6.33 (s, 1H), 5.05 (dd, J=5.3, 13.0Hz, 1H), 4.77 (d, J=17.4Hz, 1H), 4.00 (d, J=17.4Hz, 1H), 3.71-3.48 (m, 12H), 3.48-3.40 (m, 2H), 3.25-3.09 (m, 4H), 2.92-2.81 (m, 1H), 2.63-2.51 (m, 4H), 2.07-1.96 (m, 1H).

[0846] 实施例11:2-(6-(4-(4-(3-(2-((2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)丙酰基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧化异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-8)的合成

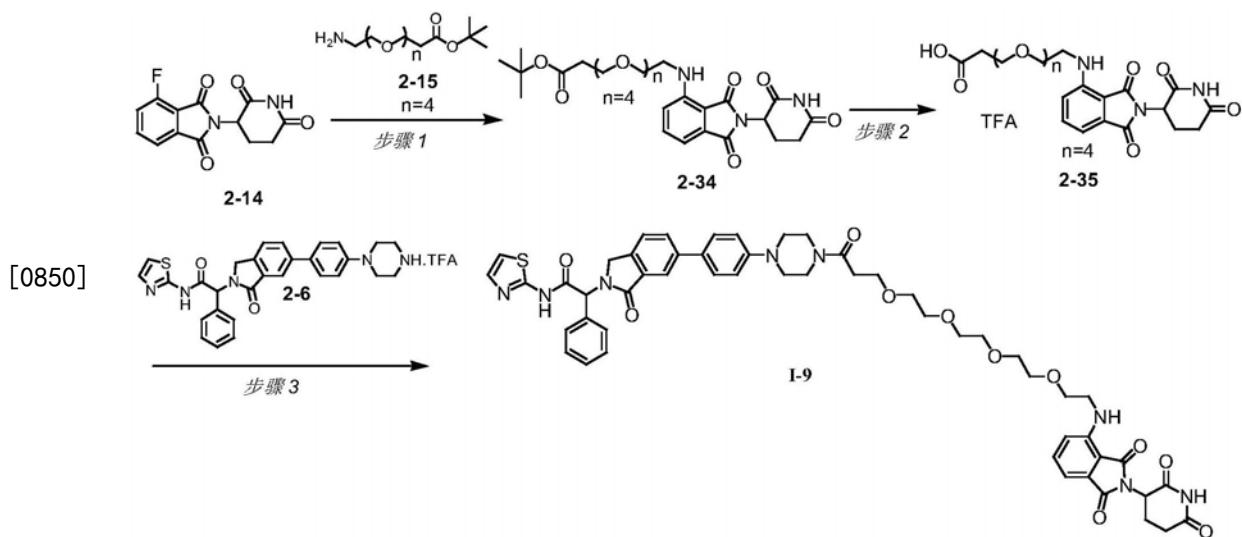


[0847]



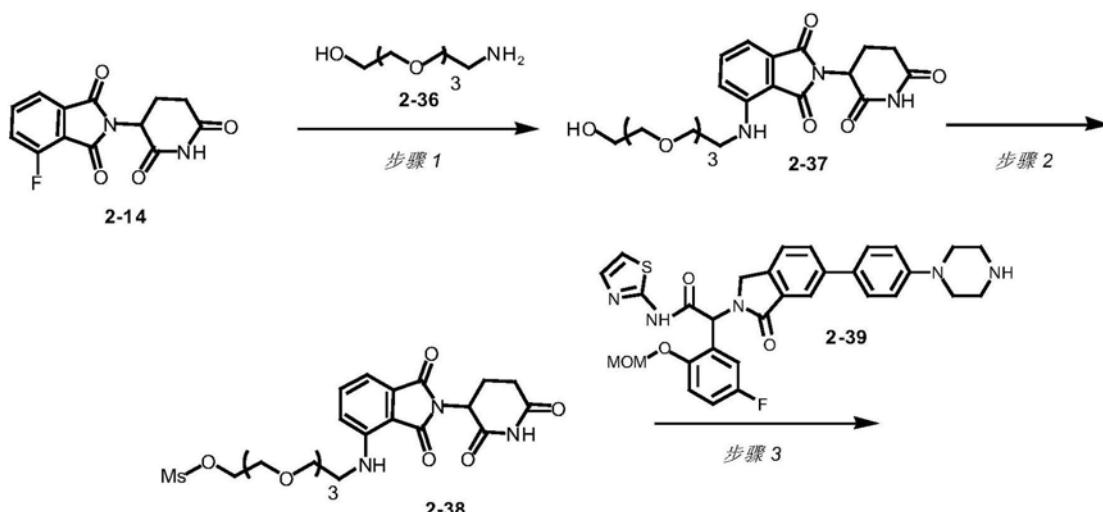
[0848] 根据实施例3中所示的化合物I-1的合成制备化合物1-8。MS m/z:881.89 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=12.70 (br s, 1H) , 11.10 (s, 1H) , 7.88 (s, 1H) , 7.87-7.83 (m, 1H) , 7.62-7.55 (m, 4H) , 7.52-7.35 (m, 6H) , 7.28 (d, J=3.4Hz, 1H) , 7.13 (d, J=8.9Hz, 1H) , 7.01 (t, J=8.1Hz, 3H) , 6.58 (t, J=5.0Hz, 1H) , 6.33 (s, 1H) , 5.05 (dd, J=5.5, 12.8Hz, 1H) , 4.77 (d, J=17.4Hz, 1H) , 4.00 (d, J=17.7Hz, 1H) , 3.71 (t, J=6.4Hz, 2H) , 3.64-3.59 (m, 6H) , 3.48-3.44 (m, 2H) , 3.20-3.13 (m, 4H) , 2.90-2.82 (m, 1H) , 2.64 (t, J=6.4Hz, 2H) , 2.59-2.52 (m, 2H) , 2.03-1.97 (m, 1H) .

[0849] 实施例12:2- (6- (4- (4- (1- ((2- (2,6-二氧代哌啶-3-基) -1,3-二氧代异吲哚啉-4-基) 氨基) -3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰基) 哌嗪-1-基) 苯基) -1-氧代异吲哚啉-2-基) -2-苯基-N- (噻唑-2-基) 乙酰胺(I-9) 的合成

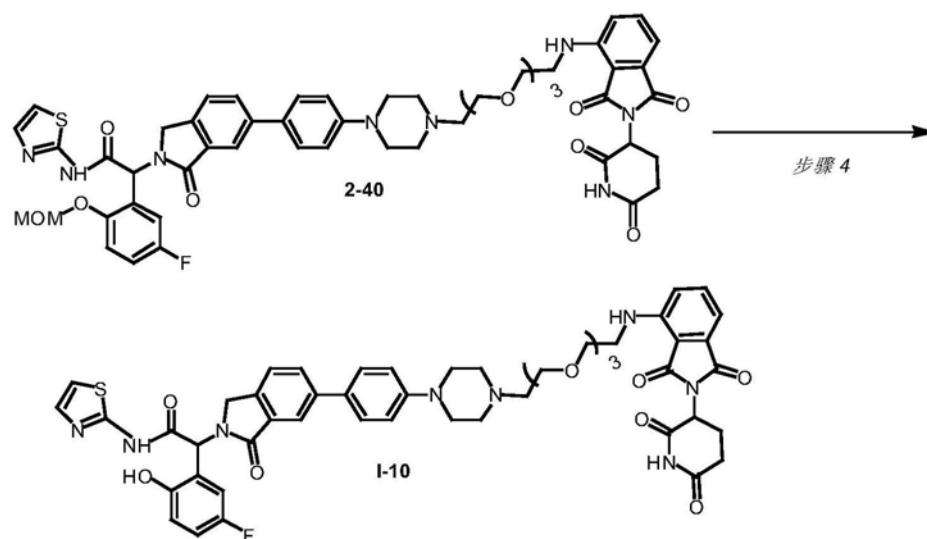


[0851] 根据实施例3中所示的化合物I-1的合成制备化合物I-9。MS  $m/z: 1013.91 [M+1]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, DMSO-d6)  $\delta = 12.70$  (br s, 1H), 11.09 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.85 (dd,  $J = 1.5, 7.9\text{Hz}$ , 1H), 7.63-7.54 (m, 4H), 7.50-7.37 (m, 6H), 7.28 (d,  $J = 3.4\text{Hz}$ , 1H), 7.12 (d,  $J = 8.5\text{Hz}$ , 1H), 7.06-7.01 (m, 3H), 6.59 (t,  $J = 5.8\text{Hz}$ , 1H), 6.33 (s, 1H), 5.05 (dd,  $J = 5.5, 12.8\text{Hz}$ , 1H), 4.77 (d,  $J = 17.7\text{Hz}$ , 1H), 3.99 (d,  $J = 17.7\text{Hz}$ , 1H), 3.65-3.59 (m, 8H), 3.56-3.53 (m, 2H), 3.52-3.43 (m, 12H), 3.24-3.14 (m, 4H), 2.88 (ddd,  $J = 5.5, 13.8, 17.0\text{Hz}$ , 1H), 2.64-2.52 (m, 4H), 2.04-1.99 (m, 1H).

[0852] 实施例13:2- (6- (4- (4- (2- (2- (2- ((2- (2,6-二氧代哌啶-3-基) -1,3-二氧代异𫫇唑啉-4-基) 氨基) 乙氧基) 乙氧基) 乙氧基) 乙基) 哌嗪-1-基) 苯基) -1- 氧代异𫫇唑啉-2-基) -2- (5-氟-2-羟基苯基) -N- (噻唑-2-基) 乙酰胺(I-10) 的合成



[0853]



[0854] 步骤1:2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((2-(2-(2-羟基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)氨基异吲哚啉-1,3-二酮(2-37)

[0855] 向2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙-1-醇(244mg,1.64mmol)的DMF(5mL)溶液中加入DIEA(0.28mL,2.18mmol)。在80℃下搅拌过夜后,将反应混合物冷却至室温并减压浓缩。通过快速柱色谱(DCM:MeOH=100:0至80:20)纯化残余物,得到2-37(284mg,58%),为深绿色液体。

[0856] 步骤2:2-(2-(2-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)乙基甲磺酸酯(2-38)

[0857] 在0℃下,向2-37(225mg,0.50mmol)的无水DCM溶液中加入DIEA(131μL,0.75mmol)和MsCl(46μL,0.60mmol)。将混合物逐渐升温至室温1小时。完成后,浓缩反应混合物并通过快速柱色谱法纯化(己烷:EtOAc=50:50至DCM:EtOAc 50:50),得到2-38(169mg,64%),为黄色粘稠油状物。

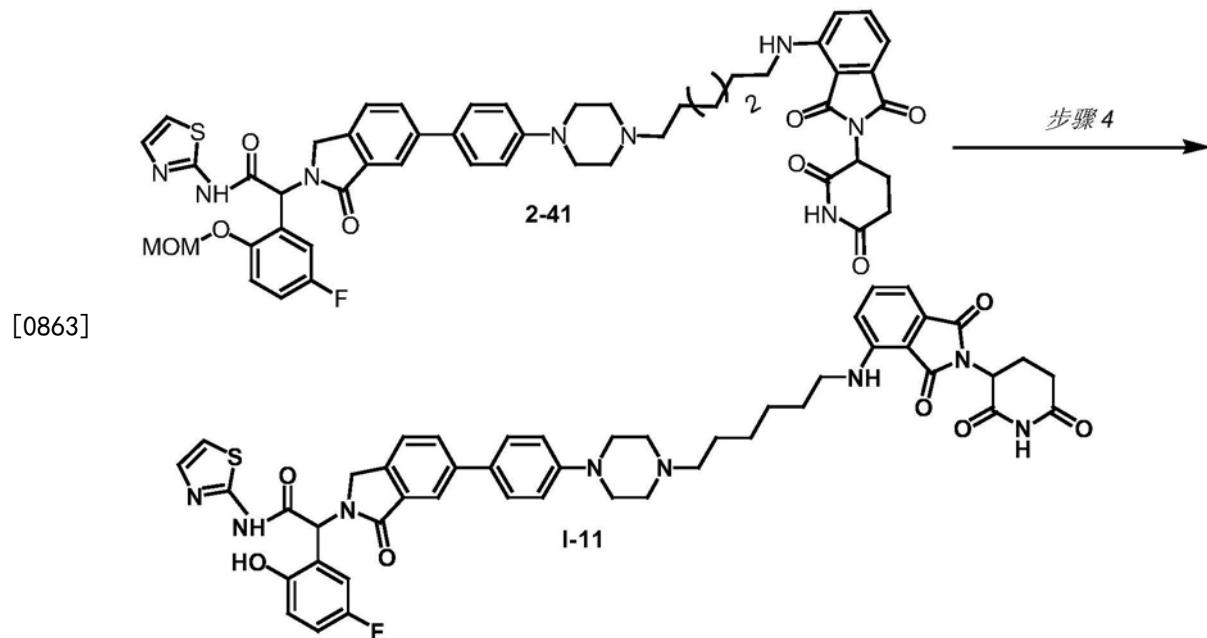
[0858] 步骤3:2-(6-(4-(2-(2-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)乙基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧化异吲哚啉-2-基)-2-(5-氟-2-(甲氧基甲氧基)苯基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(2-40)

[0859] 向2-38 (54mg, 0.102mmol) 和2-39 (60mg, 0.102mmol) 的DMF (2mL) 溶液中加入DIEA (53μL, 0.307mmol)。在80℃下搅拌4小时后, 将反应混合物用DMSO稀释, 并通过制备型HPLC 纯化, 得到2-40 (88mg, 85%)。

[0860] 步骤4:2- (6- (4- (4- (2- (2- (2- ((2- (2,6- 二氧代哌啶-3- 基)- 1,3- 二氧代异吲哚啉-4- 基) 氨基) 乙氧基) 乙氧基) 乙基) 哌嗪-1- 基) 苯基)- 1- 氧代异吲哚啉-2- 基)- 2- (5- 氟- 2- 羟基苯基)- N- (噻唑-2- 基) 乙酰胺(I-10)

[0861] 在0℃下向2-40 (88mg, 0.086mmol) 的无水DCM (4mL) 溶液中加入TFA (1mL)。搅拌5小时后, 将反应混合物减压浓缩, 并通过快速柱色谱法 (DCM:1N NH<sub>3</sub>的MeOH溶液=100:0至80:20) 纯化, 得到I-10 (27mg, 32%), 为淡黄色固体。MS m/z: 975.41 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR 500MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 812.62 (bs, 1H), 11.10 (s, 1H), 9.96 (s, 1H), 7.86 (s, 1H) 7.84 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.62-7.54 (m, 4H), 7.49 (d, J=3.4Hz, 1H), 7.27 (d, J=3.4Hz, 1H), 7.17-7.09 (m, 2H), 7.06-6.99 (m, 3H), 6.94-6.89 (m, 1H), 6.89-6.85 (m, 1H), 6.62 (br t, J=5.6Hz, 1H), 6.34 (s, 1H), 5.05 (dd, J=12.5, 5.3Hz, 1H), 4.62 (d, J=17.4Hz, 1H), 4.00 (d, J=17.7Hz, 1H), 3.63 (t, J=5.3Hz, 2H), 3.60-3.40 (m, 16H), 3.17 (br, 4H), 2.92-2.82 (m, 1H), 2.66-2.50 (m, 4H), 2.05-1.96 (m, 1H)。

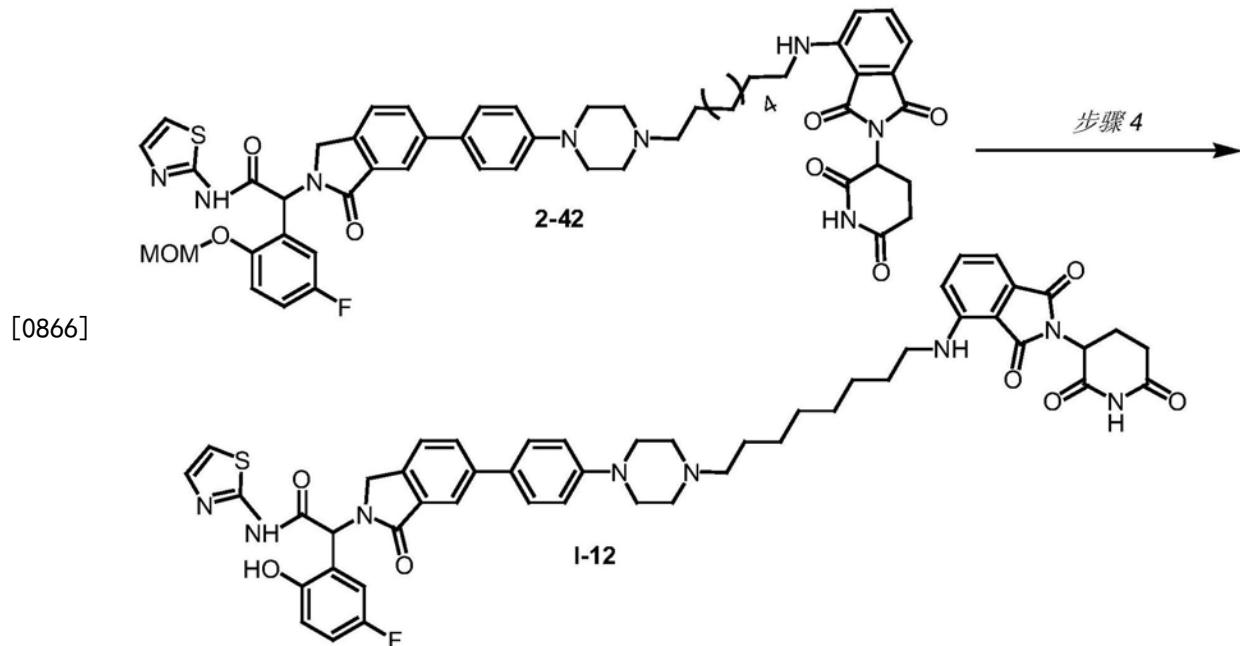
[0862] 实施例14:2- (6- (4- (4- ((2- (2,6- 二氧代哌啶-3- 基)- 1,3- 二氧代异吲哚啉-4- 基) 氨基) 己基) 哌嗪-1- 基) 苯基)- 1- 氧代异吲哚啉-2- 基)- 2- (5- 氟- 2- 羟基苯基)- N- (噻唑-2- 基) 乙酰胺(I-11) 的合成



[0864] 如实施例13中所示, 以与合成化合物I-10类似的方式制备化合物I-11。合成化合物I-11的步骤4如上文实施例14中所示。MS m/z: 899.70 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR 500MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.58 (bs, 1H), 11.09 (s, 1H), 9.96 (s, 1H), 7.88-7.82 (m, 2H), 7.62-7.55 (m, 4H), 7.50-7.47 (m, 1H), 7.27-7.24 (m, 1H), 7.14-7.07 (m, 2H), 7.04-6.99 (m, 3H), 6.93-6.88 (m, 1H), 6.88-6.84 (m, 1H), 6.53 (br t, J=5.5Hz, 1H), 6.33 (s, 1H), 5.05 (dd, J=12.6, 5.4Hz, 1H), 4.62 (d, J=17.4Hz, 1H), 4.00 (d, J=17.4Hz, 1H), 3.39-3.25 (m, 4H), 3.22-3.13 (m, 4H), 2.93-2.83 (m, 1H), 2.64-2.50 (m, 4H), 2.34-2.27 (m, 2H), 2.06-1.98 (m, 1H), 1.63-1.55 (m, 2H),

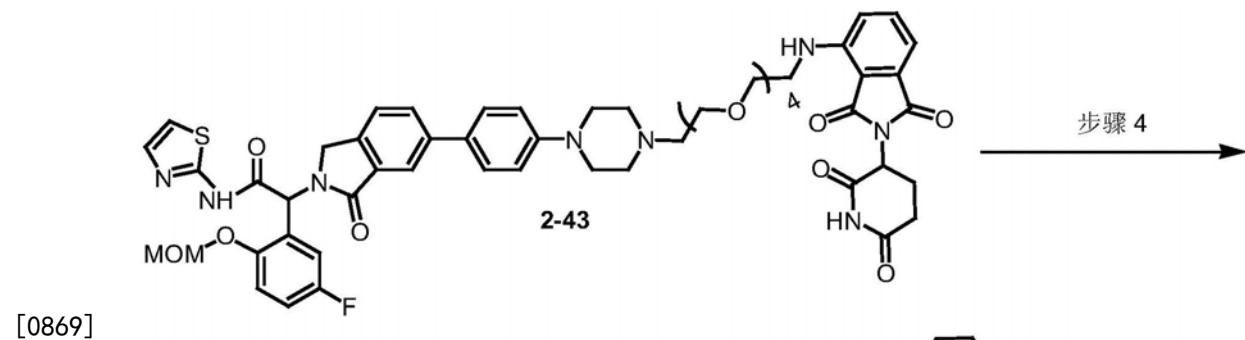
1.52-1.43 (m, 2H), 1.42-1.28 (m, 4H).

[0865] 实施例15:2-(6-(4-(4-(8-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)辛基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-(5-氟-2-羟基苯基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-12)的合成



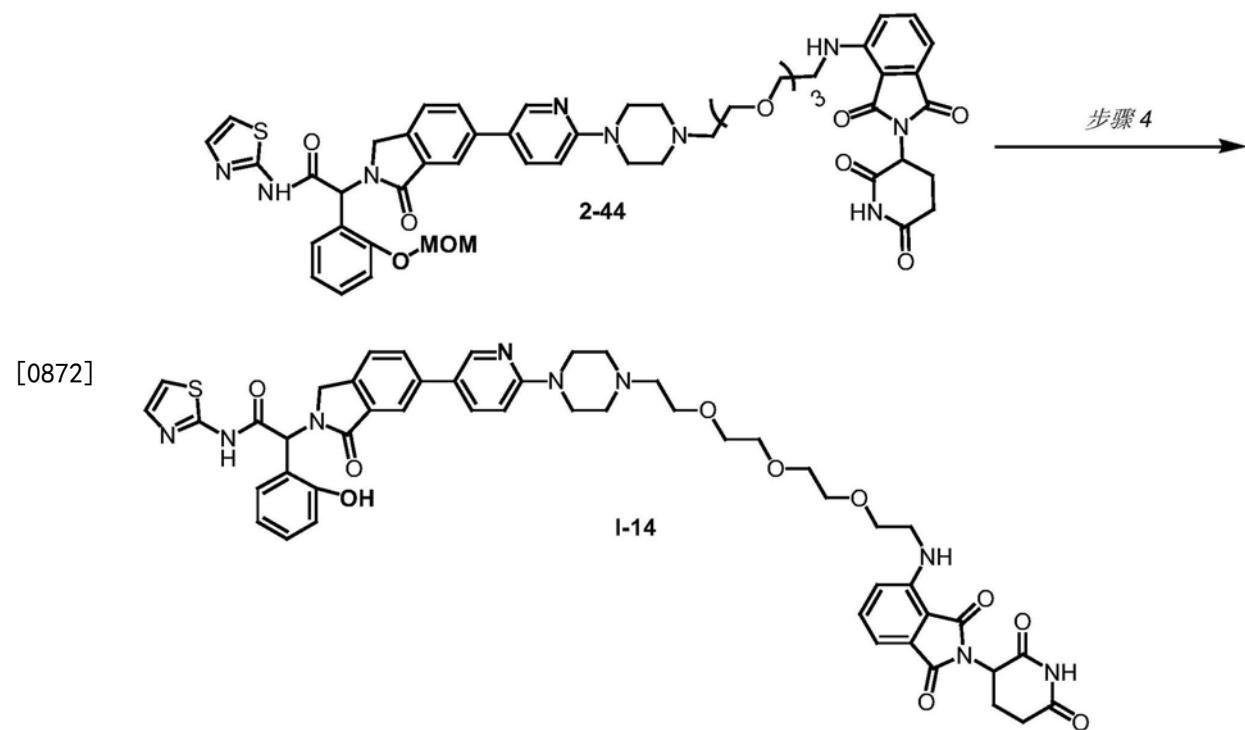
[0867] 以与实施例13中所示的化合物I-10的合成类似的方式制备化合物I-12。合成化合物I-12的步骤4如上文实施例15中所示。MS  $m/z$ : 899.70 [ $M+1$ ]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR 500MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.58 (bs, 1H), 11.09 (s, 1H), 9.96 (s, 1H), 7.88-7.82 (m, 2H), 7.62-7.55 (m, 4H), 7.50-7.47 (m, 1H), 7.27-7.24 (m, 1H), 7.14-7.07 (m, 2H), 7.04-6.99 (m, 3H), 6.93-6.88 (m, 1H), 6.88-6.84 (m, 1H), 6.53 (br t,  $J=5.5$ Hz, 1H), 6.33 (s, 1H), 5.05 (dd,  $J=12.6, 5.4$ Hz, 1H), 4.62 (d,  $J=17.4$ Hz, 1H), 4.00 (d,  $J=17.4$ Hz, 1H), 3.39-3.25 (m, 4H), 3.22-3.13 (m, 4H), 2.93-2.83 (m, 1H), 2.64-2.50 (m, 4H), 2.34-2.27 (m, 2H), 2.06-1.98 (m, 1H), 1.63-1.55 (m, 2H), 1.52-1.43 (m, 2H), 1.42-1.28 (m, 4H).

[0868] 实施例16:2-(6-(4-(4-(8-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异𫫇唑-4-基)氨基)辛基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异𫫇唑-2-基)-2-(5-氟-2-羟基苯基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-13)的合成



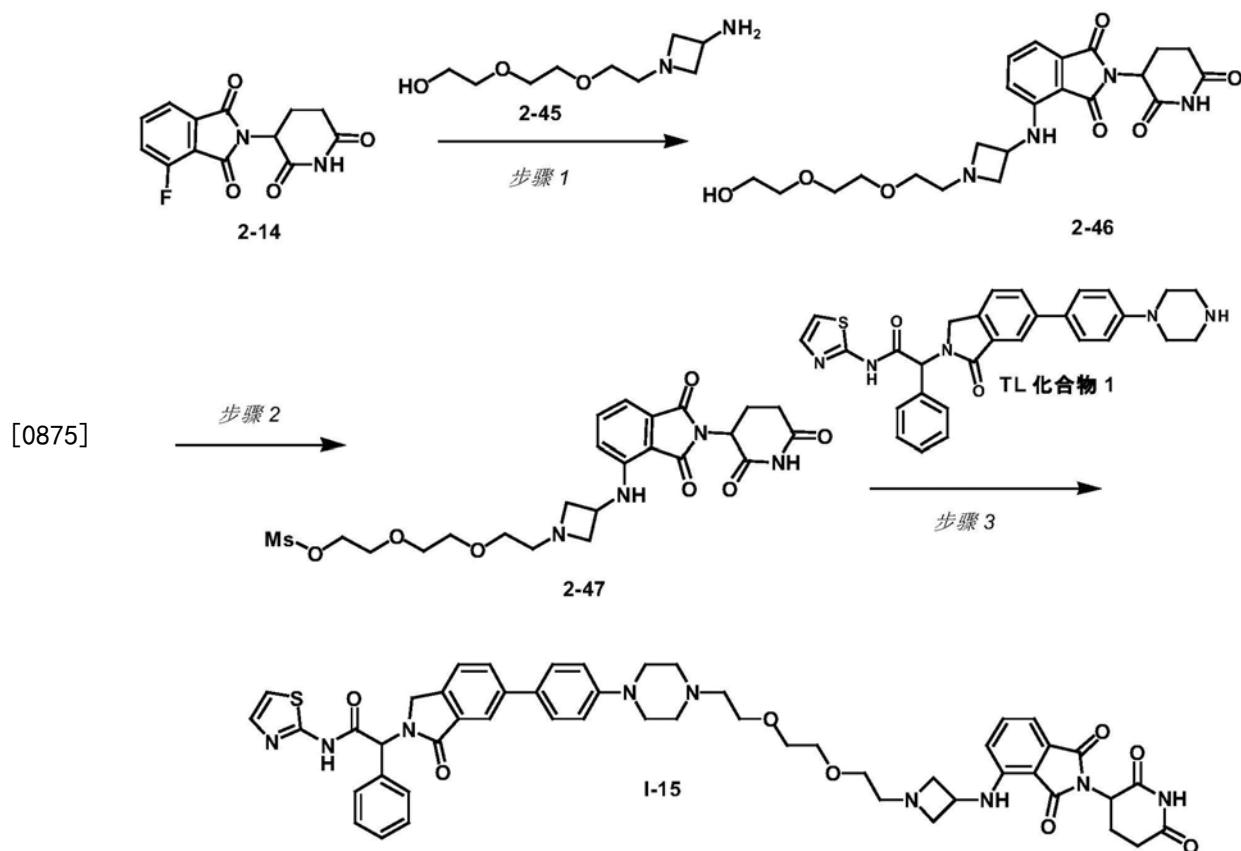
[0870] 以与实施例13中所示的化合物I-10的合成类似的方式制备化合物I-13。实施例16中显示了合成化合物I-13的步骤4。MS  $m/z$ : 1019.50 [M+1]<sup>+</sup>。

[0871] 实施例17:2-(6-(4-(2-(2-(2-((2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异𫫇唑啉-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)乙基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-1-氧代异𫫇唑啉-2-基)-2-(2-羟基苯基)-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-14)的合成



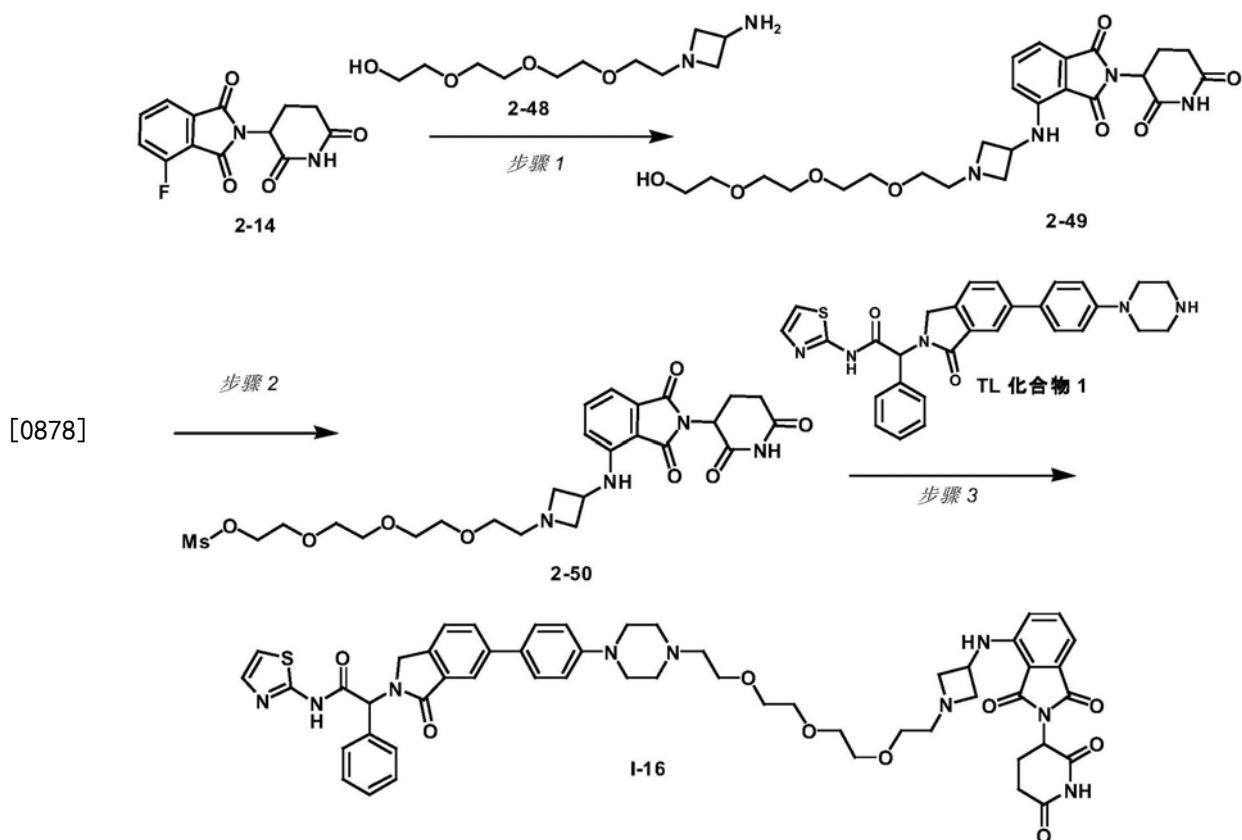
[0873] 根据实施例13中所示的化合物I-10的合成制备化合物I-14。合成化合物I-14的步骤4显示在实施例17中。MS  $m/z$ : 959.09 [M+1]<sup>+</sup>。

[0874] 实施例18:2-(6-(4-(2-(2-(3-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异𫫇唑啉-4-基)氨基)氮杂环丁烷-1-基)乙氧基)乙氧基)乙基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异𫫇唑啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-15)的合成



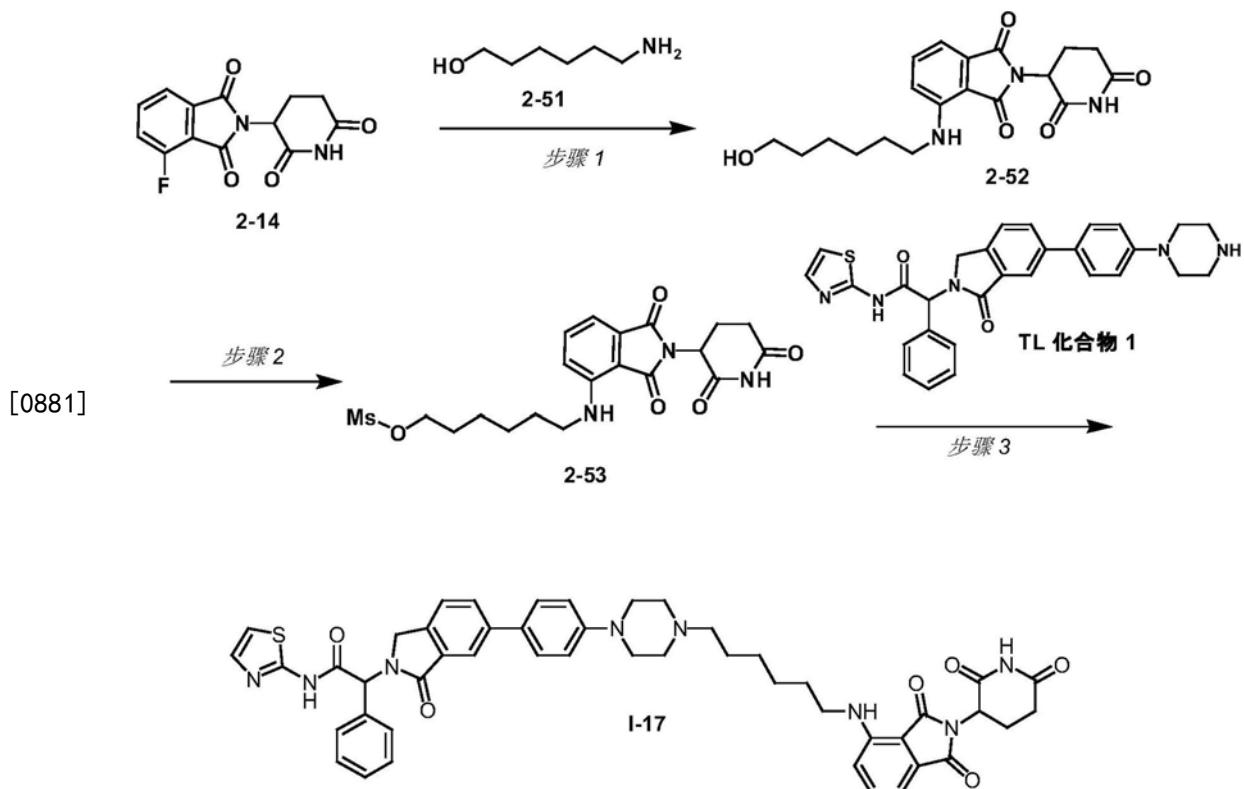
[0876] 以与实施例13中所示的化合物I-10的合成类似的方式制备化合物I-15。MS  $m/z$ : 952.54 [ $M+1$ ]<sup>+</sup>;  $^1H$  NMR 500MHz (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  12.31 (bs, 1H), 11.10 (s, 1H), 7.87-7.85 (m, 1H) 7.83 (dd,  $J=7.9, 1.8$ Hz, 1H), 7.60-7.53 (m, 4H), 7.51-7.37 (m, 6H), 7.28 (d,  $J=3.7$ Hz, 1H), 7.06 (d,  $J=7.0$ Hz, 1H), 7.04-7.00 (m, 1H), 6.99 (d,  $J=8.5$ Hz, 2H), 6.59 (d,  $J=6.7$ Hz, 1H), 6.32 (s, 1H), 5.05 (dd,  $J=12.8, 5.5$ Hz, 1H), 4.77 (d,  $J=17.4$ Hz, 1H), 4.27-4.20 (m, 1H), 3.99 (d,  $J=17.7$ Hz, 1H), 3.69 (t,  $J=7.0$ Hz, 2H), 3.55 (t,  $J=5.8$ Hz, 2H), 3.53-3.42 (m, 4H), 3.40 (t,  $J=5.8$ Hz, 2H), 3.22-3.15 (m, 4H), 2.97 (t,  $J=6.7$ Hz, 2H), 2.93-2.83 (m, 1H), 2.65-2.47 (m, 10H), 2.04-1.96 (m, 1H).

[0877] 实施例19:2-(6-(4-(4-(2-(2-(3-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)氮杂环丁烷-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-16)的合成



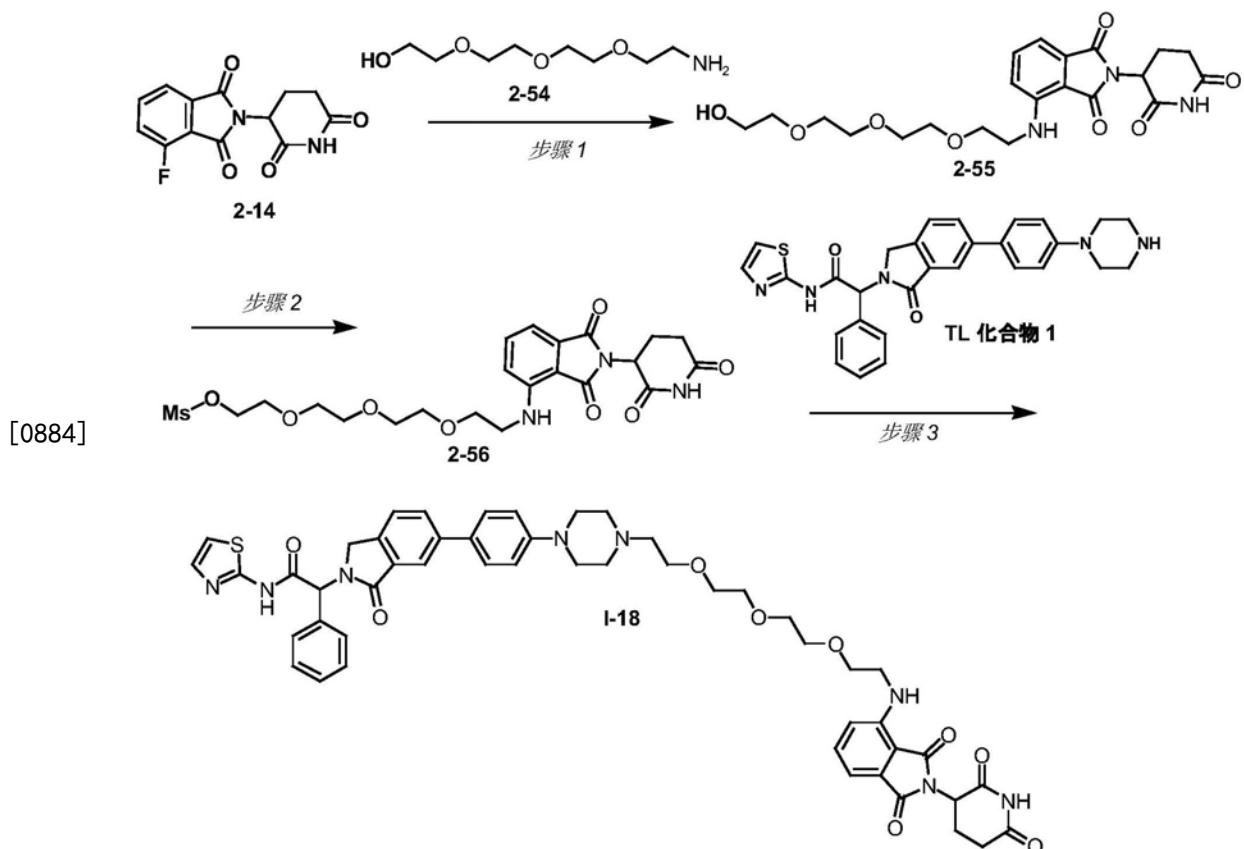
[0879] 以实施例13中所示的化合物I-10的合成制备化合物I-16。MS  $m/z$ :996.80 [M+1]<sup>+</sup>;  
<sup>1</sup>H NMR 500MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ12.50 (bs s, 1H) , 11.10 (s, 1H) , 7.86 (s, 1H) 7.83 (dd, J=7.9, 1.5Hz, 1H) , 7.62-7.53 (m, 4H) , 7.52-7.36 (m, 6H) , 7.27 (d, J=3.4Hz, 1H) , 7.06 (d, J=7.0Hz, 1H) , 7.04-6.93 (m, 3H) , 6.58 (d, J=7.0Hz, 1H) , 6.32 (s, 1H) , 5.05 (dd, J=12.8, 5.5Hz, 1H) , 4.76 (d, J=17.4Hz, 1H) , 4.27-4.16 (m, 1H) , 3.98 (d, J=17.7Hz, 1H) , 3.67 (t, J=7.0Hz, 2H) , 3.58-3.43 (m, 10H) , 3.38 (t, J=5.8Hz, 2H) , 3.21-3.10 (m, 4H) , 2.97 (t, J=6.7Hz, 2H) , 2.92-2.80 (m, 1H) , 2.73-2.45 (m, 10H) , 2.07-1.95 (m, 1H) .

[0880] 实施例20:2- (6- (4- (4- (6- ((2- (2,6-二氧代哌啶-3-基) -1,3-二氧代异吲哚-4-基) 氨基) 己基) 哌嗪-1-基) 苯基) -1-氧化异吲哚啉-2-基) -2-苯基-N- (噻唑-2-基) 乙酰胺(I-17) 的合成



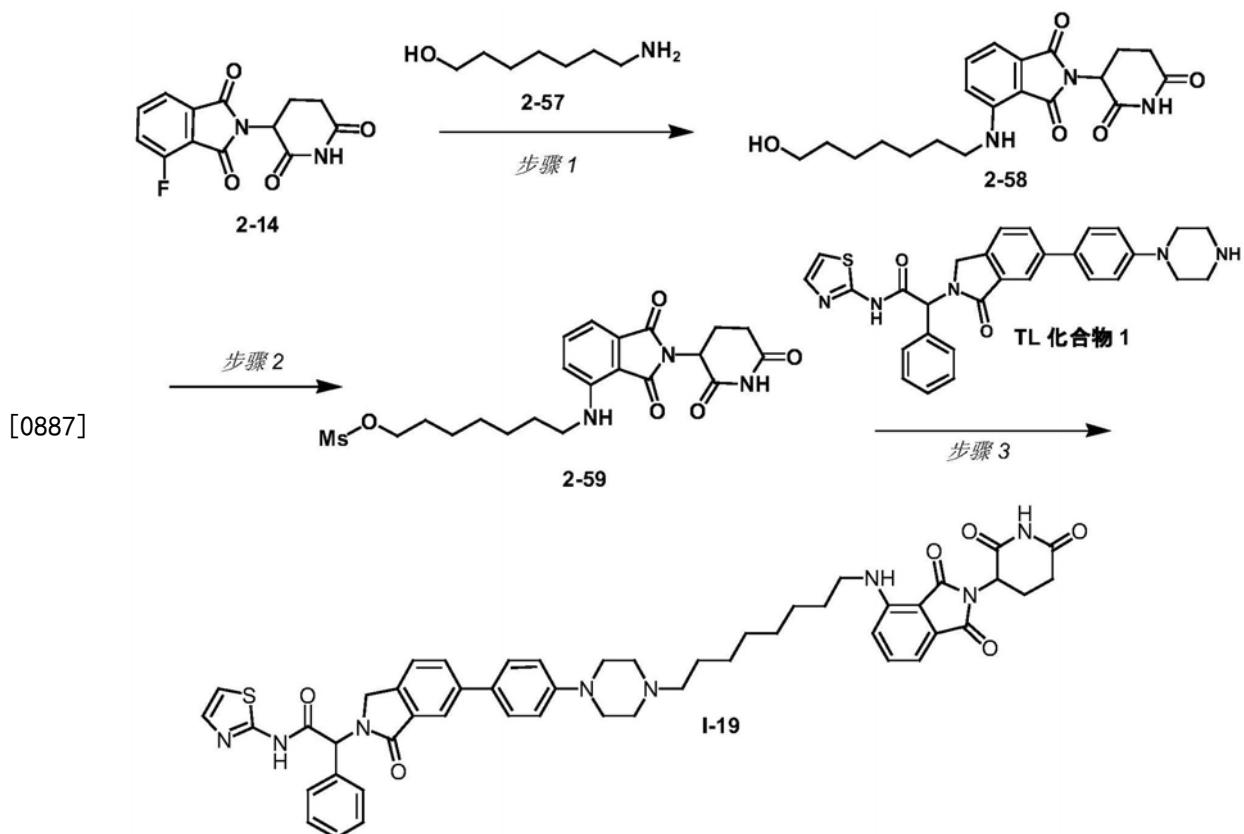
[0882] 以与实施例13中所示的化合物I-10的合成类似的方式制备化合物I-17。MS  $m/z$ : 865.92 [ $M+1$ ]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ =12.70 (br s, 1H), 11.09 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.85 (d,  $J=7.9$ Hz, 1H), 7.66-7.54 (m, 4H), 7.50-7.37 (m, 6H), 7.28 (d,  $J=3.1$ Hz, 1H), 7.10 (d,  $J=8.5$ Hz, 1H), 7.02 (d,  $J=6.7$ Hz, 3H), 6.56-6.51 (m, 1H), 6.32 (s, 1H), 5.05 (dd,  $J=5.5, 12.8$ Hz, 1H), 4.77 (d,  $J=17.7$ Hz, 1H), 3.99 (d,  $J=17.4$ Hz, 1H), 3.31-3.28 (m, 3H), 3.26-3.10 (m, 4H), 2.92-2.84 (m, 1H), 2.65-2.52 (m, 4H), 2.42-2.16 (m, 3H), 2.05-1.99 (m, 1H), 1.63-1.56 (m, 2H), 1.53-1.45 (m, 2H), 1.41-1.32 (m, 4H)。

[0883] 实施例21:2-(6-(4-(4-(2-(2-(2-((2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异𫫇唑-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)乙基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异𫫇唑-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-18)的合成



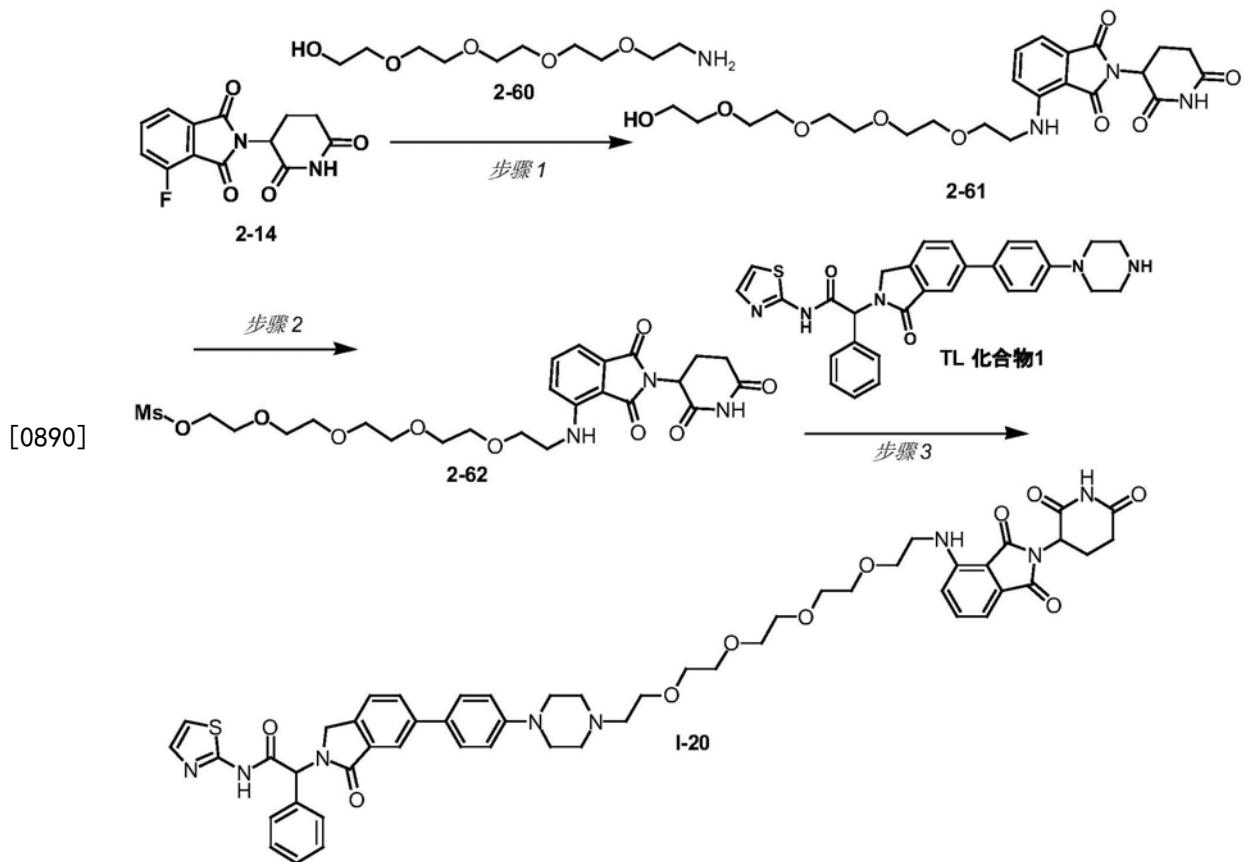
[0885] 以与实施例13中所示的化合物I-10的合成类似的方式制备化合物I-18。MS m/z: 941.90 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=12.67 (br s, 1H), 11.10 (br s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.84 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.63-7.54 (m, 4H), 7.50-7.36 (m, 6H), 7.26 (br s, 1H), 7.14 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.02 (dd, J=7.9, 15.9Hz, 3H), 6.61 (t, J=5.6Hz, 1H), 6.31 (s, 1H), 5.05 (dd, J=5.3, 12.7Hz, 1H), 4.78 (d, J=17.1Hz, 1H), 3.99 (d, J=17.4Hz, 1H), 3.65-3.61 (m, 2H), 3.58-3.45 (m, 12H), 3.21-3.12 (m, 4H), 2.92-2.83 (m, 1H), 2.65-2.51 (m, 8H), 2.04-1.99 (m, 1H).

[0886] 实施例22:2-(6-(4-(4-(8-((2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异𫫇唑啉-4-基)氨基)辛基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异𫫇唑啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-19)的合成



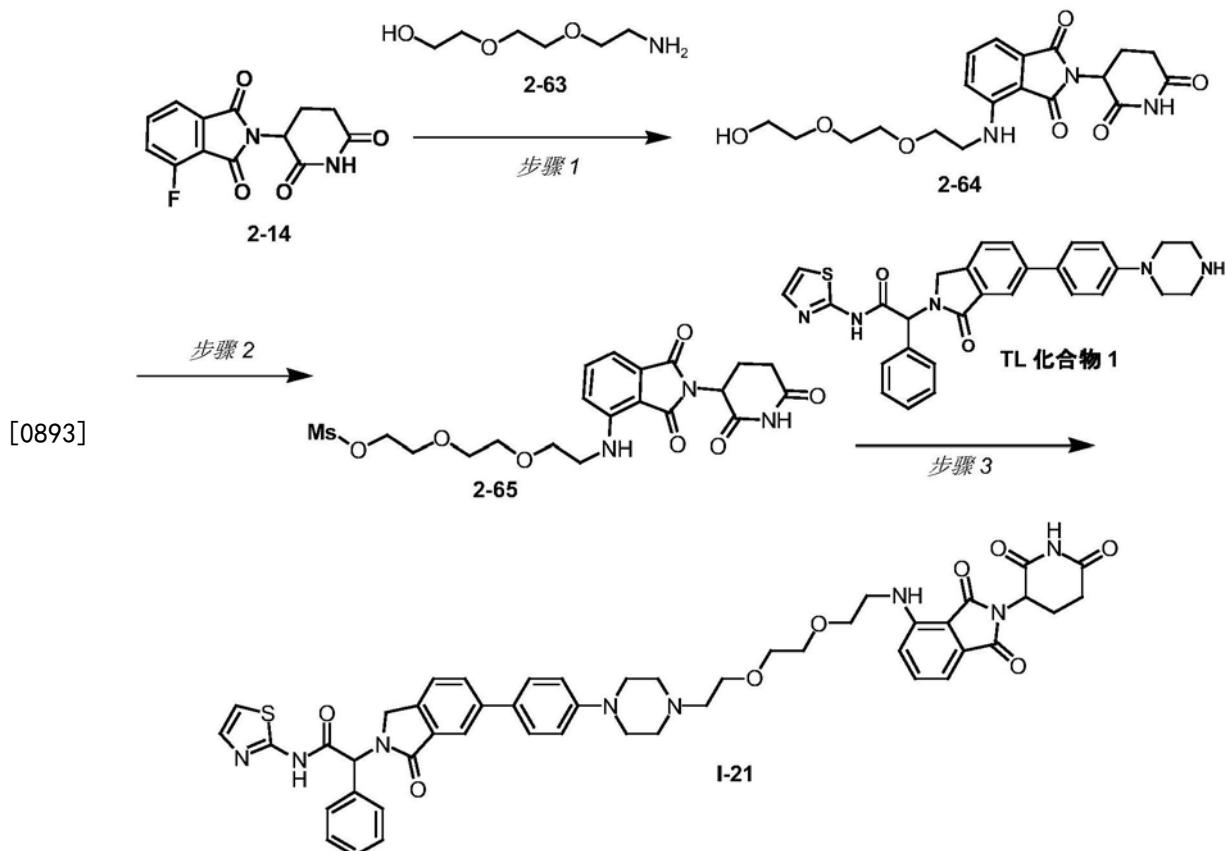
[0888] 以与实施例13中所示的化合物I-10的合成类似的方式制备化合物I-19。MS m/z: 893.72 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=12.70 (br s, 1H), 11.09 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.85 (d, J=7.9Hz, 1H), 7.62-7.55 (m, 4H), 7.50-7.37 (m, 6H), 7.28 (d, J=3.4Hz, 1H), 7.09 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.04-7.00 (m, 3H), 6.52 (t, J=5.6Hz, 1H), 6.32 (s, 1H), 5.05 (dd, J=5.3, 12.7Hz, 1H), 4.77 (d, J=17.7Hz, 1H), 3.99 (d, J=17.4Hz, 1H), 3.31-3.27 (m, 3H), 3.24-3.11 (m, 4H), 2.92-2.84 (m, 1H), 2.64-2.52 (m, 4H), 2.43-2.21 (m, 3H), 2.05-1.99 (m, 1H), 1.61-1.55 (m, 2H), 1.51-1.43 (m, 2H), 1.38-1.28 (m, 8H).

[0889] 实施例23:2-(6-(4-(4-(14-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)-3,6,9,12-四氧杂十四烷基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(I-20)的合成



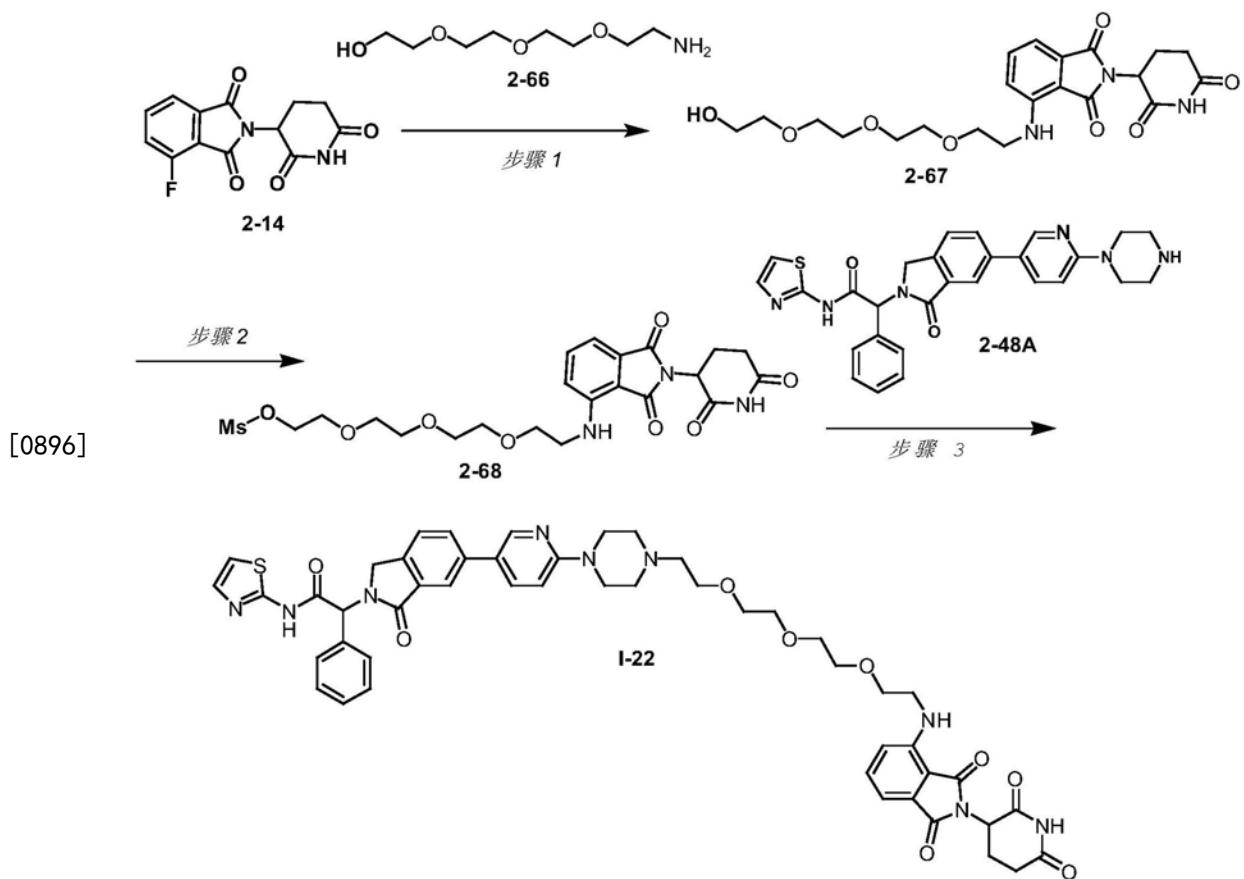
[0891] 以与实施例13中所示的化合物I-10的合成类似的方式制备化合物I-20。MS m/z: 985.93 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=12.70 (br s, 1H), 11.10 (s, 1H), 7.87 (d, J=0.9Hz, 1H), 7.84 (dd, J=1.7, 8.1Hz, 1H), 7.60-7.55 (m, 4H), 7.50-7.37 (m, 6H), 7.28 (d, J=3.7Hz, 1H), 7.13 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.04-6.99 (m, 3H), 6.59 (t, J=5.8Hz, 1H), 6.32 (s, 1H), 5.05 (dd, J=5.5, 12.8Hz, 1H), 4.77 (d, J=17.7Hz, 1H), 3.99 (d, J=17.7Hz, 1H), 3.63-3.59 (m, 2H), 3.58-3.49 (m, 14H), 3.46 (q, J=5.7Hz, 2H), 3.21-3.14 (m, 4H), 2.92-2.84 (m, 1H), 2.65-2.51 (m, 8H), 2.04-1.98 (m, 1H).

[0892] 实施例24:2- (6- (4- (4- (2- (2- ((2- (2,6- 二氧代哌啶-3-基) -1,3- 二氧代异吲哚-4-基) 氨基) 乙氧基) 乙氧基) 乙基) 哌嗪-1-基) 苯基) -1- 氧代异吲哚啉-2-基) -2- 苯基-N- (噻唑-2-基) 乙酰胺(I-21) 的合成



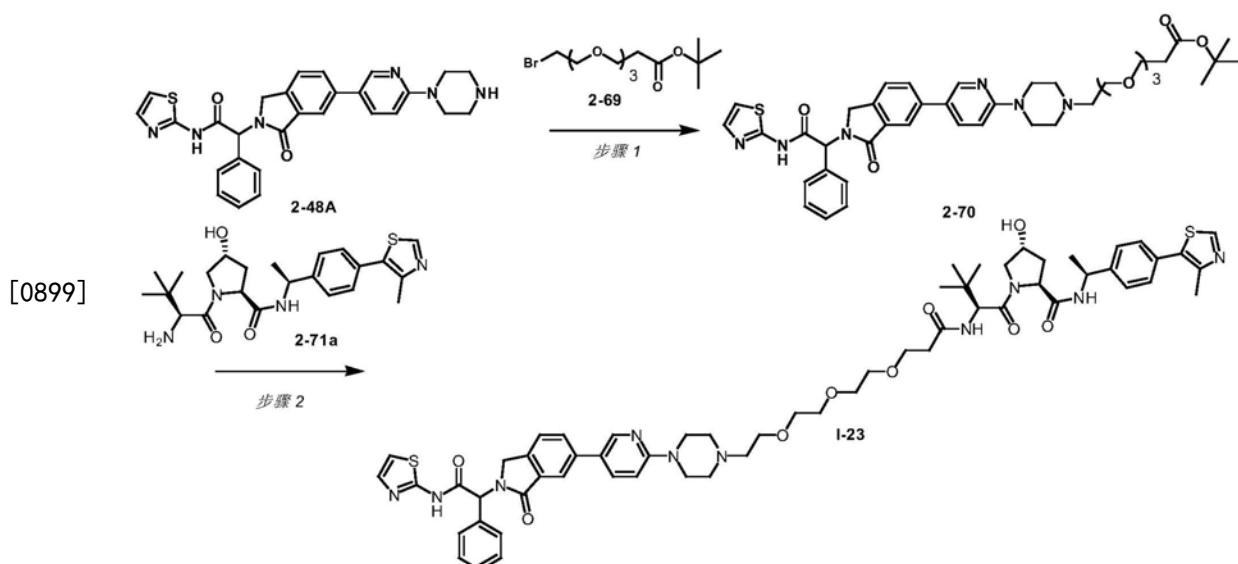
[0894] 以与实施例13中所示的化合物I-10的合成类似的方式制备化合物I-21。MS m/z: 897.95 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=12.70 (br s, 1H), 11.10 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.88-7.84 (m, 1H), 7.66-7.55 (m, 4H), 7.51-7.36 (m, 6H), 7.28 (d, J=3.7Hz, 1H), 7.15 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.05 (d, J=7.3Hz, 3H), 6.60 (t, J=5.6Hz, 1H), 6.32 (s, 1H), 5.05 (dd, J=5.3, 12.7Hz, 1H), 4.78 (d, J=17.7Hz, 1H), 4.00 (d, J=17.7Hz, 1H), 3.80-3.76 (m, 2H), 3.68-3.57 (m, 8H), 3.51-3.47 (m, 4H), 3.21-3.06 (m, 4H), 2.90-2.80 (m, 1H), 2.61-2.50 (m, 4H), 2.04-1.97 (m, 1H).

[0895] 实施例25:2- (6- (6- (4- (2- (2- (2- ((2- (2,6-二氧代哌啶-3-基) -1,3-二氧代异吲哚啉-4-基) 氨基) 乙氧基) 乙氧基) 乙氧基) 乙基) 哌嗪-1-基) 吡啶-3-基) -1-氧代异吲哚啉-2-基) -2-苯基-N- (噻唑-2-基) 乙酰胺(I-22) 的合成



[0897] 以与实施例13中所示的化合物I-10的合成类似的方式制备化合物I-22。MS m/z: 942.95 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=12.70 (s, 1H), 11.10 (s, 1H), 8.49 (br s, 1H), 7.99-7.91 (m, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.86 (dd, J=1.7, 8.1Hz, 1H), 7.63-7.55 (m, 2H), 7.50-7.37 (m, 6H), 7.28 (d, J=3.7Hz, 1H), 7.14 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.03 (d, J=7.0Hz, 1H), 6.92 (br s, 1H), 6.60 (t, J=5.8Hz, 1H), 6.33 (s, 1H), 5.05 (dd, J=5.3, 12.7Hz, 1H), 4.78 (d, J=17.7Hz, 1H), 4.00 (d, J=17.7Hz, 1H), 3.69-3.40 (m, 18H), 2.88 (ddd, J=5.3, 13.9, 17.1Hz, 1H), 2.66-2.50 (m, 8H), 2.05-1.98 (m, 1H).

[0898] 实施例26: (2S,4R)-1-((14S)-14-(叔丁基)-12-氧代-1-(4-(5-(3-氧代-2-(2-氧代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)吡啶-2-基)哌嗪-1-基)-3,6,9-三氧杂-13-氮杂十五烷-15-酰基)-4-羟基-N-((S)-1-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苯基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺(I-23)的合成



[0900] 步骤1:3-(2-(4-(5-(3-氧代-2-(2-氧代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)吡啶-2-基)哌嗪-1-基)乙氧基)丙酸叔丁酯(2-70)

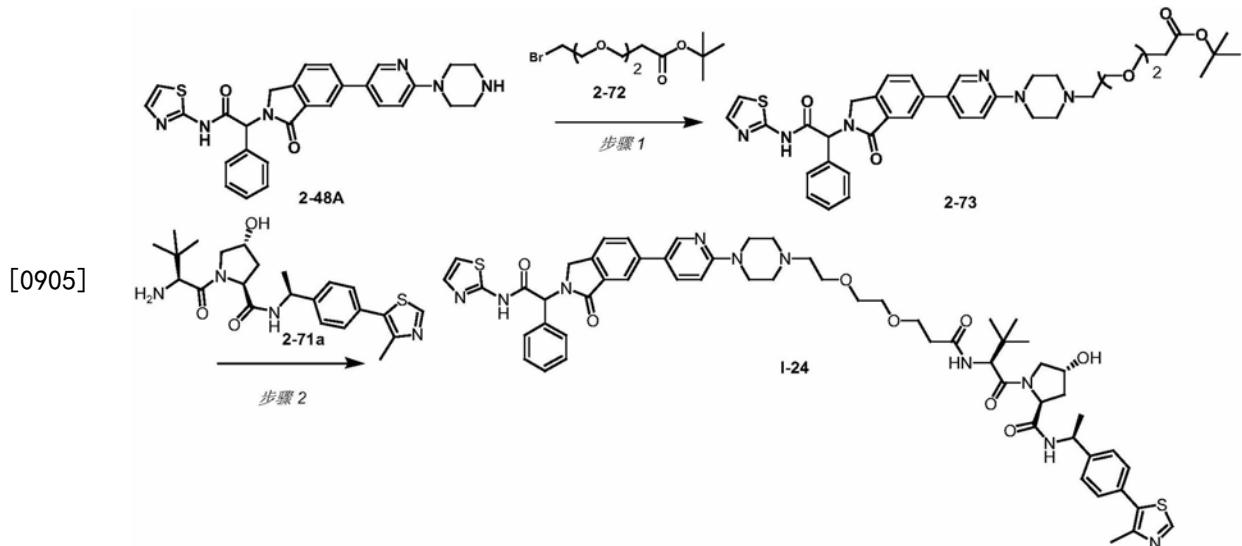
[0901] 向2-48A(204mg,0.40mmol)的DMF(1.5mL)溶液中加入3-(2-(2-溴乙氧基)乙氧基)丙酸叔丁酯(2-69,136mg,0.40mmol)和DIEA(0.14mL,0.80mmol)。将所得混合物在80℃下搅拌8小时。冷却至室温后,将反应混合物用EtOAc稀释并用水洗涤五次。将有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。通过快速柱色谱法(己烷:EtOAc=100:0至0:100,然后DCM:MeOH=100:0至80:20)纯化残余物,得到2-70(191mg,62%),为灰白色固体。

[0902] 步骤2:(2S,4R)-1-((14S)-14-(叔丁基)-12-氧代-1-(4-(5-(3-氧代-2-(2-氧代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)吡啶-2-基)哌嗪-1-基)-3,6,9-三氧杂-13-氮杂十五烷-15-酰基)-4-羟基-N-((S)-1-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苯基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺(I-23)

[0903] 向2-70(150mg,0.19mmol)的DCM(3.5mL)溶液中加入TFA(1.5mL)。搅拌1小时后,将反应混合物减压浓缩,通过制备型HPLC纯化残余物,得到3-(2-(2-(4-(5-(3-氧代-2-(2-氧代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)吡啶-2-基)哌嗪-1-基)乙氧基)乙氧基)丙酸(114mg,82%),为灰白色固体。然后,向2-71(31mg,0.07mmol)和3-(2-(2-(4-(5-(3-氧代-2-(2-氧代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)吡啶-2-基)哌嗪-1-基)乙氧基)乙氧基)丙酸(63mg,0.088mmol)的DMF(1.0mL)的溶液加入EDCI(20mg,0.11mmol)、HOBT(9mg,0.07mmol)和DIEA(0.05mL,0.28mmol)。搅拌过夜后,将反应混合物用DMSO稀释,并通过制备型HPLC纯化,得到I-23(34mg,43%),为灰白色固体。MS m/z:1141.74[M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR(500MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ=12.69(br s,1H),8.97(s,1H),8.50(d,J=2.4Hz,1H),8.37(d,J=7.6Hz,1H),7.94-7.90(m,2H),7.86(dd,J=1.7,8.1Hz,2H),7.61(d,J=7.9Hz,1H),7.52-7.31(m,10H),7.28(d,J=3.4Hz,1H),6.92(d,J=8.9Hz,1H),6.32(s,1H),5.10(d,J=3.7Hz,1H),4.95-4.87(m,1H),4.78(d,J=17.4Hz,1H),4.53(d,J=9.5Hz,1H),4.42(t,J=8.1Hz,1H),4.27(br s,1H),4.00(d,J=17.7Hz,1H),3.65-3.42(m,18H),2.58-2.51(m,7H),2.45(s,3H),2.35(dt,J=6.1,14.6Hz,1H),2.04-1.97(m,1H),1.79(dd,J=4.7,8.4,12.8Hz,1H),1.37(d,J=7.0Hz,3H),0.93(s,9H).

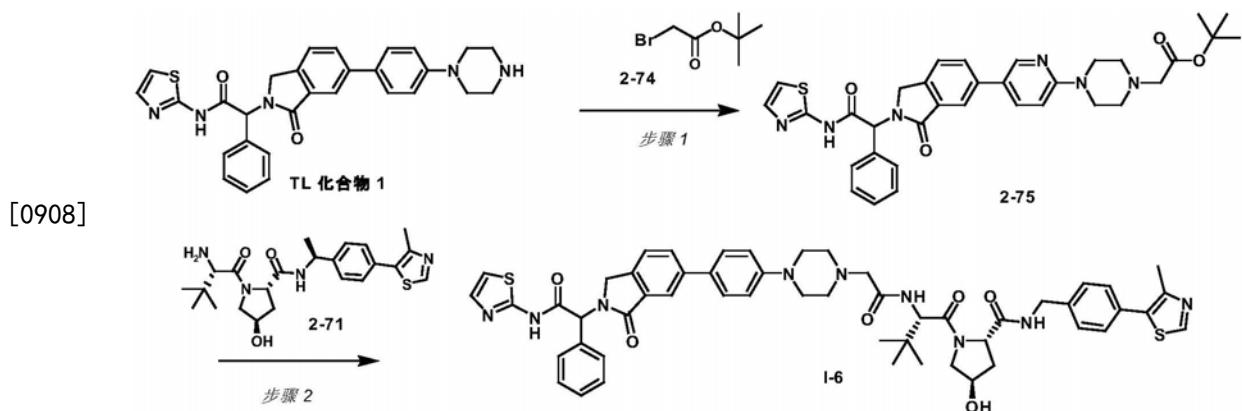
[0904] 实施例27:(2S,4R)-1-((2S)-3,3-二甲基-2-(3-(2-(4-(5-(3-氧代-2-(2-

代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)吡啶-2-基)哌嗪-1-基)乙氧基)乙氧基)丙酰胺基)丁酰基)-4-羟基-N-((S)-1-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苯基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺(I-24)的合成



[0906] 以与实施例26中所示的化合物I-23的合成类似的方式制备化合物I-24。MS m/z: 1097.92 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=12.70 (br s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.50 (d, J=2.7Hz, 1H), 8.37 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.94-7.90 (m, 2H), 7.88-7.84 (m, 2H), 7.61 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.51-7.35 (m, 10H), 7.28 (d, J=3.7Hz, 1H), 6.92 (d, J=9.2Hz, 1H), 6.33 (s, 1H), 5.10 (d, J=3.4Hz, 1H), 4.96-4.88 (m, 1H), 4.78 (d, J=17.7Hz, 1H), 4.53 (d, J=9.5Hz, 1H), 4.43 (t, J=8.1Hz, 1H), 4.28 (br s, 1H), 4.00 (d, J=17.7Hz, 1H), 3.67-3.45 (m, 15H), 2.58-2.51 (m, 6H), 2.45 (s, 3H), 2.38-2.32 (m, 1H), 2.04-1.98 (m, 1H), 1.79 (ddd, J=4.6, 8.2, 12.8Hz, 1H), 1.37 (d, J=7.0Hz, 3H), 0.94 (s, 9H).

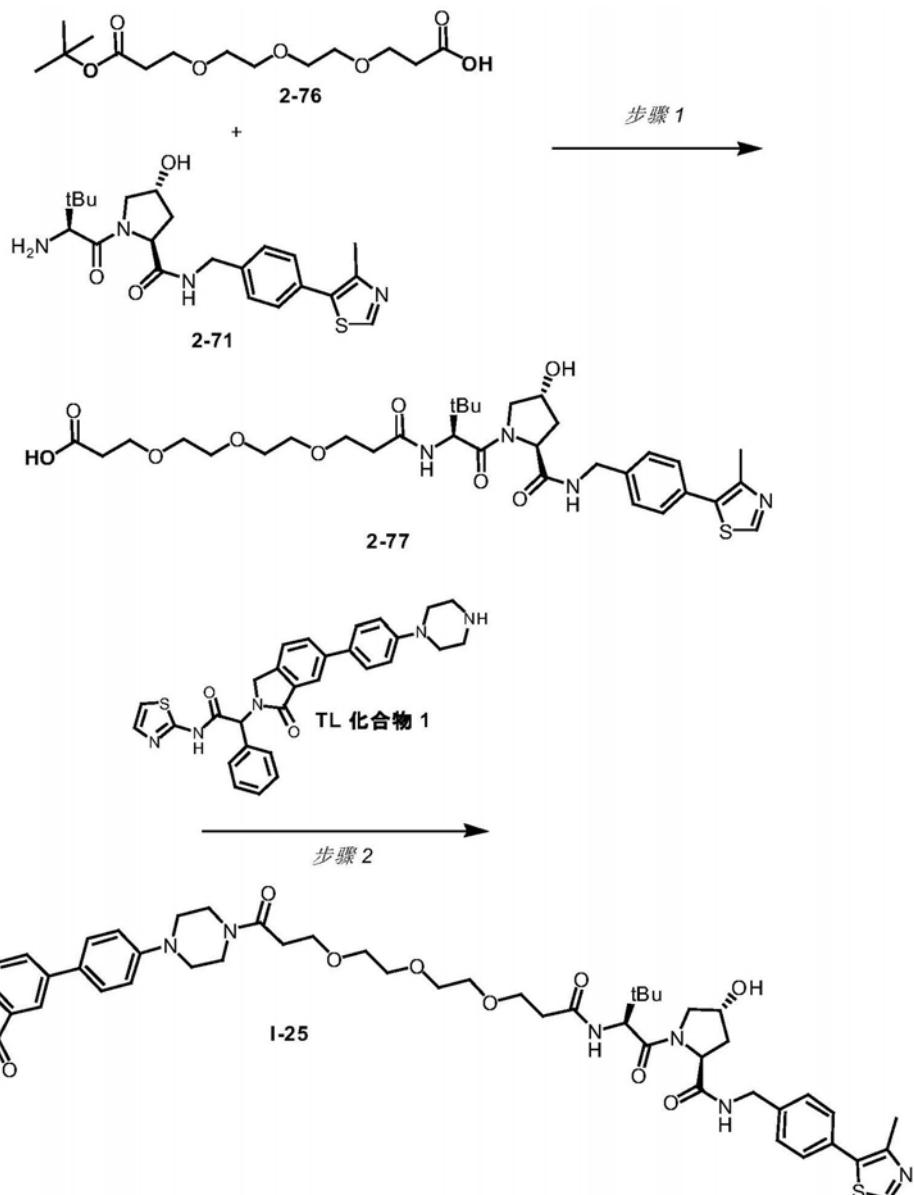
[0907] 实施例28: (2S,4R)-1-((2S)-3,3-二甲基-2-(2-(4-(4-(3-氧代-2-(2-氧代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-基)乙酰氨基)丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(I-6)的替代合成



[0909] 以与实施例26中所示的化合物I-23的合成类似的方式制备化合物I-6。MS m/z: 980.55 [M+1]<sup>+</sup>。

[0910] 实施例29: (2S,4R)-1-((2S)-2-(叔丁基)-4,16-二氧代-16-(4-(4-(3-氧代-2-(2-氧代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-基)-7,10,13-三

氧杂-3-氮杂十六烷酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(I-25)的合成



[0912] 步骤1: (S)-15-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-羧基)-16,16-二甲基-13-氧化-4,7,10-三氧杂-14-氮杂十七烷酸(2-77)：

[0913] 将2,2-二甲基-4-氧化代-3,7,10,13-四氧杂十六烷-16-酸(107mg,0.35mmol)、2-71(100mg,0.23mmol)和HATU(175mg,0.46mmol)溶解在DMF(2.5mL)中,向混合物中加入DIEA(160μL,0.92mmol)。搅拌30分钟后,将反应混合物用EtOAc稀释并用水洗涤五次。将有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。通过制备型HPLC纯化残余物,得到(S)-15-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-羧基)-16,16-二甲基-13-氧化代-4,7,10-三氧杂-14-氮杂十七烷酸叔丁酯,为灰白色固体。

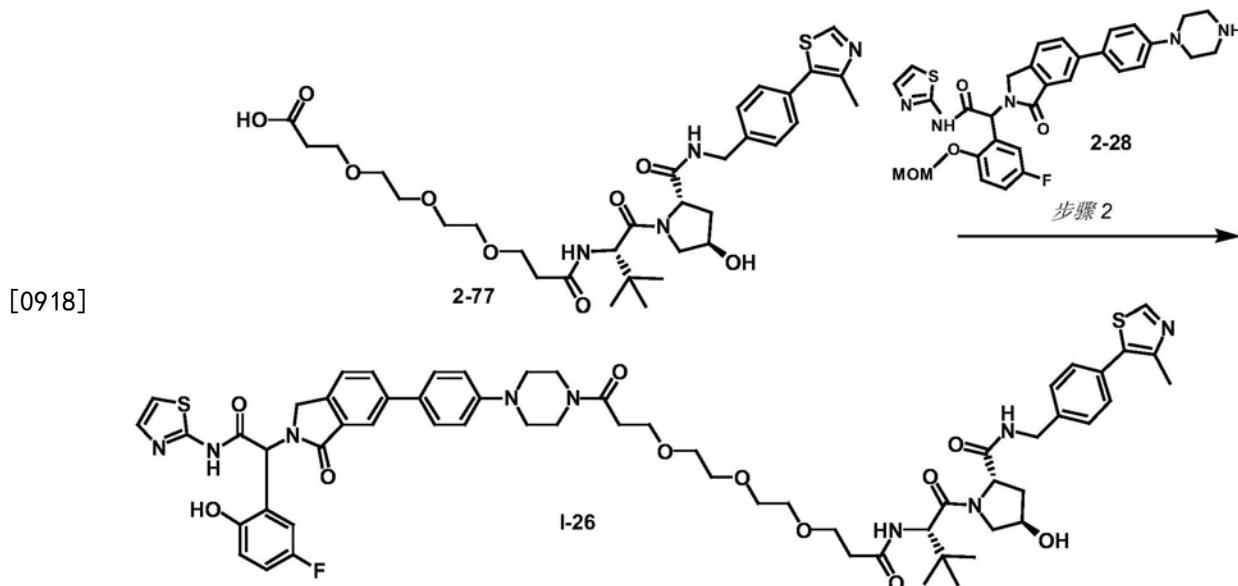
[0914] 向(S)-15-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-羧基)-16,16-二甲基-13-氧化代-4,7,10-三氧杂-14-氮杂十七烷酸叔丁酯的DCM(7mL)溶液中加入TFA(3mL)。搅拌1.5小时后,浓缩反应混合物并通过快速柱色谱法(DCM:1.75N

NH<sub>3</sub>的MeOH溶液=100:0至80:20)纯化,得到2-77(108mg,70%),为白色固体。

[0915] 步骤2: (2S,4R)-1-((2S)-2-(叔丁基)-4,16-二氧代-16-(4-(4-(3-氧代-2-(2-氧化-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-基)-7,10,13-三氧杂-3-氮杂十六烷酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(I-25):

[0916] 向TL化合物1(61mg,0.12mmol)和2-77(53mg,0.08mmol)的DMF(1mL)溶液中加入HATU(61mg,0.16mmol)和DIEA(56μL,0.32mmol)。搅拌过夜后,将反应混合物通过制备型HPLC纯化,得到I-25(50mg,52%),为白色固体。MS m/z:1154.84[M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=12.70(br s,1H), 8.98(s,1H), 8.56(t,J=6.3Hz,1H), 7.95-7.81(m,3H), 7.65-7.55(m,3H), 7.54-7.31(m,10H), 7.28(d,J=3.4Hz,1H), 7.05(d,J=8.5Hz,2H), 6.33(s,1H), 5.12(d,J=3.7Hz,1H), 4.77(d,J=17.7Hz,1H), 4.55(d,J=9.5Hz,1H), 4.46-4.39(m,2H), 4.37-4.32(m,1H), 4.21(dd,J=5.5,15.6Hz,1H), 3.99(d,J=17.7Hz,1H), 3.69-3.53(m,10H), 3.51-3.43(m,8H), 3.25-3.20(m,2H), 3.19-3.14(m,2H), 2.62(t,J=6.6Hz,2H), 2.57-2.53(m,1H), 2.44(s,3H), 2.39-2.32(m,1H), 2.07-2.00(m,1H), 1.90(ddd,J=4.3,8.5,12.9Hz,1H), 0.92(s,9H).

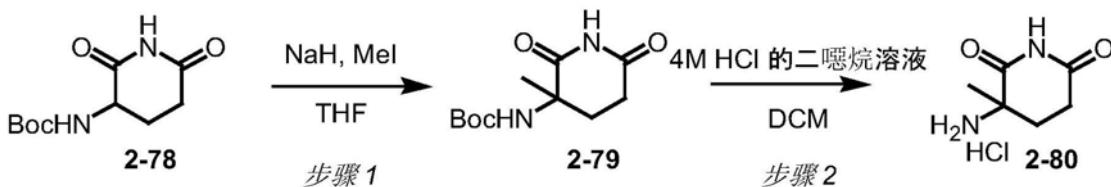
[0917] 实施例30:(2S,4R)-1-((2S)-2-(叔丁基)-16-(4-(4-(2-(1-(5-氟-2-羟基苯基)-2-氧代-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)-3-氧代异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-基)-4,16-二氧代-7,10,13-三氧杂-3-氮杂十六烷酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(I-26)的合成



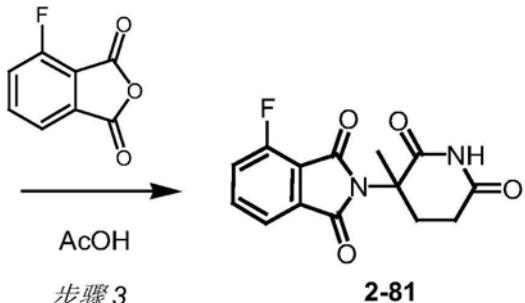
[0919] 以与实施例29中所示的化合物I-25的合成类似的方式制备化合物I-26。合成化合物I-26的步骤2如上文实施例30中所示。MS m/z:1189.12[M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=9.96(s,1H), 8.98(s,1H), 8.56(t,J=5.6Hz,1H), 7.93-7.83(m,3H), 7.65-7.57(m,3H), 7.49(d,J=3.4Hz,1H), 7.44-7.35(m,4H), 7.27(d,J=3.1Hz,1H), 7.14-7.06(m,1H), 7.05(d,J=8.5Hz,2H), 6.91(dd,J=8.7,4.7Hz,1H), 6.86(dd,J=9.0,2.6Hz,1H), 6.33(s,1H), 5.12(br s,1H), 4.63(d,J=17.1Hz,1H), 4.55(d,J=9.5Hz,1H), 4.47-4.39(m,2H), 4.35(br s,1H), 4.21(dd,J=15.7,5.3Hz,1H), 3.99(d,J=17.4Hz,1H), 3.73-3.53(m,10H), 3.53-3.40(m,8H), 3.23(br s,2H), 3.17(br s,2H), 2.62(t,J=6.6Hz,2H), 2.57-2.53(m,

1H) , 2.44 (s, 3H) , 2.39-2.29 (m, 1H) , 2.08-1.98 (m, 1H) , 1.96-1.83 (m, 1H) , 0.93 (s, 9H) .

[0920] 实施例31.4-氟-2-(3-甲基-2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(2-81)的合成



[0921]



[0922] 步骤1: (3-甲基-2,6-二氧代哌啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(2-79) :

[0923] 在0℃下,向(2-78,2,6-二氧代哌啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯(1.0g,4.38mmol)的THF(15mL)溶液中加入NaH(263mg,6.57mmol)。在室温下搅拌20分钟后,将碘甲烷(327μL,5.26mmol)加入到反应混合物中。搅拌2小时后,将混合物用EtOAc稀释并用水淬灭。收集有机层,水层用EtOAc洗涤。将合并的有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。粗化合物2-79无需另外纯化在下一步中继续使用。

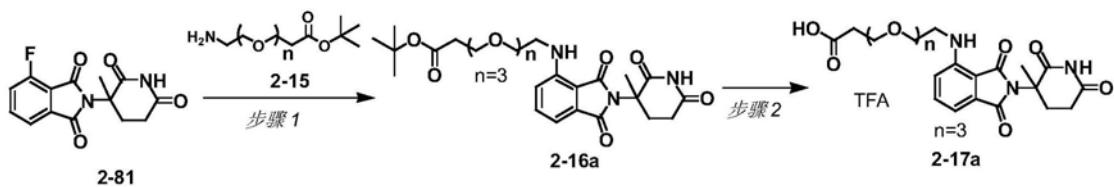
[0924] 步骤2:3-氨基-3-甲基哌啶-2,6-二酮HCl盐(2-80) :

[0925] 将化合物2-79溶解在二噁烷中,并将4M HCl的二噁烷溶液加入到所得溶液中。搅拌2小时后,将反应混合物减压浓缩,得到粗产物,将其不经进一步纯化用于下一步骤。

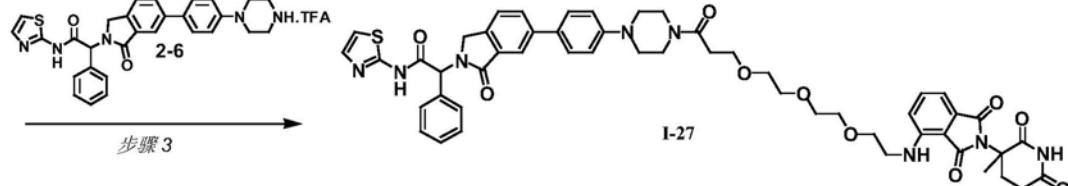
[0926] 步骤3:4-氟-2-(3-甲基-2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(2-81) :

[0927] 将化合物2-80和4-氟异苯并呋喃-1,3-二酮溶解在乙酸中。将所得混合物在100℃下搅拌过夜,并将反应混合物减压浓缩。将残余物重新溶解在DCM中并用饱和NaHCO<sub>3</sub>碱化。将水层用DCM洗涤三次。将合并的有机层用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。通过快速柱色谱法纯化残余物,得到化合物2-81(432mg,三步34%),为白色固体。<sup>1</sup>H NMR(500MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ=10.97 (s, 1H) , 7.88-7.81 (m, 1H) , 7.69-7.59 (m, 1H) , 2.69-2.45 (m, 3H) , 2.04-1.95 (m, 1H) .

[0928] 实施例32.2-(6-(4-(4-(3-(2-(2-(2-(3-甲基-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酰基)哌嗪-1-基)苯基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-2-苯基-N-(噻唑-2-基)乙酰胺(1-27)的合成

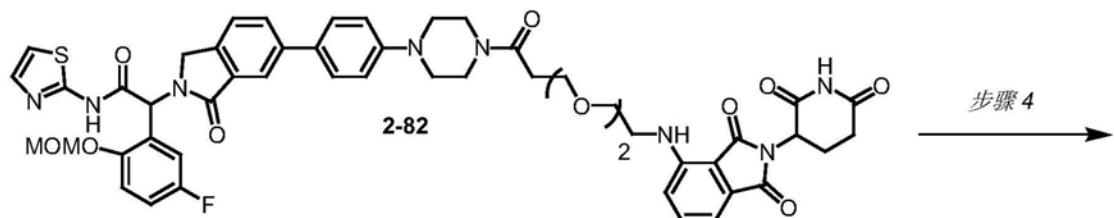


[0929]

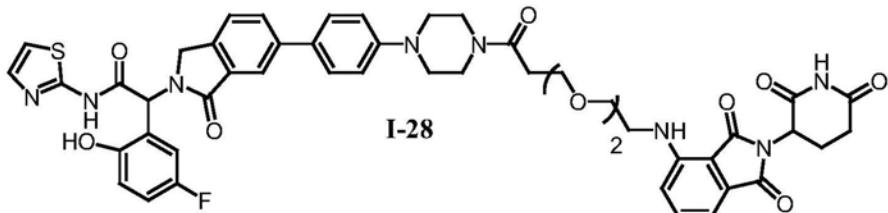


[0930] 以实施例3中所示的化合物I-1的合成制备化合物I-27。MS m/z:983.48 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=12.70 (s, 1H), 10.97 (s, 1H), 7.91-7.82 (m, 2H), 7.67-7.57 (m, 3H), 7.55-7.41 (m, 5H), 7.39 (d, J=7.3Hz, 2H), 7.28 (d, J=3.1Hz, 1H), 7.07 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.04 (d, J=8.5Hz, 2H), 6.94 (d, J=7.0Hz, 1H), 6.60 (t, J=5.5Hz, 1H), 6.33 (s, 1H), 4.77 (d, J=17.4Hz, 1H), 3.99 (d, J=17.4Hz, 1H), 3.69-3.55 (m, 8H), 3.55-3.47 (m, 6H), 3.44-3.39 (m, 2H), 3.22 (br s, 2H), 3.16 (br s, 2H), 2.74-2.45 (m, 7H), 2.06-1.95 (m, 1H), 1.87 (s, 3H).

[0931] 实施例33.2- (6- (4- (4- (3- (2- (2- ((2- (2,6-二氧代哌啶-3-基) -1,3-二氧代异吲哚啉-4-基) 氨基) 乙氧基) 乙氧基) 丙酰基) 哌嗪-1-基) 苯基) -1-氧代异吲哚啉-2-基) -2- (5-氟-2-羟基苯基) -N- (噻唑-2-基) 乙酰胺(I-28) 的合成

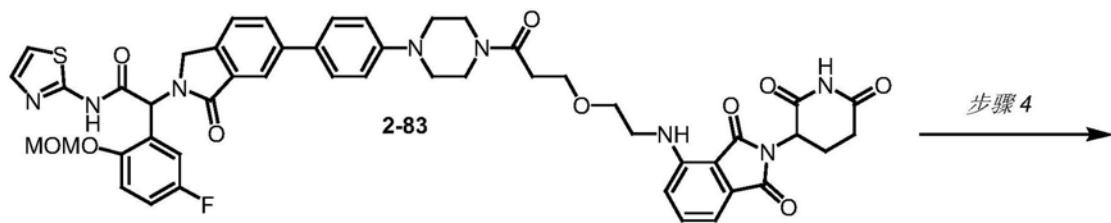


[0932]

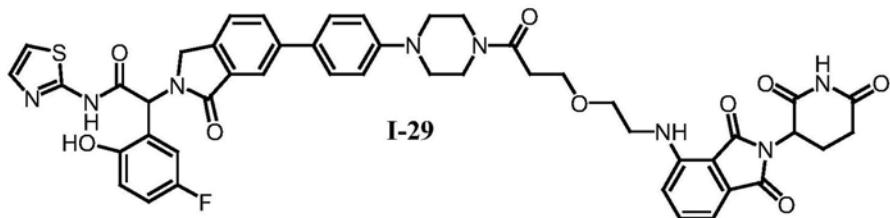


[0933] 以与实施例9中所示的化合物I-3的合成类似的方式制备化合物I-28。合成化合物I-28的步骤4如上文实施例33中所示。MS  $m/z$ : 959.43 [ $M+1$ ]<sup>+</sup>;  $^1H$  NMR 500MHz (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  11.10 (s, 1H), 7.88-7.81 (m, 2H), 7.63-7.54 (m, 4H), 7.38 (d,  $J$ =3.1Hz, 1H), 7.13 (d,  $J$ =8.5Hz, 1H), 7.10-7.01 (m, 4H), 6.89-6.82 (m, 2H), 6.60 (br t,  $J$ =5.3Hz, 1H), 6.20 (s, 1H), 5.05 (dd,  $J$ =12.6, 5.2Hz, 1H), 4.80 (d,  $J$ =17.7Hz, 1H), 4.22 (d,  $J$ =17.7Hz, 1H), 3.68-3.40 (m, 10H), 3.22-3.12 (m, 4H), 2.92-2.82 (m, 1H), 2.65-2.50 (m, 4H), 2.06-1.97 (m, 1H).

[0934] 实施例34.2- (6- (4- (4- (3- (2- ((2- (2,6- 二氧代哌啶-3- 基) -1,3- 二氧代异吲哚啉-4- 基) 氨基) 乙氧基) 丙酰基) 哌嗪-1- 基) 苯基) -1- 氧代异吲哚啉-2- 基) -2- (5- 氟-2- 羟基苯基) -N- (噻唑-2- 基) 乙酰胺(I-29) 的合成

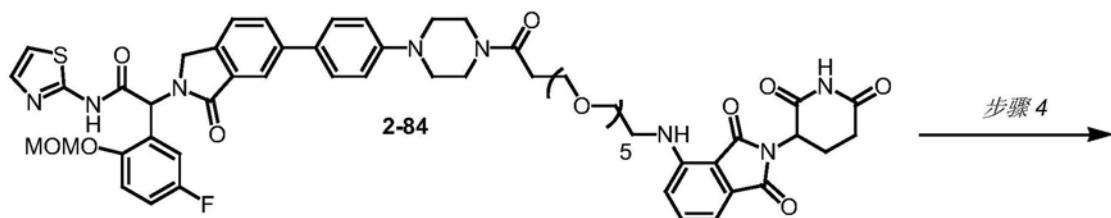


[0935]

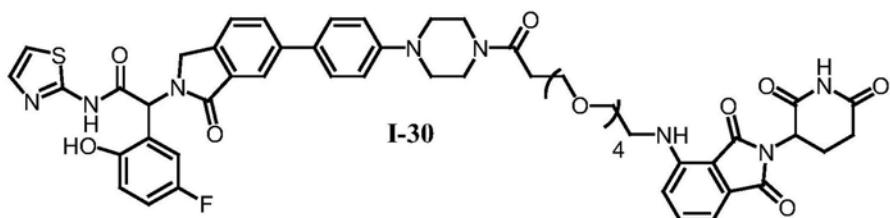


[0936] 根据实施例9中所示化合物I-3的合成制备化合物I-29。合成化合物I-29的步骤4如上文实施例34中所示。MS m/z: 915.45 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR 500MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.10 (bs, 1H), 7.83 (bs, 2H) 7.64 (d, J=8.9Hz, 1H), 7.69-7.53 (m, 3H), 7.23 (d, J=3.4Hz, 1H), 7.13 (d, J=8.9Hz, 1H), 7.05-6.97 (m, 3H), 6.94-6.88 (m, 1H), 6.85-6.80 (m, 1H), 6.79-6.72 (m, 2H), 6.58 (br t, J=5.0Hz, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.12-5.00 (m, 2H), 4.54 (d, J=18.3Hz, 1H), 3.71 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.65-3.57 (m, 6H), 3.49-3.43 (m, 4H), 2.92-2.82 (m, 1H), 2.64 (t, J=6.3Hz, 2H), 2.60-2.50 (m, 2H), 2.05-1.96 (m, 1H).

[0937] 实施例35.2- (6- (4- (4- (1- ((2- (2,6- 二氧代哌啶-3- 基) -1,3- 二氧代异吲哚啉-4- 基) 氨基) -3,6,9,12- 四氧杂十五烷-15- 酰基) 哌嗪-1- 基) 苯基) -1- 氧代异吲哚啉-2- 基) -2- (5- 氟-2- 羟基苯基) -N- (噻唑-2- 基) 乙酰胺(I-30) 的合成

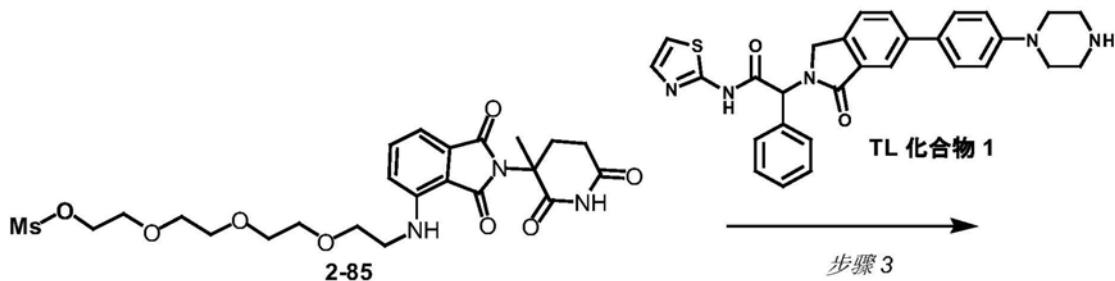


[0938]

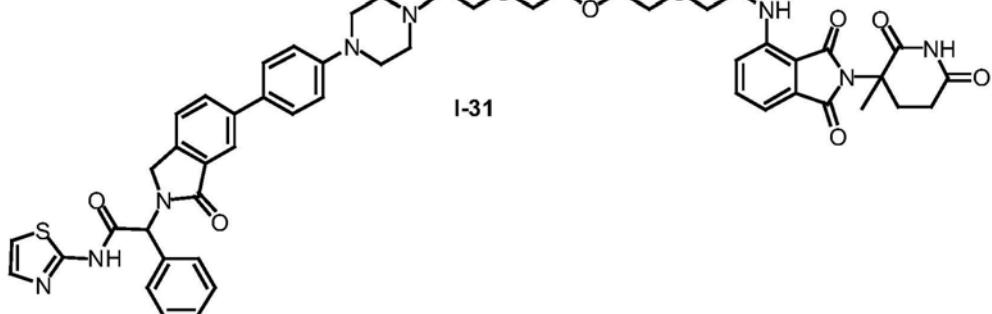


[0939] 根据实施例9中所示化合物I-3的合成制备化合物I-30。合成化合物I-30的步骤4如上文实施例35中所示。MS  $m/z$ : 1047.45 [ $M+1$ ]<sup>+</sup>;  $^1H$  NMR 500MHz (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.61 (bs, 1H), 11.09 (s, 1H), 10.02 (bs, 1H), 7.88-7.87 (m, 1H), 7.86 (dd,  $J$ =7.9, 1.5Hz, 1H), 7.65 (d,  $J$ =8.9Hz, 2H), 7.62-7.54 (m, 2H), 7.49 (d,  $J$ =3.7Hz, 1H), 7.27 (d,  $J$ =3.7Hz, 1H), 7.17-7.08 (m, 4H), 7.03 (d,  $J$ =7.0Hz, 1H), 6.94 (dd,  $J$ =9.2, 4.9Hz, 1H), 6.86 (dd,  $J$ =9.2, 3.7Hz, 1H), 6.59 (br, 1H), 6.33 (s, 1H), 5.05 (dd,  $J$ =12.8, 5.5Hz, 1H), 4.63 (d,  $J$ =17.4Hz, 1H), 4.00 (d,  $J$ =17.4Hz, 1H), 3.68-3.42 (m, 22H), 3.28-3.17 (m, 4H), 2.92-2.83 (m, 1H), 2.65-2.50 (m, 4H), 2.34-2.27 (m, 2H), 2.05-1.98 (m, 1H).

[0940] 实施例36. 2- (6- (4- (4- (2- (2- ((2- (3- 甲基- 2, 6- 二氧代哌啶- 3- 基) - 1, 3- 二氧代异吲哚啉- 4- 基) 氨基) 乙氧基) 乙氧基) 乙基) 哌嗪- 1- 基) 苯基) - 1- 氧代异吲哚啉- 2- 基) - 2- 苯基- N- (噻唑- 2- 基) 乙酰胺 (I- 31) 的合成



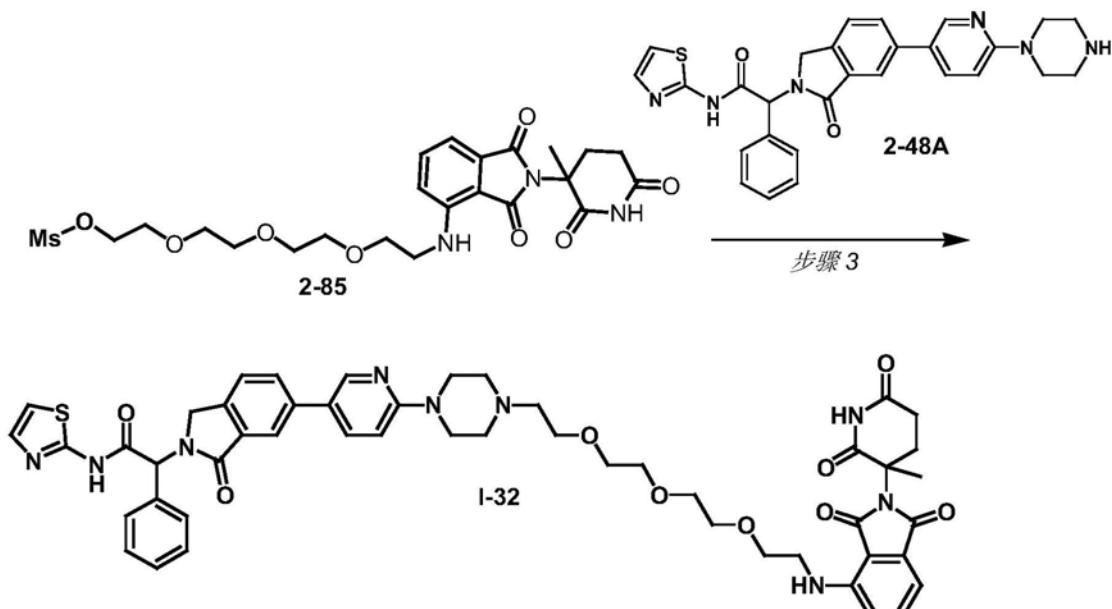
[0941]



[0942] 根据实施例21中所示化合物I-18的合成制备化合物I-31。合成化合物I-31的步骤3如上文实施例36中所示。MS m/z: 955.59 [M+1]<sup>+</sup>.

[0943] 实施例37. 2- (6- (4- (2- (2- ((2- (3- 甲基- 2, 6- 二氧代哌啶- 3- 基) - 1, 3- 二氧代异吲哚啉- 4- 基) 氨基) 乙氧基) 乙氧基) 乙基) 哌嗪- 1- 基) 吡啶- 3- 基) - 1- 氧代异吲哚啉- 2- 基) - 2- 苯基- N- (噻唑- 2- 基) 乙酰胺 (I- 32) 的合成

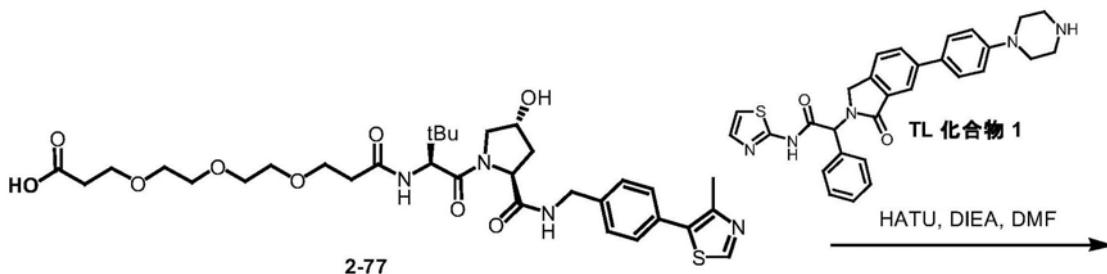
[0944]



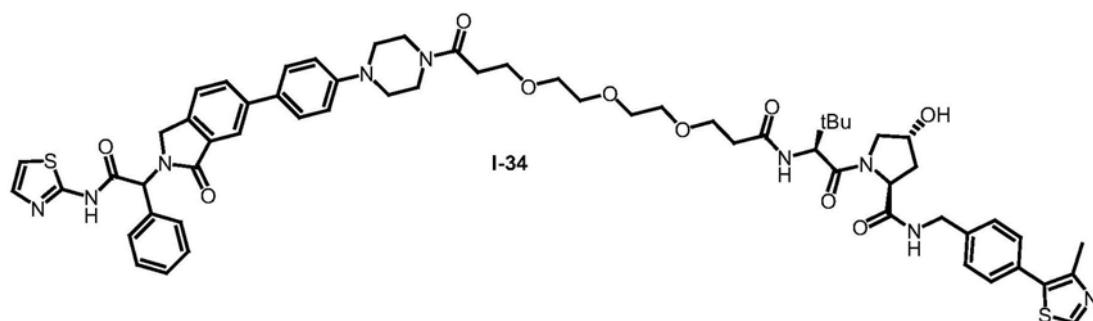
[0945] 根据实施例25中所示化合物I-22的合成制备化合物I-32。合成化合物I-32的步骤3如上文实施例37中所示。MS m/z: 956.61 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 12.70 (s, 1H), 10.98 (s, 1H), 8.49 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.97-7.88 (m, 2H), 7.86 (dd, J=7.9, 1.5Hz, 1H),

7.61 (d,  $J=8.2$ Hz, 1H) , 7.54 (dd,  $J=8.4, 7.2$ Hz, 1H) , 7.51-7.41 (m, 4H) , 7.41-7.36 (m, 2H) , 7.28 (d,  $J=3.4$ Hz, 1H) , 7.10 (d,  $J=8.5$ Hz, 1H) , 6.95 (d,  $J=7.2$ Hz, 1H) , 6.93-6.88 (m, 1H) , 6.62 (t,  $J=5.8$ Hz, 1H) , 6.32 (s, 1H) , 4.78 (d,  $J=17.7$ Hz, 1H) , 4.00 (d,  $J=17.7$ Hz, 1H) , 3.62 (t,  $J=5.5$ Hz, 2H) , 3.60-3.47 (m, 16H) , 3.47-3.40 (m, 2H) , 2.75-2.43 (m, 7H) , 2.04-1.96 (m, 1H) , 1.87 (s, 3H) .

[0946] 实施例38. (2S,4R)-1-((2S)-2-(叔丁基)-4,16-二氧化代-16-(4-(4-(3-氧代-2-(2-氧代-1-苯基-2-(噻唑-2-基氨基)乙基)异吲哚啉-5-基)苯基)哌嗪-1-基)-7,10,13-三氧杂-3-氮杂十六烷酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(I-34)的合成



[0947]



[0948] 向TL化合物1 (61mg, 0.12mmol) 和2-77 (53mg, 0.08mmol) 的DMF (1mL) 溶液中加入HATU (61mg, 0.16mmol) 和DIEA (56μL, 0.32mmol)。搅拌过夜后, 将反应混合物通过制备型HPLC纯化, 得到I-34 (50mg, 52%), 为白色固体。MS m/z: 1154.84 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 12.70 (br s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.56 (t, J = 6.3Hz, 1H), 7.95-7.81 (m, 3H), 7.65-7.55 (m, 3H), 7.54-7.31 (m, 10H), 7.28 (d, J = 3.4Hz, 1H), 7.05 (d, J = 8.5Hz, 2H), 6.33 (s, 1H), 5.12 (d, J = 3.7Hz, 1H), 4.77 (d, J = 17.7Hz, 1H), 4.55 (d, J = 9.5Hz, 1H), 4.46-4.39 (m, 2H), 4.37-4.32 (m, 1H), 4.21 (dd, J = 5.5, 15.6Hz, 1H), 3.99 (d, J = 17.7Hz, 1H), 3.69-3.53 (m, 10H), 3.51-3.43 (m, 8H), 3.25-3.20 (m, 2H), 3.19-3.14 (m, 2H), 2.62 (t, J = 6.6Hz, 2H), 2.57-2.53 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.39-2.32 (m, 1H), 2.07-2.00 (m, 1H), 1.90 (ddd, J = 4.3, 8.5, 12.9Hz, 1H), 0.92 (s, 9H).

### [0949] 实施例39. EGFR蛋白的表达和纯化

[0950] 使用pTriEX系统(Novagen)以GST-融合形式制备跨越人EGFR残基696-1022(包括野生型和L858R、L858R/T790M、T790M和T790M/V948R突变体序列)的构建体,用于在基本上如所述的Sf9昆虫细胞中表达。(Yun,C.H.et al.The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP.Proc Natl Acad Sci U S A 105,2070-2075(2008);Yun,C.H.et al.Structures of lung cancer-derived EGFR mutants and inhibitor complexes:mechanism of activation and insights

into differential inhibitor sensitivity.Cancer Cell 11,217-227 (2007) )EGFR激酶蛋白通过谷胱甘肽-亲和层析纯化,然后在用TEV或凝血酶切割后通过尺寸排阻层析纯化,以按照建立的程序除去GST融合配偶体。(Yun,C.H.et al.Proc Natl Acad Sci U S A 105,2070-2075 (2008);Yun,C.H.et al.Cancer Cell 11,217-227 (2007)

[0951] 实施例40.H1975、H3255和HaCaT靶标调节测定

[0952] 组织培养

[0953] 将细胞维持在补充有100 $\mu$ g/mL青霉素/链霉素(Hyclone#SH30236.01)的10%FBS/RPMI中。用0.25%胰蛋白酶/EDTA(Hyclone#SH30042.1)收获细胞,重悬于5%FBS/RPMI Pen/Strep中,以每孔7,500个细胞铺板于具有透明底部(Greiner#789068G)的384孔黑色板中的50 $\mu$ L培养基中。使细胞在37℃、5%CO<sub>2</sub>湿润的组织培养箱中孵育过夜。通过使用50nL Pin Head装置(Perkin Elmer)将12点连续稀释的测试化合物转移至含有细胞的平板中,并将细胞放回培养箱中3小时。

[0954] 磷酸化EGFR(Y1173)靶标调节测定

[0955] 用10ng/mL EGF(Peprotech#AF-100-15)在室温下刺激HaCaT细胞5分钟。组成型激活的EGFR突变型细胞系(H1975和H3255)未用EGF刺激。使用Bio-Tek ELX405Select™洗板机将培养基减少至20 $\mu$ L。用含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂(2%Triton X-100,40mM Tris,pH7.5,2mM EDTA,2mM EGTA,300mM NaCl,2X完全鸡尾酒抑制剂(Roche#11 697 498 001)、2X磷酸酶抑制剂鸡尾酒组II和组III(Sigma#P5726和#P0044)的20 $\mu$ L 2X裂解缓冲液裂解细胞。将板振荡20分钟。将来自每个孔的25 $\mu$ L等分试样转移至制备的ELISA板用于分析。

[0956] 对于研究EGF预处理对化合物(例如,本申请的化合物)靶调节的影响的实验,收获H1975细胞并铺板于0.5%FBS/RPMI Pen/Strep中。第二天,用含有或不含10ng EGF/mL的0.5%FBS/RPMI培养基预处理细胞5分钟。加入化合物(即本申请的化合物)并如上所述进行测定。

[0957] 磷酸-EGFR(Y1173)ELISA

[0958] 将固体白384孔高结合ELISA板(Greiner#781074)用5 $\mu$ g/mL山羊抗EGFR捕获抗体的50mM碳酸盐/碳酸氢盐pH9.5缓冲溶液包被过夜。将平板用PBS中的1%BSA(Sigma#A7030)在室温下封闭1小时,并使用Bio-Tek ELx405Select™使用每孔4个循环的100 $\mu$ L TBS-T(20mM Tris,137mM NaCl,0.05%Tween-20)进行洗涤。将25 $\mu$ L等份的裂解细胞加入ELISA板的每个孔中,并在4℃温和摇动下孵育过夜。加入在0.2%BSA/TBS-T中的1:1,000抗磷酸-EGFR,并在室温下孵育2小时。洗涤后,加入在0.2%BSA/TBS-T中的1:2,000抗兔-HRP,并在室温下孵育1小时。用SuperSignal ELISA Pico底物进行化学发光检测。使用内置UltraLUM设置在EnVision读板器上读取信号。

[0959] 实施例41.蛋白质印迹

[0960] 将细胞裂解物平衡至通过Coomassie Plus™蛋白质测定试剂(ThermoScientific#1856210)测定的蛋白质含量,并用含有LDS样品缓冲液(补充有DTT)的MOPS运行缓冲液加载到4-12%NuPAGE Bis-Tris凝胶上。凝胶蛋白质用iBlot®凝胶转移装置转移到PVDF膜上。1X酪蛋白封闭的膜用一抗在4℃下在端对端旋转式烤架上探测过夜。用TBS-T洗涤膜,并在室温下加入HRP偶联的第二抗体1小时。洗涤后,使用Luminata™ Forte Western HRP底物试剂检测HRP,并用Bio-Rad VersaDoc成像仪记录。

[0961] 在用本申请化合物或与1 $\mu$ g/mL西妥昔单抗组合剂量依赖性处理T790M/L858R突变体Ba/F3细胞系8小时后,通过蛋白质印迹评估EGFR蛋白质降解。结果如图3所示。

[0962] 实施例42. 增殖分析

[0963] 将H1975、H3255和HaCaT细胞系以每孔500个细胞接种于10%FBS RPMI P/S培养基中的固体白色384孔板(Greiner)中。使用Pin工具,将50nL本申请的连续稀释的化合物转移到细胞中。3天后,根据制造商的说明,通过CellTiter-Glo (Promega) 测量细胞活力。将发光读数标准化为0.1%DMSO处理的细胞和空孔。通过非线性回归曲线拟合分析数据并报告EC<sub>50</sub>值。对于本申请的示例性化合物与西妥昔单抗(西妥昔单抗%,1.0 $\mu$ M药物浓度具有1.0 $\mu$ g/mL西妥昔单抗)的组合的EGFR T790M/L858R细胞系的抑制数据可以在下表2中找到。

[0964] Ba/F3细胞增殖模型

[0965] 先前已经描述了EGFR突变体L858R、Del E746\_A750、L858R/T790M、DelE746\_A750/T790M、L858R/T790M/C797S和Del/T790M/C797S Ba/F3细胞(Zhou, W., Ercan, D., Chen, L., Yun, C.H., Li, D., Capelletti, M., Cortot, A.B., Chiriac, L., Iacob, R.E., Padera, R., et al. "Novel mutant-selective EGFR kinase inhibitors against EGFR T790M," "Nature 462, (2009), 1070-1074)。将所有的细胞系维持在补充有10%FBS 100单位/mL青霉素、100单位/mL链霉素和2mM谷氨酰胺的RPMI 1640 (Cellgro; Mediatech Inc., Herndon, CA) 中。将L858R细胞维持在补充有5%FBS、100单位/mL青霉素、100单位/mL链霉素和2mM谷氨酰胺的ACL-4培养基(Invitrogen, Carlsbad, CA) 中。根据制造商的说明,使用Quick Change Site-Directed Mutagenesis试剂盒(Stratagene; La Jolla, CA) 通过定向诱变引入EGFR I941R突变。通过DNA测序确认所有构建体。

[0966] 使用BD Creator™ System(BD Biosciences) 将构建体穿梭到逆转录病毒载体JP1540中。如前所述(Zhou等,Nature 2009),用逆转录病毒并根据标准方案感染Ba/F3细胞。通过在嘌呤霉素(2 $\mu$ g/ml)中选择获得稳定的克隆。

[0967] 通过MTS测定评估,并根据先前建立的方法进行(Zhou等,Nature2009)生长和生长抑制。MTS测定是用于确定活细胞数的比色方法,其基于细胞对可溶于细胞培养基中的甲瓒产物的MTS的生物还原,并且可以通过分光光度法检测。将不同EGFR基因型的Ba/F3细胞暴露于处理72小时,并且每个实验使用的细胞数根据经验确定并且先前已经建立(Zhou等, Nature 2009)。将所有实验点设置在六个孔中,并且所有实验重复至少三次。使用适用于Windows的GraphPad Prism 5.0版(GraphPad Software;www.graphpad.com)以图形方式显示数据。使用具有S形剂量响应的非线性回归模型拟合曲线。

[0968] 实施例43. 小鼠功效研究

[0969] 如前所述产生EGFR-TL (T790M/L858R) 和EGFR-TD (外显子19缺失-T790M) 小鼠((Li, D., Shimamura, T., Ji, H., Chen, L., Haringsma, H.J., McNamara, K., Liang, M.C., Perera, S.A., Zaghloul, S., Borgman, C.L., et al., "Bronchial and peripheral murine lung carcinomas induced by T790M-L858R mutant EGFR respond to HKI-272 and rapamycin combination therapy," Cancer Cell 12, (2007), 81-93; Zhou et al., Nature 2009)。EGFR-L858R;T790M;C797S ("TLCS") 突变小鼠组简要建立如下:使用Quickchange定向诱变试剂盒(Agilent Technologies)通过定点诱变产生全长HuTLCS cDNA,并通过DNA测序进一步验证。将序列验证的靶向载体与FLPe重组酶质粒共电穿孔到v6.5C57BL/6J(雌性)

x129/sv(雄性)胚胎干细胞(Open Biosystems)中,如其他地方所述(Beard,C.,Hochedlinger,K.,Plath,K.,Wutz,A.,and Jaenisch,R., "Efficient method to generate single-copy transgenic mice by site-specific integration in embryonic stem cells,"*Genesis* 44,(2006),23-28)。通过PCR评估产生的潮霉素抗性胚胎干克隆的转基因整合。然后,将转基因阳性胚胎干克隆注射到C57BL/6胚泡中,并将得到的嵌合体与BALB/CWT小鼠交配以确定TLCS转基因的种系传递。通过尾DNA的PCR对TL、TD和TLCS小鼠的子代进行基因分型。

[0970] TL和TD小鼠在6周龄时喂食多西环素饮食以分别诱导EGFR TL或TD表达。在6周龄时,用Ad-Cre(爱荷华大学病毒载体中心)鼻内滴注TLCS小鼠以切除loxP位点,激活EGFR TLCS表达。

[0971] 所有实验动物的护理均符合哈佛医学院/Dana-Farber癌症研究所(DFCI)机构动物护理与使用委员会(IACUC)指南。将所有小鼠圈养在DFCI动物设施的无病原体环境中,并严格按照实验动物福利办公室(the Office of Laboratory Animal Welfare)定义的良好动物实践(Good Animal Practice)进行处理。

[0972] 实施例44.体内治疗和MRI肿瘤体积定量

[0973] 通过MRI监测TL、TD和TLCS小鼠以在分配给各种治疗研究组之前量化肺肿瘤负荷。所有的治疗小鼠具有相等量的初始肿瘤负荷。将本申请的化合物溶于10%NMP(10%1-甲基-2-吡咯烷酮:90%PEG-300)中,并通过口服强饲法每天以60mg/kg给药。西妥昔单抗通过腹膜内注射每3天每只小鼠1mg给药。在治疗期间每2周重复MRI评估。通过在冠状和轴向平面中用具有弛豫增强序列(TR=2000ms,TE效应=25ms)的快速采集对动物成像,其中1mm切片厚度用呼吸速率门控。先前已经描述了MRI扫描的详细程序(Li等人,2007)。使用三维Slicer软件量化肿瘤负荷体积。

[0974] 实施例45.双功能化合物对T790M/L858R转化的Ba/F3细胞有效。针对T790M/L858R转化的Ba/F3细胞,以1μM的浓度测试表1的化合物。如实施例42中所述,该测定法以对照抑制活性的百分比测量生长抑制。在表1中,A是0%对照<25,B是25%对照<50,C是50%对照<75,D是75%对照。

[0975] 表1.针对T790M/L858R转化的Ba/F3细胞的抗增殖活性

| 化合物         | %对照 |
|-------------|-----|
| <b>I-28</b> | A   |
| <b>I-26</b> | D   |
| <b>I-10</b> | B   |
| <b>I-11</b> | B   |
| <b>I-12</b> | B   |
| <b>I-33</b> | A   |

[0976]

|        |                 |   |
|--------|-----------------|---|
| [0977] | <b>I-29</b>     | A |
|        | <b>I-27</b>     | D |
|        | <b>I-25</b>     | D |
|        | <b>I-7</b>      | B |
|        | <b>I-17</b>     | C |
|        | <b>I-18</b>     | A |
|        | <b>I-19</b>     | D |
|        | <b>I-20</b>     | A |
|        | <b>I-35</b>     | D |
|        | <b>I-8</b>      | D |
|        | <b>I-21</b>     | C |
|        | <b>I-1</b>      | A |
|        | <b>I-23</b>     | D |
|        | <b>I-22</b>     | A |
|        | <b>I-15</b>     | C |
|        | <b>I-16</b>     | C |
|        | <b>I-14</b>     | D |
|        | <b>TL 化合物 1</b> | B |
|        | <b>TL 化合物 2</b> | D |

[0978] 实施例46. 双功能化合物对T790M/L858R转化的Ba/F3细胞有效。如实施例42中所述，在T790M/L858R转化的Ba/F3细胞系中测试表2的化合物，并计算EC<sub>50</sub>值。在表2中，A是EC<sub>50</sub><500nM，B是500nM<EC<sub>50</sub><1000nM，C是1000nM<EC<sub>50</sub><5000nM，D是5000nM<EC<sub>50</sub>。

[0979] 表2. 针对T790M/L858R转化的Ba/F3细胞的抗增殖活性

|        |            |                                    |
|--------|------------|------------------------------------|
| [0980] | <b>化合物</b> | T790M/L858R<br>(EC <sub>50</sub> ) |
|--------|------------|------------------------------------|

[0981]

|             |   |
|-------------|---|
| <b>I-29</b> | B |
| <b>I-28</b> | B |
| <b>I-33</b> | A |
| <b>I-1</b>  | A |
| <b>I-10</b> | C |
| <b>I-18</b> | A |
| <b>I-20</b> | A |
| <b>I-11</b> | C |
| <b>I-12</b> | C |
| <b>I-15</b> | C |
| <b>I-16</b> | C |
| <b>I-22</b> | A |
| <b>I-14</b> | C |
| <b>I-23</b> | D |
| <b>I-24</b> | D |

[0982] 实施例47. 双功能化合物对T790M/L858R/C797S转化的Ba/F3细胞有效。如实施例42中所述, 在T790M/L858R转化的Ba/F3细胞系中测试表3的化合物, 并计算EC<sub>50</sub>值。在表3中, A是EC<sub>50</sub><500nM, B是500nM<EC<sub>50</sub><1000nM, C是1000nM<EC<sub>50</sub><5000nM, D是5000nM<EC<sub>50</sub>。

[0983] 表3. 针对T790M/L858R/C797S转化的Ba/F3细胞的抗增殖活性

[0984]

| 化合物         | T790M/L858R/C797S<br>(EC <sub>50</sub> ) |
|-------------|--|
| <b>I-29</b> | D  |
| <b>I-28</b> | D  |
| <b>I-33</b> | C  |
| <b>I-1</b>  | B  |

[0985]

|      |   |
|------|---|
| I-10 | D |
| I-18 | A |
| I-20 | A |
| I-11 | D |
| I-12 | D |
| I-15 | D |
| I-16 | D |
| I-22 | B |
| I-14 | D |
| I-23 | D |
| I-24 | D |

[0986] 已经参考本发明的实施方案描述了本说明书。然而，本领域普通技术人员认识到，在不脱离如下面的权利要求所阐述的本发明的范围的情况下，可以进行各种修改和改变。因此，说明书应被视为说明性而非限制性意义，并且所有这些修改旨在被包括在本发明的范围内。

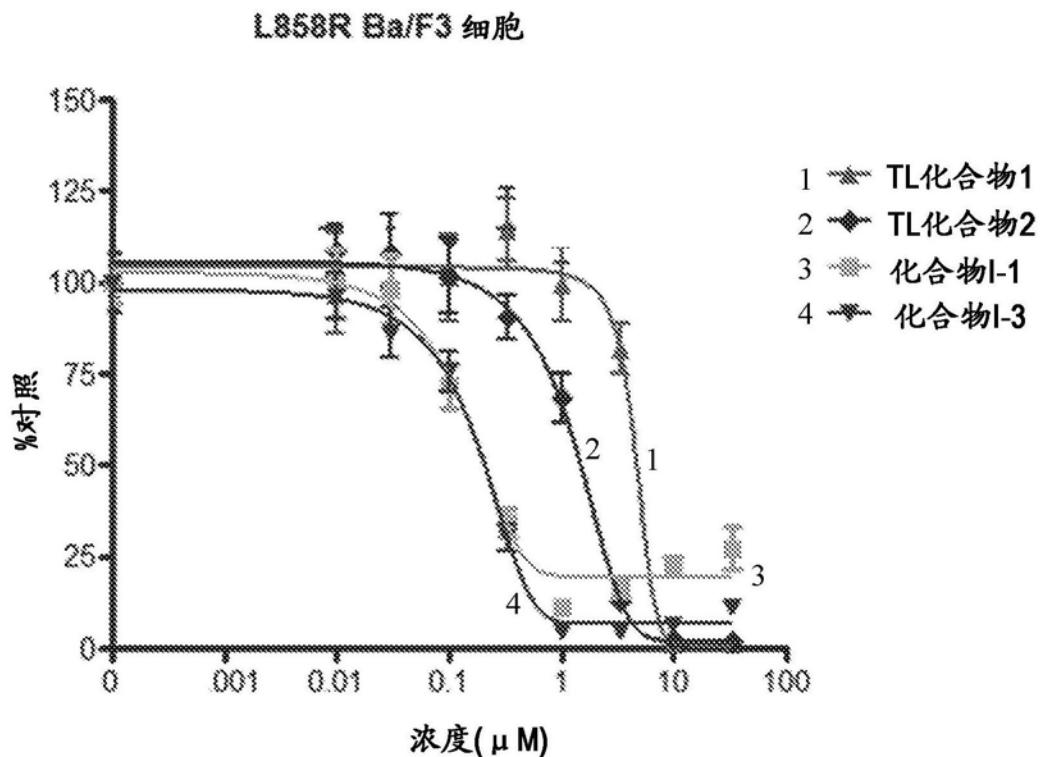


图1

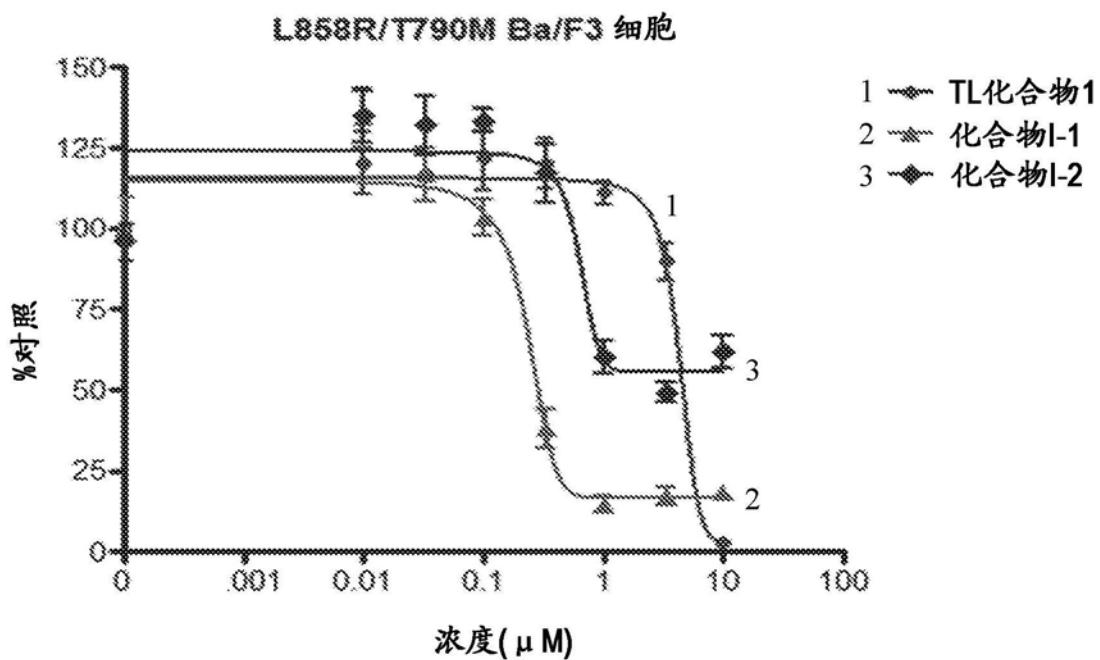


图2

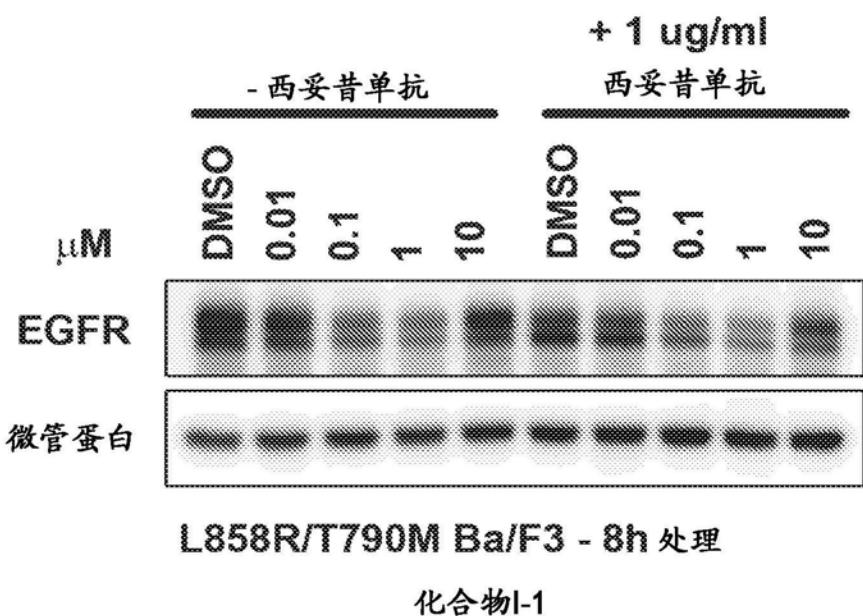


图3

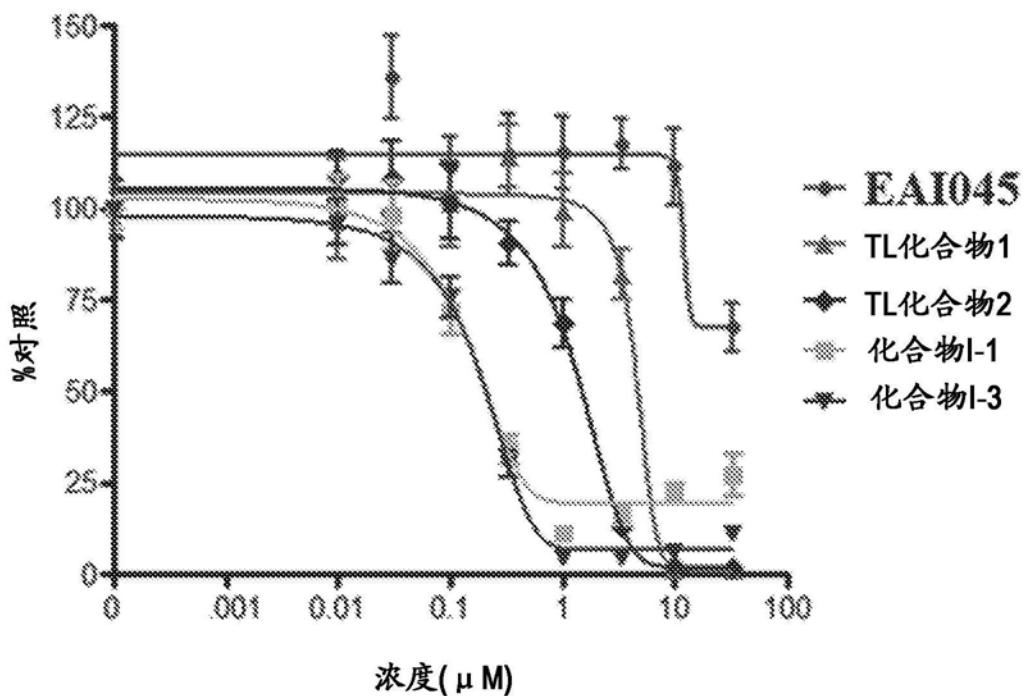


图4

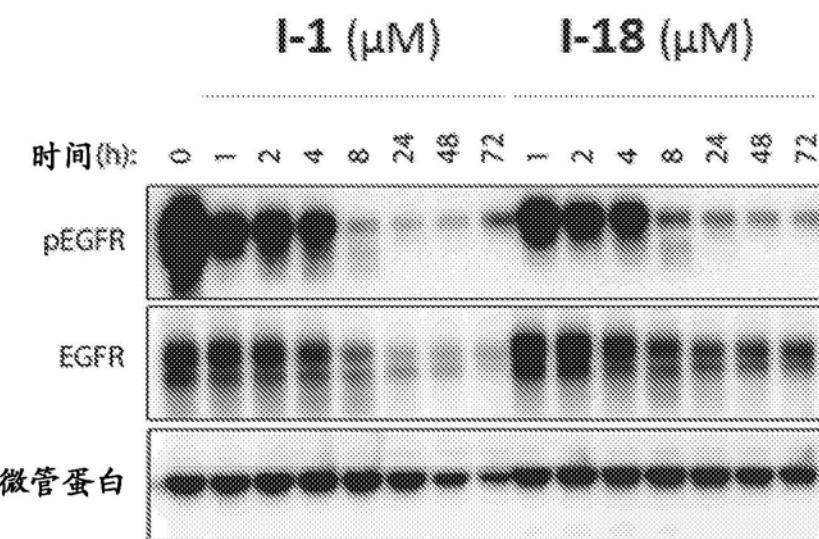


图5A

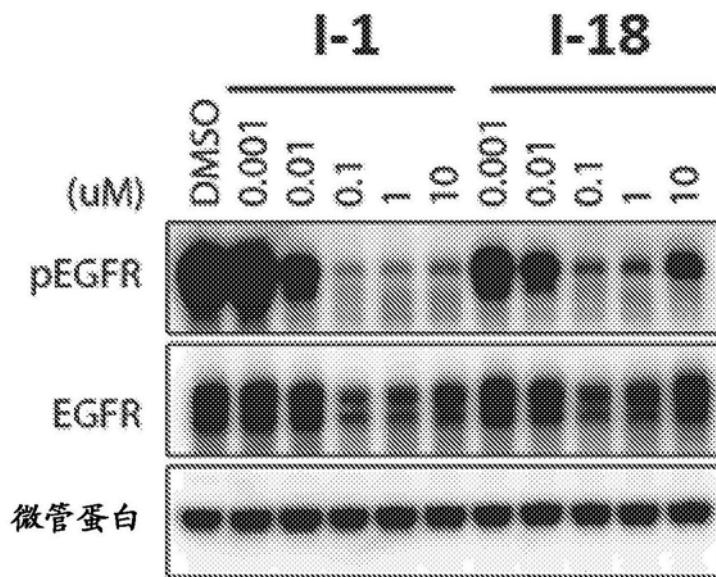


图5B

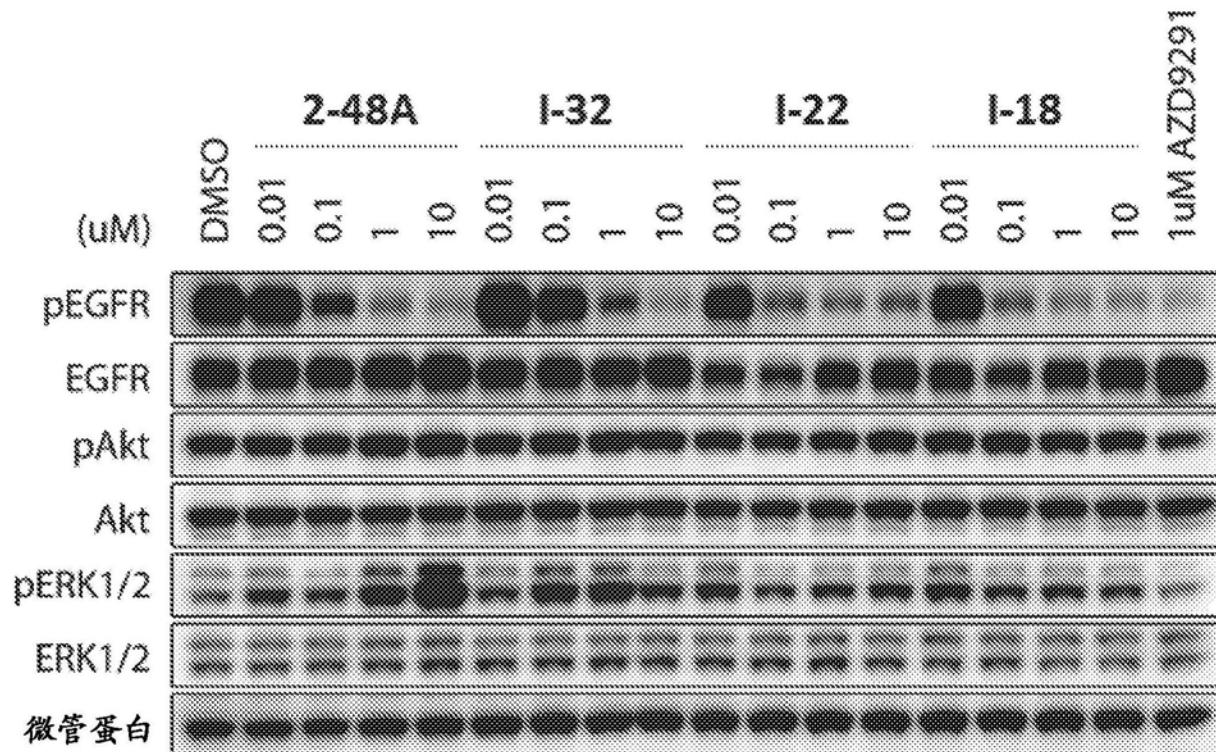


图6

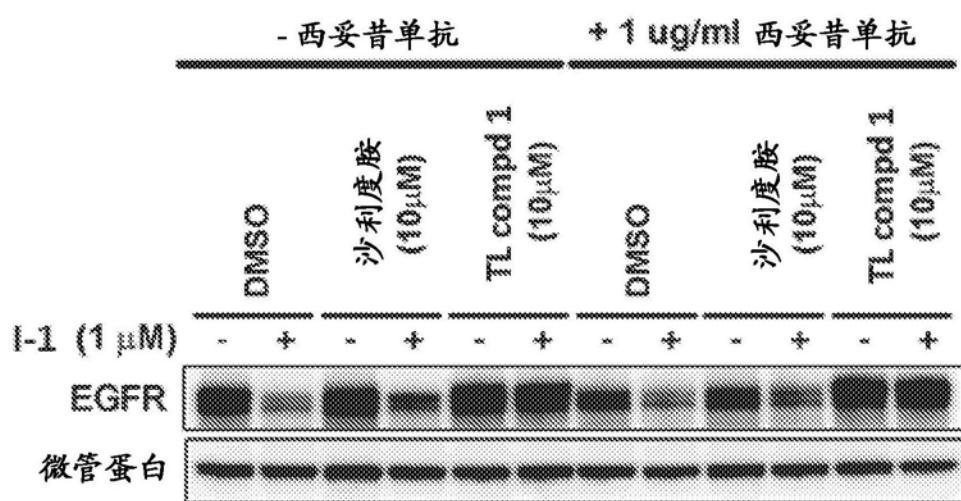


图7

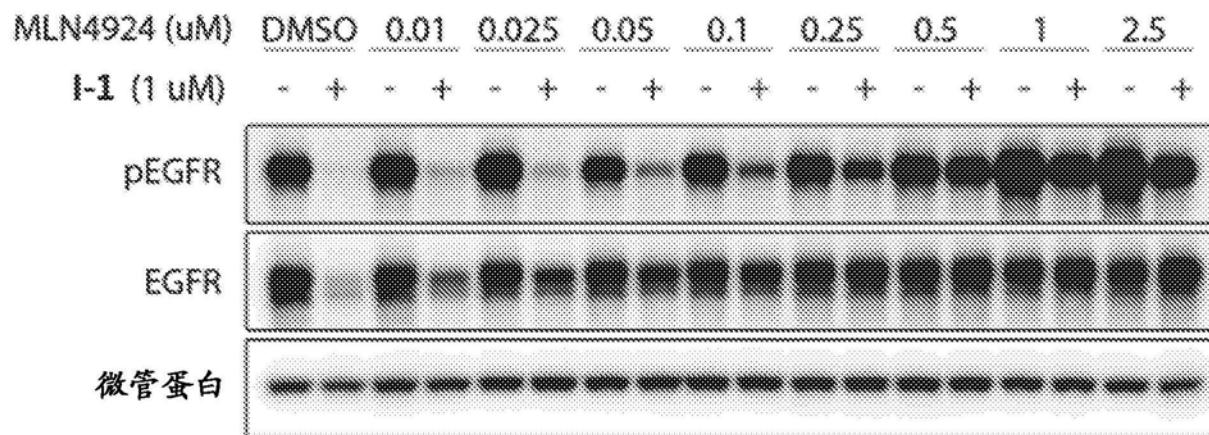


图8