(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 108727407 B
(45)授权公告日 2022.01.28

(21)申请号 201810317830.5

(22)申请日 2010.02.04

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108727407 A

(43)申请公布日 2018.11.02

(30)优先权数据
61/150,201 2009.02.05 US

(62)分案原申请数据
201080014211.0 2010.02.04

(73)专利权人 伊缪诺金公司
地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 李为 N·E·菲斯金 R·Y·赵
M·L·米勒 R·V·J·沙里

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
代理人 陈文平 黄海波

(51)Int.Cl.
C07D 498/04(2006.01)
C07D 519/00(2006.01)
C07D 487/04(2006.01)
C07D 209/12(2006.01)
C07D 263/06(2006.01)
A61K 31/5517(2006.01)
A61K 31/421(2006.01)
A61K 31/404(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 37/02(2006.01)
A61P 19/00(2006.01)
A61P 25/28(2006.01)
A61P 1/18(2006.01)
A61P 13/12(2006.01)
A61P 31/12(2006.01)
A61K 47/60(2017.01)
A61K 47/68(2017.01)

(56)对比文件
WO 00/12508 A2,2000.03.09
WO 00/12508 A2,2000.03.09
WO 93/18045 A1,1993.09.16
WO 93/18045 A1,1993.09.16
WO 00/12507 A2,2000.03.09
JP 昭57-131791 A,1982.08.14
US 3763183 A,1973.10.02 (续)

审查员 朱亚莉

权利要求书2页 说明书138页 附图36页

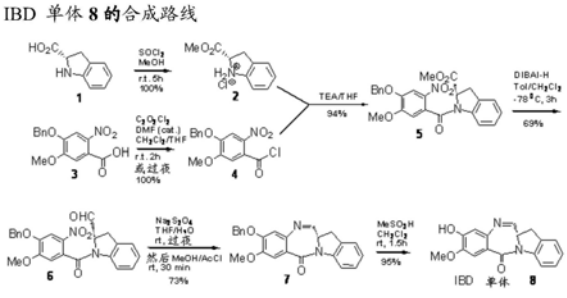
(54)发明名称

新型苯并二氮杂䓬衍生物

(57)摘要

本发明涉及具有抗增殖活性的新型苯并二氮杂䓬衍生物，更具体来说，涉及式(I)和(II)的新型苯并二氮杂䓬，其中所述二氮杂䓬环(B)与杂环(CD)稠合，其中所述杂环是二环的或涉及式(III)化合物，其中所述二氮杂䓬环(B)与杂环(C)稠合，其中所述杂环是单环的。本发明提供这些化合物的细胞毒性二聚体。本发明还提供单体和二聚体的轭合物。本发明进一步提供用于在哺乳动物中抑制异常细胞生长或治疗增殖性病症的组合物以及使用本发明的化合物或轭合物对在哺乳动物中抑制异常细胞生长或治疗增殖性病症有用的方法。本发明进一步涉及将化合物或轭合物用于体外、原位和体内诊断或治疗哺乳动物细胞或相关的病理状态的方法。

IBD 单体 **8** 的合成路线



CN 108727407 B

[转续页]

[接上页]

(56)对比文件

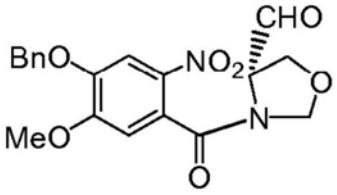
EP 2019104 A1,2009.01.28

Zenzaburo Tozuka, et al..Studies on tomaymycin. III. Synthesis and antitumor activity of tomaymycin analogs.《Journal of antibiotics》.1983,第XXXVI卷(第12期),第1699-1708页.

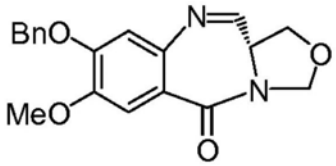
Zenzaburo Tozuka, et al..Studies on tomaymycin. III. Synthesis and antitumor activity of tomaymycin analogs.《Journal of antibiotics》.1983,第XXXVI卷(第12期),第1699-1708页.

David E. Thurston et al..Synthesis and Reactivity of a Novel Oxazolo[Z,3-c][1,4]benzodiazepine Ring System with DNA Recognition Potential: a New Class of Anthramycins.《J. CHEM. SOC., CHEM. COMMUN.》.1990,第874-876页.

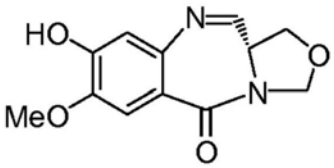
1.选自如下的化合物：



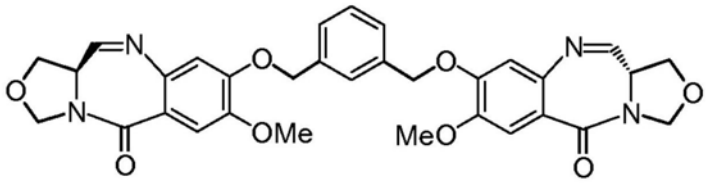
、



、

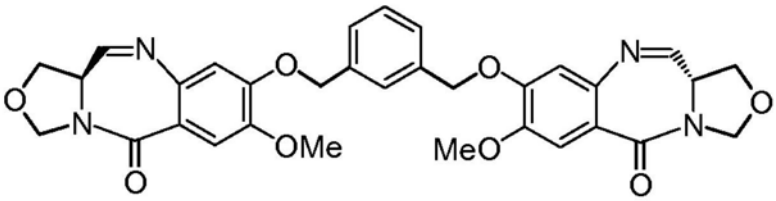


、和



。

2.权利要求1所述的化合物，其中所述化合物是由下式表示的化合物：



。

3.权利要求2的化合物与细胞结合剂的轭合物，其中所述化合物与所述细胞结合剂共价连接。

4.权利要求3的轭合物，其具有抗体和权利要求2的1-10个化合物。

5.权利要求3中的轭合物，其中所述细胞结合剂与选自以下的靶细胞结合：肿瘤细胞、受微生物感染的细胞、受寄生虫感染的细胞、自身免疫细胞、髓样细胞、B细胞、或黑素细胞；表达CD4、CD6、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、EpCAM、CanAg、CALLA、Her-2抗原、或Her-3抗原的细胞；或表达胰岛素生长因子受体、表皮生长因子受体或叶酸盐受体的细胞；或其中所述细胞结合剂是单链抗体、与靶细胞特异性结合的抗体片段、表面重塑抗体、或表面重塑抗体片段、单克隆抗体、人化抗体、或人化抗体片段、嵌合抗体、域抗体、淋巴因子、激素、维生素、生长因子、集落刺激因子或营养素转运分子。

6.权利要求5的轭合物，其中所述抗体是MY9、抗-B4或C242。

7.权利要求6的轭合物，其中所述抗体是人化或表面重塑MY9、人化或表面重塑抗-B4或人化或表面重塑C242。

8.药物组合物，其包含权利要求2的化合物或权利要求3-7中任一项的轭合物和可药用载体。

9.权利要求2的化合物或权利要求3-7中任一项的轭合物用于制备在哺乳动物中抑制异常细胞生长或治疗增殖性病症、自身免疫性病症、破坏性骨病症、传染性疾病、病毒疾病、纤维化疾病、神经退行性病症、胰腺炎或肾脏疾病的药物中的用途，所述用途包括向所述哺乳动物施用治疗有效量的所述化合物或所述轭合物和任选的化学治疗剂。

10.权利要求9的用途,其中所述增殖性病症是肿瘤。

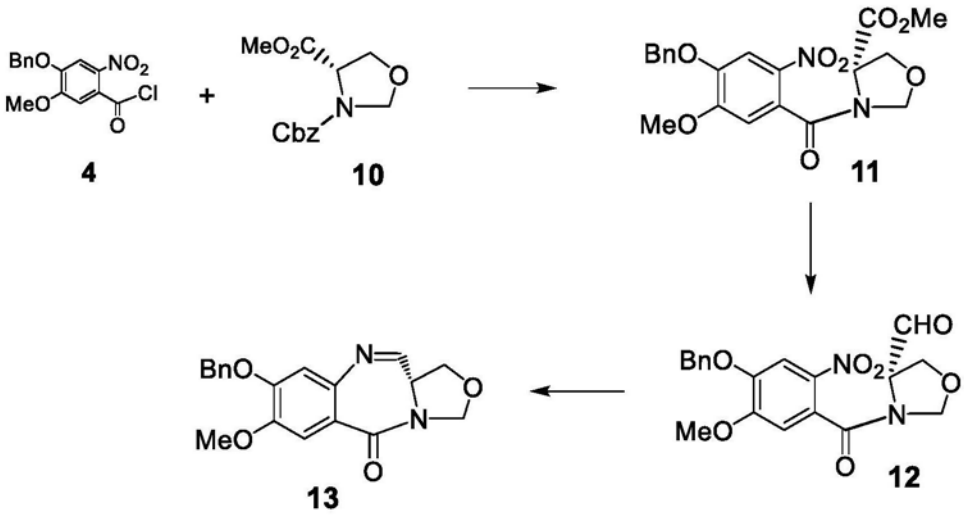
11.权利要求10的用途,其中所述增殖性病症选自乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、结肠直肠癌、胃癌、鳞癌、小细胞肺癌和睾丸癌。

12.一种用于制备化合物13或其药学可接受盐的方法,所述方法包括以下步骤:

a)将化合物4与化合物10偶联,得到化合物11;

b)将化合物11转化为化合物12;以及

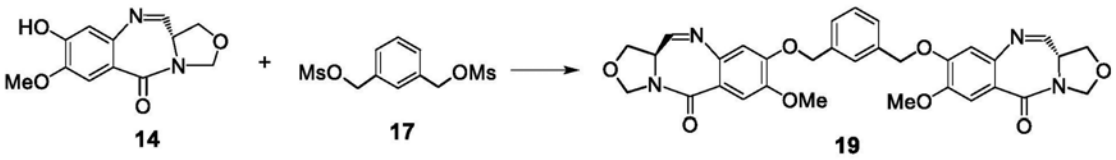
c)将化合物12转化为化合物13,



。

13.一种用于制备化合物19或其药学可接受盐的方法,所述方法包括:

将化合物14与化合物17偶联的步骤,得到化合物19,



。

14.权利要求1的化合物,其中所述化合物由式(XI)表示:



(XI) ,

或其药学可接受盐。

新型苯并二氮杂䓬衍生物

[0001] 本申请是申请日为2010年2月4日、申请号为201080014211.0、发明名称为“新型苯并二氮杂䓬衍生物”的专利申请(母案申请),申请日为2010年2月4日、申请号为201510110107.6、发明名称为“新型苯并二氮杂䓬衍生物”的专利申请(在先分案)的分案申请。

发明领域

[0002] 本发明涉及新型细胞毒性化合物以及包含这些细胞毒性化合物和细胞结合剂的细胞毒性轭合物。更具体来说,本发明涉及新型苯并二氮杂䓬化合物(例如,吲哚啉并苯并二氮杂䓬或噁唑烷并苯并二氮杂䓬)、其衍生物、其中间体、其轭合物及其可药用盐,它们可用作药物、特别是用作抗增殖剂。

[0003] 发明背景

[0004] 苯并二氮杂䓬衍生物是可用于治疗各种病症的化合物,并且包括药物例如,抗癫痫药(咪唑并[2,1-b][1,3,5]苯并硫代二氮杂䓬,美国专利No.4,444,688;美国专利No.4,062,852)、抗菌剂(嘧啶并[1,2-c][1,3,5]苯并硫代二氮杂䓬,GB 1476684)、利尿药和降血压药(吡咯并(1,2-b)[1,2,5]苯并硫代二氮杂䓬5,5二氧化物,美国专利No.3,506,646)、降血脂药(WO03091232)、抗抑郁药(美国专利No.3,453,266);骨质疏松症(JP 2138272)。

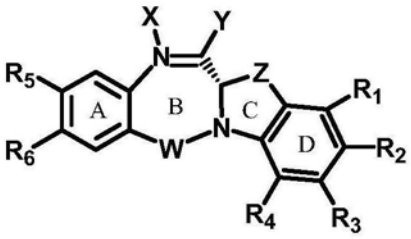
[0005] 最近,已经在动物肿瘤模型中表明,苯并二氮杂䓬衍生物(例如吡咯并苯并二氮杂䓬(PBD))用作抗肿瘤剂(N-2-咪唑基烷基取代的1,2,5-苯并硫代二氮杂䓬-1,1-二氧化物、美国专利No.6,156,746)、苯并-吡啶并或二吡啶并硫代二氮杂䓬(WO 2004/069843)、吡咯并[1,2-b][1,2,5]苯并硫代二氮杂䓬和吡咯[1,2-b][1,2,5]苯并二氮杂䓬衍生物(WO2007/015280)、托马霉素衍生物(例如,吡咯并[1,4]苯并二氮杂䓬),例如记载于WO00/12508、WO2005/085260、WO2007/085930和EP 2019104中的那些。也已知苯并二氮杂䓬影响细胞生长和分化(Kamal A.等人,Bioorg Med Chem.2008年8月15日;16(16):7804-10(以及本文所引用的参考文献);Kumar R,Mini Rev Med Chem.2003Jun;3(4):323-39(以及本文所引用的参考文献);Bednarski J J等人,2004;Sutter A.P等人,2002;Blatt N B等人,2002),Kamal A.等人,Current Med.Chem.,2002;2;215-254,Wang J-J.,J.Med.Chem.,2206;49:1442-1449,Alley M.C.等人,Cancer Res.2004;64:6700-6706,Pepper C.J.,Cancer Res 2004;74:6750-6755,Thurston D.E.和Bose D.S.,Chem Rev

1994;94:433-465;和Tozuka,Z.等人,Journal of Antibiotics(1983)36;1699-1708。PBD的一般结构记载于美国公开No.20070072846中。PBD在取代基的数目、类型和位置方面、在其芳族A环和吡咯并C环方面、以及在C环的饱和度方面不同。其在小沟中形成加成物的能力能使它们干扰DNA加工,因此它们具有用作抗增殖剂的潜力。

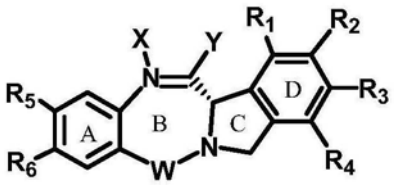
[0006] 目前仍对作为用于治疗多种增殖性疾病状态(例如癌症)的有效且安全的治疗剂的新型苯并二氮杂䓬衍生物存在需求。

[0007] 发明概述

[0008] 本发明的一个目的是提供式(I)和(II)的新型苯并二氮杂䓬或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体,其中该二氮杂䓬环(B)与杂环(CD)稠合,其中所述杂环是二环的,

[0009] 

(I)



(II)

[0010] 其中:

[0011] N与C之间的双线═表示单键或双键,条件是当其为双键时,X不存在且Y为H,并且当其为单键时,X为H或将该化合物转化成可在体外或体内转变为游离胺的前药的氨基保护部分;

[0012] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基,其中R、R'和R"相同或不同并且选自H;取代的或未取代的具有1至20个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$,其中n为1至2000的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有6至18个碳原子的芳基;含有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$,其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H;具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$,其中n为1至2000的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;具有6至18个碳原子的芳基;具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13},其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$,其中n为1至2000的整数;含有一个或多个

独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{11}也可以为OR_{14}，其中R_{14}为H或具有与R相同的定义，任选地R”为OH；

[0013] W是C＝O、C＝S、CH_2、BH(B＝硼)、SO或SO_2；

[0014] R_1、R_2、R_3、R_4各自独立地选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；或者选自以下的取代基：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR’、SR_{10}、由SOR’表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、胍盐[$-NH(C=NH)NH_2$]、$-COR_{11}$、$-OCOR_{11}$或$-OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}具有与上文给出的相同的定义，任选地，R_1、R_2、R_3、R_4中的任何一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单位；

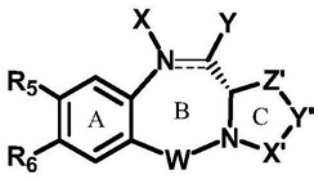
[0015] R_5选自OR_{15}、CRR’OH、SH、CRR’SH、NHR_{15}或CRR’NHR_{15}，其中R_{15}具有与R相同的定义，R和R’具有与上文给出的相同的定义；任选地，R_5是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元；

[0016] R_6是OR、SR、NRR’，其中R和R’具有与上文给出的相同的定义，或任选地R_6是连接基团；

[0017] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S，其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；

[0018] 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0019] 本发明的第二目的是提供新型的式(III)苯并二氮杂䓬或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，其中所述二氮杂䓬环(B)与杂环(C)稠合，其中所述杂环是单环，

[0020] 

(III)

[0021] 其中：

[0022] N与C之间的双线═表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0023] Y选自-OR、由-OCOR’表示的酯、由-OCOOR’表示的碳酸酯、由-OCONR’R”表示的氨基甲酸酯、由NR’R”表示的胺或羟基胺、由-NRCOR’表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR’表示的硫醚、由SOR’表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R’和R”相同

或不同并且选自H;取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$,其中n为1至2000的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;具有6至18个碳原子的芳基;具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$,其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H;具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$,其中n为1至2000的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;具有6至18个碳原子的芳基;具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13},在本文中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$,其中n为1至2000的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有6至18个碳原子的芳基;具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,并且R_{11}也可以为OR_{14},其中R_{14}为H或具有与R相同的定义,任选地R"为OH;

[0024] W是C=O、C=S、CH_2、BH、SO或SO_2;

[0025] R_5选自OR_{15}、CRR'OH、SH、CRR'SH、NHR_{15}或CRR'NHR_{15},其中R_{15}具有与R相同的定义或是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元;

[0026] R_6是OR、SR或NRR',其中R和R'具有与上文给出的相同的定义,任选地R_6是连接基团;

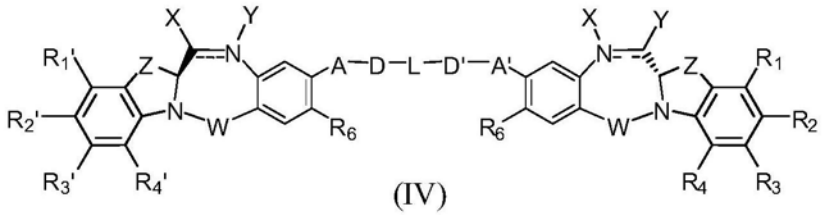
[0027] X'是CH_2、NR、CO、BH、SO或SO_2;

[0028] Y'是O、CH_2、NR或S;

[0029] Z'是CH_2或$(CH_2)_n$,其中n为2、3或4;

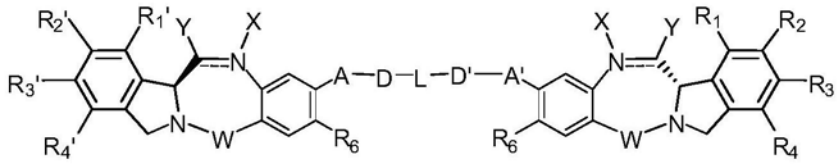
[0030] 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0031] 本发明的第三目的是提供式(I)和(II)和(III)各自的苯并二氮杂䓬单体的细胞毒性二聚体(IV)、(V)和(VI),或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构;

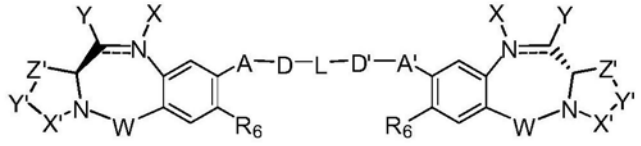


(IV)

[0032]



(V)



(VI)

[0033] 其中所述二聚体化合物任选地具有能够与细胞结合剂连接的连接基团，

[0034] 其中：

[0035] N与C之间的双线═表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0036] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R"相同或不同并且选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；3-至10-元杂环；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13}，其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子

的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，任选地R_{11}为OR_{14}，其中R_{14}具有与R相同的定义，任选地R"为OH；

[0037] W是C＝O、C＝S、CH_2、BH、SO或SO_2；

[0038] R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'和R_4'各自独立地选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)n$，其中n为1至2000的整数；或者选自以下的取代基：卤素、胍盐[-NH(C＝NH)NH_2]、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}如上文定义，任选地，R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'或R_4'中的任何一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元，

[0039] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S，其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；R_6是OR、SR或NRR'，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，任选地R_6是连接基团；

[0040] X'选自CH_2、NR、CO、BH、SO或SO_2，其中R具有与上文给出的相同的定义；

[0041] Y'是O、CH_2、NR或S，其中R具有与上文给出的相同的定义；

[0042] Z'是CH_2或$(CH_2)_n$，其中n为2、3或4，条件是X'、Y'和Z'不同时都为CH_2；

[0043] A和A'相同或不同并且选自O、-CRR'O、S、-CRR'S、$-NR_{15}$或CRR'NHR_{15}，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义并且其中R_{15}具有与R相同的定义；

[0044] D和D'相同或不同并且独立地选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义如上文定义；或选自聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；

[0045] L是任选取代的任选的苯基或具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，或选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}具有与上文给出的相同的定义，或选自聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)n$，其中n为1至2000的整数；任选地，L自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0046] 本发明的第四目的是提供细胞结合剂与本发明的新型苯并二氮杂䓬化合物或其衍生物的轭合物。这些轭合物可用作被特异性递送以靶向细胞并且具有细胞毒性的治疗剂。

[0047] 本发明还包括组合物(例如，药物组合物)，其包含新型苯并二氮杂䓬化合物、其

衍生物或其轭合物(和/或其溶剂合物、水合物和/或盐)和载体(可药用载体)。本发明还包括组合物(例如,药物组合物),其包含新型苯并二氮杂䓬化合物、其衍生物或其轭合物(和/或其溶剂合物、水合物和/或盐)和载体(可药用载体),还包含第二治疗剂。本发明组合物可用于抑制哺乳动物(例如,人)中的异常细胞生长或治疗增殖性病症。本发明组合物也可用于治疗哺乳动物(例如,人)中的抑郁、焦虑、应激、恐怖症、惊恐、烦躁不安、精神疾病、痛苦和炎性疾病。

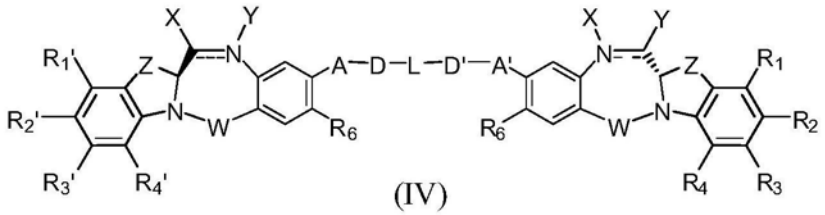
[0048] 本发明还包括抑制哺乳动物(例如,人)中的异常细胞生长或治疗增殖性病症的方法,所述方法包括向所述哺乳动物单独地或与第二治疗剂组合地施用治疗有效量的新型苯并二氮杂䓬化合物、其衍生物或其轭合物(和/或其溶剂合物和盐)或其组合物。

[0049] 本发明还包括合并新型苯并二氮杂䓬化合物、其衍生物及其轭合物以及使用它们用于体外、原位和体内诊断或治疗哺乳动物细胞、器官或相关的病理状态的方法。

[0050] 本发明的化合物、其衍生物或其轭合物以及包含它们的组合物可用于治疗或减轻例如特征在于细胞异常生长(例如,癌症)的疾病的严重程度。本发明的化合物和轭合物的其它应用包括但不限于治疗骨质疏松症、抑郁、焦虑、应激、恐怖症、惊恐、烦躁不安、精神疾病和痛苦或作为抗癫痫药、抗菌剂、利尿药和降血压药、降血脂药及抗抑郁药。

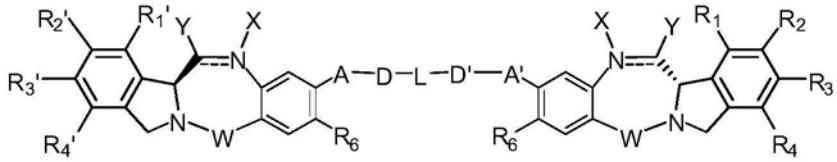
[0051] 本发明还涉及以下项目:

[0052] 1.选自式(IV)、(V)或(VI)的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构

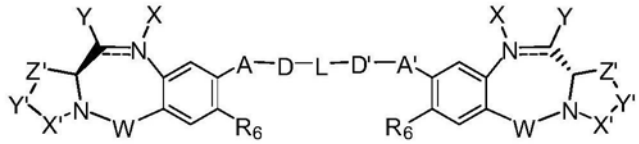


(IV)

[0053]



(V)



(VI)

[0054] 其中:

[0055] N与C之间的双线═表示单键或双键,条件是当其为双键时,X不存在且Y为H,并且当其为单键时,X是H或将该化合物转化成前药的氨基保护部分;

[0056] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基

甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基,其中R、R'和R"相同或不同并且选自H;取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n,其中n为1至2000的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有6至18个碳原子的芳基;具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$,其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H;具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$,其中n为1至2000的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有6至18个碳原子的芳基;3-至10-元杂环;具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13},其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有6至18个碳原子的芳基;具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,任选地R_{11}为OR_{14},其中R_{14}具有与R相同的定义,任选地R"为OH;

[0057] W是C=O、C=S、CH_2、BH、SO或SO_2;

[0058] R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'和R_4'各自独立地选自H;取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n,其中n为1至2000的整数;或者选自以下的取代基:卤素、胍盐[-NH(C=NH)NH_2]、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$,其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}如上文定义,任选地,R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'或R_4'中的任何一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元,

[0059] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S,其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H;具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基;聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$,其中n为1至2000的整数;

[0060] R_6是OR、SR或NRR',其中R和R'具有与上文给出的相同的定义,任选地R_6是连接基团;

[0061] X'选自CH_2、NR、CO、BH、SO或SO_2,其中R具有与上文给出的相同的定义;

[0062] Y'是O、CH_2、NR或S,其中R具有与上文给出的相同的定义;

[0063] Z'是CH_2或$(CH_2)_n$,其中n为2、3或4,条件是X'、Y'和Z'不同时都为CH_2;

[0064] A和A'相同或不同并且选自O、-CRR'O、S、-CRR'S、-NR_{15}或CRR'NHR_{15},其中R和R'具有与上文给出的相同的定义,并且其中R_{15}具有与R相同的定义;

[0065] D和D'相同或不同并且独立地选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、

烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义如上文定义；或聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；

[0066] L是任选取代的任选的苯基或具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，或选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}如上文定义；选自聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)n$，其中n为1至2000的整数；任选地，L自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0067] 2.项目1的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，其中：

[0068] N与C之间的双线==表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的胺保护基；

[0069] Y选自-OR、NR'R"、亚硫酸根$-SO_3$或亚硫酸氢根$-OSO_3$，其中R选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；具有6至10个碳原子的芳基；具有3至10个碳原子的杂环；

[0070] W是C＝O、CH_2或SO_2；

[0071] R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'和R_4'各自独立地选自H、NO_2或经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

[0072] R_6为OR_{18}，其中R_{18}具有与R相同的定义；

[0073] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S，其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；

[0074] X'选自CH_2或C＝O；

[0075] Y'是O、NR或S，其中R如上文定义；

[0076] Z'是CH_2或$(CH_2)_2$；

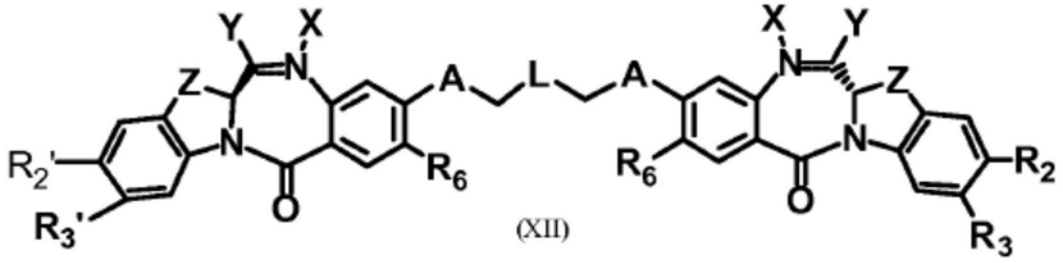
[0077] A和A'各自为O；

[0078] D和D'相同或不同并且独立地选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

[0079] L是任选取代的任选的苯基或具有3至10个碳原子的杂环，其中所述取代基是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，或选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)n$，其中n为1至2000的整数；任选地，L自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

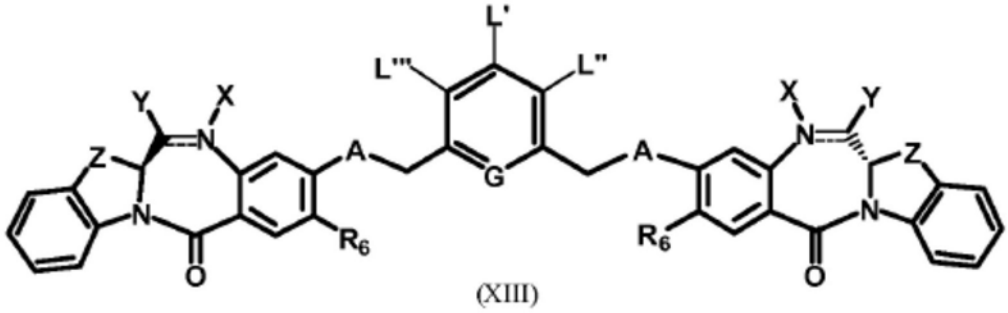
[0080] 3.项目1的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这

些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，其选自式(XII)和(XIII)：



(XII)

[0081]



(XIII)

[0082] 其中N与C之间的双线==表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的胺保护基；Y选自OH、由-OR表示的醚、NR'R"、亚硫酸根$-SO_3$或亚硫酸氢根$-OSO_3$，其中R、R'和R"选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

[0083] R_2、R_3、R_2'和R_3'中的一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，且其它是H或NO_2；

[0084] R_6为OR，其中R具有与上文相同的定义；

[0085] Z为CH_2或NR，其中R具有与上文相同的定义；

[0086] A为O或NR_{15}；

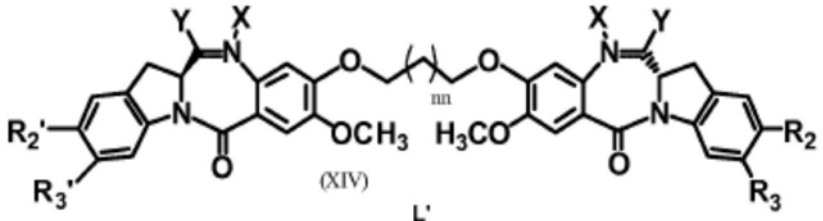
[0087] L为$(CH_2)_{nn}$，其中nn为0或1至5的整数，或取代的或未取代的具有2至4个碳原子的烷基或烯基，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}、R_{12}和R_{15}具有与上文给出的相同的定义，任选地，L自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

[0088] L'、L"或L"'中的一个是能与细胞结合剂连接的连接基团，而其它是H；优选地L'是连接基团；以及

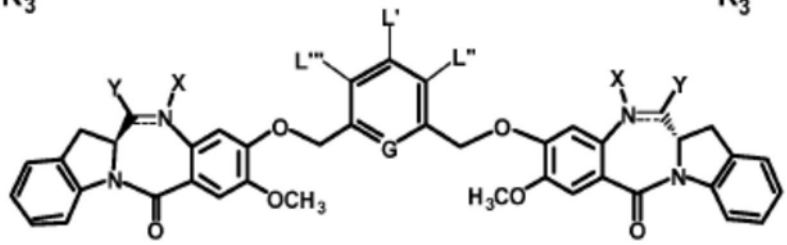
[0089] G是CH或N。

[0090] 4.项目1的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，其选自式(XIV)和(XV)：

[0091]



(XIV)



(XV)

[0092] 其中N与C之间的双线==表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的胺保护基；Y选自OH、由-OR表示的醚、亚硫酸根-SO_3或亚硫酸氢根-OSO_3，其中R选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

[0093] nn为0或1至5的整数；

[0094] R_2、R_3、R_2'和R_3'中的一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，且其它是H或NO_2；

[0095] L'、L"或L"'中的一个是能与细胞结合剂连接的连接基团，条件是当L'、L"或L"'中的一个是连接基团时，其它的是H；以及

[0096] G是CH或N。

[0097] 5.项目1-4中任一项的化合物，其中R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'、R_4'、L'、L"、L"'中的一个是独立地选自以下的连接基团：

[0098] $-O(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0099] $-O(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_{m'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0100] $-O(CR_{20}R_{21})_m$(炔基)$_{n'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0101] $-O(CR_{20}R_{21})_m$(哌嗪并)$_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0102] $-O(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0103] $-O(CR_{20}R_{21})_mA"_{m"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0104] $-S(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0105] $-S(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_{m'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0106] $-S(CR_{20}R_{21})_m$(炔基)$_{n'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0107] $-S(CR_{20}R_{21})_m$(哌嗪并)$_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0108] $-S(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0109] $-S(CR_{20}R_{21})_mA"_{m"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_t$ X"、

[0110] $-NR_{33}(C=O)_{p"}(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0111] $-NR_{33}(C=O)_{p"}(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_{m'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q$

[0112] $(CO)_tX"$、

[0113] $-NR_{33}(C=O)_{p"}(CR_{20}R_{21})_m$(炔基)$_{n'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0114] $-NR_{33}(C=O)_{p''}(CR_{20}R_{21})_m$(哌嗪并)$_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q$

[0115] $(CO)_tX''$、

[0116] $-NR_{33}(C=O)_{p''}(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0117] $-NR_{33}(C=O)_{p''}(CR_{20}R_{21})_mA''_{m''}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0118] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0119] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_{m'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0120] $-(CR_{20}R_{21})_m$(炔基)$_{n'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0121] $-(CR_{20}R_{21})_m$(哌嗪并)$_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0122] $-(CR_{20}R_{21})_mA''_{m''}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0123] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N\text{-}NR_{30})_{n''}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0124] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N\text{-}NR_{30})_{n''}(CR_{26}=CR_{27})_{m'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0125] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N\text{-}NR_{30})_{n''}$(炔基)$_{n'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0126] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N\text{-}NR_{30})_{n''}A''_{m''}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0127] 其中：

[0128] m、n、p、q、m'、n'、t'是1至10的整数，或任选地是0；

[0129] t、m''、n''和p''是0或1；

[0130] X''选自OR_{36}、SR37、$NR_{38}R_{39}$，其中R_{36}、R_{37}、R_{38}、R_{39}是H；或具有1至20个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；或聚乙二醇单元$-(OCH_2CH_2)_n$，R_{37}任选地为巯基保护基，或

[0131] 当t＝1时，COX''形成选自以下的反应性酯：N-羟基琥珀酰亚胺酯、N-羟基酞酰亚胺酯、N-羟基磺基-琥珀酰亚胺酯、对-硝基苯基酯、二硝基苯基酯、五氟苯基酯及其衍生物，其中所述衍生物促进酰胺键形成；

[0132] Y''不存在或选自O、S、S-S或NR_{32}，其中R_{32}具有与上文对于R给出的相同的定义，条件是

[0133] 当Y''不是S-S且t＝0时，X''选自马来酰亚胺基团、卤代乙酰基或SR_{37}，其中R_{37}具有与上文相同的定义；

[0134] A''是选自甘氨酸、丙氨酸、亮氨酸、缬氨酸、缬氨酸、瓜氨酸和谷氨酸盐的氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽；

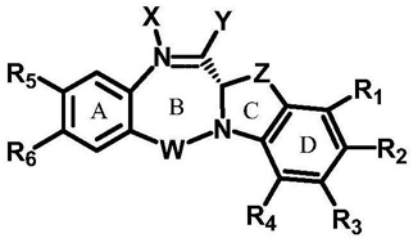
[0135] R_{20}、R_{21}、R_{22}、R_{23}、R_{24}、R_{25}、R_{26}和R_{27}相同或不同，并且是H或具有1至5个碳原子的直链或支链烷基；

[0136] R_{29}和R_{30}相同或不同，并且是H或具有1至5个碳原子的烷基；

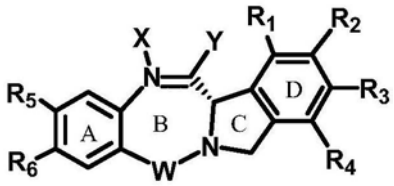
[0137] R_{33}为H或具有1至12个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基、或聚乙二醇单元$-(OCH_2CH_2)_n$，或R_{33}为$-COR_{34}$、$-CSR_{34}$、$-SOR_{34}$或$-SO_2R_{34}$，其中R_{34}为H或具有1至20个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，或聚乙二醇单元$-(OCH_2CH_2)_n$；以及

[0138] R_{40}和R_{41}中的一个任选地为荷负电或正电的功能团，另一个为H或具有1至4个碳原子的烷基、烯基、炔基。

[0139] 6.选自式(I)或(II)的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体：

[0140] 

(I)



(II)

[0141] 其中：

[0142] N与C之间的双线═表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X为H或将该化合物转化成可在体外或体内转变为游离胺的前药的氨基保护部分；

[0143] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R"相同或不同并且选自H；取代的或未取代的具有1至20个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；含有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；具有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13}，其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{11}也可以为OR_{14}，其中R_{14}为H或具有与R相同的定义，任选地，R"为OH；

[0144] W是C═O、C═S、CH_2、BH(B═硼)、SO或SO_2；

[0145] R_1、R_2、R_3、R_4各自独立地选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数，或者选自以下的取代基：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、胍盐[-NH(C═NH)NH_2]、-COR_{11}、-$OCOR_{11}$或-$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}具有与上文给出的相同的定

义，任选地，R_1、R_2、R_3、R_4中的任何一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元；

[0146] R_5选自OR_{15}、CRR'OH、SH、CRR'SH、NHR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R_{15}具有与R相同的定义，R和R'具有与上文给出的相同的定义；任选地，R_5是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元；

[0147] R_6是OR、SR、NRR'，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，或任选地R_6是连接基团；

[0148] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S，其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；

[0149] 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0150] 7.项目6的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，其中：

[0151] N与C之间的双线==表示双键并且X不存在且Y为H，

[0152] 或N与C之间的双线==表示单键，其中X为H且Y选自-OR、亚硫酸根$-SO_3$或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0153] W是C=O、CH_2或SO_2；

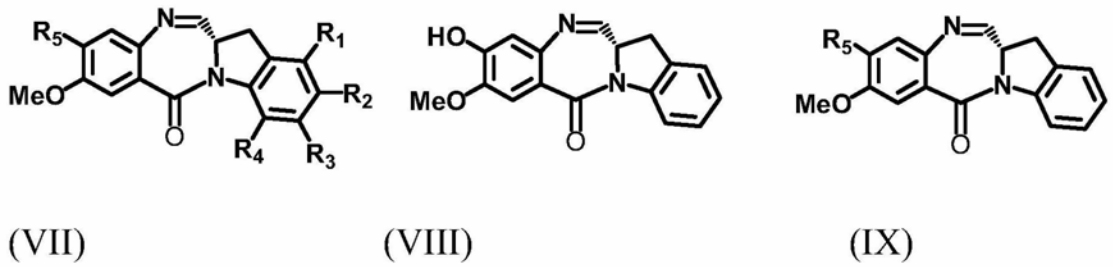
[0154] R_1、R_2、R_3、R_4各自为H；任选地，R_1、R_2、R_3和R_4中的任何一个可以独立地是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

[0155] R_5选自OR_{15}、CRR'OH、SH、CRR'SH、NHR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R_{15}为H或具有上文对于R给出的相同的定义，或选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元，R和R'具有与上文给出的相同的定义；

[0156] R_6为OCH_3；

[0157] Z选自其中n为1或2的$(CH_2)_n$、NH、NCH_3或S。

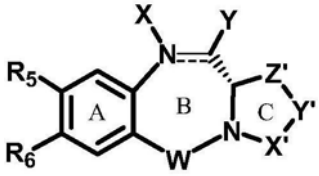
[0158] 8.项目6的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，其选自式(VII)、(VIII)和(IX)：

[0159] 

(VII) (VIII) (IX)

[0160] 其中所述取代基如上文所述。

[0161] 9.式(III)的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构；

[0162] 

(III)

[0163] 其中：

[0164] N与C之间的双线==表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0165] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R"相同或不同并且选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的包含5-或6-元环的杂芳基，包括5-18个原子的稠环系统(至少一个环是芳族的)、具有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的包含5-或6-元环的杂芳基，包括5-18个原子的稠环系统(至少一个环是芳族的)；具有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13}，其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的包含5-或6-元环的杂芳基，包括5-18个原子的稠环系统(至少一个环是芳族的)；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{11}也可以为OR_{14}，其中R_{14}为H或具有与R相同的定义，任选地R"为OH；

[0166] W是C＝O、C＝S、CH_2、BH、SO或SO_2；

[0167] R_5选自OR_{15}、CRR'OH、SH、CRR'SH、NHR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R_{15}为H或具有与R相同的定义，或是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元；选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多-吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元，

任选地，R_5是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

[0168] R_6是OR、SR或NRR'，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，任选地R_6是连接基团；

[0169] X'是CH_2、NR、CO、BH、SO或SO_2；

[0170] Y'是O、CH_2、NR或S；

[0171] Z'是CH_2或$(CH_2)_n$，其中n为2、3或4；

[0172] 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0173] 10.项目9的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，其中N与C之间的双线==表示双键并且X不存在且Y＝H，或N与C之间的双线==表示单键，其中X为H且Y选自-OR、亚硫酸根-SO_3或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0174] W是C＝O、CH_2，或SO_2；

[0175] R_5选自OR_{15}、CRR'OH、SH、CRR'SH、NHR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R_{15}为H或具有上文对于R给出的相同的定义，或选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多-吡咯并吲哚基或多咪唑并吲哚基单元；

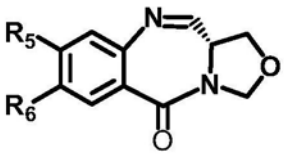
[0176] R_6为OCH_3；

[0177] X'选自CH_2或C＝O；

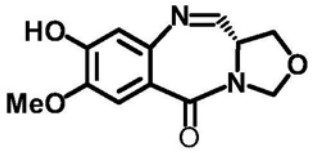
[0178] Y'是O、CH_2、NR或S；

[0179] Z'为$(CH_2)_n$，其中n为1或2，条件是X'、Y'和Z'不同时都为CH_2。

[0180] 11.项目9的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，其选自式(X)和(XI)：

[0181] 

(X)



(XI)

[0182] 其中所述取代基如上文所述。

[0183] 12.项目6-11中任一项的化合物，其中R_5选自：

[0184] -OH、

[0185] $-O(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0186] $-O(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_{m'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0187] $-O(CR_{20}R_{21})_m$(炔基)$_{n'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0188] $-O(CR_{20}R_{21})_m$(吲哚并)$_{p'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$

[0189] $-O(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_{q'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0190] $-O(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_{q'}$(咪唑并)$_{q''}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0191] $-O(CR_{20}R_{21})_m$(咪唑并)$_{q''}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0192] $-O(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_{q'}$(吲哚并)$_{q''}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q$

$(CO)_tX"$、

[0193] $-O(CR_{20}R_{21})_m$(吲哚并)$_q$,(咪唑并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0194] $-O(CR_{20}R_{21})_m$(哌嗪并)$_t$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0195] $-O(CR_{20}R_{21})_mA"_{m"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0196] -SH、

[0197] $-S(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0198] $-S(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_m$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0199] $-S(CR_{20}R_{21})_m$(炔基)$_n$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0200] $-S(CR_{20}R_{21})_m$(吲哚并)$_p$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0201] $-S(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_q$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0202] $-S(CR_{20}R_{21})_m$(咪唑并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0203] $-S(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_q$,(咪唑并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0204] $-S(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_q$,(吲哚并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0205] $-S(CR_{20}R_{21})_m$(吲哚并)$_q$,(咪唑并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0206] $-S(CR_{20}R_{21})_m$(哌嗪并)$_t$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0207] $-S(CR_{20}R_{21})_mA"_{m"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_t\ X"$、

[0208] $-NH_2$、

[0209] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_t\ X"$、

[0210] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_m$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(C\ R_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0211] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m$(炔基)$_n$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0212] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m$(吲哚并)$_p$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0213] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_q$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0214] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m$(咪唑)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0215] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_q$,(咪唑并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0216] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_q$,(吲哚并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0217] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m$(吲哚并)$_q$,(咪唑并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0218] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m$(哌嗪并)$_t$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0219] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_mA"_{m"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0220] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0221] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_m$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0222] $-(CR_{20}R_{21})_m$(炔基)$_n$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0223] -$(CR_{20}R_{21})_m$(吲哚并)$_{p'}$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0224] -$(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_{q'}$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0225] -$(CR_{20}R_{21})_m$(哌嗪并)$_{t'}$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0226] -$(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_{q'}$,(吲哚并)$_{q''}$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''$-$(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、$(CR_{20}R_{21})_m$(咪唑并)$_{q''}$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''$-$(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、$(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_{q'}$,(咪唑并)$_{q''}$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''$-$(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0227] $(CR_{20}R_{21})_m$(咪唑并)$_{q'}$,(吲哚并)$_{q''}$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''$-$(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0228] -$(CR_{20}R_{21})_mA''_{m''}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0229] -$(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N\text{-}NR_{30})_{n''}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0230] -$(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N\text{-}NR_{30})_{n''}(CR_{26}=CR_{27})_{m'}$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0231] -$(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N\text{-}NR_{30})_{n''}$(炔基)$_{n'}$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0232] -$(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N\text{-}NR_{30})_{n''}A''_{m''}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p''}Y''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$、

[0233] 其中：

[0234] m、n、p、q、m'、n'、p'、q'、q''是1至10的整数，或可以是0；

[0235] t、m''、n''和p''是0或1；

[0236] X''选自OR_{36}、SR37、$NR_{38}R_{39}$，其中R_{36}、R_{37}、R_{38}、R_{39}是H；或具有1至20个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；或聚乙二醇单元-$(OCH_2CH_2)_n$，R_{37}任选地为巯基保护基，或

[0237] 当t＝1时，COX''形成选自以下的反应性酯：N-羟基琥珀酰亚胺酯、N-羟基酞酰亚胺酯、N-羟基磺基-琥珀酰亚胺酯、对-硝基苯基酯、二硝基苯基酯、五氟苯基酯及其衍生物，其中所述衍生物促进酰胺键形成；

[0238] Y''不存在或选自O、S、S-S或NR_{32}，其中R_{32}具有与上文对于R给出的相同的定义，或

[0239] 当Y''不是S-S且t＝0时，X''选自马来酰亚胺基团、卤代乙酰基或SR_{37}，其中R_{37}具有与上文相同的定义；

[0240] A''是选自甘氨酸、丙氨酸、亮氨酸、缬氨酸、缬氨酸、瓜氨酸和谷氨酸盐的氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽；

[0241] R_{20}、R_{21}、R_{22}、R_{23}、R_{24}、R_{25}、R_{26}和R_{27}相同或不同，并且是H或具有1至5个碳原子的直链或支链烷基；

[0242] R_{28}为H或烷基；

[0243] R_{29}和R_{30}相同或不同，并且是H或具有1至5个碳原子的烷基；

[0244] 任选地，R_{40}和R_{41}中的一个为荷负电或正电的功能团，另一个为H或具有1至4个碳原子的烷基、烯基、炔基。

[0245] 13.选自实施例1～10和表7～9中的标题化合物的化合物。

[0246] 14.药物组合物，其包含项目1-13中任一项的化合物以及可药用载体。

[0247] 15.项目14的药物组合物，其还包含为化学治疗剂的第二化合物。

[0248] 16.一种在哺乳动物中抑制异常细胞生长或治疗增殖性病症、自身免疫性病症、破

坏性骨病症、传染性疾病、病毒疾病、纤维化疾病、神经退行性病症、胰腺炎或肾脏疾病的方法，所述方法包括向所述哺乳动物施用治疗有效量的项目1-13中任一项的化合物，以及任选的为化学治疗剂的第二化合物。

[0249] 17.项目16的方法，其中相继或连续地向所述哺乳动物施用所述化学治疗剂。

[0250] 18.轭合物，其包含与细胞结合剂连接的项目1-13中任一项的化合物。

[0251] 19.项目18的轭合物，其中所述细胞结合剂与选自以下的靶细胞结合：肿瘤细胞、受病毒感染的细胞、受微生物感染的细胞、受寄生虫感染的细胞、自身免疫细胞、活化细胞、髓样细胞、活化T细胞、B细胞、或黑素细胞；表达CD4、CD6、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、EpCAM、CanAg、CALLA或Her-2抗原、Her-3抗原的细胞或表达胰岛素生长因子受体、表皮生长因子受体和叶酸盐受体的细胞。

[0252] 20.项目18的轭合物，其中所述细胞结合剂是抗体、单链抗体、与靶细胞特异性结合的抗体片段、单克隆抗体、单链单克隆抗体或与靶细胞特异性结合的单克隆抗体片段、嵌合抗体、与靶细胞特异性结合的嵌合抗体片段、域抗体、与靶细胞特异性结合的域抗体片段、淋巴因子、激素、维生素、生长因子、集落刺激因子或营养素转运分子。

[0253] 21.项目20的轭合物，其中所述抗体是表面重塑抗体、表面重塑单链抗体或表面重塑抗体片段。

[0254] 22.项目20的轭合物，其中所述抗体是单克隆抗体、单链单克隆抗体或其单克隆抗体片段。

[0255] 23.项目20的轭合物，其中所述抗体是人化抗体、人化单链抗体或人化抗体片段。

[0256] 24.项目20的轭合物，其中所述抗体是嵌合抗体、嵌合抗体片段、域抗体或域抗体片段。

[0257] 25.项目23的轭合物，其中所述抗体是MY9、抗-B4或C242。

[0258] 26.项目23的轭合物，其中所述抗体是人化或表面重塑MY9、人化或表面重塑抗-B4或人化或表面重塑C242。

[0259] 27.项目19的轭合物，其中所述肿瘤细胞选自乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、卵巢癌细胞、结肠直肠癌细胞、胃癌细胞、鳞癌细胞、小细胞肺癌细胞和睾丸癌细胞。

[0260] 28.药物组合物，其包含项目18的轭合物和可药用载体。

[0261] 29.项目28的药物组合物，其还包含为化学治疗剂的第二化合物。

[0262] 30.一种在哺乳动物中抑制异常细胞生长或治疗增殖性病症、自身免疫性病症、破坏性骨病症、传染性疾病、病毒疾病、纤维化疾病、神经退行性病症、胰腺炎或肾脏疾病的方法，所述方法包括向所述哺乳动物施用治疗有效量的项目18的轭合物和任选的化学治疗剂。

[0263] 31.项目30的方法，其中相继或连续地向所述哺乳动物施用所述第二化学治疗剂。

[0264] 32.项目30的方法，其中所述增殖性病症是肿瘤。

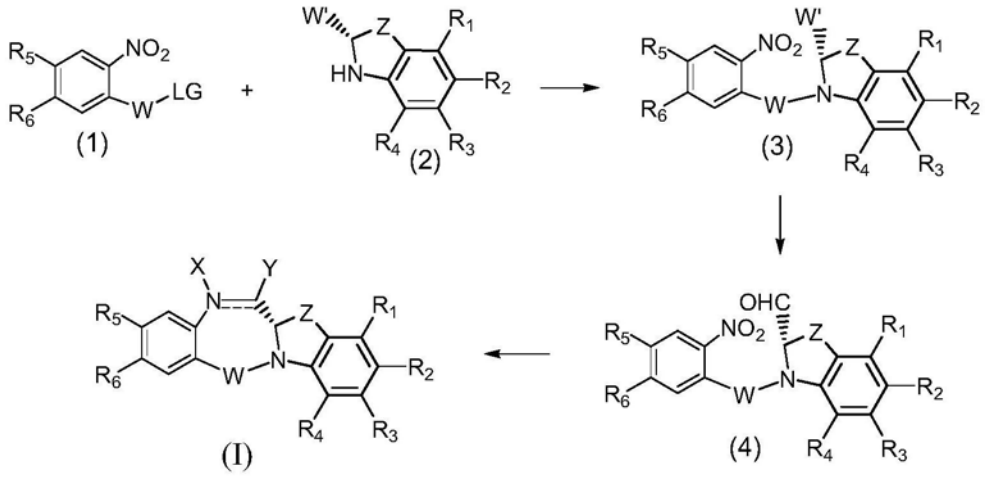
[0265] 33.项目32的方法，其中肿瘤细胞选自乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、卵巢癌细胞、结肠直肠癌细胞、胃癌细胞、鳞癌细胞、小细胞肺癌细胞和睾丸癌细胞。

[0266] 34.一种用于制备式(I)化合物的方法，所述方法包括以下步骤：

[0267] a)将式(1)化合物与式(2)化合物偶联，得到式(3)化合物；

[0268] b)将式(3)化合物转化为式(4)的醛；以及

[0269] c)将式(4)化合物转化为式(I)化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体，

[0270] 

[0271] 其中：

[0272] N与C之间的双线==表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X为H或将该化合物转化成可在体外或体内转变为游离胺的前药的氨基保护部分；

[0273] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R"相同或不同并且选自H；取代的或未取代的具有1至20个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；含有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；具有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13}，其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{11}也可以为OR_{14}，其中R_{14}为H或具有与R相同的定义，任选地，R"为OH；

[0274] W是C=O、C=S、CH_2、BH(B=硼)、SO或SO_2；

[0275] R_1、R_2、R_3、R_4各自独立地选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支

链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数，或者选自以下的取代基：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、胍盐[$-NH(C=NH)NH_2$]、$-COR_{11}$、$-OCOR_{11}$或$-OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}具有与上文给出的相同的定义，任选地，R_1、R_2、R_3、R_4中的任何一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元；

[0276] R_5选自OR_{15}、CRR'OH、SH、CRR'SH、NHR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R_{15}具有与R相同的定义，R和R'具有与上文给出的相同的定义；任选地，R_5是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元；

[0277] R_6是OR、SR、NRR'，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，或任选地R_6是连接基团；

[0278] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S，其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；

[0279] 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

[0280] LG是离去基团；

[0281] W'是COOR或CH_2OW''，其中R具有与上文相同的定义，以及

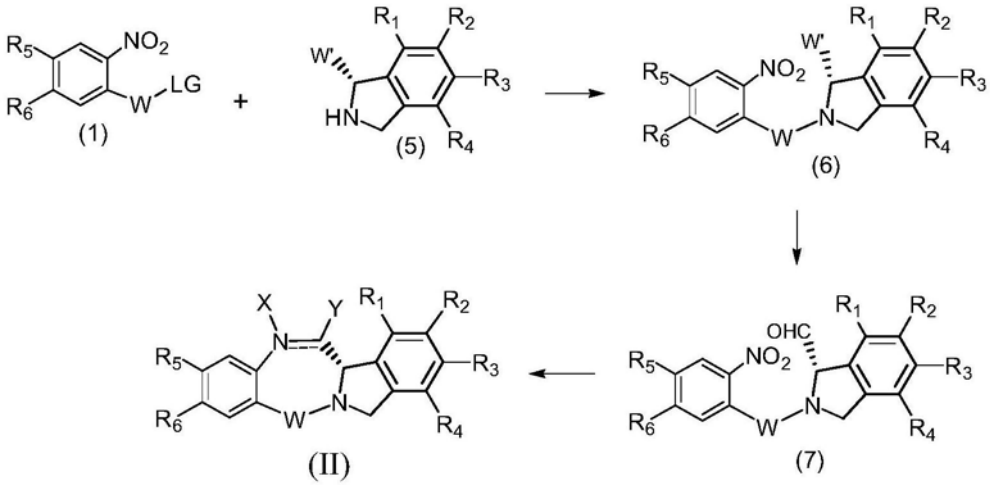
[0282] W''是保护基。

[0283] 35.一种用于制备式(II)化合物的方法，所述方法包括以下步骤：

[0284] a)将式(1)化合物与式(5)化合物偶联，得到式(6)化合物；

[0285] b)将式(6)化合物转化为式(7)的醛；以及

[0286] c)将式(7)化合物转化为式(II)化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体，

[0287] 

[0288] 其中：

[0289] N与C之间的双线==表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X为H或将该化合物转化成可在体外或体内转变为游离胺的前药的氨基保护

部分；

[0290] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R"相同或不同并且选自H；取代的或未取代的具有1至20个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；含有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；具有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13}，其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{11}也可以为OR_{14}，其中R_{14}为H或具有与R相同的定义，任选地，R"为OH；

[0291] W是C=O、C=S、CH_2、BH(B=硼)、SO或SO_2；

[0292] R_1、R_2、R_3、R_4各自独立地选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数，或者选自以下的取代基：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、胍盐[-NH(C=NH)NH_2]、-COR_{11}、-$OCOR_{11}$或-$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}具有与上文给出的相同的定义，任选地，R_1、R_2、R_3、R_4中的任何一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元；

[0293] R_5选自OR_{15}、CRR'OH、SH、CRR'SH、NHR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R_{15}具有与R相同的定义，R和R'具有与上文给出的相同的定义；任选地，R_5是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元；

[0294] R_6是OR、SR、NRR'，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，或任选地R_6是连接基团；

[0295] Z选自其中n为1、2或3的(CH$_2$)$_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S，其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至

2000的整数；

[0296] 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

[0297] LG是离去基团；

[0298] W'是COOR或CH_2OW''，其中R具有与上文相同的定义，以及

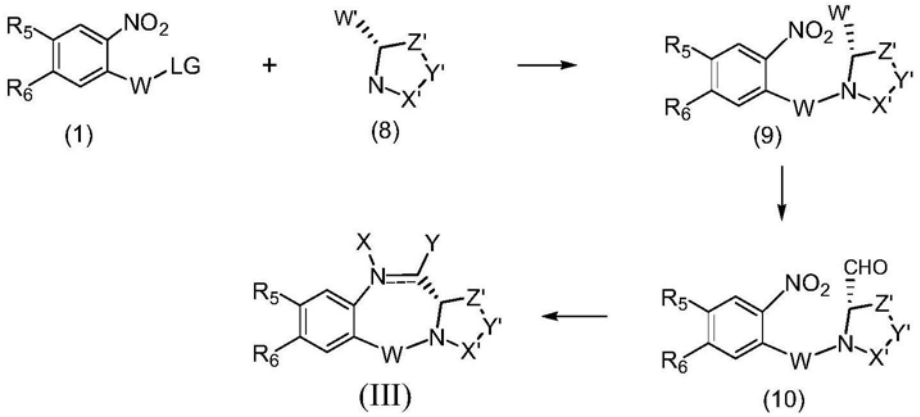
[0299] W''是保护基。

[0300] 36.一种用于制备式(III)化合物的方法，所述方法包括以下步骤：

[0301] a)将式(1)化合物与式(8)化合物偶联，得到式(9)化合物；

[0302] b)将式(9)化合物转化为式(10)的醛；以及

[0303] c)将式(10)化合物转化为式(II)化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，

[0304] 

[0305] 其中：

[0306] N与C之间的双线═表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0307] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R''表示的氨基甲酸酯、由NR'R''表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R''相同或不同并且选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的包含5-或6-元环的杂芳基，包括5-18个原子的稠环系统(至少一个环是芳族的)；具有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的包含5-或6-元环的杂芳基，包括5-18个原子的稠环系统(至少一个

环是芳族的)；具有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13}，其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的包含5-或6-元环的杂芳基，包括5-18个原子的稠环系统(至少一个环是芳族的)；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{11}也可以为OR_{14}，其中R_{14}为H或具有与R相同的定义，任选地R”为OH；

[0308] W是C＝O、C＝S、CH_2、BH、SO或SO_2；

[0309] R_5选自OR_{15}、CRR’OH、SH、CRR’SH、NHR_{15}或CRR’NHR_{15}，其中R_{15}为H或具有与R相同的定义，或是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元；选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多-吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元，任选地，R_5是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

[0310] R_6是OR、SR或NRR’，其中R和R’具有与上文给出的相同的定义，任选地R_6是连接基团；

[0311] X’是CH_2、NR、CO、BH、SO或SO_2；

[0312] Y’是O、CH_2、NR或S；

[0313] Z’是CH_2或$(CH_2)_n$，其中n为2、3或4；

[0314] 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

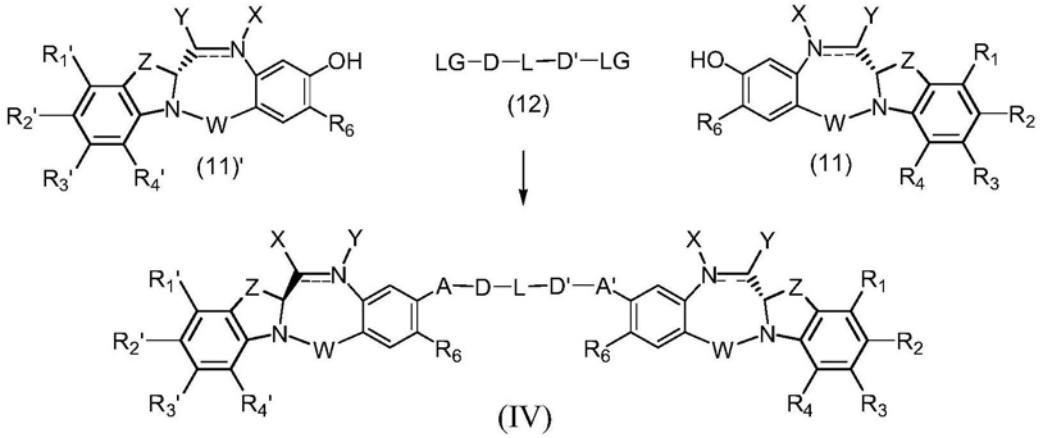
[0315] LG是离去基团；

[0316] W’是COOR或CH_2OW”，其中R具有与上文相同的定义，以及

[0317] W”是保护基。

[0318] 37.一种用于制备式(IV)化合物的方法，所述方法包括以下步骤：

[0319] 将式(11)化合物、式(11)’化合物和式(12)化合物偶联，得到式(IV)化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，

[0320] 

[0321] 其中：

[0322] N与C之间的双线═表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0323] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R"相同或不同并且选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；3-至10-元杂环；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13}，其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，任选地R_{11}为OR_{14}，其中R_{14}具有与R相同的定义，任选地R"为OH；

[0324] W是C═O、C═S、CH_2、BH、SO或SO_2；

[0325] R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'和R_4'各自独立地选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n，其中n为1至2000的整数，或者选自以下的取代基：卤素、胍盐[-NH(C═NH)NH_2]、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}具有与上文给出的相同的定义，任选地，R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'或R_4'中的任何一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元，

[0326] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_nCR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S，其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；

[0327] R_6是OR、SR或NRR'，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，任选地R_6是连接基团；

[0328] A和A'相同或不同并且选自O、-CRR'O、S、-CRR'S、-NR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，并且其中R_{15}具有与R相同的定义；

[0329] D和D'相同或不同并且独立地选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、

烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义如上文定义；或选自聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；

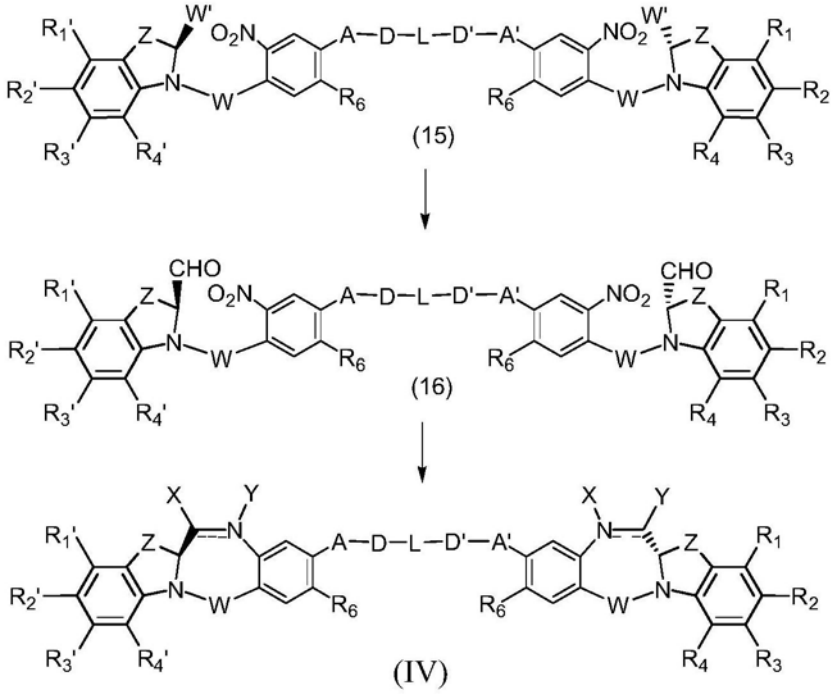
[0330] L是任选取代的任选的苯基或具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，或选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义具有与上文给出的相同的定义；或选自聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)n$，其中n为1至2000的整数；任选地，L自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；以及

[0331] LG是离去基团。

[0332] 38.一种用于制备式(IV)化合物的方法，所述方法包括以下步骤：

[0333] a)将式(15)化合物转化为式(16)的醛；以及

[0334] b)将式(16)化合物转化为式(IV)化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，

[0335] 

[0336] 其中：

[0337] N与C之间的双线==表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0338] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R"相同

或不同并且选自H;取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n,其中n为1至2000的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有6至18个碳原子的芳基;具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$,其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义各自独立地选自H;具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$,其中n为1至2000的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有6至18个碳原子的芳基;3-至10-元杂环;具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13},其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有6至18个碳原子的芳基;具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,任选地R_{11}为OR_{14},其中R_{14}具有与R相同的定义,任选地R"为OH;

[0339] W是C=O、C=S、CH_2、BH、SO或SO_2;

[0340] R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'和R_4'各自独立地选自H;取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n,其中n为1至2000的整数,或者选自以下的取代基:卤素、胍盐[-NH(C=NH)NH_2]、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$,其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}具有与上文给出的相同的定义,任选地,R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'或R_4'中的任何一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元,

[0341] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S,其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H;具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基;聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$,其中n为1至2000的整数;

[0342] R_6是OR、SR或NRR',其中R和R'具有与上文给出的相同的定义,任选地R_6是连接基团;

[0343] A和A'相同或不同并且选自O、-CRR'O、S、-CRR'S、-NR_{15}或CRR'NHR_{15},其中R和R'具有与上文给出的相同的定义,并且其中R_{15}具有与R相同的定义;

[0344] D和D'相同或不同并且独立地选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基,其任选地被以下的任何一个取代:卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$,其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义如上文定义;或选自聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$,其中n为1至2000的整数;

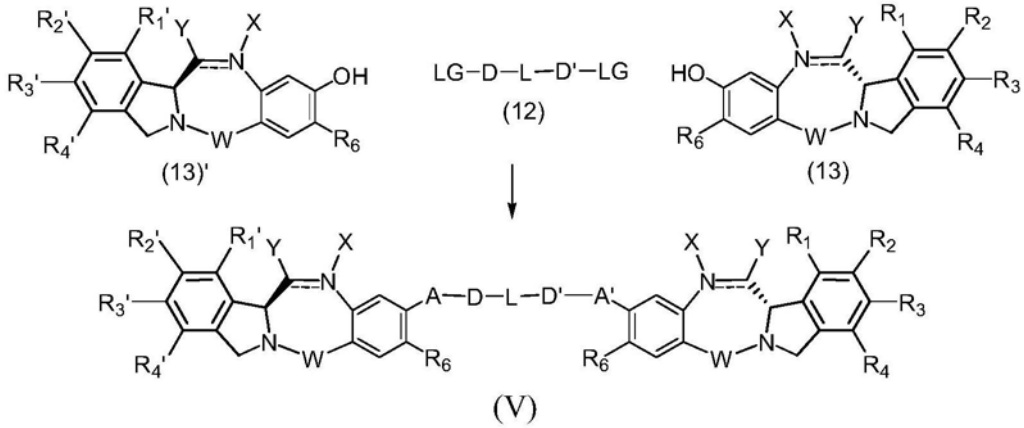
[0345] L是任选取代的任选的苯基或具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,其中所述取代基是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团,或选自具有1至10个碳

原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义具有与上文给出的相同的定义；或选自聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)n$，其中n为1至2000的整数；任选地，L自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

[0346] W'是COOR或CH_2OW''，其中R具有与上文相同的定义，以及

[0347] W''是保护基。

[0348] 39.一种用于制备式(V)化合物的方法，所述方法包括以下步骤：将式(13)化合物、式(13)'化合物与式(12)化合物偶联，得到式(V)化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，

[0349] 

(V)

[0350] 其中：

[0351] N与C之间的双线═表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0352] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R''表示的氨基甲酸酯、由NR'R''表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R''相同或不同并且选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；3-至10-元杂环；具有1至6个选自O、S、

N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13}，其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，任选地R_{11}为OR_{14}，其中R_{14}具有与R相同的定义，任选地R"为OH；

[0353] W是C＝O、C＝S、CH_2、BH、SO或SO_2；

[0354] R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'和R_4'各自独立地选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n，其中n为1至2000的整数，或者选自以下的取代基：卤素、胍盐[-NH(C＝NH)NH_2]、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}具有与上文给出的相同的定义，任选地，R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'或R_4'中的任何一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元，

[0355] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S，其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；

[0356] R_6是OR、SR或NRR'，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，任选地R_6是连接基团；

[0357] A和A'相同或不同并且选自O、-CRR'O、S、-CRR'S、-NR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，并且其中R_{15}具有与R相同的定义；

[0358] D和D'相同或不同并且独立地选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义如上文定义；或选自聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；

[0359] L是任选取代的任选的苯基或具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，或选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}具有与上文给出的相同的定义，聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n，其中n为1至2000的整数；任选地，L自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；以及

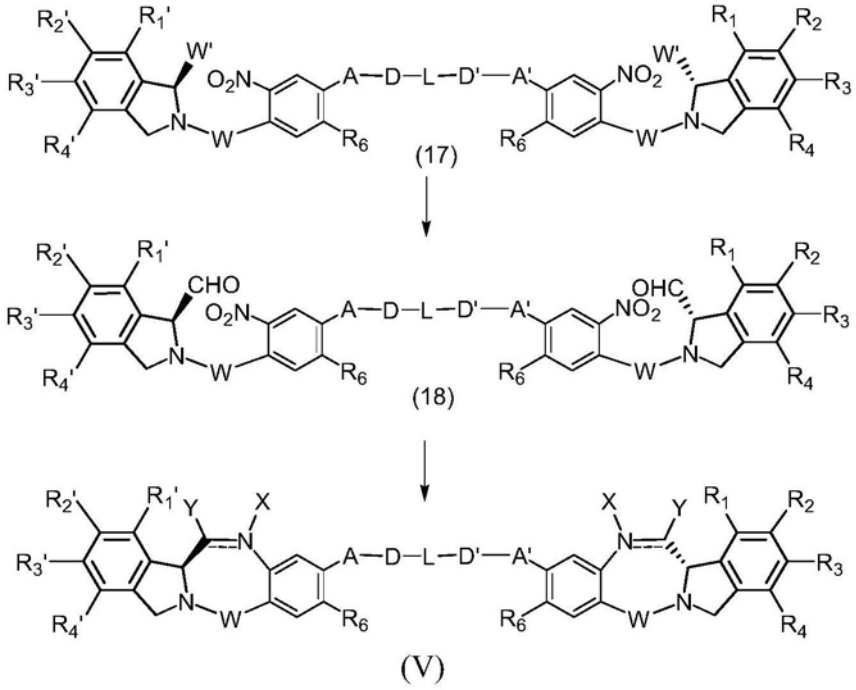
[0360] LG是离去基团。

[0361] 40.一种用于制备式(V)化合物的方法，所述方法包括以下步骤：

[0362] a)将式(17)化合物转化为式(18)的醛；以及

[0363] b)将式(18)化合物转化为式(V)化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，

[0364]



[0365] 其中N与C之间的双线==表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0366] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R"相同或不同并且选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；3-至10-元杂环；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13}，其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，任选地R_{11}为OR_{14}，其中R_{14}具有与R相同的定义，任选地R"为OH；

[0367] W是C=O、C=S、CH_2、BH、SO或SO_2；

[0368] R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'和R_4'各自独立地选自H；取代的或未取代的具有1至10个

碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n，其中n为1至2000的整数，或者选自以下的取代基：卤素、胍盐[-NH(C＝NH)NH_2]、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}具有与上文给出的相同的定义，任选地，R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'或R_4'中的任何一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元，

[0369] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S，其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；

[0370] R_6是OR、SR或NRR'，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，任选地R_6是连接基团；

[0371] A和A'相同或不同并且选自O、-CRR'O、S、-CRR'S、-NR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，并且其中R_{15}具有与R相同的定义；

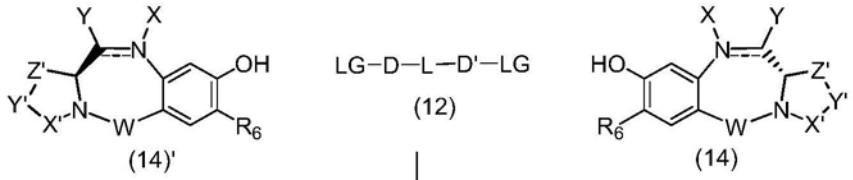
[0372] D和D'相同或不同并且独立地选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义如上文定义；或选自聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；

[0373] L是任选取代的任选的苯基或具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，或选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}具有与上文给出的相同的定义；或选自聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n，其中n为1至2000的整数；任选地，L自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

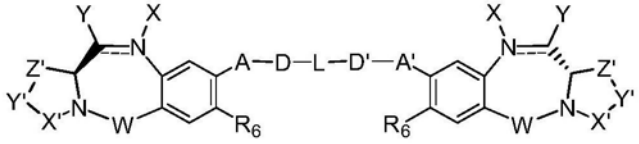
[0374] W'是COOR或CH_2OW"，其中R具有与上文相同的定义；以及

[0375] W"是保护基。

[0376] 41.一种用于制备式(VI)化合物的方法，所述方法包括以下步骤：将式(14)化合物、式(14)'化合物和式(12)化合物偶联，得到式(VI)化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，



[0377]



(VI)

[0378] 其中：

[0379] N与C之间的双线═表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0380] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R"相同或不同并且选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；3-至10-元杂环；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13}，其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，任选地R_{11}为OR_{14}，其中R_{14}具有与R相同的定义，任选地R"为OH；

[0381] W是C═O、C═S、CH_2、BH、SO或SO_2；

[0382] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S，其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；

[0383] R_6是OR、SR或NRR'，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，任选地R_6是连接基团；

[0384] X'选自CH_2、NR、CO、BH、SO或SO_2，其中R具有与上文给出的相同的定义；

[0385] Y'是O、CH_2、NR或S，其中R具有与上文给出的相同的定义；

[0386] Z'是CH_2或$(CH_2)_n$，其中n为2、3或4，条件是X'、Y'和Z'不同时都为CH_2；

[0387] A和A'相同或不同并且选自O、-CRR'O、S、-CRR'S、-NR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，并且其中R_{15}具有与R相同的定义；

[0388] D和D'相同或不同并且独立地选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义如上文定义；或选自聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；

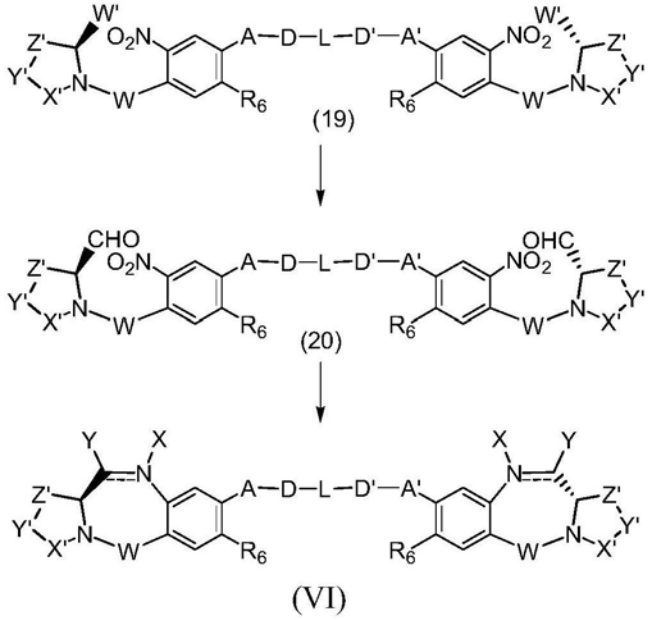
[0389] L是任选取代的任选的苯基或具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，或选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}具有与上文给出的相同的定义；或选自聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)n$，其中n为1至2000的整数；任选地，L自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；以及

[0390] LG是离去基团。

[0391] 42.一种用于制备式(VI)化合物，其包括以下步骤：

[0392] a)将式(19)化合物转化为式(20)的醛；以及

[0393] b)将式(20)化合物转化为式(VI)化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，

[0394] 

[0395] 其中

[0396] N与C之间的双线==表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且

当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0397] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R"相同或不同并且选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；3-至10-元杂环；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13}，其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，任选地R_{11}为OR_{14}，其中R_{14}具有与R相同的定义，任选地R"为OH；

[0398] W是C=O、C=S、CH_2、BH、SO或SO_2；

[0399] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S，其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；

[0400] R_6是OR、SR或NRR'，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，任选地R_6是连接基团；

[0401] X'选自CH_2、NR、CO、BH、SO或SO_2，其中R具有与上文给出的相同的定义；

[0402] Y'是O、CH_2、NR或S，其中R具有与上文给出的相同的定义；

[0403] Z'是CH_2或$(CH_2)_n$，其中n为2、3或4，条件是X'、Y'和Z'不同时都为CH_2；

[0404] A和A'相同或不同并且选自O、-CRR'O、S、-CRR'S、-NR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，并且其中R_{15}具有与R相同的定义；

[0405] D和D'相同或不同并且独立地选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义如上文定义；或选自聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；

[0406] L是任选取代的任选的苯基或具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，或选自具有1至10个碳

原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}具有与上文给出的相同的定义；或选自聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)n$，其中n为1至2000的整数；任选地，L自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

[0407] W'是COOR或$CH_2OW"$，其中R具有与上文相同的定义；以及

[0408] W"是保护基。

[0409] 附图简述

[0410] 图1-10示出了合成本发明的吲哚啉并苯并二氮杂䓬和噁唑烷并苯并二氮杂䓬单体、代表性连接体和二聚体的路线。

[0411] 图11示出了合成代表性B环修饰的吲哚啉并苯并二氮杂䓬单体的路线。

[0412] 图12示出了合成代表性异吲哚啉并苯并二氮杂䓬单体的路线。

[0413] 图13示出了合成具有直接连接在本发明的吲哚啉并苯并二氮杂䓬部分上的连接体代表性二聚体的路线。

[0414] 图14和15示出了合成在连接体上含有$(PEG)_n$部分的代表性二聚体的路线。

[0415] 图16示出了合成代表性混合的亚胺-胺和亚胺-酰胺吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体的路线。

[0416] 图17示出了合成代表性IBD-聚(N-甲基吡咯-咪唑)轭合物的路线。

[0417] 图18-19示出了制备单体的多吡咯并和多吡咯并-咪唑并衍生物的合成路线。

[0418] 图20示出了合成具有腙连接体的哌啶基苯并二氮杂䓬的路线。

[0419] 图21-26示出了muB38.1-IGN-03、huN901-IGN-03、huN901-IGN-07和muB38.1-IGN-10轭合物对抗原阳性和抗原阴性癌细胞系的剂量依赖性体外抗增殖活性。

[0420] 图27示出了huN901-IGN-07轭合物在具有Molp-8肿瘤的小鼠中的体内效力。

[0421] 图28-30示出了表明IGN-01、IGN-02和IGN-09结合且共价加成至在相反链上含有鸟嘌呤残基的双链DNA的数据。

[0422] 图31含有表1，其示出了吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体和噁唑烷并苯并二氮杂䓬二聚体对数种癌细胞系的体外抗增殖活性的IC_{50}值。

[0423] 图32含有表2，其示出了在具有和不具有连接体的情况下、吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体的体外抗增殖活性的IC_{50}值的比较。

[0424] 图33-36、39、42、43、44、48、49和50示出了制备本发明化合物的合成路线。

[0425] 图37、38、40和41、45、46和47示出了制备本发明的可连接化合物的合成路线。

[0426] 图51示出了本发明的化合物的体外细胞毒性。

[0427] 图52、54、56、57和58示出了chB38.1轭合物的体外细胞毒性和特异性。

[0428] 图53和55示出了huMy9-6轭合物的体外细胞毒性和特异性。

[0429] 图59示出了chB38.1轭合物的体内抗肿瘤活性。

[0430] 发明详述

[0431] 现在将为本发明的特定实施方案详细地制定参考，以所附的结构和化合式阐述其实施例。尽管将结合所列举的实施方案描述本发明，但是应理解，它们并不意味着将本发明限于那些实施方案。相反，本发明旨在涵盖所有的替代形式、变更形式和等同形式，这些替代形式、变更形式和等同形式可包括在权利要求所定义的本发明的范围内。本领域技术人员将认识到与本文所述类似或等同的许多方法和材料能够用于实施本发明。

[0432] 定义

[0433] 本文所用的“直链或支链烷基”是指1-20个碳原子的饱和直链或支链单价烃基。烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、1-丙基、2-丙基、1-丁基、2-甲基-1-丙基、--$CH_2CH(CH_3)_2$)、2-丁基、2-甲基-2-丙基、1-戊基、2-戊基、3-戊基、2-甲基-2-丁基、3-甲基-2-丁基、3-甲基-1-丁基、2-甲基-1-丁基、1-己基)、2-己基、3-己基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、3-甲基-3-戊基、2-甲基-3-戊基、2,3-二甲基-2-丁基、3,3-二甲基-2-丁基、1-庚基、1-辛基等。

[0434] “直链或支链烯基”是指具有至少一个不饱和点(即碳-碳双键)的2-20个碳原子的直链或支链单价烃基，其中所述烯基基团还包括具有“顺式”和“反式”取向或可选地，“E”和“Z”取向的基团。实例包括但不限于乙烯基或乙烯基(--$CH=CH_2$)、烯丙基(--$CH_2CH=CH_2$)等。

[0435] “直链或支链炔基”是指具有至少一个不饱和点(即碳-碳三键)的2-20个碳原子的直链或支链单价烃基。实例包括但不限于乙炔基、丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、1-戊炔基、2-戊炔基、3-戊炔基、己炔基等。

[0436] 术语“环烷基”、“环烯基”、“环炔基”、“碳环”、“碳环基”、“碳环”和“环烷基”是指具有3至12个碳原子作为单环或7至12个碳原子作为二环的单价非芳族的饱和或部分不饱和环。具有7至12个原子的二环碳环可以排列成例如二环[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系统，并且具有9或10个环原子的二环碳环可排列成二环[5,6]或[6,6]系统，或桥接系统例如二环[2.2.1]庚烷、二环[2.2.2]辛烷和二环[3.2.2]壬烷。单环碳环的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、1-环戊-1-烯基、1-环戊-2-烯基、1-环戊-3-烯基、环己基、1-环己-1-烯基、1-环己-2-烯基、1-环己-3-烯基、环己二烯基、环庚基、环辛基、环壬基、环癸基、环十一烷基、环十二烷基等。

[0437] “芳基”是指通过从母体芳族环系统的单个碳原子去除一个氢原子而衍生的6-18个碳原子的单价芳族烃基。一些芳基在示例性结构中表示为“Ar”。芳基还包括二环基团，其包含与饱和、部分不饱和环或芳族碳环或杂环稠合的芳族环。典型的芳基包括但不限于衍生自苯(苯基)、取代的苯、萘、蒽、茚基、茚满基、1,2-二氢萘、1,2,3,4-四氢萘基等的基团。

[0438] 术语“杂环”、“杂环基”和“杂环”在本文可互换地使用，并且是指3至18个环原子的饱和或部分未饱和(即，在环内具有一个或多个双键和/或三键)碳环基团，其中至少一个环原子是选自氮、氧、磷和硫的杂原子，剩余的环原子为C，其中一个或多个环原子任选地独立地被一个或多个下述的取代基取代。杂环可以是具有3至7个环成员(2至6个碳原子和1至4个选自N、O、P和S的杂原子)的单环或具有7至10个环成员(4至9个碳原子和 1至6个选自N、O、P和S的杂原子)的二环，例如：二环[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系统。杂环记载于

Paquette,Leo A.;“Principles of Modern Heterocyclic Chemistry”(W. A. Benjamin, NewYork,1968),特别是第1、3、4、6、7和9章;″The Chemistry of HeterocyclicCompounds, A series of Monographs″(John Wiley & Sons,New York,1950至今),特别是第13、14、16、19和28卷;和J. Am. Chem.Soc.(1960)82:5566。“杂环基”还包括这样的基团,其中杂环基团与饱和、部分不饱和环或芳族碳环或杂环稠合。杂环的实例包括但不限于吡咯烷基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、四氢噻吩基、四氢吡喃基、二氢吡喃基、四氢噻喃基、哌啶子基、吗啉代、硫代吗啉代、噻噁烷基、哌嗪基、高哌嗪基、氮杂环丁烷基、环氧丙烷基、硫杂环丁烷基、高哌啶基、氧杂环庚烷基、硫杂环庚烷基、氧杂䓬基、二氮杂䓬基、硫杂䓬基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、二氢吲哚基、2H-吡喃基、4H-吡喃基、二噁烷基、1,3-二氧戊环基、吡唑啉基、二噻烷基、二硫戊环基、二氢吡喃基、二氢噻吩基、二氢呋喃基、吡唑烷基咪唑啉基、咪唑烷基、3-氮杂二环[3.1.0]己烷基、3-氮杂二环[4.1.0]庚烷基和氮杂二环[2.2.2]己烷基。螺部分也包括在此定义内。其中环原子被氧代(=O)部分取代的杂环基的实例嘧啶酮基和1,1-二氧代-硫代吗啉基。

[0439] 术语“杂芳基”是指5-或6-元环的单价芳族基团,并且还包括5-18个原子的稠环系统(至少一个环是芳族的),其含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子。杂芳基的实例为吡啶基(包括,例如2-羟基吡啶基)、咪唑基、咪唑并吡啶基、嘧啶基(包括,例如4-羟基嘧啶基)、吡唑基、三唑基、吡嗪基、四唑基、呋喃基、噻吩基、异噁唑基、噻唑基、噁唑基、异噻唑基、吡咯基、喹啉基、异喹啉基、吲哚基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、噌啉基、吲唑基、吲嗪基、酞嗪基、哒嗪基、三嗪基、异吲哚基、喋啶基、嘌呤基、噁二唑基、三唑基、噻二唑基、呋咱基、苯并呋咱基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹唑啉基、喹噁啉基、萘啶基和呋喃并吡啶基。

[0440] 杂环或杂芳基可以是连接的碳(碳连接的)或氮(氮连接的),如果这样可能的话。举例来说但不限制,碳键合的杂环或杂环基在以下位置键合:吡啶的2、3、4、5或6位键合、哒嗪的3、4、5或6位、嘧啶的2、4、5或6位、吡嗪的2、3、5或6位、呋喃、四氢呋喃、硫代呋喃、噻吩、吡咯或四氢吡咯的2、3、4或5位、噁唑、咪唑或噻唑的2、4或5位、异噁唑、吡唑或异噻唑的3、4或5位、氮丙啶的2或3位、氮杂环丁烷的2、3或4位、喹啉的2、3、4、5、6、7或8位或异喹啉的1、3、4、5、6、7或8位。

[0441] 举例来说但不限制,氮键合的杂环或杂芳基在以下位置键合:氮丙啶、氮杂环丁烷、吡咯、吡咯烷、2-吡咯啉、3-吡咯啉、咪唑、咪唑烷、2-咪唑啉、3-咪唑啉、吡唑、吡唑啉、2-吡唑啉、3-吡唑啉、哌啶、哌嗪、吲哚、吲哚啉、1H-吲唑的1位、异吲哚或异吲哚啉的2位、吗啉的4位和咔唑或O-咔啉的9位。

[0442] 存在于杂芳基或杂环基的杂原子包括氧化形式,例如NO、SO和SO_2。

[0443] 术语“卤代素”或“卤素”是指F、Cl、Br或I。

[0444] 本文所用的术语“化合物素”或“细胞毒性化合物”或“细胞毒性剂素”旨在包括已在本发明中公开的结构或式或其任何衍生物或已通过引用并入的结构或式或其任何衍生物的化合物。术语还包括本发明中公开的所有式的立体异构体、几何异构体、互变异构体、溶剂合物、代谢产物、盐(例如可药用盐)和前药,以及前药盐。术语还包括任何前述化合物的任何溶剂合物、水合物和多晶型物。本申请中描述的本发明某些方面的“立体异构体”、“几何异构体”、“互变异构体”、“溶剂合物”、“代谢产物”、“盐”、″前药″、“前药盐”、“轭合

物”、“轭合物盐”、“溶剂合物”、“水合物”或“多晶型物”的特定详述不应被解释为:在使用术语“化合物”而不详述这些其它形式时,在本发明某些方面中有意忽略这些形式。

[0445] 本文所用的术语“轭合物”是指与细胞结合剂连接的化合物或其衍生物,且由以下通式定义:C-L-CBA,其中C=化合物、L=连接体和CBA=细胞结合剂。

[0446] 本文所用的术语“可与细胞结合剂连接”是指新型苯并二氮杂䓬化合物(例如,吲哚啉并苯并二氮杂䓬或噁唑烷并苯并二氮杂䓬)、其衍生物或其二聚体,其包含至少一个适于键合细胞结合剂至这些化合物、其衍生物或其二聚体的连接基团或其前体。

[0447] 给定基团的术语“前体”是指可通过任何保护、化学修饰和偶联反应产生该基团的任何基团。

[0448] 术语“与细胞结合剂连接”是指轭合物分子,其包含至少一种通过适合的连接基团或其前体与细胞结合剂结合的新型苯并二氮杂䓬化合物(例如,吲哚啉并苯并二氮杂䓬或噁唑烷并苯并二氮杂䓬)、其衍生物或其二聚体。

[0449] 术语“手性”是指具有镜像伴侣的非重迭性的分子,而术语″非手性″是指可在其镜像伴侣上重迭的分子。

[0450] 术语“立体异构体”是指具有相同的化学组成和连结性但其原子在空间中的不同定位不能通过在单键周围旋转而互相转化的化合物。

[0451] “非对映体”是指具有两个或多个手性中心和其分子不是彼此的镜像的立体异构体。非对映体具有不同物理性质,例如熔点、沸点、光谱性质和反应性。非对映体的混合物可在高分辨率分析规程(例如结晶、电泳和色谱法)下分离。

[0452] “对映体”是指彼此为非重迭镜像的化合物的两个对映异构体。

[0453] 本文所用的立体化学定义和惯例通常遵循S. P. Parker编辑,McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms(1984)McGraw-Hill Book Company,New York;以及Eliel,E.和Wilen,S.,″Stereochemistry of Organic Compounds″,John Wiley & Sons,Inc.,New York,1994。本发明的化合物可包含不对称或手性中心,并且因此以不同立体异构形式存在。包括但不限于非对映体、对映体和阻转异构体以及其混合物(例如外消旋混合物)的本发明化合物的所有立体异构形式预期形成本发明的一部分。很多有机化合物以旋光性形式存在,即,它们具有旋转平面偏振光的平面的能力。在描述旋光性化合物中,前缀D和L、或R和S用于表示分子关于其手性中心的绝对构型。前缀d和l或(+)和(-)用于指示平面偏振光旋转的符号,其中(-)或l是指化合物是左旋的。具有(+)或d前缀的化合物是右旋的。对于给定的化学结构,这些立体异构体是相同的,除了它们彼此为镜像。特异性立体异构体也可被称为对映体,并且这些异构体的混合物通常称作对映体混合物。对映体的50:50混合物被称为外消旋混合物或外消旋物,其可在化学反应或工序中没有立体选择或立体特异性之处出现。术语“外消旋混合物”和“外消旋物”是指两种对映体种类的等摩尔混合物,没有旋光性。

[0454] 术语“互变异构体”或“互变异构形式”是指可经由低能量屏障互相转化的不同能量的结构异构体。例如,质子互变异构体(也被称为质子异变的互变异构体)包括经由质子迁移的互相转化,例如酮-烯醇和亚胺-烯胺异构化。化合价互变异构体包括通过重组一些

成键电子而进行的互相转化。

[0455] 如果取代基包含至少一个与一个或多个氢原子键合的碳、硫、氧或氮原子，那么该取代基是“可取代的”。因此，例如氢、卤素和氰基不落入本定义内。

[0456] 如果取代基被描述为“取代的”，那么非氢取代基在该取代基的碳、氧、硫或氮上的氢取代基的位置。因此，例如取代的烷基取代基是这样的烷基取代基，其中至少一个非氢取代基在该烷基取代基上的氢取代基的位置。为了举例说明，单氟烷基是被氟取代基取代的烷基，并且二氟烷基是被两个氟取代基取代的烷基。应认识到，如果在取代基上的取代多于一个，那么每个非氢取代基可以相同或不同(除非另有说明)。

[0457] 如果取代基被描述为“任选地取代”，那么该取代基可以(1)未被取代，或(2)被取代。如果取代基的碳被描述为任选地被一组取代基中的一个或多个取代，那么该碳上的一个或多个氢(以碳上没有氢为限)可分别和/或一起被独立选择的任选取代基替代。如果取代基的氮被描述为任选地被一组取代基中的一个或多个取代，那么该氮上的一个或多个氢(以碳上没有氢为限)可各自被独立选择的任选取代基替代。一个示例性取代基可被描述为--NR'R″，其中R'和R″与它们所连接的氮原子一起可以形成杂环。由R'和R″与它们所连接的氮原子一起形成的杂环可以是部分或全部饱和的。在一个实施方案中，杂环包括3至7个原子。在另一个实施方案中，该杂环选自吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、异噁唑基、吡啶基和噻唑基。

[0458] 本说明书可互换地使用术语“取代基”、“基团”和“基”。

[0459] 如果取代基的基团共同被描述为任选地被一组取代基中的一个或多个取代，那么该基团可以包括：(1)不可取代的取代基、(2)未被任选取代基取代的可取代的取代基，和/或(3)被任选取代基中的一个或多个取代的可取代的取代基。

[0460] 如果取代基被描述为任选地被至多特定数目的非氢取代基取代，那么该取代基可以(1)未被取代；或(2)被至多特定数目的非氢取代基或被该取代基上至多最大数目的可取代位置(取较小值)取代。因此，例如，如果取代基被描述为任选被至多3个非氢取代基取代的杂芳基，那么任何低于3个可取代位置的杂芳基将任选地被至多仅与该杂芳基具有的可取代位置一样多的非氢取代基取代。在非限制性实例中，此类取代基可以选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基、卤素、胍盐[-NH(C=NH)NH_2]、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR10、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；具有6至10个碳原子的芳基；具有3至10个碳原子的杂环。

[0461] 本申请中所用的术语“前药”是指本发明化合物的前体或衍生物形式，其能够被以酶法或水解方法激活或转化成更具活性的母体形式。参见，例如Wilman，″Prodrugs in Cancer Chemotherapy″Biochemical Society Transactions，14，第375-382页，615th Meeting Belfast(1986)和Stella等人，″Prodrugs:A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery″，Directed Drug Delivery，Borchardt等人(编辑)，第247-267页，Humana Press(1985)。本发明的前药包括但不限于含有酯的前药、含有磷酸酯的前药、含有硫代磷酸酯的前药、含有硫酸酯的前药、含有肽的前药、含有D-氨基酸的前药、糖基化前药、含有β-

内酰胺的前药、含有任选取代的苯氧基乙酰胺的前药、含有任选取代的苯基乙酰胺的前药、5-氟胞嘧啶和可转化成更具有活性的细胞毒性游离药物的其它5-氟尿苷。可被衍生化成用于本发明的前药的细胞毒性药的实例包括但不限于本发明的化合物和化学治疗剂，例如上述的那些。

[0462] 术语“前药”也意指包括可在生物条件(体外或体内)下水解、氧化或以其它方式反应以提供本发明化合物的化合物衍生物。前药可仅在生物条件下反应后变得具有活性，或它们的未反应形式可具有活性。本发明中涵盖的前药的实例包括但不限于，包含生物可水解的部分例如生物可水解的酰胺、生物可水解的酯、生物可水解的氨基甲酸酯、生物可水解的碳酸酯、生物可水解的酰脲和生物可水解的磷酸酯类似物的本文所公开的式的任何一个的化合物的类似物或衍生物。前药的其它实例包括包含—NO、--NO_2、--ONO或-ONO_2部分的本文所公开的式的任何一个的化合物的衍生物。前药通常可使用众所周知的方法制备，例如由Burger’s Medicinal Chemistry and Drug Discovery(1995)172-178,949-982(Manfred E.Wolff编辑，第5版)所述的方法；还参见Goodman和Gilman’s,The Pharmacological basis of Therapeutics,第8t版,McGraw-Hill,Int.Ed.1992,″Biotransformation of Drugs″。

[0463] 如本文所用且除非另有说明，否则术语“生物可水解的酰胺”、“生物可水解的酯”、“生物可水解的氨基甲酸酯”、“生物可水解的碳酸酯”、“生物可水解的酰胺”和“生物可水解的磷酸酯类似物”分别是指酰胺、酯、氨基甲酸酯、碳酸酯、酰脲或磷酸酯类似物，它们:1)不破坏化合物的生物活性并且赋予该化合物有利的体内性质，例如摄取、作用持续时间或作用发生；或2)本身在生物学上无活性但是在体内转化为生物学活性的化合物。生物可水解的酰胺的实例包括但不限于低级烷基酰胺、α.-氨基酸酰胺、烷氧基酰基酰胺和烷基氨基烷基羰基酰胺。生物可水解的酯的实例包括但不限于低级烷基酯、烷氧基酰氧基酯、烷基酰基氨基烷基酯和胆碱酯。生物可水解的氨基甲酸酯的实例包括但不限于低级烷基胺、取代的乙二胺、氨基酸、羟基烷基胺、杂环和杂芳族胺、以及聚醚胺。特别有利的前药和前药盐为当此类化合物向哺乳动物施用时本发明化合物的生物利用度增加的那些。

[0464] 本文所用的短语“可药用盐”是指本发明化合物的可药用的有机或无机盐。示例性盐包括但不限于硫酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、草酸盐、盐酸盐、溴酸盐、碘酸盐、硝酸盐、重硫酸盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、酸式柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、鞣酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、蔗糖盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、扑酸盐(即,1,1’-亚甲基-二-(2-羟基-3-萘甲酸盐))、碱金属(例如,钠和钾)盐、碱土金属(例如,镁)盐、和铵盐。可药用盐可参与包含另一个分子例如乙酸盐离子、琥珀酸盐离子或其它抗衡离子。抗衡离子可以是在母体化合物上稳定电荷的有机或无机部分。而且，可药用盐在其结构中具有一个以上的荷电原子。多个荷电原子是可药用盐的一部分的情况可具有多个抗衡离子。因此，可药用盐可具有一个或多个荷电原子和/或一个或多个抗衡离子。

[0465] 如果本发明化合物是碱，那么期望的可药用盐可通过本领域可用的任何适合方法制备，例如用无机酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、甲磺酸、磷酸等或用有机酸(例如乙酸、马来酸、琥珀酸、扁桃酸、富马酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水杨酸、吡喃糖苷酸(例如

葡糖醛酸或半乳糖醛酸)、α羟基酸(例如柠檬酸或酒石酸)、氨基酸(例如天冬氨酸或谷氨酸)、芳族酸(例如苯甲酸或肉桂酸)、磺酸(例如对甲苯磺酸或乙磺酸等)处理游离碱。

[0466] 如果本发明化合物是酸,那么期望的可药用盐可通过任何适合的方法制备,例如用无机或有机碱例如胺(伯胺、仲胺或叔胺)、碱金属氢氧化物或碱土金属氢氧化物等处理游离酸。适合盐的示例性实例包括但不限于衍生自氨基酸例如甘氨酸和精氨酸、氨、伯胺、仲胺和叔胺、以及环胺(如哌啶、吗啉和哌嗪)的有机酸,以及衍生自钠、钙、钾、镁、锰、铁、铜、锌、铝和锂的无机盐。

[0467] 如本文所用的,术语"溶剂合物"是指化合物,其还包括通过非共价分子间作用力结合的化学计算的或非化学计算的量的溶剂例如水、异丙醇、丙酮、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸和乙醇胺、二氯甲烷、2-丙醇等。通过将至少1摩尔当量的羟基溶剂例如甲醇、乙醇、1-丙醇、2-丙醇或水加至化合物以产生亚胺部分的溶剂化或水化,容易地制备化合物的溶剂合物或水合物。

[0468] 术语"异常细胞生长"和"增殖性病症"可在本申请中互换地使用。除非另有说明,否则本文所用的"异常细胞生长"是指与正常调节机制(例如,接触抑制的丧失)无关的细胞生长。这包括,例如以下的异常生长:(1)通过表达突变化酪氨酸激酶或过表达受体酪氨酸激酶而增殖的肿瘤细胞(肿瘤);(2)其它增殖性疾病(其中异常酪氨酸激酶活化发生)的良性和恶性细胞;(3)通过受体酪氨酸激酶增殖的任何肿瘤;(4)通过异常丝氨酸/苏氨酸激酶活化增殖的任何肿瘤;和(5)其它增殖性疾病(其中异常丝氨酸/苏氨酸激酶活化发生)的良性和恶性细胞。

[0469] 术语"癌症"和"癌的"是指或描述哺乳动物中通常具有细胞生长失调特征的生理状态。"肿瘤"包含一种或多种癌细胞。癌症的实例包括但不限于癌瘤、淋巴瘤、胚细胞瘤、肉瘤、和白血病或淋巴样恶性肿瘤。此类癌症的更具体例子包括鳞状细胞癌(如上皮鳞状细胞癌)、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺的腺癌和肺的鳞癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(包括胃肠癌)、胰腺癌、成胶质细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、泌尿道癌、肝瘤、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、肛门癌、阴茎癌、急性白血病、以及头/脑癌和颈癌。

[0470] "治疗剂"涵盖生物试剂(例如抗体、肽、蛋白质、酶)或化学治疗剂。"化学治疗剂"是用于治疗癌症的化合物。化学治疗剂的实例包括埃罗替尼(TARCEVA®,Genentech/OSI Pharm.)、硼替佐米(VELCADE®,Millennium Pharm.),氟维斯群(FASLODEX®,AstraZeneca)、索坦(SU11248,Pfizer)、来曲唑(FEMARA®,Novartis)、甲磺酸伊马替尼(GLEEVEC®,Novartis)、PTK787/ZK 222584(Novartis)、奥利沙铂(Eloxatin®,Sanofi)、5-FU(5-氟尿嘧啶)、甲酰四氢叶酸、雷帕霉素(Sirolimus,RAPAMUNE®,Wyeth)、拉帕替尼(TYKERB®,GSK572016,Glaxo Smith Kline)、Lonafarnib(SCH 66336)、索拉非尼(BAY43-9006,Bayer Labs)和吉非替尼(IRESSA®,AstraZeneca)、AG1478、AG1571(SU 5271;Sugen)、烷化剂例如塞替哌和CYTOXAN®环磷酰胺;磺酸烷基酯例如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡;氮丙啶例如苯佐替派(benzodopa)、卡波醌、美托替派(meturedopa)和乌瑞替派(uredopa);乙撑亚胺和甲基

蜜胺,包括六甲蜜胺、三乙撑蜜胺、三乙撑磷酰胺、三乙撑硫代磷酰胺和三羟甲基蜜胺;番荔枝内酯(尤其是布拉他辛和布拉他辛酮);喜树碱(包括合成类似物托泊替康);苔藓抑素;callystatin;CC-1065(包括其阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物);隐藻素(特别是隐藻素1和隐藻素8);多拉司他汀;多卡米星(包括合成类似物,KW-2189和CB1-TM1);艾榴赛洛素;pancratistatin;sarcodictyin;海绵抑素(spongistatin);氮芥例如苯丁酸氮芥、萘氮芥、胆磷酰胺、雌氮芥异环磷酰胺、氮芥、盐酸氧化氮芥、美法仑、新氮芥、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀、曲磷胺、尿嘧啶氮芥;亚硝基脲类,例如卡莫司汀、氯脲菌素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀;抗生素类,例如烯二炔类抗生素(如卡奇霉素,尤其是卡奇霉素γ11和卡奇霉素ω11(Angew Chem.Intl.Ed.Engl.(1994)33:183-186);达内霉素(dynemicin),包括达内霉素A;二磷酸盐类,例如氯磷酸盐;埃斯波霉素;以及新制癌菌素发色团和相关色蛋白烯二炔类抗生素发色团)、阿克拉霉素、放线菌素、氨茴霉素(anthramycin)、偶氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素C、卡柔比星(carabicin)、洋红霉素、嗜癌霉素、色霉素、放线菌素D、柔红霉素、地托比星、6-二氮-5-氧带-L-正亮氛酸、ADRIAMYCIN®(多柔比星)、(包括吗琳代-多柔比星、氰基吗琳代-多柔比星、2-吡咯啉代多柔比星和脱氧多柔比星、表柔比星、依索比星、伊达比星、麻西罗霉素、丝裂霉素例如丝裂霉素C、霉酚酸、诺拉霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链佐星、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁、佐柔比星;抗代谢物类,例如甲氨喋呤和5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物,例如二甲叶酸、甲氨喋呤、蝶罗呤、三甲曲沙;嘌呤类似物,例如氟达拉滨、6-巯嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤;嘧啶类似物,例如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷;雄激素类,例如卡普睾酮、丙酸屈他雄酮、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯;抗肾上腺类,例如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦;叶酸补充剂,例如亚叶酸(frolinic acid);醋葡醛内醋;醛磷酰胺糖苷;氨基乙酰丙酸;恩尿嘧啶;安吖啶;bestrabucil;比生群;edatraxate;地磷酰胺(defofamine);地美可辛;地吖醌;elfornithine;依利醋铵(elliptinium acetate);埃坡霉素;依托格鲁;硝酸镓;羚脲;香菇多糖;氯尼达明(lonidainine);美登木素生物碱(maytansinoid),例如美登素和美登醇;安丝菌素;米托胍腙;米托蒽醌;莫哌达醇;nitraerine;喷司他丁;蛋氨氮芥;吡柔比星;洛索蒽醌;鬼臼酸;2-乙基酰肼;丙卡巴肼;PSK多糖复合物(JHS Natural Products,Eugene,Oreg.);雷佐生;根霉素;西左非兰(sizofuran);锗螺胺;替奴佐酸;三亚胺醌;2,2',2"-三氯三乙胺;单端孢霉烯类(尤其是T2毒素、疣孢菌素(verracurin)A、杆孢菌素A和蛇形菌素(anguidine));乌拉坦;长春地辛;达卡巴嗪;甘露醇氮芥;二溴甘露醇;二溴卫矛醇;哌泊溴烷;gacytosine;阿糖胞苷("Ara-C");环磷酰胺;噻替派;类紫杉醇,如TAXOL®(紫杉醇;Bristol-Myers Squibb Oncology,Princeton,N.J.)、ABRAXANE(不含克列莫佛)、白蛋白改造的纳米颗粒剂型紫杉醇(American Pharmaceutical Partners,Schaumberg,Ill.)和TAXOTERE®(多西紫杉醇;Rhone-Poulenc Rorer,Antony,France);苯丁酸氮芥(chloranmbucil);GEMZAR®(吉西他滨);6-硫鸟嘌呤;巯嘌呤;甲氨喋呤(methotrexate);铂类似物,例如顺铂和卡铂;长春碱;依托泊苷(VP-16)、异环磷酰胺、米托蒽醌;长春新碱;NAVELBINE®(长春瑞滨);诺消灵;替尼泊苷;依达曲沙;道诺霉素;氨基喋呤;卡培他

滨(XELODA®);伊班膦酸盐;CPT-11;拓扑异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸;类维A酸例如维A酸;以及上述任一种的可药用盐、酸和衍生物。

[0471] “化学治疗剂”的定义还包括:(i)用于调节或抑制对肿瘤例如抗-雌激素和选择性雌激素受体调节剂(SERM)的激素作用的抗-激素剂,包括例如他莫昔芬(包括NOLVADEX®;枸橼酸他莫昔芬)、雷洛昔芬、屈洛昔芬、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、雷洛昔芬、LY117018、奥那司酮和FARESTON®(柠檬酸托瑞米芬);(ii)抑制芳香酶的芳香酶抑制剂,其调节雌激素在肾上腺中的产生,例如4(5)-咪唑、氨鲁米特、MEGASE®(醋酸甲地孕酮)、AROMASIN®(依西美坦;Pfizer)、福美坦、法倔唑、RIVISOR®(伏氯唑)、FEMARA®(来曲唑;Novartis)和ARIMIDEX®(阿那曲唑;AstraZeneca);(iii)抗-雄激素例如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、亮丙瑞林和戈舍瑞林;以及曲沙他滨(1,3-二氧戊环核苷胞嘧啶类似物);(iv)蛋白激酶抑制剂;(v)脂质激酶抑制剂;(vi)反义寡核苷酸,特别是抑制基因在牵涉异常细胞增殖的信号传导途径中的表达的那些,例如PKC-α、Ralf和H-Ras;(vii)核糖酶例如VEGF表达抑制剂(例如,ANGIOZYME®)和HER2表达抑制剂;(viii)疫苗例如基因治疗疫苗,例如ALLOVECTIN®、LEUVECTIN®和VAXID®;PROLEUKIN®rIL-2;拓扑异构酶1抑制剂例如LURTOTECAN®;ABARELIX®rmRH;(ix)抗-血管生成剂例如贝伐单抗(AVASTIN®,Genentech);和(x)上述任一种的可药用盐、酸和衍生物。其他抗-血管生成剂包括MMP-2(基质金属蛋白酶2)抑制剂、MMP-9(基质金属蛋白酶9)抑制剂、COX-II(环加氧酶II)抑制剂和VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂。可用于与本发明化合物/组合物组合使用的此类有用的基质金属蛋白酶抑制剂的实例描述于WO 96/33172、WO 96/27583、EP 818442、EP 1004578、WO 98/07697、WO 98/03516、WO 98/34918、WO 98/34915、WO 98/33768、WO 98/30566、EP 606,046、EP 931,788、WO 90/05719、WO 99/52910、WO 99/52889、WO 99/29667、WO 99/07675、EP 945864、美国专利No.5,863,949、美国专利No.5,861,510和EP 780,386中,所有专利通过引用全文并入本文。VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂的实例包括4-(4-溴-2-氟苯胺基)-6-甲氧基-7-(1-甲基哌啶-4-基甲氧基)喹唑啉(ZD6474;WO 01/32651内的实施例2)、4-(4-氟-2-甲基吲哚-5-基氧基)-6-甲氧基-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-喹唑啉(AZD2171;WO 00/47212内的实施例240)、瓦他拉尼(PTK787;WO 98/35985)和SU11248(舒尼替尼;WO 01/60814),以及化合物例如PCT公布No.WO 97/22596、WO 97/30035、WO 97/32856和WO 98/13354中公布的那些)。

[0472] 可用于与本发明化合物组合使用的化学治疗剂的其它实例包括PI3K(磷酸肌醇-3激酶)抑制剂,例如记载于Yaguchi等人(2006)Jour.of the Nat.Cancer Inst.98(8):545-556;美国专利No.7,173,029;美国专利No.7,037,915;美国专利No.6,608,056;美国专利No.6,608,053;美国专利No.6,838,457;美国专利No.6,770,641;美国专利No.6,653,320;美国专利No.6,403,588;WO 2006/046031;WO 2006/046035;WO 2006/046040;WO 2007/042806;WO 2007/042810;WO 2004/017950;US 2004/092561;WO 2004/007491;WO 2004/006916;WO 2003/037886;US 2003/149074;WO 2003/035618;WO 2003/034997;US 2003/158212;EP 1417976;US 2004/053946;JP 2001247477;JP 08175990;JP 08176070;美国专

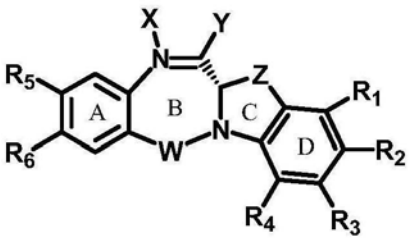
利No.6,703,414;和WO 97/15658的那些,上述所有文献通过引用全文并入本文。此类PI3K抑制剂的具体实例包括SF-1126(PI3K抑制剂,Semafore Pharmaceuticals)、BEZ-235(PI3K抑制剂,Novartis)、XL-147(PI3K抑制剂,Exelixis,Inc.)。

[0473] “代谢产物”是通过指定化合物、其衍生物或其轭合物或其盐在体内的代谢所产生的产物。化合物、其衍生物或其轭合物的代谢产物可使用本领域已知的常规技术得以鉴定,并且其活性使用试验(例如本文所述的那些)得以测定。此类产物可例如由所施用化合物的氧化、羟基化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺化、酯化、脱酯化、酶促裂解等产生。因此,本发明还包括本发明的化合物、其衍生物或其轭合物的代谢产物(包括化合物、其衍生物或其轭合物),它们通过包括将本发明的化合物、其衍生物或其轭合物与哺乳动物接触足以获得其代谢产物的时间的方法产生。

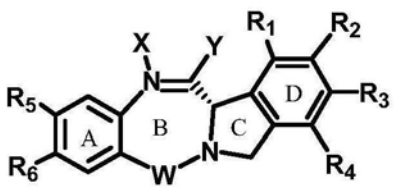
[0474] 短语“可药用的”是指物质或组合物与包含制剂和/或用其治疗的哺乳动物的其它要素必须是化学上和/或毒理学上相容的。

[0475] 术语“保护基”或“保护部分”是指通常用于阻断或保护具体官能度同时与化合物、其衍生物或其轭合物上的其它官能团反应的取代基。例如,“氨基-保护基”或“氨基-保护部分”是连接于阻断或保护化合物中的氨基官能度的氨基的取代基。适合的氨基-保护基包括乙酰基、三氟乙酰基、叔丁氧基羰基(BOC)、苄氧基羰基(CBZ)和9-芴基亚甲基氧基羰基(Fmoc)。类似地,“羟基-保护基”是指阻断或保护羟基官能度的羟基的取代基。适合的保护基包括乙酰基和甲硅烷基。“羧基-保护基”是指阻断或保护羧基官能度的羧基的取代基。常用的羧基-保护基包括苯基磺酰基以及、氰基乙基、2-(三甲基甲硅烷基)乙基、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基、2-(对甲苯磺酰基)乙基,2-(对硝基苯基亚磺酰基)乙基、2-(二苯基膦基)-乙基、硝基乙基等。常用硫醇-保护基包括将硫醇转化为硫酯的那些,例如乙酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基;将硫醇转化为硫醚的那些(例如苄基、叔丁基、三苯基甲基、9-芴基甲基、甲氧基甲基、2-四氢吡喃基或甲硅烷基);将硫醇转化为二硫化物的那些(例如甲基、苄基、叔丁基、吡啶基、硝基吡啶基、苯基、硝基苯基或二硝基苯基);将硫醇转化为硫代碳酸酯的那些(例如叔丁氧基羰基);将硫醇转化为硫代氨基甲酸酯的那些(例如N-乙基)。对于保护基及其应用的一般描述,参见P.G.M.Wuts&T.W.Greene,Protective Groups in Organic Synthesis,John Wiley&Sons,New York,2007。

[0476] 对于新型的式(I)和(II)的苯并二氮杂䓬或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体,

[0477] 

(I)



(II)

[0478] 其中:

[0479] N与C之间的双线═表示单键或双键,条件是当其为双键时,X不存在且Y为H,并且当其为单键时,X为H或将该化合物转化成可在体外或体内转变为游离胺的前药的氨基保护

部分；

[0480] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R"相同或不同并且选自H；取代的或未取代的具有1至20个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有6至18个碳原子的芳基；含有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；具有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13}，其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{11}也可以为OR_{14}，其中R_{14}为H或具有与R相同的定义，任选地，R"为OH；

[0481] W是C=O、C=S、CH_2、BH(B=硼)、SO或SO_2；

[0482] R_1、R_2、R_3、R_4各自独立地选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至2000的整数，或者选自以下的取代基：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、胍盐[-NH(C=NH)NH_2]、-COR_{11}、-$OCOR_{11}$或-$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}如上文定义，任选地，R_1、R_2、R_3、R_4中的任何一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元；

[0483] R_5选自OR_{15}、CRR'OH、SH、CRR'SH、NHR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R_{15}具有与R相同的定义，R和R'具有与上文给出的相同的定义；任选地，R_5是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元；

[0484] R_6是OR、SR、NRR'，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，或任选地R_6是连接基团；

[0485] Z选自其中n为1、2或3的(-CH_2)$_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S，其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$，其中n为1至

2000的整数；

[0486] 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0487] 在一个优选的实施方案中，N与C之间的双线==表示双键，并且X不存在且Y为H，或N与C之间的双线==表示单键，其中X为H且Y选自-OR、亚硫酸根-SO_3或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0488] W是C＝O、CH_2或SO_2；

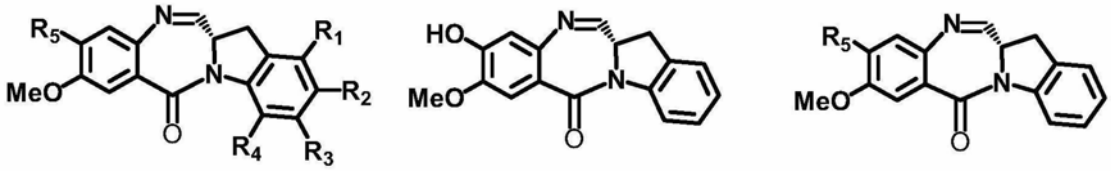
[0489] R_1、R_2、R_3、R_4各自为H；任选地，R_1、R_2、R_3和R_4中的任何一个可以独立地是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

[0490] R_5选自OR_{15}、CRR'OH、SH、CRR'SH、NHR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R_{15}为H或具有上文对于R给出的相同的定义，或选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元，R和R'具有与上文给出的相同的定义；

[0491] R_6为OCH_3；

[0492] Z选自其中n为1或2的$(CH_2)_n$、NH、NCH_3或S；或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构。

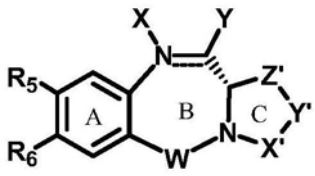
[0493] 在优选的实施方案中，式(I)和(II)的化合物为式(VII)、(VIII)或(IX)的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构：

[0494] 

(VII) (VIII) (IX)

[0495] 其中所述取代基如上文所述。

[0496] 对于新型的式(III)的苯并二氮杂䓬或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，其中所述二氮杂䓬环(B)与杂环(C)稠合，其中所述杂环是单环，

[0497] 

(III)

[0498] 其中：

[0499] N与C之间的双线==表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0500] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'

表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中R、R'和R"相同或不同并且选自H；取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的包含5-或6-元环的杂芳基，包括5-18个原子的稠环系统(至少一个环是芳族的)；具有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的包含5-或6-元环的杂芳基，包括5-18个原子的稠环系统(至少一个环是芳族的)；具有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13}，其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的包含5-或6-元环的杂芳基，包括5-18个原子的稠环系统(至少一个环是芳族的)；含有6至18个碳原子的芳基；具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，并且R_{11}也可以为OR_{14}，其中R_{14}为H或具有与R相同的定义，任选地R"为OH；

[0501] W是C＝O、C＝S、CH_2、BH、SO或SO_2；

[0502] R_5选自OR_{15}、CRR'OH、SH、CRR'SH、NHR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R_{15}为H或具有与R相同的定义，或是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元；选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多-吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元，任选地，R_5是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

[0503] R_6是OR、SR或NRR'，其中R和R'具有与上文给出的相同的定义，任选地R_6是连接基团；

[0504] X'是CH_2、NR、CO、BH、SO或SO_2；

[0505] Y'是O、CH_2、NR或S；

[0506] Z'是CH_2或$(CH_2)_n$，其中n为2、3或4；

[0507] 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0508] 在一个优选的实施方案中，N与C之间的双线═表示双键并且X不存在且Y＝H，或N与C之间的双线═表示单键，其中X为H且Y选自-OR、亚硫酸根-SO_3或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0509] W是C＝O、CH_2，或SO_2；

[0510] R_5选自OR_{15}、CRR'OH、SH、CRR'SH、NHR_{15}或CRR'NHR_{15}，其中R_{15}为H或具有上文对于R给出的相同的定义，或选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多-吡咯并吲哚基或多咪唑并吲哚基单元；

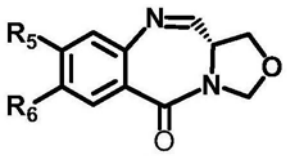
[0511] R_6为OCH_3；

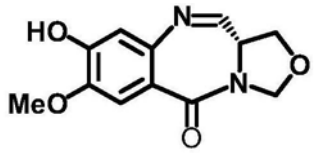
[0512] X'选自CH_2或C=O；

[0513] Y'是O、CH_2、NR或S；

[0514] Z'是$(CH_2)_n$，其中n为1或2，条件是X'、Y'和Z'不同时都为CH_2；或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构。

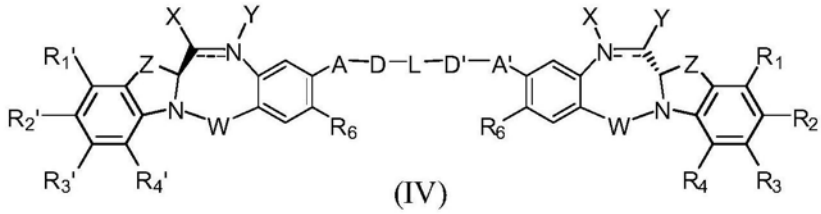
[0515] 在优选的实施方案中，式III的化合物由式(X)或(XI)的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构表示，

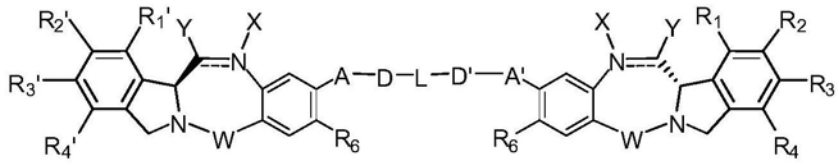
[0516] 
(X)

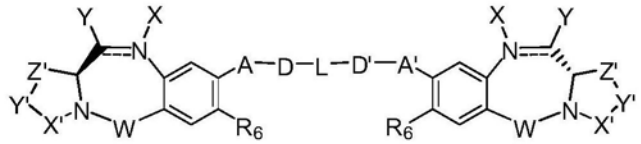

(XI)

[0517] 其中所述取代基如上文所述。

[0518] 对于由式(IV)、(V)和(VI)表示的细胞毒性二聚体或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，


(IV)

[0519] 
(V)


(VI)

[0520] N与C之间的双线═表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0521] Y选自-OR、由-OCOR'表示的酯、由-OCOOR'表示的碳酸酯、由-OCONR'R"表示的氨基

甲酸酯、由NR'R"表示的胺或羟基胺、由-NRCOR'表示的酰胺、由NRCOP表示的肽(其中P为氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽)、由SR'表示的硫醚、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、卤素、氰基、叠氮基、或巯基,其中R、R'和R"相同或不同并且选自H;取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n,其中n为1至2000的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有6至18个碳原子的芳基;具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$,其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}各自独立地选自H;具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$,其中n为1至2000的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有6至18个碳原子的芳基;3-至10-元杂环;具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,并且R_{10}任选地为SR_{13}或COR_{13},其中R_{13}选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-或6-元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至18元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有6至18个碳原子的芳基;具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环,任选地R_{11}为OR_{14},其中R_{14}具有与R相同的定义,任选地R"为OH;

[0522] W是C=O、C=S、CH_2、BH、SO或SO_2;

[0523] R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'和R_4'各自独立地选自H;取代的或未取代的具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)n,其中n为1至2000的整数,或者选自以下的取代基:卤素、胍盐[-NH(C=NH)NH_2]、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由-SO_2R'表示的砜、亚硫酸根-SO_3、亚硫酸氢根-OSO_3、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR_{11}、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$,其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}如上文定义,任选地,R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'或R_4'中的任何一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吲哚基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吲哚基或多咪唑并-吲哚基单元,

[0524] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S,其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H;具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基;聚乙二醇单元(-OCH_2CH_2)$_n$,其中n为1至2000的整数;

[0525] R_6是OR、SR或NRR',其中R和R'具有与上文给出的相同的定义,任选地R_6是连接基团;

[0526] X'选自CH_2、NR、CO、BH、SO或SO_2,其中R具有与上文给出的相同的定义;

[0527] Y'是O、CH_2、NR或S,其中R具有与上文给出的相同的定义;

[0528] Z'是CH_2或$(CH_2)_n$,其中n为2、3或4,条件是X'、Y'和Z'不同时都为CH_2;

[0529] A和A'相同或不同并且选自O、-CRR'O、S、-CRR'S、-NR_{15}或CRR'NHR_{15},其中R和R'具有与上文给出的相同的定义,并且其中R_{15}具有与R相同的定义;

[0530] D和D'相同或不同并且独立地选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、

烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义如上文定义，或聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；

[0531] L是任选取代的任选的苯基或具有1至6个选自O、S、N和P的杂原子的3-至18-元杂环，其中所述取代基是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，或选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}和R_{12}的定义如上文定义；或选自聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)n$，其中n为1至2000的整数；任选地，L自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0532] 在一个优选的实施方案中，N与C之间的双线==表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的胺保护基；

[0533] Y选自-OR、NR'R"、亚硫酸根$-SO_3$或亚硫酸氢根$-OSO_3$，其中R选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；具有6至10个碳原子的芳基；具有3至10个碳原子的杂环；

[0534] W是C＝O、CH_2或SO_2；

[0535] R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'和R_4'各自独立地选自H、NO_2或经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

[0536] R_6为OR_{18}，其中R_{18}具有与R相同的定义；

[0537] Z选自其中n为1、2或3的$(CH_2)_n$、$CR_{15}R_{16}$、NR_{17}、O或S，其中R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地选自H；具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)_n$，其中n为1至2000的整数；

[0538] X'选自CH_2或C＝O；

[0539] Y'是O、NR或S，其中R如上文定义；

[0540] Z'是CH_2或$(CH_2)_2$；

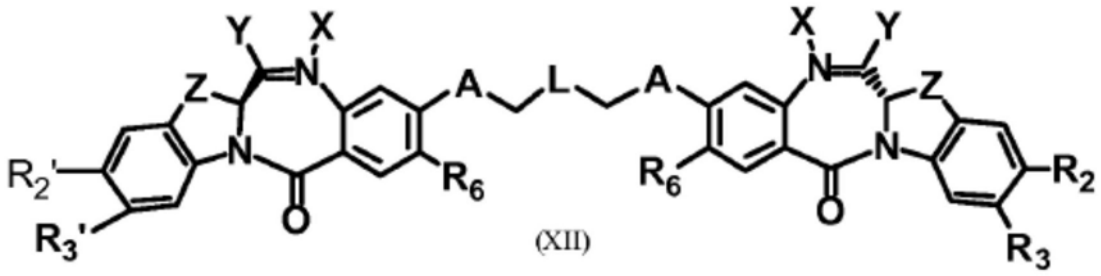
[0541] A和A'各自为O；

[0542] D和D'相同或不同并且独立地选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

[0543] L是任选取代的任选的苯基或具有3至10个碳原子的杂环，其中所述取代基是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，或选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$；聚乙二醇单元$(-OCH_2CH_2)n$，其中n为1至2000的整数；任选地，L自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构。

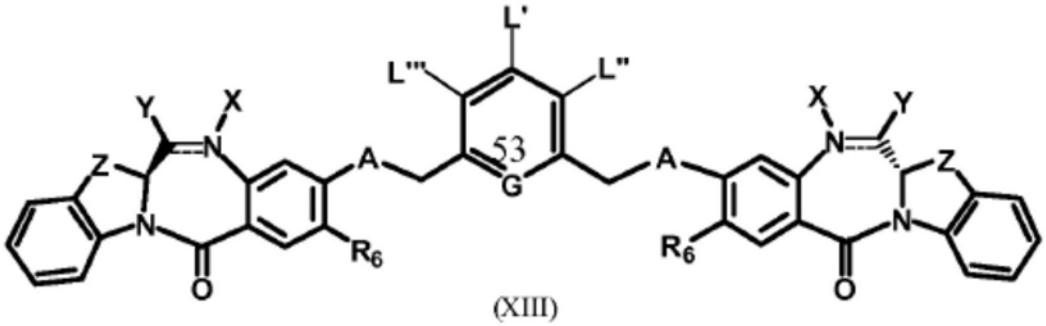
[0544] 在另一个优选的实施方案中，式(IV)、(V)或(VI)的化合物由式(XII)和(XIII)的

化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构表示：



(XII)

[0545]



(XIII)

[0546] 其中N与C之间的的双线==表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的胺保护基；Y选自OH、由-OR表示的醚、NR'R"、亚硫酸根$-SO_3$或亚硫酸氢根$-OSO_3$，其中R、R'和R"选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

[0547] R_2、R_3、R_2'和R_3'中的一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，而另一个为H、NRCOR'或NO_2；

[0548] R_6为OR，其中R具有与上文相同的定义；

[0549] Z为CH_2或NR，其中R具有与上文相同的定义；

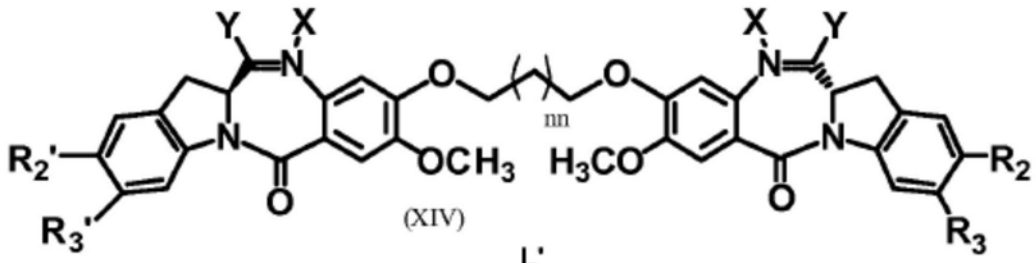
[0550] A为O或NR_{15}；

[0551] L为其中nn为0或1至5的整数的$(CH_2)_{nn}$、或取代的或未取代的具有2至4个碳原子的烷基或烯基，其中所述取代基选自卤素、OR_7、NR_8R_9、NO_2、NRCOR'、SR_{10}、由SOR'表示的亚砜、由$-SO_2R'$表示的砜、亚硫酸根$-SO_3$、亚硫酸氢根$-OSO_3$、由SO_2NRR'表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、$-COR_{11}$、$OCOR_{11}$或$OCONR_{11}R_{12}$，其中R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}、R_{12}和R_{15}具有与上文给出的相同的定义，任选地，L自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

[0552] L'、L"或L"'中的一个是能与细胞结合剂连接的连接基团，而另一个是H；优选地L'是连接基团；以及

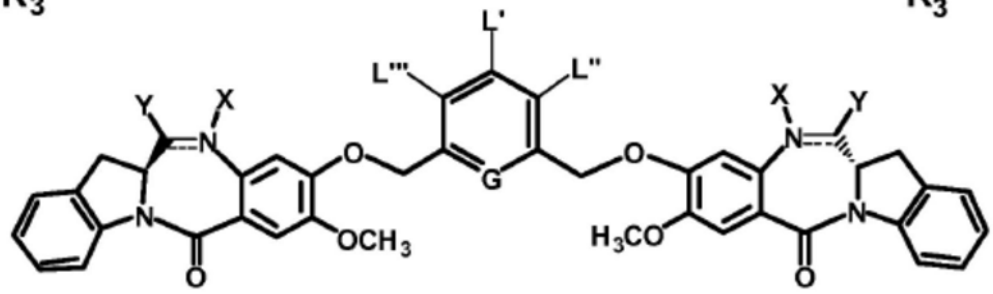
[0553] G是CH或N。

[0554] 在又一个优选的实施方案中，式(IV)、(V)或(VI)的化合物由式(XIV)和(XV)的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构表示：



(XIV)

[0555]



(XV)

[0556] 其中N与C之间的双线==表示单键或双键，条件是当其为双键时，X不存在且Y为H，并且当其为单键时，X是H或将该化合物转化成前药的胺保护基；Y选自OH、由-OR表示的醚、亚硫酸根-SO_3或亚硫酸氢根-OSO_3，其中R选自具有1至10个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

[0557] nn为0或1至5的整数；

[0558] R_2、R_3、R_2'和R_3'中的一个是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，而另一个是H、NRCOR'或NO_2；

[0559] L'、L"或L"'中的一个是能与细胞结合剂连接的连接基团，条件是当L'、L"或L"'中的一个是连接基团时，其余的为H(例如，如果L'是连接体，那么L"和L"'是H)，

[0560] G是CH或N。

[0561] 为了连接本发明的细胞毒性化合物(例如，吲哚啉并苯并二氮杂䓬或噁唑烷并苯并二氮杂䓬)、其衍生物或其二聚体与细胞结合剂，细胞毒性化合物包含连接部分。尽管连接两个部分的连接体是双功能的，但是连接体部分的一端可首先与细胞毒性化合物反应，从而提供具有单功能连接基团的化合物，所述化合物然后可与细胞结合剂反应。可选地，连接体部分的一端可首先与细胞结合剂反应，从而提供具有单功能连接基团的细胞结合剂，所述细胞结合剂可与细胞毒性化合物反应。连接部分含有允许在特定部位释放细胞毒性部分的化学键。适合的化学键在本领域众所周知的，并且包括二硫键、硫醚键、酸敏感性键、光敏感性键、肽酶敏感性键和酯酶敏感性键(参见例如美国专利5,208,020;5,475,092;6,441,163;6,716,821;6,913,748;7,276,497;7,276,499;7,368,565;7,388,026和7,414,073)。优选为双硫键、硫醚键和肽酶敏感性键。其它可用于本发明的连接体包括非可切割性连接体，例如在美国公开号20050169933中详细描述的那些，或带电连接体或亲水连接体，并且在于2008年4月30日提交的临时专利申请61/049,291、于2009年1月28日提交的临时专利申请61/147,966和于2008年4月30日提交的临时专利申请61/049,289中描述，所述专利申请通过引用明确地并入本文。

[0562] 式(I)、(II)和(III)(即单体)的化合物可通过R_1、R_2、R_3、R_4或R_5连接。在这些中，优选的可连接基团是R_2、R_3和R_5，并且最优选的可连接基团是R_5。式(I)、(II)和(III)的化合物

的R_1、R_2、R_3、R_4和R_5的适合取代基的实例包括但不限于：

[0563] -OH、

[0564] $-O(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0565] $-O(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_m'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0566] $-O(CR_{20}R_{21})_m(炔基)_n'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0567] $-O(CR_{20}R_{21})_m(吲哚并)_p'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$

[0568] $-O(CR_{20}R_{21})_m(吡咯并)_q'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0569] $-O(CR_{20}R_{21})_m(吡咯并)_q'(咪唑并)_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0570] $-O(CR_{20}R_{21})_m(咪唑并)_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0571] $-O(CR_{20}R_{21})_m(吡咯并)_q'(吲哚并)_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0572] $-O(CR_{20}R_{21})_m(吲哚并)_q'(咪唑并)_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0573] $-O(CR_{20}R_{21})_m(哌嗪并)_t'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0574] $-O(CR_{20}R_{21})_mA"_m"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0575] -SH、

[0576] $-S(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0577] $-S(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_m'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0578] $-S(CR_{20}R_{21})_m(炔基)_n'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0579] $-S(CR_{20}R_{21})_m(吲哚并)_p'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0580] $-S(CR_{20}R_{21})_m(吡咯并)_q'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0581] $-S(CR_{20}R_{21})_m(咪唑并)_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0582] $-S(CR_{20}R_{21})_m(吡咯并)_q'(咪唑并)_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0583] $-S(CR_{20}R_{21})_m(吡咯并)_q'(吲哚并)_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0584] $-S(CR_{20}R_{21})_m(吲哚并)_q'(咪唑并)_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0585] $-S(CR_{20}R_{21})_m(哌嗪并)_t'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0586] $-S(CR_{20}R_{21})_mA"_m"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0587] $-NH_2$、

[0588] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_t\ X"$、

[0589] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_m'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0590] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(炔基)_n'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0591] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(吲哚并)_p'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0592] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(吡咯并)_q'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0593] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(咪唑)_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0594] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(吡咯并)_q'(咪唑并)_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"-(CR_{24}R_{25})_q$

$(CO)_tX"$、

[0595] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_q$,(吲哚并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0596] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m$(吲哚并)$_q$,(咪唑并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0597] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m$(哌嗪并)$_t$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0598] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_mA"_{m"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0599] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0600] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_{m'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0601] $-(CR_{20}R_{21})_m$(炔基)$_n$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0602] $-(CR_{20}R_{21})_m$(吲哚并)$_p$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0603] $-(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_q$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0604] $-(CR_{20}R_{21})_m$(哌嗪并)$_t$,$(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0605] $-(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_q$,(吲哚并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、$(CR_{20}R_{21})_m$(咪唑并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、$(CR_{20}R_{21})_m$(吡咯并)$_q$,(咪唑并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0606] $(CR_{20}R_{21})_m$(咪唑并)$_q$,(吲哚并)$_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0607] $-(CR_{20}R_{21})_mA"_{m"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_t\ X"$、

[0608] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N-NR_{30})_{n"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0609] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N-NR_{30})_{n"}(CR_{26}=CR_{27})_{m'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0610] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N-NR_{30})_{n"}$(炔基)$_{n'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0611] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N-NR_{30})_{n"}A"_{m"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0612] 其中：

[0613] m、n、p、q、m'、n'、p'、q'、q"是1至10的整数并且可以是0；

[0614] t、m"、n"和p"是0或1；

[0615] X"选自OR_{36}、SR_{37}、$NR_{38}R_{39}$，其中R_{36}、R_{37}、R_{38}、R_{39}是H，或具有1至20个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，或聚乙二醇单元$-(OCH_2CH_2)_n$，任选地R_{37}是巯基保护基，或

[0616] 当t＝1时，OX"形成选自N-羟基琥珀酰亚胺酯、N-羟基酞酰亚胺酯、N-羟基磺基-琥珀酰亚胺酯、对-硝基苯基酯、二硝基苯基酯、五氟苯基酯及其衍生物的反应性酯，其中所述衍生物促进酰胺形成；

[0617] Y"不存在或选自O、S、S-S或NR_{32}，其中R_{32}具有与上文对于R给出的相同的定义，或当Y"不是S-S和t＝0时，X"选自马来酰亚胺基团、卤代乙酰基或SR_{37}，其中R_{37}具有与上文相同的定义；

[0618] A"是选自甘氨酸、丙氨酸、亮氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸和谷氨酸盐的氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽；

[0619] R_{20}、R_{21}、R_{22}、R_{23}、R_{24}、R_{25}、R_{26}、R_{27}相同或不同并且是H或具有1至5个碳原子的直链或支链烷基；

[0620] R_{28}为H或烷基；

[0621] R_{29}和R_{30}相同或不同，并且是H或具有1至5个碳原子的烷基；

[0622] 任选地，R_{40}和R_{41}中的一个是荷负电或正电的官能团，并且另一个是H或具有1至4个碳原子的烷基、烯基、炔基。

[0623] 式(IV)、(V)、(VI)、(VII)、(XII)和(XIII)(即二聚体)的化合物可通过R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'、R_4'、L'、L"、L"'连接。其中，优选的可连接基团是R_2'、R_3'、R_4'、L'、L"、L"'，并且最优选的可连接基团是R_2'、R_3'和L'。式(IV)、(V)、(VI)、(VII)、(XII)和(XIII)的化合物的连接基团的实例包括但不限于：

[0624] $-O(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0625] $-O(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_{m'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0626] $-O(CR_{20}R_{21})_m(炔基)_{n'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0627] $-O(CR_{20}R_{21})_m(哌嗪并)_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0628] $-O(CR_{20}R_{21})_m(吡咯并)_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0629] $-O(CR_{20}R_{21})_mA"_{m"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0630] $-S(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0631] $-S(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_{m'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0632] $-S(CR_{20}R_{21})_m(炔基)_{n'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0633] $-S(CR_{20}R_{21})_m(哌嗪并)_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0634] $-S(CR_{20}R_{21})_m(吡咯并)_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0635] $-S(CR_{20}R_{21})_mA"_{m"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_t\ X"$、

[0636] $-NR_{33}(C=O)_{p"}(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0637] $-NR_{33}(C=O)_{p"}(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_{m'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q$

[0638] $(CO)_tX"$、

[0639] $-NR_{33}(C=O)_{p"}(CR_{20}R_{21})_m(炔基)_{n'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0640] $-NR_{33}(C=O)_{p"}(CR_{20}R_{21})_m(哌嗪并)_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q$

[0641] $(CO)_tX"$、

[0642] $-NR_{33}(C=O)_{p"}(CR_{20}R_{21})_m(吡咯并)_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0643] $-NR_{33}(C=O)_{p"}(CR_{20}R_{21})_mA"_{m"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0644] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0645] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_{m'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0646] $-(CR_{20}R_{21})_m(炔基)_{n'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0647] $-(CR_{20}R_{21})_m(哌嗪并)_{t'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0648] $-(CR_{20}R_{21})_mA"_{m"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_t\ X"$、

[0649] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N\text{-}NR_{30})_{n"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$、

[0650] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N\text{-}NR_{30})_{n"}(CR_{26}=CR_{27})_{m'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"$

$(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX$”、

[0651] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N-NR_{30})_{n"}$(炔基)$_{n'}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX$”、

[0652] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N-NR_{30})_{n"}A"_{m"}(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_{p"}Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$，

[0653] 其中：

[0654] m、n、p、q、m’、n’、t’是1至10的整数或任选地为0；

[0655] t、m”、n”和p”为0或1；

[0656] X”选自OR_{36}、SR_{37}、$NR_{38}R_{39}$，其中R_{36}，R_{37}，R_{38}，R_{39}是H，或具有1至20个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，或聚乙二醇单元-$(OCH_2CH_2)_n$，R_{37}任选地为巯基保护基，

[0657] 当t＝1时，COX”形成选自N-羟基琥珀酰亚胺酯、N-羟基酞酰亚胺酯、N-羟基磺基-琥珀酰亚胺酯、对-硝基苯基酯、二硝基苯基酯、五氟苯基酯及其衍生的反应性酯物，其中所述衍生物促进酰胺键形成；

[0658] Y”不存在或选自O、S、S-S或NR_{32}，其中R_{32}具有与上文对于R给出的相同的定义，或

[0659] 当Y”不是S-S且t＝0时，X”选自马来酰亚胺基团、卤代乙酰基或SR_{37}，其中R_{37}具有与上文相同的定义；

[0660] A”是选自甘氨酸、丙氨酸、亮氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸和谷氨酸盐的氨基酸或含有2至20个氨基酸单元的多肽；

[0661] R_{20}、R_{21}、R_{22}、R_{23}、R_{24}、R_{25}、R_{26}和R_{27}相同或不同并且是H或具有1至5个碳原子的直链或支链烷基；

[0662] R_{29}和R_{30}相同或不同并且是H或具有1至5个碳原子的烷基；

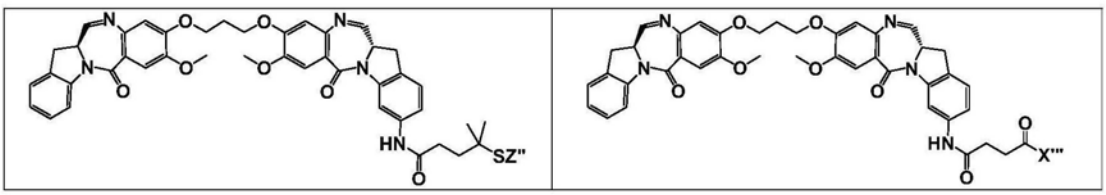
[0663] R_{33}为H或具有1至12个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元-$(OCH_2CH_2)_n$或R_{33}是-COR_{34}、-CSR_{34}、-SOR_{34}或-SO_2R_{34}，其中R_{34}为H或具有1至20个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，或聚乙二醇单元-$(OCH_2CH_2)_n$；以及

[0664] R_{40}和R_{41}中的一个任选地为荷负电或正电的官能团，另一个为H或具有1至4个碳原子的的烷基、烯基、炔基。

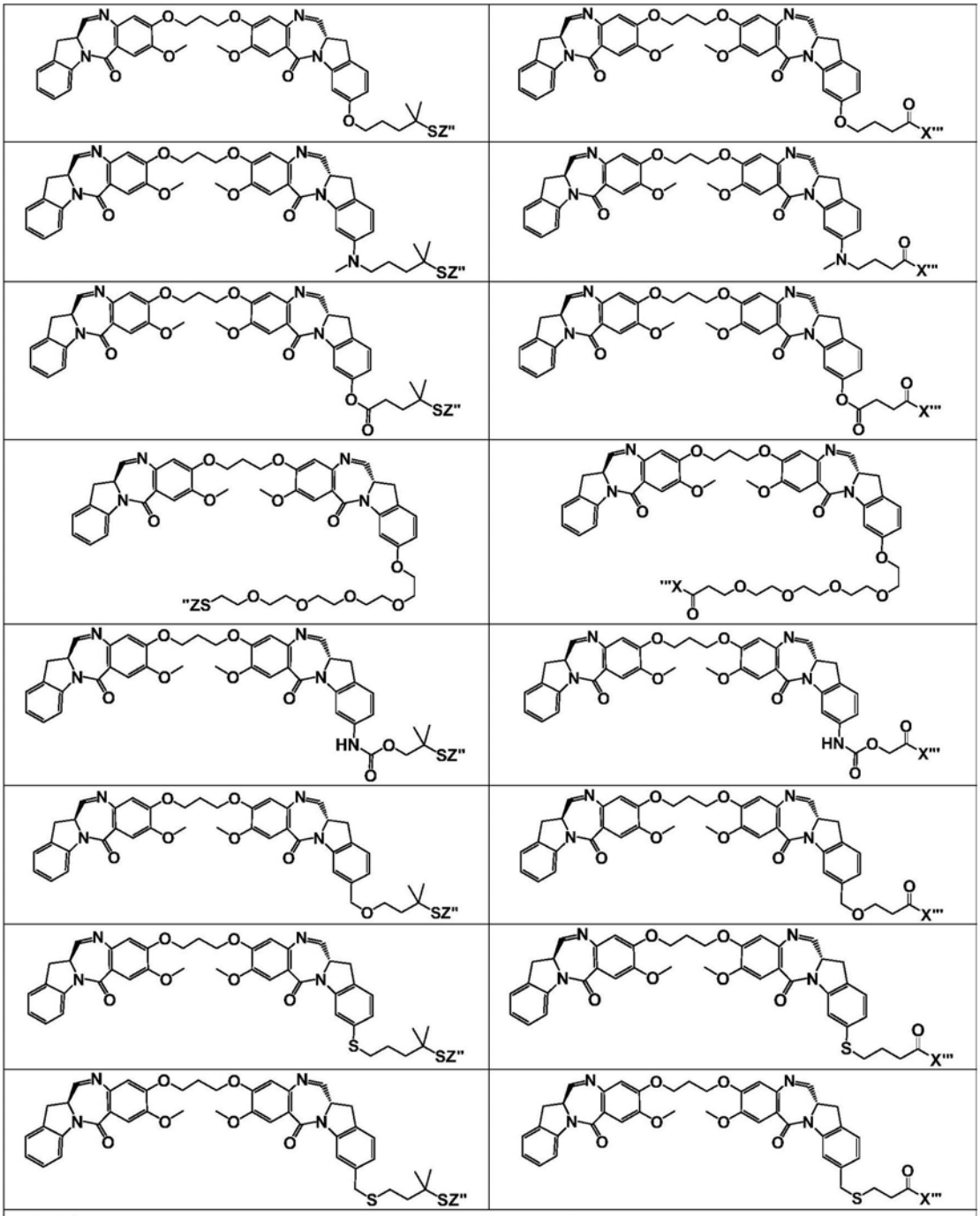
[0665] 此外，尽管下面在L’(在式XIII的化合物中)或R_3(在式XII的化合物中)位置含有连接部分的酰胺、硫醚或二硫键的术语中描述具有连接部分的细胞毒性化合物(例如，吲哚啉并苯并二氮杂䓬或噁唑烷并苯并二氮杂䓬)、其衍生物或其二聚体的合成，但是本领域技术人员应理解，上文所述的在其它位置或具有其它化学键的连接部分也可用于本发明。

[0666] 本发明的实施例中代表性化合物、代表性轭合物和所主张的化合物的结构示于表3～9中：

[0667] 表3.本发明的代表性化合物的结构

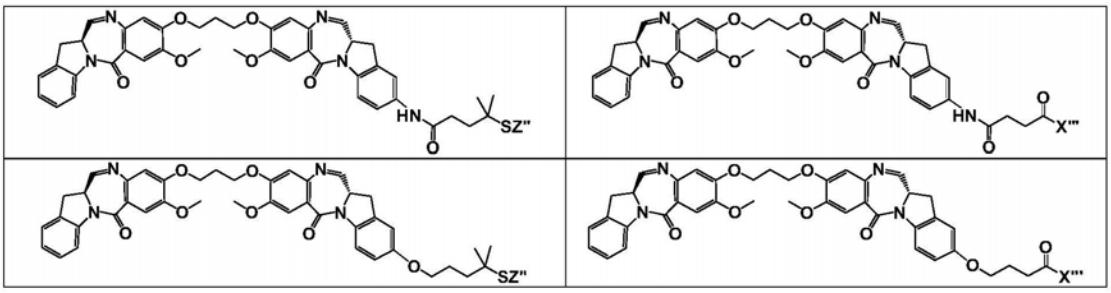
[0668] 

[0669]

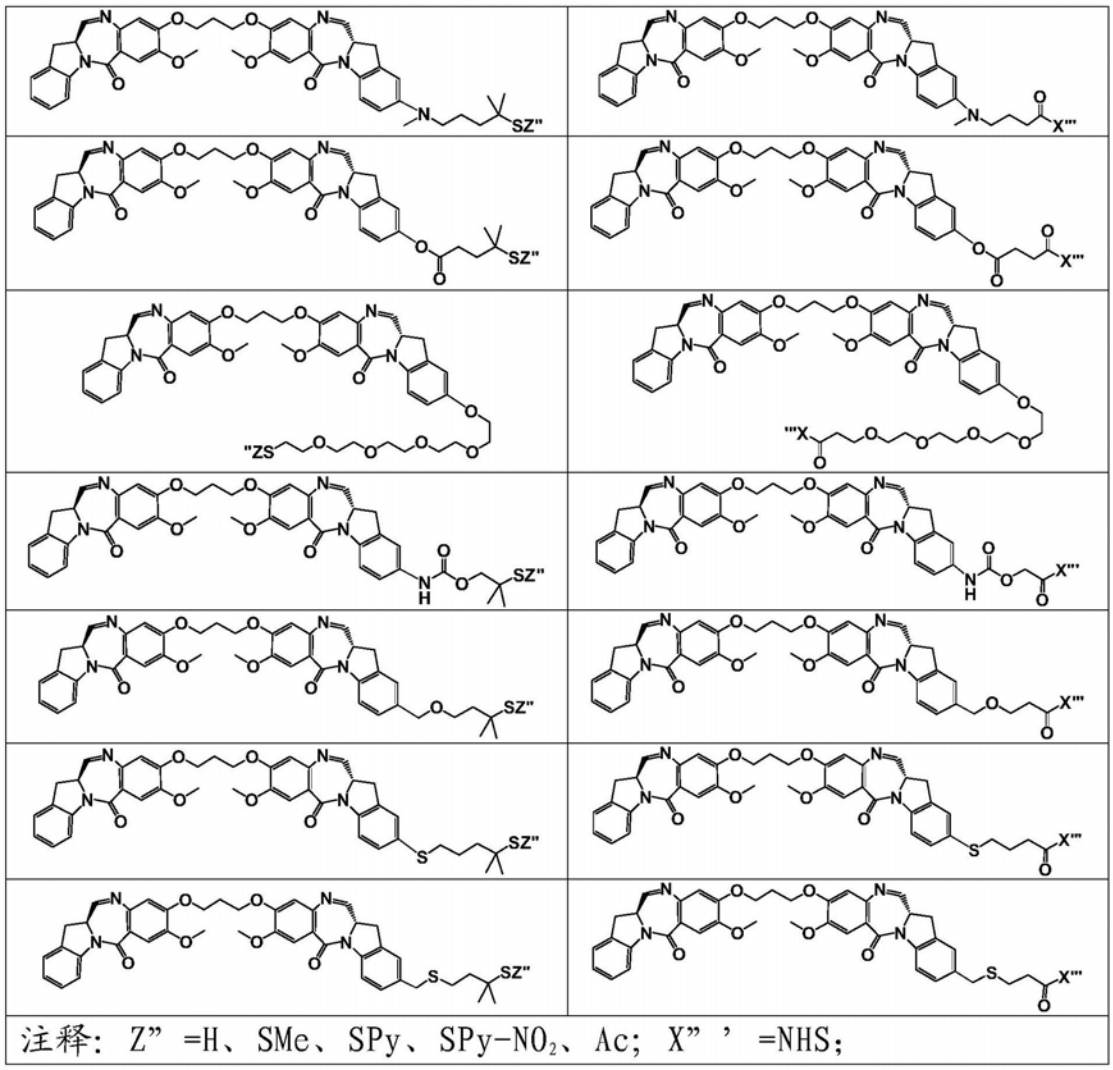


[0670] 表4.本发明的代表性化合物的结合(待续)

[0671]

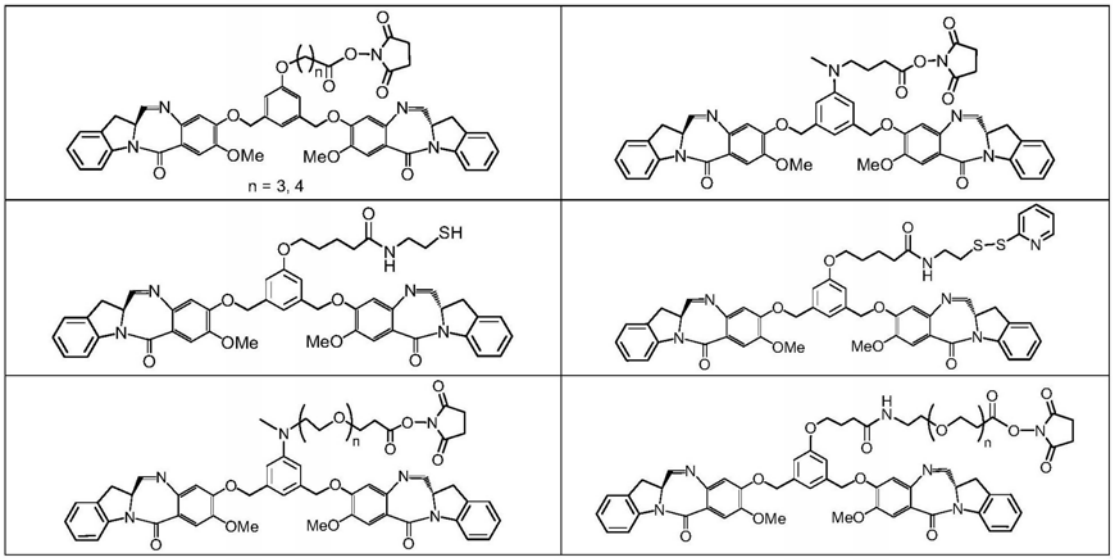


[0672]

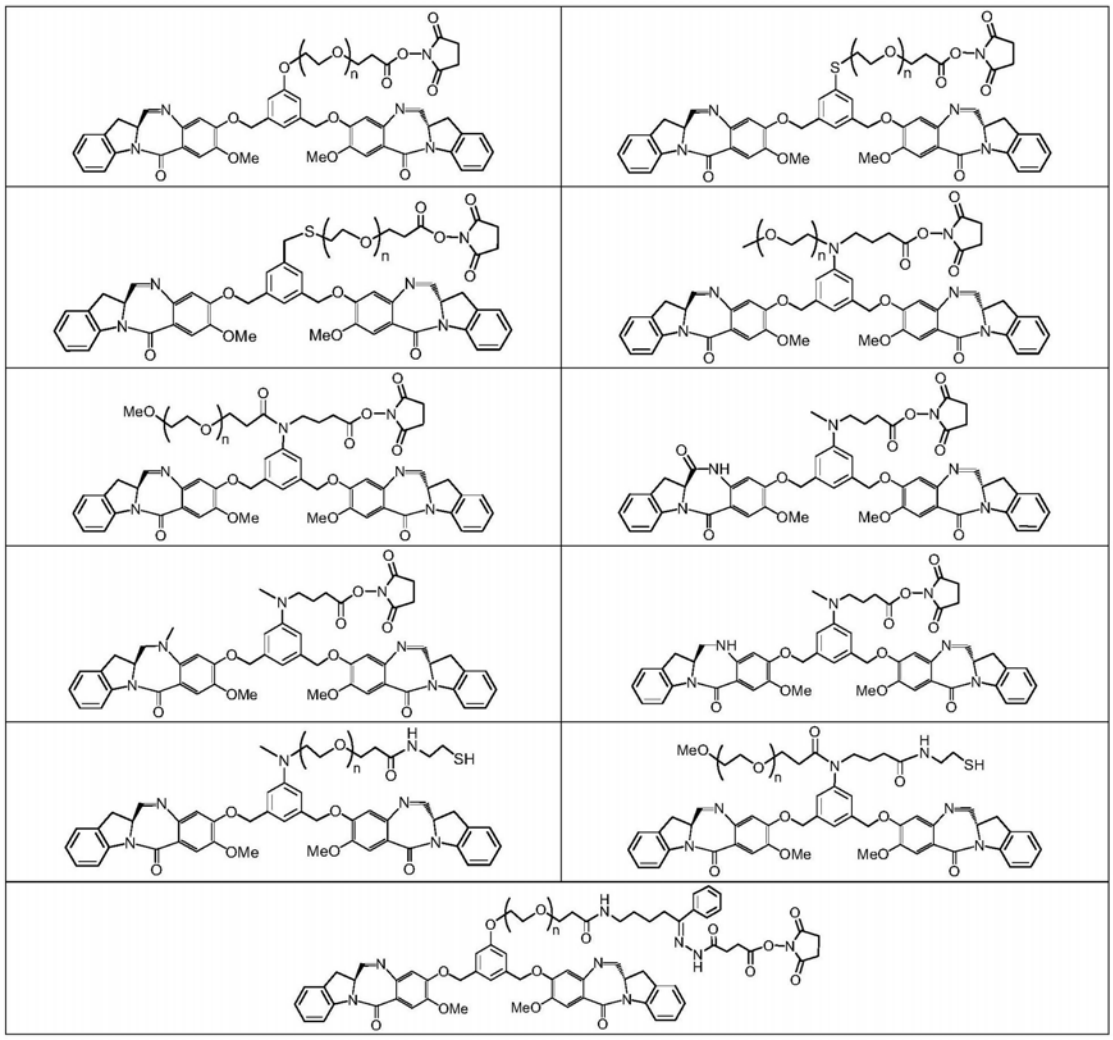


[0673] 表5.本发明的代表性化合物的结构(待续)

[0674]

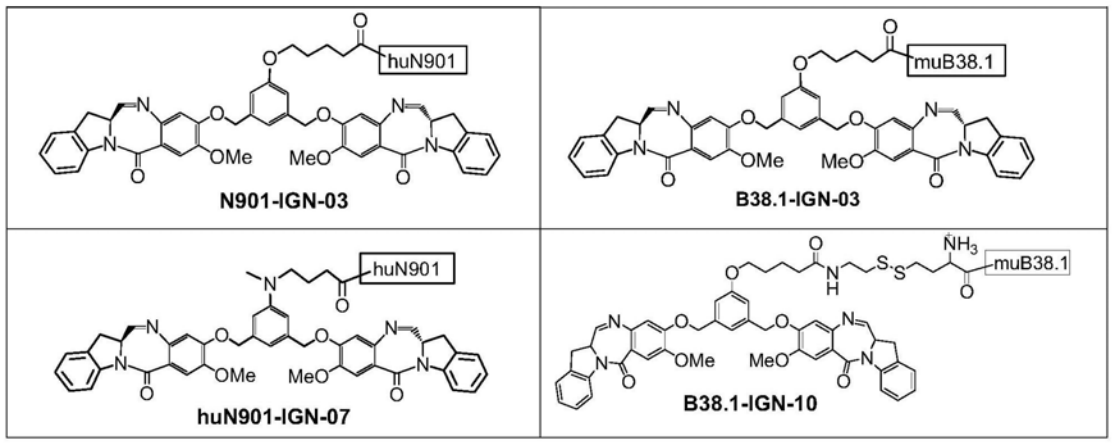


[0675]

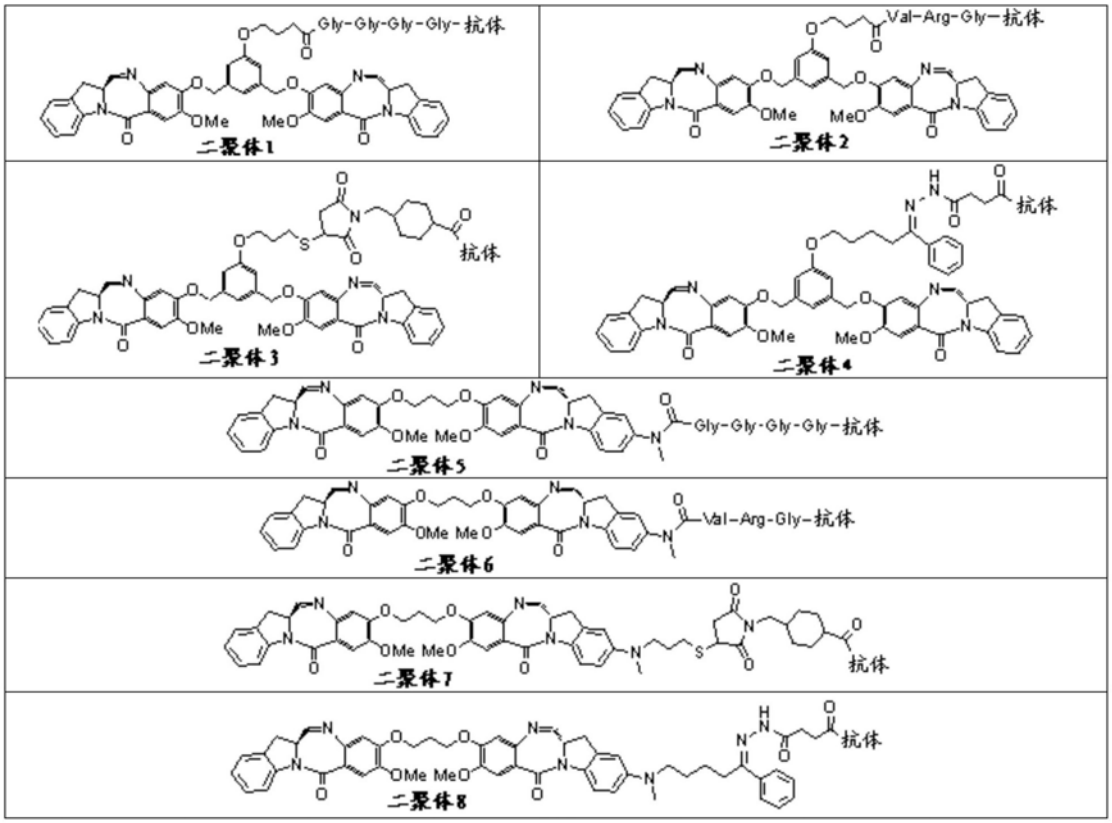


[0676] 表6.本发明代表性轭合物的结构

[0677]

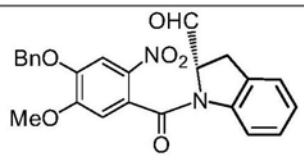
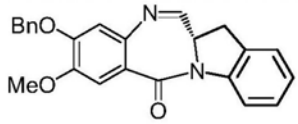
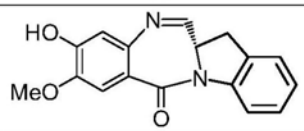
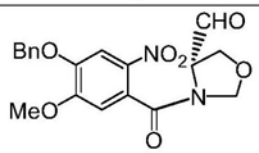
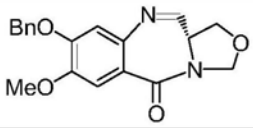


[0678]

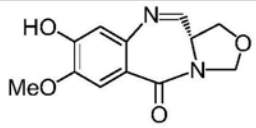
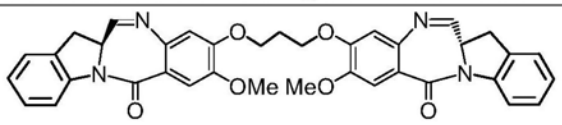
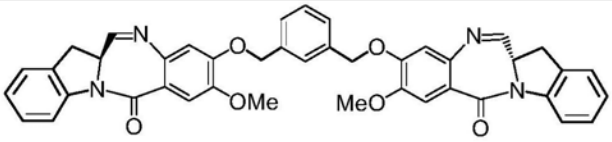
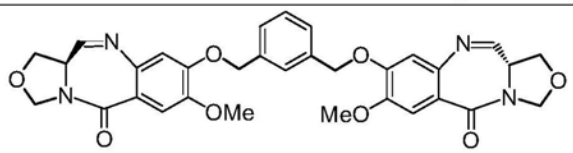
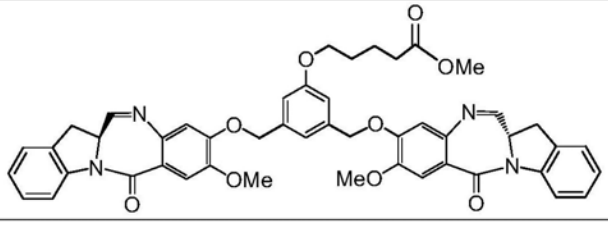


[0679] 表7.来自本发明实施例的化合物的结构

[0680]

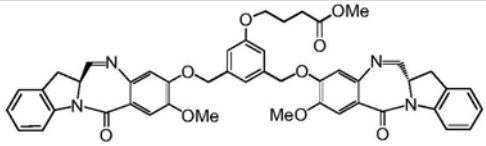
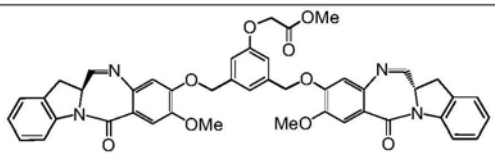
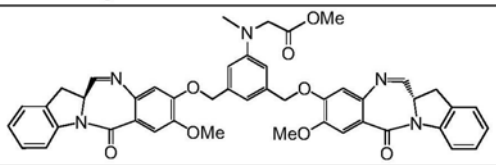
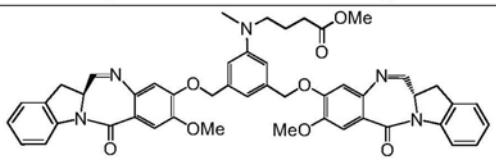
结构	化合物编号	实施例编号
	6	1
	7	1
	8	1
	12	2
	13	2

[0681]

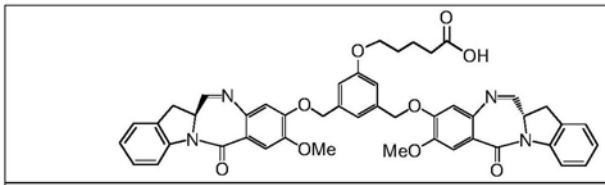
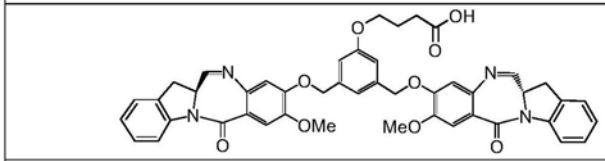
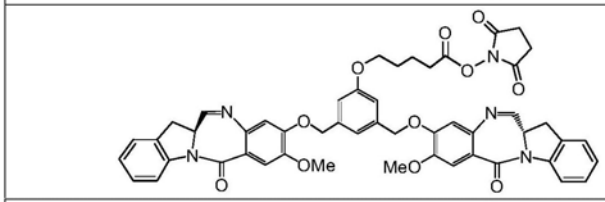
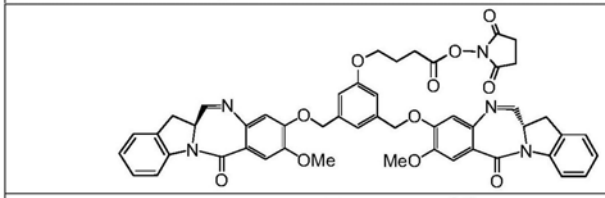
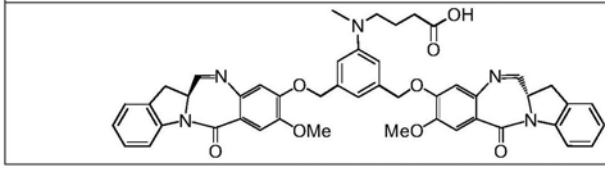
	14	2
	15	3
	18	4
	19	5
	34	6

[0682] 表8.来自本发明实施例的化合物的结构(待续)

[0683]

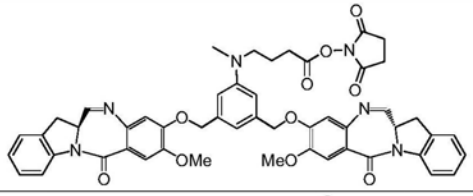
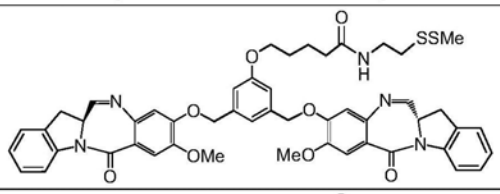
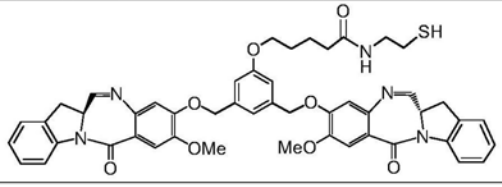
结构	化合物编号	实施例编号
	35	6
	36	6
	39	6
	40	6

[0684]

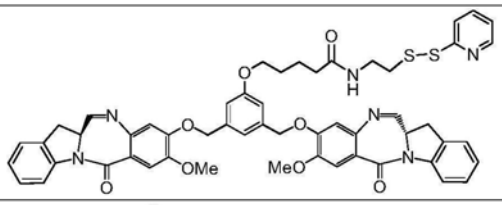
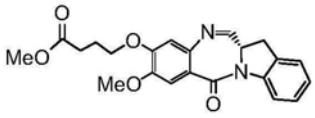
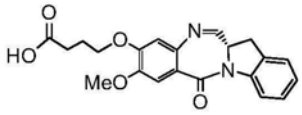
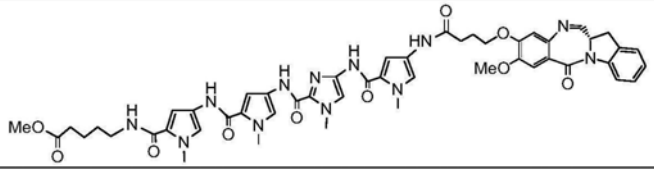
	41	7
	42	7
	43	7
	44	7
	45	7

[0685] 表9.来自本发明实施例的化合物的结构(待续)

[0686]

结构	化合物编号	实施例编号
	46	7
	48	8
	49	8

[0687]

	51	9
	125	10
	126	10
	127	10

[0688] 细胞毒性化合物的合成

[0689] 本发明的代表性单体化合物(由吲哚啉并苯并二氮杂䓬化合物8示例)的制备方法示于图1。从商购可得的吲哚啉-2-羧酸1开始,通过与甲醇中的亚硫酰氯反应以定量收率制备其甲酯2。将吲哚啉-2-羧酸甲酯2与酰氯4、或直接与酸3偶联,以提供酰胺5,用二异丁基氢化铝(DIBAL)将酰胺5进一步还原成醛6。尽管很多方法可用于将式5的硝基官能团还原为相应的氨基,但是在此实施例中,在酸性条件下用甲醇进一步处理后,双硫研酸钠用于方便地将醛6转化为闭环的化合物7。除去苄基保护基以提供单体8。

[0690] 本发明的式14的噁唑烷并苯并二氮杂䓬单体化合物的制备方法示于图2。从商购可得的化合物9开始,通过用甲醇中的亚硫酰氯处理以定量收率制备其甲酯10。将化合物10脱保护,然后与乙酰氯4或直接与酸3偶联以提供酰胺11,酰胺11被进一步转化为醛12。通过在酸性条件下用甲醇进一步处理后,用双硫研酸钠处理,然后有效地转化为闭环的化合物13,从而实现硝基的还原。除去苄基保护基以提供单体14。

[0691] 本发明的代表性二聚体化合物的制备方法示于图3-5和7。通过将式8或式14的单体与具有两个离去基团(例如Br、I、三氟甲基磺酸酯、甲磺酸酯或甲苯磺酸酯)的化合物反应,制备二聚体。

[0692] 通过将甲酯转化为离去基团的相应的反应性酯(例如但不限于,N-羟基琥珀酰亚胺酯、N-羟基酞酰亚胺酯、酞酰亚胺酯、N-羟基磺基-琥珀酰亚胺酯、对-硝基苯基酯、二硝基苯基酯、五氟苯基酯),制备具有可与抗体反应的连接体的二聚体。用于合成可连接二聚体的代表性实例示于图8。经由可还原键或非可还原键能与细胞结合剂连接的具有硫醇或二硫部分的二聚体的合成示于图9和10。通过图11所示的步骤,由苄基醇化合物52实现缺少羰基的B环修饰的单体58。异吲哚啉并单体66可从异吲哚59制备,如图12所概述。连接体也可与吲哚啉并部分直接连接。吲哚啉并-2-羧酸甲酯可经由图13所示的步骤转化为可连接二聚体82。具有PEG部分的可连接二聚体的合成示于图14和15。

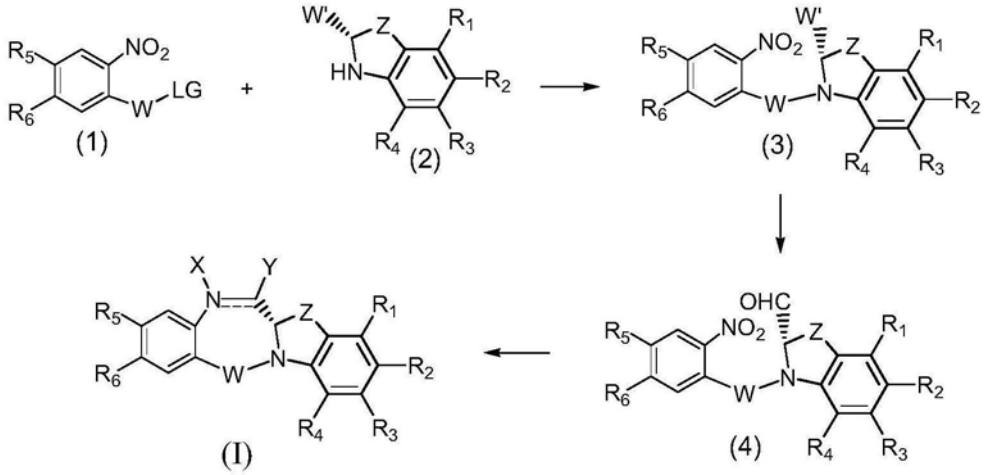
[0693] 因此,在一方面,本发明提供制备用于式(I)的吲哚啉并苯并二氮杂䓬(IBD)单体

的方法(图1),所述方法包括以下步骤:

[0694] a)将式(1)化合物与式(2)化合物偶联,得到式(3)化合物;

[0695] b)将式(3)化合物转化为式(4)的醛;以及

[0696] c)将式(4)化合物转化为式(I)化合物,

[0697] 

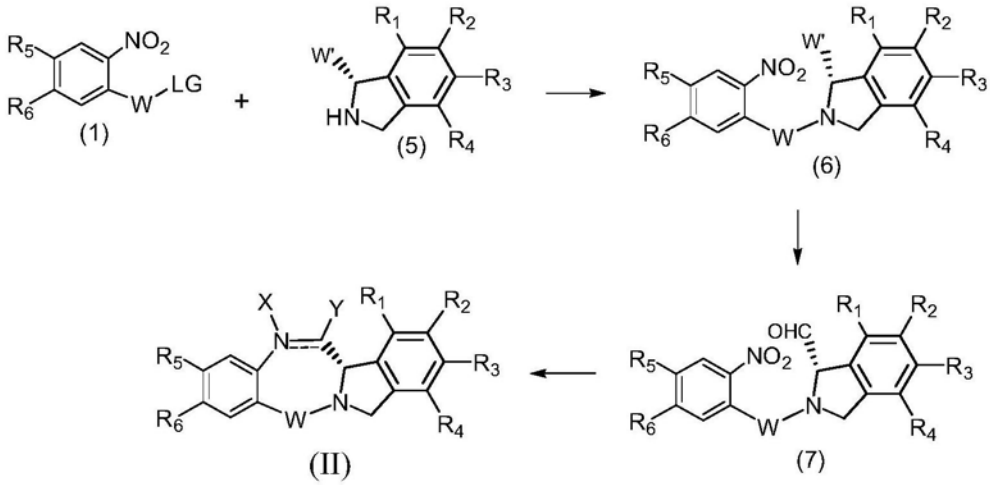
[0698] 其中LG是离去基团;W'是COOR或CH_2OW'',其中R具有与上文相同的定义并且W''是保护基;R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、W、Z、X、Y和==具有与上述相同的定义。

[0699] 本发明的另一方面提供用于制备式(II)化合物的方法,所述方法包括以下步骤:

[0700] a)将式(1)化合物与式(5)化合物偶联,得到式(6)化合物;

[0701] b)将式(6)化合物转化为式(7)的醛;以及

[0702] c)将式(7)化合物转化为式(II)的化合物,

[0703] 

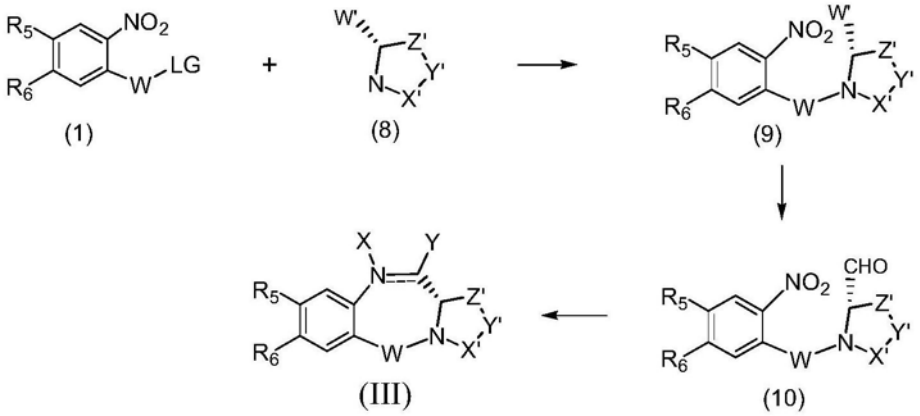
[0704] 其中LG是离去基团;W'是COOR或CH_2OW'',其中R具有与上文相同的定义并且W''是保护基;R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、W、X、Y和==具有与上述相同的定义。

[0705] 本发明的另一方面提供用于制备式(III)化合物的方法,所述方法包括以下步骤:

[0706] a)将式(1)化合物与式(8)化合物偶联,得到式(9)化合物;

[0707] b)将式(9)化合物转化为式(10)的醛;以及

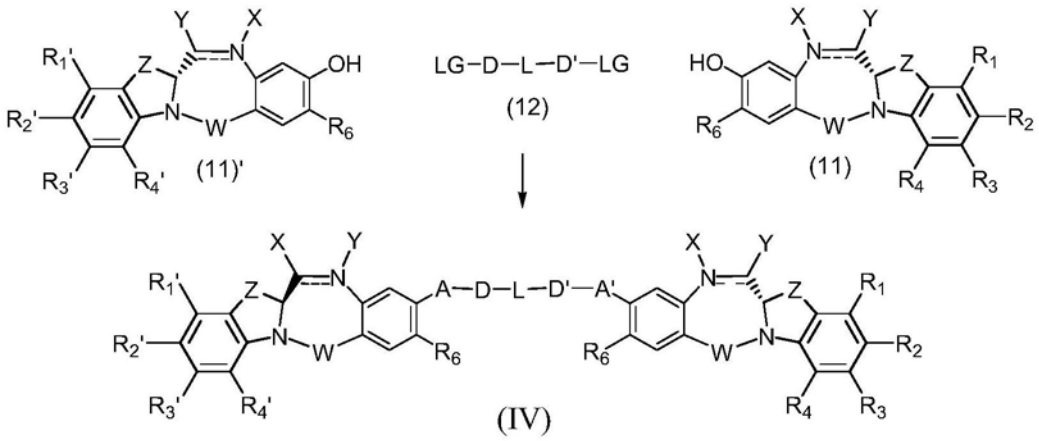
[0708] c)将式(10)化合物转化为式(II)的化合物,

[0709] 

[0710] 其中LG是离去基团;W'是COOR或CH_2OW'',其中R具有与上文相同的定义并且W''是保护基;R_5、R_6、W、X、Y、X'、Y'、Z'和═具有与上述相同的定义。

[0711] 本发明的另一方面提供用于制备式(IV)化合物的方法,所述方法包括以下步骤:

[0712] 将式(11)化合物、式(11)'化合物与式(12)化合物偶联,得到式(IV)化合物,

[0713] 

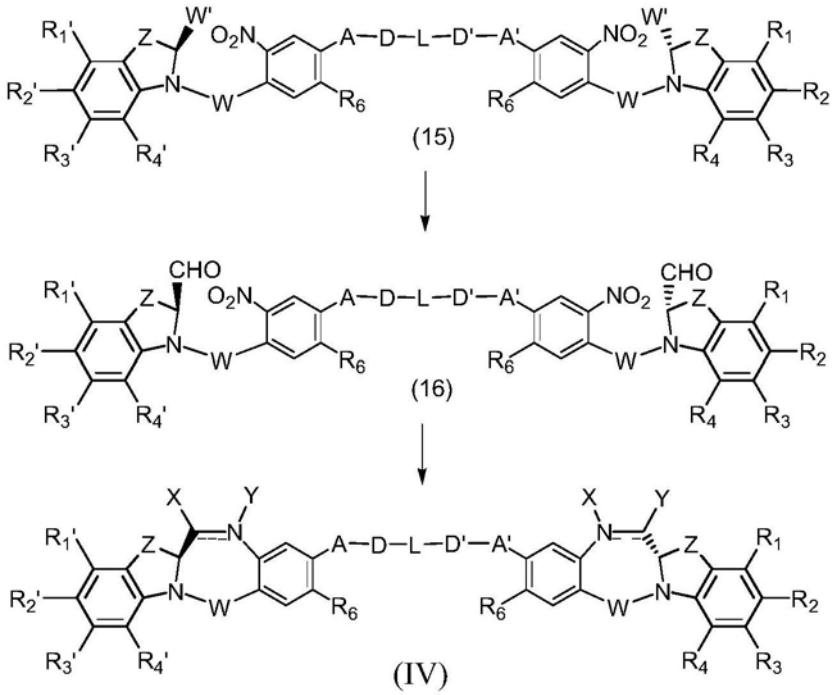
[0714] 其中LG是离去基团;R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'、R_4'、R_6、W、X、Y、Z、A、A'、D、D'、L和═具有与上述相同的定义。

[0715] 本发明的另一方面提供用于制备本发明的式(IV)化合物的替代方法,所述方法包括以下步骤:

[0716] a)将式(15)化合物转化为式(16)的醛;以及

[0717] b)将式(16)化合物转化为式(IV)化合物,

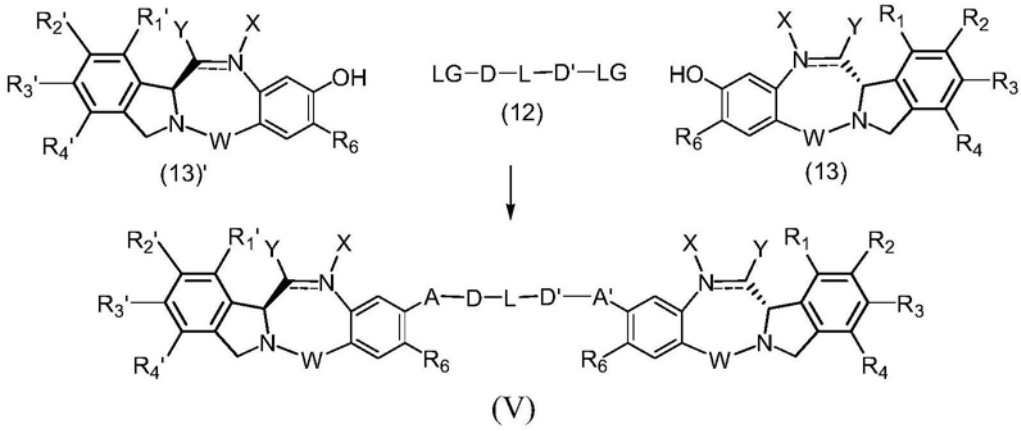
[0718]



[0719] 其中W'是COOR或CH_2OW'',其中R具有与上文相同的定义并且W''是保护基;R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'、R_4'、R_6、W、X、Y、Z、A、A'、D、D'、L和=具有与上述相同的定义。

[0720] 本发明的另一方面提供用于制备式(V)化合物的方法,所述方法包括以下步骤:将式(13)化合物、式(13)'化合物与式(12)化合物偶联以得到式(V)化合物,

[0721]

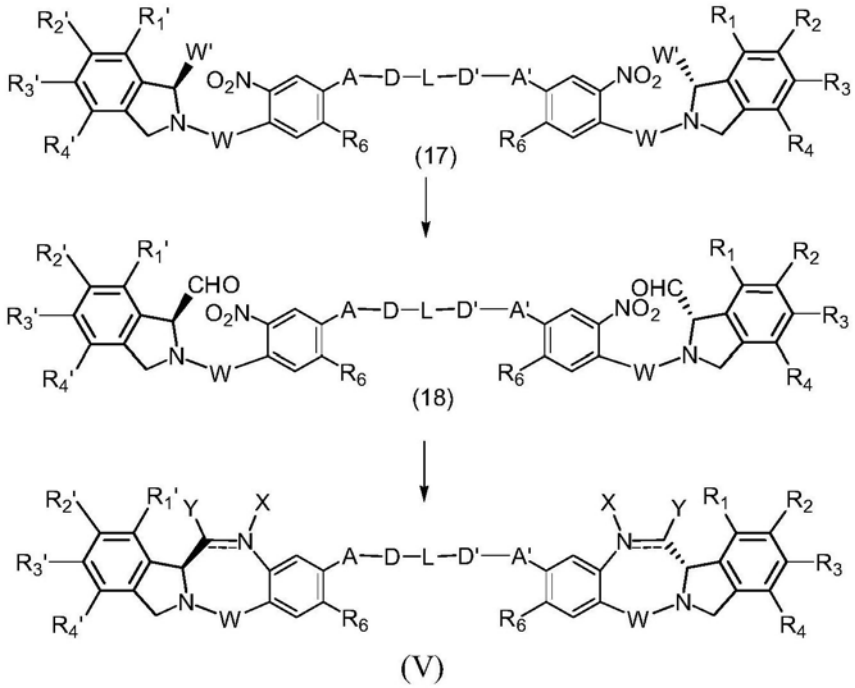


[0722] 其中LG是离去基团;R_1、R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'、R_4'、R_6、W、X、Y、A、A'、D、D'、L和=具有与上述相同的定义。

[0723] 本发明的另一方面提供用于制备本发明的式(V)化合物的替代方法,所述方法包括以下步骤:

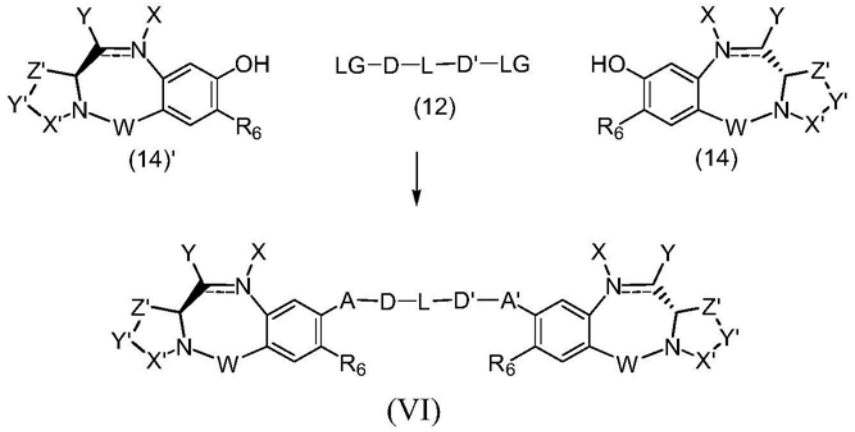
[0724] a)将式(17)化合物转化为式(18)的醛;以及

[0725] b)将式(18)化合物转化为式(V)的化合物,

[0726] 

[0727] 其中W'是COOR或CH_2OW",其中R具有与上文相同的定义并且W"是保护基;R_1,R_2、R_3、R_4、R_1'、R_2'、R_3'、R_4'、R_6、W、X、Y、A、A'、D、D'、L和==具有与上述相同的定义。

[0728] 本发明的另一方面提供用于制备本发明的式(VI)化合物的方法,所述方法包括以下步骤:将式(14)化合物、式(14)'化合物和式(12)化合物偶联以得到式(VI)化合物,

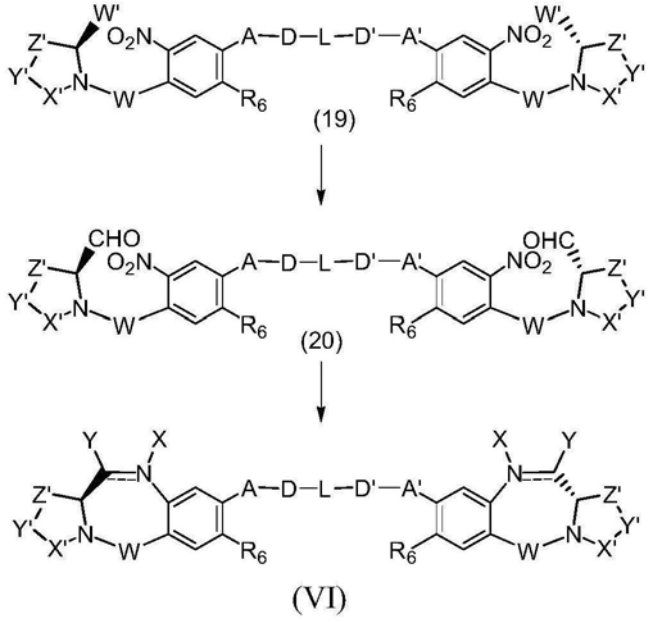
[0729] 

[0730] 其中LG是离去基团;R_6、W、X、Y、X'、Y'、Z'、A、A'、D、D'、L和==具有与上述相同的定义。

[0731] 本发明的另一方面提供用于制备本发明的式(VI)化合物的方法,所述方法包括以下步骤:

[0732] a)将式(19)化合物转化为式(20)的醛;以及

[0733] b)将式(20)化合物转化为式(VI)化合物,

[0734] 

[0735] 其中W'是COOR或CH_2OW",其中R具有与上文相同的定义并且W"是保护基;R_6、W、X、Y、X'、Y'、Z'、A、A'、D、D'、L和==具有与上述相同的定义。

[0736] 化合物的体外细胞毒性

[0737] 可以针对本发明的细胞毒性化合物(例如,吲哚啉并苯并二氮杂䓬或噁唑烷并苯并二氮杂䓬)、其衍生物、其二聚体或其轭合物的体外抑制各种癌性细胞系的增殖的能力,评价它们的体外细胞毒性(图31、32中的表1、2)。例如,细胞系(例如人乳腺癌细胞系SK-Br-3、或人表皮样癌细胞系KB)可用于评估这些新化合物的细胞毒性。可将待评价的细胞暴露于化合物达72小时,并且通过已知方法在直接测定中测量细胞的存活分数。IC_{50}值然后可由测定值计算。

[0738] 对一组癌细胞系测试的本发明化合物的体外细胞毒性的实例以及它们的数据示于表1。测试的所有吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体化合物高度有效,IC_{50}值在低皮摩尔范围内。IGN-09保留大多数其对多药抗性细胞系例如COLO205-MDR的效能(IC_{50}仅比COLO205高4倍)。本发明的化合物的细胞毒性是用于癌症治疗的其它DNA相互影响药物(例如多柔比星、美法仑和顺铂)的1000至10,000倍。在直接比较中,将具有非连接体的化合物IGN1(化合物18)和IGN09(化合物15)的效能与具有连接体的化合物IGN03(化合物34)和IGN05(化合物36)比较,测试它们针对代表性细胞系Ramos的效能。如表2所示,所有四种化合物高度有效,IC_{50}值小于1皮摩尔,表明连接体的掺合不影响效能。

[0739] 细胞结合剂

[0740] 本发明的化合物(例如,吲哚啉并苯并二氮杂䓬或噁唑烷并苯并二氮杂䓬)、其衍生物、其二聚体或其轭合物作为治疗剂的有效性取决于仔细选择适当的细胞结合剂。细胞结合剂可以是目前已知的或者变成已知的任何种类,并且还包括肽和非肽。通常,这些可以是抗体(尤其是单克隆抗体)、淋巴因子、激素、生长因子、维生素、营养素转运分子(例如转铁蛋白)、或任何其它细胞结合分子或物质。

[0741] 可以使用的细胞结合剂的更具体的实例包括：

[0742] 多克隆抗体；

[0743] 单克隆抗体；

[0744] 抗体片段例如Fab、Fab'和F(ab')$_2$、Fv(Parham,J.Immunol.131:2895-2902(1983)；Spring等人J.Immunol.113:470-478(1974)；Nisonoff等人Arch.Biochem.Biophys.89:230-244(1960))；

[0745] 干扰素(例如α-、β-、γ-)；

[0746] 淋巴因子例如IL-2、IL-3、IL-4、IL-6；

[0747] 激素例如胰岛素、TRH(促甲状腺激素释放激素)、MSH(黑素细胞刺激激素)、类固醇激素,例如雄激素和雌激素；

[0748] 生长因子和集落刺激因子例如EGF、TGF-α、FGF、VEGF、G-CSF、M-CSF和GM-CSF(Burgess,Immunology Today 5:155-158(1984))；

[0749] 转铁蛋白(O'Keefe等人J.Biol.Chem.260:932-937(1985))；和

[0750] 维生素,例如叶酸盐。

[0751] 单克隆抗体技术允许生产极高特异性的以特异性单克隆抗体形式的细胞结合剂。尤其在本领域中众所周知的是通过用目标抗原例如完整靶细胞、分离自靶细胞的抗原、全病毒、减弱的全病毒以及病毒蛋白质(例如病毒壳蛋白质)使小鼠、大鼠、仓鼠或任何其它哺乳动物免疫而产生单克隆抗体的技术。也可以使用致敏人细胞。产生单克隆抗体的另一种方法是使用scFv(单链可变区),特别是人scFv的噬菌体文库(参见例如,Griffiths等人,美国专利No.5,885,793和5,969,108;McCafferty等人,WO 92/01047;Liming等人,WO 99/06587)。此外,也可使用在美国专利No.5,639,641中公开的表面重塑抗体,如嵌合抗体和人化抗体。适当的细胞结合剂的选择是取决于待靶向的特定细胞种群的选择的问题,但是一般而言如果适当的抗体是可用的,优选人单克隆抗体。

[0752] 例如,单克隆抗体MY9是与CD33抗原特异性结合的鼠IgG$_1$抗体{J.D.Griffin等人8Leukemia Res.,521(1984)}并且如果靶细胞表达在急性骨髓性白血病(AML)的疾病中的CD33,则可以使用单克隆抗体MY9。同样地,单克隆抗体抗-B4是在B细胞上与CD19抗原结合的鼠IgG$_1${Nadler等人,131J.Immunol.244-250(1983)}并且如果靶细胞是B细胞或例如在非霍奇金淋巴瘤中表达这种抗原的患病细胞,或慢性淋巴母细胞白血病HuB4是源自鼠抗-B4抗体的表面重塑抗体,则可以使用单克隆抗体抗-B4(Roguska等人,1994,Proc.Natl.Acad.Sci.,91,第969-973页)。HuN901是与在小细胞肺癌、多发性骨髓瘤、卵巢癌和其它实体肿瘤(包括神经内分泌癌症)上表达的CD56抗原结合的人化抗体(Roguska等人,1994,Proc.Natl.Acad.Sci.,91,第969-973页)。B38.1是靶向EpCAM的嵌合抗体。也可以使用靶向在数种实体肿瘤上表达的EGF受体的全人抗体,例如帕尼单抗(panitumumab)(Van Cutsem等人,J Clin Oncol.2007;25(13):1658-1664)。包含本发明的轭合物和修饰的细胞结合剂的细胞结合剂可以是目前已知的或变成已知的任何种类,并且还包括肽和非肽。细胞结合剂可以是可以以特异性或非特异性方式结合细胞的任何化合物。通常,这些可以是抗体(特别是单克隆抗体和抗体片段)、干扰素、淋巴因子、激素、生长因子、维生素、营养素转运分子(例如转铁蛋白)或任何其它细胞结合分子或物质。

[0753] 当细胞结合剂是抗体时,其与为多肽的抗原结合并且可以是跨膜分子(例如受体)

或配体例如生长因子。示例性抗原包括分子例如肾素;生长激素,包括人生长激素和牛生长激素;生长激素释放因子;甲状旁腺素激素;甲状腺刺激激素;脂蛋白;α-1-抗胰蛋白酶;胰岛素A-链;胰岛素B-链;胰岛素原;滤泡刺激激素;降钙素;促黄体激素;胰高血糖素;凝血因子例如因子vmc、因子IX、组织因子(TF)和血管性假性血友病因子(von Willebrands factor);抗-凝血因子例如蛋白质C;心房利尿钠因子;肺表面活性剂;纤溶酶原激活物,例如尿激酶或人尿或组织型纤溶酶原激活剂(t-PA);铃蟾肽;凝血酶;造血生长因子;肿瘤坏死因子-α和-β;脑啡肽酶;RANTES(调节活化正常T细胞表达和分泌的因子);人巨噬细胞炎症性蛋白(MIP-1-α);血清白蛋白,例如人血清白蛋白;苗勒氏管抑制物质;松弛素A-链;松弛素B-链;prorelaxin;小鼠促性激素相关肽;微生物蛋白,例如β-内酰胺酶;DNA酶;IgE;细胞毒性T淋巴细胞相关抗原(CTLA),例如CTLA-4;抑制素;激活素;血管内皮生长因子(VEGF);激素或生长因子受体;蛋白质A或D;类风湿因子;神经营养因子,例如骨源性神经营养因子(BDNF)、神经营养因子-3、-4、-5或-6(NT-3、NT4、NT-5或NT-6)、或神经生长因子例如NGF-β;血小板源性生长因子(PDGF);成纤维细胞生长因子例如aFGF和bFGF;表皮生长因子(EGF);转化生长因子(TGF)例如TGF-α和TGF-β,包括TGF-β1、TGF-β2、TGF-β3、TGF-β4或TGF-β5;胰岛素样生长因子-I和-II(IGF-I和IGF-II);des(1-3)-IGF-I(脑IGF-I)、胰岛素样生长因子结合蛋白、EpCAM、GD3、FLT3、PSMA、PSCA、MUC1、MUC16、STEAP、CEA、TENB2、EphA受体、EphB受体、叶酸盐受体、FOLR1、间皮素(mesothelin)、cripto、$\alpha_v\beta_6$、整联蛋白、VEGF、VEGFR、转铁蛋白受体、IRTA1、IRTA2、IRTA3、IRTA4、IRTA5;CD蛋白质例如CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD14、CD19、CD20、CD21、CD22、CD25、CD26、CD28、CD30、CD33、CD36、CD37、CD38、CD40、CD44、CD52、CD55、CD56、CD59、CD70、CD79、CD80、CD81、CD103、CD105、CD134、CD137、CD138、CD152或在美国公开No.20080171040或美国公开No.20080305044公开的与一种或多种肿瘤相关抗原或细胞表面受体结合的抗体,所述美国公开通过引用全文并入;红细胞生成素;骨诱导因子;免疫毒素;骨形态发生蛋白(BMP);干扰素,例如干扰素-α、-β和-γ;集落刺激因子(CSF),例如M-CSF、GM-CSF和G-CSF;白细胞介素(IL),例如IL-1至IL-10;超氧化物歧化酶;T细胞受体;表面膜蛋白质;衰变加速因子;病毒抗原,例如HIV包被蛋白的一部分;转运蛋白;归巢受体;地址素;调节蛋白质;整联蛋白,例如CD11a、CD11b、CD11c、CD18、ICAM、VLA-4和VCAM;肿瘤相关抗原,例如HER2、HER3或HER4受体;任意上述列出的多肽的片段。

[0754] 此外,与髓样细胞结合的GM-CSF可用作来自急性骨髓性白血病的患病细胞的细胞结合剂。与活化T细胞结合的IL-2可用于预防移植排斥、用于治疗和预防移植物抗宿主病以及用于治疗急性T细胞白血病。与黑素细胞结合的MSH可用于治疗黑素瘤。叶酸可用于靶向在卵巢和其它肿瘤上表达的叶酸盐受体。表皮生长因子可用于靶向鳞癌例如肺鳞癌以及头和颈鳞癌。生长抑素可用于靶向神经母细胞瘤和其它肿瘤类型。

[0755] 乳腺癌和睾丸癌可分别用雌激素(或雌激素类似物)或雄激素(或雄激素类似物)作为细胞结合剂顺利地靶向。

[0756] 细胞毒性轭合物的生产

[0757] 本发明还提供细胞毒性化合物-细胞结合剂轭合物,其包含经由多种连接体与一种或多种细胞毒性化合物连接的细胞结合剂,所述连接体包括但不限于,二硫化物连接体、硫醚连接体、酰胺键合的连接体、肽酶敏感性连接体、酸敏感性连接体、酯酶敏感性连接体。本发明的代表性细胞毒性轭合物是抗体/细胞毒性化合物、抗体片段/细胞毒性化合物、表

皮生长因子(EGF)/细胞毒性化合物、黑素细胞刺激激素(MSH)/细胞毒性化合物、甲状腺刺激激素(TSH)/细胞毒性化合物、生长抑素/细胞毒性化合物、叶酸盐/细胞毒性化合物、雌激素/细胞毒性化合物、雌激素类似物/细胞毒性化合物、雄激素/细胞毒性化合物、以及雄激素类似物/细胞毒性化合物。

[0758] 在优选的实施方案中，本发明提供吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体-细胞结合剂轭合物，其包含通过共价键连接的细胞毒性剂和细胞结合剂。连接体可在肿瘤/不需要的增殖细胞的部位断裂，从而以多种方式将细胞毒性剂递送至其靶点。连接体例如通过低pH(腙)、还原性环境(二硫化物)、蛋白酶解(酰胺/肽键)或通过酶促反应(酯酶/糖苷酶)断裂。

[0759] 在优选的方面，本发明的代表性细胞毒性轭合物是抗体/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体、抗体片段/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体、表皮生长因子(EGF)/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体、黑素细胞刺激激素(MSH)/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体、甲状腺刺激激素(TSH)/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体、生长抑素/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体、叶酸盐/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体、雌激素/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体、雌激素类似物/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体、前列腺特异性膜抗原(PSMA)抑制剂/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体、蛋白裂解酶抑制剂/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体、设计的锚蛋白重复蛋白(DARP)/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体、雄激素/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体和雄激素类似物/吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体。

[0760] 含有二硫化物的细胞毒性轭合物可通过将含有硫醇的细胞毒性剂(例如49)与适当修饰的细胞结合剂反应而制备。可以通过使用凝胶过滤、离子交换色谱法、陶瓷羟基磷灰石(CHT)色谱法、疏水相互作用色谱法(CHT)、切向流过滤(TFF)、或通过HPLC纯化这些轭合物以除去非连接的细胞毒性剂。

[0761] 抗体在含水缓冲液中的溶液可与摩尔过量的抗体修饰剂例如N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)或N-琥珀酰亚胺基-4-(2-吡啶基二硫基)丁酸酯(SPDB)孵育以引入二硫基吡啶基。然后将修饰抗体与含有硫醇的细胞毒性剂例如化合物49反应以生产二硫化物连接的抗体-吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体轭合物。细胞毒性剂-细胞结合剂轭合物然后可使用任何上述方法纯化。

[0762] 可选地，抗体可与摩尔过量的抗体修饰剂例如2-亚氨基硫杂环戊烷、L-高半胱氨酸硫代内酯(或衍生物)、或N-琥珀酰亚胺基-S-乙酰基硫代乙酸酯(SATA)孵育以引入巯基。修饰抗体然后与适当的含有二硫化物的细胞毒性剂例如化合物51反应以引入二硫化物连接的抗体-细胞毒性剂轭合物。抗体-细胞毒性剂轭合物然后可通过凝胶过滤或其它上述方法纯化。

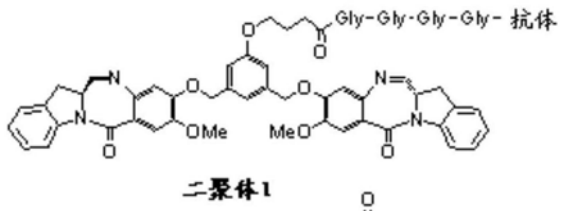
[0763] 每抗体分子结合的细胞毒性分子的数目可用分光光度法通过测量在280nm和330nm的吸光度的比值来确定。1-10个细胞毒性分子/抗体分子可通过这种方法连接。连接的细胞毒性分子/抗体分子的优选的平均数为2-5，最优选为3-4.5。

[0764] 可选地，抗体在含水缓冲液中的溶液可与摩尔过量的抗体-修饰剂例如N-琥珀酰亚胺基-4-(N-马来酰亚胺甲基)-环己烷-1-羧酸酯孵育以引入马来酰亚胺，或可与N-琥珀酰亚胺基-4-(碘代乙酰基)-氨基苯甲酸酯(SIAB)孵育以引入碘代乙酰基。修饰的抗体然后与含有硫醇的细胞毒性剂反应以生成硫醚连接的抗体-细胞毒性轭合物。抗体-细胞毒性轭合物然后可通过凝胶过滤或其它上述方法或本领域技术人员已知的方法纯化。

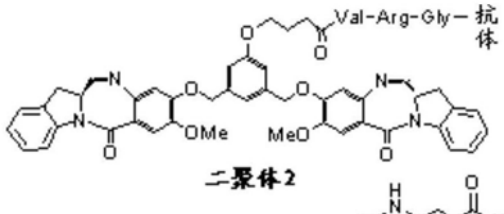
[0765] 含有终止于N-羟基琥珀酰亚胺基(NHS)酯的连接体的细胞毒性剂例如化合物43、44和46可与抗体反应以引入直接酰胺连接的轭合物，例如huN901-IGN-03和huN901-IGN-07。抗体-细胞毒性剂轭合物然后可通过凝胶过滤或其它上述方法纯化。

[0766] 下述细胞结合剂/细胞毒性剂轭合物可使用适当的连接体来制备。具有肽可裂解的连接体的二聚体1和2可由相应的NHS酯制备，二聚体3可通过将适当的含有硫醇的细胞毒性剂与SMCC修饰的细胞结合剂反应而制备，以及酸敏感性腙二聚体4可通过含有烷基、芳基酮的细胞毒性剂与酰肼修饰的细胞结合剂缩合而制备。

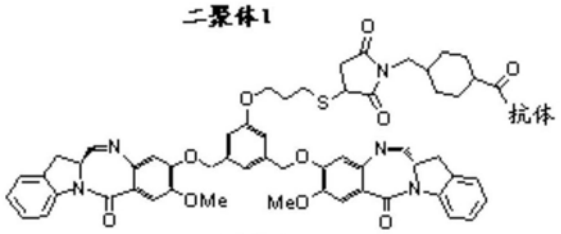
[0767]



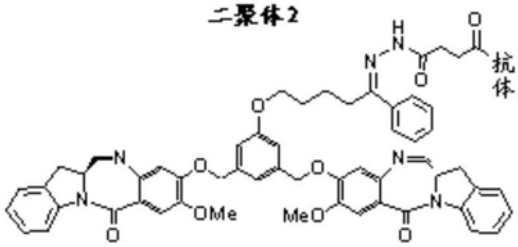
二聚体1



二聚体2

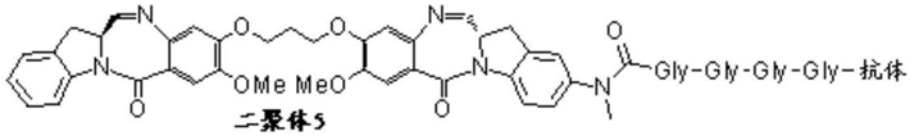


二聚体3

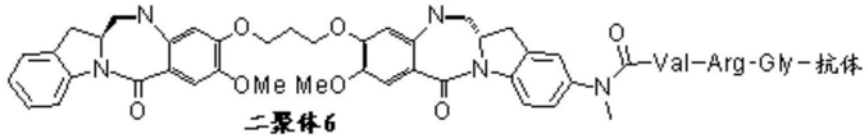


二聚体4

[0768] 不对称吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体轭合物例如二聚体5-8也可用与上文所述的类似的方法来制备。

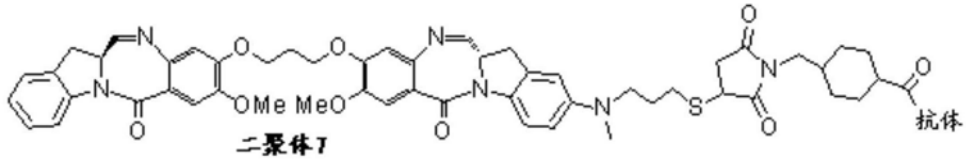


二聚体5

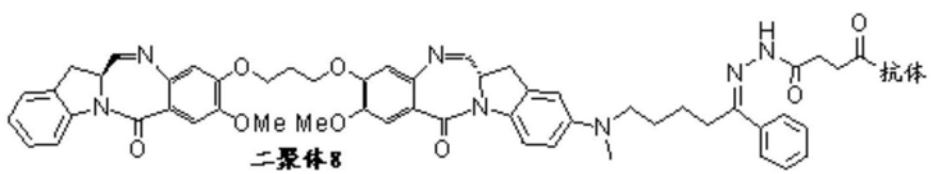


二聚体6

[0769]



二聚体7



二聚体8

[0770] 可以评价本发明的细胞结合剂与细胞毒性剂的轭合物体外抑制各种不需要的细

胞系的增殖的能力。例如，细胞系例如人结肠癌系COLO205、横纹肌肉瘤细胞系RH-30和多发性骨髓瘤细胞系MOLP-8可用于评估这些轭合物的细胞毒性。待评价的细胞可以暴露于化合物1-5天，并且通过已知方法在直接测定中测量细胞的存活分数。IC_{50}值然后可由测定结果计算。

[0771] 本发明的抗体-细胞毒性剂轭合物的体外效能和靶特异性的实例示于图21-26。细胞毒性剂/抗体比率为1-3的所有轭合物对抗原阳性癌症细胞具有极高细胞毒性，IC_{50}在低皮摩尔范围内。抗原阴性细胞系当暴露于同一轭合物时保持存活。吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体的轭合物与抗体huN901(抗-CD56)和muB38.1(抗-EpCAM)的靶特异性是>1000。例如，B38.1-IGN-3轭合物杀死抗原阳性COLO 205细胞，其中IC_{50}值为1.86pM，而抗原阴性Namalwa细胞系的敏感性低约200倍，其中IC_{50}值为336.3pM，表明抗原特异性。此外，轭合物对多药抗性COLO 205MDR细胞也高度有效，其中IC_{50}值为16pM。类似地，huN901-IGN3轭合物高度有效，其中抗原阳性RH30细胞的IC_{50}值为15pM(图22)。另外过量的未轭合的huN901抗体废除这种细胞毒性效应(IC_{50}>3nM)，表明抗原-特异性。另一种huN901-IGN轭合物(huN901-IGN-07)也对表达RH-30细胞的抗原表现出高效能，其中载药量独立于细胞毒性和对于具有1.2、2.0和3.0个连接药物/抗体分子的轭合物的IC_{50}值分别为16pm、3pM和2pM(图23)。用对抗原阳性Molp-8细胞的huN901-IGN07和huN901-IGN03获得类似结果。对于1.2、2.0和3.0的IGN07负载，Hu901-IGN07得到的IC_{50}值分别为5pM、3pM和2pM(图24)。huN901-IGN07和IGN03轭合物对抗原阴性的Namalwa细胞的有效性大幅减少，IC_{50}值范围为1000pM至>3000pM(图25)。B38.1-IGN10轭合物也特异性有效地杀死抗原阳性COLO 205细胞，其中IC_{50}为17pM，而对于抗原阴性Ramos细胞，则有效性下降(170pM)(图26)。

[0772] 在一个实例中，测量细胞结合剂/细胞毒性剂轭合物的体内效力。具有人MOLP-8肿瘤的裸小鼠用huN901-IGN-07轭合物处理，并且相比之下，观察到显著的肿瘤消退，未治疗小鼠肿瘤生长快速(图27)。

[0773] 本发明的吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体结合并且烷基化在相隔4个碱基对的相反链上含有鸟嘌呤残基的双链DNA(dsDNA)。图28-30呈示来自反相离子对色谱法测定的数据，显示IGN-01、IGN-02和IGN-09与dsDNA结合与交联的速率。吲哚啉并基团(IGN-01)比噁唑基团(IGN-02)优先快速的DNA结合和链间交联(ICL)。IGN1-DNA加成物形成的初始速率取决于DNA序列。IGN1与含有内部GATC基序的DNA的结合比与具有GTAC序列的DNA的结合更快。用脱氧肌苷(I)(不含C-2氨基)代替鸟嘌呤(G)的DNA探针显示不与IGN-1反应(图29)。

[0774] 本发明的各种化合物针对一组细胞系的IC_{50}值列于图31中。本发明的可连接和不可连接的化合物的体外效能的比较示于图32。连接体的并入不显著影响母化合物的效能。

[0775] 组合物和使用方法

[0776] 本发明还包括组合物(例如，药物组合物)，其包含新型苯并二氮杂䓬化合物(例如，吲哚啉并苯并二氮杂䓬或噁唑烷并苯并二氮杂䓬)、其衍生物或其轭合物(和/或其溶剂合物、水合物和/或盐)和载体(可药用载体)。本发明还包括组合物(例如，药物组合物)，其包含新型苯并二氮杂䓬化合物、其衍生物或其轭合物(和/或其溶剂合物、水合物和/或

盐)和载体(可药用载体),还包含第二治疗剂。本发明组合物可用于抑制哺乳动物(例如,人)中的异常细胞生长或治疗增殖性病症。本发明组合物也可用于治疗哺乳动物(例如,人)中的抑郁、焦虑、应激、恐怖症、惊恐、烦躁不安、精神疾病、痛苦和炎性疾病。

[0777] 本发明还包括抑制哺乳动物(例如,人)中的异常细胞生长或治疗增殖性病症的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用单独或与第二治疗剂组合的治疗有效量的新型苯并二氮杂䓬化合物(例如,吲哚啉并苯并二氮杂䓬或噁唑烷并苯并二氮杂䓬)、其衍生物或其轭合物(和/或其溶剂合物和盐)或其组合物。

[0778] 本发明还提供治疗方法,包括向需要治疗的个体施用有效量的任何上述轭合物。

[0779] 同样地,本发明提供用于在选择的细胞种群中诱导细胞死亡的方法,所述方法包括将靶细胞或含有靶细胞的组织与有效量的细胞毒性剂接触,所述细胞毒性剂包含本发明的任何细胞毒性化合物-细胞结合剂(例如,与细胞结合剂连接的吲哚啉并苯并二氮杂䓬或噁唑烷并苯并二氮杂䓬二聚体)、其盐或溶剂合物。靶细胞是可与细胞结合剂结合的细胞。

[0780] 如有需要,其它活性剂(例如其它抗肿瘤剂)可与轭合物一起施用。

[0781] 适合的可药用的载体、稀释剂和赋形剂是众所周知的,并且可由本领域普通技术人员按临床表现凭证确定。

[0782] 适合的载体、稀释剂和/或赋形剂的实例包括:(1)Dulbecco磷酸盐缓冲盐水,pH约7.4,含有或不含约1mg/ml至25mg/ml人血清白蛋白、(2)0.9%盐水(0.9%w/v NaCl)和(3)5%(w/v)葡萄糖;并且还可包含抗氧化剂例如色胺和稳定剂例如Tween 20。

[0783] 用于这些选择的细胞种群中诱导细胞死亡的方法可在体外、体内或离体实施。

[0784] 体外应用的实例包括在将自体骨髓移植到同一患者中之前进行自体骨髓治疗以便杀死患病细胞或恶性细胞:在进行骨髓移植之前进行骨髓的治疗以便杀死感受态T细胞和预防移植物抗宿主病(GVHD);进行细胞培养物治疗以便杀死除不表达靶抗原的所需变体之外的所有细胞;或以便杀死表达不需要抗原的变体。

[0785] 非临床体外用途的条件由本领域普通技术人员容易确定。

[0786] 临床离体应用的实例是在癌症治疗或自身免疫疾病治疗中的自体移植之前从骨髓移除肿瘤细胞或淋巴细胞,或者在移植之前从自体或异源骨髓或组织移除T细胞和其它淋巴细胞以便防止GVHD。可如下进行治疗。从患者或其它个体中收获骨髓,然后在约37℃、在加入有浓度范围为约10μM至1pM的本发明细胞毒性剂的、含有血清的培养基中孵育约30分钟至约48小时。孵育的浓度和时间(即剂量)的确切条件由本领域普通技术人员容易确定。在孵育后,用含有血清的培养基洗涤骨髓细胞,并且根据已知方法静脉内送回患者。在患者接受其它治疗(例如烧蚀化疗过程或在收获骨髓时间与再输注受治疗的细胞之间进行的全身照射)的情况下,使用标准医疗器械在液氮中冷冻贮存受治疗的骨髓细胞。

[0787] 对于临床体内应用,本发明的细胞毒性剂将以溶液或冻干粉末形式提供,其被测试用于不育和内毒素水平。适合的轭合物施用方案的实例如下。以静脉内推注形式每周给予轭合物,持续4周。在可加有5至10ml人血清白蛋白的50至1000ml正常盐水中给予推注剂量。每次施用的剂量将为10μg至2000mg,静脉内施用(范围为每天100ng至20mg/kg)。治疗四

周后，患者可继续接受每周的治疗。关于施用途径、赋形剂、稀释剂、剂量、时间等的具体临床方案可由本领域普通技术人员按临床表现凭证确定。

[0788] 可根据在选择的细胞种群中诱导细胞死亡的体内或离体方法治疗的医疗条件的实例包括任何类型的恶性肿瘤(包括，例如肺癌、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、肾癌、胰腺癌、卵巢癌和淋巴器官癌)；自身免疫疾病，例如全身性红斑狼疮、类风湿性关节炎和多发性硬化；移植物排斥，例如肾移植排斥、肝移植排斥、肺移植排斥、心脏移植排斥和骨髓移植排斥；移植物抗宿主病；病毒感染，例如CMV感染、HIV感染、AIDS等；以及寄生虫感染，例如贾第鞭毛虫病、阿米巴病、血吸虫病和由本领域普通技术人员确定的其它寄生虫感染。

[0789] 癌症治疗及其剂量、施用途径和推荐用法在本领域中已知并且在文献如Physician's Desk Reference(PDR)中描述。PDR公开了已用于治疗各种癌症的活性剂的剂量。给药方案和这些上述化疗药物的治疗有效剂量将取决于被治疗的具体癌症、疾病程度和本领域熟练内科医生所熟悉的其它因素，并且可以由内科医生确定。PDR的内容通过引用全部明确地并入本文。本领域技术人员可使用下述参数中的一个或多个参数来检查PDR，以确定给药方案以及可按照本发明教义使用的化学治疗剂和轭合物的剂量。这些参数包括：

[0790] 综合指数

[0791] 制造商

[0792] 产品(公司的药名或作为商标登记的药名)

[0793] 类别指数

[0794] 通用/化学指数(非商标常用药名)

[0795] 药疗法的颜色图像

[0796] 产品信息(与FDA标签一致)

[0797] 化学信息

[0798] 功能/作用

[0799] 适应症和禁忌症

[0800] 试验研究、副作用、警示

[0801] 类似物和衍生物

[0802] 细胞毒性剂领域的技术人员将容易理解本文所述的每种细胞毒性剂可以以这样的方式进行修饰，以使所得化合物仍保留起始化合物的特异性和/或活性。熟练技术人员也应理解很多可以使用这些化合物代替本文所述的细胞毒性剂。因此，本发明的细胞毒性剂包括本文所述的化合物的类似物和衍生物。

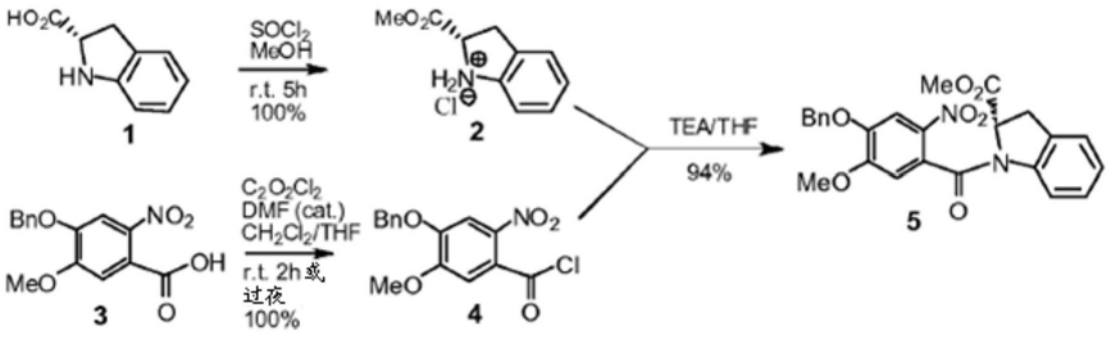
[0803] 本文引用的所有参考文献和下面的实施例通过引用全文明确地并入。

实施例

[0804] 现在通过引用非限制性实例对本发明进行举例说明。除非另有说明，所有百分数、比率、部分等均按重量计。所有试剂购自Aldrich Chemical Co.,New Jersey或其它商业来源。在Bruker 400MHz仪器上获得核磁共振(^{1}H NMR)光谱，在使用电喷雾离子化在Bruker Daltonics Esquire 3000仪器上获得质谱。

[0805] 实施例1

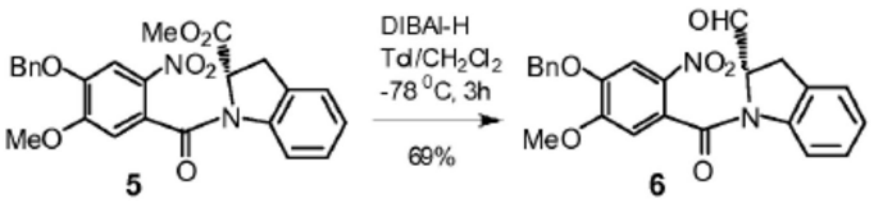
[0806] (2S)-1-[5-甲氧基-2-硝基-4-(苯基甲氧基)-苯甲酰基]-2-吲哚啉羧酸甲酯5：

[0807] 

[0808] 在室温、向搅拌的4-苄氧基-5-甲氧基-2-硝基苯甲酸3(7.01g,23.1mmol)在无水二氯甲烷(100mL)和THF(10mL)中的溶液加入草酰氯(4.1mL,46.2mmol)和DMF(30μL,0.38mmol)。加入DMF后形成大量气泡。将混合物搅拌过夜(通常在3小时内结束反应),然后通过真空旋转蒸发除去溶剂。通过加入无水二氯甲烷和高真空将残余物再一次共蒸发,得到为黄色固体的乙酰氯4,其被直接用于下一步。

[0809] 在0℃、向搅拌的中的溶液(s)-(-)-吲哚啉-2-羧酸1(3.43g,21.0mmol)在无水甲醇(42mL)逐滴加入亚硫酰氯(3.1mL,42.0mmol)。30分钟后移除冰浴,将混合物继续在室温下搅拌5小时。在减压下除去溶剂,将残余物进一步在高真空下干燥,得到甲酯2,将其在500mL圆底烧瓶中溶于无水THF(70mL)中。将溶液冷却至0℃,加入三乙胺(9.7mL,69.3mmol),然后在0℃经由插管快速加入刚制备的在无水THF(70mL)中的乙酰氯4。将混合物在0～5℃搅拌另外的1.5小时,然后在室温搅拌30分钟。通过加入冷5%HCl淬灭反应,然后用乙酸乙酯和水稀释。将水层用乙酸乙酯萃取三次。随后将合并的有机层用盐水、饱和碳酸氢钠和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。将溶剂在减压下蒸发,经由硅胶色谱法(己烷/乙酸乙酯,2:1,1.5:1)纯化残余物,得到为黄色固体的(2S)-1-[5-甲氧基-2-硝基-4-(苯基甲氧基)-苯甲酰基]-2-吲哚啉羧酸甲酯5(9.1g,y＝94%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):该化合物表现为三种不同的旋转异构体。δ8.27(d,J＝8.4Hz,0.3H),7.90(s,0.1H),7.82(s,0.6H),7.79(s,0.3H),7.50-7.28(m,5.4H),7.20-7.09(m,1.3H),7.05(s,0.6H),6.97-6.81(m,1.6H),6.76(s,0.1H),5.85(d,J＝8.0Hz,0.1H),5.70(d,J＝8.0Hz,0.6H),5.45-5.41(m,0.6H),5.33-5.21(m,2.1H),4.55(dd,J_1＝10.8Hz,J_2＝2.8Hz,0.3H),3.98(s,1.8H),3.94(s,0.9H),3.83-3.81(m,2.4H),3.62(dd,J_1＝16.4Hz,J_2＝11.4Hz,1H),3.56(s,0.9H),3.27-3.13(m,1H);^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$):171.5,164.7,155.2,154.4,148.6,148.3,140.3,137.4,135.11,135.05,130.5,129.2,128.7,128.4,127.9,127.6,127.5,126.7,125.5,124.8,124.3,123.9,117.6,112.4,110.1,109.2,108.8,71.3,71.2,61.5,60.2,60.1,56.7,56.5,52.5,52.4,33.6,31.4;HRMS(ESI,m/z):计算值463.1505$(M+H)^+$,实测值463.1516。

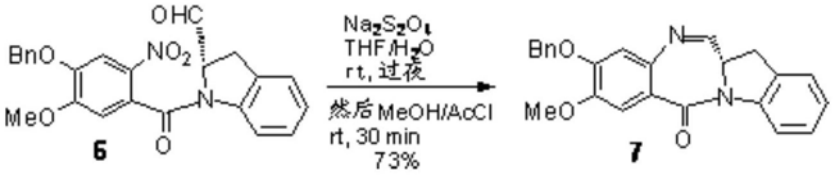
[0810] (2S)-1-[5-甲氧基-2-硝基-4-(苯基甲氧基)-苯甲酰基]-2-吲哚啉醛6:

[0811] 

[0812] 在-78℃、于30分钟内经由注射泵向甲酯5(4.4g,9.5mmol)在无水二氯甲烷(11mL)

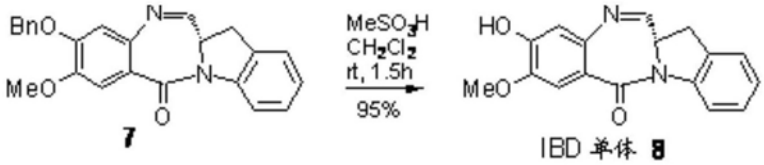
和甲苯(33mL)中的溶液逐滴加入dibal-H(19mL,在甲苯中的1.0M)。将混合物在-78℃继续搅拌3小时,TLC(己烷/AcOEt,1:1.5)显示原料几乎耗尽。在-78℃用甲醇(0.4mL)和5%HCl(30mL)淬灭反应。加入乙酸乙酯(100mL),除去干冰/丙酮浴。将混合物在室温搅拌30分钟,然后转移至分液漏斗。将水层用AcOEt萃取两次,并且将合并的有机层用盐水、饱和碳酸氢钠和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥。将其滤过硅藻土,在减压下除去溶剂(温度<35℃)。将快速色谱法纯化残余物(己烷/AcOEt,1.5:1,1:1,1:1.5),得到为黄色固体的醛6(2.85g,y=69%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):该化合物表现为三种不同的旋转异构体。δ10.02(s,0.3H),9.85(s,0.5H),9.45(s,0.2H),8.32-8.31(m,0.2H),7.93(s,0.3H),7.83(s,0.5H),7.79(s,0.2H),7.53-7.34(m,5.2H),7.26-7.14(m,1.3H),7.08(s,0.5H),7.01-6.94(m,1H),6.91-6.82(m,1H),5.78(d,J=8.4Hz,0.3H),5.71(d,J=8.4Hz,0.5H),5.52-5.48(m,0.5H),5.35-5.21(m,2.3H),4.53-4.50(m,0.2H),4.06(s,1.5H),3.98(s,0.6H),3.94(s,0.9H),3.63-3.17(m,2H);HRMS(ESI,m/z):计算值433.1400(M+H)$^+$,实测值433.1387。

[0813] 化合物7:

[0814] 

[0815] 向搅拌的醛6(2.16g,5mmol)在THF(230mL)中的溶液加入去离子水(150mL)和双硫研酸钠(85%,4.61g,22.5mmol)。所得的略微混浊的溶液在加入另外5mL去离子水后变得澄清。将澄清混合物在室温搅拌16小时,加入30mL MeOH。在搅拌另外2小时后,在减压下除去溶剂(浴温低于35℃)。将残余物悬浮于乙腈中,蒸发以助于除去任意剩余的水。通过置于高真空数小时将所得的白色固体进一步完全干燥。将残余物悬浮于二氯甲烷/甲醇(1:1)中,将其滤过硅藻土。用二氯甲烷/甲醇(1:1)彻底洗涤烧瓶和固体。将滤液在减压下吹脱。将残余物溶于甲醇(50mL)中,然后逐滴加入乙酰氯(1.8mL,25mmol)。将混合物在室温搅拌30分钟,在减压下浓缩(浴温低于35℃)以除去一半甲醇。用饱和碳酸氢钠萃取剩余部分,然后加入二氯甲烷(150mL)和水(100mL)。用二氯甲烷萃取水层(2×100mL),将合并的有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下除去溶剂,通过硅胶色谱法(己烷/AcOEt,1:1,1:1.3,1:1.5)纯化残余物,得到为黄色固体的化合物7(1.41g,y=73%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.26(d,J=8.0Hz,1H),7.83(d,J=4.4Hz,1H),7.57(s,1H),7.46-7.23(m,7H),7.11-7.08(m,1H),6.86(s,1H),5.23(d,J=12Hz,1H),5.18(d,J=12Hz,1H),4.44(ddd,J_1=11.2Hz,J_2=4.4Hz,J_3=4.0Hz,1H),3.97(s,3H),3.67(dd,J_1=16.4Hz,J_2=11.2Hz,1H),3.46(dd,J_1=16.4Hz,J_2=4.0Hz,1H);^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ163.8,163.0,150.9,148.3,141.96,139.97,136.0,129.4,128.6,128.1,128.08,127.3,124.7,124.69,120.7,116.8,111.9,111.3,70.8,56.2,54.9,32.5;HRMS(ESI,m/z):计算值385.1552(M+H)$^+$,实测值385.1592。

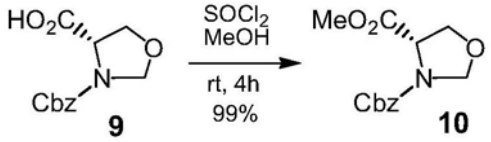
[0816] 吲哚啉并苯并二氮杂䓬(IBD)单体8:

[0817] 

[0818] 在室温、向搅拌的原料7(1.41g,3.67mmol)在二氯甲烷(26mL)中的溶液加入刚混合的甲磺酸(26mL)在二氯甲烷(52mL)中的溶液。将混合物在室温搅拌1.5小时,用二氯甲烷稀释(100mL)。将混合物倒在冰(～200g)/MeOH(10mL)上。用饱和$NaHCO_3$、固体$NaHCO_3$和水将所得溶液的pH调节至7。分离混合物,用盐水洗涤二氯甲烷层。将合并的水层用乙酸乙酯萃取(3×80mL)。将乙酸乙酯层合并,用盐水洗涤。将二氯甲烷和乙酸乙酯合并,经无水硫酸钠干燥,过滤。除去溶剂,通过硅胶色谱法(CH_2Cl_2/MeOH,20:1,15:1)纯化残余物(1.26g),得到为黄色固体的IBD单体8(1.02g,y=95%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.29(d,J=8.0Hz,1H),7.91(d,J=4.8Hz,1H),7.59(s,1H),7.32-7.28(m,2H),7.13(t,J=7.2Hz,1H),6.94(s,1H),6.02(s,-OH),4.50(dt,J_1=10.8Hz,J_2=4.4Hz,1H),4.02(s,3H),3.73(dd,J_1=16.8Hz,J_2=10.8Hz,1H),3.52(dd,J_1=16.8Hz,J_2=3.6Hz,1H);HRMS(ESI,m/z):计算值295.1083$(M+H)^+$,实测值295.1076。

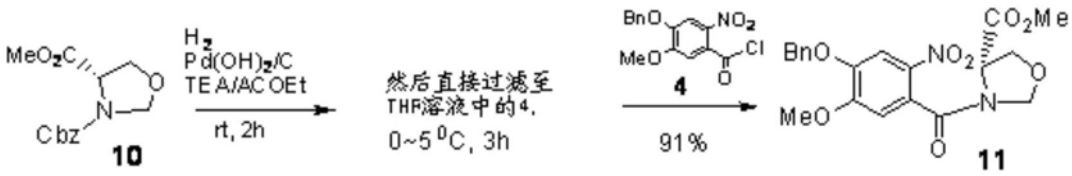
[0819] 实施例2

[0820] (s)-(-)-3-(苄氧基羰基)-4-噁唑烷羧酸甲酯10:

[0821] 

[0822] 在0℃、向搅拌的(s)-(-)-3-(苄氧基羰基)-4-噁唑烷羧酸9(1.75g,6.96mmol)在无水甲醇(15mL)中的溶液加入亚硫酰氯(1.02mL,13.9mmol)。30分钟后,移除冰/水浴,将反应混合物继续在室温搅拌3.5小时。通过加入饱和碳酸氢钠淬灭反应,用二氯甲烷稀释(100mL)和水(50mL)。分离混合物,将水层用二氯甲烷萃取(2×50mL)。用盐水洗涤合并的有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下除去溶剂,通过硅胶色谱法(己烷/AcOEt,1.5:1)纯化残余物,得到为无色油的(s)-(-)-3-(苄氧基羰基)-4-噁唑烷羧酸甲酯10(1.84g,y=99%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):该化合物表现为一对不同的旋转异构体。δ7.35(bs,5H),5.22-4.99(m,4H),4.53-4.45(m,1H),4.22-4.09(m,2H),3.76(s,1.5H),3.65(s,1.5H);MS(m/z):实测值288.0$(M+Na)^+$。

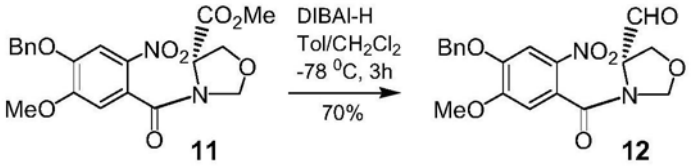
[0823] 化合物11:

[0824] 

[0825] 向搅拌的(s)-(-)-3-(苄氧基羰基)-4-噁唑烷羧酸甲酯10(1.04g,3.92mmol)在乙酸乙酯(16mL)中的溶液加入三乙胺(1.4mL,10mmol)和氢氧化钯碳(20%,267mg,0.337mmol)。通过真空除去反应烧瓶中的空气,然后应用氢气球,将混合物在氢气气氛下于室温搅拌2小时。在0℃、向乙酰氯4(按照上述的操作由1.3g,4.3mmol 4-苄氧基-5-甲氧基-2-硝基苯甲酸2制备)在无水THF(15mL)中的溶液加入三乙胺(1.1mL,7.9mmol),然后通过滤

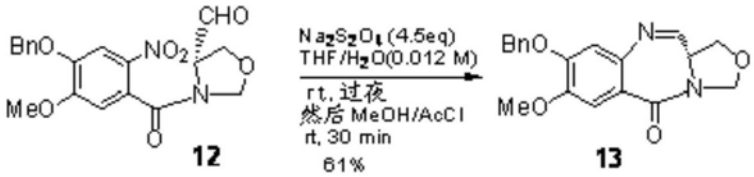
过硅藻土加入上述氢化反应混合物。用无水THF(15mL)洗涤钯催化剂/硅藻土。将所得混合物在0℃搅拌3小时。用乙酸乙酯和饱和氯化铵将其稀释。通过加入5％盐酸将混合物的pH调节至6～7。分离混合物，用乙酸乙酯(2×80mL)萃取水层。用盐水洗涤合并的有机层，经无水硫酸钠干燥，过滤。在减压下除去溶剂，通过硅胶色谱法(己烷/AcOEt，1:2，1:3)纯化残余物，得到为浅黄色固体的化合物11(1.49g，y＝91％)。^{1}H NMR(400Hz，$CDCl_3$)：该化合物表现为一对不同的旋转异构体。δ7.78(s，0.5H)，7.75(s，0.5H)，7.48-7.37(m，5H)，6.97(s，0.5H)，6.91(s，0.5H)，5.39(d，J＝4.8Hz，0.5H)，5.26-5.23(m，2.5H)，4.95(dd，J1＝7.2Hz，J2＝4.4Hz，0.5H)，4.81(d，J＝3.6Hz，0.5H)，4.67(d，J＝3.6Hz，0.5H)，4.37-4.30(m，1H)，4.25-4.11(m，1.5H)，4.02(s，1.5H)，3.97(s，1.5H)，3.87(s，1.5H)，3.67(s，1.5H)；HRMS(ESI，m/z)：计算值417.1298$(M+H)^+$，实测值417.1305。

[0826] 醛12：

[0827] 

[0828] 在-78℃、在30分钟内经由注射泵向搅拌的甲酯11(1.49g，3.6mmol)在无水二氯甲烷(4mL)和甲苯(12mL)中的溶液逐滴加入dibal-H(6.5mL，在甲苯中的1.0M)。将混合物继续搅拌2小时。在-78℃、用甲醇(146μL，3.6mmol)和5％HCl(30mL)淬灭反应。加入乙酸乙酯(100mL)，移除干冰/丙酮浴。将混合物在室温搅拌30分钟，然后转移至分液漏斗。将水层用AcOEt萃取两次。将所有的有机层合并，用盐水、饱和碳酸氢钠和盐水洗涤。将其经无水硫酸钠干燥，滤过硅藻土。在减压下蒸发滤液，通过硅胶色谱法(己烷/AcOEt，1:5，1:10)纯化残余物，得到为浅黄色固体的醛12(980mg，y＝70％)。^{1}H NMR(400Hz，$CDCl_3$)：该化合物表现为一对不同的旋转异构体。δ9.83(s，0.67H)，9.45(s，0.33H)，7.77(s，0.67H)，7.72(s，0.33H)，7.45-7.37(m，5H)，6.90(s，1H)，5.31-5.19(m，3H)，4.77(bs，1H)，4.67-4.56(m，1H)，4.36-3.94(m，5H)；HRMS(ESI，m/z)：计算值387.1192$(M+H)^+$，实测值387.1184。

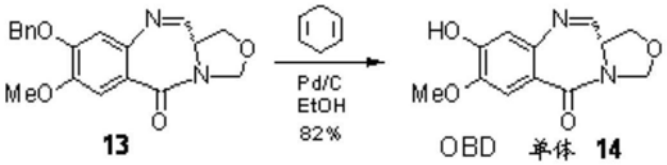
[0829] 化合物13：

[0830] 

[0831] 向搅拌的醛12(154mg，0.4mmol)在THF(21mL)中的溶液加入去离子水(14mL)和双硫研酸钠(85％，369mg，1.8mmol)。将澄清混合物在室温搅拌16小时，加入5mL MeOH。另外搅拌2小时后，在减压下除去溶剂(浴温低于35℃)。将残余物悬浮于乙腈中，将其蒸发以助于除去剩余的水。通过置于高真空数小时将所得的白色固体进一步完全干燥。将残余物悬浮于二氯甲烷/甲醇(2:1)中，将其滤过硅藻土。将烧瓶和固体用二氯甲烷/甲醇(1:1)彻底洗涤。将滤液在减压下吹脱。将残余物溶于甲醇(5mL)中，快速加入刚制备的乙酰氯(0.15mL)/MeOH(5mL)溶液。将混合物在室温搅拌30分钟，通过加入饱和碳酸氢钠淬灭反应。用二氯甲烷和水将其稀释。将两层分离，将水层用二氯甲烷萃取。将合并的二氯甲烷层用盐水洗涤，经无水硫酸钠干燥。在减压下除去溶剂，得到127mg粗产物。将水层与洗涤液合并，用$KHSO_4$

酸化至pH 2～3。在减压下将其浓缩一半(温度<40℃),用二氯甲烷萃取。将合并的二氯甲烷用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥。过滤,在减压下蒸发滤液。将残余物与上述127mg粗产物合并,通过硅胶色谱法(己烷/AcOEt,1:3,1:5,1:8)纯化,得到为无色泡沫的化合物13(80mg,y=61%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ7.77(d,J=4.0Hz,1H),7.52(s,1H),7.46-7.28(m,5H),6.88(s,1H),5.28(d,J=5.2Hz,1H),5.23(d,J=12Hz,1H),5.17(d,J=12Hz,1H),5.05(d,J=5.2Hz,1H),4.49(dd,J1=9.6Hz,J2=3.2Hz,1H),4.33(dd,J1=9.6Hz,J2=6.4Hz,1H),3.96(s,3H),3.83(dd,J1=6.4Hz,J2=3.2Hz,1H);MS(m/z):实测值361.1(M+Na)$^+$,379.1(M+H_2O+Na)$^+$,339.1(M+H)$^+$。

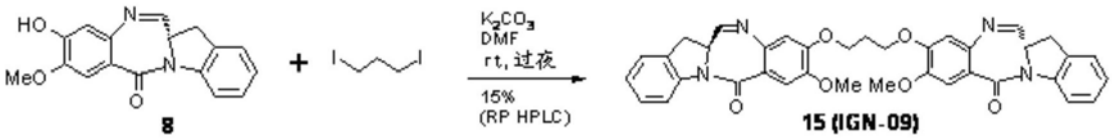
[0832] 噁唑烷并苯并二氮杂䓬(OBD)单体14:

[0833] 

[0834] 用氩气化合物13(90mg,0.27mmol)和Pd/C(10%,90mg)在无水乙醇(1.5mL)中的溶液鼓泡。加入1,4-环已二烯(496μl,5.3mmol),继续氩气鼓泡3小时直至原料消失(TLC,二氯甲烷/甲醇10:1)。然后将混合物滤过硅藻土,用甲醇洗涤硅藻土。在减压下蒸发滤液,得到63mg为无色泡沫的粗产物,将其通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇,20:1)纯化,得到为白色固体的OBD单体14(55mg,y=82%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):其表现为亚胺和其甲醚的混合物,C11(R)和C11(S)(2:3:1)。δ7.71(bs,1H),7.43(s,0.5H),7.41(s,1H),7.18(s,1.5H),6.83(s,1H),6.36(s,1.5H),6.13(s,0.5H),5.25(d,J=4.8Hz,0.5H),5.22-5.20(m,1H),5.14(d,J=5.2Hz,1.5H),5.10(d,J=4.8Hz,0.5H),5.05(d,J=5.2Hz,1.5H),5.00-4.97(m,1H),4.47(d,J=8.8Hz,1.5H),4.44-4.41(m,1H),4.32(apt,J=8.0Hz,0.5H),4.28-4.25(m,1H),4.18-4.00(m,2×1.5H+2×0.5H=4H),3.84(bs,3×1H+0.5H=3.5H),3.76(bs,3×1.5H+1H=5.5H),3.73(s,3×0.5H=1.5H),3.56(dt,J1=8.8Hz,J2=2.8Hz,1.5H),3.34(s,3×1.5H=4.5H),3.22(s,3×0.5H=1.5H);MS(m/z):实测值303.1(M+MeOH+Na)$^+$,271.1(M+Na)$^+$。

[0835] 实施例3

[0836] 二聚体15(IGN-09):

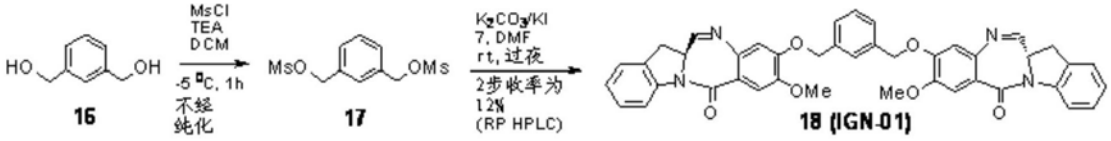
[0837] 

[0838] 向IBD单体8(147mg,0.5mmol)和1,3-二碘丙烷(23μl,0.2mmol)在无水DMF(1.0mL)中的溶液加入碳酸钾(111mg,0.8mmol)。将混合物在室温搅拌过夜(16小时)用二氯甲烷稀释。将其用饱和氯化铵和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下蒸发滤液,通过制备型反相HPLC(C18柱,乙腈/水)纯化残余物,得到为白色固体的二聚体15(IGN-09)(18.9mg,y=15%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.26(d,J=8.0Hz,2H),7.87(d,J=4.4Hz,2H),7.55(s,2H),7.26(s,4H),7.12-7.08(m,2H),6.88(s,2H),4.45(ddd,J1=10.8Hz,J2=4.4Hz,J3=4.0Hz,2H),4.36-4.26(m,4H),3.94(s,6H),3.70(dd,J1=16.8Hz,J2=10.8Hz,2H),3.50

(dd,J1＝16.8Hz,J2＝4.0Hz,2H),2.45(p,J＝6.0Hz,2H);HRMS(ESI,m/z):计算值629.2400(M+H)$^+$,实测值629.2400。

[0839] 实施例4

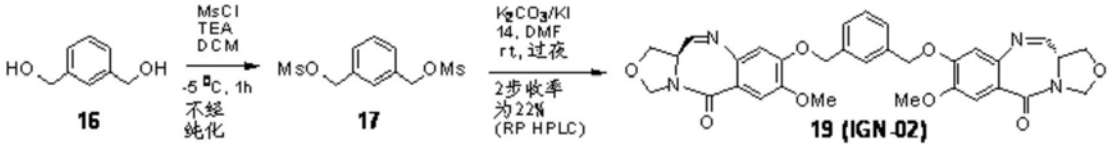
[0840] 二聚体18(IGN-01):

[0841] 

[0842] 在-5～-10℃、向搅拌的1,3-苯二甲醇16(11mg,0.08mmol)在无水二氯甲烷(0.8mL)中的溶液加入三乙胺(33μl,0.24mmol),然后逐滴加入甲磺酰氯(16μL,0.21mmol)15分钟。将溶液在-5～-10℃搅拌另外60分钟,用冰/水淬灭反应,用冷乙酸乙酯稀释。分离混合物,将有机层用冷水洗涤,经无水硫酸钠干燥。过滤,通过真空旋转蒸发将滤液蒸发(温度<35℃)。将残余物17置于高真空数小时,然后溶于无水DMF(1.5mL)中。随后加入IBD单体7(94mg,0.32mmol)、无水碳酸钾(50mg,0.36mmol)和碘化钾(27mg,0.16mmol)。将混合物在室温搅拌17小时(通过质谱检验),用二氯甲烷稀释。将其用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下蒸发滤液,通过反相HPLC(C18柱,CH_3CN/H_2O,用CH_3CN/H_2O＝3:1装柱,搅拌30分钟,离心,然后注射)纯化残余物,得到为白色固体的二聚体18(IGN-01、6.6mg)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.21(d,J＝8.0Hz,2H),7.79(d,J＝4.4Hz,2H),7.51(s,2H),7.46(s,1H),7.36(bs,3H),7.23-7.18(m,4H),7.06-7.03(m,2H),6.79(s,2H),5.20(d,J＝12.4Hz,2H),5.14(d,J＝12.4Hz,2H),4.41(ddd,J1＝10.8Hz,J2＝4.4Hz,J3＝4.0Hz,2H),3.92(s,6H),3.64(dd,J1＝17.2Hz,J2＝11.2Hz,2H),3.42(dd,J1＝16.8Hz,J2＝4.0Hz,2H);HRMS(ESI,m/z):计算值691.2557(M+H)$^+$,实测值691.2570。

[0843] 实施例5

[0844] 二聚体19(IGN-02):

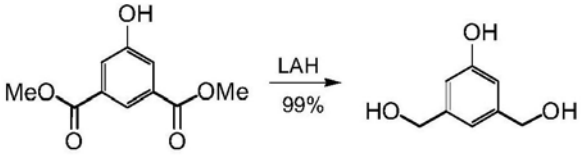
[0845] 

[0846] 在-5～-10℃、向搅拌的1,3-苯二甲醇16(10mg,0.074mmol)在无水二氯甲烷(0.8mL)中的溶液加入三乙胺(31μl,0.22mmol),然后在15分钟内逐滴加入甲磺酰氯(15μL,0.19mmol)。将溶液在-5～-10℃搅拌另外60分钟,用冰/水淬灭反应,用冷乙酸乙酯稀释。分离混合物,将有机层用冷水洗涤,经无水硫酸钠干燥。过滤,通过真空旋转蒸发将滤液蒸发(温度<35℃)。将残余物17置于高真空,之后溶于无水DMF(1.5mL)中。随后加入OBD单体14(70mg,0.28mmol)、无水碳酸钾(51mg,0.37mmol)和碘化钾(25mg,0.15mmol)。将混合物在室温搅拌17小时(通过质谱检验),用二氯甲烷稀释。将其用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下蒸发滤液,通过反相HPLC(C18柱,CH_3CN/H_2O,用CH_3CN/H_2O＝3:1装柱,搅拌30分钟,离心,然后注射)纯化残余物,得到为白色固体的二聚体19(IGN-02,10.0mg)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ7.75(d,J＝4.0Hz,2H),7.50-7.48(bs,3H),7.38(bs,3H),6.83(s,2H),5.26(d,J＝5.2Hz,2H),5.21(d,J＝14.4Hz,2H),5.15(d,J＝14.0Hz,2H),5.03(d,J＝5.6Hz,2H),4.34-4.30(m,2H),3.94(s,6H),3.86-3.76(m,2H);HRMS(ESI,m/z):计算值

599.2142(M+H)$^+$,实测值599.2184。

[0847] 实施例6

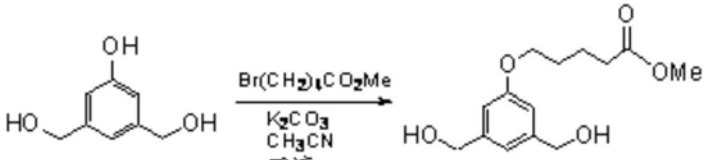
[0848] 三醇21:

[0849] 

20 21

[0850] 在-20～-30℃、在30分钟内经由注射泵向搅拌的二甲基5-羟基间苯二甲酸20(2.1g,10mmol)在无水THF(50mL)中的溶液加入氢化铝锂(在THF中的2.0M,10mL,20mmol)。30分钟后移除冷却浴,将混合物在室温继续搅拌4小时。将其冷却至0～-10℃,用饱和硫酸钠淬灭反应。将混合物用乙腈稀释,加入5%盐酸(20mL)。将其搅拌30分钟,经无水硫酸钠干燥。将混合物滤过硅藻土,在减压下蒸发滤液。纯化残余物通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇,10:1,8:1,5:1),得到为无色油的三醇21(1.5g,y=99%),其在储藏后变为白色固体。^{1}H NMR(400Hz,MeOD):δ6.78,(s,1H),6.69(s,2H),4.50(s,4H)。^{13}C NMR(400Hz,MeOD):δ158.7,144.4,117.8,113.8,65.2;MS(m/z):实测值153.0(M-H)$^-$。

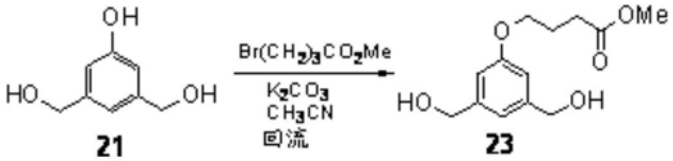
[0851] 化合物22:

[0852] 

21 22

[0853] 向三醇21(827mg,5.37mmol)和5-溴戊酸甲酯(998mg,5.12mmol)在乙腈(40mL)中的溶液加入碳酸钾(3.71g,26.9mmol)。将混合物放入86℃油浴中,回流6小时。将反应混合物从油浴移除,冷却至室温,将溶剂在减压下蒸发(温度<35℃)。将残余物用二氯甲烷稀释,过滤。将滤液用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。将滤液在减压下吹脱,通过硅胶色谱法(己烷/乙酸乙酯,1:2,1:3)纯化残余物,得到为白色固体的化合物22(1.15g,y=84%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ6.89(s,1H),6.80(s,2H),4.62(s,4H),3.98-3.95(m,2H),3.67(s,3H),2.41-2.37(m,2H),2.23(bs,-OHx2),1.84-1.78(m,4H);MS(m/z):实测值291.1(M+Na)$^+$。

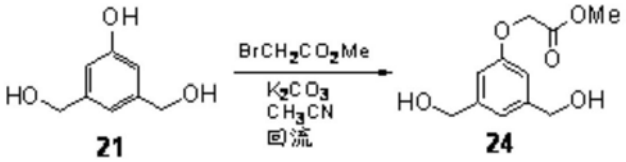
[0854] 化合物23:

[0855] 

21 23

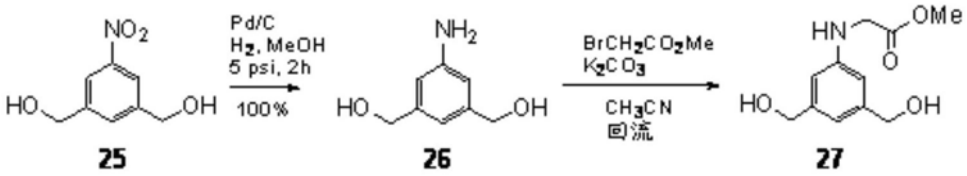
[0856] 按照制备化合物22的操作,由三醇21(1.16g,7.53mmol)、4-溴丁酸甲酯(1.52g,8.39mmol)和碳酸钾(5.2g,37.6mmol)合成为白色固体的化合物23(1.43g,y=75%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ6.90(s,1H),6.80(s,2H),4.62(s,4H),4.00(t,J=6.0Hz,2H),3.68(s,3H),2.51(t,J=7.2Hz,2H),2.19(s,-OHx2),2.13-2.06(m,2H);MS(m/z):实测值277.1(M+Na)$^+$。

[0857] 化合物24:

[0858] 

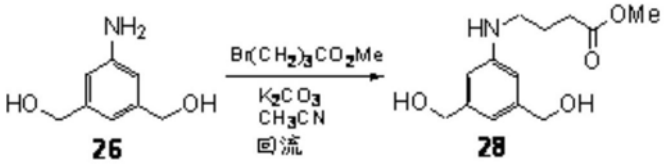
[0859] 按照制备化合物22的操作，由三醇21(953mg，6.19mmol)、溴乙酸甲酯(587μl，6.19mmol)和碳酸钾(4.3g，31mmol)合成为白色粘性固体的化合物24(515mg，y＝37％)。^{1}H NMR(400Hz，$CDCl_3$)：δ6.95(s，1H)，6.81(s，2H)，4.64(s，-OHx2)，4.61(s，4H)，3.81(s，3H)，2.41(s，2H)；^{13}C NMR(400Hz，$CDCl_3$)：δ169.4，158.1，143.0，118.5，112.1，65.2，64.8，52.3；MS(m/z)：实测值249.0$(M+Na)^+$。

[0860] 化合物27：

[0861] 

[0862] 向5-硝基间二甲苯-α，α'-二醇25(1.07g，5.84mmol)在甲醇(50mL)中的溶液加入Pd/C(10％，311mg，0.29mmol)。引入氢气代替空气，然后在室温将混合物氢化(H_2，5psi)2小时。将溶液滤过硅藻土，通过真空旋转蒸发将滤液蒸发，得到为白色固体的化合物26(900mg，y＝100％)。^{1}H NMR(400Hz，MeOD)：δ6.71(s，1H)，6.66(s，2H)，4.51(s，4H)；^{13}C NMR(400Hz，MeOD)：δ148.9，143.8，116.7，114.3，65.5；将其溶于无水乙腈(30mL)中，加入溴乙酸乙酯(443μl，4.67mmol)和碳酸钾(807mg，5.84mmol)。将混合物放入86℃油浴中，回流17小时。将反应混合物从油浴移除，冷却至室温，用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土，用二氯甲烷洗涤固体。在滤液中出现白色沉淀。通过滤过收集沉淀，得到为白色固体的化合物27(414mg，y＝39％)。^{1}H NMR(400Hz，MeOD)：δ6.67(s，1H)，6.53(s，2H)，4.51(s，4H)，3.94(s，2H)，3.73(s，3H)；^{13}C NMR(400Hz，MeOD)：δ174.0，149.7，143.9，116.2，111.6，65.6，52.6，46.5；MS(m/z)：实测值248.0$(M+Na)^+$。

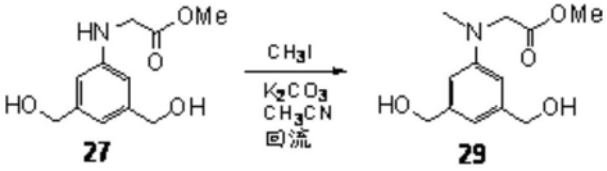
[0863] 化合物28：

[0864] 

[0865] 向5-硝基间二甲苯-α，α'-二醇25(564mg，3.08mmol)在甲醇(35mL)中的溶液加入Pd/C(10％，164mg，0.154mmol)。引入氢气代替空气，然后在室温将混合物氢化(H_2，5psi)2小时。将溶液滤过硅藻土，通过真空旋转蒸发将滤液蒸发，得到化合物26，将其溶解于无水乙腈(15mL)中，加入4-溴丁酸甲酯(557mg，3.08mmol)和碳酸钾(426mg，3.08mmol)。将混合物放入86℃油浴中，回流18小时。将反应混合物从油浴移除，冷却至室温，用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土，将固体用二氯甲烷/乙腈(1:1)洗涤。在减压下蒸发滤液，通过硅胶色谱法(Combiflash，二氯甲烷/甲醇)纯化残余物，得到为白色固体的化合物28(292mg，y＝37％)。^{1}H NMR(400Hz，MeOD)：δ6.62(s，1H)，6.55(s，2H)，4.50(s，4H)，3.65(s，3H)，3.13(d，J＝7.2Hz，2H)，2.43(d，J＝7.2Hz，2H)，1.89(p，J＝7.2Hz，2H)；^{13}C NMR(400Hz，MeOD)：δ175.9，150.5，

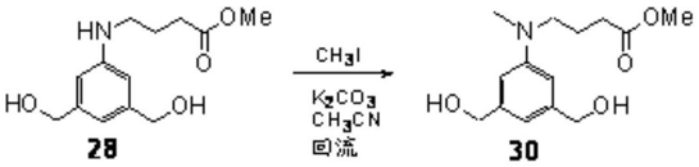
143.7,115.5,111.7,65.7,52.2,44.3,32.5,25.8;MS(m/z):实测值276.0(M+Na)$^+$。

[0866] 化合物29:

[0867] 

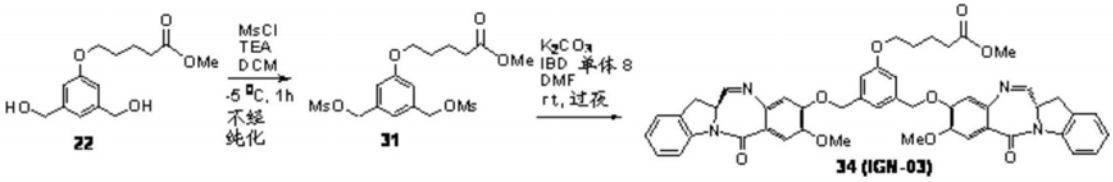
[0868] 向化合物27(230mg,1.02mmol)在无水乙腈(7mL)中的溶液加入碘代甲烷(70μl,1.12mmol)和碳酸钾(155mg,1.12mmol)。将混合物放入86℃油浴中,回流17小时。将反应混合物从油浴移除,冷却至室温,用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土,将固体用二氯甲烷/甲醇(10:1)洗涤。在减压下蒸发滤液,通过硅胶色谱法(Combiflash,二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到为白色固体的化合物29(98mg,y=40%)。^{1}H NMR(400Hz,MeOD):δ6.70(s,1H),6.63(s,2H),4.84(s,2x-OH),4.54(s,4H),4.16(s,2H),3.69(s,3H),3.05(s,3H);^{13}C NMR(400Hz,MeOD):δ173.6,150.9,143.8,115.6,111.0,65.7,54.9,52.4,39.8;MS(m/z):实测值262.0(M+Na)$^+$。

[0869] 化合物30:

[0870] 

[0871] 向化合物28(151mg,0.597mmol)在无水乙腈(4mL)中的溶液加入碘代甲烷(74μl,1.19mmol)和碳酸钾(99mg,0.716mmol)。将混合物放入86℃油浴中,回流17小时。将反应混合物从油浴移除,冷却至室温,用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土,将固体用二氯甲烷/甲醇(10:1)洗涤。在减压下蒸发滤液,通过硅胶色谱法(Combiflash,二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到为无色油的化合物30(63mg,y=39%)。^{1}H NMR(400Hz,MeOD):δ6.67(s,2H),6.65(s,1H),4.54(s,4H),3.65(s,3H),3.36(t,J=7.2Hz,2H),2.92(s,3H),2.36(t,J=7.2Hz,1H),1.87(p,J=7.2Hz,2H);^{13}C NMR(400Hz,MeOD):δ175.7,151.3,143.7,115.0,111.4,65.9,53.0,52.2,38.9,32.2,23.3;MS(m/z):实测值290.0(M+Na)$^+$。

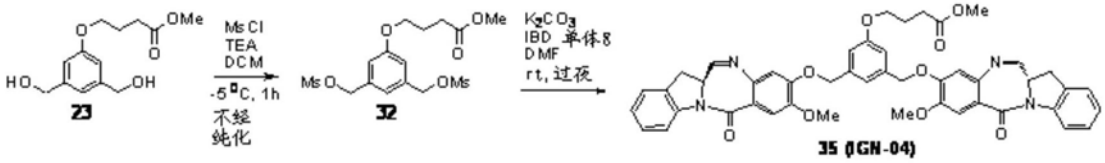
[0872] 化合物34(IGN-03):

[0873] 

[0874] 在-5～-10℃、向搅拌的化合物22(80.4mg,0.3mmol)在无水二氯甲烷(2mL)中的溶液加入三乙胺(125μl,0.9mmol),然后在15分钟内逐滴加入甲磺酰氯(60μL,0.78mmol)。将溶液在-5～-10℃搅拌另外60分钟,用冰/水淬灭反应,用冷乙酸乙酯稀释。分离混合物,将有机层用冷水洗涤,经无水硫酸钠干燥。过滤,通过真空旋转蒸发将滤液蒸发(温度<35℃)。将残余物31置于高真空,然后溶于无水DMF(3mL)中。加入IBD单体7(221mg,0.75mmol)和无水碳酸钾(207mg,1.5mmol)。将混合物在室温搅拌20小时(通过质谱检验),用二氯甲烷稀释。将其用水和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下蒸发滤液,通过硅胶色谱法

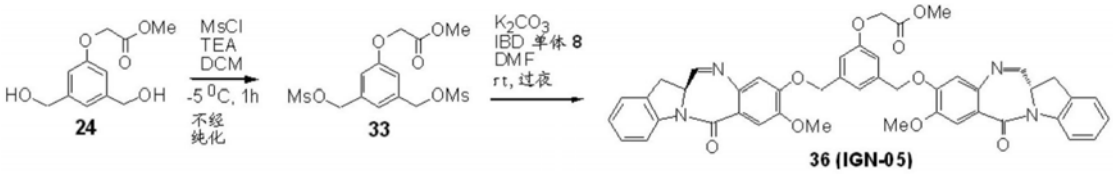
(己烷/乙酸乙酯,1:3,1:4,1:6,1:10,然后乙酸乙酯/甲醇,10:1)纯化残余物,得到为黄色固体的化合物34(169mg,y=68%,86%纯度,根据分析型反相HPLC测得)。还收集含有杂质和化合物34的级分,蒸发溶剂,得到70mg浅黄色固体。将两种黄色固体合并,通过反相HPLC(C18柱,CH_3CN/H_2O,用CH_3CN/H_2O=3:1装柱,搅拌30分钟,离心,然后注射)进一步纯化,得到为白色固体的二聚体34(IGN-03,103mg,y=41%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.27(d,J=8.0Hz,2H),7.85(d,J=3.2Hz,2H),7.58(s,2H),7.29-7.24(m,4H),7.12-7.07(m,3H),6.94(s,2H),6.83(s,2H),5.22(d,J=12.8Hz,2H),5.16(d,J=12.8Hz,2H),4.47(dt,J1=11.2Hz,J2=4.4Hz,2H),3.98(bs,8H),3.73-3.64(m,2H),3.68(s,3H),3.48(dd,J1=16.8Hz,J2=3.6Hz,2H),2.42-2.38(m,2H),1.83-1.80(m,4H);HRMS(ESI,m/z):计算值821.3187(M+H)$^+$,实测值821.3188。

[0875] 化合物35(IGN-04):

[0876] 

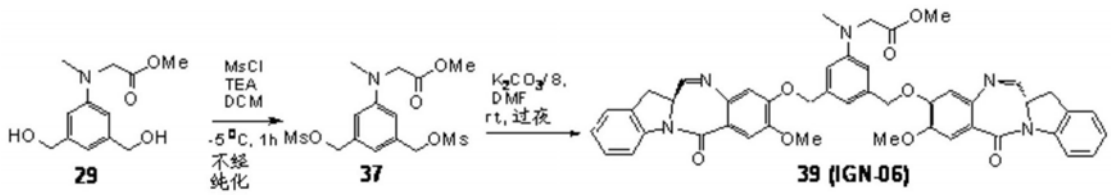
[0877] 按照制备化合物34的操作,合成化合物35(IGN-04)(151mg,y=62%,88%纯度,根据分析型反相HPLC测得)为黄色固体。将其的一部分通过反相HPLC进一步纯化,以用于^1H NMR分析。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.17(d,J=8.0Hz,2H),7.74(d,J=5.2Hz,2H),7.48(s,2H),7.20-7.15(m,4H),7.03-6.99(m,3H),6.85(s,2H),6.75(s,2H),5.12(d,J=12.8Hz,2H),5.06(d,J=12.8Hz,2H),4.37(dt,J1=11.2Hz,J2=4.4Hz,2H),3.93(t,J=6.0Hz,2H),3.86(s,6H),3.64-3.57(m,2H),3.60(s,3H),3.39(dd,J1=16.8Hz,J2=3.6Hz,2H),2.44(t,J=7.2Hz,2H),2.02(p,J=6.4Hz,2H);HRMS(ESI,m/z):计算值807.3030(M+H)$^+$,实测值807.3008。

[0878] 化合物36(IGN-05):

[0879] 

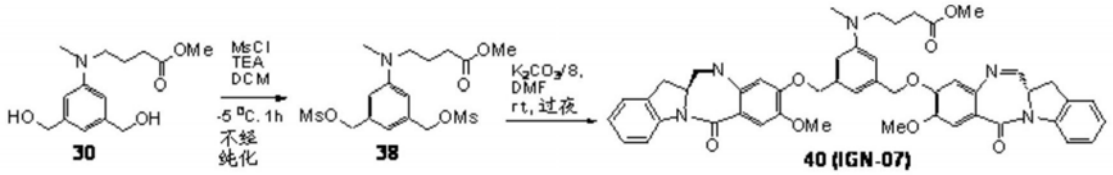
[0880] 按照制备化合物34的操作,制备型反相HPLC之后合成为白色固体的化合物36(IGN-05)(84.5mg,y=18%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.24(d,J=8.0Hz,2H),7.79(d,J=4.4Hz,2H),7.55(s,2H),7.26-7.22(m,4H),7.12-7.07(m,3H),6.96(s,2H),6.81(s,2H),5.18(d,J=12.8Hz,2H),5.12(d,J=12.8Hz,2H),4.64(s,2H),4.44(dt,J1=10.8Hz,J2=4.4Hz,2H),3.95(s,6H),3.77(s,3H),3.73-3.62(m,2H),3.44(dd,J1=16.8Hz,J2=3.6Hz,2H);HRMS(ESI,m/z):计算值779.2717(M+H)$^+$,实测值779.2703。

[0881] 化合物39(IGN-06):

[0882] 

[0883] 按照制备化合物34的操作，制备型反相HPLC之后合成为白色固体的化合物39(IGN-06)，收率为6%。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ8.28(d,J＝8.0Hz,2H)，7.86(d,J＝4.0Hz,2H)，7.58(s,2H)，7.31-7.26(m,4H)，7.12(t,J＝7.2Hz,2H)，6.90-6.86(m,3H)，6.72(s,2H)，5.22(d,J＝12.4Hz,2H)，5.13(d,J＝12.4Hz,2H)，4.51-4.46(m,2H)，3.99(s,6H)，3.74-3.68(m,2H)，3.71(s,3H)，3.49(dd,J_1＝16.8Hz,J_2＝3.6Hz,2H)，3.09(s,3H)；HRMS(ESI,m/z)：计算值792.3033$(M+H)^+$，实测值792.3013。

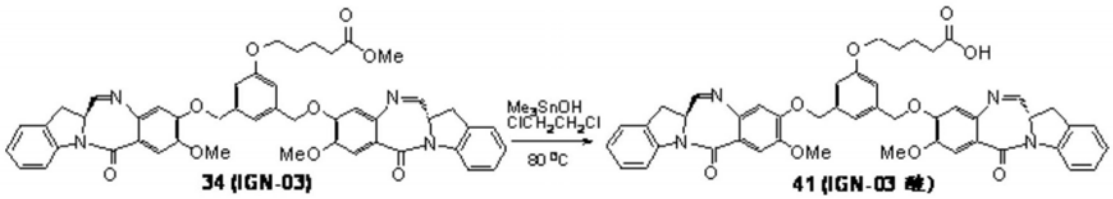
[0884] 化合物40(IGN-07)：

[0885] 

[0886] 按照制备化合物34的操作，制备型反相HPLC之后合成为白色固体的化合物40(IGN-07)，收率为21%。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ8.27(d,J＝8.0Hz,2H)，7.84(d,J＝4.4Hz,2H)，7.58(s,2H)，7.30-7.23(m,4H)，7.21-7.02(m,3H)，6.88(s,2H)，6.74(s,2H)，5.23-5.13(m,4H)，4.50-4.42(m,2H)，3.99(s,6H)，3.74-3.70(m,2H)，3.67(s,3H)，3.51-3.33(m,4H)，2.92(s,3H)，2.36-2.30(m,2H)，1.93-1.84(m,2H)；HRMS(ESI,m/z)：计算值820.3346$(M+H)^+$，实测值820.3329。

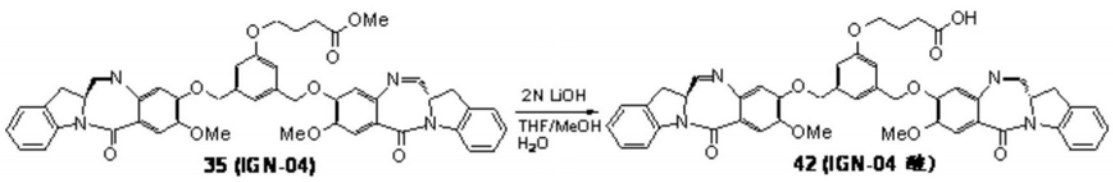
[0887] 实施例7

[0888] 化合物41：

[0889] 

[0890] 向化合物34(42mg,0.051mmol)在无水1,2-二氯乙烷(1mL)中的溶液加入三甲基氢氧化锡(139mg,0.77mmol)。将混合物在78～82℃(80℃油浴)加热，搅拌过夜。TLC(CH_2Cl_2/MeOH,10:1)显示原料消失。将反应混合物冷却至室温，用二氯甲烷稀释。滴入盐水中的5%盐酸、饱和氯化铵和盐水进行洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤，蒸发。通过硅胶色谱法(combiflash,CH_2Cl_2/MeOH,从1:0至5:1)纯化残余物，得到为黄色固体IGN-03酸41(33.8mg,y＝82%)。残余物也可以不经纯化就用于下一步。MS(m/z)：实测值805.1$(M-H)^-$，823.0$(M+H_2O-H)^-$，829.2$(M+Na)^+$，847.2$(M+H_2O+Na)^+$。

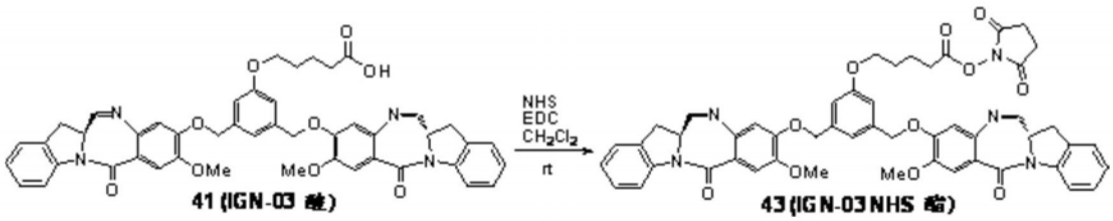
[0891] 化合物42：

[0892] 

[0893] 在0℃、向搅拌的化合物35(32mg,0.040mmol)在THF(0.4mL)、甲醇(0.1mL)和去离子水(0.1mL)的混合物中的溶液加入刚制备的2N LiOH(24μl,0.048mmol)。移除冷却浴，将混合物在室温搅拌8小时。将反应混合物用乙酸乙酯和水稀释。用5%盐酸将混合物的pH调

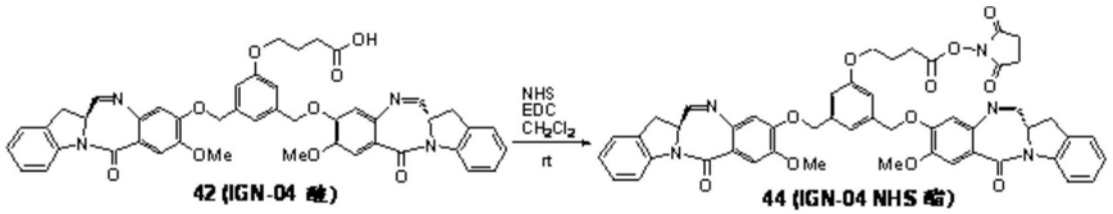
节至4～5。将其用盐水洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤。在减压下蒸发滤液，通过制备型反相HPLC(C18柱，乙腈/H_2O)纯化残余物，得到为白色固体的IGN-04酸42(4.2mg，y＝13％)。MS(m/z)：实测值791.0$(M-H)^-$，809.0$(M+H_2O-H)^-$，815.2$(M+Na)^+$，833.1$(M+H_2O+Na)^+$。

[0894] 化合物43：

[0895] 

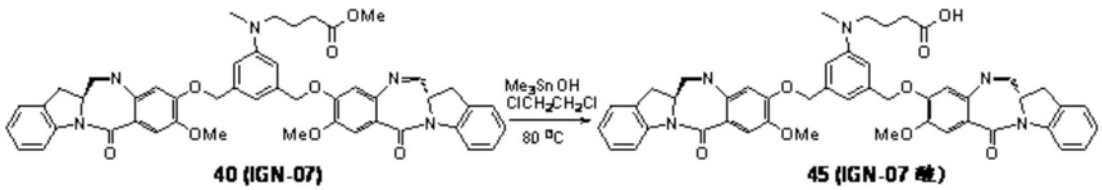
[0896] 向搅拌的IGN-03酸41(8.9mg，0.011mmol)在无水二氯甲烷(0.2mL)中的溶液加入N-羟基琥珀酰亚胺(2.6mg，0.022mmol)、N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(4.2mg，0.022mmol)和少量二甲基氨基吡啶。将混合物在室温搅拌过夜，用二氯甲烷稀释。用饱和氯化铵和盐水进行洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤。在减压下蒸发滤液。通过硅胶色谱法(Combiflash，CH_2Cl_2/MeOH，从1:0至10:1)纯化残余物，得到为黄色固体的IGN-03NHS酯43(7.9mg，y＝79％)。反相制备型HPLC(C18柱，CH_3CN/H_2O，用二氯甲烷萃取产物级分)纯化得到3.2mg白色固体，以用于^1H NMR分析。^1H NMR(400Hz，$CDCl_3$)：δ8.28(d，J＝8.0Hz，2H)，7.87(d，J＝4.0Hz，2H)，7.59(s，2H)，7.31-7.27(m，4H)，7.15-7.10(m，3H)，6.97(s，2H)，6.86(s，2H)，5.25(d，J＝12.4Hz，2H)，5.18(d，J＝12.4Hz，2H)，4.49(dt，J_1＝10.8Hz，J_2＝4.0Hz，2H)，4.04(t，J＝5.6Hz，2H)，4.01(s，6H)，3.72(dd，J_1＝16.8Hz，J_2＝10.8Hz，2H)，3.51(dd，J_1＝16.8Hz，J_2＝4.0Hz，2H)，2.85(bs，4H)，2.72(t，J＝6.8Hz，2H)，1.99-1.91(m，4H)；HRMS(ESI，m/z)：计算值904.3194$(M+H)^+$，实测值904.3182。

[0897] 化合物44：

[0898] 

[0899] 按照制备化合物43的操作，合成为黄色固体的化合物44，收率为86％。MS(m/z)：实测值944.2$(M+MeOH+Na)^+$，976.2$(M+2MeOH+Na)^+$。

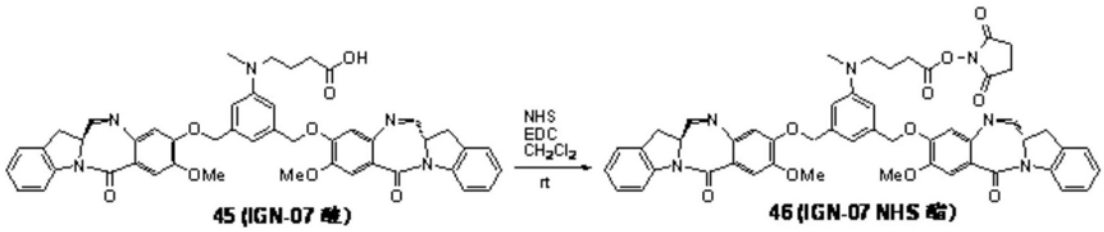
[0900] 化合物45(IGN-07酸)：

[0901] 

[0902] 向化合物40(14mg，0.017mmol)在无水1,2-二氯乙烷(0.5mL)中的溶液加入三甲基氢氧化锡(62mg，0.34mmol)。将混合物在78～82℃(80℃油浴)加热，搅拌过夜。TLC(CH_2Cl_2/MeOH，10:1)显示原料消失。将反应混合物冷却至室温，用二氯甲烷稀释。用饱和氯化铵和盐水进行洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤，蒸发，得到为浅黄色固体的IGN-07酸45(29.2mg，掺杂有三甲基氢氧化锡)。MS(m/z)：实测值804.1$(M-H)^-$，822.1$(M+H_2O-H)^-$，828.2$(M+Na)^+$，

846.2(M+H_2O+Na)$^+$。其不经纯化就用于下一步。

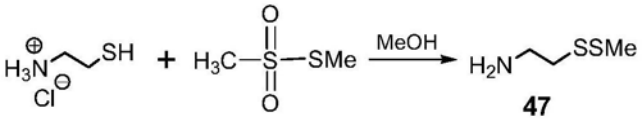
[0903] 化合物46：

[0904] 

[0905] 向搅拌的得自上述反应的IGN-07酸45(0.017mmol)在无水二氯甲烷(0.5mL)中的溶液加入N-羟基琥珀酰亚胺(6.1mg,0.051mmol)、N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(9.8mg,0.051mmol)和少量二甲基氨基吡啶。将混合物在室温搅拌过夜,用二氯甲烷稀释。用饱和氯化铵和盐水进行洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下蒸发滤液。通过硅胶色谱法(Combiflash,CH_2Cl_2/MeOH,从1:0至10:1)纯化残余物,得到为黄色固体的IGN-07NHS酯46(9.1mg,由IGN-07的两步收率为59%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.25(d,J=7.6Hz,2H),7.82(d,J=4.4Hz,2H),7.55(s,2H),7.26-7.18(m,5H),7.09(t,J=7.6Hz,2H),6.84(s,2H),6.74(s,2H),5.21(d,J=12.4Hz,2H),5.15(d,J=12.4Hz,2H),4.46-4.42(m,2H),3.98(s,6H),3.72-3.64(m,2H),3.44-3.37(m,4H),2.95(s,3H),2.74(bs,4H),2.57(t,J=7.2Hz,2H),1.95(t,J=7.2Hz,2H);HRMS(ESI,m/z):计算值903.3354(M+H)$^+$,实测值903.3347。

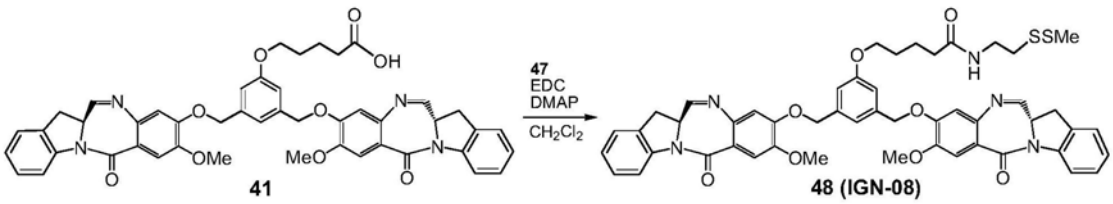
[0906] 实施例8

[0907] 化合物47：

[0908] 

[0909] 在0℃、向搅拌的半胱胺盐酸盐(568mg,5mmol)在无水甲醇(15mL)中的溶液加入甲基硫代磺酸S-甲酯(519μl,5.5mmol)。将混合物在室温搅拌过夜。加入三乙胺(1.4mL,10mmol),在减压下除去溶剂。将残余物溶于50mL无水二氯甲烷,得到化合物47在二氯甲烷(假定100%收率)中的0.1M溶液。溶液的等分试样(0.2mL)用于下一步反应。将溶液的剩余部分用二氯甲烷稀释,用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下蒸发滤液,通过硅胶色谱法(含有1%三乙胺的10:1二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到为无色油的化合物47(82mg,y=13%,由于其良好的水溶性,产物在含水处理中损失)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ3.02(t,J=6.4Hz,2H),2.77(t,J=6.4Hz,2H),2.41(s,3H),1.34(bs,2H)。

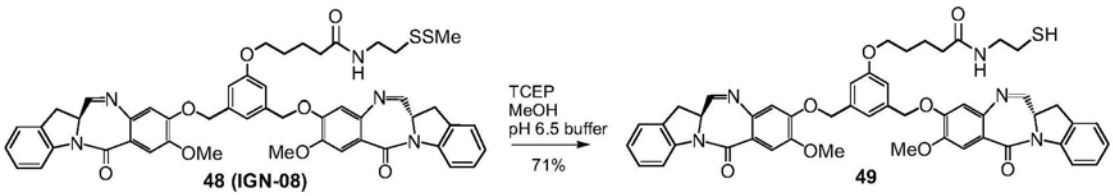
[0910] 化合物48(IGN-08)：

[0911] 

[0912] 向含有IGN-03酸41(8.1mg,0.01mmol)的烧瓶加入上述化合物47在无水二氯甲烷

(0.2mL)中的0.1M溶液。加入N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(3.8mg,0.02mmol)、三乙胺(1.4μl,0.01mmol)和少量二甲基氨基吡啶。将混合物在室温搅拌过夜,用二氯甲烷稀释。用饱和氯化铵和盐水进行洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下蒸发滤液,通过制备型反相HPLC(C18柱,乙腈/H_2O)纯化残余物,得到为白色固体的化合物48(4.0mg,y=44%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.25(d,J=8.0Hz,2H),7.84(d,J=4.4Hz,2H),7.57(s,2H),7.29-7.24(m,4H),7.10(t,J=7.6Hz,2H),7.06(s,1H),6.92(s,2H),6.82(s,2H),5.22(d,J=12.8Hz,2H),5.17(d,J=12.4Hz,2H),4.46(dt,J_1=11.2Hz,J_2=4.4Hz,2H),3.98(bs,8H),3.69(dd,J_1=16.8Hz,J_2=10.8Hz,2H),3.62(d,J=6.4Hz,1H),3.58(d,J=6.0Hz,1H),3.48(dd,J_1=17.2Hz,J_2=3.6Hz,2H),2.82(t,J=6.4Hz,2H),2.39(s,3H),2.23(t,J=6.8Hz,2H),1.80-1.78(m,4H);HRMS(ESI,m/z):计算值912.3101$(M+H)^+$,实测值912.3118。

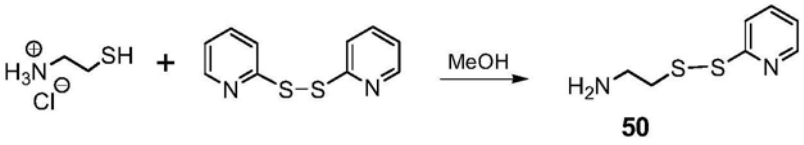
[0913] 化合物49:

[0914] 

[0915] 向三(2-羧基乙基)膦盐酸盐(TCEP·HCl,3.8mg,0.013mmol)在一滴去离子水(~50μL)中的悬液逐滴加入饱和碳酸氢钠(~25μL),以将pH调至约6~7,然后加入pH 6.5缓冲液(0.1M磷酸盐缓冲液,0.3mL)。将所得混合物加至化合物48(IGN-08,4.0mg,0.0044mmol)在甲醇(1.0mL)和乙腈(1.0mL)中的溶液。将溶液在室温搅拌1.5小时,用pH 6.5缓冲液和二氯甲烷稀释(通过质谱检验反应,显示仅有产物信号)。分离,用盐水洗涤有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下蒸发滤液,通过硅胶色谱法(Combiflash,二氯甲烷/MeOH)纯化残余物,得到为浅黄色固体的产物9(2.7mg,y=71%)。MS(m/z):实测值$864.0(M-H)^-$,$932.0(M+MeOH+2H_2O-H)^-$,$888.1(M+Na)^+$,$920.2(M+MeOH+Na)^+$,$952.2(M+2MeOH+Na)^+$。

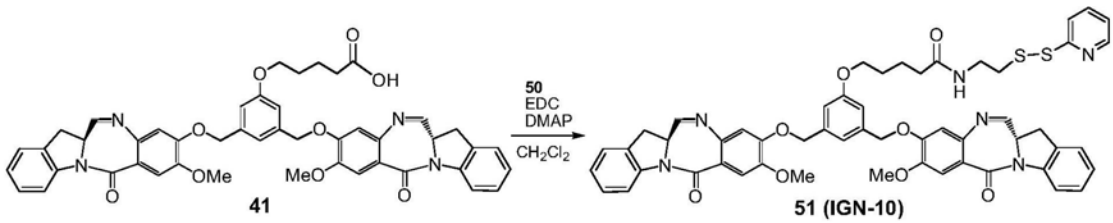
[0916] 实施例9

[0917] 化合物50:

[0918] 

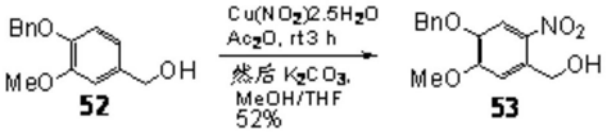
[0919] 向搅拌的半胱胺盐酸盐(227mg,2mmol)在无水甲醇(10mL)中的溶液加入aldrithiol(661mg,3mmol)。加入aldrithiol后,反应溶液由澄清无色变为澄清黄色。将混合物在室温搅拌21小时。加入三乙胺(279μl,2mmol),在减压下除去溶剂。通过硅胶色谱法(Combiflash,二氯甲烷/甲醇,1:0至15:1,含有0.1%三乙胺)纯化残余物,得到为无色油的化合物50(301mg,y=81%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.52-8.49(m,1H),7.69-7.60(m,2H),7.15-7.10(m,1H),3.04(t,J=6.0Hz,2H),2.92(t,J=6.0Hz),1.92(bs,2H)。

[0920] 化合物51(IGN-10):

[0921] 

[0922] 向IGN-03酸41(得自0.05mmol IGN-03,不经纯化)在无水二氯甲烷(1mL)中的溶液加入化合物50(37mg,0.2mmol)、N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(38mg,0.2mmol)和少量二甲基氨基吡啶。将混合物在室温搅拌过夜,用二氯甲烷稀释。用饱和氯化铵和盐水进行洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下蒸发滤液。通过硅胶色谱法(Combiflash,二氯甲烷/甲醇,1:0至5:1)纯化残余物,得到51mg黄色泡沫,其通过制备型反相HPLC(C18柱,乙腈/H_2O)进一步纯化,得到为黄色固体的化合物51(7.4mg,y=15%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.50(d,J=4.4Hz,1H),8.28(d,J=8.0Hz,2H),7.87(d,J=4.4Hz,2H),7.63-7.59(m,3H),7.52(d,J=8.0Hz,1H),7.31-7.21(m,4H),7.14-7.09(m,4H),6.96(s,2H),6.85(s,2H),5.23(d,J=12.8Hz,2H),5.18(d,J=12.4Hz,2H),4.49(dt,J_1=11.2Hz,J_2=4.4Hz,2H),4.03-4.00(m,8H),3.72(dd,J_1=16.8Hz,J_2=11.2Hz,2H),3.60(d,J=5.6Hz,1H),3.57(d,J=5.6Hz,1H),3.50(dd,J_1=16.8Hz,J_2=3.6Hz,2H),2.95(t,J=5.6Hz,2H),2.30(t,J=6.4Hz,2H),1.85-1.84(m,4H);HRMS(ESI,m/z):计算值975.3210(M+H)$^+$,实测值975.3190。

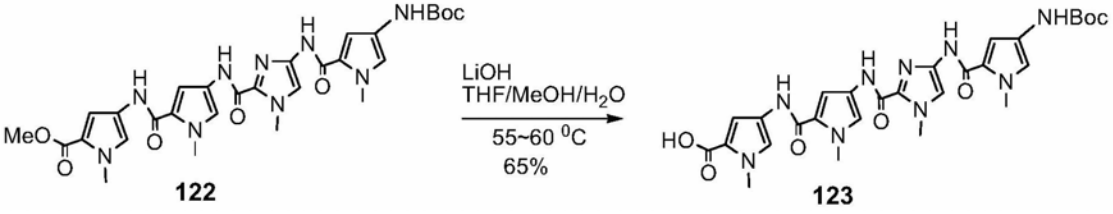
[0923] 化合物53:

[0924] 

[0925] 在0℃、向搅拌的4-苄氧基-3-甲氧基苯甲醇52(2.5g,10mmol)在乙酸酐(30mL)中的溶液分批缓慢加入硝酸铜(II)水合物(2.7g,11mmol)。将所得的悬液在0℃继续搅拌1小时,在室温搅拌3小时。将反应混合物倒在冰/水上,搅拌1小时。过滤,收集黄色固体,随后将其溶于MeOH/THF(1:1,V/V,30mL)中。加入碳酸钾(2.1g,15mmol),将所得混合物在室温搅拌3小时。在减压下浓缩,用二氯甲烷稀释残余物,用水和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下蒸发滤液,通过硅胶色谱法(CH_2Cl_2/MeOH,20:1,18:1,15:1)纯化残余物,得到为黄色固体的化合物53(1.50g,y=52%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ7.78(s,1H),7.48-7.33(m,5H),7.20(s,1H),5.18(s,2H),4.96(s,2H),4.01(s,3H)。

[0926] 实施例10

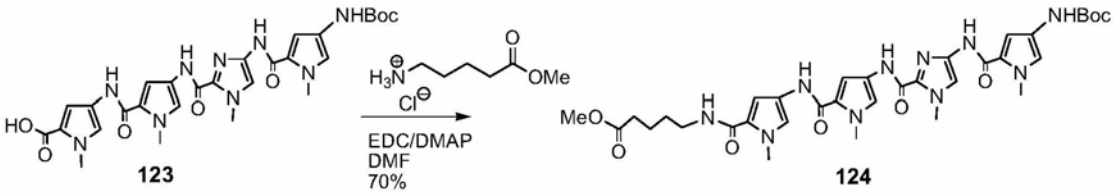
[0927] 化合物123:

[0928] 

[0929] 向搅拌的化合物122(137mg,0.22mmol)在THF(1.5mL)和MeOH(0.5mL)中的溶液加入氢氧化锂水合物(46mg,1.1mmol)在去离子水(0.5mL)中的溶液。将混合物在60℃油浴中

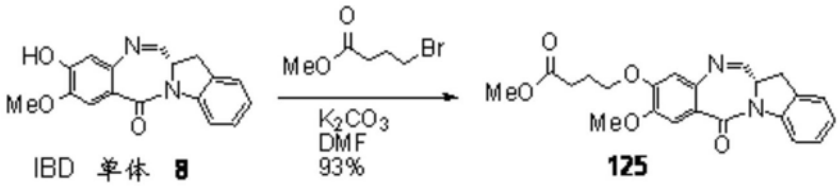
搅拌6小时。将其冷却至室温，用乙酸乙酯和水稀释。用5％盐酸将pH调至4～5。用乙酸乙酯萃取水层。用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤合并的有机层，经无水硫酸钠干燥，过滤。吹脱滤液，得到化合物123(87.5mg，y＝65％)。MS(m/z)：实测值606.1(M-H)$^-$。

[0930] 化合物124：

[0931] 

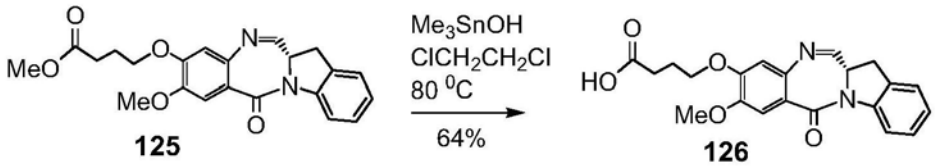
[0932] 向酸123(87.5mg，0.14mmol)在无水DMF(1mL)中的溶液加入DMAP(21mg，0.17mmol)、5-氨基戊酸甲酯盐酸盐(26mg，0.15mmol)和EDC(40mg，0.21mmol)。将混合物在室温搅拌过夜，用乙酸乙酯稀释。用饱和氯化铵，盐水、饱和碳酸氢钠和盐水洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤。吹脱滤液，通过硅胶色谱法(Combiflash，二氯甲烷/MeOH)纯化残余物，得到为黄色泡沫的化合物124(71mg，y＝70％)。^{1}H NMR(400Hz，$CDCl_3$)：δ9.07(s，1H)，8.62(s，1H)，8.40(s，1H)，7.19(s，1H)，7.17(s，1H)，7.09(s，1H)，7.00(s，1H)，6.74(s，1H)，6.62(s，3H)，6.46(s，1H)，3.94(s，3H)，3.85(bs，12H)，3.34-3.31(m，2H)，2.32(t，J＝7.2Hz，2H)，1.68-1.55(m，4H)，1.48(s，9H)；MS(ESI，m/z)：实测值721.0(M+H)$^+$。

[0933] 化合物125

[0934] 

[0935] 向IBD单体8(118mg，0.4mmol)和4-溴丁酸甲酯(109mg，0.6mmol)在无水DMF(1.5mL)中的溶液加入碳酸钾(111mg，0.8mmol)。将混合物在室温搅拌过夜，用乙酸乙酯稀释，用饱和氯化铵和盐水洗涤。经无水硫酸钠干燥，过滤。在减压下吹脱滤液，得到为黄色泡沫的化合物125(146mg，y＝93％)。^{1}H NMR(400Hz，$CDCl_3$)：δ8.25(d，J＝8.0Hz，1H)，7.84(d，J＝4.4Hz，1H)，7.52(s，1H)，7.26-7.22(m，2H)，7.10-7.06(m，1H)，6.81(s，1H)，4.44(dt，J_1＝10.8Hz，J_2＝4.0Hz，1H)，4.15-4.07(m，2H)，3.92(s，3H)，3.68(s，3H)，3.67-3.64(m，1H)，3.46-3.43(m，1H)，2.55(t，J＝7.2Hz，2H)，2.22-2.15(m，2H)；MS(ESI，m/z)：实测值465.2(M+MeOH+K)$^+$。

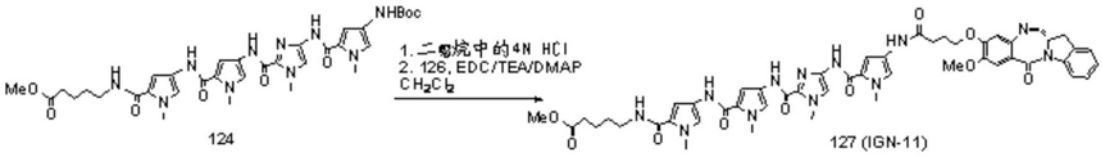
[0936] 化合物126：

[0937] 

[0938] 将化合物125(146mg，0.37mmol)和三甲基氢氧化锡(669mg，3.7mmol)在无水1，2-二氯乙烷(2mL)中的混合物加热至80℃(油浴温度)，在此温度下搅拌18小时。移除油浴，用二氯甲烷稀释混合物，用盐水/5％HCl(0.5mL)、饱和碳酸氢钠和盐水洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤。吹脱滤液，通过硅胶色谱法(Combiflash，二氯甲烷/MeOH)纯化残余物，得到为黄

色固体的化合物126(90mg,y=64%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.26(d,J=8.0Hz,1H),7.83(bs,1H),7.54(s,1H),7.30-7.25(m,2H),7.11(t,J=7.6Hz,1H),6.88(s,1H),4.48(dt,J_1=11.2Hz,J_2=4.0Hz,1H),4.16-4.13(m,2H),3.94(s,3H),3.71(dd,J_1=16Hz,J_2=11.2Hz,1H),3.47(d,J=16Hz,1H),2.60(t,J=6.4Hz,2H),2.22-2.18(m,2H)。

[0939] 化合物127(IGN-11):

[0940] 

[0941] 向含有化合物124(71mg,0.099mmol)的烧瓶中加入在二噁烷中的4N HCl(4mL)。将混合物在室温搅拌2小时,在减压下吹脱。将残余物溶于无水二氯甲烷(1.5mL)中。随后加入化合物126(42mg,0.11mmol)、三乙胺(14μl,0.1mmol)、EDC(38mg,0.2mmol)和DMAP(1mg,0.0099mmol)。将反应混合物在室温搅拌22小时,用二氯甲烷稀释,用饱和氯化铵和盐水洗涤。经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下吹脱滤液,通过硅胶色谱法(Combiflash,二氯甲烷/MeOH)纯化残余物,得到为黄色固体的化合物127(14mg,y=49%)。HRMS(ESI,m/z):计算值983.4164(M+H)+,实测值983.4167。

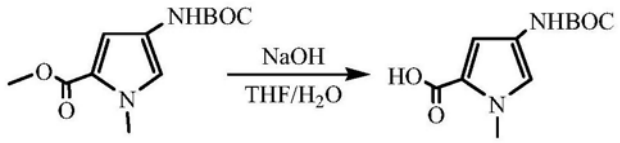
[0942] 实施例11

[0943] IGN-03 NHS酯(化合物43)和IGN-07NHS酯(化合物46)储备溶液的制备:

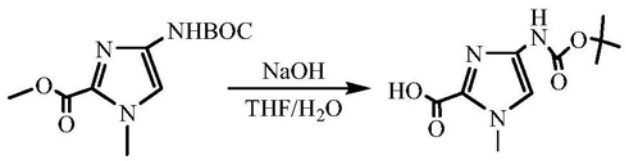
[0944] 在二甲基乙酰胺(DMA)中,基于903.93g/摩尔(IGN-03 NHS酯)或902.95(IGN-07 NHS酯)的分子量,将IGN-03 NHS酯和IGN-07 NHS酯的溶液新鲜制备成0.006M储备液。用分光光度法、使用在330nm确定的参考消光系数测定储备溶液(ε330nm=15,231M-1 cm-1)。

[0945] 实施例12

[0946] 4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸

[0947] 

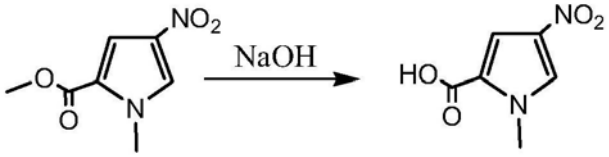
[0948] 将4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯(Eldon E.Baird和Peter B.Dervan,J.Am.Chem.Soc.1996,118,6141-6146)(5.0g,19.67mmol)在120ml 1:1 THF/H_2O中的溶液加入在30ml水中的8gNaOH。将混合物搅拌过夜,浓缩,用水稀释,用EtAc/己烷(1:1)萃取。用20%H_3PO_4将水溶液调至pH 4.0,用EtAc(4×60mL)萃取。将有机溶液合并,经$MgSO_4$干燥,过滤,蒸发,用乙醇/EtAc/己烷结晶,得到3.81g(81%)标题产物。^{1}H NMR(CD3OD)12.79(s,1H),10.48(br,1H),7.51(s,1H),6.99(s,1H),3.78(s,3H),1.49(s,9H);^{13}C NMR 158.47,153.82,123.64,121.56,109.58,79.52,37.06,28.42;MS m/z-239.2(M-H)。4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸

[0949] 

[0950] 将4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸甲酯(5.0g,19.59mmol)在

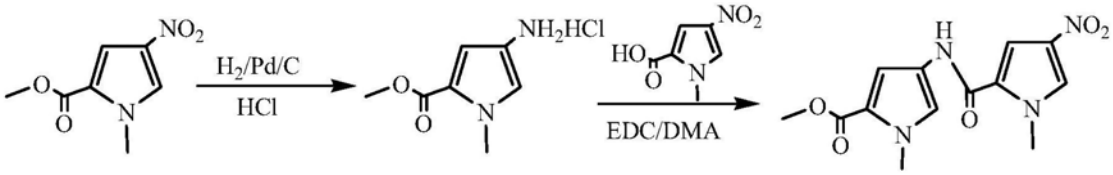
120ml 1:1THF/H_2O中的溶液加入在30ml水中的8g NaOH。将混合物搅拌过夜，浓缩，用水稀释，用EtAc/己烷(1:1)萃取。用20％H_3PO_4将水溶液调至pH 4.0，用EtAc萃取(4×60mL)。将有机溶液合并，经$MgSO_4$干燥，过滤，蒸发，用乙醇/EtAc/己烷结晶，得到3.85g(81％)标题产物。^{1}H NMR(DMSO)9.32(s,1H)，7.29(s,1H)，3.57(s,3H)，1.42(s,9H)；^{13}C NMR 172.45，159.78,136.93,135.44,132.85,79.50,35.57,28.07;MS m/z-240.8(M-H)。

[0951] 1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-羧酸

[0952] 

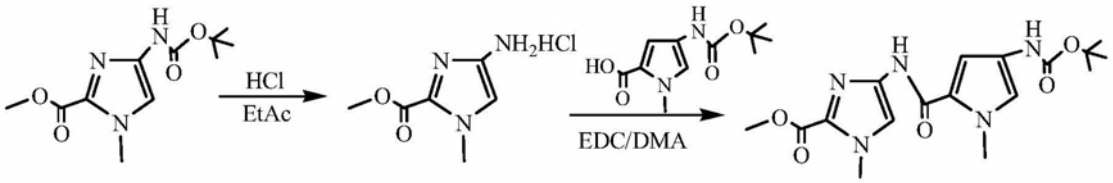
[0953] 将1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯(5.0g,27.17mmol)在120ml 1:1THF/H_2O中的溶液加入在30ml水中的8g NaOH。将混合物搅拌过夜，浓缩，用水稀释，用EtAc/己烷(1:1)萃取。用20％H_3PO_4将水溶液调至pH 3～4，用EtAc萃取(4×60mL)。将有机溶液合并，经$MgSO_4$干燥，过滤，蒸发，用乙醇/EtAc/己烷结晶，得到4.06g(88％)标题产物。^{1}H NMR(DMSO)13.12(s,1H)，8.21(s,1H)，7.25(s,1H)，3.91(s,3H)；^{13}C NMR 160.97,134.01,129.16,123.81,111.38,37.47;MS m/z-169.1(M-H)。

[0954] 1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-羧酸甲酯

[0955] 

[0956] 在氢化瓶中加入1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯(3.0g,16.30mmol)、80ml THF、405mg 10％Pd/C和1.3ml HCl(浓)。在真空下排空后，将瓶放置在30psi氢气下，振摇5小时。将混合物滤过硅藻土，蒸发至干，不经进一步纯化。向干燥混合物加入1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-羧酸(2.75g,16.18mmol)、80ml DMA、EDC(8.51g,44.27mmol)和DIPEA(2.80ml,16.10mmol)。将混合物在Ar下搅拌过夜，浓缩，用THF/EtAc(1:2,150mL)稀释，分别用1M NaH_2PO_4/NaCl(浓)和$NaHCO_3$(浓)洗涤。分离有机层，经$MgSO_4$干燥，浓缩过滤，用THF/H_2O结晶，得到3.74g(75％)标题产物。^{1}H NMR(DMSO)10.25(s,1H)，8.17(s,1H)，7.25(s,1H)，6.52(s,1H)，6.08(s,1H)，3.90(s,3H)，3.78(s,3H)，3.56(s,3H)；^{13}C NMR 157.87,156.84,133.76,128.16,123.39,119.13,118.18,111.83,107.50,104.17,51.55,37.41,36.03;MS m/z+329.1(M+Na)。

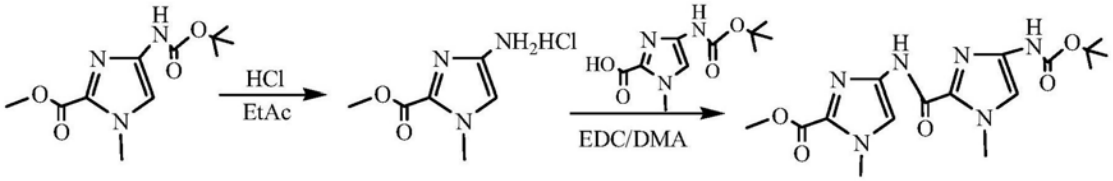
[0957] 4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸甲酯

[0958] 

[0959] 将4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸甲酯(2.50g,9.80mmol)在30ml EtAc的溶液加入6ml HCl(浓)。搅拌45分钟后，将混合物用乙醇和甲苯稀释，浓缩，与

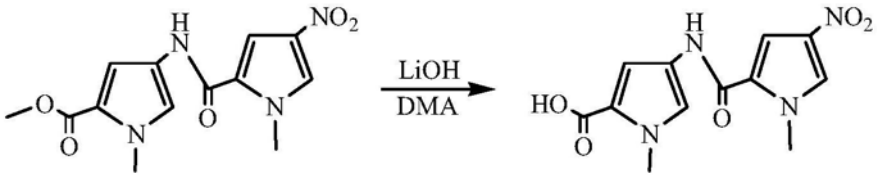
乙醇/甲苯(1:1,3×50mL)共蒸发至干,不经进一步纯化。向干燥化合物加入4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(2.35g,9.8mmol)、EDC(5.60g,29.1mmol)、DIPEA(1.70ml,9.8mmol)和80ml DMA。将混合物在Ar下搅拌过夜,浓缩,用THF/EtAc(1:2,150mL)稀释,分别用1M NaH_2PO_4/NaCl(浓)和$NaHCO_3$(浓)洗涤。分离有机溶剂层,经$MgSO_4$干燥,过滤,浓缩,经由用EtAc/DCM(1:25至1:15)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到2.72g(73%)标题产物。^{1}H NMR(DMF-d7)10.27(s,1H),9.08(s,1H),7.41(s,1H),7.32(s,1H),7.07(s,1H),4.10(s,3H),3.93(s,3H),3.84(s,3H),1.47(s,9H);^{13}C NMR 162.62,161.20,153.82,145.32,144.12,132.56,128.46,124.39,119.83,79.51,52.75,36.06,35.83,28.88;MS m/z+400.2(M+Na)。

[0960] 4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸甲酯

[0961] 

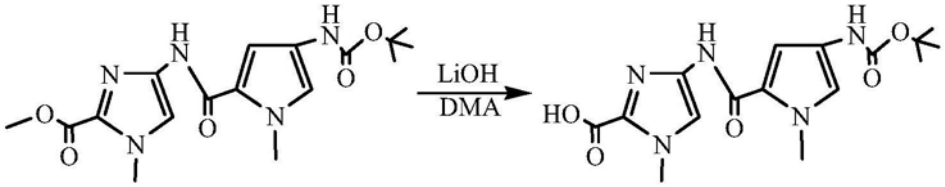
[0962] 将4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸甲酯(2.50g,9.80mmol)在30ml EtAc中的溶液加入6ml HCl(浓)。搅拌30分钟后,将混合物用乙醇和甲苯稀释,浓缩,与乙醇/甲苯(1:1,3×50mL)共蒸发至干,化合物不经进一步纯化。向干燥化合物加入4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸(2.36g,9.8mmol)、EDC(5.90g,30.7mmol)、DIPEA(1.70ml,9.8mmol)和80ml DMA。将混合物在Ar下搅拌过夜,浓缩,用THF/EtAc(1:2,150mL)稀释,分别用1M NaH_2PO_4/NaCl(浓)和$NaHCO_3$(浓)洗涤。分离有机溶剂层,经$MgSO_4$干燥,过滤,浓缩,经由用EtAc/DCM(1:25至1:15)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到2.65g(71.5%)标题产物。^{1}H NMR(DMSO)11.17(s,1H),10.48(s,1H),7.58(s,1H),7.32(s,1H),4.01(s,3H),3.94(s,3H),3.92(s,3H),1.45(s,9H);^{13}C NMR 160.60,157.30,135.92,135.45,132.86,126.12,114.83,79.50,52.70,35.58,34.92,28.08;MS m/z+401.8(M+Na)。

[0963] 1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-羧酸

[0964] 

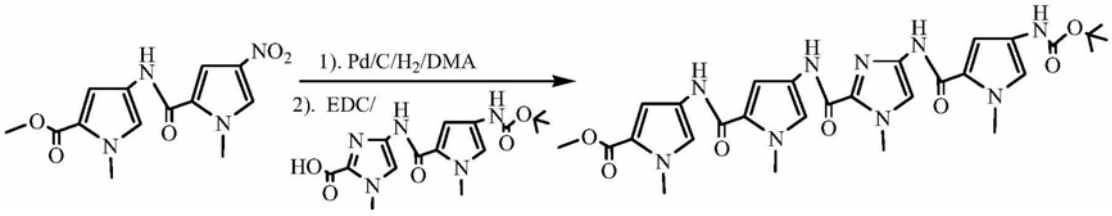
[0965] 将1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-羧酸甲酯(2.0g,6.53mmol)在50ml DMA中的溶液加入在30ml水中的2g LiOH。将混合物搅拌过夜,浓缩,用水稀释,用EtAc/己烷(1:1)萃取。用20%H_3PO_4将水溶液调至pH 4.0以形成沉淀。过滤沉淀,用水洗涤,在真空下用P_2O_5干燥,得到1.4g(73%)标题产物。^{1}H NMR(DMF-d7)10.34(br,1H),8.17(s,1H),7.62(s,1H),7.51(s,1H),7.00(s,1H),4.09(s,1H),3.91(s,1H);^{13}C NMR 158.47,135.61,129.11,127.77,123.65,121.57,121.50,109.48,108.52,38.38,37.05;MS m/z-291.0(M-H)。

[0966] 4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸

[0967] 

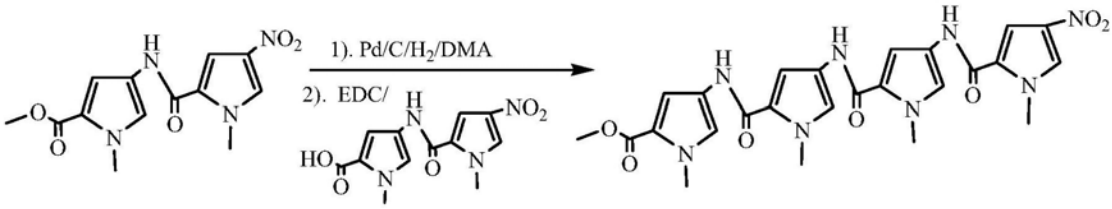
[0968] 将4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸甲酯(2.0g,5.30mmol)在50ml DMA中的溶液加入在30ml水中的2g LiOH。将混合物搅拌过夜,浓缩,用水稀释,用EtAc/己烷(1:1)萃取。用20%H_3PO_4将水溶液调至pH 4.0以形成沉淀。过滤沉淀,用水洗涤,在真空下用P_2O_5干燥,得到1.44g(75%)标题产物。^{1}H NMR(DMSO)10.41(br,1H),9.07(s,1H),7.48(s,1H),6.97(s,1H),6.88(s,1H),3.92(s,1H),3.81(s,1H),1.47(s,9H);^{13}C NMR 160.46,158.42,152.85,145.21,135.81,129.11,127.77,122.39,121.57,113.58,79.81,36.06,35.25,28.17;MS m/z-362.1(M-H)。

[0969] 4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯

[0970] 

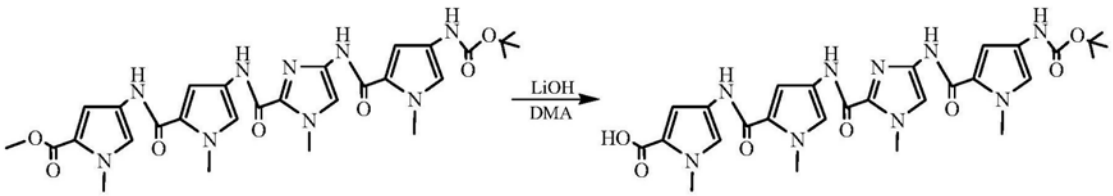
[0971] 在氢化瓶中加入1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-羧酸甲酯(1.0g,3.27mmol)、20ml THF、305mg 10%Pd/C(50%湿)和0.25ml HCl(浓)。在真空下排空后,将瓶放置在50psi氢气下,振摇4小时。将混合物滤过硅藻土,蒸发至干,不经进一步纯化。向干燥混合物加入4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸(1.15g,3.16mmol)、10ml DMA、EDC(2.0g,10.4mmol)和DIPEA(0.70ml,4.02mmol)。将混合物在Ar下搅拌过夜,浓缩,用己烷/EtAc(1:1,10mL)和水10ml稀释以形成沉淀。过滤沉淀,1M NaH_2PO_4、1M $NaHCO_3$和水洗涤,在真空下用P_2O_5干燥,得到1.61g(82%)标题产物。^{1}H NMR(DMF-d7)10.29(s,1H),10.20(s,1H),10.12(s,1H),9.08(s,1H),7.58(s,1H),7.47(d,1H,J=1.7Hz),7.26(d,1H,J=1.5Hz),7.15(d,1H,J=1.5Hz),6.98(s,1H),6.91(d,1H,J=1.8Hz),6.86(s,1H),3.97(s,3H),3.82(s,3H),3.73(s,3H),3.56(s,3H),1.45(s,9H);^{13}C NMR 162.16,160.05,159.90,157.20,154.31,137.88,135.35,124.56,124.39,124.24,123.09,120.09,119.82,115.32,105.58,102.27,79.31,51.51,38.13,36.01,35.80,35.08,28.79;MS m/z+644.2(M+Na)。

[0972] 1-甲基-4-(1-甲基-4-(1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-羧酸甲酯

[0973] 

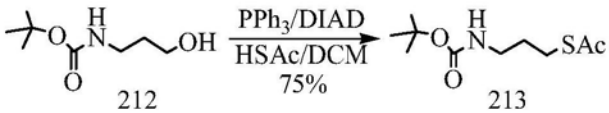
[0974] 在氢化瓶中加入1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-

羧酸甲酯(2.0g,6.53mmol)、80ml DMA、500mg 10%Pd/C(50%湿)和0.4ml HCl(浓)。在真空下排空后,将瓶放置在50psi氢气下,振摇4小时。将混合物滤过硅藻土,蒸发至干,不经进一步纯化。向干燥混合物加入1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-羧酸(1.49g,5.10mmol)、30ml DMA、EDC(4.0g,20.8mmol)和DIPEA(1.0ml,5.75mmol)。将混合物在Ar下搅拌过夜,浓缩,用己烷/EtAc(1:1,10mL)和水10ml稀释以形成沉淀。过滤沉淀,用1M NaH_2PO_4、1M $NaHCO_3$和水洗涤,在真空下用P_2O_5干燥,得到2.13g(76%)标题产物。^1H NMR(DMSO)10.28(s,1H),10.25(s,1H),9.78(s,1H),8.18(s,1H),7.86(s,1H),7.52(s,1H),7.31(d,1H,J=1.7Hz),7.25(s,1H),7.23(s,1H),7.17(d,1H,J=1.5Hz),6.98(s,1H),6.71(s,1H),4.02(s,3H),3.94(s,3H),3.83(s,3H),3.73(s,3H),3.56(s,3H),1.47(s,9H);^{13}C NMR 160.78,158.93,158.06,157.81,135.25,127.28,126.36,123.78,122.57,121.91,121.40,120.94,119.65,110.73,108.39,107.34,103.75,80.81,51.57,39.74,38.52,38.22,37.08,28.63;MS m/z+573.2(M+Na)。4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸

[0975] 

[0976] 向4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯(510mg,0.82mmol)在10ml DMA中的溶液加入在10ml水中的0.8g LiOH。将混合物搅拌过夜,浓缩,用水稀释,用EtAc/己烷(1:1)萃取。用20%H_3PO_4将水溶液调至pH 4.0以形成沉淀。过滤沉淀,用水洗涤,在真空下用P_2O_5干燥,得到363mg(73%)标题产物。^1H NMR(DMF-d7)10.31(s,1H),10.18(s,1H),10.11(s,1H),9.10(s,1H),7.58(s,1H),7.54(s,1H),7.41(s,1H),7.33(s,1H),7.21(s,1H),7.10(s,1H),7.06(s,1H),4.10(s,1H),3.98(s,1H),3.95(s,1H),3.93(s,1H),1.47(s,9H);^{13}C NMR 162.16,160.05,159.90,157.20,154.31,137.88,135.35,124.56,124.39,123.51,123.09,121.76,120.09,119.83,118.96,115.32,109.53,105.58,102.27,79.32,38.13,36.02,35.81,34.88,28.79;MS m/z-606.2(M-H)。

[0977] 硫代乙酸S-3-(叔丁氧基羰基氨基)丙酯

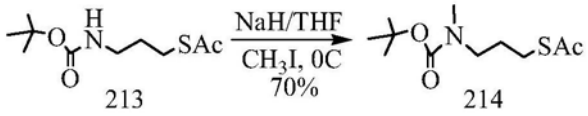
[0978] 

212 213

[0979] 在0℃和Ar下、向3-羟基丙基氨基甲酸叔丁酯(3.22g,18.37mmol)在100ml DCM中的溶液加入硫代乙酸(2.0ml,26.73mmol)和三苯基膦(7.0g,26.73mmol)。在0℃搅拌15分钟后,加入DIAD(6.0ml,28.93)。将混合物在0℃搅拌2小时,然后在RT搅拌过夜。浓缩混合物,用120ml EtAc/己烷(1:2)稀释,滤过硅藻土。分别用$NaHCO_3$(浓)/NaCl(浓)和1M NaH_2PO_4洗涤溶液,经$MgSO_4$干燥,过滤,蒸发,经由用EtAc/己烷(1:7至1:6)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到3.22g(75%)标题化合物。^1H NMR($CDCl_3$)3.09(t,2H,J=6.5Hz),2.84(t,2H,J=6.9Hz),2.27(s,3H),1.69(dt,2H,J=6.8,13.5Hz),1.38(s,9H);^{13}C NMR196.35,156.16,79.50,

39.26,30.79,30.24,28.61,26.44;MS m/z+256.0(M+Na)。

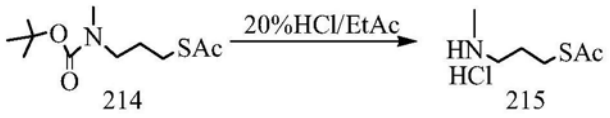
[0980] 硫代乙酸S-3-(叔丁氧基羰基(甲基)氨基)丙酯

[0981] 

213 214

[0982] 在0℃和Ar下、向NaH(0.57g,60%,14.25mmol)在20ml THF中的溶液加入硫代乙酸S-3-(叔丁氧基羰基氨基)丙酯(1.25g,5.36mmol)。在0℃搅拌30分钟后,将MeI(1.0ml,16.06mmol)加至混合物。在0℃继续搅拌2小时,然后在RT搅拌过夜。浓缩混合物,将其再溶于120ml EtAc/己烷(1:2)中,用1M NaH_2PO_4NaCl(浓)洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤,蒸发,经由用EtAc/己烷(1:7)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到1.121g(85%)标题化合物。^{1}H NMR($CDCl_3$)3.69(t,2H,J=7.3Hz),2.41(t,2H,J=7.3Hz),2.39(s,3H),2.03(s,3H),1.76(m,2H),1.47(s,9H);^{13}C NMR 173.21,153.39,83.28,43.67,31.84,28.26,28.19,27.11,15.65;MS m/z+270.0(M+Na)。

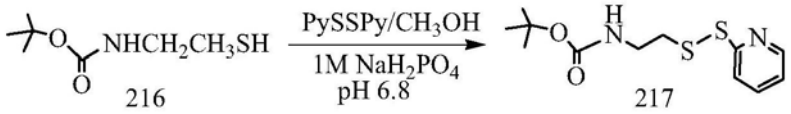
[0983] S-3-(甲基氨基)丙基硫代乙酸酯盐酸盐

[0984] 

214 215

[0985] 在RT、向S-3-(叔丁氧基羰基(甲基)氨基)丙基硫代乙酸酯(206mg,0.834mmol)在4ml EtAc中的溶液加入1.0ml HCl(浓)。将混合物在RT搅拌1小时,用乙醇/甲苯(6ml,1:1)稀释,蒸发,与乙醇/甲苯(3×10mL)共蒸发,用乙醇/EtAc/己烷结晶,过滤,真空干燥,得到135mg(88%)标题化合物。^{1}H NMR($CDCl_3$)9.70(br,1H),8.56(br,1H),3.42(m,2H),2.52(m,2H),2.35(s,3H),2.05(s,3H),1.88(m,2H);^{13}C NMR 174.64,40.57,31.57,27.69,20.94,15.62;MS m/z+170.0(M+Na),148.10(M+H)。

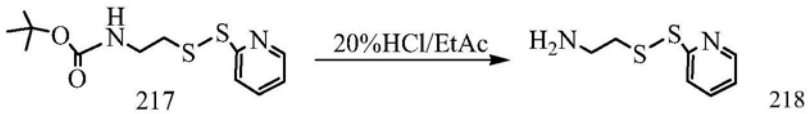
[0986] 2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙基氨基甲酸叔丁酯(217)

[0987] 

216 217

[0988] 向2,2'-二巯基吡啶(3.97g,18.02mmol)在100ml甲醇和80ml 1M NaH_2PO_4,pH 6.8中的溶液加入2-巯乙基氨基甲酸叔丁酯(1.00g,5.65mmol)在50ml甲醇中的溶液。将混合物在Ar下搅拌过夜,浓缩,用二氯甲烷萃取,经$MgSO_4$干燥,过滤,蒸发,经由用EtAc/己烷(1:10至1:6)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到1.341g(83%)标题化合物。^{1}H NMR($CDCl_3$)8.39(m,1H),7.56(m,1H),7.49(m,1H),7.03(m,1H),7.00(m,1H),3.34(m,2H),2.84(m,2H),1.37(s,9H);^{13}C NMR 160.05,159.39,159.07,149.87,137.21,120.78,79.48,39.58,38.96,28.57;MS m/z+309.2(M+Na)。

[0989] 2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙胺

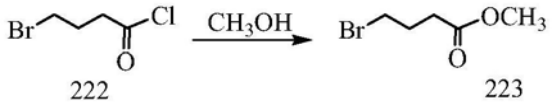
[0990] 

217 218

[0991] 在RT、2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙基氨基甲酸叔丁酯(1.06g,3.70mmol)在16ml EtAc中的溶液加入4.0ml HCl(浓)。将混合物在RT搅拌0.5小时,用乙醇/甲苯(6ml,1:1)稀

释，蒸发，与乙醇/甲苯(3×10mL)共蒸发，用乙醇/EtAc/己烷结晶，过滤，真空干燥，得到135mg(88%)标题化合物。^{1}H NMR(CD_3OD)7.58(m,1H)，7.47(m,1H)，7.06(m,1H)，6.83(m,1H)，3.34(m,2H)，3.02(m,2H)；^{13}C NMR 158.69,149.07,137.81,122.48,120.98,39.52,36.94;MS m/z+187.10(M+H)。

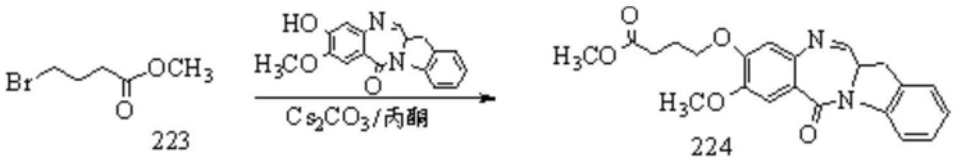
[0992] 4-溴丁酸甲酯(223)

[0993] 

222 223

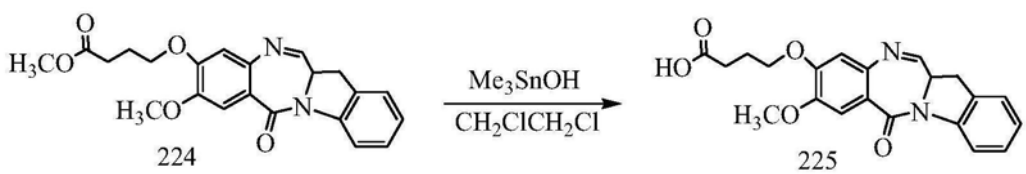
[0994] 在0℃、将4-溴丁酰氯(3.1ml,25.28mmol)加至15ml干燥甲醇。在0℃和Ar下继续搅拌2小时，然后在RT搅拌过夜。蒸发混合物，用EtAc/己烷(1:5)稀释，滤过SiO_2凝胶，蒸发得到4.50g(99%)标题化合物。^{1}H NMR($CDCl_3$)3.65(s,3H)，3.43(t,2H,J＝6.5Hz)，2.47(t,2H,J＝7.1Hz)，2.13(dt,2H,J＝6.7,13.6Hz)；^{13}C NMR 173.08,51.84,32.82,32.34,27.89;MS m/z+203.0(M+Na)。

[0995] 4-(7-甲氧基-2',3'-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-8-基氧基)丁酸(Z)-甲酯

[0996] 

[0997] (Z)-2,3-苯并-8-羟基-7-甲氧基-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-5(11aH)-酮(60mg,0.20mmol)在4ml丙酮中的溶液加入Cs_2CO_3(90mg,0.28mmol)，然后加入4-溴丁酸甲酯(50mg,0.27mmol)。将混合物在Ar下搅拌过夜，蒸发，经由用EtAc/己烷(1:5至1:3)洗脱的SiO_2色谱法纯化，得到50.1mg(63%)标题化合物。^{1}H NMR($CDCl_3$)8.19(d,1H,J＝7.9Hz)，7.80(d,1H,J＝4.2Hz)，7.48(s,1H)，7.19(m,2H)，7.03(d,1H,J＝7.4Hz)，6.77(s,1H)，4.41(m,1H)，3.88(s,3H)，3.64(m,2H)，3.62(s,3H)，3.42(dd,1H,J＝3.4,13.7Hz)，2.50(t,2H,J＝7.2Hz)，2.12(t,2H,J＝6.8Hz)；^{13}C NMR,173.64,164.12,163.24,152.25,148.41,142.28,140.34,129.69,128.39,124.97,120.85,117.15,112.15,110.68,68.08,56.40,55.18,51.90,32.84,30.64,24.50;MS m/z+187.10(M+H)。MS m/z+417.2(M+Na)，435.2(M+Na+H_2O)。

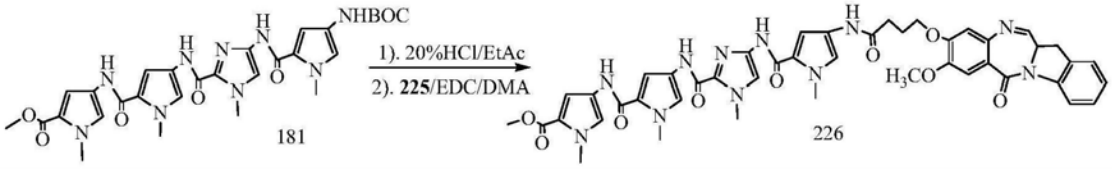
[0998] 4-(7-甲氧基-2,3-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-8-基氧基)丁酸

[0999] 

[1000] 在85℃和Ar下、将4-(7-甲氧基-2',3'-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-8-基氧基)丁酸(Z)-甲酯(41mg,0.104mmol)和三甲基氢氧化锡(302mg,1.67mmol)在15ml二氯乙烷中的溶液回流过夜。将混合物用1M NaH_2PO_4(pH

3.5)洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤,蒸发,经由用EtAc/DCM/HCl(1:25:0.01%)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到30mg(76%)标题化合物。^{1}H NMR($CDCl_3$)8.18(d,1H,J=7.9Hz),7.85(m,1H),7.46(s,1H),7.20(m,2H),7.04(d,1H,J=7.4Hz),6.81(s,1H),4.40(m,1H),3.86(s,3H),3.63(m,2H),3.23(dd,1H,J=10.2,16.3Hz),2.52(t,2H,J=7.2Hz),2.12(t,2H,J=6.8Hz);^{13}C NMR,173.64,164.12,163.24,152.25,148.41,142.28,140.34,129.69,128.39,125.10,120.85,117.19,112.15,110.68,67.94,56.43,55.18,31.81,30.64,24.21;MS m/z-397.0($M+H_2O-H$)。

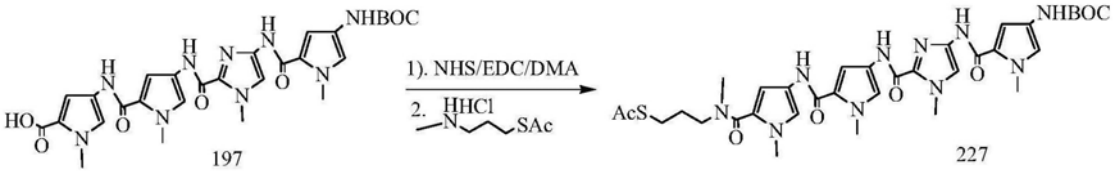
[1001] 4-{[4-({4-[4-(4-(7-甲氧基-2',3'-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-8-基氧基)丁酰基氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-羰基}氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羰基]氨基}-1-甲基-1H-吡咯-2-羰基]-氨基}-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯(226)

[1002] 

181 226

[1003] 向4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯(15mg,0.024mmol)在4ml EtAc中的溶液加入1.0ml HCl(浓)。将混合物在RT搅拌0.5小时,用乙醇/甲苯(6ml,1:1)稀释,蒸发,与乙醇/甲苯(3×10mL)共蒸发,经真空干燥。固体化合物不经进一步纯化直接使用。向该固体加入4-(7-甲氧基-2',3'-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-8-基氧基)丁酸(6mg,0.015mmol)、EDC(40mg,0.21mmol)、DIPEA(4ul,0.023mmol)和1ml DMA。将混合物在Ar下搅拌过夜,蒸发,经由HPLC制备型C-18柱纯化(Φ10mm×200mm柱,流速9mL/min,梯度溶剂系统如下运行:75:25溶剂A:B进行0-5分钟的时间,接着40:60A:B进行15分钟,然后20:80A:B进行25分钟,最后10:90A:B进行30分钟;溶剂A-水,溶剂B-乙腈/二噁烷(1:2)),冻干,得到白色固体(4.2mg(30%)标题化合物)。MS m/z-900.3($M+H_2O-H$)。

[1004] S-3-(4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-N,1-二甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)丙基硫代乙酸酯(227)。

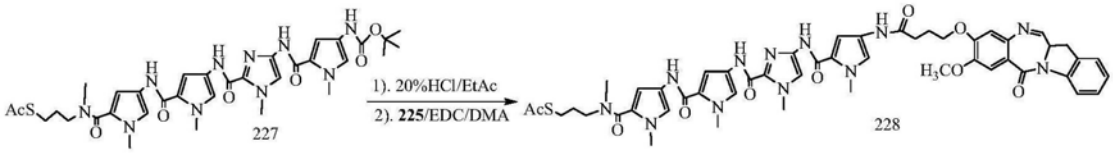
[1005] 

197 227

[1006] 将4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(256mg,0.42mmol),NHS(60mg,0.52mmol)和EDC(500mg,2.60mmol)在4ml DMA中的溶液在Ar下搅拌2小时,然后加入S-3-(甲基氨基)丙基硫代乙酸酯盐酸盐(76.5mg,0.42mmol),将混合物保持搅拌24小时,蒸发,经由用THF/DCM(1:5至1:4)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到198mg(64%)标

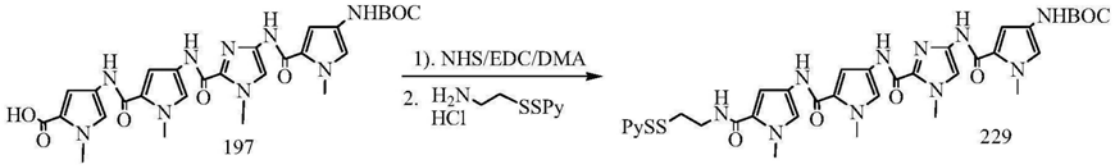
题化合物。^{1}H NMR(DMSO)10.21(s,1H),10.09(s,1H),10.06(s,1H),9.08(s,1H),7.76(d,1H,J=1.7Hz),7.52(s,1H),7.28(s,1H),7.21(d,1H,J=1.7Hz),6.97(s,1H),6.87(s,1H),3.98(s,1H),3.86(s,3H),3.75(s,3H),3.73(s,3H),3.66(m,2H),2.85(s,3H),2.60(m,2H),2.01(s,3H),1.45(s,9H);^{13}C NMR 173.31,162.16,160.05,159.90,157.20,154.31,137.88,135.35,124.56,124.39,123.51,123.09,121.76,120.09,119.83,118.96,115.32,109.53,105.58,102.27,79.32,43.67,38.13,36.02,35.81,34.88,31.84,28.79,28.26,28.21,27.01;MS m/z+759.2(M+Na)。

[1007] (Z)-S-3-(4-(4-(4-(4-(4-(7-甲氧基-2,3-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-8-基氧基)丁酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-N,1-二甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)丙基硫代乙酸酯

[1008] 

[1009] 将S-3-(4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-N,1-二甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)丙基硫代乙酸酯(227)(27mg,0.037mmol)在2ml二噁烷和0.5ml HCl(浓)中搅拌15分钟,用乙醇/甲苯(6ml,1:1)稀释,蒸发,与乙醇/甲苯(4×10mL)共蒸发,用EtOH/DCM/己烷结晶,真空干燥,得到21mg固体。固体化合物不经进一步纯化直接使用。向该固体加入4-(7-甲氧基-2,3-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-8-基氧基)丁酸(10mg,0.026mmol)、EDC(101mg,0.52mmol)、DIPEA(5μl,0.028mmol)和2ml DMA。将混合物搅拌过夜,蒸发,用DCM稀释,用1M NaH_2PO_4/NaCl(浓)(pH 4.0)洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤,蒸发,经由HPLC制备型C-18柱纯化(Φ10mm×200mm柱,流速9mL/min,梯度溶剂系统如下运行:75:25溶剂A:B进行0-5分钟的时间,接着40:60A:B进行15分钟,然后20:80A:B进行25分钟,最后10:90A:B进行30分钟;溶剂A-水,溶剂B-乙腈/二噁烷(1:2)),冻干,得到白色固体8.2mg(32%)标题化合物。MS m/z-1015.1(M+H_2O-H),UV$\varepsilon_{(l=305nM)}$=32800$M^{-1}cm^{-1}$。

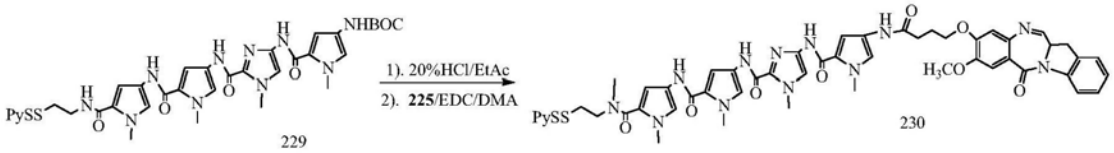
[1010] 1-甲基-5-(1-甲基-2-(1-甲基-5-(1-甲基-5-(2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酰基)-1H-咪唑-4-基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酸叔丁酯(229)

[1011] 

[1012] 将4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(102mg,0.17mmol)、2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙胺盐酸盐(40mg,0.18mmol)、DIPEA(30μl,0.17mmol)和EDC(200mg,1.04mmol)在2ml DMA中的溶液在Ar下搅拌24小时,蒸发,经由用THF/DCM(1:5至1:4)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到90mg(68%)标题化合物。^{1}H NMR(DMSO)10.93(s,1H),

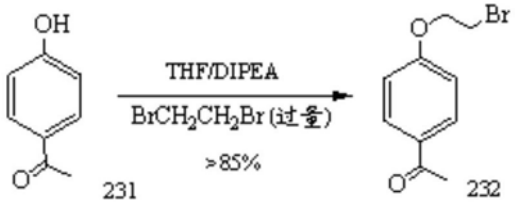
10.19(s,1H),10.06(s,1H),9.03(s,1H),8.81(m,1H),8.29(m,1H),8.03(m,1H),7.68(s,1H),7.47(s,1H),7.28(s,1H),7.24(s,1H),7.18(m,1H),6.87(s,1H),3.96(s,1H),3.86(s,3H),3.75(s,3H),3.73(s,3H),3.58(m,2H),2.48(m,2H),1.45(s,9H);MS m/z+798.0(M+Na),776.0(M+H)。

[1013] 4-(4-(4-(7-甲氧基-2,3-苯并[e]-1-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-8-基氧基)丁酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-N-(1-甲基-5-(1-甲基-5-(甲基(2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙基)氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基)-1H-咪唑-2-甲酰胺

[1014] 

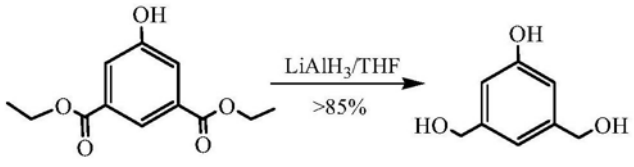
[1015] 将1-甲基-5-(1-甲基-2-(1-甲基-5-(1-甲基-5-(2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酰基)-1H-咪唑-4-基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酸叔丁酯(229)(30mg,0.038mmol)在2ml二噁烷和0.5ml HCl(浓)中搅拌15分钟,用乙醇/甲苯(6ml,1:1)稀释,蒸发,与乙醇/甲苯(4×10mL)共蒸发,用EtOH/DCM/己烷结晶,真空干燥,得到19.5mg固体。固体化合物不经进一步纯化直接使用。向该固体加入4-(7-甲氧基-2,3-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-8-基氧基)丁酸(10mg,0.026mmol)、EDC(102mg,0.52mmol)、DIPEA(5μl,0.028mmol)和2ml DMA。将混合物搅拌过夜,蒸发,用DCM稀释,用1M NaH_2PO_4/NaCl(浓)(pH 4.0)洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤,蒸发,经由HPLC制备型C-18柱纯化(Φ10mm×200mm柱,流速9mL/min,梯度溶剂系统如下运行:75:25溶剂A:B进行0-5分钟的时间,接着40:60A:B进行15分钟,然后20:80A:B进行25分钟,最后10:90A:B进行30分钟;溶剂A-水,溶剂B-乙腈/二噁烷(1:2)),冻干,得到白色固体7.5mg(27%)标题化合物。MS m/z-1050.0(M+H_2O-H),UV $\varepsilon_{(l=305nM)}=32855M^{-1}cm^{-1}$。

[1016] 1-(4-(2-溴乙氧基)苯基)乙酮

[1017] 

[1018] 将1-(4-羟基苯基)乙酮(8.2g,60.2mmol)、碳酸钾(15.2g,110.1mmol)和KI(1.0g,6.0mmol)在100DMF中溶液搅拌5分钟,然后加入1,2-二溴乙烷(60ml,696.2mmol)。将混合物搅拌过夜,蒸发,用EtAc/己烷(1:1)稀释,用0.1M HCl/NaCl(浓)洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤,蒸发,经由用EtAc/己烷(1:3至2:3)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到12.41g(85.2%)标题化合物。^1H NMR($CDCl_3$)7.87(ddd,2H,J=2.8,4.9,9.7Hz),6.88(ddd,2H,J=2.8,4.9,9.6Hz),4.29(t,2H,J=6.2Hz),3.59(t,2H,J=6.2Hz);^{13}C NMR 196.88,162.11,131.15,130.54,113.80,68.06,29.50,26.62;MS m/z+264.80(M+Na),266.80(M+2+Na)。

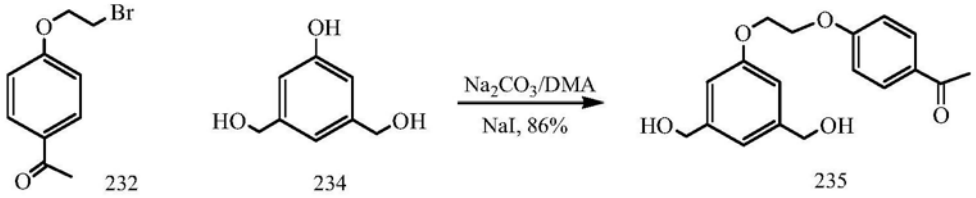
[1019] (5-羟基-1,3-亚苯基)二甲醇

[1020] 

233 234

[1021] 在0℃和Ar下、于15分钟内向100ml 2.0M $LiAlH_4$在THF中的溶液加入5-羟基异苯二甲酸二甲酯(12.3g,58.5mmol)在120ml THF中的溶液。将混合物在0℃搅拌30分钟,然后在RT搅拌过夜。在0℃、用20ml甲醇淬灭混合物,加入H_3PO_4将混合物调至pH 5.0,滤过硅藻土,蒸发,用乙醚/己烷结晶,得到76.6(85%)标题化合物。^{1}H NMR(DMSO)6.68(s,1H),6.61(s,2H),4.69(s,4H);MS m/z+177.0(M+Na)。

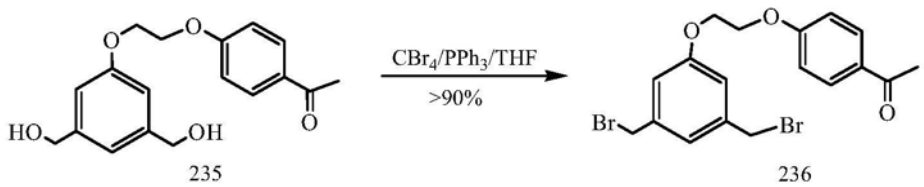
[1022] 1-(4-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯氧基)乙氧基)苯基)乙酮(235)

[1023] 

232 234 235

[1024] 向搅拌的(5-羟基-1,3-亚苯基)二甲醇(3.0,20.0mmol)、碳酸钠(2.5g,29.0mmol)和碘化钠(0.45g,2.9mmol)在60ml DMA中的溶液加入1-(4-(2-溴乙氧基)苯基)乙酮(5.0,20.57mmol)。将混合物搅拌过夜,蒸发,经由用EtAc/己烷(4:1至5:1)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到5.41g(86%)标题化合物。^{1}H NMR(CD_3OD)7.99(ddd,2H,J=2.8,4.8,9.8Hz),7.07(ddd,2H,J=2.8,4.7,9.8Hz),6.94(s,1H),6.89(s,2H),4.58(s,4H),4.42(dd,2H,J=2.2,6.1Hz),4.37(m,2H),2.55(s,3H);^{13}C NMR 199.55,164.66,160.59,144.72,132.03,131.74,119.16,115.64,113.11,68.36,67.87,65.20,26.53;MS m/z+339.2(M+Na)。

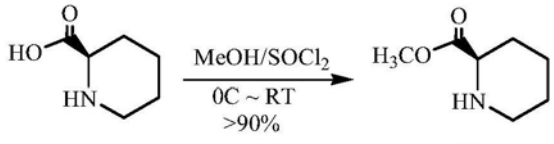
[1025] 1-(4-(2-(3,5-二(溴甲基)苯氧基)乙氧基)苯基)乙酮(236)

[1026] 

235 236

[1027] 在Ar下将1-(4-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯氧基)乙氧基)苯基)乙酮(0.216g,0.68mmol)、四溴化碳(0.50g,1.50mmol)和PPh3(0.40g,1.52mmol)在18ml THF中搅拌过夜,过滤。将溶液浓缩,经由用EtAc/己烷(1:4)洗脱的SiO_2色谱法纯化,用乙醚/己烷结晶,得到277mg(92%)标题化合物。^{1}H NMR($CDCl_3$)7.94(ddd,2H,J=2.7,4.6,9.6Hz),7.02(s,1H),6.98(ddd,2H,J=2.7,4.6,9.6Hz),6.91(d,2H,J=1.2Hz),4.62(s,4H),4.35(m,4H),2.55(s,3H);^{13}C NMR 197.05,162.63,159.14,139.98,130.96,130.85,122.57,155.60,114.52,66.78,66.73,32.88,26.57;MS m/z+462.9(M+Na),464.9(M+2+Na)。

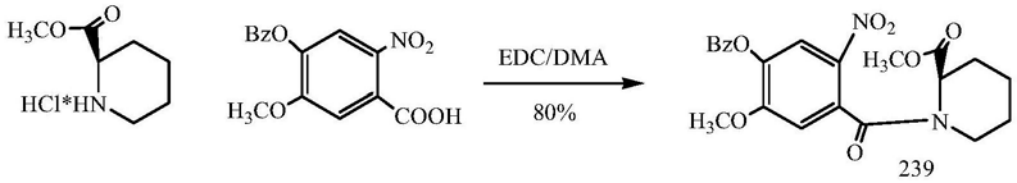
[1028] (R)-甲基哌啶-2-羧酸酯(238)

[1029] 

237 238

[1030] 在0℃和Ar下、向(R)-哌啶-2-羧酸(5.00g,38.73)在150ml干燥甲醇中的溶液加入亚硫酰氯(5.2ml,71.28mmol)。将混合物在0℃搅拌30分钟,然后在RT过夜,蒸发,用EtOH/己烷结晶,得到4.96g(92%)标题产物。^{1}H NMR(CD_3OD)3.67(s,3H),3.57(m,1H),2.79(m,1H),2.69(m,1H),2.01(m,1H),1.98(m,1H),1.73(m,1H),1.55-1.45(m,4H);^{13}C NMR 171.22,62.50,51.35,45.35,29.52,28.41,23.82;MS m/z+144.0(M+H)。

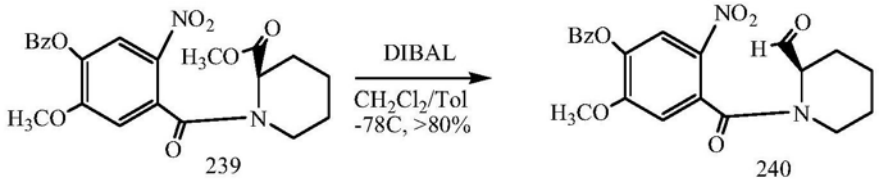
[1031] (R)-甲基1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)哌啶-2-羧酸酯(239)

[1032] 

239

[1033] 将4-(苯甲酰基氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酸(1.70g,5.61mmol)、(R)-甲基哌啶-2-羧酸酯(1.05g,5.84mmol)、EDC(3.90g,20.31mmol)和DIPEA(1.0ml,5.75mmol)在20ml DMA中搅拌过夜。蒸发混合物,用DCM稀释,分别用1M NaH_2PO_4/NaCl(浓)和0.1M $NaHCO_3$/NaCl(浓)洗涤。分离有机溶剂层,经$MgSO_4$干燥,过滤,浓缩,经由用EtAc/DCM(1:15)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到1.772g(74%)标题产物。^{1}H NMR($CDCl_3$)7.69(s,1H),7.40-7.38(m,2H),7.35-7.27(m,3H),6.76(d,1H),5.15(s,2H),3.91(s,3H),3.83(s,1H),3.73(s,3H),3.18(m,2H),1.70(m,2H),1.47(m,4H);^{13}C NMR 171.89,171.33,155.10,154.78,148.32,135.59,129.05,128.74,127.80,109.66,109.58,109.41,71.63,56.92,52.70,52.19,45.70,39.92,27.29,26.35,21.63;MS m/z+451.2(M+Na)。

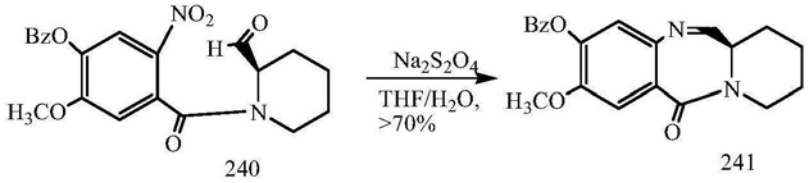
[1034] (R)-1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)哌啶-2-甲醛

[1035] 

239 240

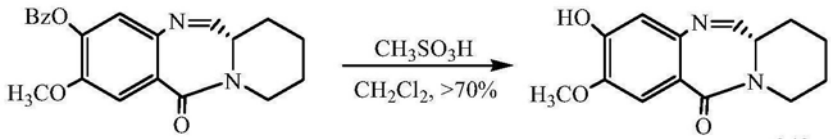
[1036] 在-78℃和Ar下、于10分钟内向(R)-甲基1-(4-(苯甲酰基氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)哌啶-2-羧酸酯(1.50g,3.50mmol)在30ml 1:1DCM/苯中的溶液加入7.5ml 1.0M DIBAL在甲苯中的溶液。将混合物在-78℃搅拌1小时,用0.5ml甲醇淬灭反应。用150ml EtAc和100ml 0.2M HCl稀释混合物。分离有机溶剂层,水层用EtOAc(3×80mL)萃取。合并有机相,经$MgSO_4$干燥,过滤,浓缩,经由用EtAc/己烷(3:2)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到1.52g(90%)标题产物。^{1}H NMR($CDCl_3$),9.60(s,1H),7.70(s,1H),7.65-7.28(m,5H),6.78(m,1H),5.16(s,2H),3.92(s,3H),3.22,(m,1H),3.01(m,1H),2.20(m,1H),1.84(m,1H),1.65-1.40(m,4H);^{13}C NMR 200.24,171.31,155.13,154.78,148.41,146.20,137.57,135.47,129.03,128.73,127.31,109.83,109.41,71.61,64.50,56.96,45.98,25.25,23.42,18.70;MS m/z+421.1(M+Na)。

[1037] (R,Z)-3-(苄氧基)-2-甲氧基-7,8,9,10-四氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-12(6aH)-酮

[1038] 

240 241

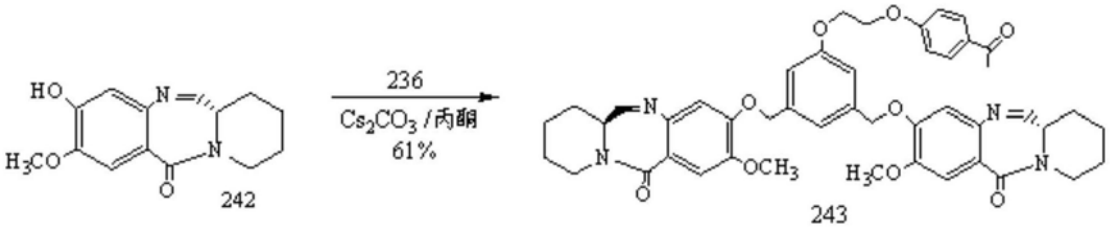
[1039] 向(R)-1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)哌啶-2-甲醛(1.0g,2.51mmol)在25ml THF和15ml水中的混合溶液加入$Na_2S_2O_4$(3.0g,17.25mmol)。将混合物搅拌4小时,用甲醇和二噁烷稀释,蒸发,与二噁烷(3×60mL)共蒸发至干。将该固体与CH_3OH/CH_2Cl_2(1:1,80mL)的混合物进行声处理,过滤,蒸发至固体。将所得固体溶于CH_3OH(100mL)中,加入0.4ml HCl(浓)。将混合物搅拌1小时,用0.1M $NaHCO_3$中和至pH 3.0。浓缩,用CH_2Cl_2(4×60mL)萃取。合并有机层,用1M $NaHCO_3$/NaCl(浓)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,蒸发,经由用EtAc/CH_2Cl_2(1:3)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到615mg(70%)标题产物。^{1}H NMR($CDCl_3$),7.81(d,1H,J=5.7Hz),7.38~7.23(m,6H),6.74(s,1H),5.12(dd,2H,J=2.3,21.8Hz),4.18(m,1H),3.88(d,3H),3.69(m,1H),3.15(m,1H),1.99(m,1H),1.87(m,1H),1.79~1.65(m,4H);^{13}C NMR 167.76,163.31,150.72,148.48,140.09,136.46,128.87,128.28,127.53,121.77,111.01,71.02,56.41,49.84,39.93,24.76,23.21,18.62;MS m/z+373.2(M+Na),391.2(M+Na+H_2O),405.3(M+Na+CH_3OH)。(R,Z)-3-羟基-2-甲氧基-7,8,9,10-四氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-12(6aH)-酮(242)

[1040] 

241 242

[1041] 在0℃、向(R,Z)-3-(苄氧基)-2-甲氧基-7,8,9,10-四氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-12(6aH)-酮(241)(215mg,0.614mmol)在25ml CH_2Cl_2中的溶液加入25ml CH_2SO_3H。将混合物在0℃搅拌10分钟,然后在RT搅拌2小时,用CH_2Cl_2稀释,用冷1.0M $NaHCO_3$中和,用CH_2Cl_2萃取,经Na_2SO_4干燥,过滤,蒸发,经由用CH_3OH/CH_2Cl_2(1:15)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到122mg(70%)标题产物。^{1}H NMR($CDCl_3$),7.75(d,1H,J=5.7Hz),7.28(s,1H),6.70(s,1H),4.08(m,1H),3.83(d,3H),3.61(m,1H),3.08(m,1H),1.91(m,1H),1.81(m,1H),1.71~1.55(m,4H);^{13}C NMR 167.81,163.46,148.53,145.71,140.84,121.23,111.89,111.39,56.45,49.83,39.96,24.71,23.22,18.60;MS m/z+283.7(M+Na)。

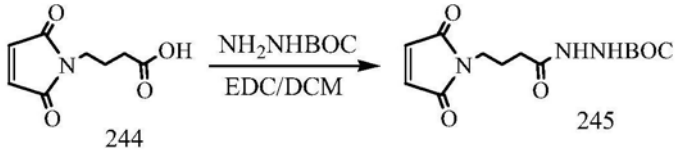
[1042] (5Z,5'Z,6aR,6a'R)-3,3'-(5-(2-(4-乙酰基苯氧基)乙氧基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(氧基)二(2-甲氧基-7,8,9,10-四氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-12(6aH)-酮)(243)

[1043] 

242 243

[1044] 向搅拌的(R,Z)-3-羟基-2-甲氧基-7,8,9,10-四氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-12(6aH)-酮(242)(42mg,0.16mmol)、Cs_2CO_3(100mg,0.307mmol)、KI(3.2mg,0.018mmol)在5ml丙酮中的溶液加入1-(4-(2-(3,5-二(溴甲基)苯氧基)乙氧基)苯基)乙酮(236)(36mg,0.081mmol)。将混合物搅拌过夜,蒸发,经由HPLC制备型C-18柱纯化(Φ10mm×200mm柱,流速9mL/min,梯度溶剂系统如下运行:80:20溶剂A:B进行0-5分钟的时间,接着50:50A:B进行15分钟,然后30:70A:B进行25分钟,最后10:90A:B进行30分钟;溶剂A-水,溶剂B-二噁烷)冻干,得到白色固体39.1mg(61%)标题化合物。^{1}H NMR(DMF-d_7),8.30(m,2H),7.75(d,2H,J=5.7Hz),7.30(s,2H),7.01(m,2H),6.71(s,2H),6.68(s,1H),6.63(s,2H),5.21(s,4H),4.43(m,2H),4.32(m,2H),4.08(m,2H),3.83(s,6H),3.61(m,2H),3.08(m,2H),2.56(s,3H),1.91(m,2H),1.81(m,2H),1.71～1.55(m,8H);MS m/z+823.2(M+Na),839.3(M+K),857.3(M+K+H_2O);MS m/z-799.2(M-H)。

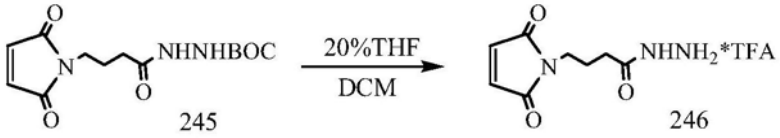
[1045] 2-(4-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丁酰基)肼羧酸叔丁酯(245)

[1046] 

244 245

[1047] 将4-马来酰亚胺丁酸(245mg,1.33mmol)、肼羧酸叔丁酯(201mg,1.52mmol)和EDC(400mg,2.08mmol)在5ml CH_2Cl_2中的溶液在Ar下搅拌过夜,用1M NaH_2PO_4,/NaCl(浓)洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤,蒸发,经由用MeOH/DCM(1:25)洗脱的SiO_2色谱法纯化,得到335mg(85%)标题化合物。^{1}H NMR($CDCl_3$),7.83(br,1H),6.65(s,2H),6.50(br,1H),3.58(t,2H,J=6.3Hz),2.15(t,2H,J=7.0Hz),1.90(dt,2H,J=6.8,13.4Hz),1.40(s,9H);^{13}C NMR 171.30,155.61,134.41,82.00,37.13,31.38,28.36,24.95;MS m/z+320.2(M+Na)。

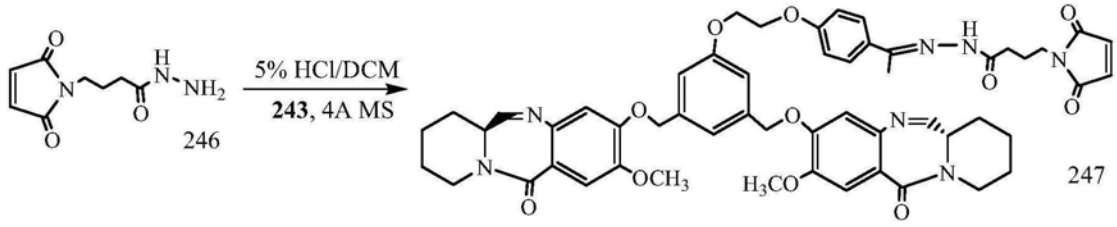
[1048] 4-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丁酰肼三氟乙酸盐(246)

[1049] 

245 246

[1050] 向2-(4-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丁酰基)-肼羧酸叔丁酯(245)(200mg,0.673mmol)在8ml DCM中的溶液加入2ml TFA。将混合物搅拌45分钟,用乙醇/甲苯(8ml,1:1)稀释,蒸发,与乙醇/甲苯(3×10mL)共蒸发,用乙醇/EtAc/己烷结晶,过滤,在真空下干燥,得到188mg(90%)标题化合物。^{1}H NMR(CD_3OD)6.72(s,2H),5.39(s,0.6H),3.47(t,2H,J=6.6Hz),2.20(m,2H),1.85(m,2H);^{13}C NMR 172.72,135.56,54.93,39.20,37.99,25.20;MS m/z+197.9(M+H)。

[1051] (E)-N'-(1-(4-(2-(3,5-二(((S,Z)-2-甲氧基-12-氧代-6a,7,8,9,10,12-六氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-3-基氧基)甲基)苯氧基)乙氧基)苯基)亚乙基)-4-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丁酰肼(247)

[1052] 

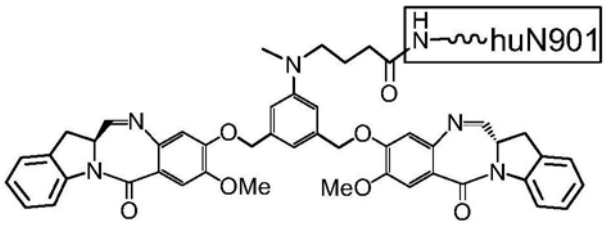
[1053] 将4-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丁酰肼三氟乙酸盐(246)(3mg,0.0096mmol),(5Z,5'Z,6aR,6a'R)-3,3'-(5-(2-(4-乙酰基苯氧基)乙氧基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(氧基)二(2-甲氧基-7,8,9,10-四氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,4]二氮杂䓬-12(6aH)-酮)(243)(7.5mg,0.0093mmol)和50mg 4Å分子筛在2ml干燥5%Hac的DCM溶液(前一天用4Å分子筛干燥)中搅拌2小时,用0.5ml DIPEA中和,蒸发,经由HPLC制备型C-18柱纯化(Φ10mm×200mm柱,流速9mL/min,梯度溶剂系统如下运行:80:20溶剂A:B进行0-5分钟的时间,接着50:50A:B进行15分钟,然后30:70A:B进行25分钟,最后10:90A:B进行30分钟;溶剂A-水,溶剂B-甲醇/二噁烷(2:1))冻干,得到白色固体5.6mg(61%)标题化合物。MS m/z+1066.3(M+2CH_3OH+Na)。

[1054] 实施例13

[1055] huN901-IGN-07轭合物的制备:

[1056] 选择与CD56抗原结合的huN901抗体以用于轭合IGN衍生物。在含有0.05M N-(2-羟基乙基)-哌嗪-N'-2-乙磺酸(HEPES)和2mM乙二胺四乙酸(EDTA)的含水缓冲液(pH 8)中的浓度为3mg/mL的huN901抗体溶液用20倍摩尔过量的IGN-07NHS酯在二甲基乙酰胺(DMA)中的溶液处理,以使DMA在缓冲液中的最终浓度为10%v/v。将反应混合物在室温搅拌120分钟,然后装载到之前在含有0.01M柠檬酸钠、0.135M氯化钠的含水缓冲液(pH 5.5)中平衡的Sphadex G25凝胶过滤柱(HiPrep™26/10脱盐柱GE#17-5087-01)上。收集含有轭合抗体的级分,集合以得到产物。将集合的样品用同一洗脱缓冲液(0.01M柠檬酸钠,0.135M氯化钠,pH 5.5)透析过夜以进一步纯化产物。

[1057] 用分光光度法、使用确定的IGN-07(ε_{330nm}=15,231$M^{-1}cm^{-1}$和ε_{280nm}=26,864$M^{-1}cm^{-1}$)和huN901抗体(ε_{280nm}=225,000$M^{-1}cm^{-1}$)的消光系数测定最终轭合物。将每抗体分子3.1IGN分子的平均值相连。

[1058] 

huN901-IGN-07

[1059] IGN-10(化合物51)储备溶液的制备:

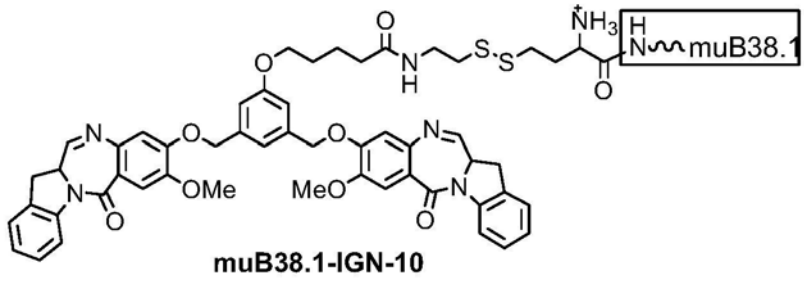
[1060] 在二甲基乙酰胺(DMA)中,基于975.14g/摩尔的分子量,将IGN-10的溶液新鲜制备成0.004M储备液。用分光光度法、使用在330nm确定的参考消光系数(ε_{330nm}=15,500$M^{-1}cm^{-1}$)测定储备溶液。

[1061] 实施例14

[1062] muB38.1-IGN-10轭合物的制备：

[1063] 选择与EpCAM抗原结合的muB38.1抗体以用于通过双硫键轭合IGN衍生物。在37℃、在含有磷酸盐缓冲盐水(PBS)的含水缓冲液(pH 7.4)中浓度为2.5mg/mL的muB38.1抗体溶液用120倍摩尔过量的1-同型半胱氨酸硫代内酯处理12小时。然后装载到之前在PBS(pH 7.4)中平衡的G25凝胶过滤柱(HiPrep™ 26/10脱盐柱GE#17-5087-01)。收集含有抗体的级分，集合，使用Ellman测定法以测定其反应性巯基含量。然后，修饰抗体用每个游离巯基4倍摩尔过量的IGN-10(在DMA中)处理，将其在室温反应8小时。将反应混合物装载到先前在含有0.01M柠檬酸钠、0.135M氯化钠(pH 5.5)的含水缓冲液中的Sephadex G25凝胶过滤柱(HiPrep™ 26/10脱盐柱GE#17-5087-01)。收集含有轭合抗体的级分，集合以得到产物。将集合的样品用同一洗脱缓冲液(0.01M柠檬酸钠，0.135M氯化钠，pH 5.5)透析过夜以进一步纯化产物。

[1064] 用分光光度法、使用确定的IGN-10(ε_{330nm}=15,500$M^{-1}cm^{-1}$和ε_{280nm}=26,864$M^{-1}cm^{-1}$)和muB38.1抗体(ε_{280nm}=215,525$M^{-1}cm^{-1}$)的消光系数测定最终轭合物。将每抗体分子0.7IGN分子的平均值相连。

[1065] 

muB38.1-IGN-10

[1066] 实施例15

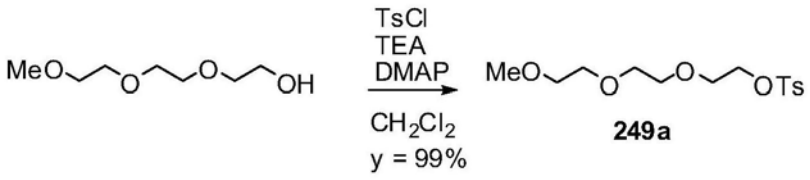
[1067] 用于测量与双链DNA(dsDNA)的IGN二聚体结合和烷基化的DNA探针：

[1068] 反应条件：将在100mM TRIS，1mM EDTA，pH 8中的dsDNA(25μM最终浓度)与溶于乙腈(最终乙腈浓度<2％体积)中的3.7摩尔当量的IGN-01(化合物18)，IGN-02(化合物19)或IGN-09(化合物15)混合。将反应在孵育15℃(低于dsDNA的TM)，在混合后不同的时间点时注射10μl等分试样到反相-HPLC。

[1069] HPLC条件：Waters Xbridge C8 2.1×50mm柱，缓冲液A：在水中的100mM六氟异丙醇、16.3mM三乙胺，缓冲液B：甲醇；98％A→100％B进行32分钟，0.25ml/min流速，60℃柱热，260nm检测。探针DNA峰和所得IGN/DNA加成物峰的曲线下面积(AUC)用于确定在孵育的每个时间点的交联％。

[1070] DNA退火：使用Peltier热循环器(PTC-200，MJ Research)将单链DNA(Invitrogen)退火到dsDNA中。将在100mM TRIS，1mM EDTA(pH 8)中的1mM DNA加热至80℃，然后在15度步骤中于90分钟内逐渐冷却至4℃。将所得dsDNA保持在4℃，直至用于测定。在对照实验中，IGN-01、IGN-02和IGN-09未与单链DNA(ssDNA)形成共价加成物。

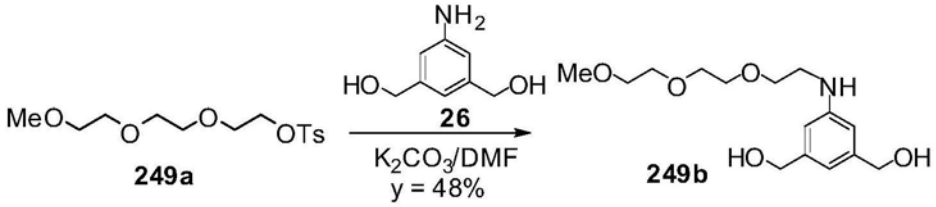
[1071] 实施例16

[1072] 

249a

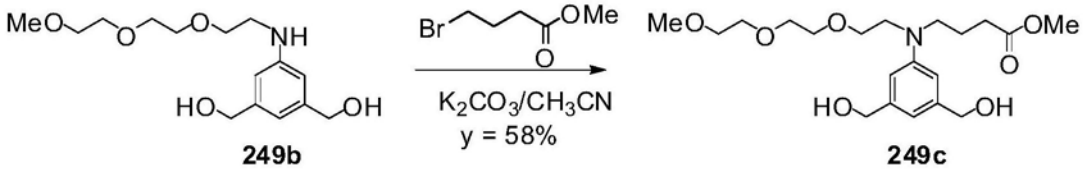
[1073] 4-甲基苯磺酸2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙酯：

[1074] 在室温、向搅拌的2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙醇(1.64g,10mmol)在无水二氯甲烷(30mL)中的溶液相继加入三乙胺(2.53g,25mmol)、甲苯磺酰氯(3.81g,20mmol)和DMAP(0.061g,0.5mmol)。将混合物继续搅拌过夜,通过用乙酸乙酯稀释来进行处理,过滤除去三乙胺盐酸盐固体。将该固体用乙酸乙酯洗涤,蒸发滤液。残余物用乙酸乙酯稀释,过滤,除去另外的沉淀。蒸发滤液,得到为液体状的粗产物。通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇)纯化,得到为油状的化合物249a(3.16g,收率＝99%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ7.81(d,J＝8.0Hz,2H),7.35(d,J＝8.0Hz,2H),4.17(t,J＝3.2Hz,2H),3.70(t,J＝4.8Hz,2H),3.64-3.60(m,6H),3.54(t,J＝4.8Hz,2H),3.38(s,3H),2.46(s,3H);^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ144.7,133.0,129.8,127.9,71.9,70.7,70.52,70.50,69.2,68.6,59.0,21.6;MS(m/z):实测值341.1$(M+Na)^+$。

[1075] 

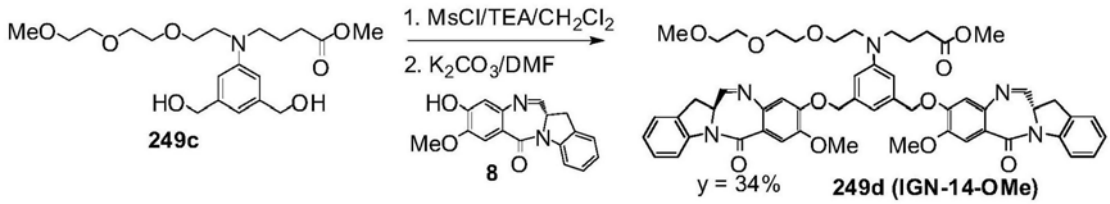
[1076] (5-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基氨基)-1,3-亚苯基)二甲醇：

[1077] 向甲苯磺酸酯249a(1.85g,5.81mmol)和苯胺化合物26(1.78g,11.6mmol)在无水DMF(9mL)中的混合物加入无水碳酸钾(1.61g,11.6mmol)。将混合物加热至85℃,在此温度下搅拌过夜。将溶液冷却至室温,用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土,用二氯甲烷洗涤固体。蒸发滤液,用二氯甲烷稀释残余物,再次过滤,以除去另外的固体。蒸发滤液,通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到为浅黄色油的化合物249b(835mg,收率＝48%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ6.60(s,1H),6.47(s,2H),4.48(s,4H),4.31(bs,1H),3.66-3.59(m,8H),3.55-3.52(m,2H),3.36(s,3H),3.24(t,J＝4.8Hz,2H);^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ148.5,142.4,114.6,110.7,71.8,70.4,70.3,70.1,69.4,64.9,58.9,43.5;MS(m/z):实测值322.2$(M+Na)^+$。

[1078] 

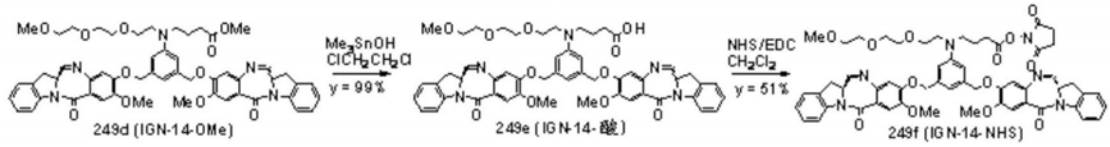
[1079] 化合物249c(IGN-14连接体)：

[1080] 向化合物249b(319mg,1.07mmol)和4-溴丁酸甲酯(248mg,1.37mmol)在无水乙腈(5mL)中的溶液加入无水碳酸钾(177mg,1.28mmol)。搅拌混合物,在回流下加热(86℃油浴)过夜。将其冷却至室温,用二氯甲烷稀释。将混合物滤过硅藻土,蒸发滤液。通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到为无色油的化合物249c(IGN-14连接体)(246mg,收率＝58%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ6.69(s,2H),6.66(s,1H),4.64(s,4H),3.71(s,3H),3.64-3.62(m,8H),3.57-3.54(m,4H),3.40-3.38(m,5H),2.38(t,J＝7.2Hz,2H),1.93(p,J＝7.2Hz,2H);MS(m/z):实测值422.3$(M+Na)^+$。

[1081] 

[1082] 化合物249d(IGN-14-OMe)：

[1083] 向搅拌的化合物249c(120mg,0.3mmol)在无水二氯甲烷(3mL)中的溶液加入三乙胺(146μl,1.05mmol)。将混合物冷却至-10℃,于15分钟内缓慢加入甲磺酰氯(70μl,0.9mmol)。将溶液在-10℃至-5℃之间继续搅拌60分钟,通过加入冰/水淬灭反应。将其用乙酸乙酯稀释,用冷水洗涤。有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发,高真空处理得到为无色油的甲磺酸酯。将甲磺酸酯转移到具有乙酸乙酯的10mL圆底烧瓶,蒸发,然后高真空处理。加入化合物8(221mg,0.75mmol),然后加入无水DMF(2mL)和无水碳酸钾(207mg,1.5mmol)。将混合物在室温搅拌过夜。将其用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤。有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发。通过制备型反相HPLC(C18柱,用CH_3CN/H_2O洗脱)纯化残余物,得到为浅黄色固体的化合物249d(IGN-14-OMe)(98mg,收率＝34%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ8.29(d,J＝8.0Hz,2H),7.86(d,J＝4.4Hz,2H),7.58(s,2H),7.31-7.26(m,4H),7.12(t,J＝8.0Hz,2H),6.88(s,2H),6.83(s,1H),6.76(s,2H),5.18(dd,J_1＝23.2Hz,J_2＝12.4Hz,4H),4.49(dt,J_1＝10.8Hz,J_2＝4.4Hz,2H),3.99(s,6H),3.73-3.52(m,19H),3.40-3.37(m,5H),2.35(t,J＝7.2Hz,2H),1.90($_p$,J＝7.2Hz,2H)；^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ173.7,164.9,163.2,151.1,148.5,148.4,142.1,140.2,137.8,129.7,128.2,124.9,120.7,117.0,113.8,112.0,111.4,110.4,72.0,71.3,70.7,70.6,68.6,59.1,56.3,55.0,51.7,50.7,32.7,31.3,22.4；MS(m/z)：实测值974.6$(M+Na)^+$,992.7$(M+H_2O+Na)^+$,1010.7$(M+2H_2O+Na)^+$,950.3$(M-H)^-$,1022.3$(M+4H_2O-H)^-$。

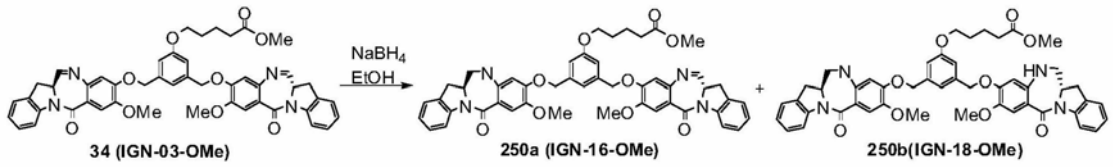
[1084] 

[1085] 化合物249f(IGN-14-NHS)：

[1086] 向化合物249d(105mg,0.11mmol)在无水1,2二氯乙烷(2mL)中的溶液加入三甲基氢氧化锡(299mg,1.65mmol)。将混合物加热至80℃,搅拌过夜。将其冷却至室温,用二氯甲烷稀释,用饱和氯化钠和5%盐酸的混合溶液(～1mL)洗涤,然后用盐水洗涤。有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发。将残余物通过短硅胶柱,用二氯甲烷/甲醇洗脱,除去额外的三甲基氢氧化锡。蒸发产物级分,高真空处理,得到为黄色固体的酸249e(102mg,收率＝99%)。MS(m/z)：实测值936.1$(M-H)^-$,960.3$(M+Na)^+$。然后,将化合物249e溶于无水二氯甲烷(1mL)中。随后加入N-羟基琥珀酰亚胺(NHS,37.5mg,0.326mmol)和N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC,62.5mg,0.326mmol)。将混合物在室温搅拌过夜,用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥。将其过滤,蒸发,通过制备型反相HPLC(C18柱,用乙腈/水洗脱)纯化残余物。将产物级分合并,用二氯甲烷萃取。有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发,高真空处理,得到为浅黄色固体的化合物249f(IGN-14-NHS)(57.8mg,收率＝51%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ8.28(d,J＝7.6Hz,2H),7.86(d,J＝4.4Hz,2H),7.58(s,2H),7.31-

7.27(m,4H),7.12(t,J=7.6Hz,2H),6.87(s,2H),6.81(s,1H),6.74(s,2H),5.23(dd,J_1=26.4Hz,J_2=12.4Hz,4H),4.49(dt,J_1=10.8Hz,J_2=4.4Hz,2H),4.00(s,6H),3.73-3.47(m,18H),3.37(s,3H),2.79-2.74(m,4H),2.59(t,J=7.2Hz,2H),1.97(p,J=7.2Hz,2H);MS(m/z):实测值1057.4(M+Na)$^+$。

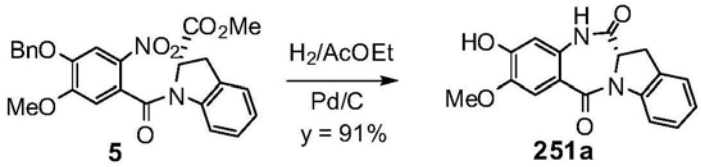
[1087] 实施例17

[1088] 

[1089] 化合物250a(IGN-16-OMe)和250b(IGN-18-OMe):

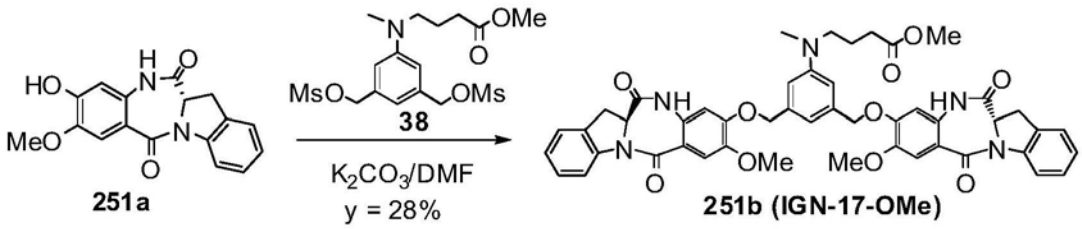
[1090] 在0℃、向搅拌的化合物34(111mg,0.135mmol)在无水乙醇(1.0mL)和无水二氯甲烷(0.5mL)中的溶液加入硼氢化钠(1.0mg,0.027mmol)。30分钟后,移除冰/水浴,将反应混合物继续在室温搅拌3小时。通过加入饱和氯化铵淬灭反应,用二氯甲烷稀释。分离混合物,用盐水洗涤有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下除去溶剂,通过制备型反相HPLC(C18柱,用乙腈/水洗脱)纯化残余物,得到为白色固体的化合物250a(IGN-16-OMe,6.6mg)和250b(8.0mg)。250a:MS(m/z),实测值845.3(M+Na)$^+$,863.3(M+H_2O+Na)$^+$。250b:^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$),δ8.34(d,J=8.0Hz,2H),7.49(s,2H),7.27-7.03(m,6H),6.89-6.87(m,3H),6.05(s,2H),4.96(dd,J_1=20.8Hz,J_2=12.8Hz,4H),4.40-4.34(m,2H),3.94-3.91(m,2H),3.87(s,6H),3.67(s,3H),3.53-3.42(m,6H),2.78(dd,J_1=16.8Hz,J_2=4.0Hz,2H),2.38-2.37(m,2H),1.79-1.77(m,4H);MS(m/z),实测值847.3(M+Na)$^+$。

[1091] 实施例18

[1092] 

[1093] 化合物251a:

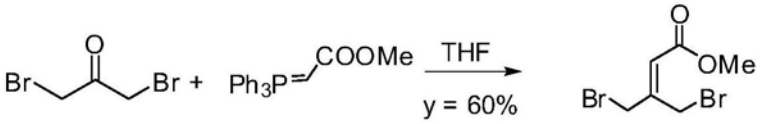
[1094] 向搅拌的化合物5(840mg,1.82mmol)在乙酸乙酯(10mL)中的溶液加入钯碳(10%,193mg,0.182mmol)。将烧瓶短暂真空处理,用气球中的H_2代替。将混合物继续氢化过夜,滤过硅藻土。将固体用洗涤甲醇,用5%盐酸(0.1mL)处理滤液。在减压下吹脱溶液,通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到为白色固体的化合物251a(512mg,收率=91%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$),δ8.21(d,J=8.0Hz,1H),8.09(bs,NH),7.53(s,1H),7.31-7.25(m,2H),7.12(t,J=7.6Hz,1H),6.61(s,1H),6.22(bs,1H),4.73(dd,J_1=10.4Hz,J_2=2.8Hz,1H),4.07(dd,J_1=16.4Hz,J_2=2.4Hz,1H),3.98(s,3H),3.34(dd,J_1=16.4Hz,J_2=10.4Hz,1H);MS(m/z),实测值333.1(M+Na)$^+$,308.9(M-H)$^-$。

[1095] 

[1096] 化合物251b(IGN-17-OMe)：

[1097] 向化合物38(0.165mmol,按照实施例6中所述的操作由44mg化合物30制备)和251a(128mg,0.413mmol)在无水DMF(1.5mL)中的溶液加入无水碳酸钾(114mg,0.825mmol)。将混合物在室温搅拌过夜,用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤,经无水硫酸钠和硫酸镁干燥。将其过滤,蒸发,通过制备型反相HPLC(C18柱,用乙腈/水洗脱)纯化残余物的一部分,得到为白色固体的1.9mg化合物251b。通过制备型薄层色谱法(二氯甲烷/甲醇,12:1)纯化残余物的剩余部分,得到36.8mg为白色固体的产物。分离总共38.7mg化合物251b(IGN-17-OMe)(收率＝28%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ8.61(s,2H),8.15(d,J＝8.0Hz,2H),7.48(s,2H),7.25(d,J＝7.6Hz,2H),7.20(t,J＝7.6Hz,2H),7.07(t,J＝7.6Hz,2H),6.73(s,1H),6.69(s,2H),6.58(s,2H),5.02(dd,J_1＝17.6Hz,J_2＝13.2Hz,4H),4.66(dd,J_1＝10.4Hz,J_2＝2.8Hz,2H),4.00(dd,J_1＝16.4Hz,J_2＝2.4Hz,2H),3.90(s,6H),3.68(s,3H),3.39-3.23(m,4H),2.89(s,3H),2.44-2.30(m,2H),1.91-1.92(m,2H)；^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ174.5,169.1,164.2,151.6,149.6,146.9,141.2,137.3,130.6,129.4,127.5,124.9,124.8,119.6,117.1,114.2,112.5,110.9,106.0,71.4,58.0,56.2,51.9,51.7,38.3,31.1,28.2,21.8;MS(m/z),实测值874.3(M+Na)$^+$,850.2(M-H)$^-$。

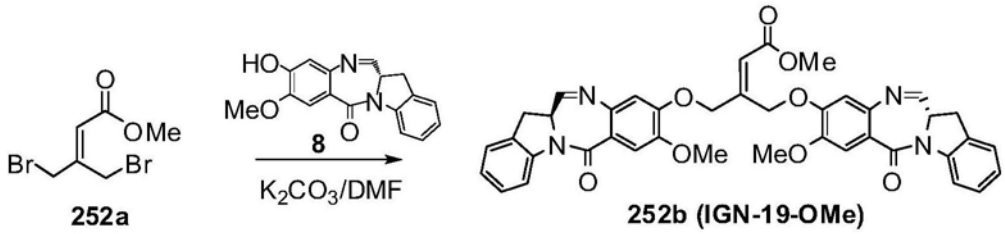
[1098] 实施例19

[1099] 

252a

[1100] 化合物252a：

[1101] 将1,3-二溴丙酮(0.863g,纯度75%,3.0mmol)和(三苯基亚磷基)乙酸甲酯(1.505g,4.5mmol)在无水THF(15mL)中的混合物加热回流4.5小时。将溶液冷却至室温,蒸发。通过硅胶色谱法(己烷/乙酸乙酯)纯化残余物,得到为无色液体的化合物252a(485mg,收率＝60%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ6.06(s,1H),4.76(s,2H),4.19(s,2H),3.79(s,3H)；^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ165.1,150.4,121.3,51.8,33.6,25.5。

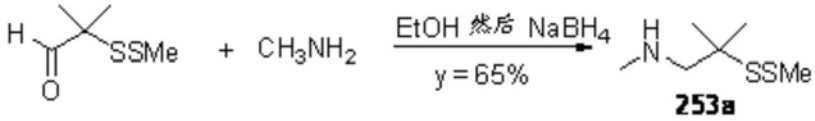
[1102] 

252a 252b (IGN-19-OMe)

[1103] 化合物252b(IGN-19-OMe)：

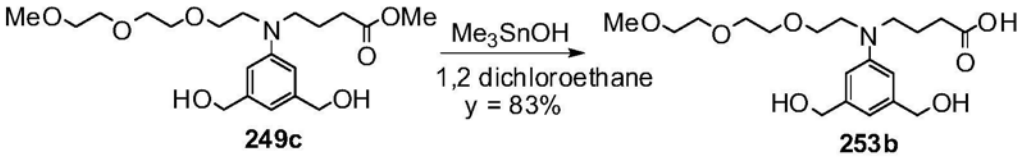
[1104] 将化合物252a(32mg,0.118mmol)、单体8(87mg,0.294mmol)和无水碳酸钾(49mg,0.353mmol)在无水DMF(1mL)中的混合物在室温搅拌过夜。用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥。过滤溶液,蒸发,通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇)纯化,得到105mg化合物252b,其掺杂有为浅黄色泡沫的副产物。将产物的一部分通过制备型反相HPLC(C18柱,用乙腈/水洗脱)进一步纯化,得到为白色固体的10mg化合物252b(IGN-19-OMe)。MS(m/z)：实测值721.2(M+Na)$^+$,739.2(M+H_2O+Na)$^+$,757.2(M+2H_2O+Na)$^+$,697.1(M-H)$^-$,769.1(M+4H_2O-H)$^-$。

[1105] 实施例20

[1106] 

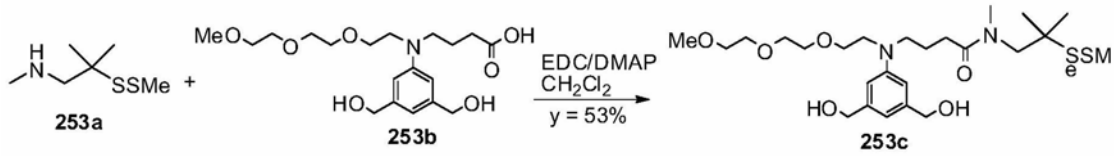
[1107] 化合物253a:

[1108] 向2-(甲基二硫基)-异丁醛(690mg,4.59mmol)在无水乙醇(15mL)中的溶液加入甲胺(629μl,33%wt,5.05mmol)。将混合物在室温搅拌4小时,冷却至0℃,然后加入硼氢化钠(174mg,4.59mmol)。1小时后,用数滴冷5%盐酸淬灭反应,然后用饱和碳酸氢钠碱化。将混合物用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤。有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,在减压下蒸发。通过硅胶色谱法(在二氯甲烷/甲醇中的0.2%三乙胺)纯化残余物,得到为浅黄色液体的挥发性化合物253a(491mg,收率=65%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ2.61(s,2H),2.45(s,3H),2.39(s,3H),1.32(s,6H),1.20(s,NH);^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ61.2,51.7,37.2,26.5,25.3;MS(m/z):实测值166.0$(M+H)^+$。

[1109] 

[1110] 化合物253b:

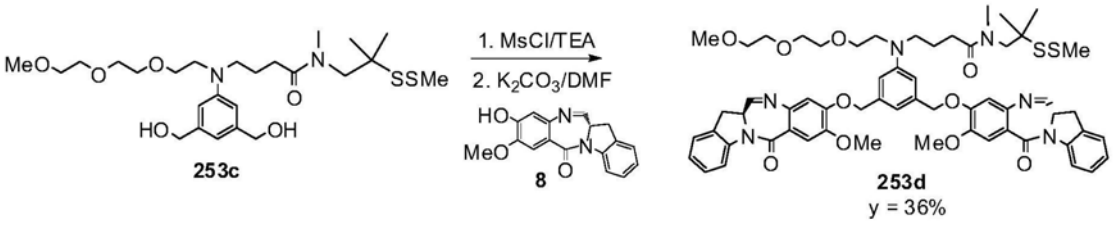
[1111] 将化合物249c(117mg,0.293mmol)和三甲基氢氧化锡(794mg,4.39mmol)在无水1,2-二氯乙烷(1.5mL)中的混合物加热至80℃,搅拌过夜。将其冷却至室温,用二氯甲烷稀释,用饱和氯化钠和5%盐酸(~1mL)的混合溶液洗涤,然后用盐水洗涤。有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发。通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到为无色油的酸253b(93.9mg,收率=99%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ6.62(s,2H),6.57(s,1H),4.50(s,4H),3.63-3.54(m,8H),3.53-3.46(m,4H),3.36-3.31(m,5H),2.29(t,J=6.8Hz,2H),1.83(p,J=6.8Hz,2H);^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ177.0,148.2,142.4,113.8,110.1,71.9,70.7,70.6,70.4,68.8,65.2,59.0,50.8,50.7,31.4,22.3;MS(m/z):实测值384.2$(M-H)^-$,408.4$(M+Na)^+$。

[1112] 

[1113] 化合物253c:

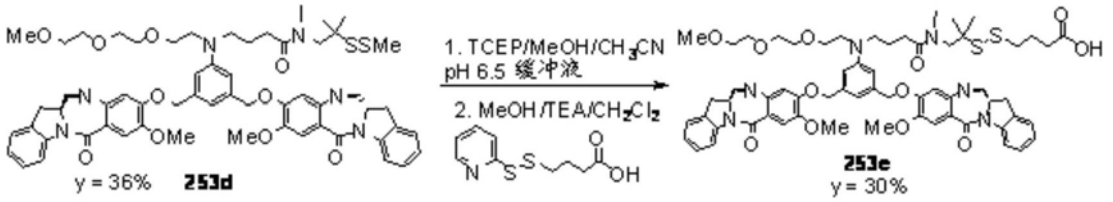
[1114] 向胺253a(44.3mg,0.268mmol)和羧酸253b(93.3,0.244mmol)在无水二氯甲烷(1.5mL)中的溶液加入N-羟基琥珀酰亚胺(NHS,70.1mg,0.365mmol)和DMAP(5.95mg,0.049mmol)。将混合物在室温搅拌过夜,用二氯甲烷稀释,用饱和氯化铵和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发。通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到为无色油的化合物253c(69.1mg,收率=53%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ6.71(s,2H),6.64(s,1H),4.57(s,4H),3.63-3.59(m,8H+2OH),3.54-3.51(m,4H),3.38-3.34(m,5H),3.08(s,2.35H),3.00(s,0.65H),2.86(bs,2H),2.43(s,3H),2.34(t,J=6.8Hz,2H),1.95-1.88(m,2H),1.36(s,1.3H),1.31(s,4.7H);^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ173.7,148.5,142.7,113.2,109.8,72.0,

70.8,70.7,70.6,68.9,65.6,59.1,56.5,53.0,52.2,51.0,50.8,38.8,30.6,26.6,25.6,22.3;MS(m/z):实测值555.5(M+Na)$^+$。

[1115] 

[1116] 化合物253d:

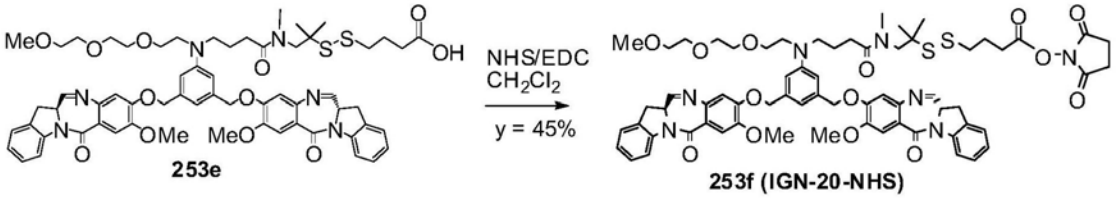
[1117] 向搅拌的化合物253c(69.1mg,0.13mmol)在无水二氯甲烷(1.5mL)中的溶液加入三乙胺(63μl,0.454mmol)。将混合物冷却至-10℃,于15分钟内缓慢加入甲磺酰氯(30μl,0.389mmol)。将溶液继续在-10℃至-5℃之间搅拌60分钟,通过加入冰/水淬灭反应。用乙酸乙酯稀释,用冷水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发,高真空处理,得到为无色油的甲磺酸酯。将甲磺酸酯转移至含有乙酸乙酯的10mL圆底烧瓶,蒸发,高真空处理。加入化合物8(99mg,0.338mmol),然后加入无水DMF(1mL)和无水碳酸钾(90mg,0.65mmol)。将混合物在室温搅拌过夜。将其用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发。通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到150mg淡黄色泡沫,将其通过制备型反相HPLC(C18柱,用CH_3CN/H_2O洗脱)进一步纯化,得到为浅黄色固体的化合物253d(50.7mg,收率=36%)。MS(m/z):实测值1107.7(M+Na)$^+$,1125.7(M+H_2O+Na)$^+$,1143.7(M+2H_2O+Na)$^+$,1083.4(M-H)$^-$,1155.5(M+4H_2O-H)$^-$。

[1118] 

[1119] 化合物253e:

[1120] 向含有三(2-羧基乙基)膦盐酸盐(TCEP,19.1mg,0.067mmol)的小瓶加入数滴去离子水。逐滴加入饱和碳酸氢钠,直至通过pH试纸指示pH为约7。然后用pH 6.5磷酸盐缓冲液(0.4mL)稀释,得到新鲜TCEP溶液。向搅拌的化合物253d(24.1mg,0.022mmol)在甲醇(3mL)和乙腈(1mL)中的溶液加入TCEP溶液,在室温搅拌1.5小时。将其用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发,得到为黄色固体的硫醇(21.9mg),其直接用于下一步(由于聚集,硫醇不能被纯化)。向硫醇(21.9mg,0.021mmol)在无水二氯甲烷(0.1mL)和甲醇(0.4mL)中的溶液加入4-(2-吡啶基二硫基)丁酸(24.2mg,0.105mmol)和三乙胺(29μl,0.211mmol)。将混合物在室温搅拌5小时,通过饱和氯化铵淬灭反应。将其用二氯甲烷稀释,分离,用盐水洗涤有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发。通过制备型反相HPLC(C18柱,用乙腈/水洗脱)纯化残余物,得到为白色固体的化合物253e(7.3mg,收率=30%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.28(d,J=7.6Hz,2H),7.89(bs,2H),7.60(bs,2H),7.31-7.26(m,4H),7.12(t,J=7.6Hz,2H),6.91-6.78(m,5H),5.22-5.13(m,4H),4.54-4.49(m,2H),3.99(s,6H),3.68-3.41(m,20H),3.38(s,3H),3.07(s,3H),2.78-2.77(m,2H),2.47(bs,2H),2.35(bs,2H),2.01-1.95(m,4H),1.31(s,6H);MS(m/z):实测值1179.7(M+Na)$^+$,1197.7(M+H_2O+

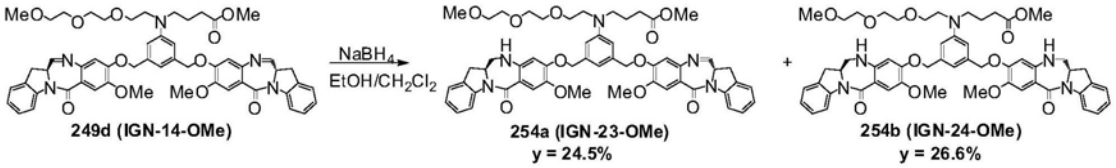
Na)$^+$,1073.6(M+H_2O-H)$^-$,1191.5(M+2H_2O-H)$^-$。

[1121] 

[1122] 化合物253f:

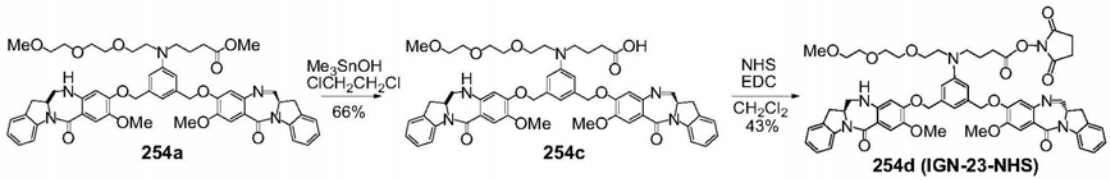
[1123] 向化合物253e(9.0mg,0.00778mmol)在无水二氯甲烷(0.5mL)中的溶液相继加入N-羟基琥珀酰亚胺(NHS,2.68mg,0.023mmol)和N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC,4.47mg,0.023mmol)。将混合物在室温搅拌过夜,用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥。过滤,蒸发,通过制备型反相HPLC(C18柱,用乙腈/水洗脱)纯化残余物。将产物级分合并,用二氯甲烷萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发,高真空处理,得到为淡黄色泡沫的化合物253f(IGN-20-NHS)(4.4mg,收率=45%)。MS(m/z):实测值1276.7(M+Na)$^+$。

[1124] 实施例21

[1125] 

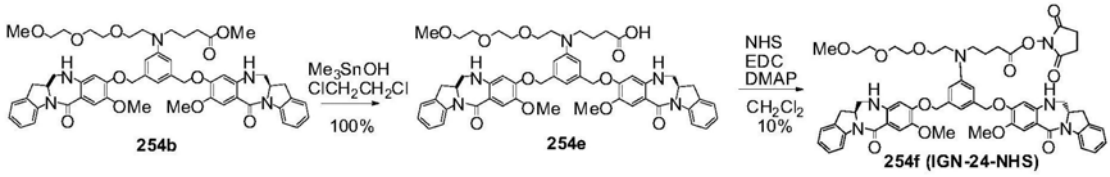
[1126] 化合物254a(IGN-23-OMe)和254b(IGN-24-OMe):

[1127] 在0℃、向搅拌的化合物249d(91.8mg,0.103mmol)在无水乙醇(1.0mL)和无水二氯甲烷(0.4mL)中的溶液加入硼氢化钠(0.4mg,0.0106mmol)。30分钟后,移除冰/水浴,将反应混合物继续在室温搅拌3小时。通过加入饱和氯化铵淬灭反应,用二氯甲烷稀释。分离混合物,用盐水洗涤有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下除去溶剂,通过制备型反相HPLC(C18柱,用乙腈/水洗脱)纯化残余物,得到为黄色固体的化合物254a(IGN-23-OMe,24.2mg,收率=24.5%)和254b(IGN-24-OMe,26.3mg,收率=26.6%)。254a:^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.34(d,J=8.0Hz,1H),8.27(d,J=7.6Hz,1H),7.83(d,J=4.4Hz,1H),7.57(s,1H),7.46(s,1H),7.29-7.02(m,6H),6.87(s,1H),6.75(s,1H),6.70-6.66(m,2H),6.10(s,1H),5.21-5.02(m,4H),4.49-4.39(m,2H),3.99(s,3H),3.89(s,3H),3.66(s,3H),3.64-3.41(m,19H),3.39-3.34(m,4H),2.78(dd,J_1=16.4Hz,J_2=3.6Hz,1H),2.33(t,J=7.2Hz,2H),1.90-1.84(m,2H);^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ173.8,166.8,164.0,163.5,152.3,151.2,148.7,148.5,143.0,142.1,140.7,140.2,138.5,137.8,129.8,129.7,128.3,127.9,125.0,124.7,123.9,120.9,117.5,117.0,114.6,113.4,113.2,112.1,111.6,110.2,110.1,104.2,72.1,71.4,71.2,70.80,70.76,70.70,68.7,59.2,57.3,56.5,56.4,55.1,54.8,51.8,50.9,50.7,33.3,32.7,31.3,22.4;MS(m/z),实测值976.7(M+Na)$^+$,994.6(M+H_2O+Na)$^+$;254b:MS(m/z),实测值978.7(M+Na)$^+$。

[1128] 

[1129] 化合物254c和254d(IGN-23-NHS)：

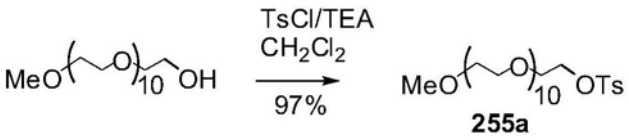
[1130] 向化合物254a(31.8mg,0.033mmol)在无水1,2二氯乙烷(1mL)中的溶液加入三甲基氢氧化锡(90mg,0.5mmol)。将混合物加热至80℃,搅拌过夜。将其冷却至室温,用二氯甲烷稀释,用饱和氯化钠和5％盐酸的混合溶液(～1mL)洗涤,然后用盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发。将残余物通过短硅胶柱,用二氯甲烷/甲醇洗脱,除去额外的三甲基氢氧化锡。将产物级分蒸发,高真空处理,得到为黄色固体的酸254c(20.8mg,收率＝66％)。MS(m/z)：实测值938.2(M-H)$^-$,962.3(M+Na)$^+$。然后将化合物254c(20.8mg,0.022mmol)溶于无水二氯甲烷(1mL)中。将反应烧瓶短暂真空化,用氩气代替。随后加入N-羟基琥珀酰亚胺(NHS,5.09mg,0.044mmol)和N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC,8.48mg,0.044mmol)。将混合物在室温搅拌过夜,用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥。过滤,蒸发,通过制备型反相HPLC(C18柱,用乙腈/水洗脱)纯化残余物。将产物级分合并,用二氯甲烷萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发,高真空处理,得到为浅黄色固体的化合物254d(IGN-23-NHS)(9.8mg,收率＝43％)。MS(m/z)：实测值1059.6(M+Na)$^+$,1077.6(M+H_2O+Na)$^+$。

[1131] 

[1132] 化合物254e和254f(IGN-24-NHS)：

[1133] 向化合物254b(26.3mg,0.028mmol)在无水1,2二氯乙烷(1mL)中的溶液加入三甲基氢氧化锡(74.6mg,0.413mmol)。将混合物加热至80℃,搅拌过夜。将其冷却至室温,用二氯甲烷稀释,用饱和氯化钠和5％盐酸的混合溶液(～1mL)洗涤,然后用盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发。将残余物通过短硅胶柱,用二氯甲烷/甲醇洗脱,除去额外的三甲基氢氧化锡。将产物级分蒸发,高真空处理,得到为黄色固体的酸254e(26mg,收率＝100％)。MS(m/z)：实测值940.5(M-H)$^-$,964.6(M+Na)$^+$。然后将化合物2542(26mg,0.028mmol)溶于无水二氯甲烷(1mL)中。随后加入N-羟基琥珀酰亚胺(NHS,9.57mg,0.083mmol),N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC,15.9mg,0.083mmol)和DMAP(0.34mg,0.0028mmol)。将混合物在室温搅拌过夜,用二氯甲烷稀释,用饱和氯化铵和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥。过滤,蒸发,通过制备型反相HPLC(C18柱,用乙腈/水洗脱)纯化残余物。将产物级分合并,用二氯甲烷萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发,高真空处理,得到为浅黄色固体的化合物254f(IGN-24-NHS)(3.0mg,收率＝10％)。MS(m/z)：实测值1061.7(M+Na)$^+$。注释:不应该加入DMAP,其可能是低收率的原因。

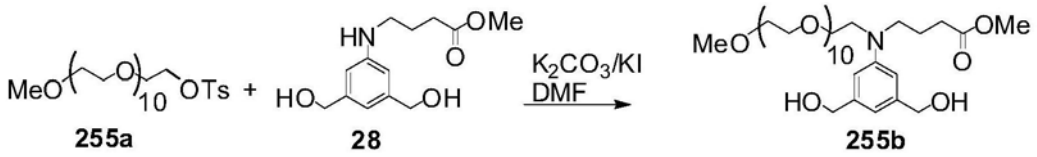
[1134] 实施例22

[1135] 

255a

[1136] 化合物255a：

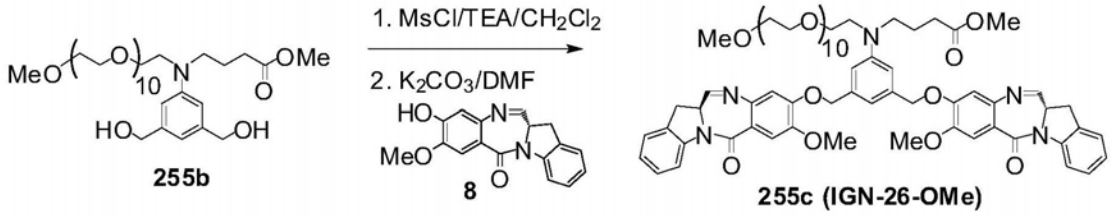
[1137] 在室温、向搅拌的0-甲基-十一碳乙二醇(500mg，0.968mmol)在无水二氯甲烷(3mL)中的溶液相继加入三乙胺(270μl，1.94mmol)、甲苯磺酰氯(277mg，1.45mmol)和DMAP(5.91mg，0.048mmol)。将混合物继续搅拌过夜，通过用乙酸乙酯稀释来处理，过夜除去三乙胺盐酸盐固体。用乙酸乙酯洗涤固体，蒸发滤液。残余物用乙酸乙酯稀释，过滤除去另外的沉淀。将滤液蒸发，得到为液体的粗产物。将其通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇)纯化，得到为浅黄色油的化合物255a(630mg，收率＝97％)。^{1}H NMR(400Hz，$CDCl_3$)：δ7.81(d，J＝8.0Hz，2H)，7.35(d，J＝8.0Hz，2H)，4.17(t，J＝4.8Hz，2H)，3.72-3.54(m，42H)，3.39(s，3H)，2.46(s，3H)；MS(m/z)：实测值693.6$(M+Na)^+$。

[1138] 

255a 28 255b

[1139] 化合物255b：

[1140] 向甲苯磺酸酯255a(630mg，0.939mmol)和苯胺28(238mg，0.939mmol)在无水DMF(3mL)中的溶液加入无水碳酸钾(195mg，1.409mmol)和碘化钾(31.2mg，0.188mmol)。将混合物加热至85℃，在此温度下搅拌过夜。将溶液冷却至室温，用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土，用二氯甲烷洗涤固体。蒸发滤液，用二氯甲烷稀释残余物，再次过滤，除去另外的固体。蒸发滤液，通过硅胶色谱法(己烷/在THF中的10％甲醇)纯化残余物，得到为无色油的化合物255b(41.8mg，收率＝5.9％)。^{1}H NMR(400Hz，$CDCl_3$)：δ6.66(s，2H)，6.65(s，1H)，4.60(s，4H)，3.69(s，3H)，3.66-3.58(m，42H)，3.56-3.53(m，2H)，3.39-3.36(m，5H)，2.52(宽s，2OH)，2.36(t，J＝7.2Hz，2H)，1.91(p，J＝7.2Hz，2H)；^{13}C NMR(400Hz，$CDCl_3$)：δ173.9，148.5，142.8，113.4，109.9，72.1，70.8，70.7，68.9，65.7，59.2，51.8，50.9，50.7，31.3，22.4；MS(m/z)：实测值774.3$(M+Na)^+$。

[1141] 

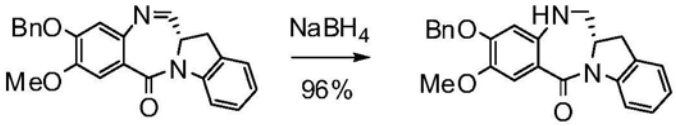
255b 8 255c (IGN-26-OMe)

[1142] 化合物255c(IGN-26-OMe)：

[1143] 向搅拌的化合物255b(41.8mg，0.056mmol)在无水二氯甲烷(1mL)中的溶液加入三乙胺(27μl，0.196mmol)。将混合物冷却至-10℃，在15分钟内缓慢加入甲磺酰氯(12.9μl，0.167mmol)。将溶液继续在-10℃至-5℃之间搅拌60分钟，通过加入冰/水淬灭反应。将其用乙酸乙酯稀释，用冷水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥，过滤，蒸发，高真空处理，得到为无色油的甲磺酸酯。MS(m/z)：实测值930.3$(M+Na)^+$。将甲磺酸酯(30mg，0.033mmol)转移至含有乙酸乙酯的5mL圆底烧瓶，蒸发，高真空处理。加入化合物8(29.2mg，0.099mmol)，然后

加入无水DMF(0.5mL)、无水碳酸钾(22.8mg,0.165mmol)和碘化钾(5.5mg,0.033mmol)。将混合物在室温搅拌过夜。将其用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发。通过硅胶色谱法(己烷/在THF中的10%甲醇)纯化残余物,得到20.5mg含有化合物255c的混合物。将其溶于无水二氯甲烷(0.3mL)中。随后在室温加入三乙胺(4μl,0.03mmol),甲苯磺酰氯(3.8mg,0.02mmol)和DMAP(0.2mg,0.002mmol)。将混合物继续搅拌在室温过夜,然后蒸发。通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到11mg浅黄色泡沫。将其通过制备型反相HPLC(C18柱,用CH_3CN/H_2O洗脱)进一步纯化,得到为无色泡沫的化合物255c(IGN-26-OMe)(1.6mg,收率=2.2%)。MS(m/z):实测值1326.5$(M+Na)^+$,1344.6$(M+H_2O+Na)^+$,1362.5$(M+2H_2O+Na)^+$。

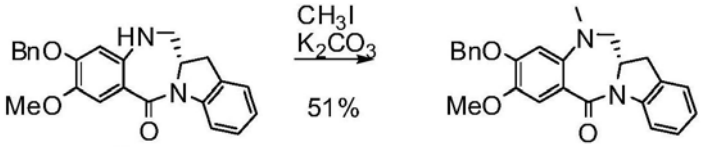
[1144] 实施例23

[1145] 

7 256a

[1146] 化合物256a:

[1147] 在0℃、向搅拌的化合物7(384mg,1.0mmol)在无水乙醇(6mL)和无水二氯甲烷(2mL)中的溶液加入硼氢化钠(37.8mg,1.0mmol)。30分钟后,移除冰/水浴,将反应混合物继续在室温搅拌过夜。通过加入饱和氯化铵淬灭反应,用二氯甲烷稀释。分离混合物,用盐水洗涤有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下除去溶剂,得到为白色固体的化合物256a(369mg,收率=96%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.37(d,J=8.0Hz,1H),7.50(s,1H),7.40-7.24(m,6H),7.18(d,J=7.2Hz,1H),7.05(t,J=7.2Hz,1H),6.12(s,1H),5.06(s,2H),4.40(tt,J_1=10.0Hz,J_2=3.6Hz,1H),3.87(s,3H),3.52-3.41(m,3H),2.78(dd,J_1=16.8Hz,J_2=3.6Hz,1H);^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ166.5,152.1,142.73,142.70,140.4,136.3,129.5,128.5,127.9,127.7,127.1,124.5,123.8,117.2,114.5,112.7,103.4,70.5,57.1,56.2,54.5,33.1;MS(m/z),实测值409.2$(M+Na)^+$。

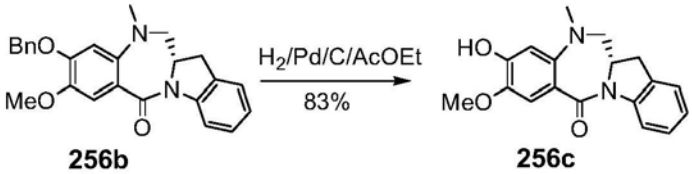
[1148] 

256a 256b

[1149] 化合物256b:

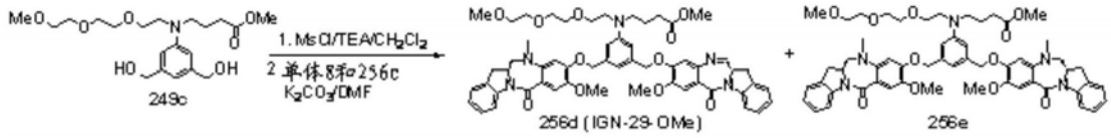
[1150] 向化合物256a(369mg,0.955mmol)在无水乙腈(9mL)中的溶液加入碘甲烷(65μl,1.05mmol)和碳酸钾(158mg,1.15mmol)。搅拌混合物,加热至82℃,回流过夜。将反应混合物从油浴移除,冷却至室温,用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土,在减压下蒸发滤液。通过硅胶色谱法(己烷/乙酸乙酯)纯化残余物,得到为无色泡沫的的化合物256b(195mg,收率=51%)。同时回收123mg原料256a。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.29(d,J=8.0Hz,1H),7.46(s,1H),7.44(s,1H),7.39-7.24(m,5H),7.16(d,J=7.2Hz,1H),7.04(t,J=7.6Hz,1H),6.46(s,1H),5.19(dd,J_1=15.2Hz,J_2=12.4Hz,2H),4.36-4.29(m,1H),3.89(s,3H),3.38-3.31(m,2H),3.02(dd,J_1=10.8Hz,J_2=4.0Hz,1H),2.70(dd,J_1=16.8Hz,J_2=2.8Hz,1H),2.65(s,3H);^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ166.9,151.2,144.2,142.1,141.9,136.7,129.8,128.6,

128.0,127.8,127.3,125.1,123.9,121.7,117.1,113.5,104.7,71.1,64.2,57.2,56.3,40.2,32.0;MS(m/z):实测值423.2(M+Na)$^+$。

[1151] 

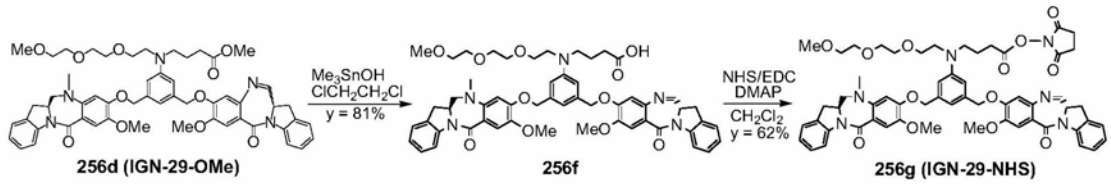
[1152] 化合物256c:

[1153] 向搅拌的化合物256b(195mg,0.487mmol)在乙酸乙酯(2.5mL)中的溶液加入钯碳(10%,25.9mg,0.024mmol)。将烧瓶短暂真空处理,用气球中的H_2代替。将混合物继续氢化过夜,然后滤过硅藻土。在减压下吹脱滤液,通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到为白色固体的化合物256c(126mg,收率=83%)。^{1}H NMR(400Hz,MeOD):δ8.14(d,J=8.0Hz,1H),7.30-7.23(m,2H),7.22(s,1H),7.10(t,J=7.6Hz,1H),6.56(s,1H),4.46-4.38(m,1H),3.88(s,3H),3.48-3.37(m,2H),3.12(dd,J_1=10.8Hz,J_2=4.4Hz,1H),2.84(dd,J_1=16.8Hz,J_2=2.8Hz,1H),2.80(s,3H)。

[1154] 

[1155] 化合物256d(IGN-29-OMe):

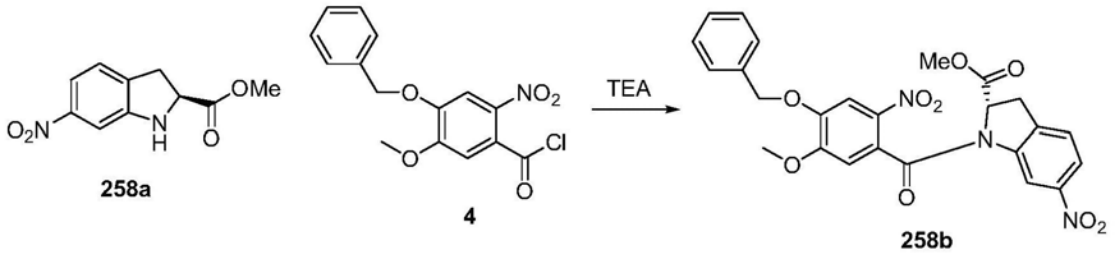
[1156] 向搅拌的化合物249c(136mg,0.34mmol)在无水二氯甲烷(2mL)中的溶液加入三乙胺(142μl,1.02mmol)。将混合物冷却至-10℃,于15分钟内缓慢加入甲磺酰氯(66μl,0.85mmol)。将溶液继续在-10℃至-5℃搅拌60分钟,通过加入冰/水淬灭反应。将其用乙酸乙酯稀释,用冷水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发,高真空处理,得到为无色油的甲磺酸酯。将甲磺酸酯转移至含有乙酸乙酯的10mL圆底烧瓶,蒸发,高真空处理。加入化合物8(120mg,0.41mmol)和256c(106mg,0.34mmol),然后加入无水DMF(1.5mL)、无水碳酸钾(235mg,1.7mmol)。将混合物在室温搅拌过夜。将其用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发。通过制备型反相HPLC(C18柱,用CH_3CN/H_2O洗脱)纯化残余物,得到为浅黄色固体的化合物256d(IGN-29-OMe)(46mg,收率=14%)和化合物256e。256d:^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$),δ8.27(d,J=8.0Hz,2H),7.84(d,J=4.8Hz,1H),7.57(s,1H),7.32-7.04(m,7H),6.87(s,1H),6.82(s,1H),6.76-6.70(m,2H),6.50(s,1H),5.18-5.12(m,4H),4.49-4.43(m,1H),4.40-4.35(m,1H),3.98(s,3H),3.89(s,3H),3.68-3.52(m,18H),3.41-3.36(m,6H),3.08(dd,J_1=10.8Hz,J_2=4.4Hz,1H),2.56(dd,J_1=16.8Hz,J_2=2.8Hz,1H),2.70(s,3H),2.34(t,J=7.2Hz,2H),1.92-1.85(m,2H);MS(m/z):实测值990.6(M+Na)$^+$,1008.6(M+H_2O+Na)$^+$。256e:MS(m/z):实测值1006.6(M+Na)$^+$。

[1157] 

化合物256f和化合物256g(IGN-29-NHS):

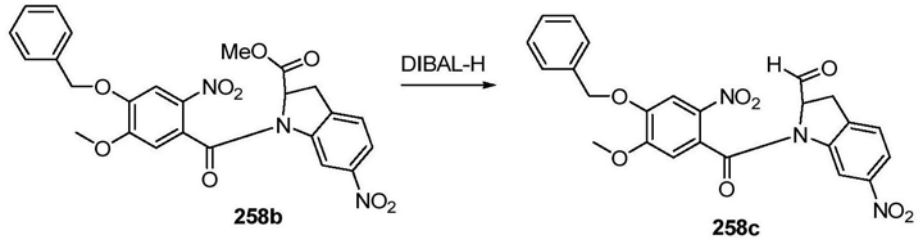
[1158] 向化合物256d(46mg,0.048mmol)在无水1,2二氯乙烷(1.5mL)中的溶液加入三甲基氢氧化锡(129mg,0.71mmol)。将混合物加热至80℃,搅拌过夜。将其冷却至室温,用二氯甲烷稀释,用饱和氯化钠和5%盐酸的混合溶液(～1mL)洗涤,然后用盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发。将残余物通过短硅胶柱,用二氯甲烷/甲醇洗脱,除去额外的三甲基氢氧化锡。将产物级分蒸发,高真空处理,得到为黄色固体的酸256f(36.9mg,收率＝81%)。MS(m/z):实测值952.8(M-H)$^-$。然后将化合物256f(36.9mg,0.039mmol)溶于无水二氯甲烷(0.8mL)中。随后加入N-羟基琥珀酰亚胺(NHS,13.4mg,0.12mmol)和N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC,22.2mg,0.12mmol)。将混合物在室温搅拌过夜,用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥。过滤,蒸发,通过制备型反相HPLC(C18柱,用乙腈/水洗脱)纯化残余物。将含有产物的级分合并,用二氯甲烷萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发,高真空处理,得到为浅黄色固体的化合物256g(IGN-29-NHS)(25.4mg,收率＝62%)。MS(m/z):实测值1073.4(M+Na)$^+$,1091.4(M+H_2O+Na)$^+$,1103.3(M+3H_2O-H)$^-$。

[1159] 实施例24

[1160] 

[1161] 1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-6-硝基吲哚啉-2-羧酸甲酯(258b):

[1162] 在单独烧瓶中,将6-硝基吲哚啉-2-羧酸甲酯(258a)(0.233g,1.048mmol)溶于无水四氢呋喃(4mL)中,冷却至0℃冰浴。在另一烧瓶中,4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰氯(4)(0.371g,1.153mmol)溶于无水四氢呋喃(4mL)中,在冰浴中冷却至0℃。通过注射器向含有吲哚啉的烧瓶中加入三乙胺(0.438ml,3.15mmol),在0℃通过插管将乙酰氯4快速加至反应混合物。将反应在0℃搅拌90分钟,然后在室温搅拌另外1小时。然后将反应用5%HCl淬灭,用乙酸乙酯(3×)萃取。用盐水洗涤合并的有机层,经无水硫酸钠干燥,真空浓缩。通过使用己烷中的30%丙酮的硅胶色谱法纯化残余物,得到为淡黄色泡沫的1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-6-硝基吲哚啉-2-羧酸甲酯(258b)(0.220g,0.434mmol,41.4%收率)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ3.30(m,1H),3.60(s,3H),3.69(m,1H),3.86(s,3H),4.64(dd,1H,J＝2.4Hz,10.8),5.23(s,2H),7.31(m,1H),7.46(m,6H),7.99(dd,1H,J＝2.0,8.0Hz),9.04(d,1H,J＝2.0Hz)。MS(m/z),实测值530.1([M]$^+$+Na)。

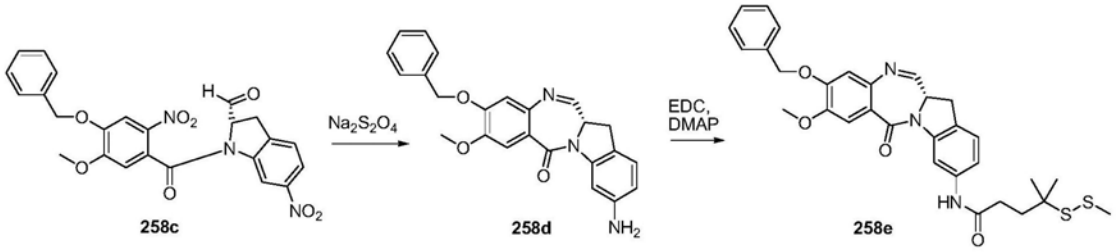
[1163] 

[1164] 1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-6-硝基吲哚啉-2-甲醛(258c):

[1165] 将1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-6-硝基吲哚啉-2-羧酸甲酯

(258b)(1.023g,2.016mmol)溶于无水二氯甲烷(2.5mL)和甲苯(7.5mL)的混合物中,在干冰丙酮浴中冷却至-78℃。15分钟后,在约20分钟的时间内通过注射泵加入DIBAL-H(1.0M在THF)(4.03mL,4.03mmol)。将所得溶液在-78℃搅拌2小时,之后在-78℃逐滴加入甲醇(1ml)下以淬灭反应。然后将反应用5%HCl和乙酸乙酯稀释,升温至室温。将水层用另外的乙酸乙酯洗涤,将合并的有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥。将反应混合物通过硅藻土层,真空浓缩。将粗残余物通过在己烷中的40%丙酮的硅胶色谱法纯化,得到1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-6-硝基吲哚啉-2-甲醛(258c)(621mg,1.301mmol,64.5%收率)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ3.15-3.60(m,2H),3.90(s,0.6H),3.92(s,1.2H),3.97(s,1.2H),4.57(d,0.2H,J=4.8Hz),5.21(m,2.4H),5.5(m,0.4H),6.39(s,0.4H),6.46(s,0.2H),6.76(s,0.2H),6.89(s,0.4H),7.01(s,0.4H),7.19-7.41(m,5.6H),7.60-7.77(m,1.6H),7.86-7.91(m,0.8H),8.94(s,0.4H),9.34(s,0.4H),9.74(s,0.4H),9.90(s,0.2H)。MS(m/z),实测值500.1([M]$^+$+Na)。

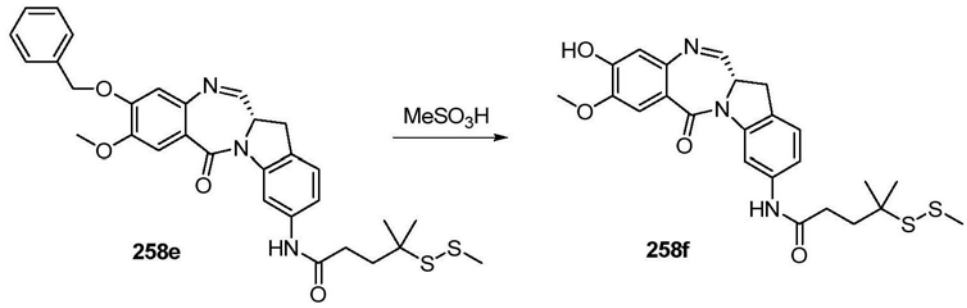
[1166]



[1167] 化合物258e:

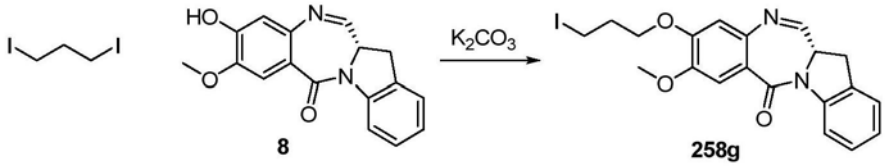
[1168] 将1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-6-硝基吲哚啉-2-甲醛(258c)(0.125g,0.262mmol)溶于四氢呋喃(8mL)和水(5.33mL)。向该溶液加入亚硫酸氢钠(0.456g,2.62mmol),将反应用隔片盖住,用指针通气(不需要氮/氩气),搅拌过夜。将甲醇加至反应混合物,搅拌另外的30分钟,此时将反应真空浓缩,除去所有溶剂。将残余物溶于甲醇和二氯甲烷的1:1混合物(20mL)中,留下不会溶解的残余物。将混合物通过在薄硅藻土垫的上层的薄二氧化硅垫,用甲醇和二氯甲烷的1:1混合物彻底漂洗。将滤液再次滤过硅藻土,然后在搅拌下加入HCl在二噁烷中的溶液(4M),直至获得~3-4的pH。然后将反应搅拌另外的30分钟,然后加入碳酸氢钠水溶液,直至反应变为碱性(~pH 8-9),此时加入另外的二氯甲烷,除去有机层。将水层用另外的二氯甲烷洗涤,将所得的有机层合并,用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,真空浓缩。含有化合物258d(0.105g,0.263mmol,100%收率)的残余物不经进一步处理就用于下一步。MS(m/z),实测值454.2([M]$^+$+Na+CH3OH)。

[1169] 在搅拌下、在小瓶中将4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酸(0.061g,0.313mmol)、EDC(0.060g,0.313mmol)和DMAP(0.038g,0.313mmol)溶于二氯甲烷(1mL)中。向该混合物加入溶于二氯甲烷(1.5mL)中的化合物258d(0.125g,0.313mmol),将混合物在室温搅拌过夜。加入水,分离各层。将有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,真空浓缩。使用己烷中的50%乙酸乙酯在硅胶柱上纯化残余物,得到化合物258e(0.037g,0.064mmol,20.54%收率)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ1.27(s,6H),1.97(t,2H,J=8.0Hz),2.06(t,2H,J=8.0Hz),2.45(s,3H),3.48(m,1H),3.67(m,1H),3.99(s,3H),4.49(m,1H),5.24(q,2H,J=8.4Hz),6.90(s,1H),7.22(d,1H,J=8.0Hz),7.39(m,5H),7.55(s,1H),7.82(d,1H,J=8.0Hz),7.87(d,1H,J=4.0Hz),8.07(s,1H)。MS(m/z),实测值630.3([M]$^+$+Na+MeOH)。

[1170] 

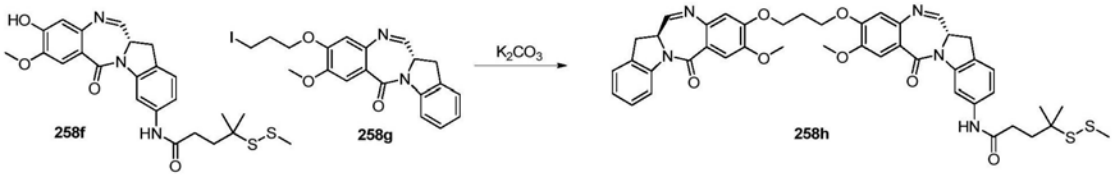
[1171] 化合物258f：

[1172] 将化合物258e(0.0185g,0.032mmol)溶于无水二氯甲烷(0.5mL)，向该溶液加入溶于无水二氯甲烷(0.500mL)中的甲磺酸(0.021ml,0.321mmol)，将所得混合物在室温搅拌三小时。将反应倒在冰和甲醇的混合物上，用碳酸氢钠水溶液中和至pH 7。然后用二氯甲烷稀释溶液，分离各层。将有机层用盐水洗涤，经无水硫酸钠干燥，真空浓缩。通过使用二氯甲烷中的3％甲醇的二氧化硅ptlc纯化残余物，得到NH(4-甲基-4-甲基二硫基-戊酸酯)-吲哚IGN单体(0.007g,0.014mmol,44.9％收率)。MS(m/z)，实测值484.0($[M]^+$-1)。

[1173] 

[1174] 化合物258g：

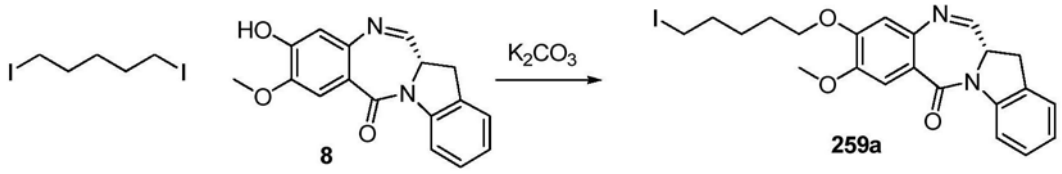
[1175] 在室温、于小瓶中、在搅拌下将化合物8(0.033g,0.112mmol)溶于DMF(1.5mL)中。加入1,3-二碘丙烷(0.065ml,0.561mmol)，然后加入碳酸钾(0.023g,0.168mmol)。将反应覆盖在箔中，在室温搅拌过夜。将反应用二氯甲烷稀释，用氯化铵水溶液和盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩。通过使用已烷中的50％乙酸乙酯的二氧化硅ptlc纯化残余物，得到化合物258g(0.018g,0.039mmol,34.7％收率)。MS(m/z)，实测值533.0($[M]^+$+K)。

[1176] 

[1177] 化合物258h(IGN-15-SMe)：

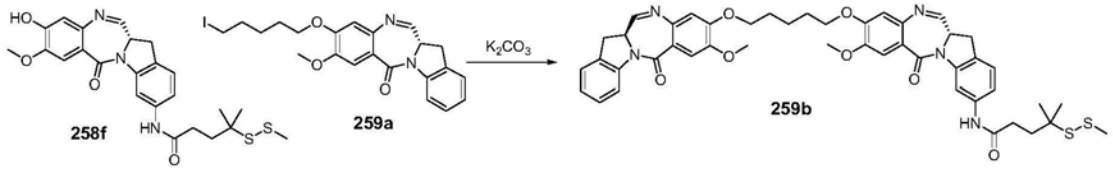
[1178] 在室温、于小瓶中、在搅拌下将化合物258f(0.007g,0.014mmol)溶于二甲基甲酰胺(1mL)。加入化合物8(6.66mg,0.014mmol)，然后加入碳酸钾(1.992mg,0.014mmol)。将反应覆盖在箔中，在室温搅拌过夜。将反应用二氯甲烷稀释，用氯化铵水溶液和盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩。通过使用二氯甲烷中的5％甲醇的二氧化硅ptlc板纯化残余物，得到化合物258h(IGN-15-SMe)(0.005g,7.32μMol,50.8％收率)。MS(m/z)，实测值906.3($[M]^+$+Na+2CH3OH)。

[1179] 实施例25

[1180] 

[1181] 化合物259a：

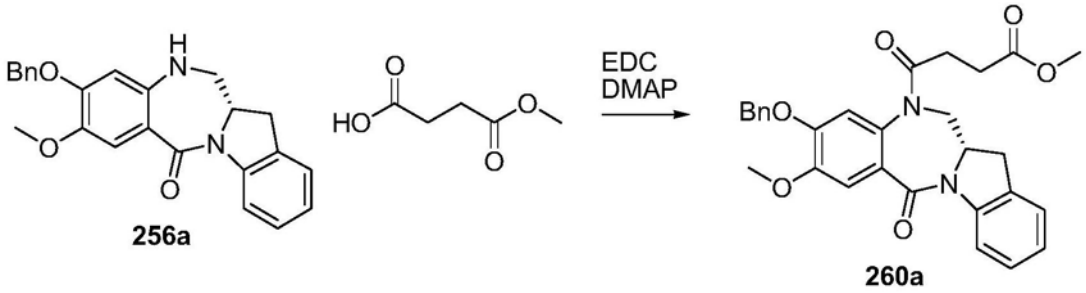
[1182] 在室温、于小瓶中、在搅拌下将化合物8(0.100g,0.340mmol)溶于DMF(5mL)中。加入1,5-二碘戊烷(0.506ml,3.40mmol)，然后加入碳酸钾(0.070g,0.510mmol)。将反应覆盖在箔中，在室温搅拌过夜。将反应用二氯甲烷稀释，用氯化铵水溶液和盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩。通过使用已烷中的50％乙酸乙酯的二氧化硅ptlc纯化残余物，得到化合物259a(0.045g,7.32μMol,27％收率)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ1.64(m,2H)，1.94(M,4H)，3.24(t,2H,J＝6.5Hz)，3.52(dd,1H,J＝4.0,16.6Hz)，3.73(dd,1H,J＝10.5,16.6Hz)，3.98(s,3H)，4.12(m,2H)，4.50(dt,1H,J＝4.0,11.2Hz)，6.84(s,1H)，7.13(t,1H,J＝6.0Hz)，7.29(m,2H)，7.57(s,1H)，7.90(d,1H,J＝4.4Hz)，8.29(d,1H,J＝8.0Hz)。MS(m/z)，实测值533.3($[M]^+$+K)。

[1183] 

[1184] 化合物259b(IGN-21-SMe)：

[1185] 在室温、于小瓶中、在搅拌下将化合物258f(15mg,0.031mmol)溶于二甲基甲酰胺(1mL)中。加入化合物259a(17.42mg,0.036mmol)，然后加入碳酸钾(4.27mg,0.031mmol)。将反应覆盖在箔中，在室温搅拌过夜。用二氯甲烷稀释反应，用氯化铵水溶液和盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩。通过使用二氯甲烷中的5％甲醇的二氧化硅ptlc纯化残余物，得到化合物259a(IGN-15-SMe)(0.006g,7.32μMol,22％收率)。MS(m/z)，实测值934.1($[M]^+$+Na+2CH3OH)。

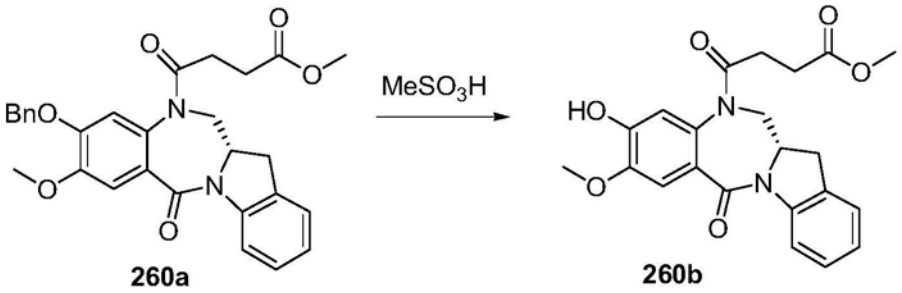
[1186] 实施例26

[1187] 

[1188] 化合物260a：

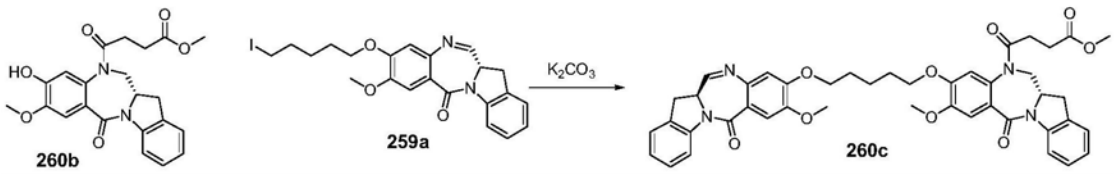
[1189] 将化合物256a(55mg,0.142mmol)溶于无水二氯甲烷中，然后相继加入4-甲氧基-4-氧代丁酸(76mg,0.575mmol)、EDC(70mg,0.365mmol)和DMAP(8.69mg,0.071mmol)。将混合物在室温搅拌过夜，通过TLC检验以确保没有原料剩余。然后将反应用水和乙酸乙酯稀释。用乙酸乙酯进一步萃取后，将有机物用盐水洗涤，经硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩。通过使用已烷中的50％乙酸乙酯的硅胶色谱法纯化粗残余物，得到化合物260a(54mg,收率＝76％)。^{1}H

NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.21(d,J=8.0Hz,1H),7.45-7.25(m,7H),7.20(d,J=7.2Hz,1H),7.08(t,J=7.4Hz,1H),6.825(s,1H),5.27(q,J=15.1Hz,2H),4.56(t,J=12.6Hz,1H),4.35-4.29(m,1H),3.99(s,3H),3.65(s,3H),3.44-3.38(m,2H),2.88(dd,J_1=16.4Hz,J_2=2Hz,1H),2.58-2.50(m,1H),2.40-2.33(m,1H),2.26-2.18(m,1H),1.99-1.92(m,1H);MS(m/z),实测值523.1$(M+Na)^+$。

[1190] 

[1191] 化合物260b:

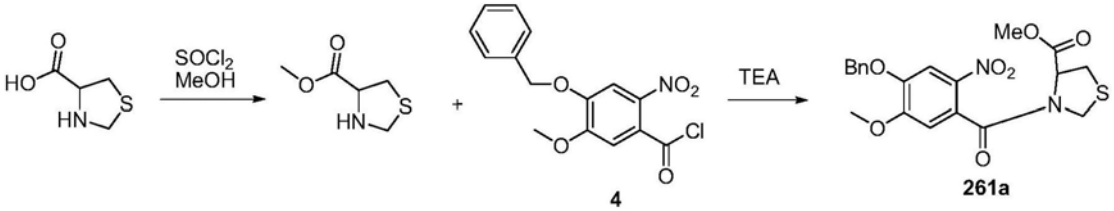
[1192] 向化合物260a(50mg,0.100mmol)在无水二氯甲烷(11.5mL)中的溶液逐滴加入甲磺酸(0.389ml,5.99mmol),产生黄色溶液。将反应在室温搅拌,通过TLC监控直至在30分钟时结束。将其用水和甲醇稀释,然后用饱和碳酸氢钠中和至pH 7。用二氯甲烷萃取水层,经硫酸钠干燥有机层。通过使用二氯甲烷中的6%甲醇的硅胶色谱法纯化粗产物,得到化合物260b(40mg,收率=98%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.22(d,J=8.0Hz,1H),7.35(s,1H),7.28(t,J=7.8Hz,1H),7.22(d,J=7.2Hz,1H),7.09(t,J=7.4Hz,1H),6.90(s,1H),6.06(s,1H),4.63(t,J=12.6Hz,1H),4.38-4.30(m,1H),4.00(s,3H),3.66(s,3H),3.47-3.39(m,2H),2.90(dd,J_1=16.2Hz,J_2=2.2Hz,1H),2.69-2.59(m,2H),2.52-2.45(m,1H),2.22-2.14(m,1H);MS(m/z),实测值433$(M+Na)^+$。

[1193] 

[1194] 化合物260c:

[1195] 将化合物260b(20mg,0.049mmol)和化合物259a(30mg,0.061mmol)溶于无水N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中。加入碳酸钾(20.20mg,0.146mmol),将反应在室温搅拌过夜。用水淬灭反应,用二氯甲烷萃取。将有机物用盐水洗涤,经硫酸钠干燥。通过使用二氯甲烷中的5%甲醇的硅胶色谱法纯化粗产物,得到化合物260c(25mg,收率=66%)。MS(m/z),实测值813.5$(M+Na+H_2O)^+$。

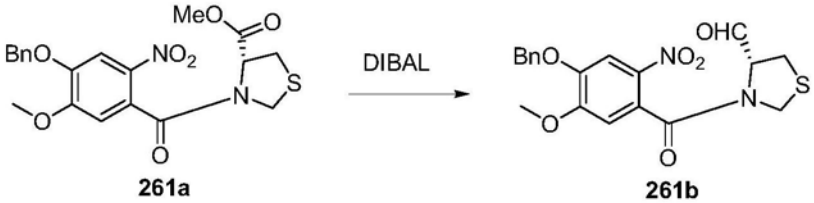
[1196] 实施例27

[1197] 

[1198] 化合物261a:

[1199] 将商购可得的原料噻唑烷-4-羧酸(1.3g,9.59mmol)溶于无水甲醇(19.18mL)中,

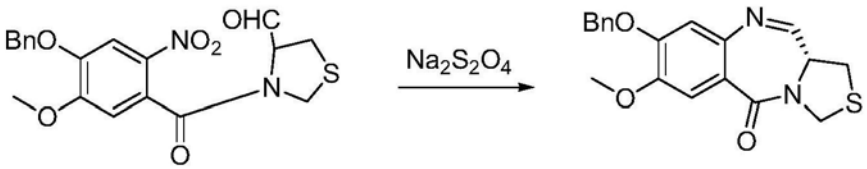
在冰浴中冷却至0℃。逐滴加入亚硫酰氯(1.40mL,19.18mmol),将反应搅拌30分钟。除去冰浴,继续搅拌4-5小时或过夜。吹脱溶剂,将产物置于高真空下,得到4-(甲氧基羰基)噻唑烷-3-鎓氯化物。不经进一步纯化并且假定100%收率,将4-(甲氧基羰基)噻唑烷-3-鎓氯化物(1.761g,9.59mmol)和化合物4(3.39g,10.55mmol)各自分别溶于四氢呋喃(32.0mL)中,冷却至0℃。将三乙胺(4.41mL,31.6mmol)加至含有4-(甲氧基羰基)噻唑烷-3-鎓氯化物的溶液中,然后经由插管快速加入化合物4。20分钟后,将检验溶液的pH以确保其为碱性。将反应在0℃搅拌1.5小时,然后在室温搅拌30分钟,通过MS检验。用冷5%盐酸淬灭反应,用冷乙酸乙酯和水稀释。将溶液用乙酸乙酯萃取三次,将合并的有机物用盐水、饱和碳酸氢钠洗涤,再用盐水洗涤。将其经硫酸钠干燥,过滤,吹脱。通过硅胶色谱法使用50%～75%己烷中的乙酸乙酯的梯度纯化粗物质,得到化合物261a(4.1g,收率=99%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):该化合物表现为一对不同的旋转异构体。δ7.78(s,0.6H),7.74(s,0.4H),7.48-7.35(m,5H),6.96(s,0.4H),6.92(s,0.6H),5.40(dd,J_1=7.0Hz,J_2=3.4Hz,0.6H),5.31-5.22(m,2H),5.13(d,9.6Hz,0.4H),4.60(d,J=9.6Hz,0.4H),4.46(dd,J_1=4.4Hz,J_2=3.2Hz,0.4H),4.36(d,J=8.4Hz,0.6H),4.26(d,J=8.4Hz,0.6H),4.02(s,1.8H),3.96(s,1.2H),3.86(s,1.8H),3.71(s,1.2H),3.48-3.43(m,0.6H),3.36-3.29(m,1.4H);MS(m/z),实测值455.3$(M+Na)^+$。

[1200] 

261a 261b

[1201] 化合物261b:

[1202] 将化合物261a(4.1g,9.48mmol)溶于二氯甲烷(11mL)和甲苯(33mL)中,然后在丙酮/干冰浴中冷却至-78℃。使用注射泵在至少30分钟内非常缓慢加入氢化二异丁基铝(18.96mL,18.96mmol)。将反应在-78℃搅拌3小时,用甲醇(0.4mL)、然后用5%盐酸(30mL)淬灭反应。加入乙酸乙酯(100ml),移除冰浴。将混合物继续在室温搅拌30分钟。使用乙酸乙酯萃取,将合并的有机物用盐水、饱和碳酸氢钠洗涤,然后再用盐水洗涤。将其经无水硫酸钠干燥,滤过硅藻土。通过使用75%己烷中的乙酸乙酯的硅胶色谱法纯化粗物质,得到化合物261b(2.3g,收率=60%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$):该化合物表现为一对旋转异构体。δ9.80(s,0.8H),9.41(s,0.2H),7.80(s,0.8H),7.73(s,0.2H),7.49-7.36(m,5H),6.91(s,0.2H),6.84(s,0.8H),5.25-5.22(m,2H),4.85-4.73(m,1H),4.35-4.30(m,1H),4.22-4.17(m,1H),4.04-3.97(m,3H),3.40-3.26(m,2H);MS(m/z),实测值425.0$(M+Na)^+$。

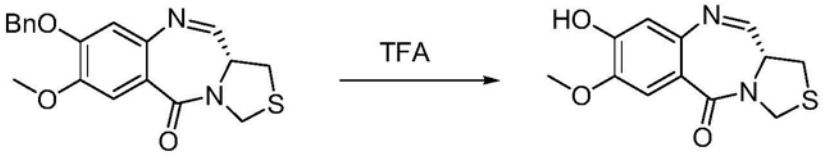
[1203] 

261b 261c

[1204] 化合物261c:

[1205] 将化合物261b溶于四氢呋喃(230mL)、然后溶于水(150mL)中。缓慢加入少量亚硫酸氢钠(5.27g,25.7mmol)。如果溶液保持混浊,逐滴加入另外的水直至溶液澄清。将反应用

隔片盖住，用指针通气以能够释放SO_2气体，搅拌过夜。溶液从黄色变为非常苍白、几乎无色的溶液。次日早上，加入水直至溶液变得澄清，然后加入甲醇(30mL)。搅拌另外的2小时，然后蒸发溶剂，用乙腈再次蒸发残余物至少两次。将白色残余物置于高真空下数小时。将其再溶于甲醇:二氯甲烷[1:1]，滤过硅藻土，吹脱。重复过滤步骤，直至甲醇中的稀释液变得澄清而没有颗粒。将中间体置于高真空下直至完全干燥，然后溶于无水甲醇(50ml)中。在室温逐滴加入乙酰氯(1.9ml，26.7mmol)，导致黄色沉淀形成。将其在室温搅拌30分钟，用饱和碳酸氢钠淬灭反应。将混合物用二氯甲烷和水(130mL/85mL)稀释，用二氯甲烷萃取。将水层用硫酸氢钠酸化，浓缩至对比体积，然后再次萃取。将合并的有机物用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤，经硫酸钠干燥。通过使用已烷中的60％乙酸乙酯的硅胶色谱法纯化吹脱的残余物，得到化合物261c(1.2g，收率＝59％)。^{1}H NMR(400Hz，$CDCl_3$)：δ7.69(d，J＝4.4Hz，1H)，7.52-7.28(m，6H)，6.87(s，1H)，5.22(q，J＝12.3Hz，2H)，4.85，(d，J＝10.4Hz，1H)，4.58(d，J＝10.4Hz，1H)，4.03-4.02(m，1H)，3.98(s，3H)，3.51-3.47(m，1H)，3.45-3.23(m，1H)；MS(m/z)，实测值377.3$(M+Na)^+$。

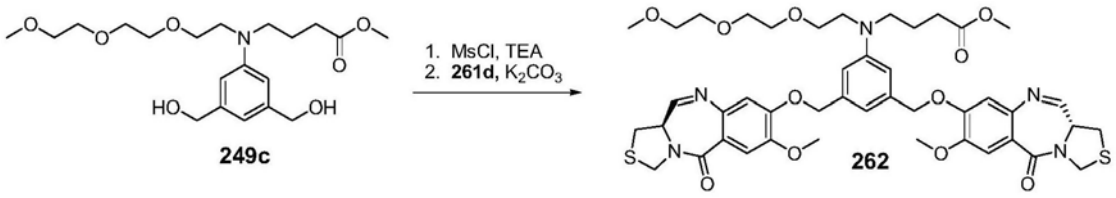
[1206] 

261c **261d**

[1207] 化合物261d：

[1208] 将化合物261c(75mg，0.212mmol)溶于无水三氟乙酸(0.4ml，5.19mmol)中。在50℃回流约1小时，然后将温度升至80℃。总共3小时后，蒸发溶剂。通过使用二氯甲烷中的5％甲醇的PTLC直接纯化残余物，得到化合物261d(19.4mg，35％)。^{1}H NMR(400Hz，$CDCl_3$)：δ7.72(d，J＝4.4Hz，1H)，7.51(s，1H)，6.91(s，1H)，6.18(s，1H)，4.85(d，J＝10.4Hz，1H)，4.58(J＝10.4Hz，1H)，4.05-4.02(m，1H)，3.99(s，3H)，3.50(dd，J_1＝12.4Hz，J_2＝6Hz，1H)，3.32，(dd，J_1＝12.4H，J_2＝2Hz，1H)；MS(m/z)，实测值319.0$(M+Na+MeOH)^+$。

[1209] 实施例28

[1210] 

249c **262**

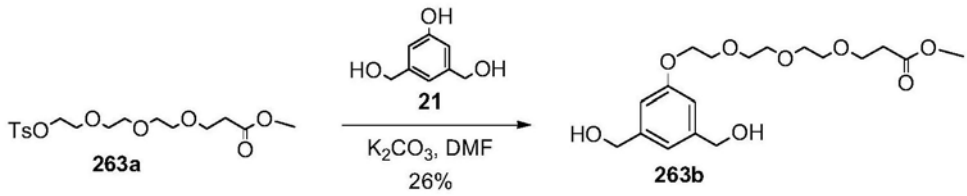
[1211] 化合物262：

[1212] 将化合物249c(18mg，0.045mmol)溶于无水二氯甲烷(0.45mL)，然后在冰/盐水浴中冷却。首先，加入三乙胺(0.022ml，0.158mmol)、然后加入非常缓慢甲磺酰氯(10.46μl，0.135mmol)。将混合物继续在冰浴中搅拌1小时。用冰/水淬灭反应，用冷乙酸乙酯稀释。分离后，将有机层再次用冷水洗涤，经硫酸钠干燥。过滤，在减压下蒸发，将温度保持在200℃以下，然后置于高真空下以直接使用。一旦完全干燥，就将产物和化合物261d(28.5mg，0.108mmol)溶解于无水N,N-二甲基甲酰胺(350μL)中。加入碳酸钾(29.8mg，0.216mmol)。在室温搅拌过夜后，将反应用二氯甲烷稀释，用盐水洗涤，经硫酸钠干燥，过滤，吹脱。

[1213] 首先通过使用二氯甲烷中的4％甲醇的硅胶色谱法纯化粗产物，以除去基线残余

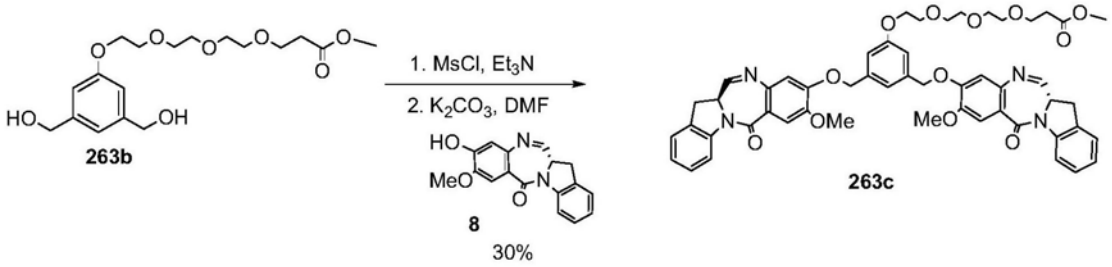
物。然后使用反相HPLC(C18柱,用3:1CH_3CN/H_2O装柱,离心,然后注射)纯化回收的物质,得到为固体的化合物262。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ7.68(dd,J_1=4.4Hz,J_2=1.6Hz,2H),7.51(s,2H),6.86(s,2H),6.78(s,1H),6.71(s,2H),5.16(dq,J_1=8.4Hz,J_2=2.2,4H),4.85(d,J=10.4Hz,2H),4.58(J=10.4Hz,2H),4.04-3.97(m,7H),3.68-3.38(m,18H),3.40-3.29(m,7H),2.33(t,7.2Hz,2H),1.89-1.35(m,2H)MS(m/z),实测值914.1$(M+Na)^+$。

[1214] 实施例29(IGN-13)

[1215] 

[1216] 3-(2-(2-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯(263b):

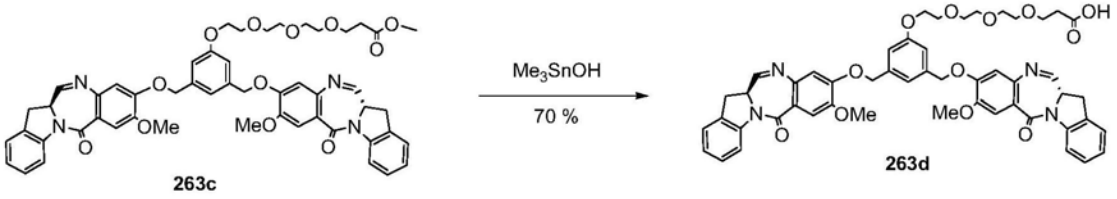
[1217] 向搅拌的3-(2-(2-(2-(甲苯磺酰基氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸酯(263a)(1.504g,3.85mmol)和(5-羟基-1,3-亚苯基)二甲醇(21)(0.54g,3.50mmol)在无水DMF(7.8mL)中的溶液加入碳酸钾(0.726g,5.25mmol)。将反应在75℃搅拌18小时。将混合物冷却至室温,用水淬灭反应,用乙酸乙酯萃取。将有机萃取液用盐水洗涤,经无水硫酸镁干燥,过滤,浓缩。通过硅胶色谱法(5%MeOH/CH_2Cl_2)的纯化得到3-(2-(2-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯(263b)(340mg,26%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ6.83(s,1H),6.75(s,2H),4.52(s,4H),4.05(t,J=4.8Hz,2H),3.79(t,J=4.8Hz,2H),3.70(t,J=6.4Hz,2H),3.65(s,3H),3.70-3.56(m,8H),3.26(s,2H),2.55(t,J=6.4Hz,2H);^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ172.31,159.1,143.0,117.7,112.1,70.8,70.7,70.5,70.4,69.8,67.5,66.6,64.7,51.8,34.9;MS(m/z),实测值395.2$(M+Na)^+$。

[1218] 

[1219] 化合物263c:

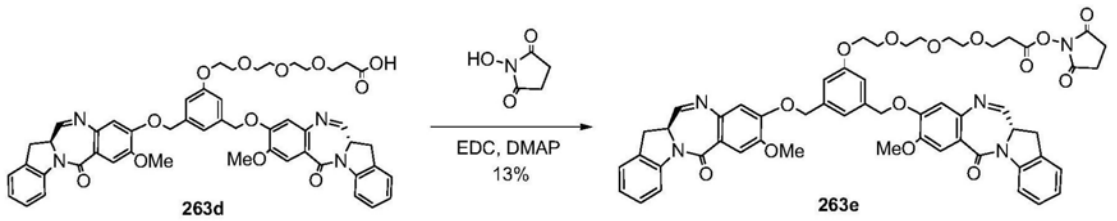
[1220] 向搅拌的3-(2-(2-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯(263b)(145mg,0.389mmol)在无水二氯甲烷(5.5mL)中的溶液加入三乙胺(0.163ml,1.168mmol)。将混合物冷却至-5℃,缓慢加入甲磺酰氯(0.076ml,0.973mmol)。在-5℃搅拌1小时后,用冷水淬灭反应,用冷乙酸乙酯萃取。将有机萃取液用冷水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩,得到3-(2-(2-(2-(3,5-二((甲基磺酰基氧基)甲基)苯氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯。MS(m/z),实测值551.1$(M+Na)^+$。向搅拌的3-(2-(2-(2-(3,5-二((甲基磺酰基氧基)甲基)苯氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯(206mg,0.390mmol)和化合物8(287mg,0.974mmol)在无水DMF(3.9mL)中的混合物加入碳酸钾(269mg,1.949mmol)。将反应在室温搅拌18小时。用水淬灭混合物,用二氯甲烷萃取三次。将有机萃

取液用水和盐水洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩。通过快速硅胶色谱法(5％MeOH/CH_2Cl_2)、然后通过制备型反相HPLC(C18柱，用CH_3CN/H_2O洗脱)纯化，得到为白色固体的化合物263c(110mg，30％)。^1H NMR(400Hz，$CDCl_3$)：δ8.18(d，J＝8.0Hz，2H)，7.77(m，2H)，7.49(s，2H)，7.19(m，4H)，7.02(m，2H)，6.89(s，2H)，6.87(s，1H)，6.75(s，2H)，5.10(m，4H)，4.39(m，2H)，4.05(m，2H)，3.90(s，6H)，3.77(m，2H)，3.67(t，J＝6.4Hz，2H)，3.64(m，2H)，3.59(s，3H)，3.70-3.54(m，8H)，3.40(m，2H)，2.51(t，J＝6.4Hz，2H)；MS(m/z)，实测值965.3$(M+H_2O+Na)^+$，983.3$(M+2H_2O+Na)^+$。

[1221] 

[1222] 化合物263d：

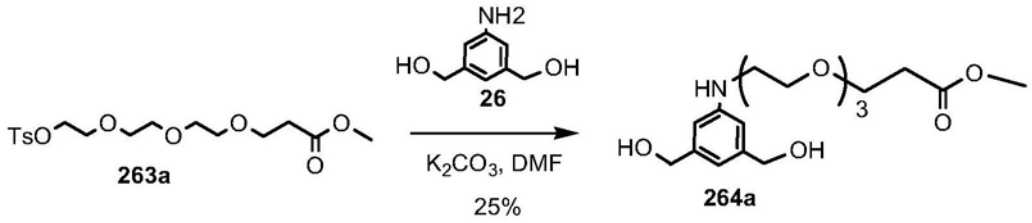
[1223] 向化合物263c(51mg，0.055mmol)在1，2-二氯乙烷(2.2mL)的溶液加入氢氧化三甲基锡(199mg，1.103mmol)。将溶液在80℃搅拌18小时，然后冷却至室温，用饱和氯化铵淬灭。将混合物用二氯甲烷萃取。将有机层用盐水洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩。通过硅胶色谱法(10％MeOH/CH_2Cl_2)纯化得到化合物263d(35mg，70％)。^1H NMR(400Hz，$CDCl_3$)：δ8.26(d，J＝8.0Hz，2H)，7.88(m，2H)，7.58(s，2H)，7.28(m，4H)，7.11(m，3H)，7.00(s，2H)，6.88(s，2H)，5.21(m，4H)，4.49(m，2H)，4.18(m，2H)，4.00(s，6H)，3.89(m，2H)，3.79(m，2H)，3.70(m，10H)，3.51(m，2H)，2.62(m，2H)；MS(m/z)，实测值909.2$(M-1)^-$，927.2$(M-1+H_2O)^-$，945.2$(M-1+2H_2O)^-$。

[1224] 

[1225] 化合物263e：

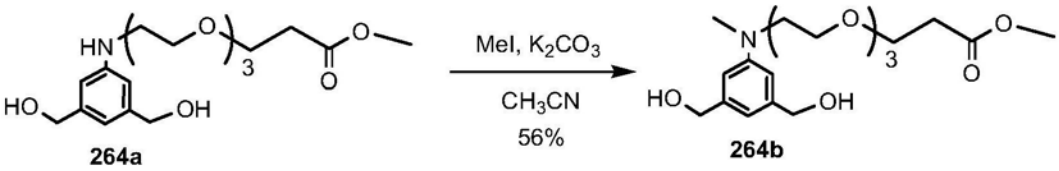
[1226] 向化合物263d(30mg，0.033mmol)在无水二氯甲烷(2.5mL)中的溶液加入N-羟基琥珀酰亚胺(9.77mg，0.082mmol)、EDC(15.78mg，0.082mmol)和DMAP(0.406mg，3.29μMol)。将反应在室温搅拌18小时，然后用二氯甲烷稀释。将混合物用饱和氯化铵和盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩。通过制备型反相HPLC(C18柱，用CH_3CN/H_2O洗脱)纯化粗物质。将含有产物的级分用二氯甲烷萃取，经无水硫酸钠干燥，过滤，在减压下与乙腈共蒸发，得到为白色固体的化合物263e(4.5mg，13％)；MS(m/z)，实测值1030.4$(M+Na)^+$，1046.3$(M+K)^+$。

[1227] 实施例30(IGN-27)

[1228] 

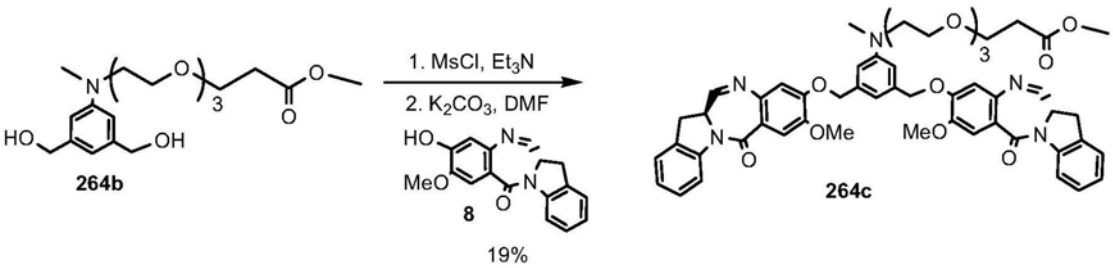
[1229] 3-(2-(2-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯基氨基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯(264a)：

[1230] 向3-(2-(2-(2-(甲苯磺酰基氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯(263a)(250mg,0.640mmol)和(5-氨基-1,3-亚苯基)二甲醇(26)(108mg,0.704mmol)在无水DMF(1.4mL)中的混合物加入碳酸钾(133mg,0.960mmol)。将反应在80℃搅拌18小时,然后冷却至室温。将混合物用水淬灭,用乙酸乙酯萃取两次。将有机萃取液用盐水洗涤,经无水硫酸镁干燥,过滤,浓缩。通过硅胶色谱法(5%甲醇/二氯甲烷)纯化得到3-(2-(2-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯基氨基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯(264a)(61mg,25%)；^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ6.58(s,1H),6.47(s,2H),4.49(s,4H),3.67(t,J=6.4Hz,2H),3.62(s,3H),3.64-3.54(m,10H),3.21(t,J=5.2Hz,2H),2.51(t,J=6.4Hz,2H)；MS(m/z),实测值394.3$(M+Na)^+$。

[1231] 

[1232] 化合物264b：

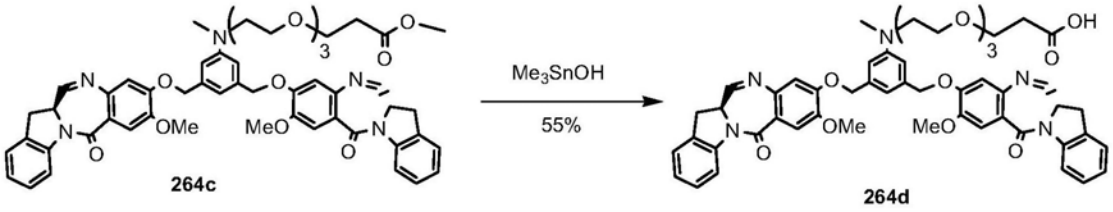
[1233] 向3-(2-(2-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯基氨基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯(264a)(60mg,0.162mmol)在乙腈(1.6mL)中的溶液加入碘甲烷(0.013ml,0.210mmol)和碳酸钾(26.8mg,0.194mmol)。将反应在82℃搅拌18小时。将混合物冷却至室温,然后在减压下除去溶剂。将粗物质用3:1CH_2Cl_2/MeOH稀释,滤过硅藻土。浓缩滤液,通过用5%甲醇/二氯甲烷洗脱的硅胶色谱法,得到化合物264b(35mg,56%)。^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ6.58(s,3H),4.52(s,4H),3.64(t,J=6.4Hz,2H),3.60(s,3H),3.53(m,12H),2.91(s,3H),2.51(t,J=6.4Hz,2H),2.28(s,2H)；^{13}C NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ172.1,149.8,142.4,113.4,109.9,70.7,70.6,70.4,70.3,68.6,66.5,65.6,52.3,51.7,38.9,34.8;MS(m/z),实测值408.4$(M+Na)^+$。

[1234] 

[1235] 化合物264c：

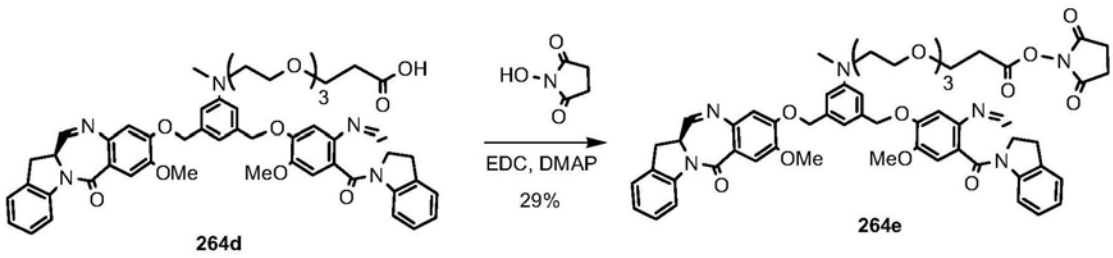
[1236] 向搅拌的化合物246b(60mg,0.156mmol)在无水二氯甲烷(2.8mL)中的溶液加入三乙胺(0.065mL,0.467mmol)。将混合物冷却至-5℃,缓慢加入甲磺酰氯(0.030mL,0.389mmol)。在-5℃搅拌1小时后,用冷水淬灭反应,用冷乙酸乙酯萃取。将有机层用冷水洗

涤，经无水硫酸钠干燥，过滤，在减压下浓缩，得到二甲磺酸酯中间体。MS(m/z)，实测值564.0(M+Na)$^+$。向二甲磺酸酯连接体(49mg，0.090mmol)和化合物8(66.6mg，0.226mmol)在无水DMF(0.9mL)中的混合物加入碳酸钾(62.5mg，0.452mmol)。将反应在室温搅拌18小时，用水淬灭反应，用二氯甲烷萃取三次。将有机萃取液用水和盐水洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩。通过快速硅胶色谱法(5％MeOH/CH_2Cl_2)、通过制备型反相HPLC(C18柱，用CH_3CN/H_2O洗脱)纯化得到为白色固体的化合物264c(16mg，19％)。^1H NMR(400Hz，$CDCl_3$)：δ 8.18(d，J＝8.0Hz，2H)，7.76(m，2H)，7.48(s，2H)，7.18(m，4H)，7.02(t，J＝7.2Hz，2H)，6.79(m，2H)，6.74(s，1H)，6.65(s，2H)，5.08(m，4H)，4.39(m，2H)，3.89(s，6H)，3.66(t，J＝6.4Hz，2H)，3.62(m，2H)，3.60(s，3H)，3.53(m，12H)，3.40(m，2H)，2.91(s，3H)，2.51(t，J＝6.4Hz，2H)；MS(m/z)，实测值978.3(M+H_2O+Na)$^+$，996.3(M+2H_2O+Na)$^+$。

[1237] 

[1238] 化合物264d：

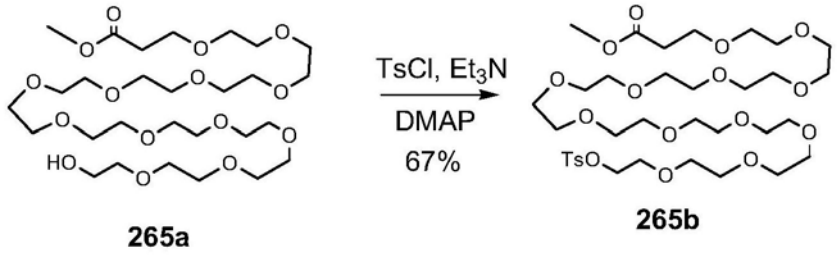
[1239] 向化合物264c(26mg，0.028mmol)在无水1,2-二氯乙烷(1.1mL)中的溶液加入氢氧化三甲基锡(100mg，0.554mmol)。将反应在80℃搅拌18小时。将混合物冷却至室温，用二氯甲烷和饱和氯化铵萃取。将有机萃取液用盐水洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩。通过使用5％甲醇/二氯甲烷的制备型TLC纯化得到化合物264d(14mg，55％)。MS(m/z)，实测值922.1(M-1)$^-$，940.0(M-1+H_2O)$^-$，958.1(M-1+2H_2O)$^-$。

[1240] 

[1241] 化合物264e：

[1242] 向搅拌的化合物264d(13mg，0.014mmol)在无水二氯甲烷(1.0mL)中的溶液加入N-羟基琥珀酰亚胺(5.01mg，0.042mmol)、EDC(8.09mg，0.042mmol)和DMAP(0.172mg，1.407μMol)。将反应在室温搅拌18小时。将混合物用二氯甲烷和饱和氯化铵萃取。将有机层用盐水洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩。通过制备型反相HPLC(C18柱，用CH_3CN/H_2O洗脱)纯化粗物质。将含有产物的级分合并，用二氯甲烷萃取，经无水硫酸钠干燥，过滤，在减压下与乙腈共蒸发，得到化合物264e(4.1mg，29％)。MS(m/z)，实测值1021.3(M+H)$^+$，1043.2(M+Na)$^+$，1061.2(M+H_2O+Na)$^+$，1079.2(M+2H_2O+Na)$^+$。

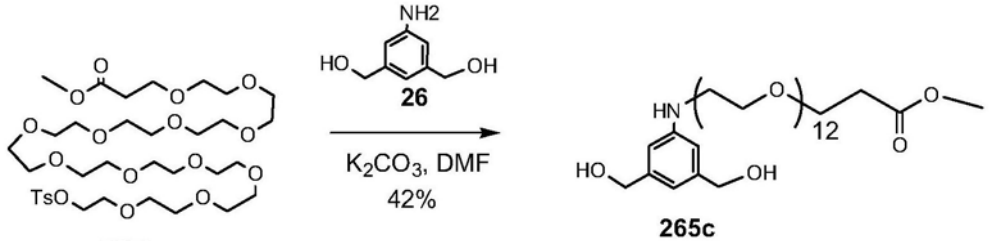
[1243] 实施例31(IGN-28)

[1244] 

265a 265b

[1245] 1-(甲苯磺酰基氧基)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸甲酯(265b)：

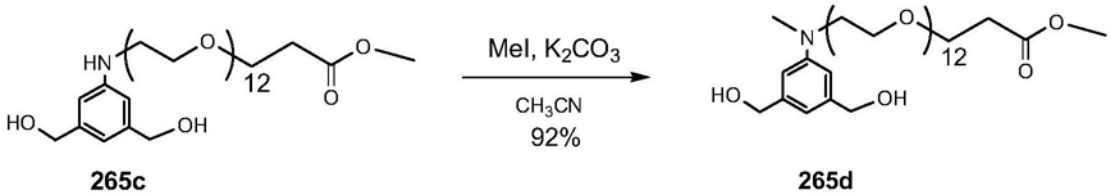
[1246] 在0℃、向搅拌的1-羟基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸甲酯(265a)(1.2g,1.897mmol)在二氯甲烷(9.48mL)中的溶液加入三乙胺(0.529mL,3.79mmol)、甲苯磺酰氯(0.542g,2.84mmol)和DMAP(0.023g,0.190mmol)。将混合物在0℃搅拌1小时,然后在环境温度搅拌三小时,之后用水淬灭,用二氯甲烷萃取两次。将有机萃取液用盐水洗涤,经无水硫酸镁干燥,过滤,真空浓缩。通过硅胶色谱法(5%MeOH/CH_2Cl_2)纯化得到为浅黄色油的1-(甲苯磺酰基氧基)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-甲酸酯(265b)(1.0g,67%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ7.80(d,J=8.4Hz,2H),7.35(d,J=8.0Hz,2H),4.16(t,J=4.8Hz,2H),3.75(t,J=6.4Hz,2H),3.69(s,3H),3.64(m,46H),2.60(t,J=6.4Hz,2H),2.45(s,3H)。

[1247] 

265b 265c

[1248] 1-(3,5-二(羟基甲基)苯基氨基)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸甲酯(265c)：

[1249] 向搅拌的1-(甲苯磺酰基氧基)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸甲酯(265b)(700mg,0.890mmol)和(5-氨基-1,3-亚苯基)二甲醇(26)(150mg,0.978mmol)在无水DMF(2.0mL)中的混合物加入碳酸钾(184mg,1.334mmol)。将反应在80℃搅拌过夜。将混合物冷却至室温,用水淬灭,用10%甲醇/二氯甲烷萃取。将有机层用盐水洗涤,经无水硫酸镁干燥,过滤,真空浓缩。通过硅胶色谱法(用5→15%MeOH/CH_2Cl_2洗脱)纯化粗产物,得到1-(3,5-二(羟基甲基)苯基氨基)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸甲酯(265c)(285mg,42%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$)：δ6.62(s,1H),6.51(s,2H),4.52(s,4H),3.72(t,J=6.4Hz,2H),3.65(s,3H),3.61(m,48H),2.94(s,2H),2.63(s,1H),2.57(t,J=6.4Hz,2H);MS(m/z),实测值790.4$(M+Na)^+$。

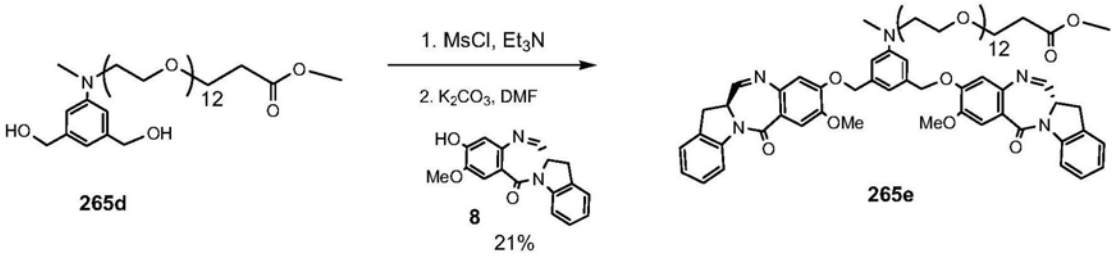
[1250] 

265c 265d

[1251] 甲基2-(3,5-二(羟基甲基)苯基)-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十二氧

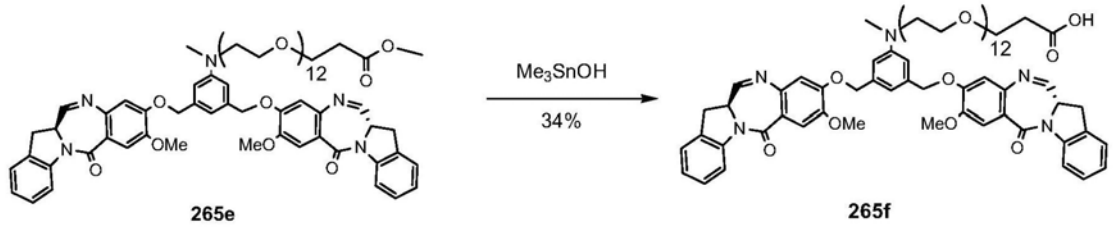
杂-2-氮杂四十一烷-41-酸甲酯(265d)：

[1252] 向搅拌的1-(3,5-二(羟基甲基)苯基氨基)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸甲酯(265c)(67mg,0.087mmol)在无水DMF(1.0mL)中的溶液加入碘甲烷(7.06μl,0.113mmol)和碳酸钾(14.47mg,0.105mmol)。将反应在82℃搅拌18小时。将混合物冷却至室温,用水稀释用二氯甲烷萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,真空浓缩。通过制备型TLC(10%MeOH/CH_2Cl_2)纯化得到2-(3,5-二(羟基甲基)苯基)-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十二氧杂-2-氮杂四十一烷-41-酸甲酯(265d)(62mg,92%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ6.65(s,3H),4.59(d,J=5.6Hz,4H),3.74(t,J=6.4Hz,2H),3.67(s,3H),3.61(m,46H),3.54(t,J=6.0Hz,2H)2.98(s,3H),2.59(t,J=6.4Hz,2H),2.55(m,2H);MS(m/z),实测值820.5$(M+K)^+$。

[1253] 

[1254] 化合物265e：

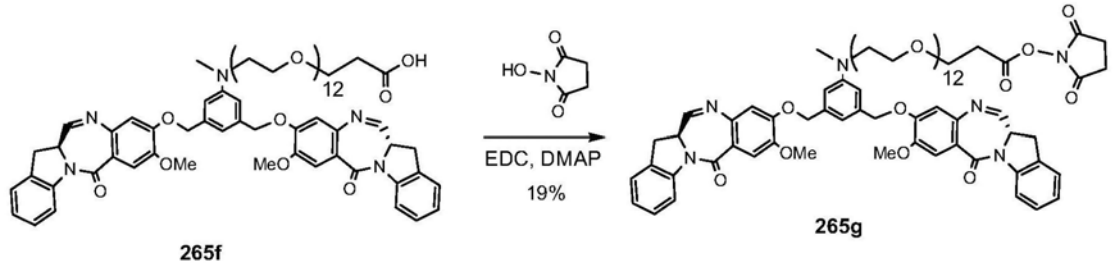
[1255] 向搅拌的2-(3,5-二(羟基甲基)苯基)-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十二氧杂-2-氮杂四十一烷-41-酸甲酯(265d)(71mg,0.091mmol)在无水二氯甲烷(1.4mL)中的溶液加入三乙胺(0.038mL,0.272mmol)。将混合物冷却至-5℃,缓慢加入甲磺酰氯(0.018mL,0.227mmol)。在-5℃搅拌1小时后,将反应用冷水淬灭,用冷乙酸乙酯萃取。将有机萃取液用冷水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩,得到2-(3,5-二((甲基磺酰基氧基)甲基)苯基)-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十二氧杂-2-氮杂四十一烷-41-酸甲酯。MS(m/z),实测值960.2$(M+Na)^+$。向2-(3,5-二((甲基磺酰基氧基)甲基)苯基)-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十二氧杂-2-氮杂四十一烷-41-酸甲酯(69mg,0.074mmol)和化合物8(54.1mg,0.184mmol)在无水DMF(0.8mL)中的混合物加入碳酸钾(50.8mg,0.368mmol)。将反应在室温搅拌18小时。用水淬灭反应,用二氯甲烷萃取两次。剩余的水层用50%MeOH/CH_2Cl_2萃取两次。将合并的有机萃取液用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,真空浓缩。通过快速硅胶色谱法(5%MeOH/CH_2Cl_2)、然后通过制备型反相HPLC(C18柱,用CH_3CN/H_2O洗脱)纯化得到化合物265e(23mg,23%)。MS(m/z),实测值1375.4$(M+Na+H_2O)^+$,1393.4$(M+Na+2H_2O)^+$。

[1256] 

[1257] 化合物265f：

[1258] 向搅拌的化合物265e(22mg,0.016mmol)在无水1,2-二氯乙烷(300μL)中的溶液加入氢氧化三甲基锡(44.7mg,0.247mmol)。将反应在90℃搅拌18小时。将混合物冷却至室温,

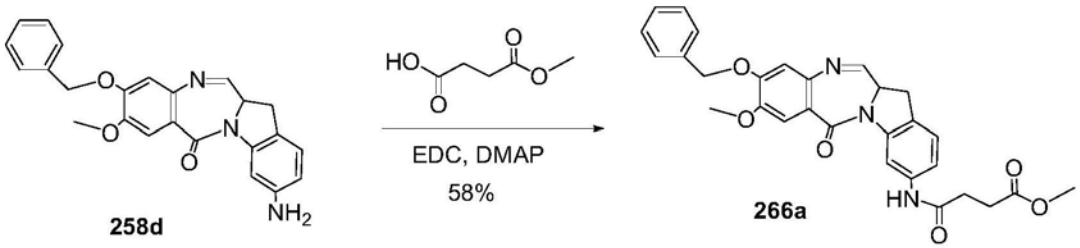
然后用二氯甲烷稀释。将有机层用含有数滴5%浓盐酸的盐水洗涤，然后单独用盐水洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩。通过制备型TLC(2×5%MeOH/CH_2Cl_2)纯化得到化合物265f(7.5mg，34%)。MS(m/z)，实测值1318.4$(M-1)^-$，1336.4$(M-1+H_2O)^-$，1354.4$(M-1+2H_2O)^-$。

[1259] 

[1260] 化合物265g：

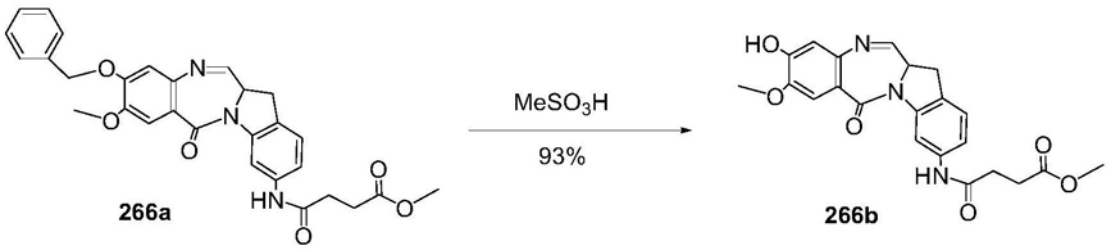
[1261] 向搅拌的化合物265f(7.5mg，5.68μMol)在无水二氯甲烷(400μL)中的溶液加入N-羟基琥珀酰亚胺(1.961mg，0.017mmol)、EDC(3.27mg，0.017mmol)和DMAP(0.069mg，0.568μMol)。将反应在室温搅拌18小时。将混合物用二氯甲烷和饱和氯化铵萃取。将有机层用盐水洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤，在减压下除去溶剂。通过制备型反相HPLC(C18柱，用CH_3CN/H_2O洗脱)纯化粗物质。将含有产物的级分用二氯甲烷萃取，经无水硫酸钠干燥，过滤，与乙腈共蒸发，得到化合物265g(1.5mg，19%)。MS(m/z)，实测值1439.9$(M+Na)^+$，1457.9$(M+Na+H_2O)^+$。

[1262] 实施例32(IGN-22)

[1263] 

[1264] 化合物266a：

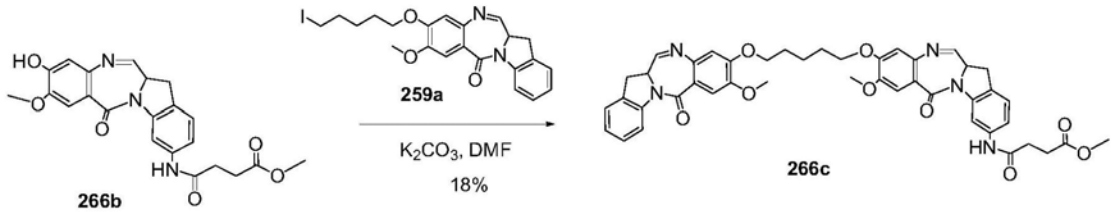
[1265] 向化合物258d(20mg，0.050mmol)在二氯甲烷(1.0mL)中的溶液加入琥珀酸单甲酯(13.23mg，0.100mmol)，加入EDC(19.20mg，0.100mmol)和DMAP(3.06mg，0.025mmol)。将反应在室温搅拌18小时。将混合物用水稀释，用乙酸乙酯萃取。将有机萃取液用盐水洗涤，过滤，在减压下浓缩。通过硅胶色谱法(3%MeOH/CH_2Cl_2)纯化得到化合物266a(15mg，58%)。MS(m/z)，实测值568.4$(M+Na+MeOH)^+$。

[1266] 

[1267] 化合物266b：

[1268] 向T化合物266a(15mg，0.029mmol)在二氯甲烷(3.5mL)中的溶液加入甲磺酸(0.114ml，1.753mmol)。将反应在室温搅拌1小时，然后用甲醇和水稀释。将混合物用饱和碳酸氢钠中和至pH＝7，用二氯甲烷萃取三次。将有机层经无水硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩。

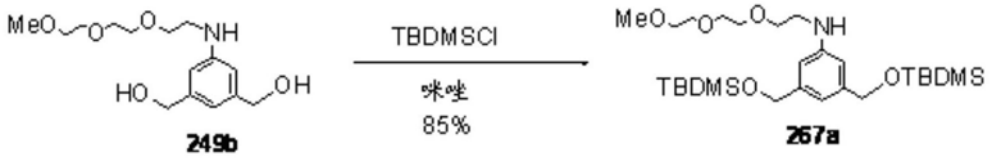
纯化通过制备型TLC(2×5%MeOH/CH_2Cl_2)得到化合物266b(11.5mg,93%)。MS(m/z),实测值446.4(M+Na)$^+$,478.4(M+Na+MeOH)$^+$。

[1269] 

[1270] 化合物266c:

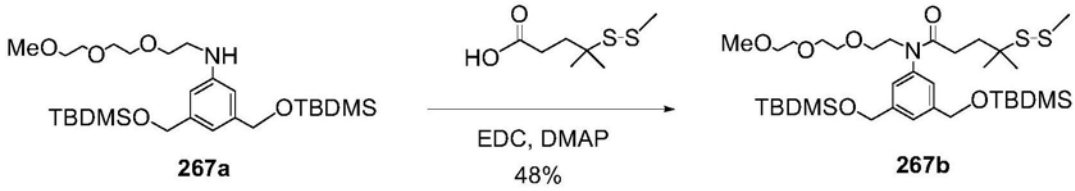
[1271] 向化合物266b(11.5mg,0.027mmol)和化合物259a(19.98mg,0.041mmol)在无水DMF(0.5mL)中的混合物加入碳酸钾(11.26mg,0.081mmol)。将反应在室温搅拌18小时。用水淬灭混合物,用二氯甲烷萃取三次。将有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩。通过制备型TLC(5%MeOH/CH_2Cl_2)、通过制备型反相HPLC(C18柱,用CH_3CN、H_2O洗脱)纯化得到化合物266c(4mg,18%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.27(d,J=8.0Hz,1H),8.06(s,1H),7.87(m,2H),7.74(m,1H),7.55(s,1H),7.52(s,1H),7.49(m,1H),7.26(m,1H)7.19(d,J=8.8Hz,1H),7.10(m,1H),6.82(m,2H),4.49(m,2H),4.12(m,4H),3.95(s,6H),3.71(s,3H),3.48(m,4H),2.75(m,2H),2.66(m,2H),1.98(m,4H),1.70(m,2H);MS(m/z),实测值824.1(M+K)$^+$。

[1272] 实施例33(IGN-31)

[1273] 

[1274] 3,5-二((叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)苯胺(267a):

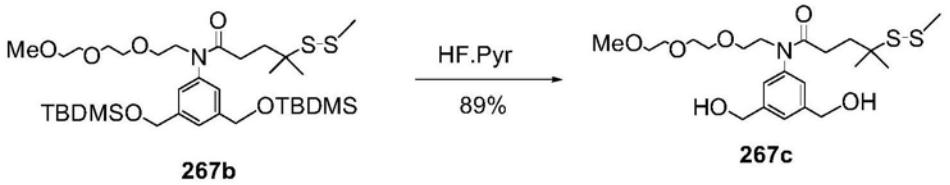
[1275] 向(5-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基氨基)-1,3-亚苯基)二甲醇(249b)(0.4g,1.336mmol)在二氯甲烷(6.68mL)中的溶液加入叔丁基二甲基氯硅烷(0.604g,4.01mmol)和咪唑(0.318g,4.68mmol)。将反应在室温搅拌90分钟。将混合物用二氯甲烷稀释,滤过硅藻土。浓缩滤液,通过用20%乙酸乙酯/已烷洗脱的硅胶色谱法纯化,得到3,5-二((叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)苯胺(267a)(600mg,85%)。MS(m/z),实测值550.3(M+Na)$^+$。

[1276] 

[1277] N-(3,5-二((叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基)苯基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰胺(267b):

[1278] 向3,5-二((叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)苯胺(267a)(525mg,0.995mmol)和4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酸(232mg,1.193mmol)在无水二氯甲烷(9.0mL)中的混合物加入EDC(229mg,1.193mmol)和DMAP

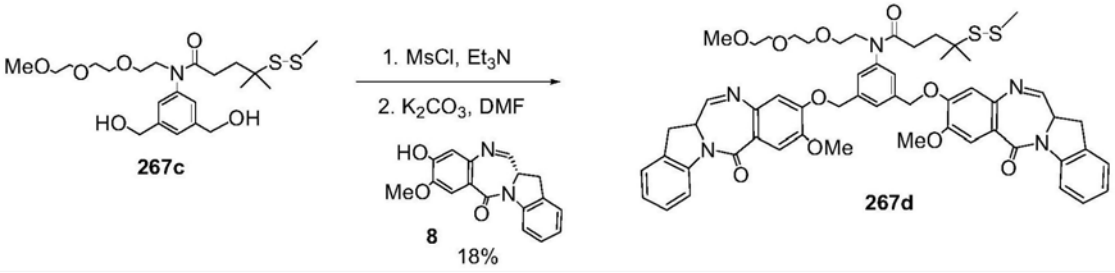
(12.15mg,0.099mmol)。将反应在室温搅拌5小时。将混合物用二氯甲烷稀释和水稀释。将有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩。通过硅胶色谱法(30%乙酸乙酯/己烷)纯化得到N-(3,5-二((叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基)苯基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰胺(267b)(335mg,48%)。

[1279] 

267b 267c

[1280] N-(3,5-二(羟基甲基)苯基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰胺(267c):

[1281] 在0℃、向搅拌的N-(3,5-二((叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基)苯基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰胺(267b)(315mg,0.447mmol)在无水乙腈(7.0mL)中的溶液加入无水吡啶(7.00mL),然后滴加HF.吡啶(3.1mL,1mL/100mg)。将反应在0℃搅拌2小时。将其用乙酸乙酯稀释,用饱和碳酸氢钠缓慢淬灭。将混合物用乙酸乙酯萃取三次。将有机层用水和盐水洗涤,经硫酸钠干燥,过滤,浓缩。通过用5%MeOH/CH_2Cl_2洗脱的硅胶色谱法纯化,得到N-(3,5-二(羟基甲基)苯基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰胺(267c)(190mg,89%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ7.21(s,1H),7.16(s,2H),4.63(s,4H),3.79(t,J=5.2,5.6Hz,2H),3.53(m,6H),3.48(m,4H),3.29(s,3H),2.53(s,2H),2.27(s,3H),2.07(m,2H),1.84(m,2H),1.08(s,6H);MS(m/z),实测值498.2$(M+Na)^+$。

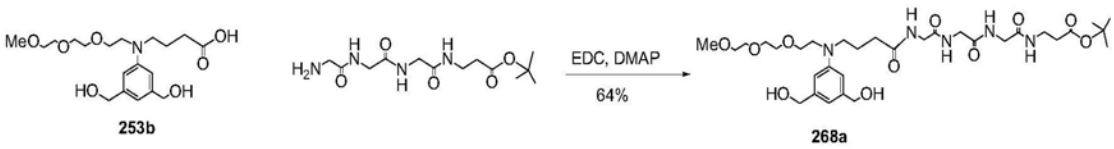
[1282] 

[1283] 化合物267d:

[1284] 向搅拌的N-(3,5-二(羟基甲基)苯基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰胺(267c)(72mg,0.151mmol)在无水二氯甲烷(3.0mL)中的溶液加入三乙胺(0.063mL,0.454mmol)。将混合物冷却至-5℃,缓慢加入甲磺酰氯(0.029mL,0.378mmol)。在-5℃搅拌1小时后,用冷水淬灭反应,用冷乙酸乙酯萃取。将有机层用冷水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩,得到(5-(N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰氨基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二甲磺酸酯。MS(m/z),实测值654.1$(M+Na)^+$。向(5-(N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰氨基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二甲磺酸酯(89mg,0.141mmol)和化合物8(83mg,0.282mmol)在无水DMF(1.5mL)中的溶液加入碳酸钾(97mg,0.704mmol)。将反应在室温搅拌18小时。用水淬灭混合物,用二氯甲烷萃取两次。将有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,真空浓缩。通过硅胶色谱法(5%MeOH/CH_2Cl_2)和制备型反相HPLC(C18柱,用CH_3CN/H_2O洗脱)纯化得到化合物267d(27mg,18%)。^1H NMR(400Hz,

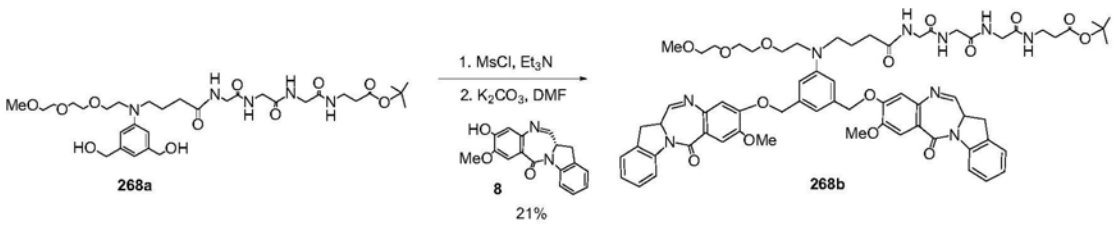
$CDCl_3$):δ8.28(d,J=4.8Hz,2H),7.87(m,2H),7.61(s,2H),7.37-7.27(m,7H),7.13(t,J=7.2,7.6Hz,2H),6.88(s,2H),5.25(m,4H),4.50(m,2H),4.00(s,6H),3.90(m,2H),3.73(m,2H),3.60(m,6H),3.51(m,6H),3.30(s,3H),2.32(s,3H),2.15(m,2H),1.90(m,2H),1.13(s,6H);MS(m/z),实测值1050.3$(M+Na)^+$,1068.3$(M+H_2O+Na)^+$,1086.3$(M+2H_2O+Na)^+$。

[1285] 实施例34(IGN-32)

[1286] 

[1287] 化合物268a:

[1288] 向化合物253b(150mg,0.389mmol)和3-(2-(2-(2-氨基乙酰氨基)乙酰氨基)乙酰氨基)丙酸叔丁酯(148mg,0.467mmol)在无水DMF(1.5mL)中的混合物加入EDC(90mg,0.467mmol)和DMAP(4.75mg,0.039mmol)。将反应在室温搅拌18小时。通过制备型反相HPLC(C18柱,用CH_3CN/H_2O+0.1%甲酸洗脱)直接纯化混合物。通过制备型TLC(15%MeOH/CH_2Cl_2)进一步纯化,得到化合物268a(170mg,64%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ7.62(m,1H),7.56(m,1H),7.38(m,1H),7.11(m,1H),6.55(s,2H),6.52(s,1H),4.45(s,4H),4.17(s,2H),3.63(m,6H),3.55-3.40(m,12H),3.28(m,7H),2.33(t,J=6.4Hz,2H),2.16(m,2H),1.79(m,2H),1.36(s,9H);MS(m/z),实测值706.3$(M+Na)^+$。

[1289] 

[1290] 化合物268b:

[1291] 向搅拌的化合物268a(59mg,0.086mmol)在无水二氯甲烷(1.75mL)中的溶液加入三乙胺(0.036ml,0.259mmol)。将混合物冷却至-5℃,缓慢加入甲磺酰氯(0.017ml,0.216mmol)。在-5℃搅拌1小时后,用冷水淬灭反应,用冷乙酸乙酯萃取。将有机萃取液用冷水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩,得到所需的二甲磺酸酯中间体。MS(m/z),实测值862.3$(M+Na)^+$。

[1292] 向二甲磺酸酯中间体(65mg,0.077mmol)和化合物8(114mg,0.387mmol)在无水DMF(1.0mL)中的溶液加入碳酸钾(86mg,0.619mmol)。将反应在室温搅拌18小时,然后用水淬灭,用二氯甲烷萃取三次。将有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩。通过硅胶色谱法(2%→10%MeOH/CH_2Cl_2)纯化得到化合物268b(22mg,21%)。^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$):δ8.26(d,J=8.0Hz,2H),7.88(m,2H),7.58(s,2H),7.28(m,4H),7.13(t,J=7.2Hz,2H),6.89(s,2H),6.81(s,1H),6.73(s,2H),5.19(m,4H),4.48(m,2H),3.99(s,6H),3.7-3.4(m,26H),3.34(s,3H),2.45(t,J=6.4Hz,2H),2.30(m,2H),1.81(m,2H),1.44(s,9H)。

[1293] 实施例35

[1294] chB38.1-IGN14轭合物的制备:

[1295] 在含有0.05M N-(2-羟基乙基)-哌嗪-N'-2-乙磺酸(HEPES)和2mM乙二胺四乙酸

(EDTA)的含水缓冲液(pH 8)中的浓度为2mg/m的chB38.1抗体溶液用10倍摩尔过量的IGN14-NHS在二甲基乙酰胺(DMA)中的溶液处理,以使DMA在缓冲液中的最终浓度为10%v/v。将反应混合物在室温搅拌120分钟,然后装载到之前在含有10mM组氨酸、250mM甘氨酸、1%蔗糖的含水缓冲液(pH 5.5)中达到平衡的Sphadex G25凝胶过滤柱(HiPrep™ 26/10脱盐柱GE#17-5087-01)上。收集含有轭合抗体的级分,集合以得到产物。将集合的样品用同一洗脱缓冲液透析过夜以进一步纯化产物。用分光光度法、使用确定的IGN-14(ε_{330}=15,231$M^{-1}cm^{-1}$和ε_{280}=26,864$M^{-1}cm^{-1}$)和chB38.1抗体(ε_{280nm}=204,000$M^{-1}cm^{-1}$)的消光系数测定最终轭合物。将每抗体分子3.3IGN14分子的平均值相连。

[1296] 实施例36

[1297] huMy9-6-IGN23轭合物的制备

[1298] 在含有0.05M N-(2-羟基乙基)-哌嗪-N'-2-乙磺酸(HEPES)和2mM乙二胺四乙酸(EDTA)的含水缓冲液(pH 8.5)中的浓度为2mg/mL的huMy9-6抗体溶液用12.5倍摩尔过量的IGN-07NHS在二甲基乙酰胺(DMA)、甘油和蔗糖中的溶液处理。DMA、甘油和蔗糖在缓冲液中的最终溶液分别为15%、5%和5%(v/v)。将反应混合物在室温搅拌120分钟,然后装载到之前在含有10mM组氨酸、250mM甘氨酸、1%蔗糖的含水缓冲液(pH 5.5)中达到平衡的Sphadex G25凝胶过滤柱(HiPrep™ 26/10脱盐柱GE#17-5087-01)上。收集含有轭合抗体的级分,集合以得到产物。使用Millipore离心过滤装置浓缩集合的样品,然后用同一洗脱缓冲液透析过夜以进一步纯化产物。

[1299] 用分光光度法、使用确定的IGN-23(e_{330}=15,231$M^{-1}cm^{-1}$和e_{280}=26,864$M^{-1}cm^{-1}$)和uMy9-6(e_{280nm}=206,460$M^{-1}cm^{-1}$)的消光系数测定最终轭合物。将每抗体分子2.2IGN23分子的平均值相连。

[1300] 实施例37

[1301] chB38.1-IGN27轭合物的制备

[1302] 在含有0.05M N-(2-羟基乙基)-哌嗪-N'-2-乙磺酸(HEPES)和2mM乙二胺四乙酸(EDTA)的含水缓冲液(pH 8.5)中的浓度为2mg/mL的chB38.1抗体溶液用12倍摩尔过量的IGN-07NHS在二甲基乙酰胺(DMA,5mM储备液)中的溶液处理,以使DMA在缓冲液中的最终浓度为15%v/v。将反应混合物在室温搅拌4小时,然后装载到之前在含有PBS的含水缓冲液(pH 7.4)中达到平衡的Sphadex G25凝胶过滤柱(HiPrep™ 26/10脱盐柱GE#17-5087-01)上。收集含有轭合抗体的级分,集合以得到产物。将集合的样品用同一洗脱缓冲液透析过夜以进一步纯化产物。

[1303] 用分光光度法、使用确定的IGN-27(e_{330}=15,231$M^{-1}cm^{-1}$和e_{280}=26,864$M^{-1}cm^{-1}$)和chB38.1抗体(e_{280nm}=204,000$M^{-1}cm^{-1}$)的消光系数测定最终轭合物。将每抗体分子2.9IGN27分子的平均值相连。

[1304] 实施例38

[1305] IGN游离药物和IGN轭合物的体外效能:

[1306] 所用的普遍操作:将IGN游离药物或IGN轭合物的样品加至96孔平底组织培养板,使用系列稀释液滴定以覆盖所需的摩尔范围。将抗原阳性(Ag+)或抗原阴性(Ag-)细胞以特定的细胞密度加至孔中,所采用的方式是:对于每种对应细胞系的每种药物浓度的样品一式三份。然后,将各板在37℃于5%CO_2的气氛下孵育4-5天,这取决于细胞系,COLO205(1,

000个细胞/孔)、Namalwa(3,000个细胞/孔)-4天;RH30(1,000个细胞/孔)、Ramos(10,000个细胞/孔)、KB(1,000个细胞/孔)-5天)。

[1307] 在孵育期结束时,然后使用基于WST的细胞成活力测定法来测定细胞毒性效能,通过用WST显色(2-7小时)来测量存活细胞。测量每个孔的吸光度,并且对每种浓度的细胞的存活分数作图以揭示(轭合物的)细胞毒性和抗原特异性。

[1308] 针对选自COLO 205、NB-4、LOVO、Namalwa、RH30、Ramos、KB、和/或LOVO的一组人癌细胞系,测量IGN游离药物的细胞毒性以及IGN轭合物的效能和特异性。结果示于图51-58。

[1309] 图51:表显示IGN游离药物针对多个细胞系的高效能(以nM计)。一般而言,发现IGN游离药物针对这组细胞系在低皮摩尔范围内是有效的。

[1310] 图52:(A)发现chB38.1-IGN13轭合物(3.8IGN/Ab)针对COLO205(Ag+)细胞在低皮摩尔水平是有效的,并且当用1M未轭合的chB38.1抗体封闭抗原结合部位时,活性显著减少(0.26nM),表明此类轭合物的高特异性(>260倍)。(B)在克隆原性测定中发现chB38.1-IGN13轭合物(3.8IGN/Ab)针对LOVO(Ag+)细胞在低皮摩尔水平(0.002pM)是有效的。

[1311] 图53:发现huMy9-6-IGN13轭合物(3.4IGN/Ab)针对NB-4(Ag+)细胞(0.077nM)在皮摩尔水平是有效的,并且当用1μM huMy9-6抗体封闭抗原结合部位时,活性显著减少(0.26nM),表明该轭合物是特异性的。

[1312] 图54:(A)发现chB38.1-IGN14轭合物(3.1IGN/Ab)针对COLO205(Ag+)细胞在亚皮摩尔水平是有效的,并且对Namalwa(Ag-)细胞的活性(0.9nM)显著减少,表明该轭合物的高特异性(>900倍)。(B)发现chB38.1-IGN14轭合物(2.6IGN/Ab)对LOVO(Ag+)细胞非常有效(0.012nM),并且对Namalwa(Ag-)细胞的活性(>3.0nM)显著减少,表明该轭合物的高特异性(>250倍)。

[1313] 图55:发现huMy9-6-IGN14轭合物(3.3IGN/Ab)对NB-4(Ag+)细胞高度有效(0.033nM),并且对Namalwa(Ag-)细胞的活性(0.6nM)显著减少,表明该轭合物的高特异性。

[1314] 图56:(A)发现chB38.1-IGN23轭合物(2.5IGN/Ab)针对LOVO(Ag+)细胞在皮摩尔水平是有效的(0.063nM),并且对Namalwa(Ag-)细胞的活性(>3.0nM)显著减少,表明该轭合物的高特异性。(B)发现chB38.1-IGN23轭合物(2.0IGN/Ab)对COLO 205(Ag+)细胞在皮摩尔水平(0.006nM)是有效的,并且当用1μM chB38.1封闭抗原结合部位时,活性显著减少(2.5nM),表明该轭合物是特异性的。

[1315] 图57:发现chB38.1-IGN29轭合物(2.8IGN/Ab)针对COLO 205(Ag+)细胞在皮摩尔水平(0.410nM)是有效的,并且当用1μM chB38.1封闭抗原结合部位时,活性显著减少(18nM),表明该轭合物是特异性的。

[1316] 实施例39

[1317] chB38.1-IGN14轭合物在具有COLO 205肿瘤的裸小鼠中的体内效力:

[1318] 在此项研究中,研究chB38.1-IGN14在具有COLO 205肿瘤(一种人结肠癌模型)的雌性裸小鼠中的抗肿瘤活性。COLO 205肿瘤细胞,2×10^6个细胞/小鼠以0.1mL/小鼠的体积皮下接种在5周龄雌性无胸腺裸小鼠的右肩之上的面积。肿瘤细胞接种后8天,通过肿瘤体积将小鼠随机分组(每组n=6)。在随机化那天开始治疗,各组包括给药PBS(200μL/注射)给药的对照组、裸露chB38.1抗体(2.8mg/kg)、非靶向chKTI-IGN14(50μg/kg)轭合物和chB38.1-IGN14(50μg/kg IGN14剂量;2.5mg/kg抗体剂量)。按每周时间表施用所有治疗两

次(第8和15天,细胞接种后)。箭头表示接种后给药时间。所有治疗的耐受性良好,平均体重损失与PBS对照小鼠中观察到的体重损失相当。示出中值肿瘤体积与时间的关系(图58),数据表明chB38.1-IGN14轭合物的抗肿瘤活性。非靶向抗体和裸露抗体均示出未优于用媒介物对照所观察到的活性,表明用chB38.1-IGN-14轭合物所观察到的抗肿瘤活性是抗原特异性的。

[1319] 实施例40

[1320] 图59示出了chB38.1-IGN14(脱糖基化抗体)的质谱。峰为标记的D1-D7显示每抗体附接的IGN14分子的数目。将每抗体IGN14分子的平均数计算为3.5(通过UV-vis计算的匹配药物负载率)。

IBD 单体 **8** 的合成路线

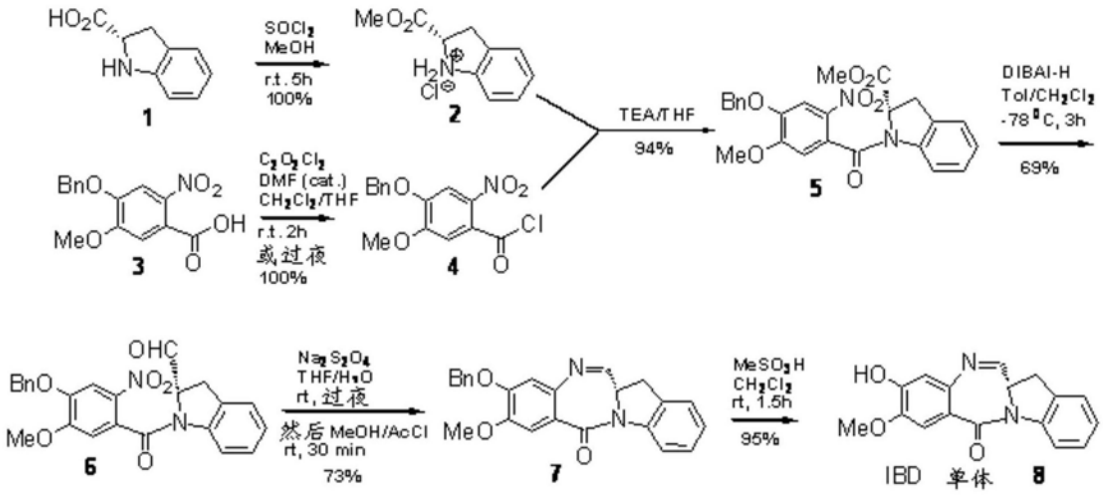


图1

OBD 单体 **14** 的合成路线

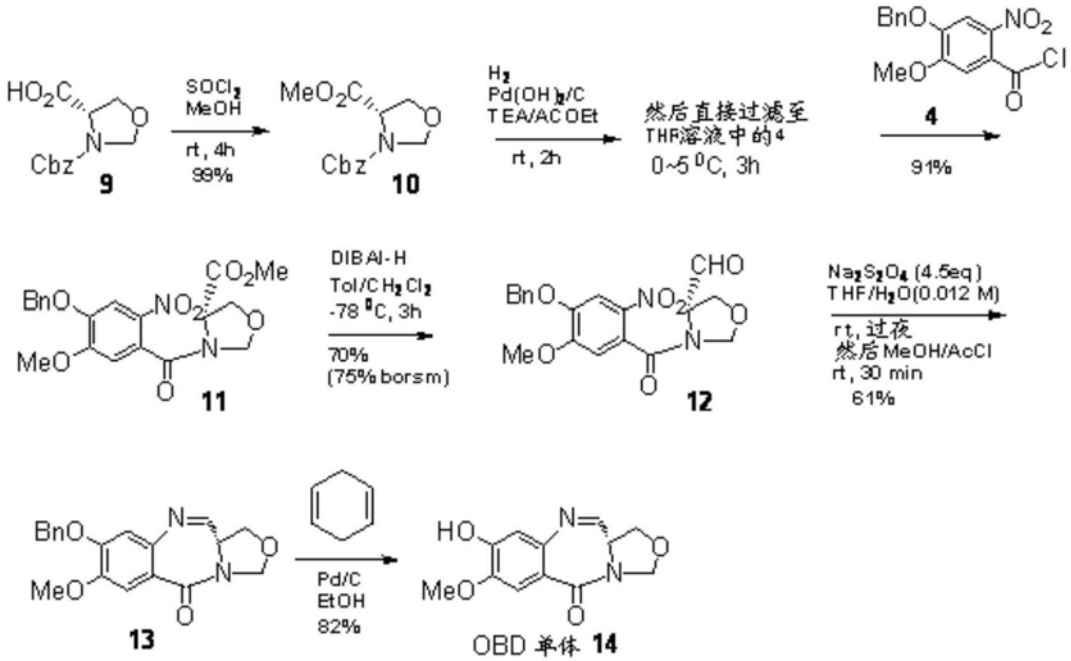


图2

二聚体 **15(IGN-09)**的合成路线

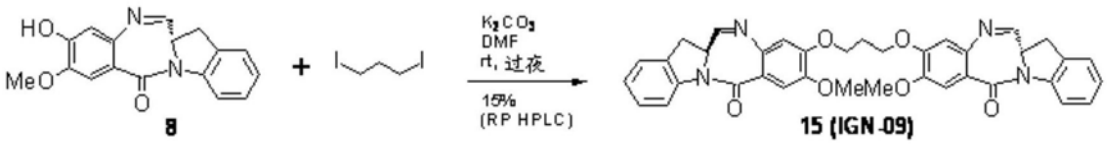


图3

二聚体 **18(IGN-01)**的合成路线

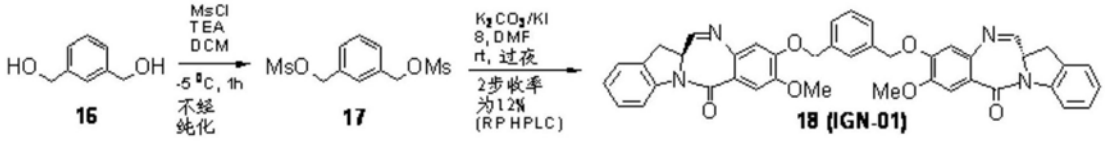


图4

二聚体 **19(IGN-02)**的合成路线

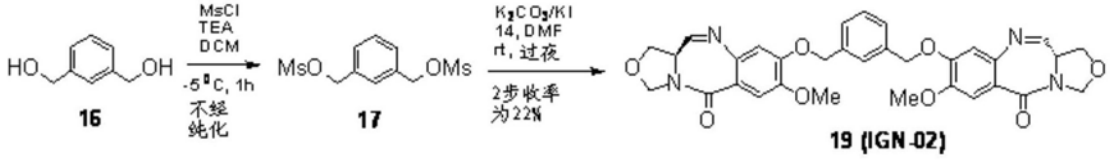


图5

连接体的合成路线

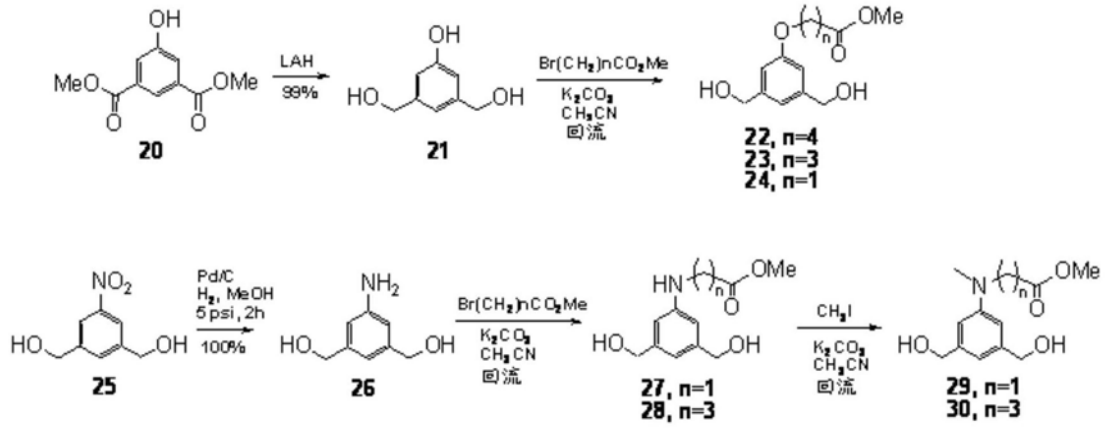


图6

二聚体 34、35、36、39 和 40(IGN-03~07)的合成路线

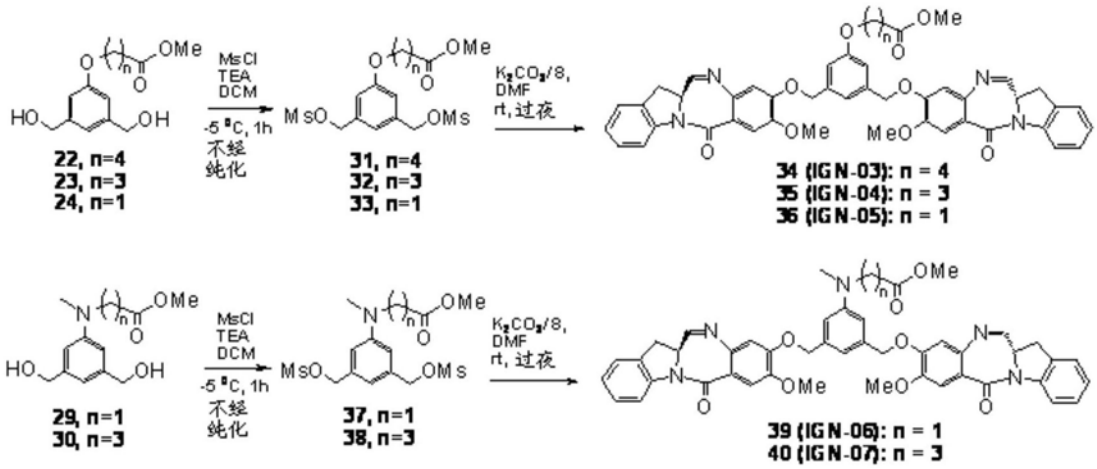


图7

NHS 酯 **43**、**44** 和 **46** 的合成路线

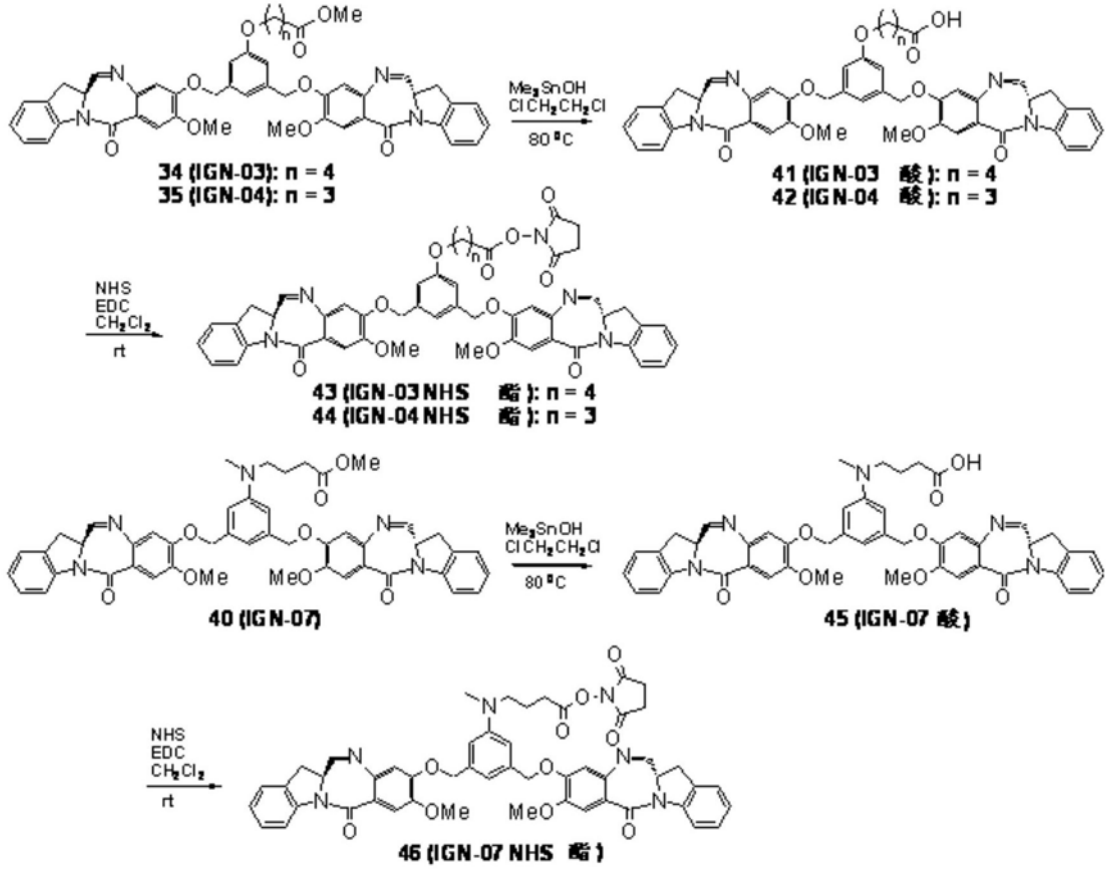


图8

硫醇 **49** 的合成路线

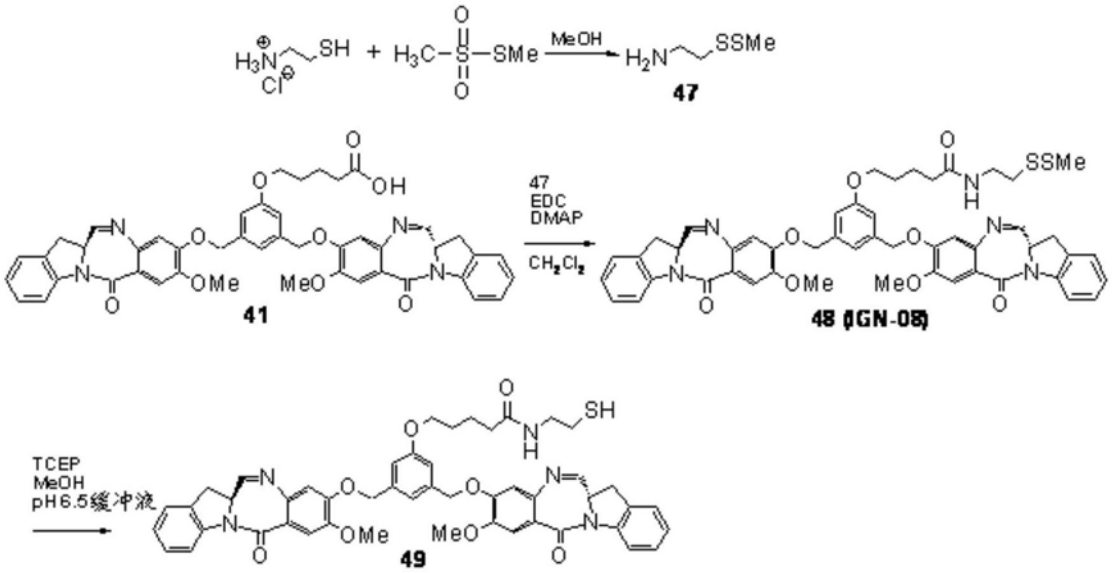


图9

二硫化物 **51** 的合成路线

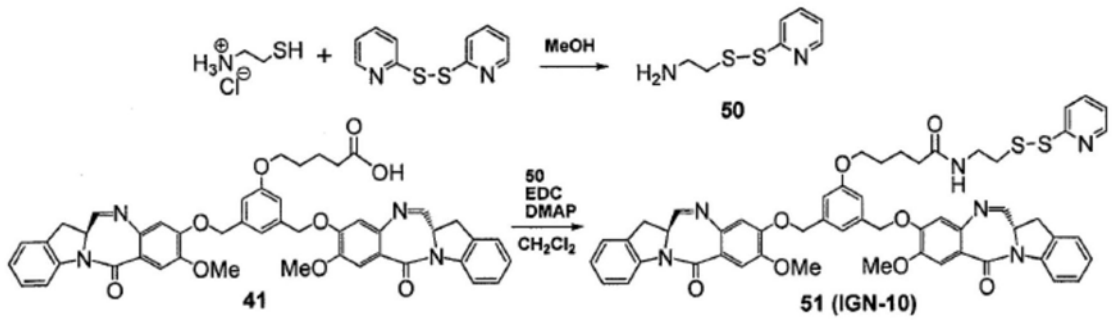


图10

B 环修饰的单体 **58** 的合成路线

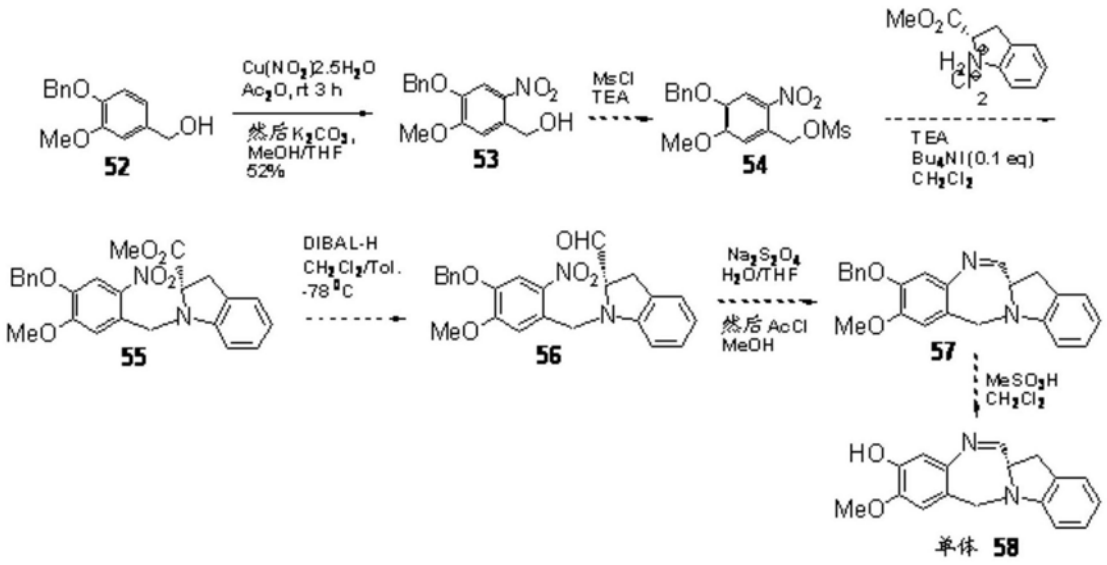


图11

异吲哚啉并苯并二氮杂䓬单体 **66** 的合成路线

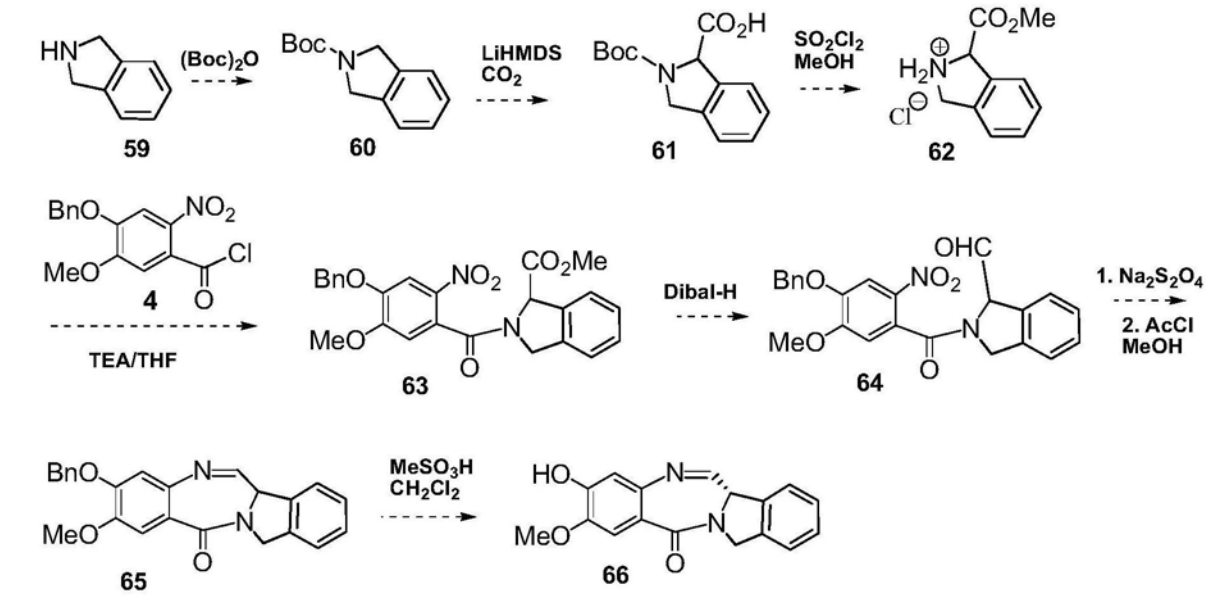


图12

具有连接到吲哚啉部分的连接体的化合物 **82** 的合成路线

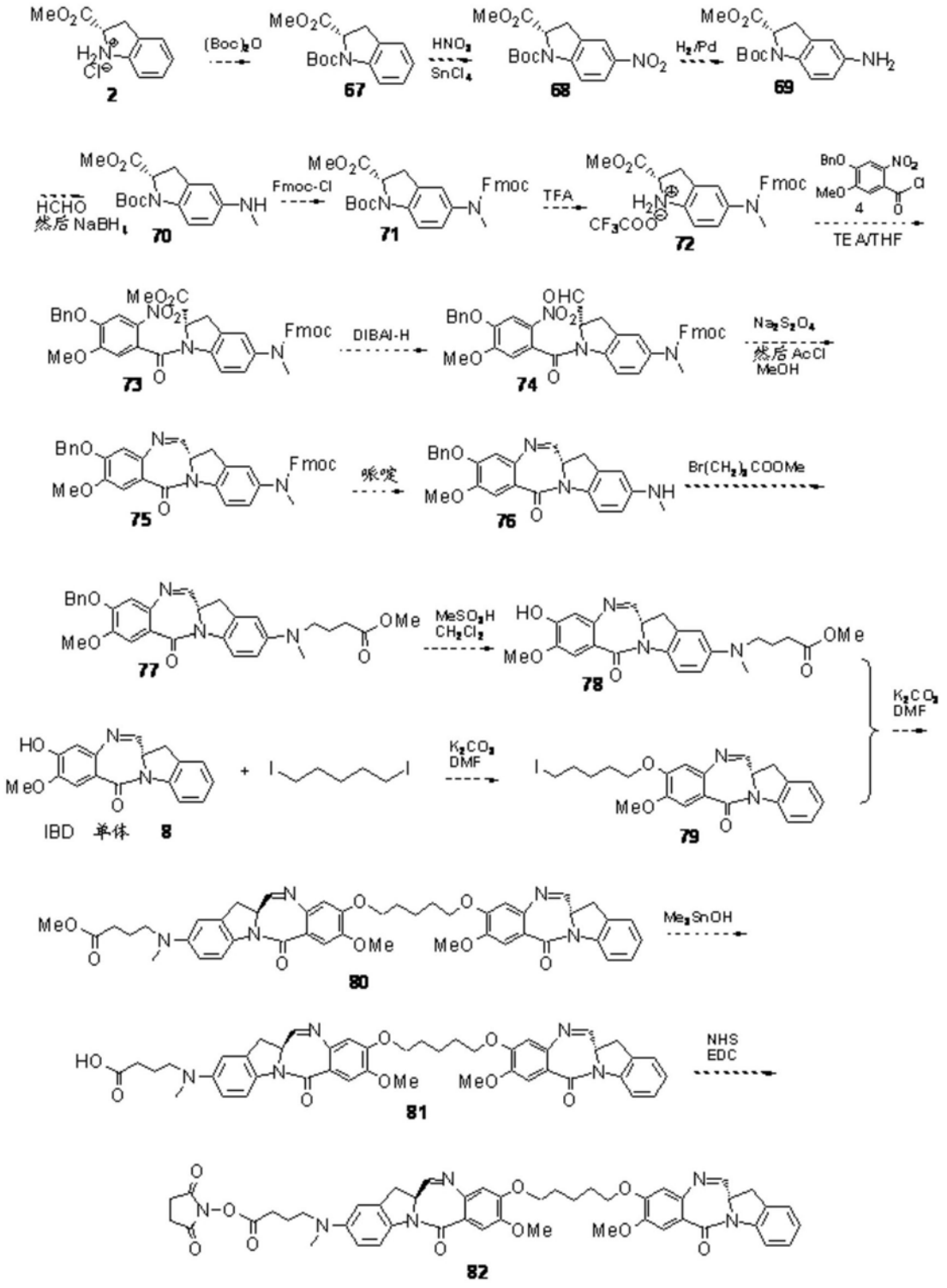


图13

二聚体 **87**、**88**、**92**、**96** 和 **100** 在直链连接体上含有$(PEG)_n$部分的合成路线

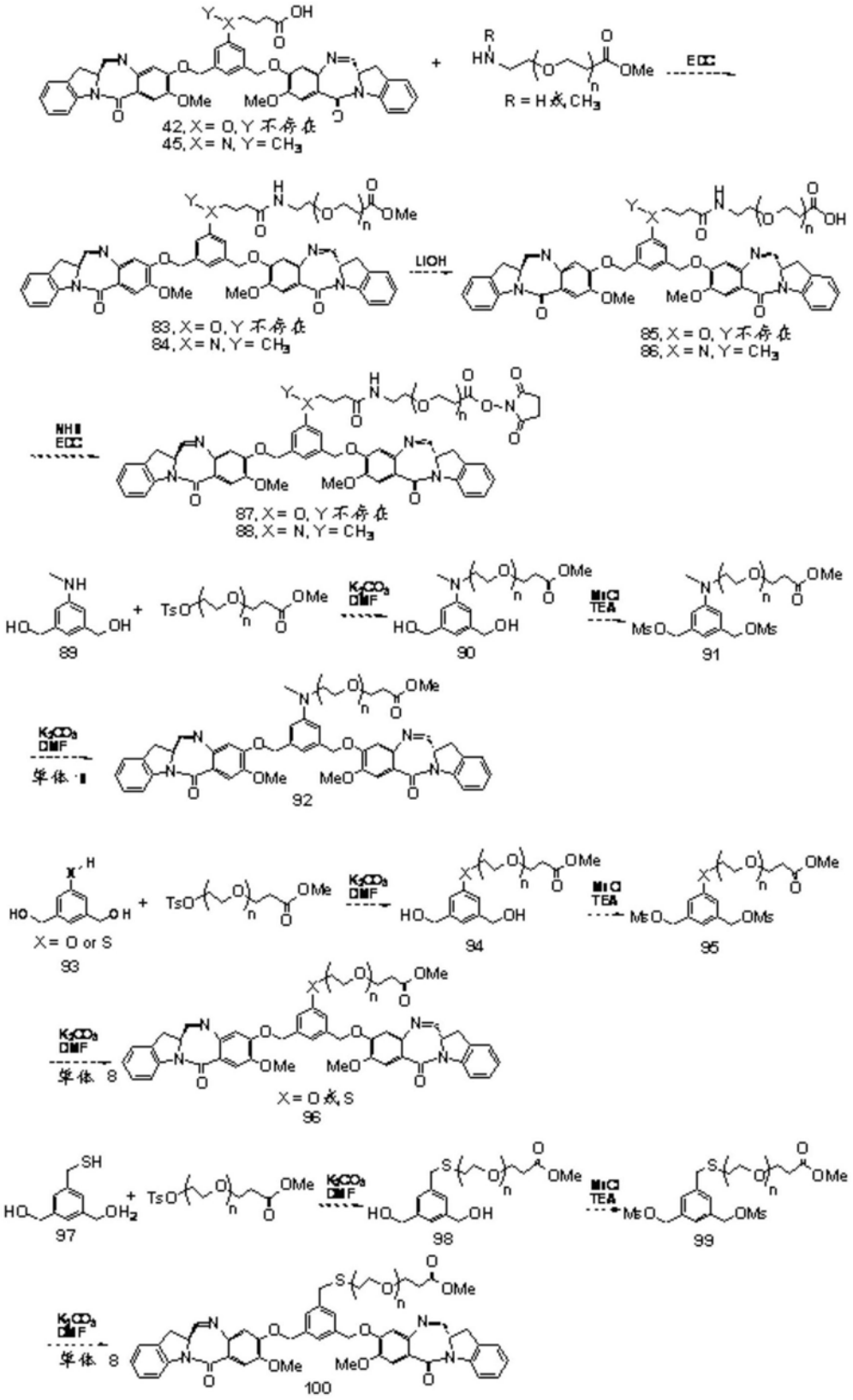


图14

在支链连接体上含有$(PEG)_n$ 部分的二聚体 **105** 和 **110** 的合成路线

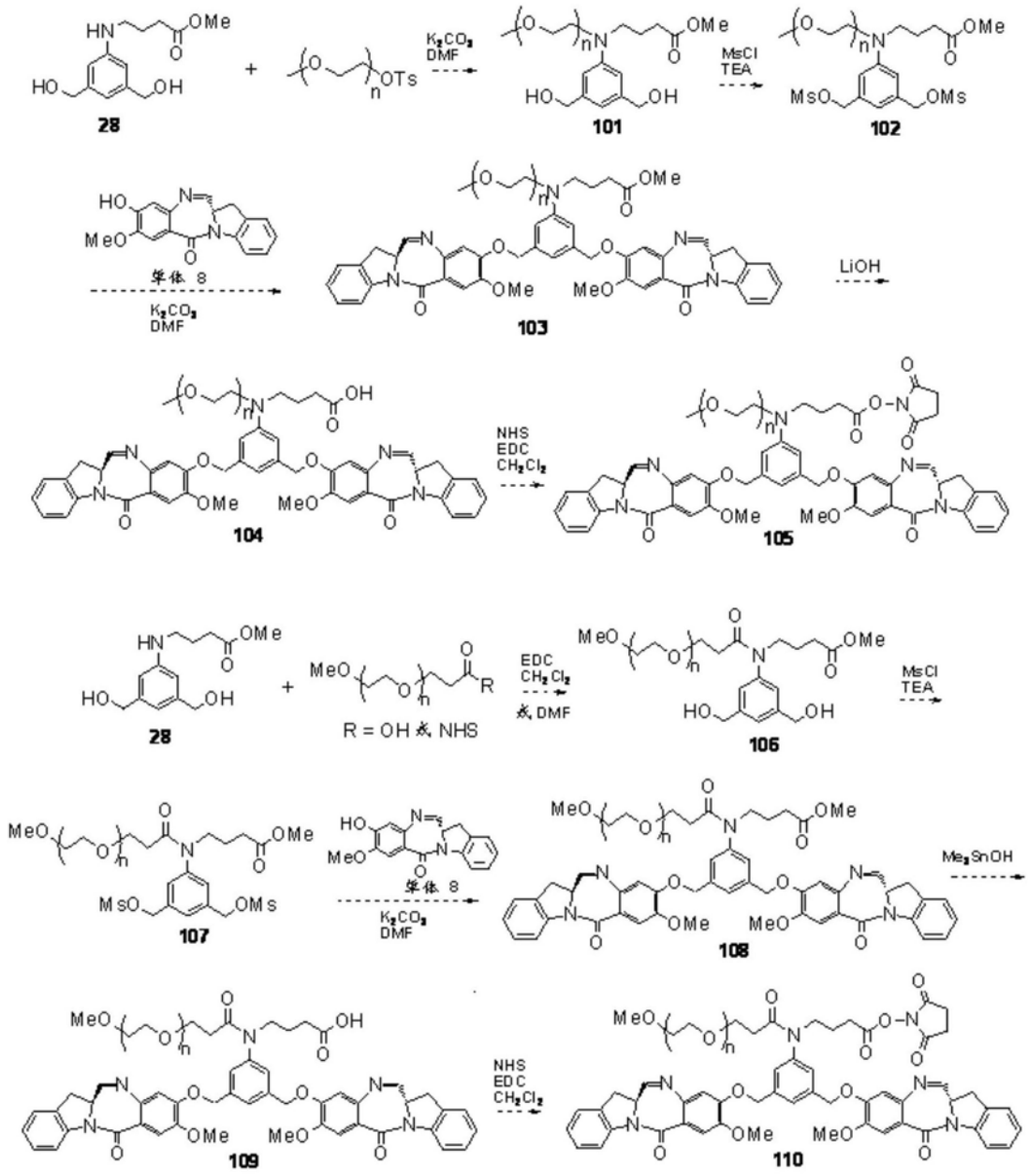


图15

化合物 **115**、**119** 和 **121** 的合成路线

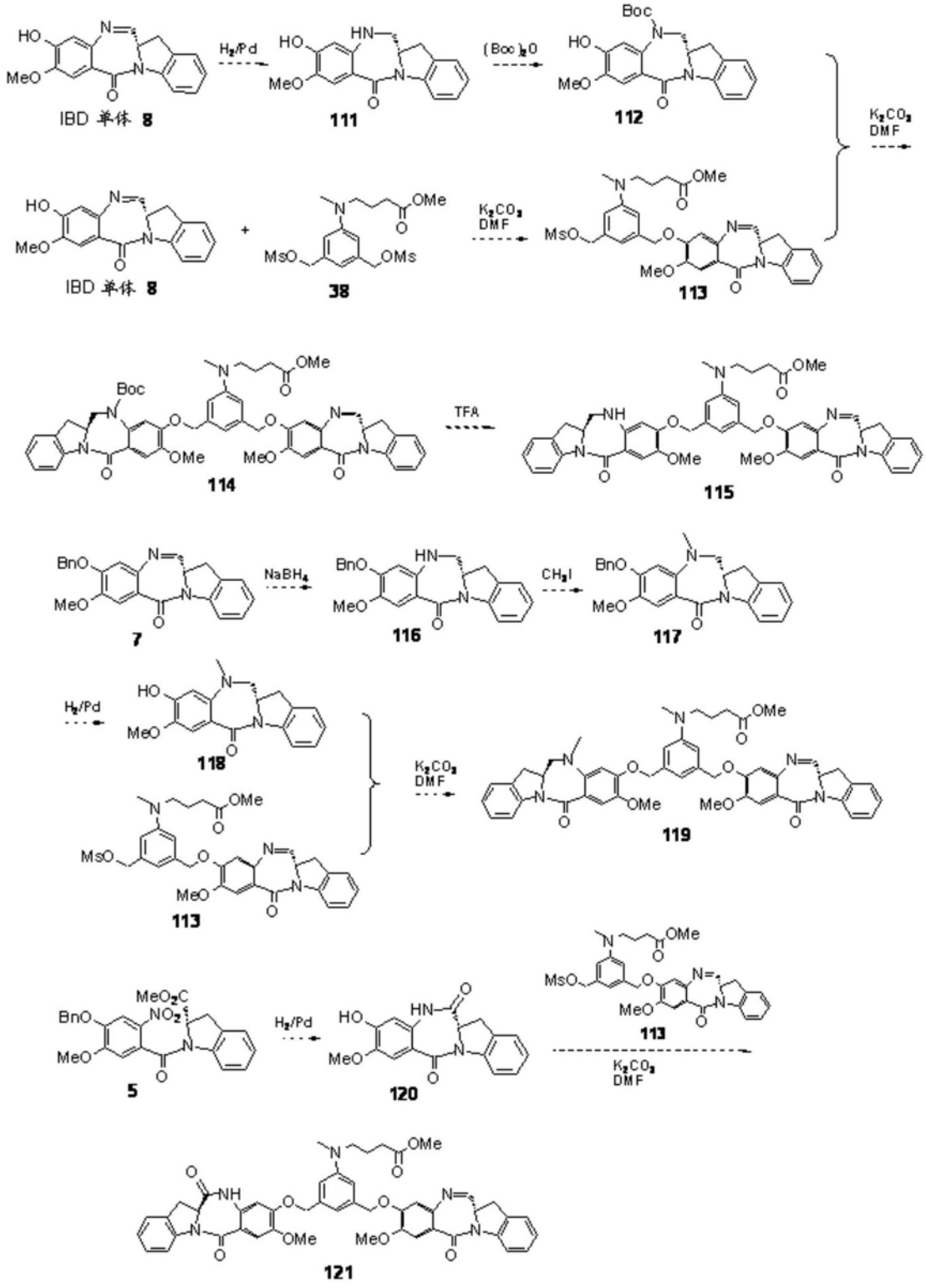


图16

化合物 **127(IGN-11)**的合成路线

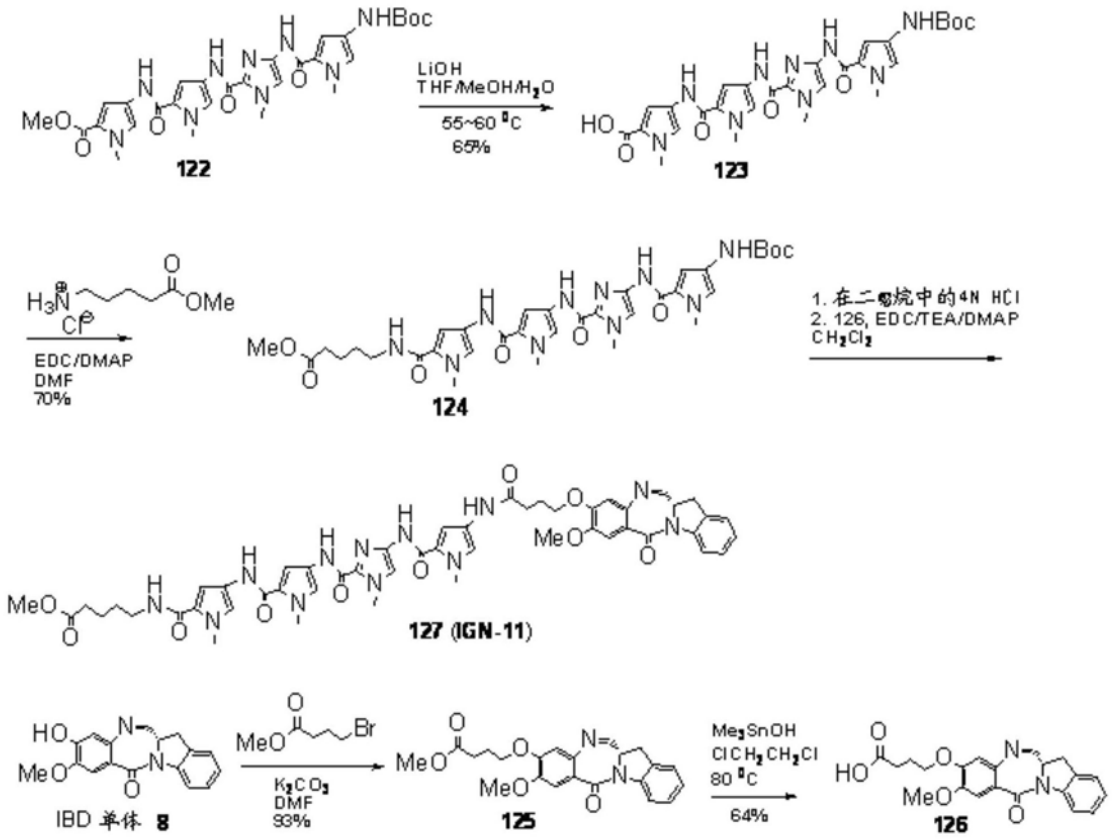


图17

聚吡咯/多咪唑的组装

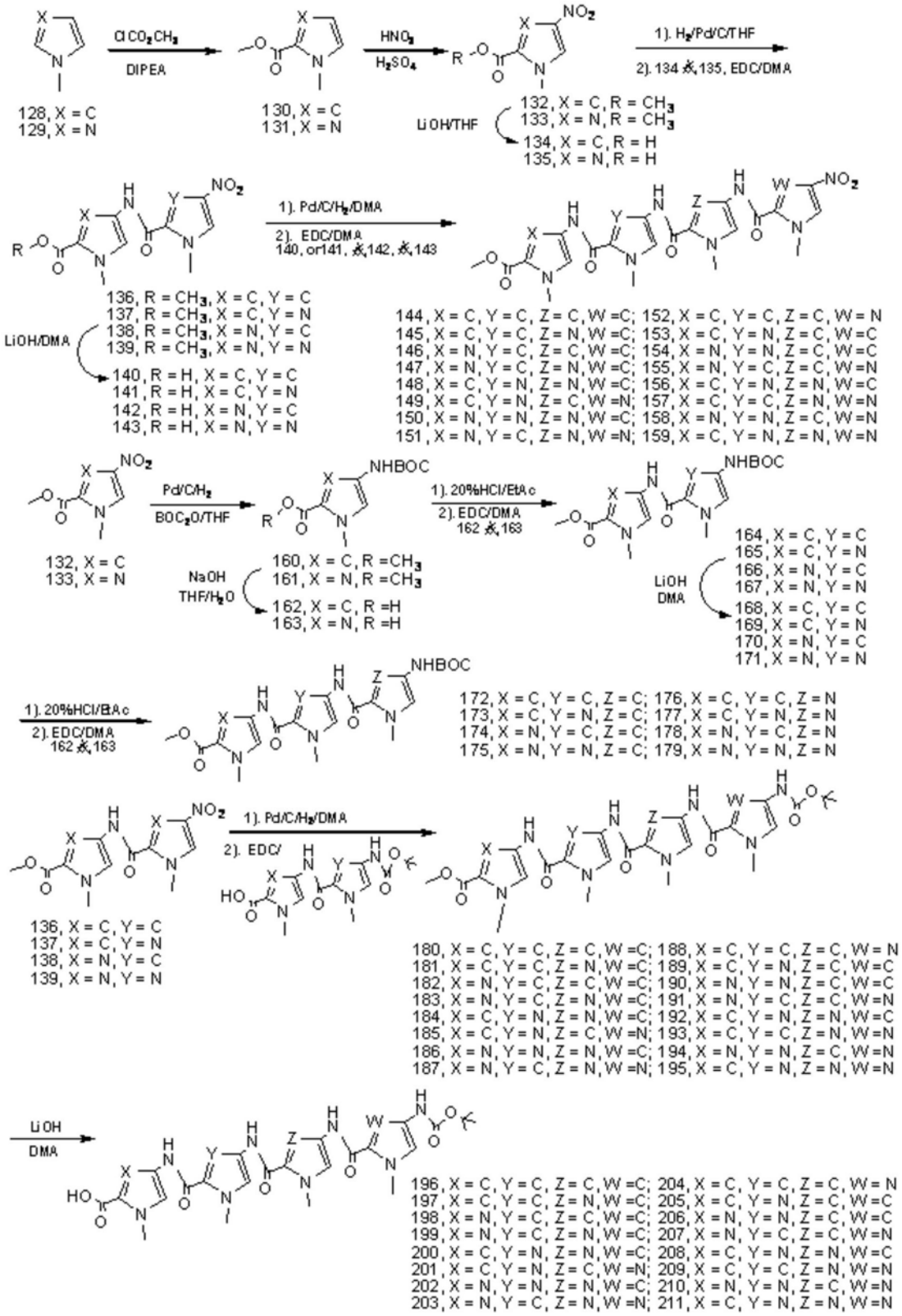


图18

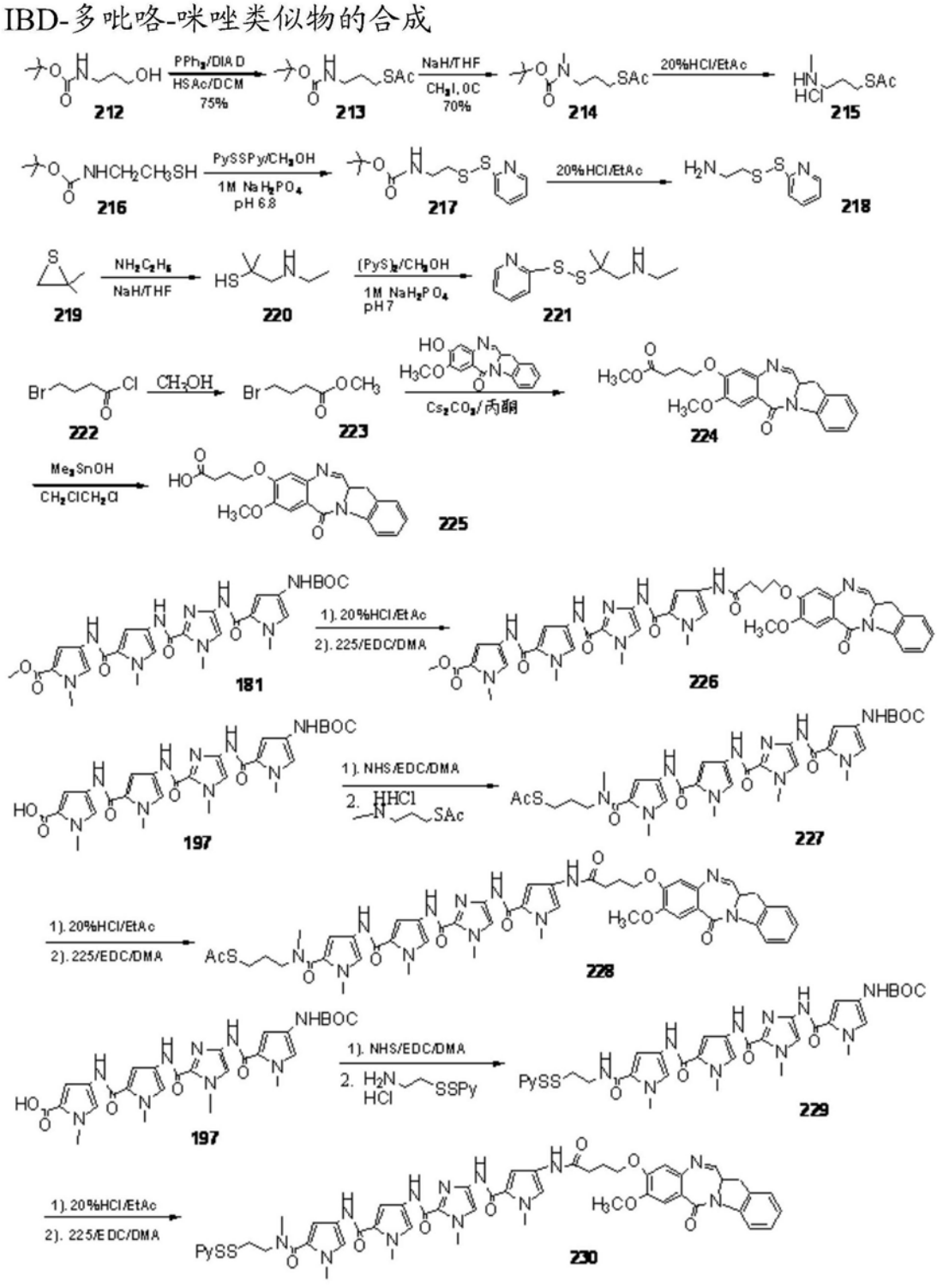

IBD-多吡咯-咪唑类似物的合成
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
181
226
197
227
228
197
229
230

图19

通过腙键轭合到抗体的哌啶并苯并二氮杂䓬的合成

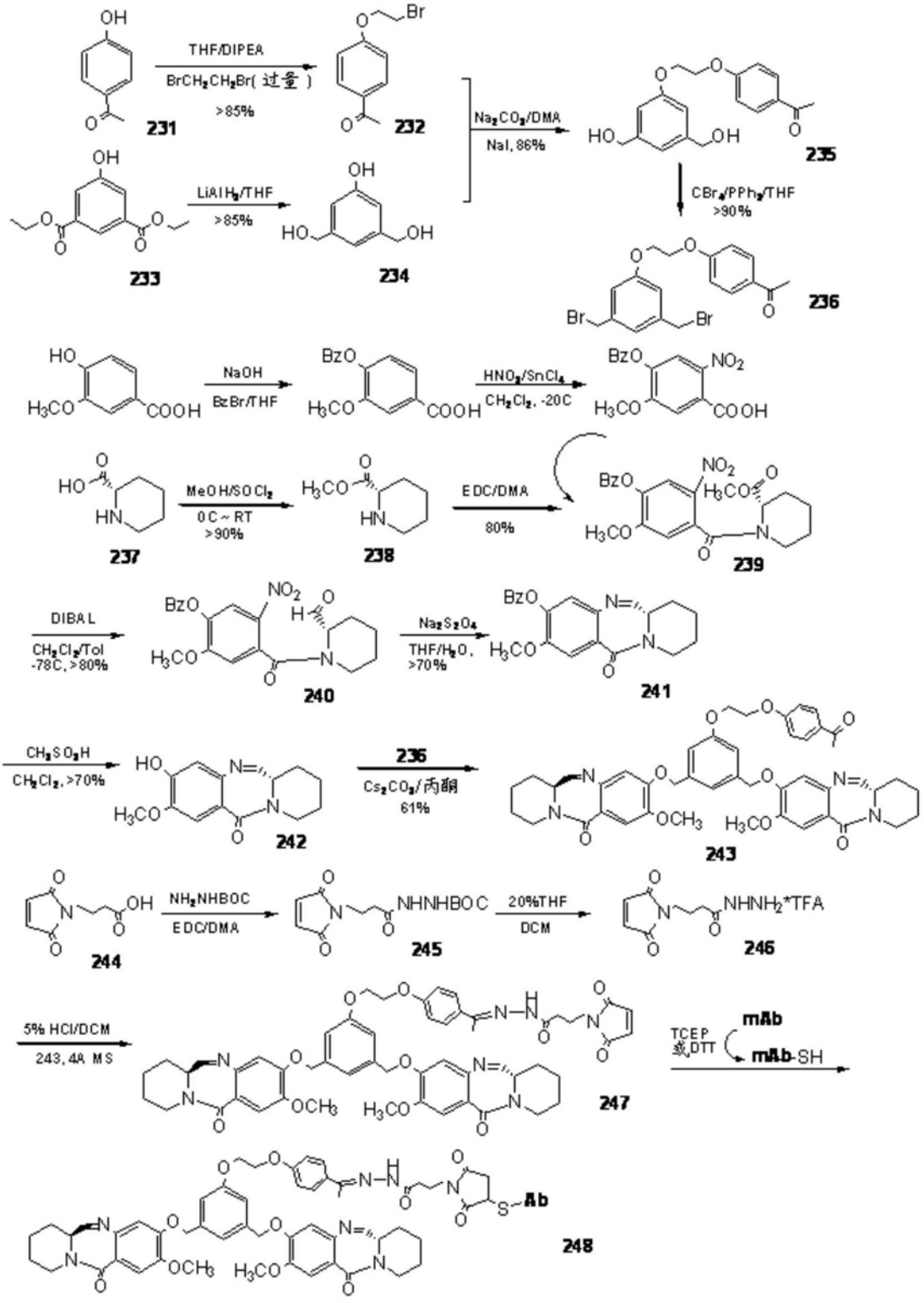


图20

针对 COLO205(Ag+)、COLO205 MDR(Ag+)和 Namalwa 细胞(Ag-)的 muB38.1-IGN-03 的抗增殖活性

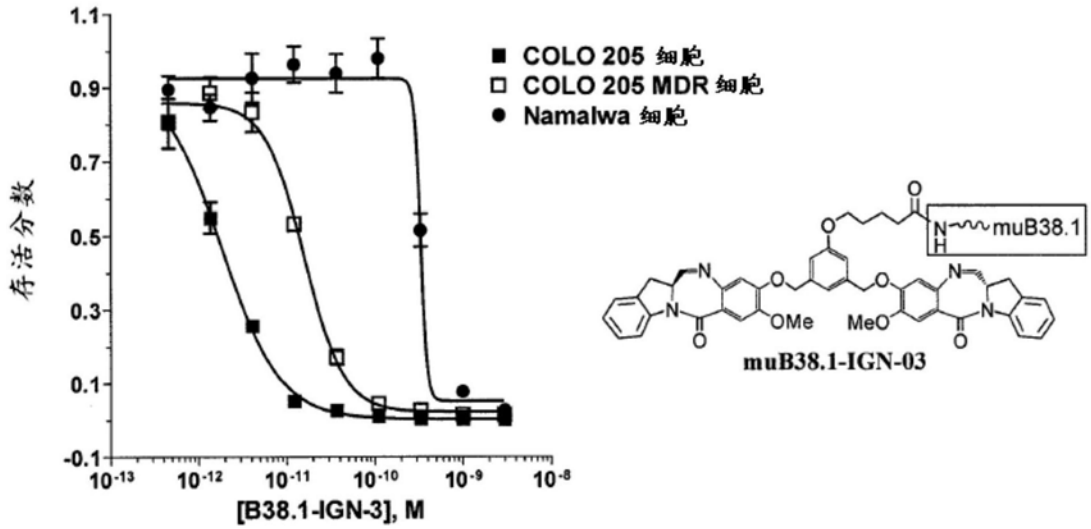


图21

在使用和未使用 M 1 huN901 封闭抗原结合位点的情况下、针对 RH-30(Ag+)细胞的 huN901-IGN-03 的抗增殖活性

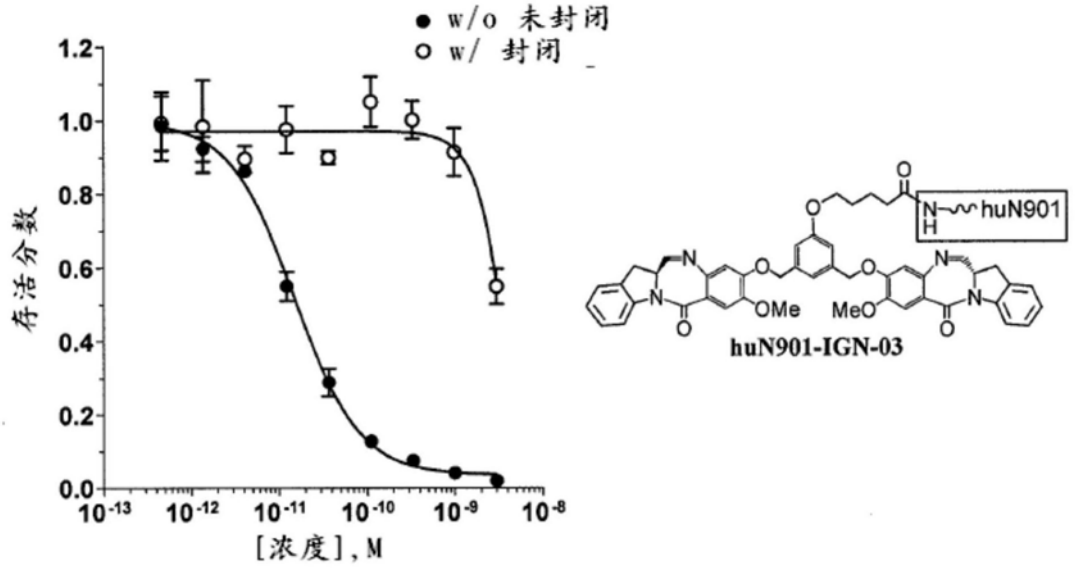


图22

针对 RH-30(Ag+)细胞的 huN901-IGN-07 的抗增殖活性。以每种抗体(D/A)三种不同比率的细胞毒素剂对轭合物进行测试。

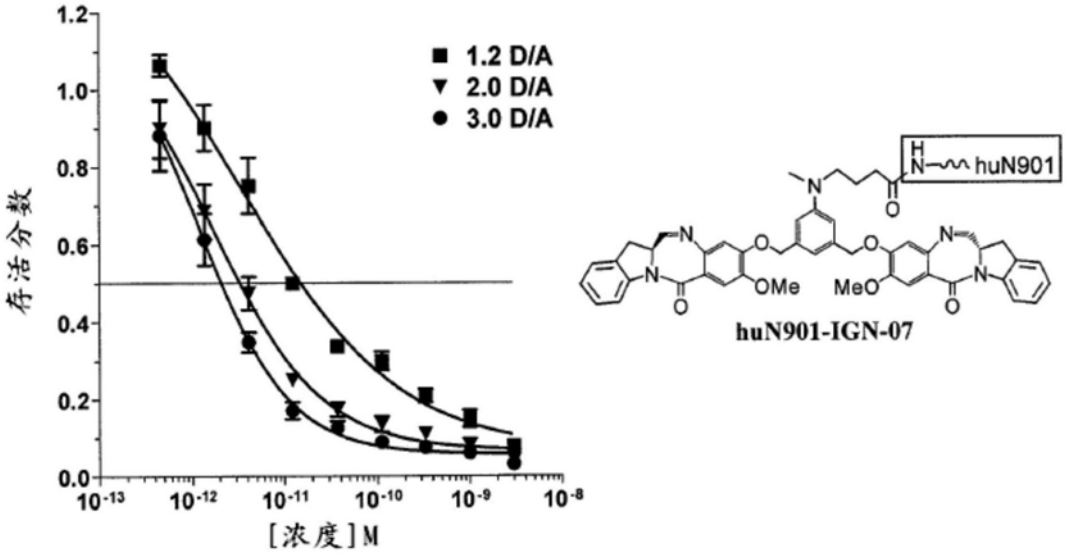


图23

针对 Molp-8(Ag+)细胞的 huN901-IGN-07(1.2-3.0 D/A)和 huN901-IGN-03(1.7 D/A)的抗增殖活性。

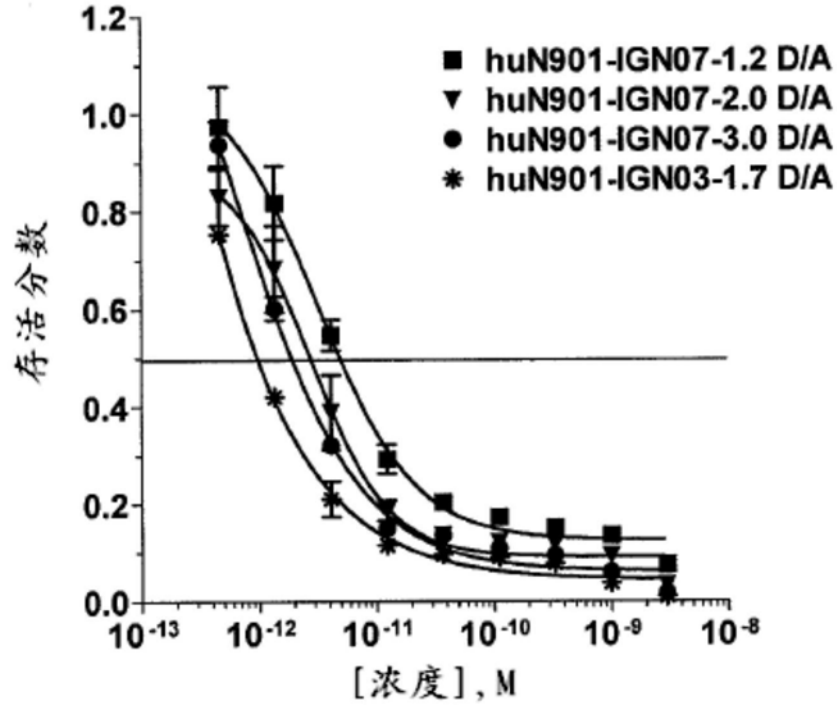


图24

针对 Namalwa(Ag-)细胞的 huN901-IGN-07(1.2-3.0 D/A)和 huN901-IGN-03(1.7 D/A)的抗增殖活性

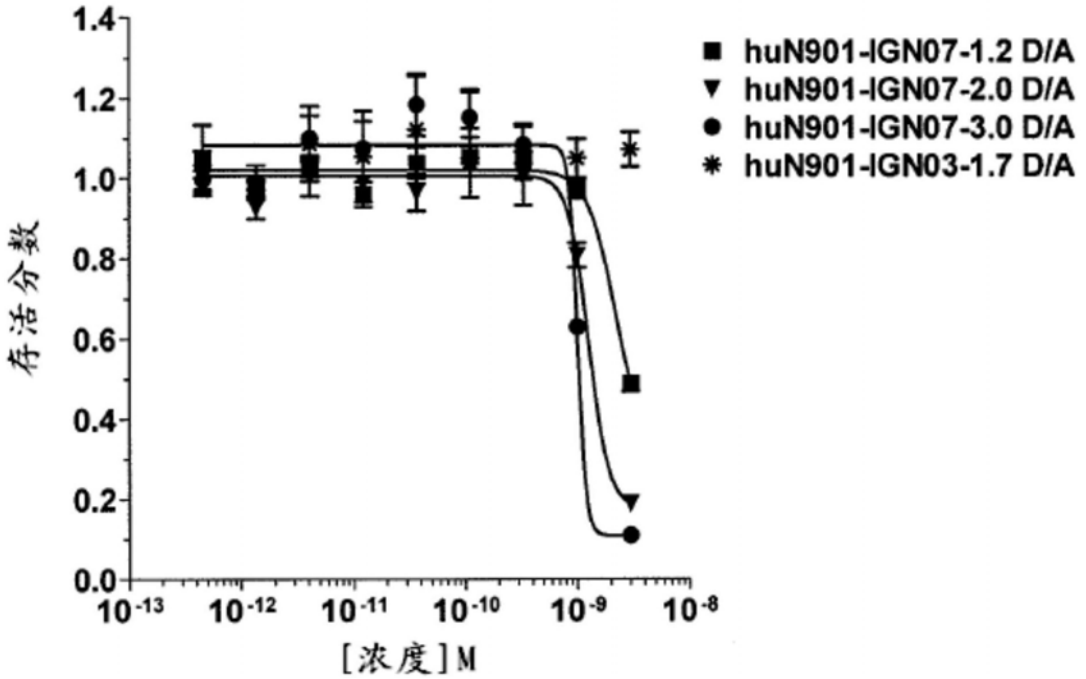


图25

针对 COLO 205(Ag+)和 Ramos(Ag-)细胞的 muB38.1-IGN-10 的抗增殖活性。

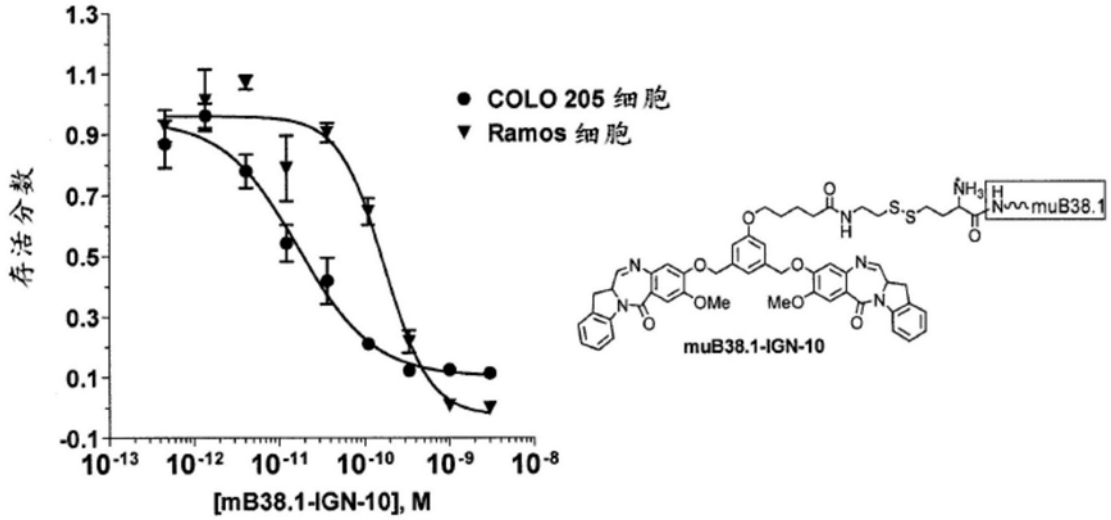


图26

在具有 Molp-8 肿瘤的裸小鼠中单次 iv 给药 huN901-IGN-07 的肿瘤消退数据

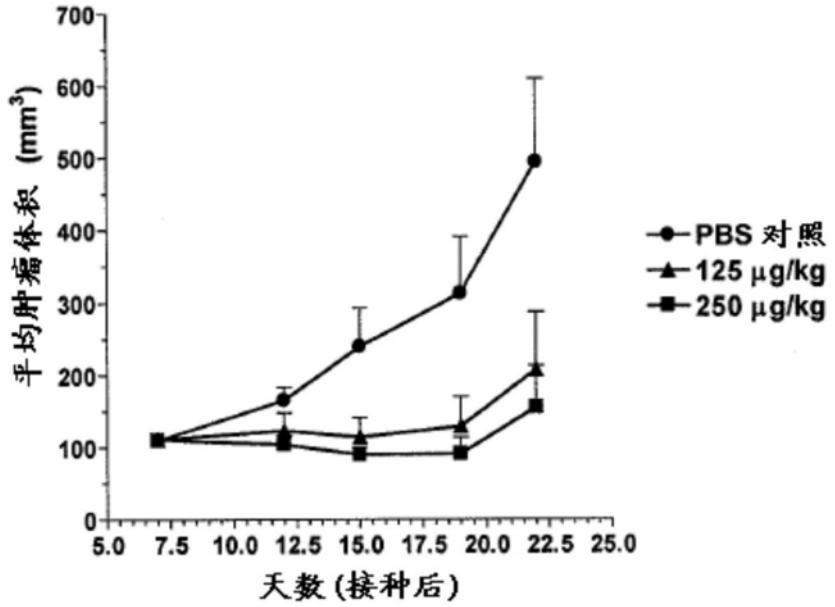


图27

A) 反相离子对色谱法显示，IGN-1 与在相反链上含有鸟嘌呤的 12 碱基对双链 DNA 探针之间的共价加成物的时间依赖性形成。B) DNA 探针 和 IGN-1-DNA 加成物的 UV-Vis 光谱。

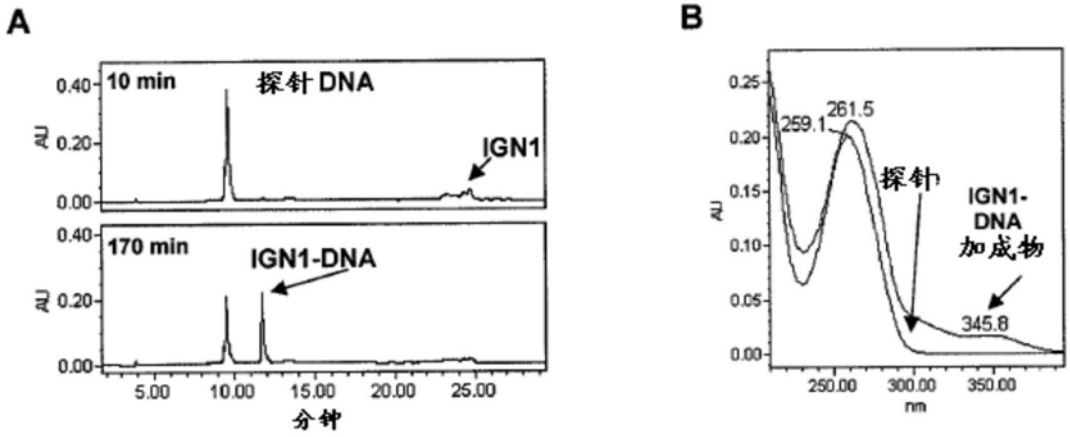


图28

IGN1-DNA 加成物形成的初始速率取决于 DNA 序列。IGN1 与含有内部 GATC 基序的 DNA 的结合比与具有 GTAC 序列的 DNA 的结合更快。用脱氧肌苷(I)(不含有 C-2 氨基)取代以代替鸟嘌呤(G)的 DNA 探针显示未与 IGN-1 反应。

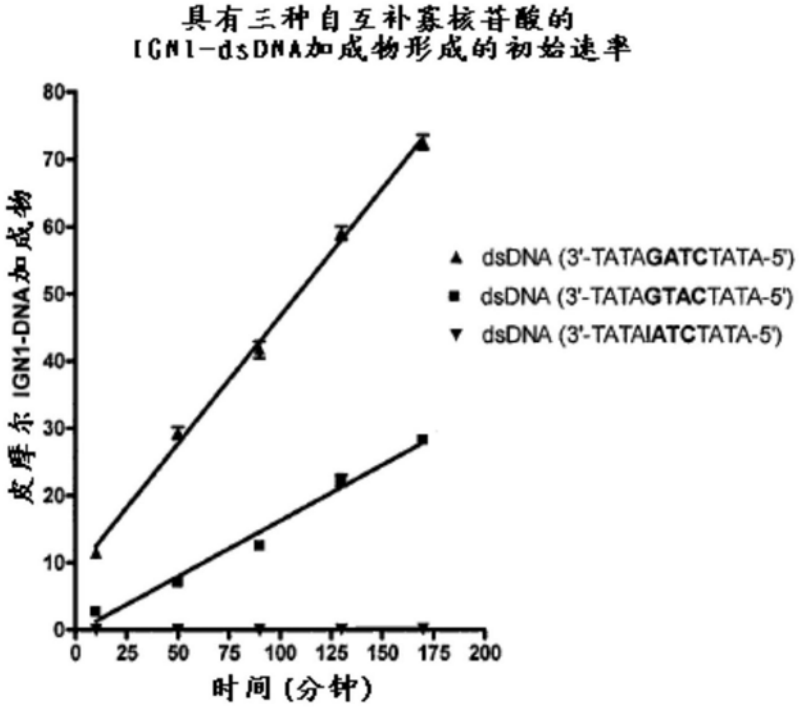


图29

测试 IGN-01、IGN-02 和 IGN-09 与双链自互补探针 DNA 的结合与交联

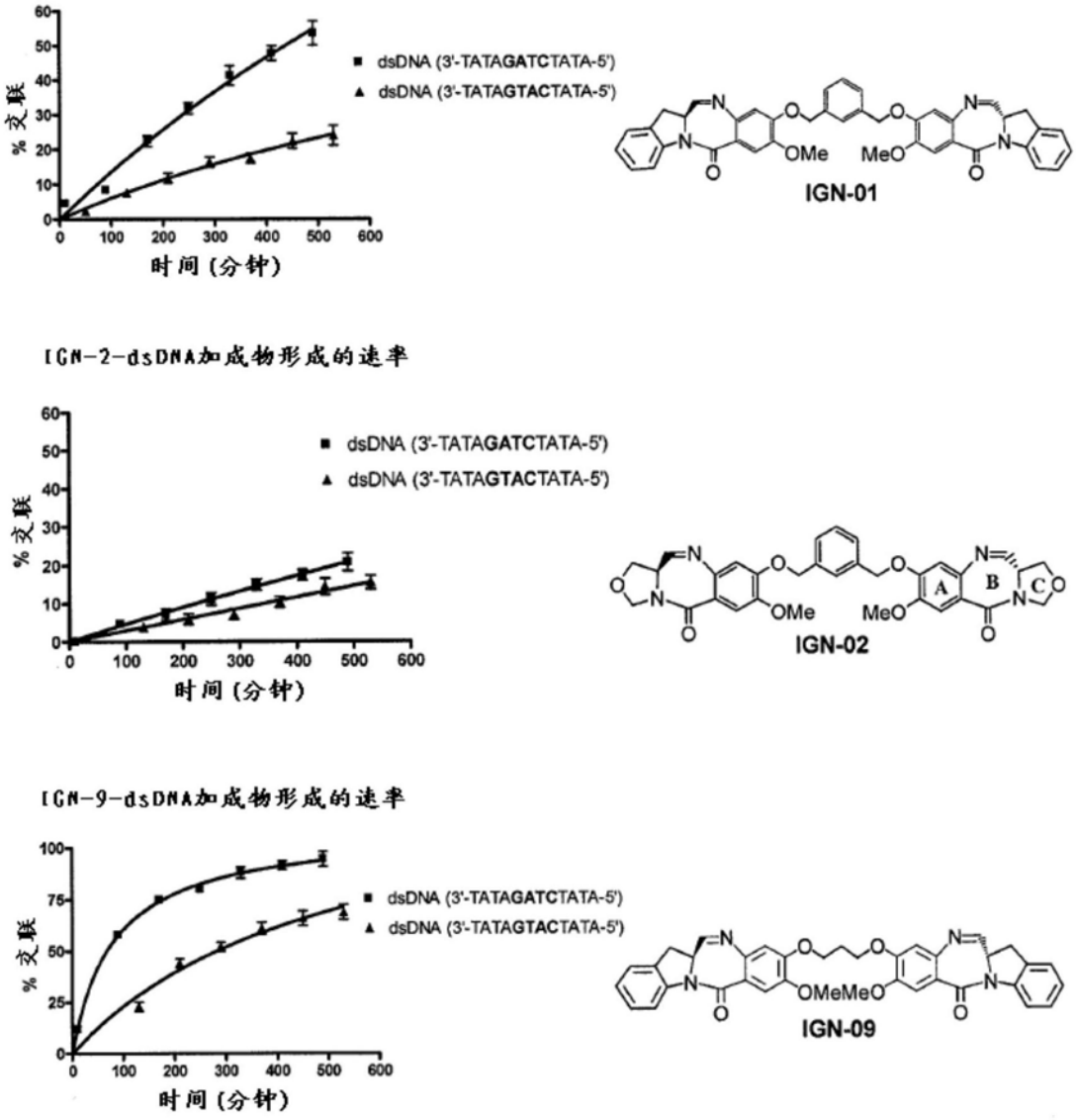


图30

表 1. 吲哚啉并苯并二氮杂䓬二聚体和噁唑烷并苯并二氮杂䓬二聚体对多种癌细胞系的抗增殖活性。在 5 天连续照射测定中显示所测试的各种化合物的 IC50 值(pM)。

二聚体	IC50s (pM)										
	HL60/ATCC	Ramos	MDA-MB-231	SK-MEL-28	BJAB	Molt-4	RH-30	COLO 205	COLO 205-MDR	Namalwa	Namalwa-MDR
IGN-01	<0.46	<0.46	1.4	44							
IGN-02	450	67	1400	4700							
IGN-03	3.2	0.64	16	14							
IGN-04					1.9	2.7					
IGN-05		0.65			1.0		3.9				
IGN-06		1.5					3.7			4.2	
IGN-07		1.9					5.9			4.7	
IGN-08		5.8					22			7.0	
IGN-09		<0.46					7.8	14	61	1.4	13

图31

表 2. 在具有和不具有连接体的情况下、二聚体的 IC50 的比较

Dimers	IC50s (pM)
	Ramos细胞
IGN-01	<0.46
IGN-09	<0.46
IGN-03	0.64
IGN-05	0.65

图32

吲哚啉并苯并二氮杂䓬(IBD)二聚体的合成路线

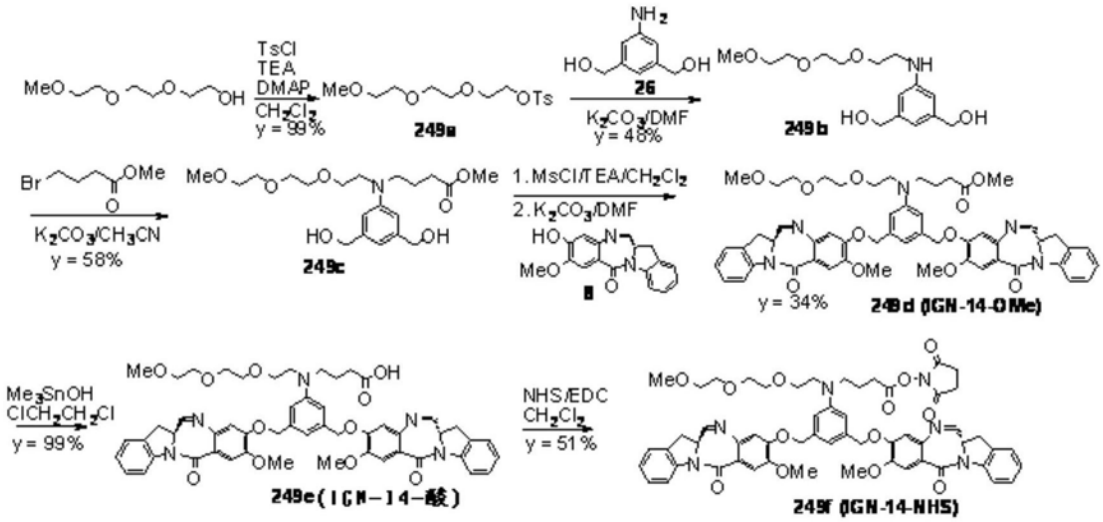


图33

IBD 二聚体的酯的合成路线

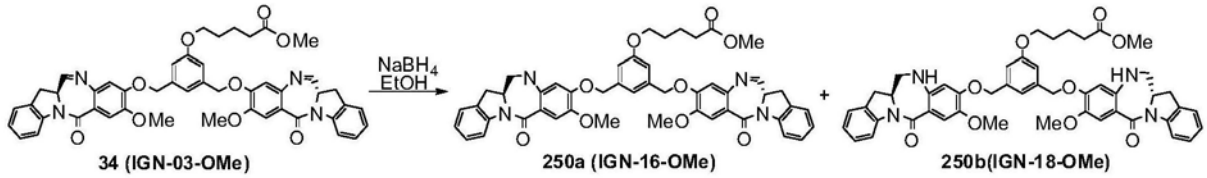


图34

二聚体 **251b(IGN-17-OMe)**的合成路线

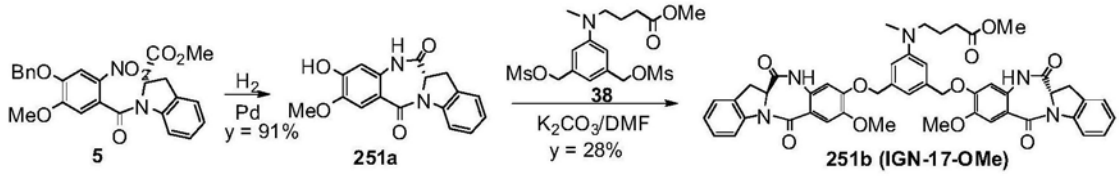


图35

二聚体 **252b(IGN-19-OMe)**的合成路线

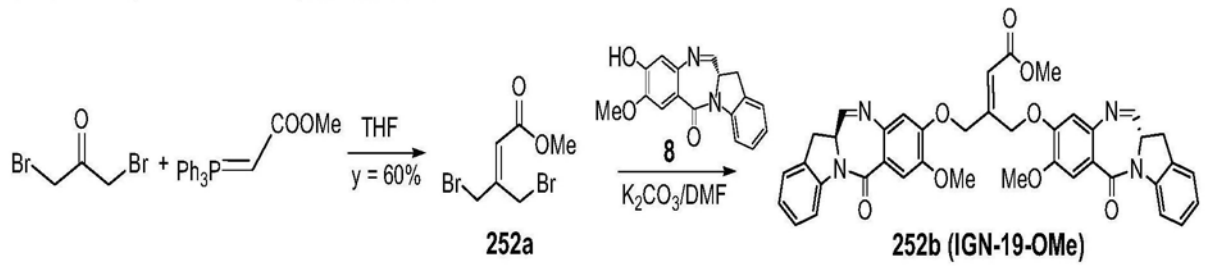


图36

可连接二聚体的合成路线

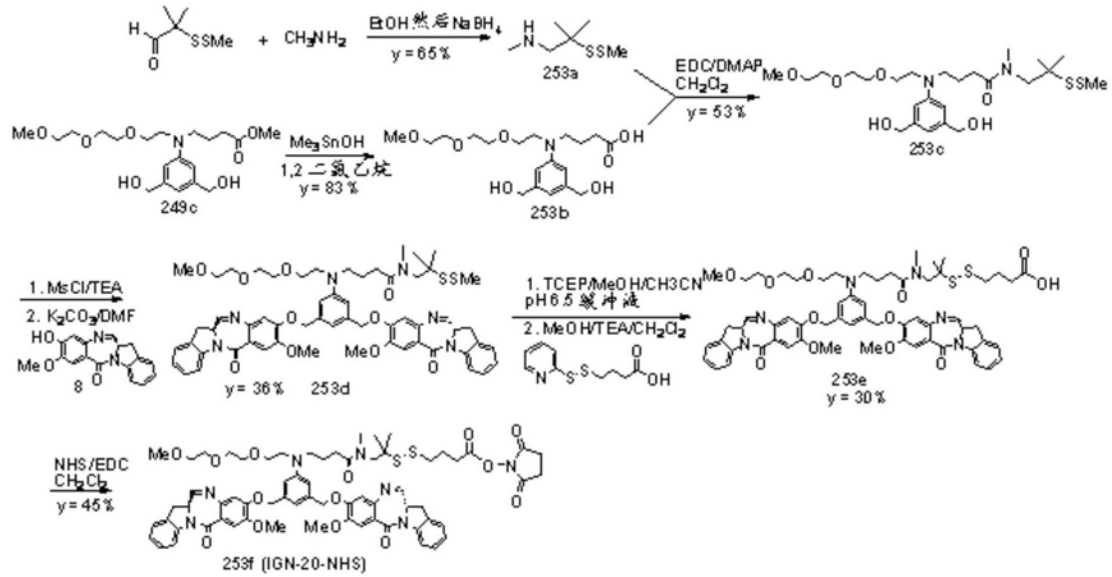


图37

可连接化合物 254d(IGN-23-NHS)和 254f(IGN-24-NHS)的合成路线

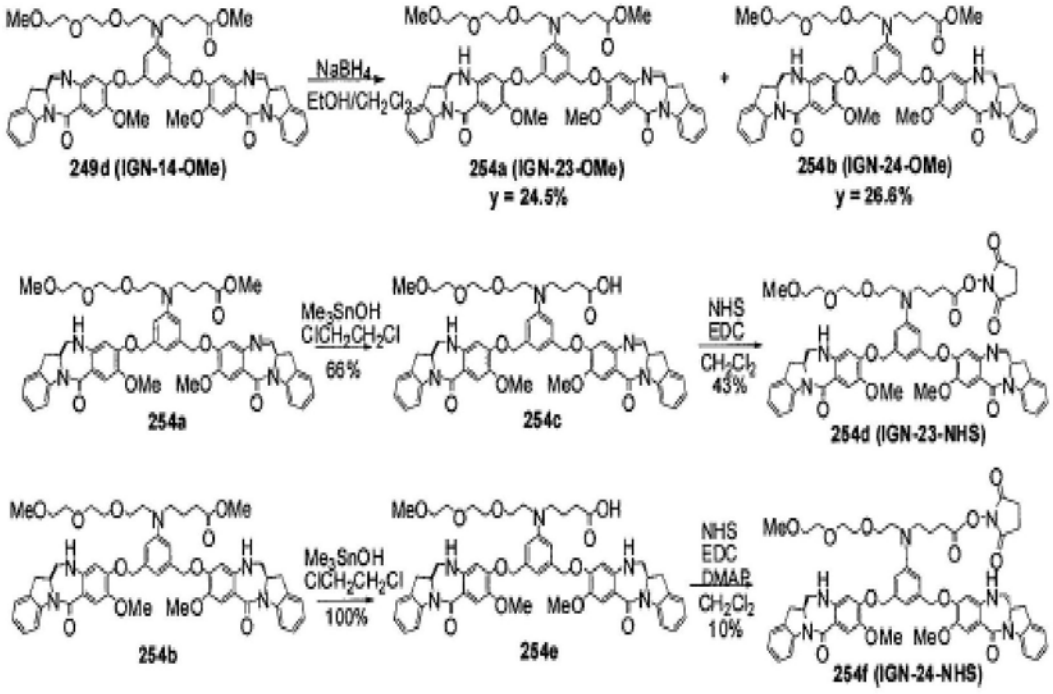


图38

IBD 二聚体 **255c(IGN-26-OMe)**的合成路线

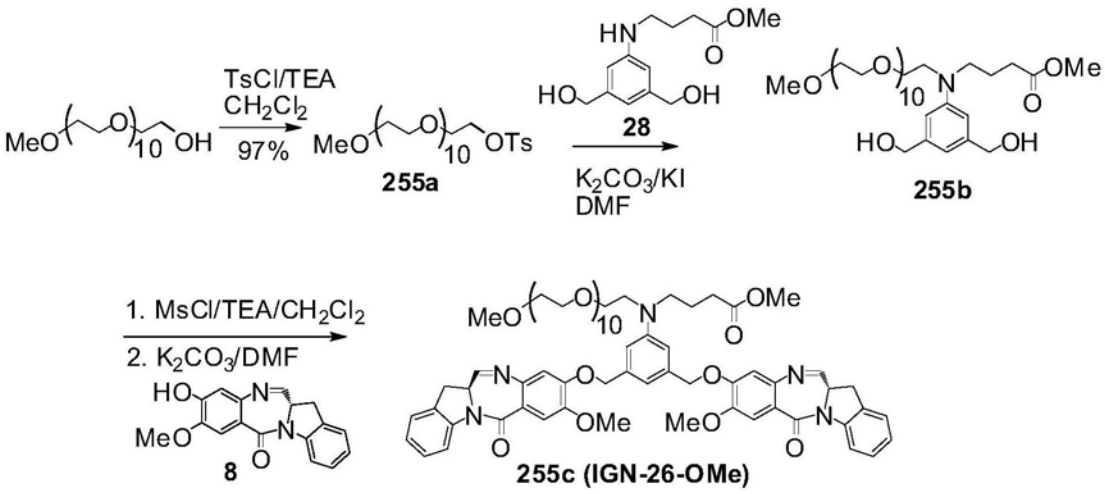


图39

化合物 **256g(IGN-29-NHS)**的合成路线

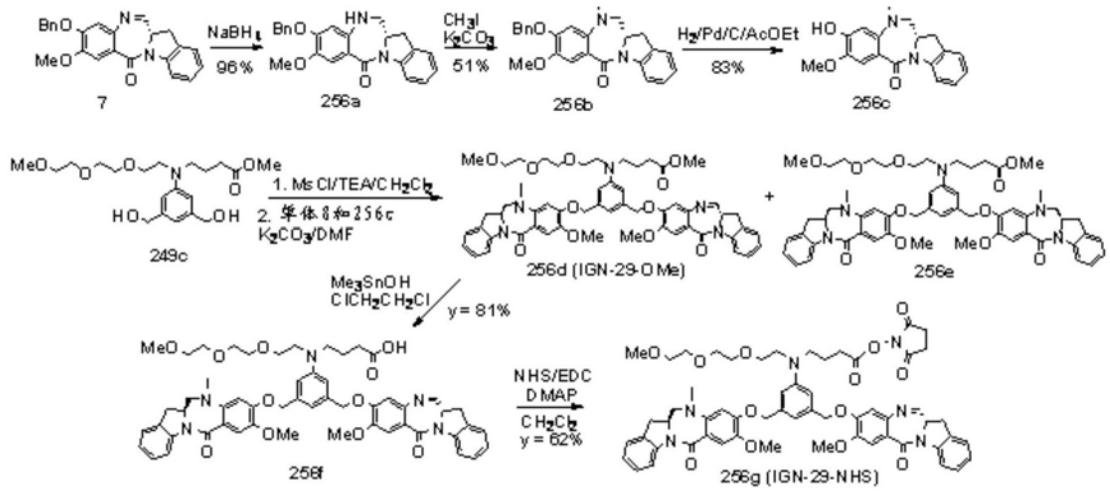


图40

化合物 **257e(IGN-33-NHS)**的合成路线

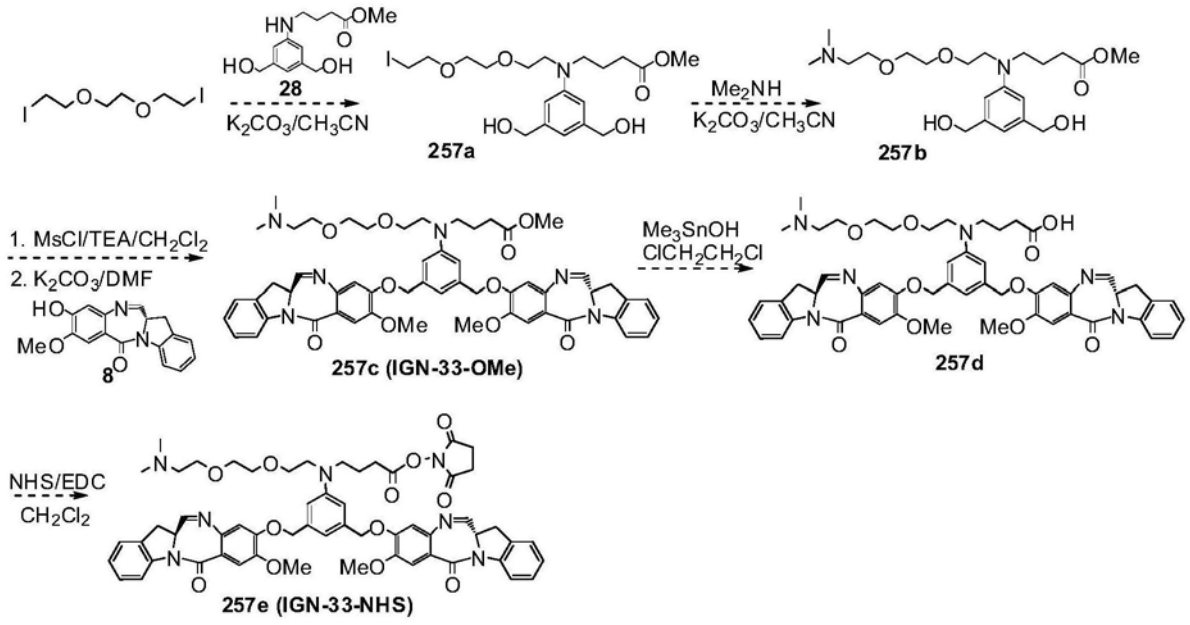


图41

化合物 **258h(IGN-15-SMe)和 259b(IGN-21-SMe)**的合成路线

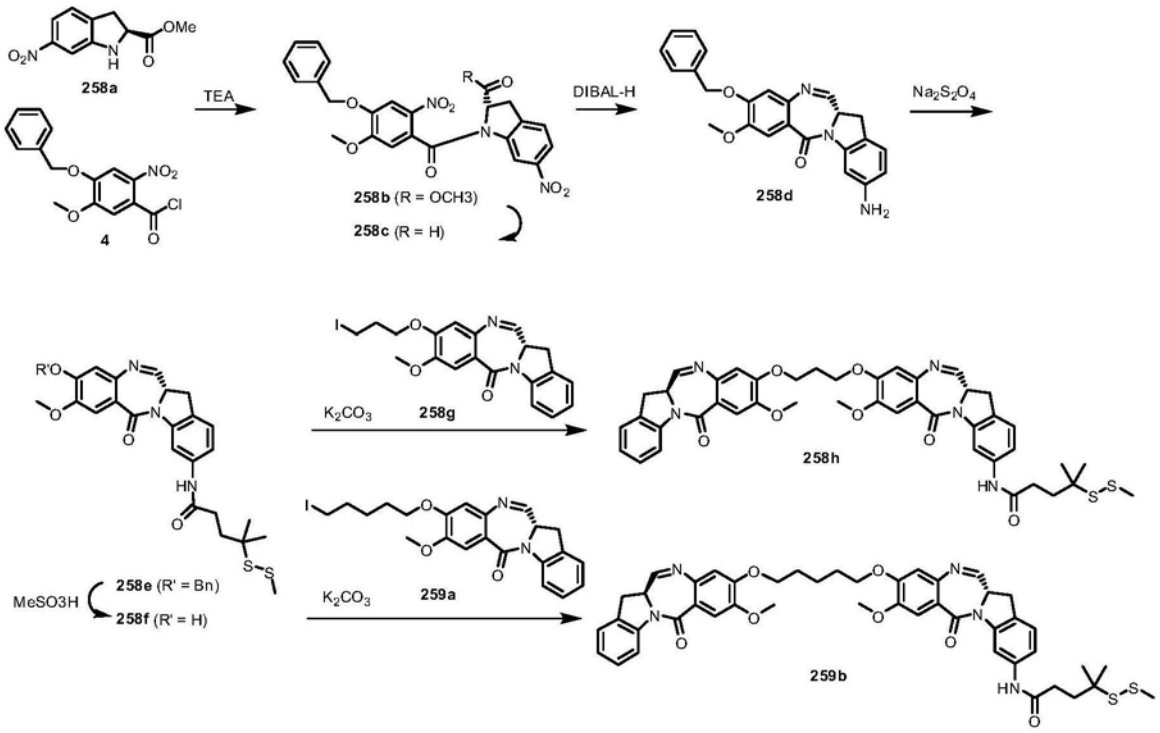


图42

化合物 **260c(IGN-25-OMe)**的合成路线

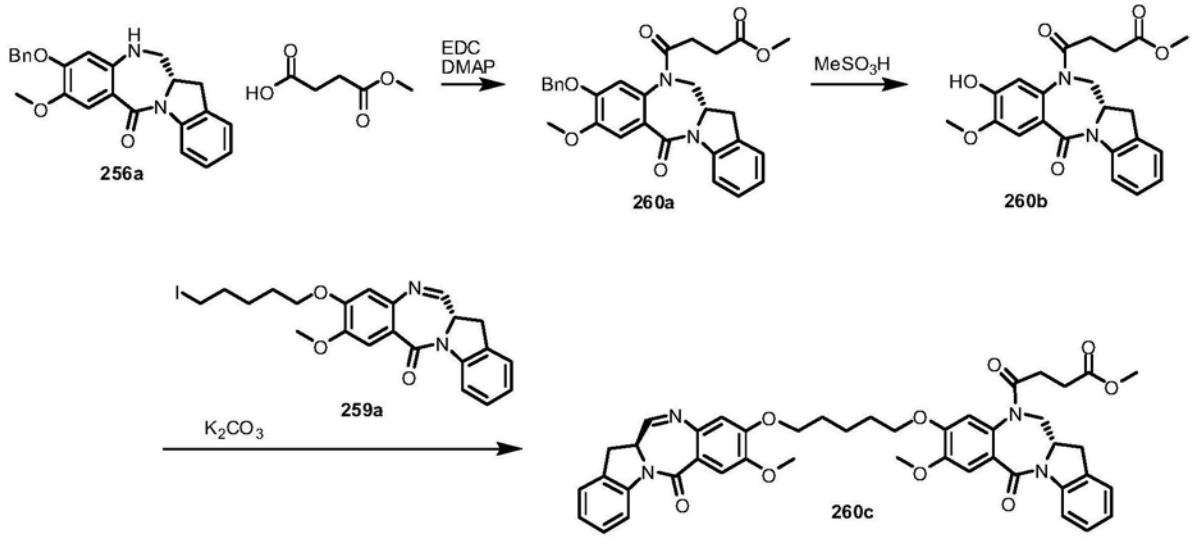


图43

化合物 **261e**(TBD 单体)和 **262**(**IGN-30-OMe**)的合成路线

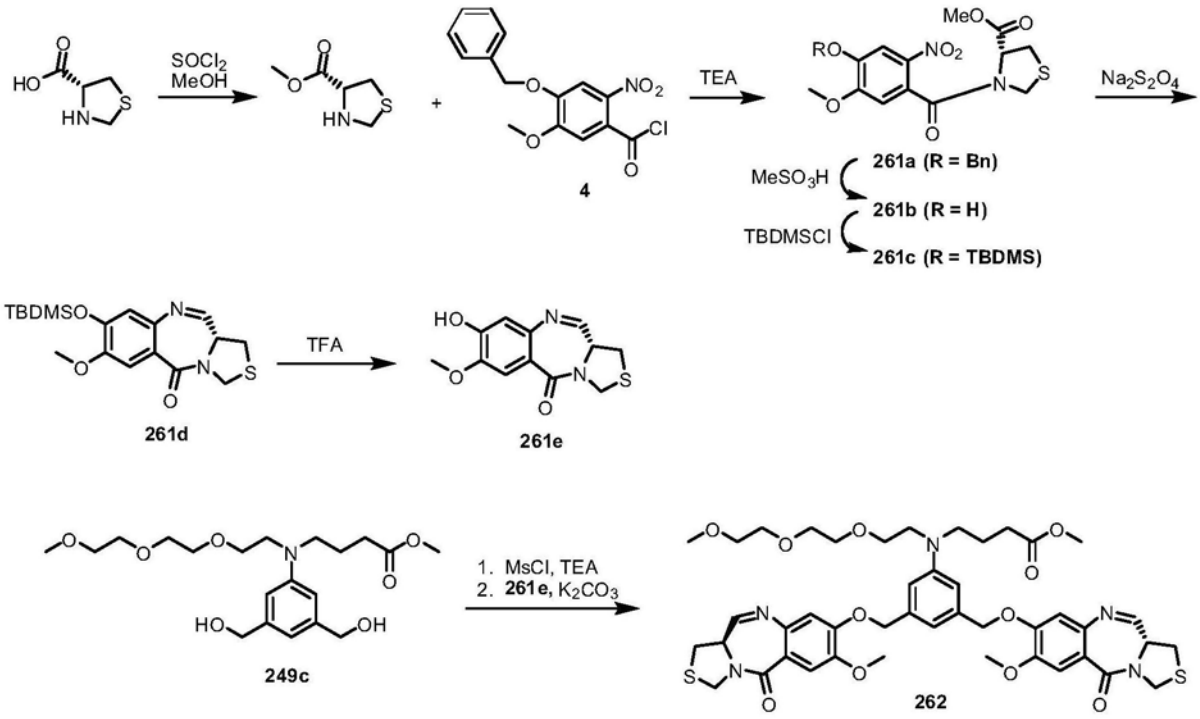


图44

二聚体 **263e**(**IGN-13-NHS**)的合成路线

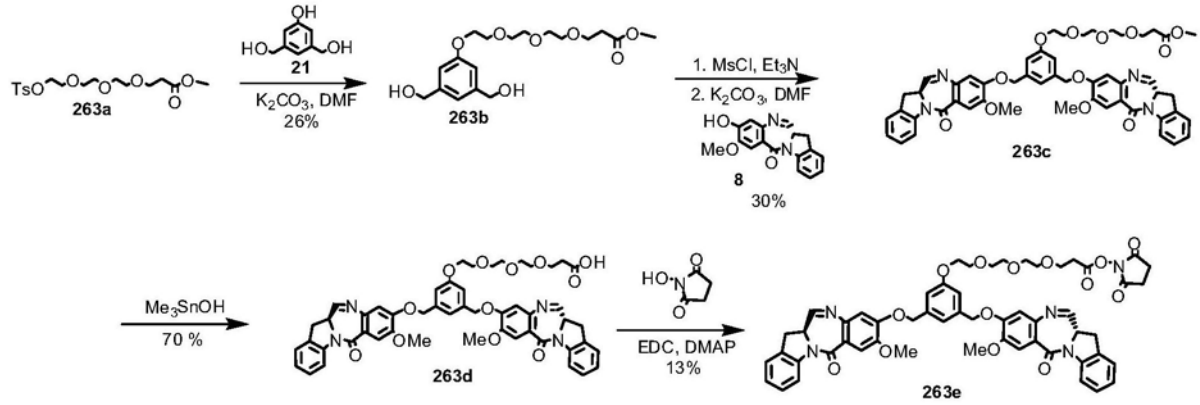


图45

二聚体 **264e(IGN-27-NHS)**的合成路线

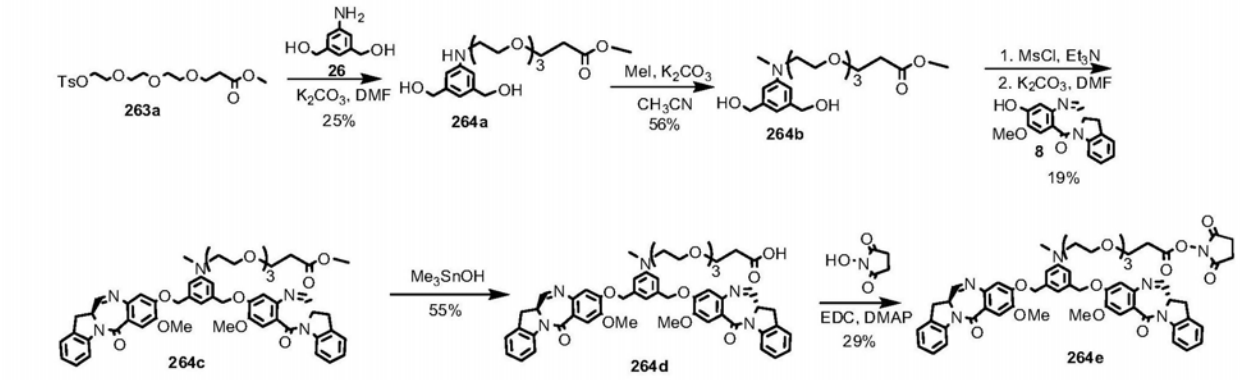


图46

二聚体 **265g(IGN-28-NHS)**的合成路线

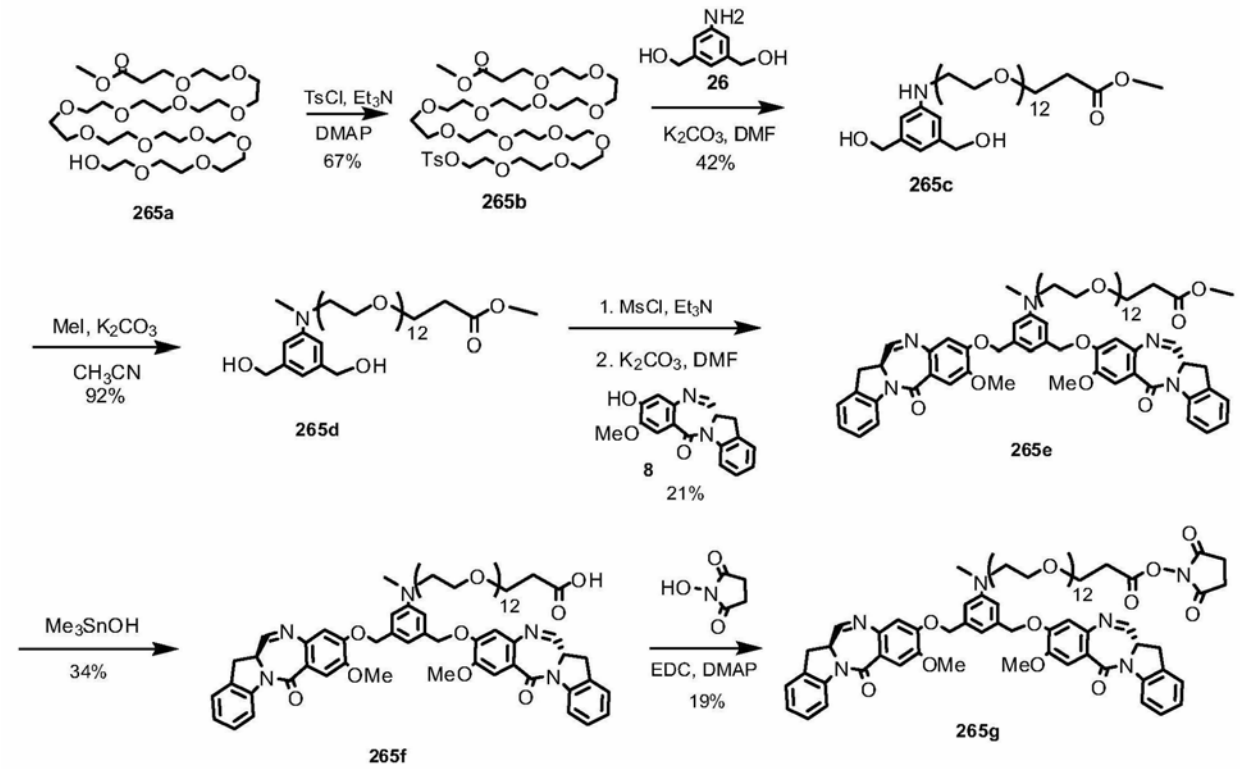


图47

二聚体 **266c(IGN-22-OMe)**的合成路线

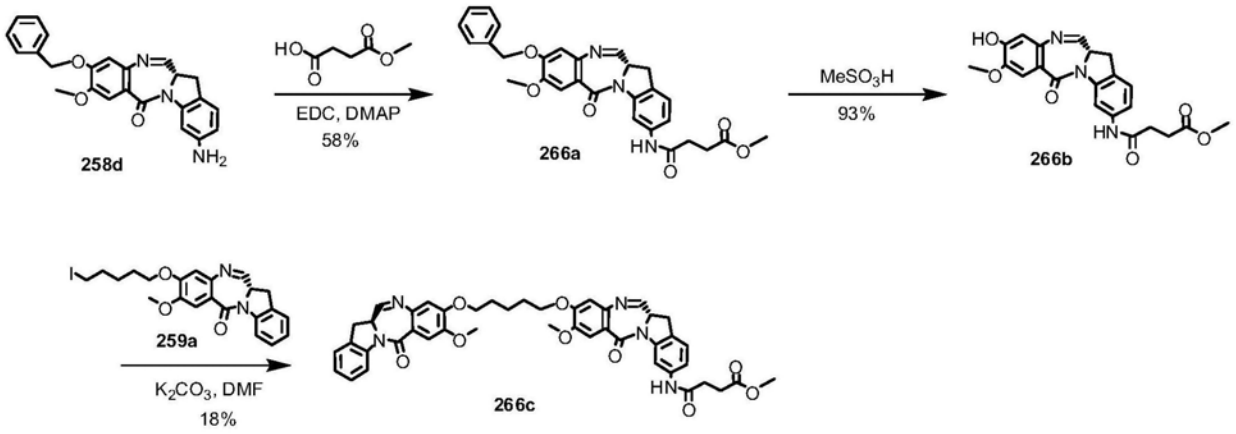


图48

二聚体 **267d(IGN-31-SMe)**的合成路线

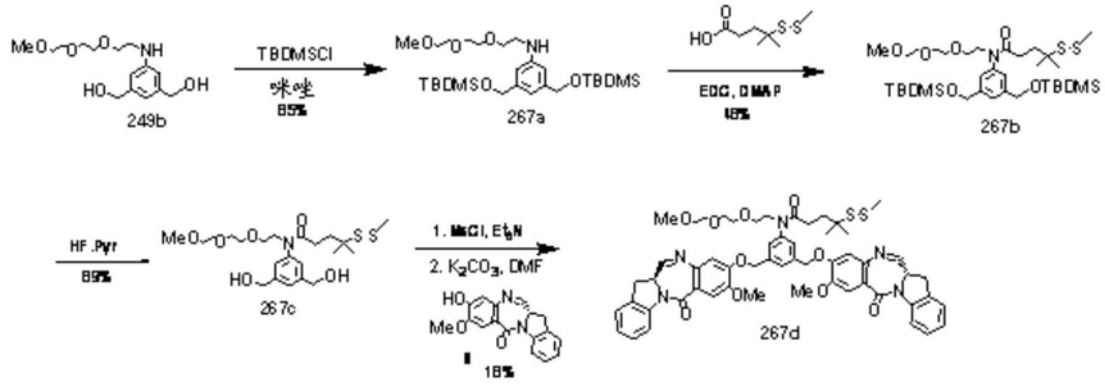


图49

二聚体 **268b(IGN-32-OtBu)**的合成路线

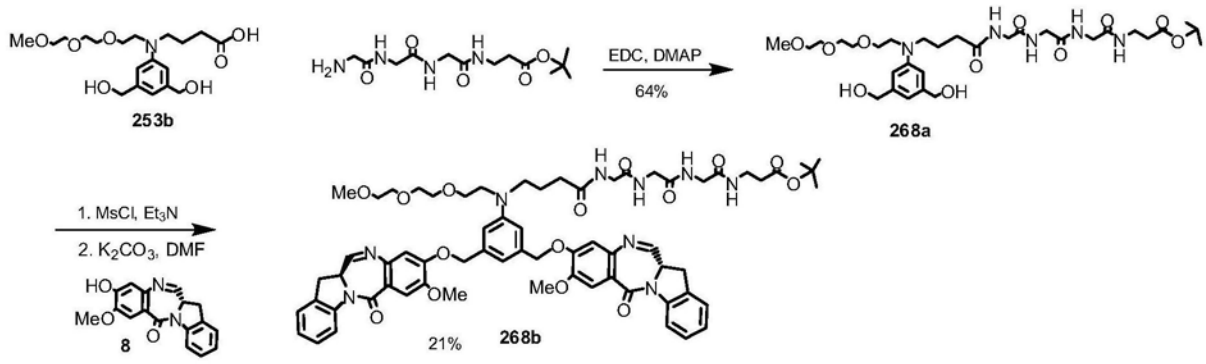


图50

IGN 化合物的体外细胞毒性

	IC50 (nM)					
IGN	Ramos	COLO205	RH-30	Namalwa	KB	LoVo
IGN13-OMe	0.003	0.031	0.009	0.005	0.005	
IGN14-OMe	0.005	0.079	0.025	0.017	0.020	
IGN15-SMe	0.048	3.000	0.520	0.410		
IGN16-OMe	0.003				0.009	0.012
IGN17-OMe	3.000	3.000	0.048	3.000		
IGN18-OMe	0.037				0.890	0.570
IGN19-OMe	0.047				0.350	0.800
IGN20-SMe					1.160	
IGN21-SMe					0.146	
IGN23-OMe					0.138	
IGN24-OMe					0.789	
IGN25-OMe						
IGN26-OMe		3.800		0.200		
IGN27-OMe		0.210		0.015		
IGN28-OMe		1.000		0.130		
IGN30-OMe		2.900		0.320	1.500	

图51

在封闭和未封闭抗原结合位点的情况下针对(A) COLO 205(Ag+)细胞、以及(B)针对 LOVO(Ag+)细胞的 chB38.1-IGN13 的抗增殖活性

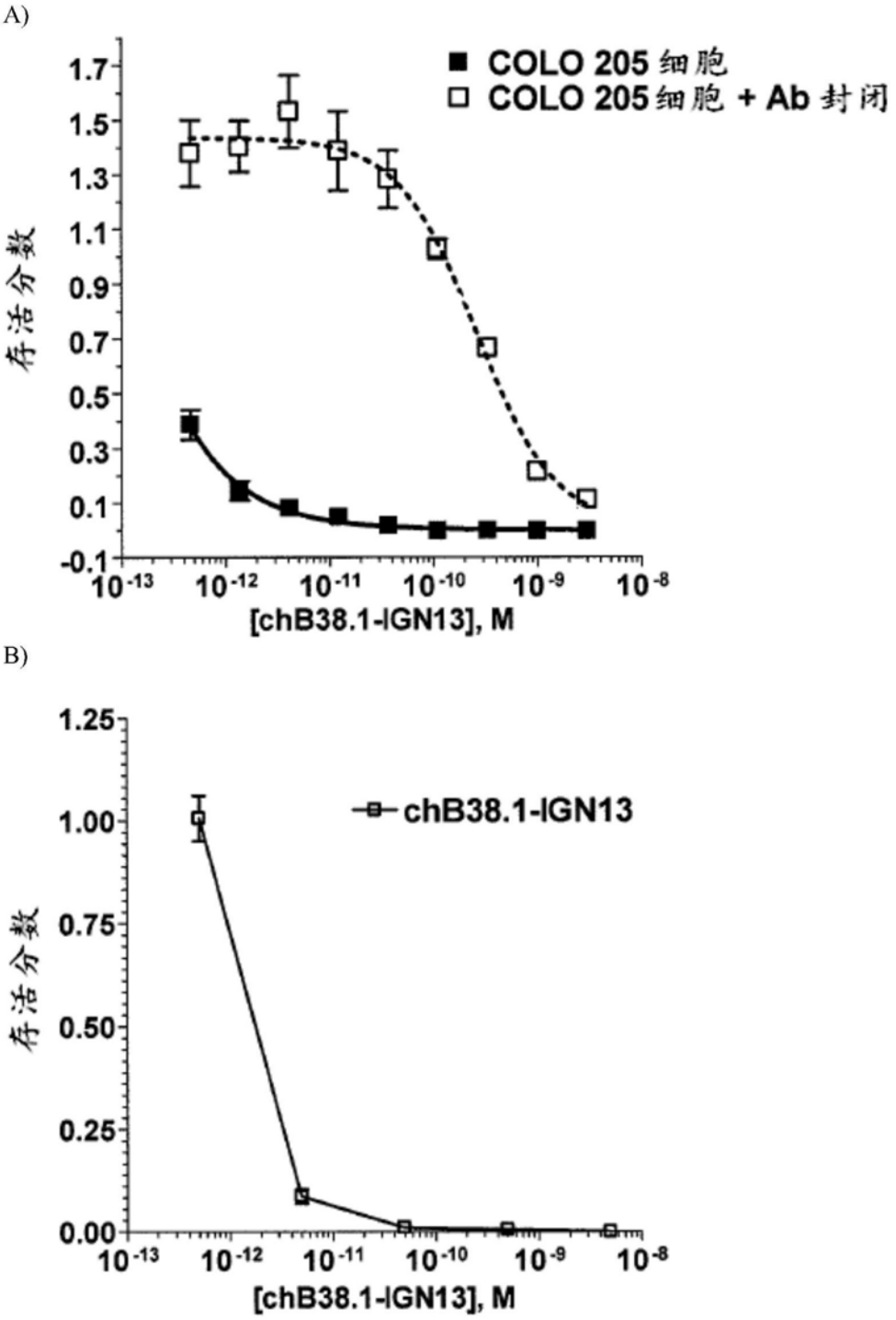


图52

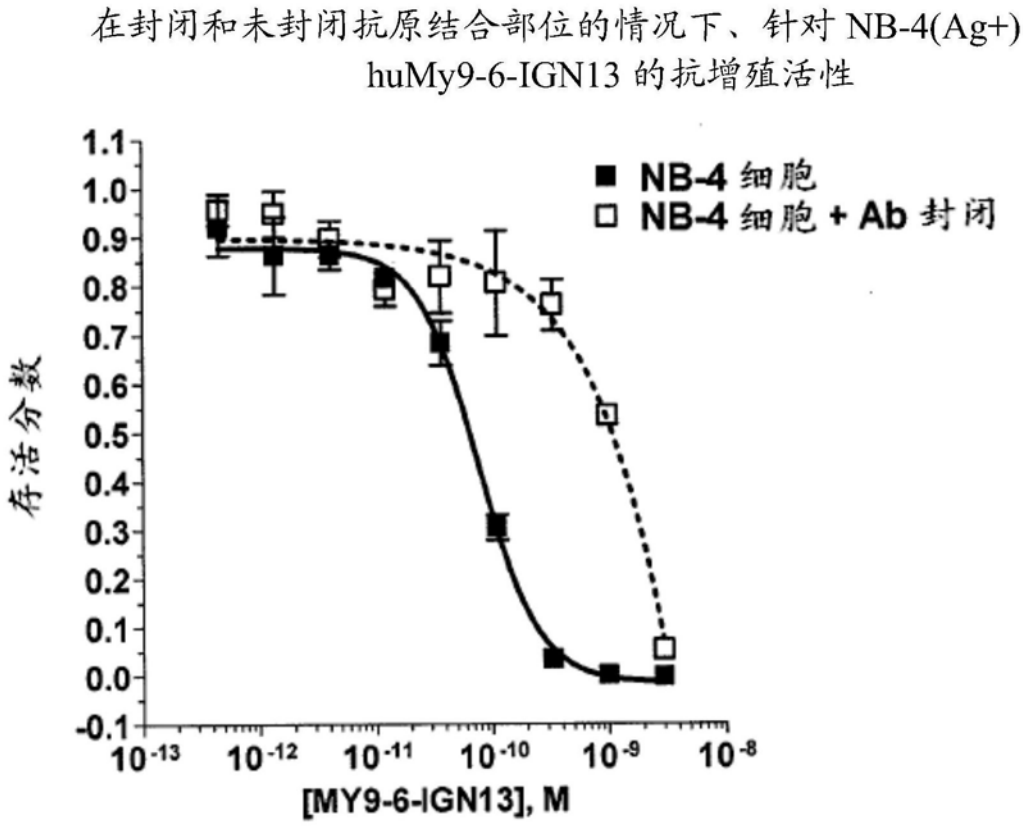
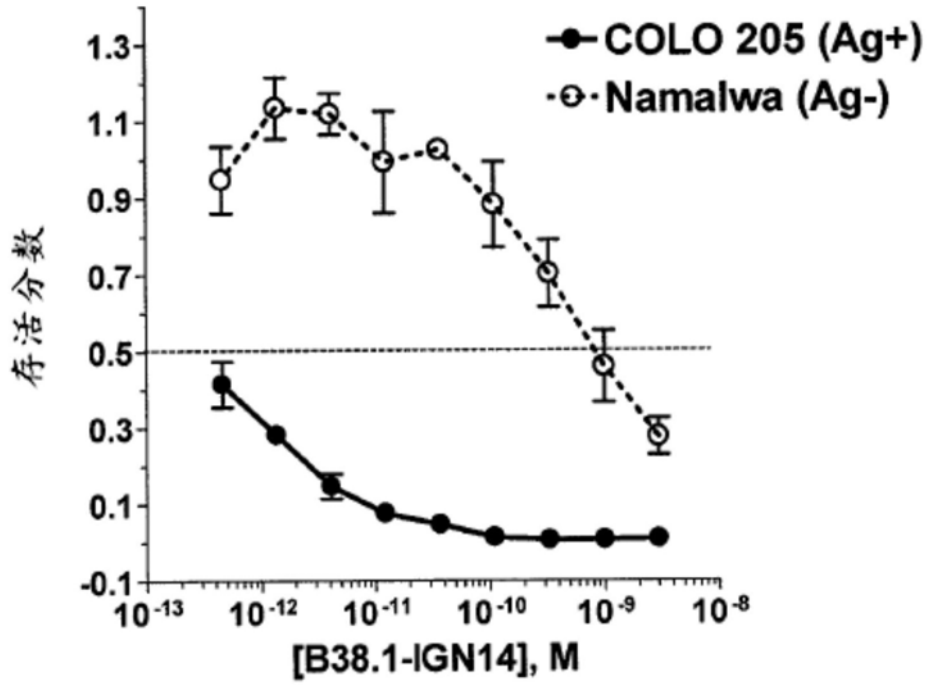

在封闭和未封闭抗原结合部位的情况下、针对 NB-4(Ag+)细胞的
huMy9-6-IGN13 的抗增殖活性
NB-4 细胞
NB-4 细胞 + Ab 封闭
存活分数
1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
-0.1
10-13
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
[MY9-6-IGN13], M

图53

针对(A) COLO205(Ag+)细胞和(B) LOVO(Ag+)细胞和 Namalwa(Ag-)细胞的 chB38.1-IGN14 的抗增殖活性

A)



B)

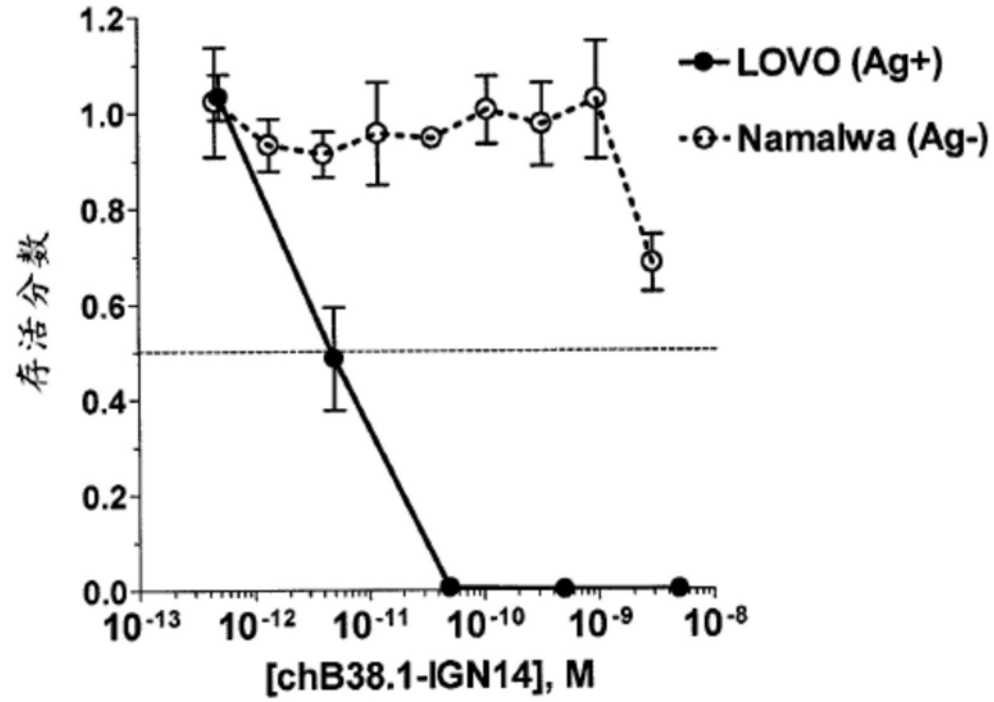


图54

使用 Namalwa(Ag-)细胞作为对照、针对 NB-4(Ag+)细胞的 huMY9-6-IGN14 的抗增殖活性

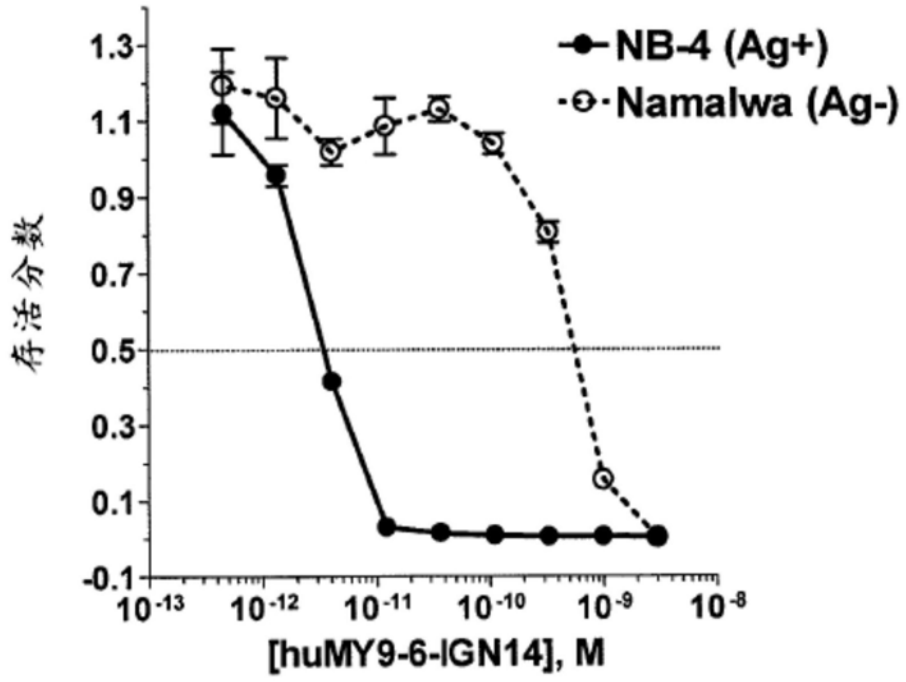


图55

(A)使用 Namalwa(Ag-)细胞作为对照、针对 LOVO(Ag+)细胞；以及(B)在封闭和未封闭抗原结合部位的情况下、针对 COLO205(Ag+)细胞的 chB38.1-IGN23 的抗增殖活性

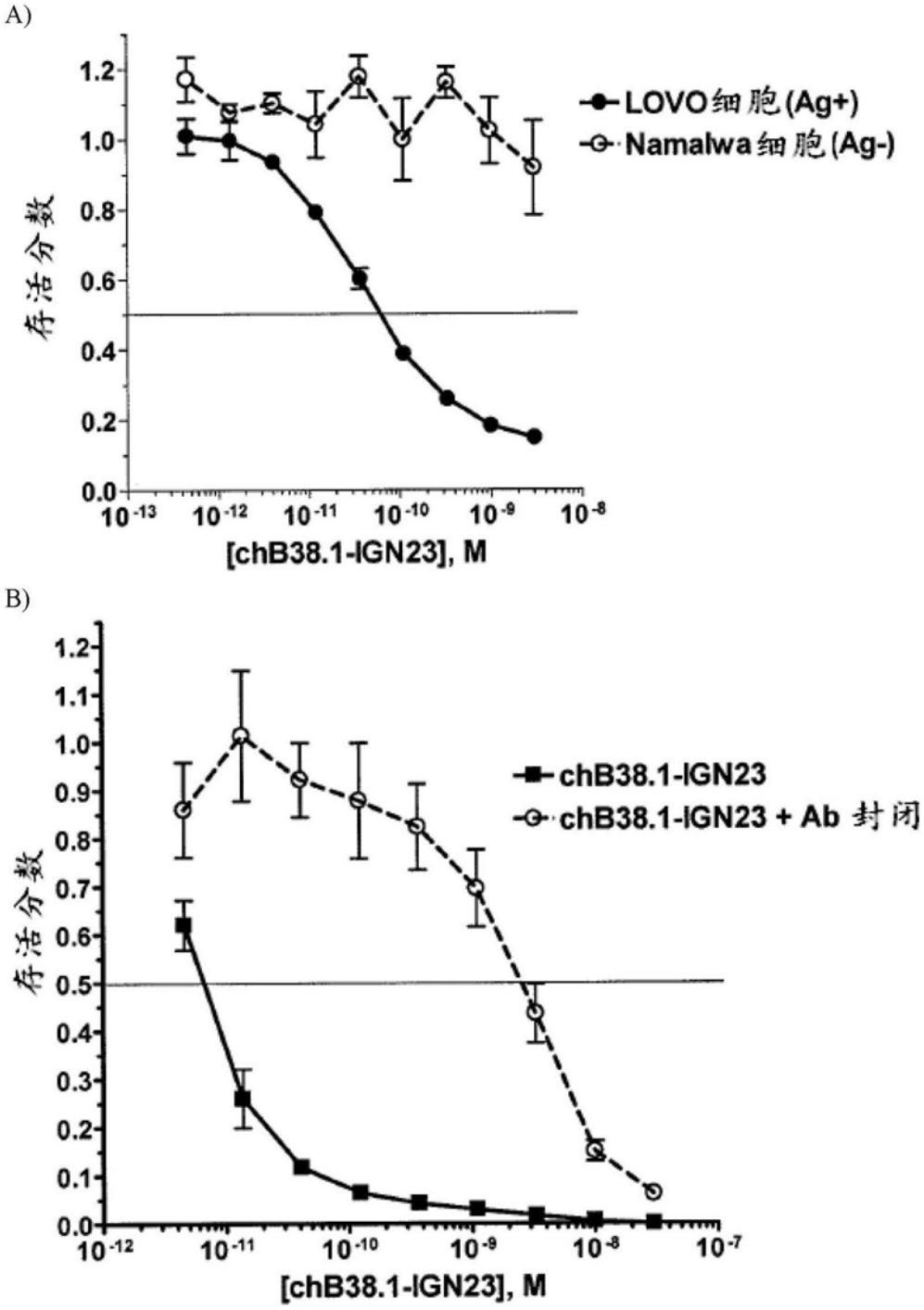


图56

在封闭和未封闭抗原结合部位的情况下、针对 COLO205(Ag+)细胞的 chB38.1-IGN29 的抗增殖活性。

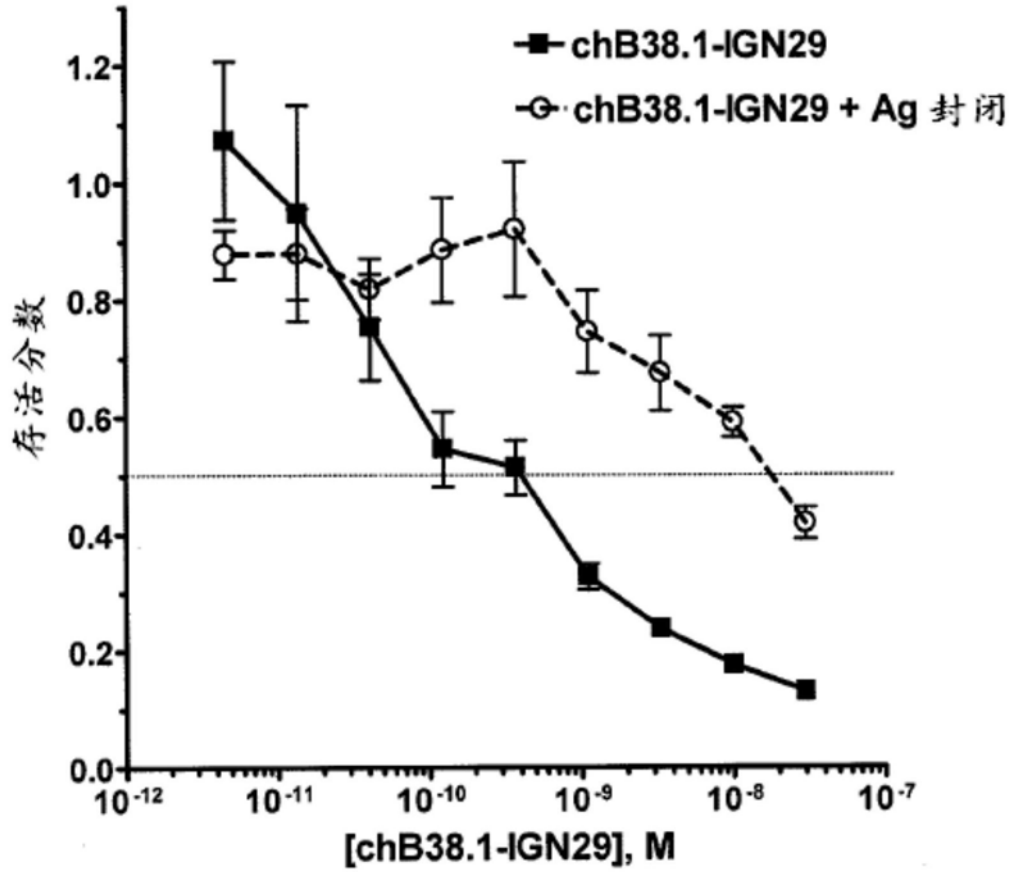


图57

chB38.1-IGN14 在具有 COLO205 肿瘤的裸小鼠中的体内效力

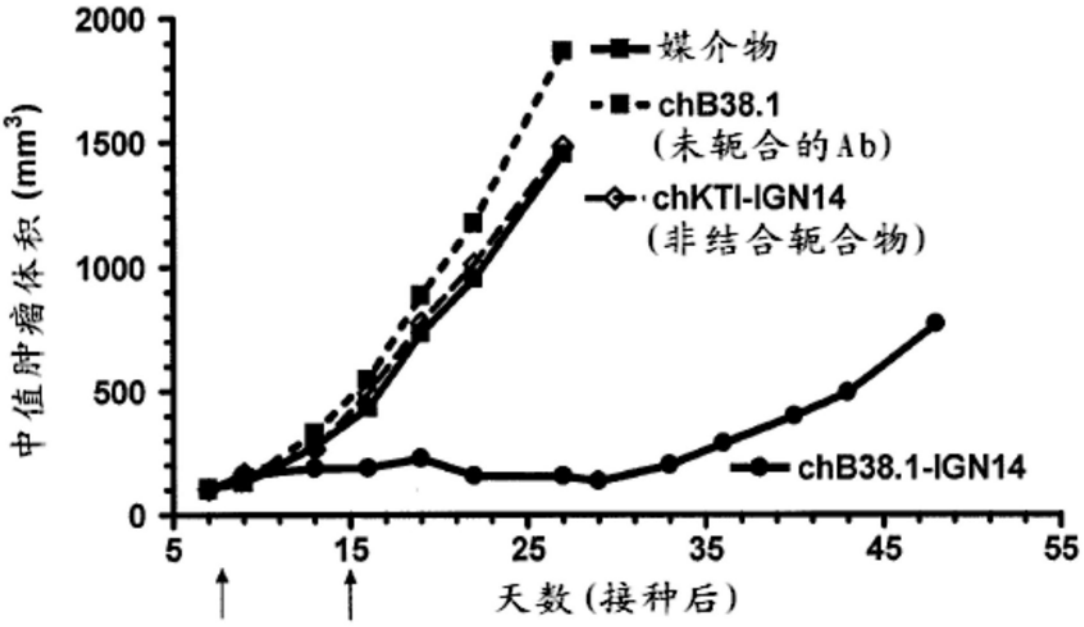


图58

chB38.1-IGN14 轭合物的 MS 分析

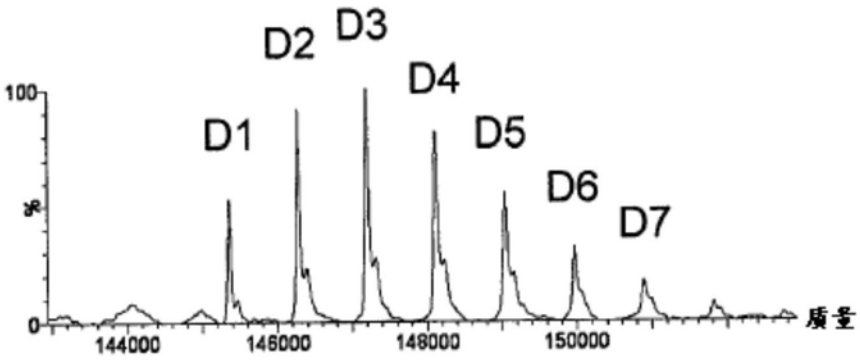


图59