



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110267659 A

(43)申请公布日 2019.09.20

(21)申请号 201780085879.6

(22)申请日 2017.12.07

(30)优先权数据

62/431,806 2016.12.08 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.08.07

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/065027 2017.12.07

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/106870 EN 2018.06.14

(71)申请人 西奈山伊坎医学院

地址 美国纽约州

(72)发明人 金剑 杨晓宝 刘静 熊燕

P·普列卡科斯 Z·卡罗利亚

吴雪薇 T·艾哈迈德

(74)专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事

务所(普通合伙) 11277

代理人 刘新宇 李茂家

(51)Int.Cl.

A61K 31/44(2006.01)

A61K 38/48(2006.01)

C12N 5/0735(2006.01)

权利要求书9页 说明书126页

序列表3页 附图21页

(54)发明名称

用于治疗CDK4/6介导的癌症的组合物和方法

(57)摘要

提供设计选择性降解/破坏CDK4/6的异端双功能小分子的方法,以及使用此类降解剂/破坏剂治疗CDK4/6介导的癌症的组合物和方法。

1. 一种二价化合物,其包括缀合至降解/破坏标签的细胞周期蛋白依赖性激酶4/6(CDK4/6)配体。

2. 根据权利要求1所述的二价化合物,其中所述CDK4/6配体为CDK4/6抑制剂。

3. 根据权利要求2所述的二价化合物,其中所述CDK4/6配体选自由玻玛西尼、帕博西尼、瑞博西尼、曲拉西尼、G1T38、SHR6390、及其类似物组成的组。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的二价化合物,其中所述CDK4/6配体结合至CDK4/6。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的二价化合物,其中所述降解/破坏标签选自由泊马度胺、沙利度胺、来那度胺、VHL-1、金刚烷、及其类似物组成的组。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的二价化合物,其中所述降解/破坏标签结合至泛素连接酶或者用作导致CDK4或CDK6蛋白质错误折叠的疏水性基团。

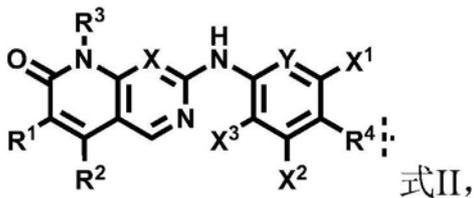
7. 根据权利要求1-6中任一项所述的二价化合物,其中所述CDK4/6配体通过连接子缀合至降解/破坏标签。

8. 根据权利要求1-7中任一项所述的二价化合物,其中所述二价化合物具有式I的结构:



其中PI包括CDK4/6配体和EL包括降解/破坏标签。

9. 根据权利要求8所述的二价化合物,其中PI具有式II的结构、式III的结构、式IV的结构或式VI的结构:



其中X¹、X²、和X³独立地为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、NR⁵R⁶、CN、NO₂、COR⁵、CO₂R⁵、CONR⁵R⁶、或NR⁵COR⁶;

R¹和R⁴独立地为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、OR⁵、SR⁵、NR⁵R⁶、CN、NO₂、(CR⁵R⁶)_mNR⁷R⁸、(CR⁵R⁶)_mC(O)R⁷、COR⁵、CO₂R⁵、CONR⁵R⁶、NR⁵COR⁶、NR⁵SOR⁶、NR⁵SO₂R⁶、SOR⁵、SO₂R⁵、SO₂NR⁵R⁶、(CR⁵R⁶)_m-芳基、或(CR⁵R⁶)_m-杂芳基,其中m为0-8;

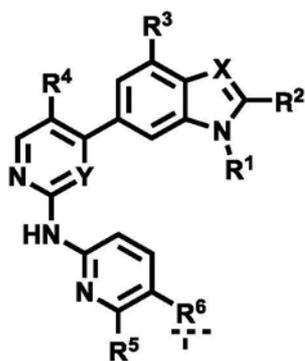
R²为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C3-C7环烷基、或C3-C7杂环基;

R³为氢、芳基、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C3-C7环烷基、或C3-C7杂环基;

R⁵、R⁶、R⁷、R⁸独立地为氢、C1-C8烷基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、芳基烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、或杂芳基烷基;

任选地,R¹和R²、R⁵和R⁶、或者R⁷和R⁸独立地形成4-8元烷基或杂环基环;和

X和Y独立地为CR⁵R⁶或N;



式III,

其中 R^1 独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基；

R^2 为氢、C1-C3烷基、或环丙基；

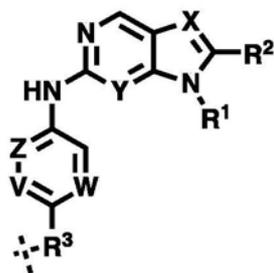
R^3 、 R^4 、和 R^5 独立地为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C3-C7环烷基、或C3-C7杂环基；

R^6 为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、 OR^7 、 SR^7 、 NR^7R^8 、 CN 、 NO_2 、 $(CR^7R^8)_mNR^9R^{10}$ 、 $(CR^7R^8)_mC(O)R^9$ 、 COR^7 、 CO_2R^7 、 $CONR^7R^8$ 、 NR^7COR^8 、 NR^7SOR^8 、 $NR^7SO_2R^8$ 、 SOR^7 、 SO_2R^7 、 $SO_2NR^7R^8$ 、 $(CR^7R^8)_m$ -芳基、或 $(CR^7R^8)_m$ -杂芳基；其中 m 为0-8；

R^7 、 R^8 、 R^9 、和 R^{10} 独立地为氢、C1-C8烷基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、芳基烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、或杂芳基烷基；

任选地， R^7 和 R^8 或者 R^9 和 R^{10} 独立地形成4-8元烷基或杂环基环；和

X 和 Y 独立地为 CR^7R^8 或 N ；



式IV,

其中 R^1 独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基；

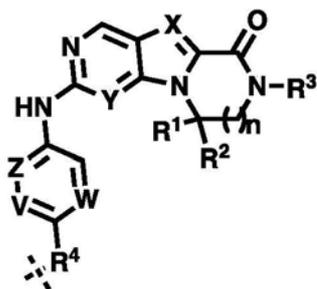
R^2 为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、 CN 、 COR^4 、 CO_2R^4 、或 $CONR^4R^5$ ；

R^3 为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、 OR^4 、 SR^4 、 NR^4R^5 、 CN 、 NO_2 、 $(CR^4R^5)_mNR^6R^7$ 、 $(CR^4R^5)_mC(O)R^6$ 、 COR^4 、 CO_2R^4 、 $CONR^4R^5$ 、 NR^4COR^5 、 NR^4SOR^5 、 $NR^4SO_2R^5$ 、 SOR^4 、 SO_2R^4 、 $SO_2NR^4R^5$ 、 $(CR^4R^5)_m$ -芳基、或 $(CR^4R^5)_m$ -杂芳基，其中 m 为0-8；

R^4 、 R^5 、 R^6 、和 R^7 独立地为氢、C1-C8烷基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、芳基烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、或杂芳基烷基；

任选地， R^1 和 R^2 、 R^4 和 R^5 、或者 R^6 和 R^7 独立地形成4-8元烷基或杂环基环；和

V 、 W 、 X 、 Y 、和 Z 独立地为 CR^4R^5 或 N ；



式VI,

其中R¹和R²独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基；

R³为氢、C1-C6烷基、C1-C6烷氧基烷基、C1-C6卤代烷基、C1-C6羟基烷基、C3-C6环烷基、C3-C6杂环基、C2-C6链烯基、或C2-C6炔基；

R⁴为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、OR⁵、SR⁵、NR⁵R⁶、CN、NO₂、(CR⁵R⁶)_mNR⁷R⁸、(CR⁵R⁶)_mC(O)R⁷、COR⁵、CO₂R⁵、CONR⁵R⁶、NR⁵COR⁶、NR⁵SOR⁶、NR⁵SO₂R⁶、SOR⁵、SO₂R⁵、SO₂NR⁵R⁶、(CR⁵R⁶)_m-芳基、或(CR⁵R⁶)_m-杂芳基，其中m为0-8；

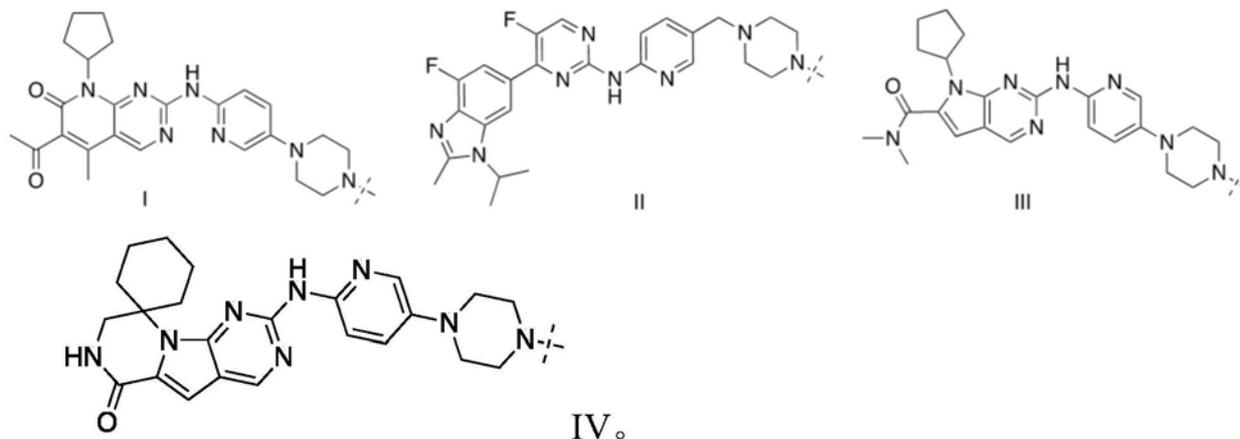
n为0-4；

任选地，R¹和R²、R⁵和R⁶、或者R⁷和R⁸独立地形成4-8元烷基或杂环基环；和

V、W、X、Y、和Z独立地为CR⁵R⁶或N。

10. 根据权利要求8或9所述的二价化合物，其中所述CDK4/6配体选自由玻玛西尼、帕博西尼、瑞博西尼、曲拉西尼(G1T28)、G1T38、SHR6390、及其类似物组成的组。

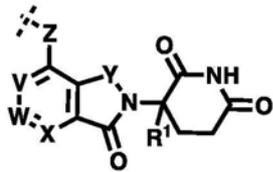
11. 根据权利要求8或9所述的二价化合物，其中所述CDK4/6配体选自由以下化合物组成的组：



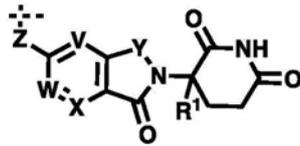
IV。

12. 根据权利要求8-11中任一项所述的二价化合物，其中所述CDK4/6配体结合至CDK4/6。

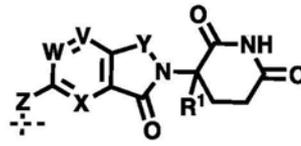
13. 根据权利要求8-12中任一项所述的二价化合物，其中EL选自以下化合物：



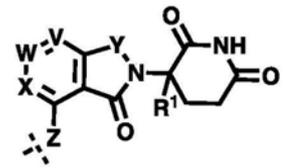
式VII,



式VIII,



式IX,



式XI,

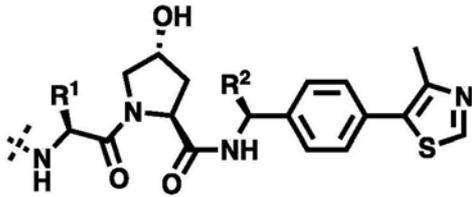
其中V、W、和X独立地为CR²或N;

Y为CO或CH₂;

Z为CH₂、NH、或O;

R¹为氢、甲基、或氟;和

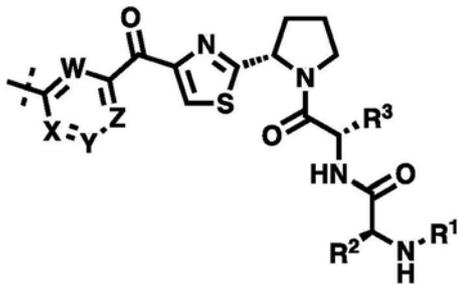
R²为氢、卤素、或C1-C5烷基;



式XII,

其中R¹和R²独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基;

或者



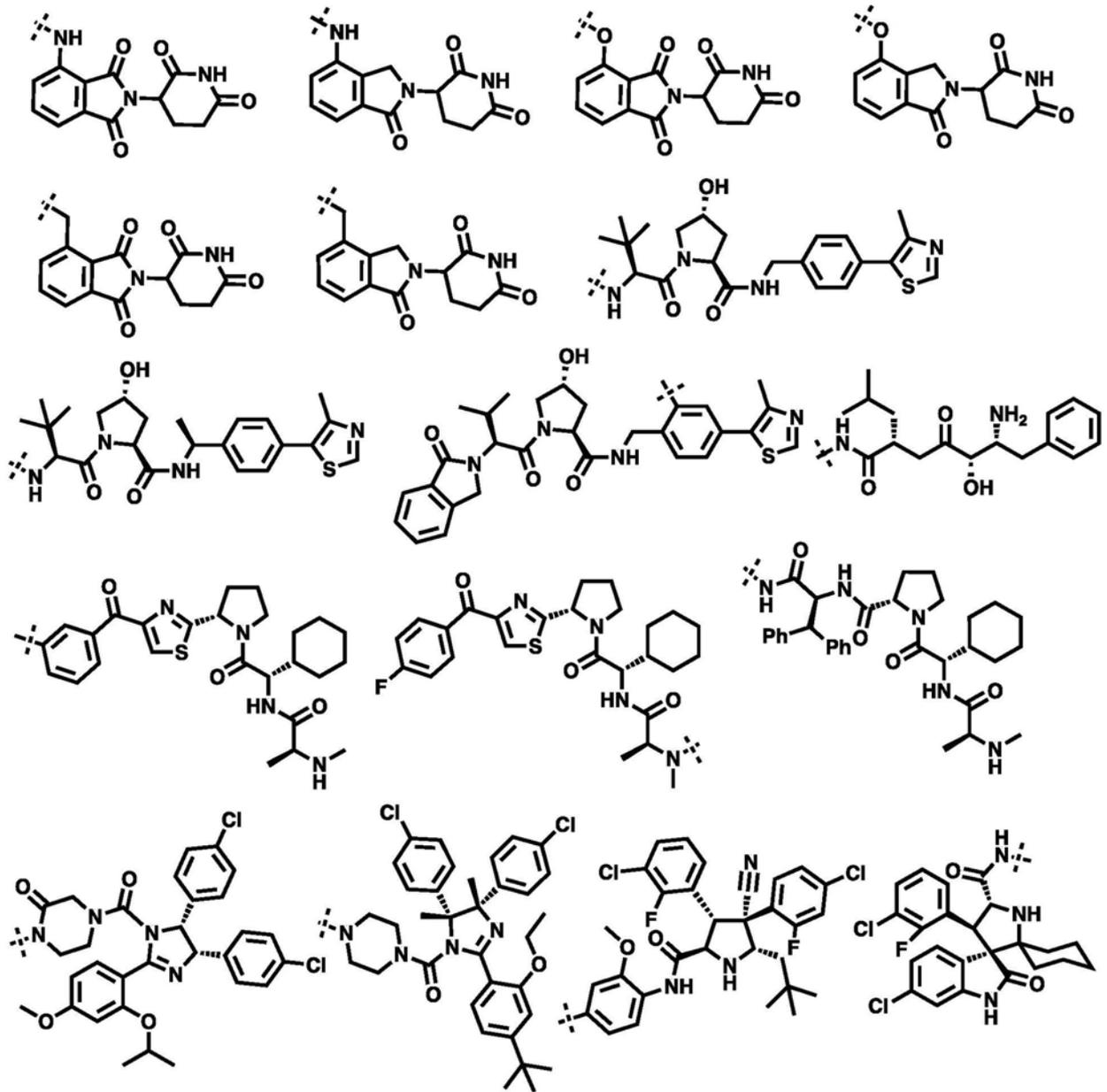
式XIII,

其中R¹、R²、R³和R⁴独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基;和

V、W、X、和Z独立地为CR⁴或N。

14. 根据权利要求1-13中任一项所述的二价化合物,其中所述降解/破坏标签选自自由泊马度胺、沙利度胺、来那度胺、VHL-1、金刚烷、1-((4,4,5,5,5-五氟戊基)亚磺酰基)壬烷、nutlin-3a、RG7112、RG7338、AMG232、AA-115、贝他定、MV-1、LCL161、及其类似物组成的组。

15. 根据权利要求1-13中任一项所述的二价化合物,其中所述降解/破坏标签选自自由以下化合物组成的组:



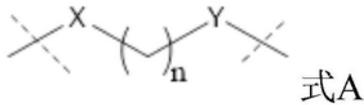
式XIV-XXX。

16. 根据权利要求1-15中任一项所述的二价化合物,其中所述降解/破坏标签结合至泛素连接酶。

17. 根据权利要求1-16中任一项所述的二价化合物,其中所述降解/破坏标签用作导致CDK4或CDK6蛋白质错误折叠的疏水性基团。

18. 根据权利要求8-17中任一项所述的二价化合物,其中所述连接子包括具有不同长度的、含非环状或环状饱和或不饱和碳、乙二醇、酰胺、氨基、醚、脲、氨基甲酸酯、芳香族、杂芳族、杂环或羰基的基团。

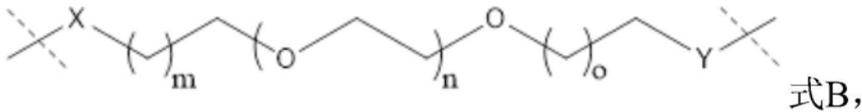
19. 根据权利要求8-17中任一项所述的二价化合物,其中所述连接子选自由以下结构组成的组:



其中X为C=O或CH₂;

Y为C=O或CH₂;和

n为0-15;



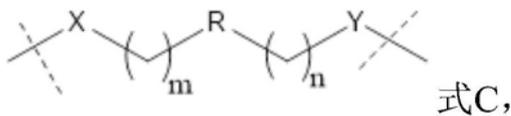
其中X为C=O或CH₂;

Y为C=O或CH₂;

m为0-15;

n为0-6;和

o为0-15;或者



其中X为C=O或CH₂;

Y为C=O或CH₂;

R为-CH₂-、-CF₂-、-CH(C₁₋₃烷基)-、-C(C₁₋₃烷基)(C₁₋₃烷基)-、-CH=CH-、-C(C₁₋₃烷基)=C(C₁₋₃烷基)-、-C=C-、-O-、-NH-、-N(C₁₋₃烷基)-、-C(O)NH-、-C(O)N(C₁₋₃烷基)-、3-13元环、3-13元稠环、3-13元桥环、或3-13元螺环;

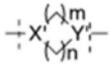
m为0-15;和

n为0-15。

20. 根据权利要求19所述的二价化合物,其中所述连接子为式C并且R选自由3-13元环、3-13元稠环、3-13元桥环、和3-13元螺环组成的组,

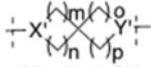
其中R包含一个或多个杂原子。

21. 根据权利要求19所述的二价化合物,其中所述连接子为式C并且R选自由以下结构组成的组:



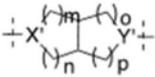
X' = N 或 CH
Y' = N 或 CH
m = 0-5
n = 0-5

式V,



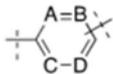
X' = N 或 CH
Y' = N 或 CH
m = 0-5
n = 0-5
o = 0-5
p = 0-5

式W,



X' = N 或 CH
Y' = N 或 CH
m = 0-5
n = 0-5
o = 0-5
p = 0-5

式X,



A = CH, C(C₁₋₃ 烷基), 或 N
B = CH, C(C₁₋₃ 烷基), 或 N
C = CH, C(C₁₋₃ 烷基), 或 N
D = CH, C(C₁₋₃ 烷基), 或 N

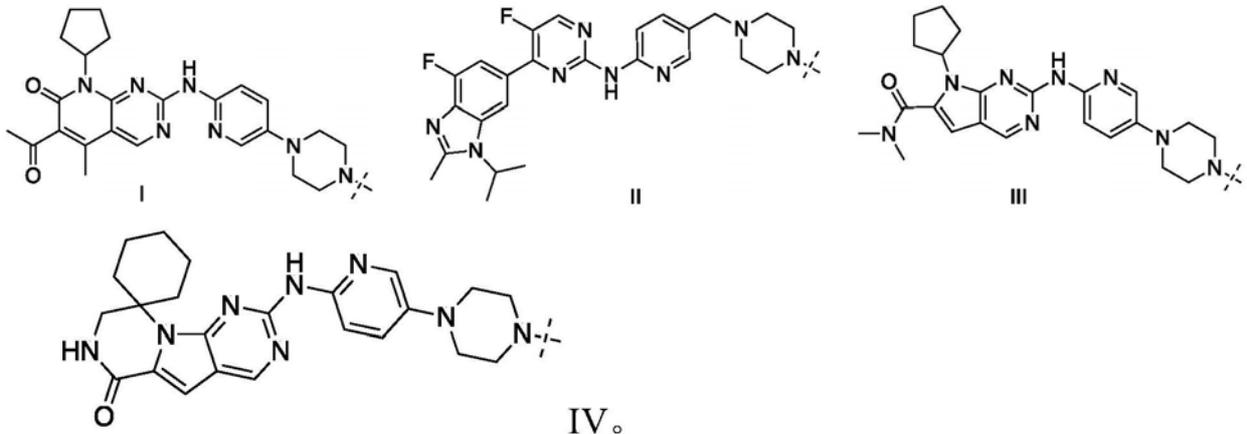
式Y, 和



A = C, CH, C(C₁₋₃ 烷基), N, NH, N(C₁₋₃ 烷基), O, S
B = C, CH, C(C₁₋₃ 烷基), N, NH, N(C₁₋₃ 烷基), O, S
C = C, CH, C(C₁₋₃ 烷基), N, NH, N(C₁₋₃ 烷基), O, S
D = C, CH, C(C₁₋₃ 烷基), N, NH, N(C₁₋₃ 烷基), O, S

式Z。

22. 根据权利要求1所述的二价化合物,其中所述CDK4/6配体选自由以下化合物组成的组:



23. 根据权利要求6-22中任一项所述的二价化合物,其中所述泛素连接酶为E3连接酶。

24. 根据权利要求23所述的二价化合物,其中所述E3连接酶选自自由cereblon E3连接酶、VHL E3连接酶、MDM2连接酶、TRIM24连接酶、TRIM21连接酶、和IAP连接酶组成的组。

25. 根据权利要求1-8中任一项所述的二价化合物,其中所述二价化合物选自自由以下化合物组成的组:XY028-082、XY028-003、XY028-004、XY028-005、XY019-098、XY028-006、XY028-007、XY028-008、XY028-009、XY028-085、XY028-084、XY028-083、XY028-132、XY028-133、XY019-106、XY028-162、XY028-163、XY028-002、XY028-114、XY028-097、XY019-108、XY028-105、XY028-106、XY028-140、XY028-141、XY028-142、XY028-143、XY028-144、XY028-145、YX26-56、YX26-66、YX26-58、YX30-108、YX30-107、YX30-85、YX30-86、YX30-117、YX30-118、YX30-126、YX30-125、XY028-186、YX33-29、YX33-31、YX33-74、YX33-94、YX33-108、YX33-96、YX33-97、YX33-109、YX33-110、YX33-112、YX33-123、YX35-48、YX39-47、YX39-48、YX39-56、YX39-65、YX39-74、YX39-123、YX39-124、YX39-147、YX44-18、YX44-19、YX44-22、YX44-46、YX44-48、YX44-78、YS36-95、YS36-60、YS36-61、YS36-62、YS36-63、YS36-64、YS36-65、YS36-66、YS36-67、YS36-68、YS36-69、YS36-70、YS36-71、化合物实施例80-135、及其类似物。

26. 一种二价化合物,其选自自由以下化合物组成的组:XY028-082、XY028-003、XY028-004、XY028-005、XY019-098、XY028-006、XY028-007、XY028-008、XY028-009、XY028-085、XY028-084、XY028-083、XY028-132、XY028-133、XY019-106、XY028-162、XY028-163、XY028-002、XY028-114、XY028-097、XY019-108、XY028-105、XY028-106、XY028-140、XY028-141、XY028-142、XY028-143、XY028-144、XY028-145、YX26-56、YX26-66、YX26-58、YX30-108、YX30-107、YX30-85、YX30-86、YX30-117、YX30-118、YX30-126、YX30-125、XY028-186、YX33-29、YX33-31、YX33-74、YX33-94、YX33-108、YX33-96、YX33-97、YX33-109、YX33-110、YX33-112、YX33-123、YX35-48、YX39-47、YX39-48、YX39-56、YX39-65、YX39-74、YX39-123、YX39-124、YX39-147、YX44-18、YX44-19、YX44-22、YX44-46、YX44-48、YX44-78、YS36-95、YS36-60、YS36-61、YS36-62、YS36-63、YS36-64、YS36-65、YS36-66、YS36-67、YS36-68、YS36-69、YS36-70、YS36-71、化合物实施例80-135、及其类似物。

27. 一种治疗细胞周期蛋白依赖性激酶4/6 (CDK4/6) 介导的癌症的方法,其包括向患有CDK4/6介导的癌症的有需要的受试者施用包括缀合至降解/破坏标签的CDK4/6配体的二价化合物。

28. 根据权利要求27所述的方法,其中所述CDK4/6介导的癌症相对于相同物种和组织类型的野生型组织过表达细胞周期蛋白依赖性激酶4 (CDK4) 或细胞周期蛋白依赖性激酶6 (CDK6)。

29. 根据权利要求27所述的方法,其中所述CDK4/6介导的癌症相对于相同物种和组织类型的野生型组织,包括较高的CDK4或CDK6酶活性。

30. 根据权利要求27-29中任一项所述的方法,其中至少一种二价化合物选自自由以下化合物组成的组:XY028-082、XY028-003、XY028-004、XY028-005、XY019-098、XY028-006、XY028-007、XY028-008、XY028-009、XY028-085、XY028-084、XY028-083、XY028-132、XY028-133、XY019-106、XY028-162、XY028-163、XY028-002、XY028-114、XY028-097、XY019-108、XY028-105、XY028-106、XY028-140、XY028-141、XY028-142、XY028-143、XY028-144、XY028-145、YX26-56、YX26-66、YX26-58、YX30-108、YX30-107、YX30-85、YX30-86、YX30-117、YX30-

118、YX30-126、YX30-125、XY028-186、YX33-29、YX33-31、YX33-74、YX33-94、YX33-108、YX33-96、YX33-97、YX33-109、YX33-110、YX33-112、YX33-123、YX35-48、YX39-47、YX39-48、YX39-56、YX39-65、YX39-74、YX39-123、YX39-124、YX39-147、YX44-18、YX44-19、YX44-22、YX44-46、YX44-48、YX44-78、YS36-95、YS36-60、YS36-61、YS36-62、YS36-63、YS36-64、YS36-65、YS36-66、YS36-67、YS36-68、YS36-69、YS36-70、YS36-71、化合物实施例80-135、及其类似物。

31. 根据权利要求27-30中任一项所述的方法,其中至少一种二价化合物经口服、胃肠外、皮内、皮下、局部、或直肠施用。

32. 根据权利要求28-31中任一项所述的方法,其进一步包括用用于治疗癌症的一种或多种另外的治疗方案治疗受试者。

33. 根据权利要求32所述的方法,其中所述一种或多种另外的治疗方案选自由手术、化学疗法、放射疗法、激素疗法、和免疫疗法组成的组。

34. 根据权利要求27-33中任一项所述的方法,其中所述CDK4/6介导的癌症选自由以下癌症组成的组:间皮瘤、肝细胞癌、中枢神经系统肿瘤、肺癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、黑色素瘤、卵巢癌、结肠癌、直肠癌、肛门癌、胃癌、胃肠癌、乳腺癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌、外阴癌、食道癌、胃肠癌、内分泌癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、前列腺癌、睾丸癌、白血病、淋巴瘤、膀胱癌、肾细胞癌、脑干胶质瘤、垂体瘤、肾上腺皮质癌、胆囊癌、多发性骨髓瘤、胆管癌、纤维肉瘤、神经母细胞瘤、和视网膜母细胞瘤。

35. 根据权利要求34所述的方法,其中所述乳腺癌为雌激素受体阳性(ER+)。

36. 根据权利要求27-35中任一项所述的方法,其中所述CDK4/6介导的癌症为复发性癌症。

37. 根据权利要求27-36中任一项所述的方法,其中所述CDK4/6介导的癌症对一种或多种先前的治疗是难以治愈的。

38. 一种识别介导CDK4或CDK6的降解/破坏的二价化合物的方法,所述方法包括:

提供包括缀合至降解/破坏标签的CDK4/6配体的异端双功能试验化合物;

使所述异端双功能试验化合物与包含泛素连接酶、以及CDK4和CDK6的至少一种的细胞接触;

确定所述细胞中CDK4或CDK6水平是否降低;和

(i) 如果在所述细胞中CDK4水平降低并且所述细胞中CDK6水平不降低,则将所述异端双功能试验化合物识别为介导CDK4的降解/减少的二价化合物,

(ii) 如果在所述细胞中CDK6水平降低并且所述细胞中CDK4水平不降低,则将所述异端双功能试验化合物识别为介导CDK6的降解/减少的二价化合物,或者

(iii) 如果所述细胞中CDK4和CDK6两者水平都降低,则将所述异端双功能试验化合物识别为介导CDK4和CDK6的降解/减少的二价化合物。

39. 根据权利要求38所述的方法,其中所述细胞为癌细胞。

40. 根据权利要求39所述的方法,其中所述癌细胞为CDK4/6介导的癌细胞。

用于治疗CDK4/6介导的癌症的组合物和方法

技术领域

[0001] 本公开涉及选择性地降解和/或破坏细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK) 4和/或6的二价化合物(例如,双功能小分子化合物),包括一种或多种二价化合物的组合物,以及其在有需要的受试者中用于治疗CDK4/6介导的癌症的方法。本公开还涉及设计此类二价化合物的方法。

背景技术

[0002] 细胞周期蛋白依赖性激酶4(CDK4,也称为CMM3和PSK-J3)(Matsushime等人,1992)和细胞周期蛋白依赖性激酶6(CDK6,也称为MCPH12和PLSTIRE)(Meyerson和Harlow,1994)为在细胞周期蛋白D/CDK4/6/Rb/E2F信号传导途径(“CDK4/6/Rb信号传导”)中起关键作用的相关的丝氨酸/苏氨酸激酶(统称为“CDK4/6”)(Sherr等人,2016)。CDK4/6/Rb信号传导介导生理细胞周期进程和细胞增殖。去磷酸化的Rb结合E2F家族的转录因子,从而阻止通过S期的转变。CDK4和CDK6通过使Rb磷酸化而促进细胞周期进程。Rb的磷酸化使E2F与Rb解离并且促进通过细胞周期的S期的转变(Burkhart和Sage,2008)。

[0003] 已经发现包括乳腺癌的多种类型的癌症的进程取决于CDK4/6/Rb信号传导的异常激活(“CDK4/6介导的癌症”)(Yu等人,2006;Hamilton和Infante,2016;Lim等人,2016)。常规癌症治疗包括手术、放射疗法、化学疗法(例如,盐酸吉西他滨和替莫唑胺、细胞毒性DNA烷化剂)、激素疗法、靶向抗体疗法、及其组合。在女性中,乳腺癌的发病率(每100,000人中有43.3人)明显高于任意其它癌症。在北美,乳腺癌是女性中癌症死亡的主要原因之一(约15%),仅次于肺癌。

[0004] 已经花费大量的努力来开发能够抑制CDK4/6活性的治疗剂。已经批准了三种CDK4/6抑制剂(帕博西尼(palbociclib)(PD-0332991;Pfizer)、玻玛西尼(abemaciclib)(LY2835219;Lilly)、和瑞博西尼(ribociclib)(LEE011;Novartis))。所有三种化合物在一系列肿瘤模型中显示临床前活性,这取决于肿瘤中完整Rb的表达。最近,另外三种CDK4/6抑制剂,曲拉西尼(trilaciclib)(G1T28)、G1T38和SHR6390已经进入I期临床试验。

[0005] 临床结果显示雌激素受体(ER)阳性(ER+)的乳腺肿瘤患者当用CDK4/6抑制剂联合内分泌疗法治疗(即,用一种或多种芳香酶抑制剂或ER拮抗剂治疗)时,显示出显著的响应和增加的无进展生存期(Finn等人,2015;Turner等人,2015)。然而,无论对此类治疗的初始响应如何,这些患者中的大多数最终在14-28个月内对此类治疗产生抗性(Finn等人,2015)。初步数据表明此类获得性抗性是由抑制剂抑制CDK4/6/Rb信号传导的失败或Rb的缺失引起的(Herrera-Abreu等人,2016)。总体而言,CDK4/6抑制剂单一疗法(即,在无内分泌或其它疗法的情况下单独的CDK4/6治疗)的临床疗效看起来不太大(Sherr等人,2016)。在足以充分地抑制肿瘤中的Rb磷酸化的高的浓度下,毒性可以限制这些抑制剂的施用。

发明内容

[0006] 本公开总体上涉及选择性地降解和/或破坏CDK4/6的二价化合物(例如,双功能小

分子化合物),以及用于治疗CDK4/6介导的癌症(即,过表达CDK4、CDK6或两者的癌症;取决于CDK4、CDK6或两者的活性的癌症;或者相对于相同物种和组织类型的野生型组织具有升高的CDK4、CDK6或两者的活性水平的癌症)的方法。重要的是要注意,因为CDK4/6降解剂/破坏剂具有双重功能(酶抑制加蛋白质降解/破坏),因此本文公开/要求保护的二价化合物可以比现有的抑制CDK4/6的酶活性但不影响CDK4/6蛋白水平的CDK4/6抑制剂显著地更有效的治疗剂。本公开进一步提供识别如本文所述的CDK4/6降解剂/破坏剂的方法。

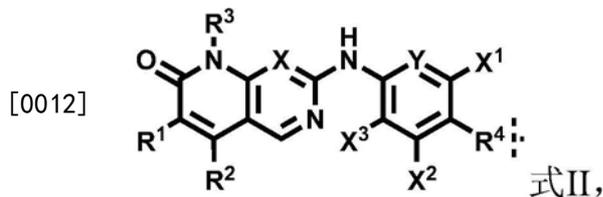
[0007] 更具体地,本公开提供包括缀合至降解/破坏标签的细胞周期蛋白依赖性激酶4/6(CDK4/6)配体的二价化合物。

[0008] 一方面,CDK4/6降解剂/破坏剂具有如下所示的“PI-连接子-EL”的形式:



[0010] 其中PI包括CDK4/6配体(例如,CDK4/6抑制剂)和EL包括降解/破坏标签(例如,E3连接酶配体)。本文公开了示例性CDK4/6配体(PI)和示例性降解/破坏标签(EL)。

[0011] 例如,PI可以包括,但不限于:



[0013] 其中X¹、X²、和X³独立地为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、NR⁵R⁶、CN、NO₂、COR⁵、CO₂R⁵、CONR⁵R⁶、或NR⁵COR⁶;

[0014] R¹和R⁴独立地为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、OR⁵、SR⁵、NR⁵R⁶、CN、NO₂、(CR⁵R⁶)_mNR⁷R⁸、(CR⁵R⁶)_mC(O)R⁷、COR⁵、CO₂R⁵、CONR⁵R⁶、NR⁵COR⁶、NR⁵SOR⁶、NR⁵SO₂R⁶、SOR⁵、SO₂R⁵、SO₂NR⁵R⁶、(CR⁵R⁶)_m-芳基、或(CR⁵R⁶)_m-杂芳基,其中m为0-8;

[0015] R²为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C3-C7环烷基、或C3-C7杂环基;

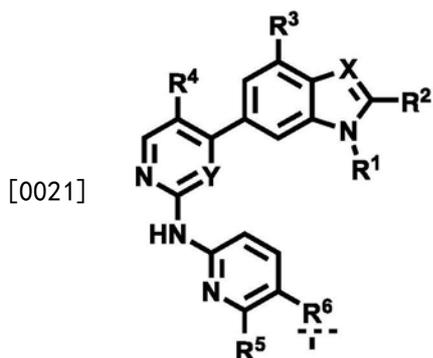
[0016] R³为氢、芳基、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C3-C7环烷基、或C3-C7杂环基;

[0017] R⁵、R⁶、R⁷、R⁸独立地为氢、C1-C8烷基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、芳基烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、或杂芳基烷基;

[0018] 任选地,R¹和R²;R⁵和R⁶;或者R⁷和R⁸独立地形成4-8元烷基或杂环基环;和

[0019] X和Y独立地为CR⁵R⁶或N。

[0020] 例如,PI可以包括:



式III,

[0022] 其中R¹独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基；

[0023] R²为氢、C1-C3烷基、或环丙基；

[0024] R³、R⁴、和R⁵独立地为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C3-C7环烷基、或C3-C7杂环基；

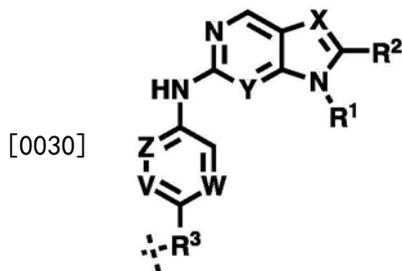
[0025] R⁶为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、OR⁷、SR⁷、NR⁷R⁸、CN、NO₂、(CR⁷R⁸)_mNR⁹R¹⁰、(CR⁷R⁸)_mC(O)R⁹、COR⁷、CO₂R⁷、CONR⁷R⁸、NR⁷COR⁸、NR⁷SOR⁸、NR⁷SO₂R⁸、SOR⁷、SO₂R⁷、SO₂NR⁷R⁸、(CR⁷R⁸)_m-芳基、或(CR⁷R⁸)_m-杂芳基，其中m为0-8；

[0026] R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰独立地为氢、C1-C8烷基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、芳基烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、或杂芳基烷基；

[0027] 任选地，R⁷和R⁸；R⁹和R¹⁰独立地形成4-8元烷基或杂环基环；和

[0028] X和Y独立地为CR⁷R⁸或N。

[0029] 例如，PI可以包括：



式IV,

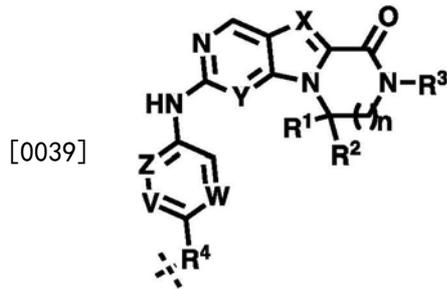
[0031] 其中R¹独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基；

[0032] R²为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、CN、COR⁴、CO₂R⁴、或CONR⁴R⁵；

[0033] R³为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、OR⁴、SR⁴、NR⁴R⁵、CN、NO₂、(CR⁴R⁵)_mNR⁶R⁷、(CR⁴R⁵)_mC(O)R⁶、COR⁴、CO₂R⁴、CONR⁴R⁵、NR⁴COR⁵、NR⁴SOR⁵、NR⁴SO₂R⁵、SOR⁴、SO₂R⁴、SO₂NR⁴R⁵、(CR⁴R⁵)_m-芳基、或(CR⁴R⁵)_m-杂芳基，其中m为0-8；

[0034] R⁴、R⁵、R⁶、R⁷独立地为氢、C1-C8烷基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、芳基烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、或杂芳基烷基；

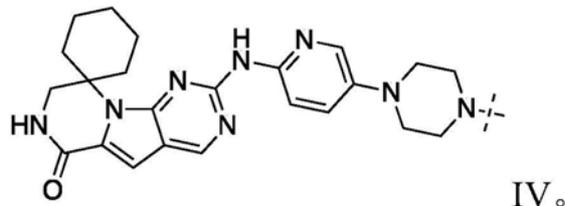
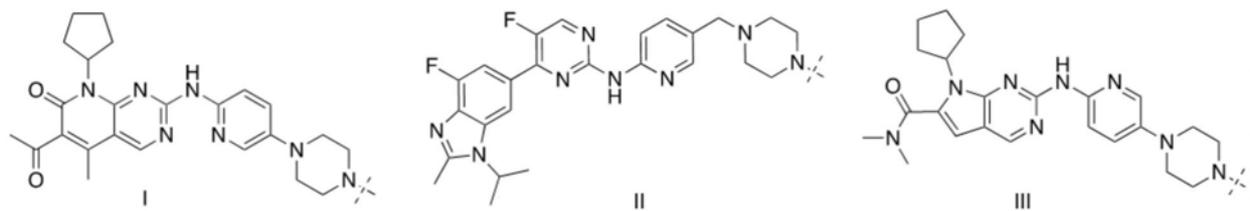
- [0035] 任选地, R^1 和 R^2 ; R^4 和 R^5 ; R^6 和 R^7 独立地形成4-8元烷基或杂环基环;
- [0036] 和
- [0037] V、W、X、Y、和Z独立地为 CR^4R^5 或N。
- [0038] 例如, PI可以包括:



式VI,

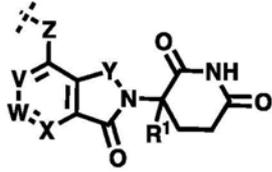
- [0040] 其中 R^1 和 R^2 独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基;
- [0041] R^3 为氢、C1-C6烷基、C1-C6烷氧基烷基、C1-C6卤代烷基、C1-C6羟基烷基、C3-C6环烷基、C3-C6杂环基、C2-C6链烯基、或C2-C6炔基;
- [0042] R^4 为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、 OR^5 、 SR^5 、 NR^5R^6 、CN、 NO_2 、 $(CR^5R^6)_mNR^7R^8$ 、 $(CR^5R^6)_mC(O)R^7$ 、 COR^5 、 CO_2R^5 、 $CONR^5R^6$ 、 NR^5COR^6 、 NR^5SOR^6 、 $NR^5SO_2R^6$ 、 SOR^5 、 SO_2R^5 、 $SO_2NR^5R^6$ 、 $(CR^5R^6)_m$ -芳基、或 $(CR^5R^6)_m$ -杂芳基, 其中m为0-8;
- [0043] n独立地为0-4;
- [0044] 任选地, R^1 和 R^2 ; R^5 和 R^6 ; R^7 和 R^8 独立地形成4-8元烷基或杂环基环; 和
- [0045] V、W、X、Y、和Z独立地为 CR^5R^6 或N。
- [0046] CDK4/6配体可以为CDK4/6抑制剂, 例如, 玻玛西尼、帕博西尼、瑞博西尼、曲拉西尼(G1T28)、G1T38、SHR6390、和/或其类似物等。
- [0047] 在一些方面, CDK4/6配体可以为, 例如,

[0048]

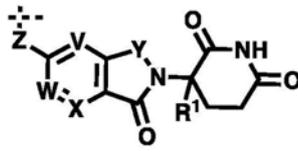


- [0049] CDK4/6配体可以结合至CDK4/6。
- [0050] EL包括, 但不限于:

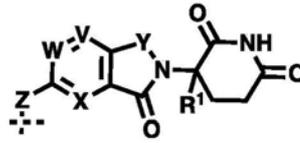
[0051]



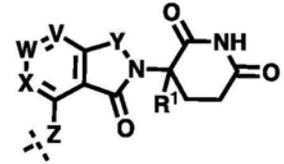
式VII,



式VIII,



式IX,

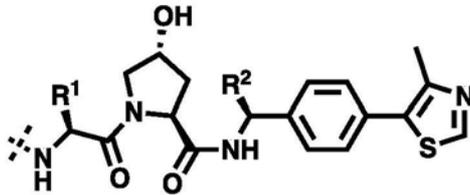


式XI,

[0052] 其中V、W、X独立地为CR²或N;[0053] Y为CO或CH₂;[0054] Z为CH₂、NH、或O;[0055] R¹为氢、甲基、或氟;和[0056] R²为氢、卤素、或C1-C5烷基。

[0057] 例如,EL可以包括:

[0058]

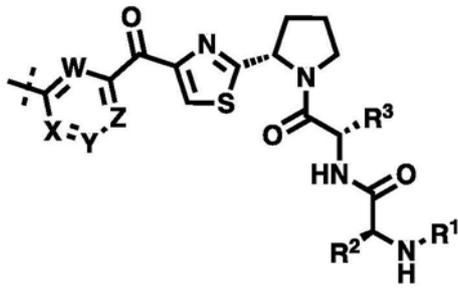


式XII,

[0059] 其中R¹和R²独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基。

[0060] 例如,EL可以包括:

[0061]



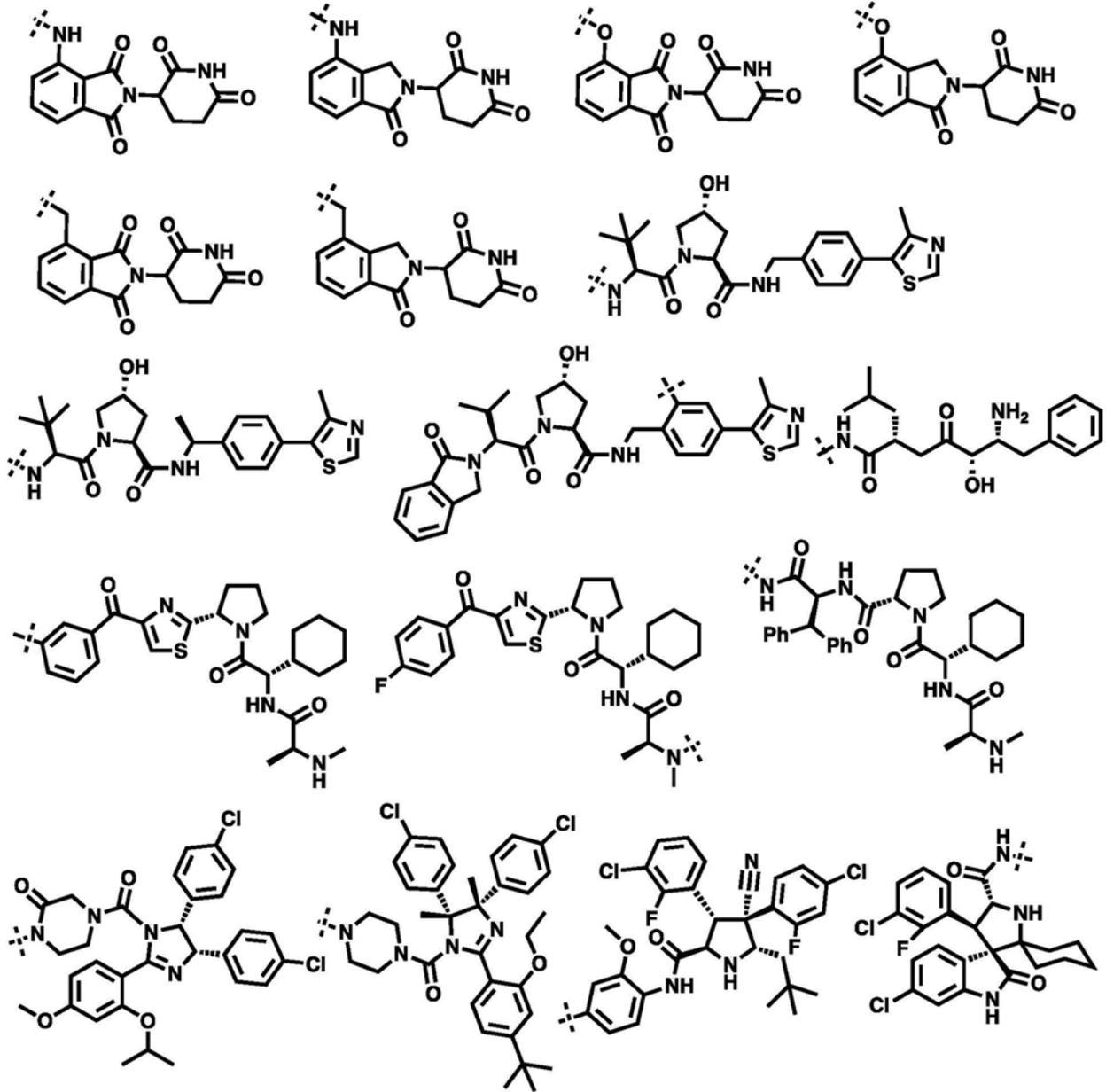
式XIII,

[0062] 其中R¹、R²、R³和R⁴独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基;和[0063] V、W、X、Z独立地为CR⁴或N。

[0064] 在一些方面,降解/破坏标签可以为,例如,泊马度胺、沙利度胺、来那度胺、VHL-1、金刚烷、1-((4,4,5,5,5-五氟戊基)亚磺酰基)壬烷、nutlin-3a、RG7112、RG7338、AMG232、AA-115、贝他定(bestatin)、MV-1、LCL161、和/或其类似物。

[0065] 在一些方面,降解/破坏标签可以为,例如,

[0066]

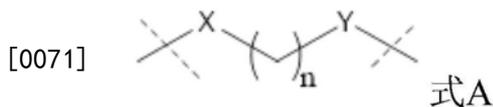


[0067] 式XIV-XXX (从左至右,然后从上至下,以左上角的式XIV开始,并且以右下角的式XXX结束)。

[0068] 在一些方面,降解/破坏标签可以结合至泛素连接酶(例如,如cereblon E3连接酶、VHL E3连接酶、MDM2连接酶、TRIM21连接酶、TRIM24连接酶、和/或IAP连接酶等E3连接酶)和/或用作导致CDK4或CDK6蛋白质错误折叠的疏水性基团。

[0069] 在任意上述化合物中,CDK4/6配体可以通过连接子缀合至降解/破坏标签。连接子可以包括,例如,具有不同长度的、含非环状或环状饱和或不饱和碳、乙二醇、酰胺、氨基、醚、脲、氨基甲酸酯、芳香族、杂芳族、杂环和/或羰基的基团。

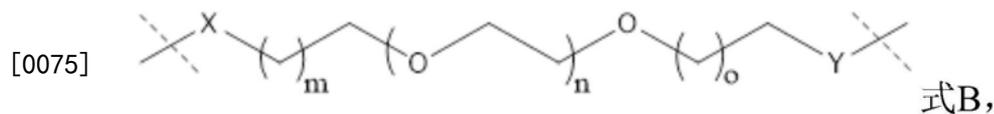
[0070] 在一些实施方案中,连接子可以为以下结构的部分:



[0072] 其中X为C=O或CH₂,

[0073] Y为C=O或CH₂, 和

[0074] n为0-15;



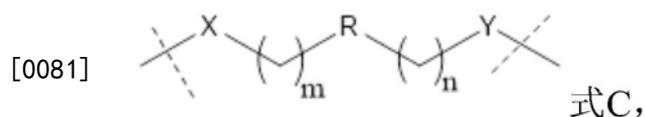
[0076] 其中X为C=O或CH₂,

[0077] Y为C=O或CH₂,

[0078] m为0-15,

[0079] n为0-6, 和

[0080] o为0-15; 或者



[0082] 其中

[0083] X为C=O或CH₂,

[0084] Y为C=O或CH₂,

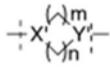
[0085] R为-CH₂-、-CF₂-、-CH(C₁₋₃烷基)-、-C(C₁₋₃烷基)(C₁₋₃烷基)-、-CH=CH-、-C(C₁₋₃烷基)=C(C₁₋₃烷基)-、-C=C-、-O-、-NH-、-N(C₁₋₃烷基)-、-C(O)NH-、-C(O)N(C₁₋₃烷基)-、3-13元环、3-13元稠环、3-13元桥环、和/或3-13元螺环,

[0086] m为0-15, 和

[0087] n为0-15。

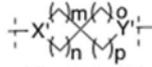
[0088] 在式C的一些实施方案中,R为3-13元环、3-13元稠环、3-13元桥环、和/或3-13元螺环,其中一种或多种可以包含一个或多个杂原子。

[0089] 在式C的一些实施方案中,R具有以下结构:



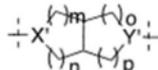
X' = N 或 CH
Y' = N 或 CH
m = 0-5
n = 0-5

式V,



X' = N 或 CH
Y' = N 或 CH
m = 0-5
n = 0-5
p = 0-5

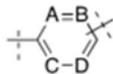
式W,



X' = N 或 CH
Y' = N 或 CH
m = 0-5
n = 0-5
p = 0-5

式X,

[0090]



A = CH, C(C₁₋₃ 烷基), 或 N
B = CH, C(C₁₋₃ 烷基), 或 N
C = CH, C(C₁₋₃ 烷基), 或 N
D = CH, C(C₁₋₃ 烷基), 或 N

式Y, 或者



A = C, CH, C(C₁₋₃ 烷基), N, NH, N(C₁₋₃ 烷基), O, S
B = C, CH, C(C₁₋₃ 烷基), N, NH, N(C₁₋₃ 烷基), O, S
C = C, CH, C(C₁₋₃ 烷基), N, NH, N(C₁₋₃ 烷基), O, S
D = C, CH, C(C₁₋₃ 烷基), N, NH, N(C₁₋₃ 烷基), O, S

式Z。

[0091] 在一些方面,二价化合物为选自以下化合物的化合物:XY028-082、XY028-003、XY028-004、XY028-005、XY019-098、XY028-006、XY028-007、XY028-008、XY028-009、XY028-085、XY028-084、XY028-083、XY028-132、XY028-133、XY019-106、XY028-162、XY028-163、XY028-002、XY028-114、XY028-097、XY019-108、XY028-105、XY028-106、XY028-140、XY028-141、XY028-142、XY028-143、XY028-144、XY028-145、YX26-56、YX26-66、YX26-58、YX30-108、YX30-107、YX30-85、YX30-86、YX30-117、YX30-118、YX30-126、YX30-125、XY028-186、YX33-29、YX33-31、YX33-74、YX33-94、YX33-108、YX33-96、YX33-97、YX33-109、YX33-110、YX33-112、YX33-123、YX35-48、YX39-47、YX39-48、YX39-56、YX39-65、YX39-74、YX39-123、YX39-124、YX39-147、YX44-18、YX44-19、YX44-22、YX44-46、YX44-48、YX44-78、YS36-95、YS36-60、YS36-61、YS36-62、YS36-63、YS36-64、YS36-65、YS36-66、YS36-67、YS36-68、YS36-69、YS36-70、YS36-71、和化合物实施例80-135、或其类似物。

[0092] 在一些方面,该文献提供治疗细胞周期蛋白依赖性激酶4/6 (CDK4/6) 介导的癌症的方法,所述方法包括向患有CDK4/6介导的癌症的有需要的受试者施用包括缀合至降解/

破坏标签的CDK4/6配体的一种或多种二价化合物。CDK4/6介导的癌症可以为相对于相同物种和组织类型的野生型组织过表达细胞周期蛋白依赖性激酶4 (CDK4) 和/或细胞周期蛋白依赖性激酶6 (CDK6) 的癌症。CDK4/6介导的癌症相对于相同物种和组织类型的野生型组织, 可以具有升高的CDK4和/或CDK6酶活性。CDK4/6介导的癌症的非限制性实例包括间皮瘤、肝细胞癌、中枢神经系统肿瘤、肺癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、黑色素瘤、卵巢癌、结肠癌、直肠癌、肛门癌、胃癌、胃肠癌、乳腺癌(例如, 雌激素受体阳性(ER+) 乳腺癌)、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌、外阴癌、食道癌、胃肠癌、内分泌癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、前列腺癌、睾丸癌、白血病、淋巴瘤、膀胱癌、肾细胞癌、脑干胶质瘤、垂体瘤、肾上腺皮质癌、胆囊癌、多发性骨髓瘤、胆管癌、纤维肉瘤、神经母细胞瘤和/或视网膜母细胞瘤。CDK4/6介导的癌症可以为复发性癌症。CDK4/6介导的癌症可以对一种或多种先前的治疗是难以治愈的。

[0093] 在任意上述方法中, 二价化合物可以为XY028-082、XY028-003、XY028-004、XY028-005、XY019-098、XY028-006、XY028-007、XY028-008、XY028-009、XY028-085、XY028-084、XY028-083、XY028-132、XY028-133、XY019-106、XY028-162、XY028-163、XY028-002、XY028-114、XY028-097、XY019-108、XY028-105、XY028-106、XY028-140、XY028-141、XY028-142、XY028-143、XY028-144、XY028-145、YX26-56、YX26-66、YX26-58、YX30-108、YX30-107、YX30-85、YX30-86、YX30-117、YX30-118、YX30-126、YX30-125、XY028-186、YX33-29、YX33-31、YX33-74、YX33-94、YX33-108、YX33-96、YX33-97、YX33-109、YX33-110、YX33-112、YX33-123、YX35-48、YX39-47、YX39-48、YX39-56、YX39-65、YX39-74、YX39-123、YX39-124、YX39-147、YX44-18、YX44-19、YX44-22、YX44-46、YX44-48、YX44-78、YS36-95、YS36-60、YS36-61、YS36-62、YS36-63、YS36-64、YS36-65、YS36-66、YS36-67、YS36-68、YS36-69、YS36-70、YS36-71、和化合物实施例80-135、或其类似物。

[0094] 在公开方法的一些实施方案中, 二价化合物可以, 例如经口服、胃肠外、皮内、皮下、局部、和/或直肠施用。

[0095] 任意上述方法可以进一步包括用用于治疗癌症的一种或多种另外的治疗方案治疗受试者。用于治疗癌症的一种或多种另外的治疗方案可以为例如, 手术、化学疗法、放射疗法、激素疗法、或免疫疗法中的一种或多种。

[0096] 本文另外地提供识别介导CDK4和/或CDK6的降解/破坏的二价化合物的方法, 该方法包括提供包括缀合至降解/破坏标签的CDK4/6配体的异端双功能试验化合物(heterobifunctional test compound), 使异端双功能试验化合物与包含泛素连接酶、以及CDK4和CDK6的至少一种的细胞(例如, 如CDK4/6介导的癌细胞等癌细胞)接触。该方法可以包括确定细胞中CDK4或CDK6水平是否降低, 并且(i) 如果细胞中CDK4水平降低并且细胞中CDK6水平不降低, 则将异端双功能试验化合物识别为介导CDK4的降解/减少的二价化合物, (ii) 如果细胞中CDK6水平降低并且细胞中CDK4水平不降低, 则将异端双功能试验化合物识别为介导CDK6的降解/减少的二价化合物, 或者(iii) 如果细胞中CDK4和CDK6两者水平都降低, 则将异端双功能试验化合物识别为介导CDK4和CDK6的降解/减少的二价化合物。

[0097] 如本文所用, 将术语“约(about)”和“大约(approximately)”定义为在给定值或状态的正或负10%内, 优选在所述值或状态的正或负5%内。

[0098] 除非另外定义, 否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普

通技术人员通常理解的含义相同的含义。本文描述了用于本发明的方法和材料；另外，也可以使用本领域已知的合适方法和材料。材料、方法和实施例仅是说明性的而非限制性的。本文提及的所有出版物、专利申请、专利、序列、数据库条目和其它参考文献通过引用其整体并入本文。在发生冲突的情况下，以本说明书(包括定义)为准。

[0099] 从以下详细的说明和附图、以及从权利要求中，本发明的其它特征和优点将变得显而易见。

附图说明

[0100] 图1为示出不同浓度的各种CDK4/6抑制剂对CDK4/6活性(通过Rb磷酸化(pRb水平)证明)和Rb/E2F下游靶标PLK1和细胞周期蛋白A的表达的影响的一系列蛋白质印迹。帕博西尼(PB)处理的乳腺癌细胞(A)；玻玛西尼(AB)处理的乳腺癌细胞(B)；PB处理的黑色素瘤细胞(C)；AB处理的黑色素瘤细胞(D)；219476处理的乳腺癌细胞(E)。

[0101] 图2为示出在指定的乳腺癌细胞中不同浓度的各种CDK4/6抑制剂对PLK1和细胞周期蛋白A(CCNA2)mRNA水平的影响的一系列柱状图。

[0102] 图3为示出在黑色素瘤细胞中不同浓度的PB对PLK1和细胞周期蛋白A(CCNA2)mRNA水平的影响的一系列柱状图。

[0103] 图4为示出不同浓度的各种CDK4/6抑制剂对细胞周期进程的影响的一系列柱状图。

[0104] 图5为示出不同浓度的各种CDK4/6抑制剂对CDK4或CDK6表达的影响的一系列蛋白质印迹。PB-或AB-处理的乳腺癌细胞(A)；PB-处理的黑色素瘤细胞(B)；AB-处理的黑色素瘤细胞(C)。

[0105] 图6为示出不同浓度的各种CDK4/6抑制剂对CDK4mRNA水平的影响的一系列柱状图。

[0106] 图7为示出不同浓度的各种CDK4/6抑制剂对异位表达的V5标记的CDK4或CDK6的影响的一系列蛋白质印迹。

[0107] 图8为示出不同浓度的各种CDK4/6抑制剂对异位表达的CDK4(A)、或内源的CDK4(B)的泛素化的影响的一系列拉下实验(pull-down assays)。

[0108] 图9为示出帕博西尼在ER+乳腺癌细胞、帕博西尼抗性ER+乳腺癌细胞(a)和黑色素瘤细胞(b)中抑制Rb磷酸化的功效的一系列蛋白质印迹。

[0109] 图10为示出各种CDK4/6降解剂在MCF7乳腺癌细胞(A)或T47D乳腺癌细胞(B)中抑制CDK4/6活性和抑制CDK4/6表达的功效的一系列蛋白质印迹。

[0110] 图11为示出具有不同连接子的各种CDK4/6降解剂在黑色素瘤细胞中抑制CDK4/6活性和抑制CDK4/6表达的功效的一系列蛋白质印迹(A、B、和C)。

[0111] 图12为示出具有不同连接子的各种CDK4/6降解剂在黑色素瘤细胞中抑制CDK4/6活性和抑制CDK4/6表达的功效的一系列蛋白质印迹(A、B、C、和D)。

[0112] 图13为示出各种CDK4/6降解剂在黑色素瘤细胞中抑制CDK4/6活性和抑制CDK4/6表达的效果的一系列蛋白质印迹。

[0113] 图14为示出各种CDK4/6降解剂在黑色素瘤细胞中抑制CDK4/6活性和抑制CDK4/6表达的效果的一系列蛋白质印迹。

[0114] 图15为示出各种CDK4/6降解剂在乳腺癌细胞(A)和黑色素瘤细胞(B)中抑制CDK4/6活性和抑制CDK4/6表达的效果的一系列蛋白质印迹。

[0115] 图16为示出各种CDK4/6降解剂在黑色素瘤细胞中抑制CDK4/6活性和抑制CDK4/6表达的效果的一系列蛋白质印迹(A和B)。

[0116] 图17为示出各种CDK4/6降解剂在乳腺癌细胞中抑制CDK4/6活性和抑制CDK4/6表达的效果的一系列蛋白质印迹。

[0117] 图18为示出各种CDK4/6降解剂在黑色素瘤细胞中抑制CDK4/6活性和抑制CDK4/6表达的效果的一系列蛋白质印迹。

[0118] 图19为示出各种CDK4/6降解剂在乳腺癌细胞中抑制CDK4/6活性和抑制CDK4/6表达的效果的一系列蛋白质印迹。

[0119] 图20为示出CDK4/6降解剂XY028-133抑制黑色素瘤细胞的细胞增殖的效果的一系列图像。

[0120] 图21为示出CDK4/6降解剂XY028-133抑制黑色素瘤细胞的细胞增殖的效果的一系列集落形成实验(clonogenic assays)。

[0121] 图22为示出各种CDK4/6降解剂抑制乳腺癌细胞的细胞增殖的效果的一系列集落形成实验。

[0122] 图23为示出各种CDK4/6降解剂抑制乳腺癌细胞的细胞增殖的效果的一系列集落形成实验。

具体实施方式

[0123] 本公开部分地基于以下发现:选择性降解CDK4、CDK6、或者CDK4和CDK6两者的新型异端双功能小分子(“蛋白水解靶向嵌合分子(Proteolysis Targeting Chimeras)”或“PROTAC”)在CDK4/6介导的癌症,特别是雌激素受体(ER)阳性(ER+)乳腺癌的治疗中是有用的。

[0124] 由小分子诱导的靶蛋白的选择性降解/破坏的成功策略包括募集E3泛素连接酶和用疏水性标签模拟蛋白质错误折叠(Buckley和Crews,2014)。PROTAC为二价抑制剂,其中一部分与E3泛素连接酶结合,和另一部分与目标靶蛋白结合(Buckley和Crews,2014)。诱导的接近导致目标的泛素化,然后它们在蛋白酶体处降解。已经识别/开发了两种类型的高亲和性小分子E3连接酶配体:与cullin-RING泛素连接酶(CRL)复合物的组分cereblon(CRBN或CRL4CRBN)结合的如沙利度胺和泊马度胺等免疫调节药物(IMiD)(Ito等人,2010;Chamberlain等人,2014;Fischer等人,2014;Bondeson等人,2015;Winter等人,2015);和与另一CRL复合物的组分冯希佩尔-林道蛋白(van Hippel-Lindau protein)(VHL或CRL2VHL)结合的含羟脯氨酸的配体VHL-1(Buckley等人,2012;Buckley等人,2012;Galdeano等人,2014;Bondeson等人,2015;Zengerle等人,2015)。PROTAC技术已经成功地应用于多个目标的降解(Bondeson等人,2015;Buckley等人,2015;Lu等人,2015;Winter等人,2015;Zengerle等人,2015;Lai等人,2016),但是不能应用于CDK4/6的降解。此外,已经开发出利用大体积且疏水性的金刚烷基的疏水标记方法来模拟蛋白质错误折叠,导致通过蛋白酶体的靶蛋白降解(Buckley和Crews,2014)。该方法也已经成功地应用于假激酶Her3的选择性降解(Xie等人,2014),但是不能应用于CDK4/6的降解。

[0125] 如以下实例中所讨论的,本公开提供了新型CDK4/6降解剂/破坏剂的具体实例,并且检测了示例性降解剂/破坏剂在抑制/破坏CDK4/6活性,抑制CDK4/6表达,和抑制癌细胞增殖中的效果。结果表明这些新型小分子在治疗癌症,特别是乳腺癌、黑色素瘤、和肺癌中是有利的。

[0126] 最近发现了许多选择性小分子CDK4/6催化抑制剂,例如帕博西尼、玻玛西尼、瑞博西尼、曲拉西尼(G1T28)、G1T38、和SHR6390。这些抑制剂中的一些已经处于用于治疗ER+乳腺癌的临床试验中。然而,这些抑制剂当单独施用显示非常有限的成功;相反,它们必须与如内分泌疗法等第二疗法共同施用,导致增加的脱靶效应和毒性。此外,即使当与第二疗法共同施用,在试验中治疗的大多数患者早在14个月就已经产生抗性。

[0127] 令人惊讶的是,发现除毒性问题之外,当CDK4/6抑制剂以高浓度施用甚至不能抑制CDK4/6活性(实施例5,图1)。事实上,在帕博西尼或玻玛西尼浓度与Rb/E2F下游靶标PLK1和细胞周期蛋白A的表达之间存在正相关(实施例6,图2和3),以及在抑制剂浓度与细胞周期进程的抑制之间存在相应的负相关(实施例7,图4)。发现这是因为,尽管CDK4/6抑制剂能够抑制CDK4和CDK6的活性,但是这些抑制剂实际上(意外地)使CDK4和CDK6二者的表达上调,其中在抑制剂浓度与CDK4/6表达之间呈正相关(实施例8,图5)。CDK4/6抑制剂不使CDK4和CDK6在mRNA水平上的表达上调(实施例8,图6和7);相反,抑制剂通过阻止CDK4/6泛素化而保护CDK4/6免于降解(实施例9,图8)。与上述结果一致,增加的CDK4/6表达与降低的CDK4/6抑制剂功效相关(实施例10,图9)。这表明CDK4/6抑制剂仅具有窄的活性窗口并且表明如果癌细胞对抑制剂产生抗性,则不能简单地增加抑制剂剂量来克服抗性。

[0128] 目前靶向CDK4/6的药物通常聚焦于其催化功能的抑制。此处,采取了不同的方法:开发直接地和选择性地不仅靶向CDK4/6的催化功能、而且靶向它们在蛋白质水平上的表达水平的化合物。诱导蛋白质降解的策略包括募集E3泛素连接酶,用疏水性标签模拟蛋白质错误折叠,和抑制伴侣蛋白。例如,沙利度胺-JQ1二价化合物已经用于劫持cereblon E3连接酶,在体外和体内诱导高选择性BET蛋白降解,结果确证小鼠白血病发展的延迟(Winter等人,2015)。类似地,还通过另一种E3连接酶VHL诱导了BET蛋白降解(Zengerle等人,2015)。使用金刚烷修饰的化合物诱导了Her3的部分降解(Xie等人,2014)。基于使用二价小分子化合物的此类方法与如基因敲除或shRNA敲低等技术相比使在体外和体内蛋白质表达的调节更灵活。与基因敲除或shRNA敲低不同,小分子方法进一步提供了通过改变相关小分子的施用浓度和频率来研究疾病模型中的剂量和时间依赖性的机会。

[0129] PROTAC

[0130] 在一些方面,本公开提供二价化合物,在本文中也称为PROTAC,其包括缀合至降解标签的CDK4/6配体(或靶向部分)。CDK4/6配体与降解标签的连接可以是直接的,或者通过连接子间接的。

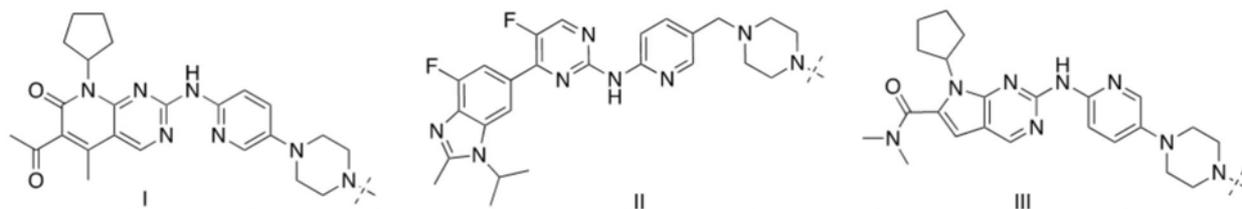
[0131] 如本文所用,术语“细胞周期蛋白依赖性激酶4/6(CDK4/6)配体”或“CDK4/6配体”或“CDK4/6靶向部分”应被广义地解释,并且涵盖与CDK4、CDK6、或者CDK4和CDK6两者相关或结合的范围从小分子至大蛋白质的宽范围的分子。CDK4/6配体或靶向部分可以为,例如,小分子化合物(即,分子量小于约1.5千道尔顿(kDa)的分子)、肽或多肽、核酸或寡核苷酸、如寡糖等碳水化合物、或者抗体或其片段。

[0132] CDK4/6配体或靶向部分可以为能够干扰CDK4、CDK6、或者CDK4和CDK6两者的酶活

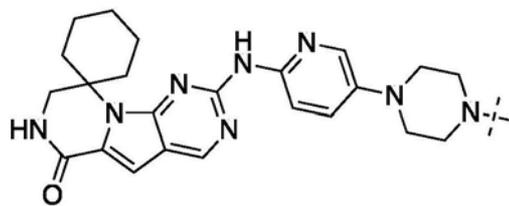
性的CDK4/6抑制剂(例如,玻玛西尼、帕博西尼、瑞博西尼、曲拉西尼(G1T28)、G1T38、SHR6390、及其类似物)。如本文所用,如本文所用,“抑制剂”是指限制、延迟或以其它方式引起生理、化学或酶作用或功能的抑制的药剂。抑制剂可以导致酶活性降低至少5%。抑制剂还可以或者可选地指防止或减少基因或蛋白质的表达、转录、或翻译的药物、化合物或药剂。抑制剂可以例如,通过结合至或激活/钝化另一种蛋白质或受体来减少或防止蛋白质的功能。

[0133] 示例性CDK4/6配体包括,但不限于,以下所示的化合物。

[0134]



[0135]



IV。

[0136] 如本文所用,术语“降解/破坏标签”是指与泛素连接酶相关或结合以将相应的泛素化机制募集至CDK4、CDK6、或CDK4和CDK6两者,或者诱导CDK4、CDK6、或者CDK4和CDK6两者蛋白质错误折叠和随后的在蛋白酶体处的降解或功能的丧失的化合物。

[0137] 在一些方面,本公开的降解/破坏标签包括,例如,沙利度胺、泊马度胺、来那度胺、VHL-1、金刚烷、1-((4,4,5,5,5-五氟戊基)亚磺酰基)壬烷、nutlin-3a、RG7112、RG7338、AMG232、AA-115、贝他定、MV-1、LCL161、和/或其类似物。

[0138] 如本文所用,“连接子”是使两个独立的实体彼此结合的键、分子、或分子的组。连接子可以提供两个实体的最佳间距。在一些方面,术语“连接子”是指将CDK4/6配体桥接至降解/破坏标签的任意试剂或分子。本领域普通技术人员认识到对于本公开的PROTAC的功能不是必需的CDK4/6配体或降解/破坏标签上的位点是附接连接子的理想位点,条件是连接子一旦附接至本公开的缀合物,不会干扰PROTAC的功能,即其靶向CDK4/6和募集泛素连接酶的能力。

[0139] 可以调整二价化合物的连接子的长度以使破坏剂/降解剂的分子量最小化,并且避免CDK4/6配体或靶向部分与泛素连接酶的冲突,或者同时通过疏水性标签诱导CDK4/6错误折叠。

[0140] 在一些实施方案中,本公开的降解/破坏标签包括,例如,沙利度胺、泊马度胺、来那度胺、VHL-1、金刚烷、1-((4,4,5,5,5-五氟戊基)亚磺酰基)壬烷、nutlin-3a、RG7112、RG7338、AMG232、AA-115、贝他定、MV-1、LCL161、和其类似物。降解/破坏标签可以用不同类型和长度的连接子附接至CDK4/6配体或靶向部分(例如,玻玛西尼、帕博西尼、瑞博西尼、曲拉西尼(G1T28)、G1T38、或SHR6390)结构中的各目的部分,以产生有效的二价化合物。特别地,将沙利度胺附接至分子的任一部分可以将cereblon E3连接酶募集至CDK4/6,而不引起

与CDK4/6/HSP90/CDC37复合物的破坏性空间相互作用。

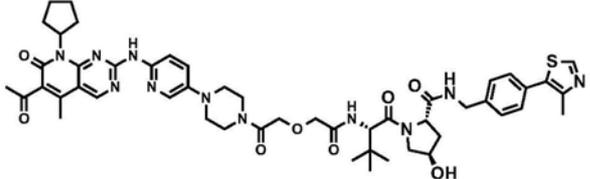
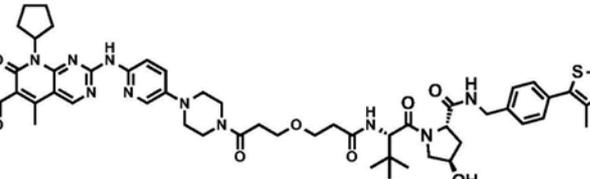
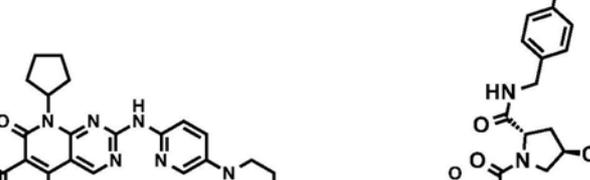
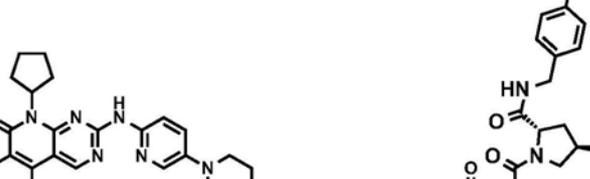
[0141] 本文公开的二价化合物与WT细胞相比,可以选择性地影响CDK4/6介导的癌细胞(例如,ER+细胞)(即,CDK4/6降解剂/破坏剂能杀死CDK4/6介导的癌细胞或抑制CDK4/6介导的癌细胞的生长,同时还具有相对低的裂解WT细胞或抑制WT细胞的生长的能力),例如,对于一种或多种CDK4/6介导的癌细胞的GI₅₀比其对于一种或多种WT细胞,例如,与CDK4/6介导的癌细胞相同的物种和组织类型的WT细胞的GI₅₀低大于1.5倍、低大于2倍、低大于2.5倍、低大于3倍、低大于4倍、低大于5倍、低大于6倍、低大于7倍、低大于8倍、低大于9倍、低大于10倍、低大于15倍、或低大于20倍。

[0142] 可以使用本文公开的原理和方法开发另外的二价化合物(即,CDK4/6降解剂/破坏剂)。例如,可以合成和试验其它连接子、降解标签、和CDK4/6结合/抑制部分(不限于玻玛西尼、帕博西尼、瑞博西尼、曲拉西尼(G1T28)、G1T38、和SHR6390)。CDK4/6破坏剂/降解剂(例如,二价化合物)的非限制性实例示于表1(以下)中。CDK4/6破坏剂/降解剂的左侧部分结合至CDK4/6(如玻玛西尼、帕博西尼、瑞博西尼、曲拉西尼(G1T28)、G1T38、和SHR6390所进行),和右侧部分针对泛素化机制募集至CDK4/6,这诱导CDK4和CDK6的多泛素化和降解,或者诱导CDK4/6错误折叠和随后的功能丧失或在蛋白酶体处的降解。

[0143] 二价化合物的非限制性实例列于下表1中。

[0144] 表1

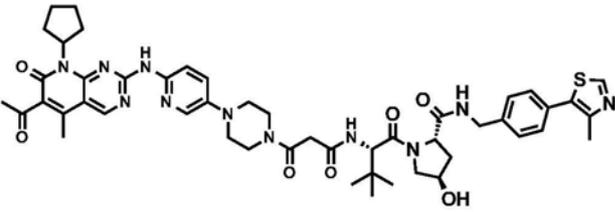
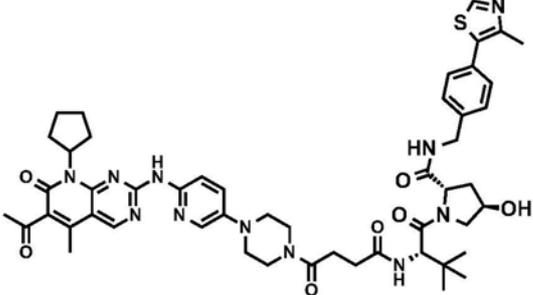
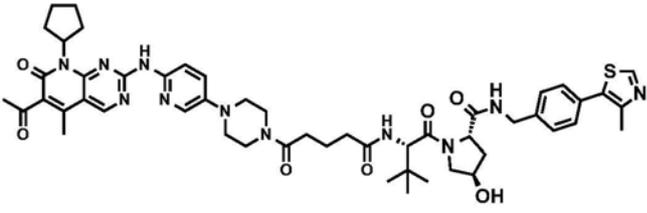
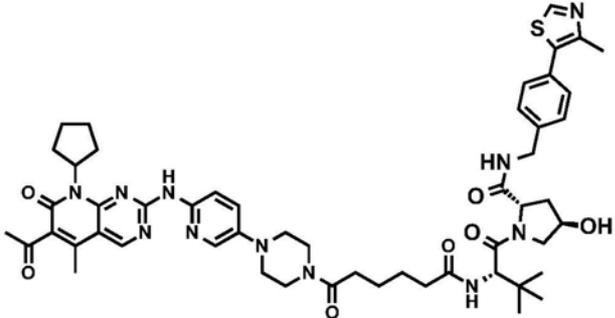
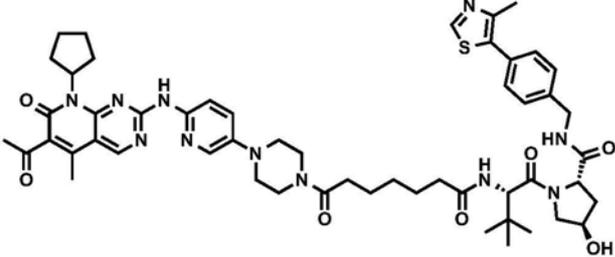
[0145]

化合物实例号	化合物编号	结构	化学名称
1	XY028-082		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(2-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
2	XY028-003		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(3-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)丙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
3	XY028-004		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(2-(2-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)乙氧基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
4	XY028-005		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(3-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)丙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺

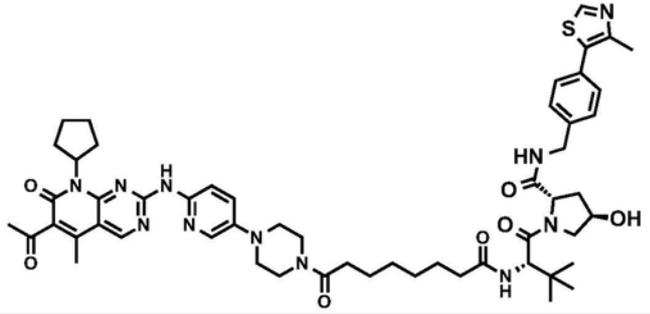
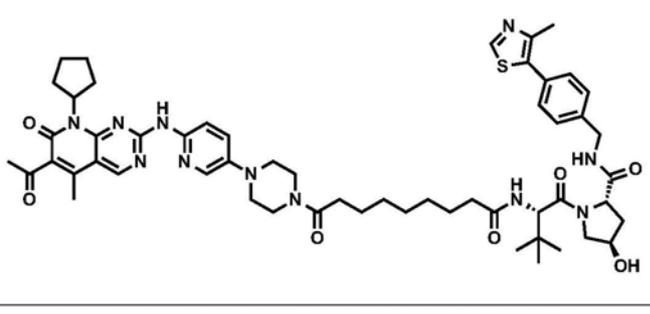
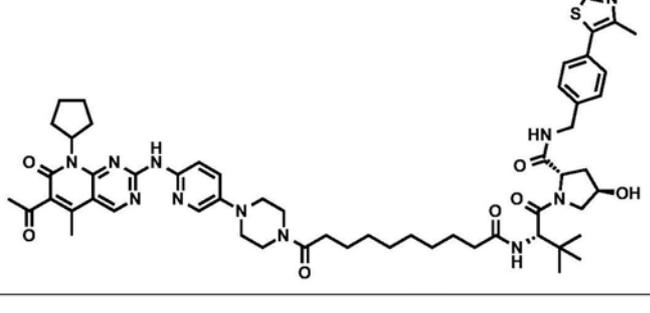
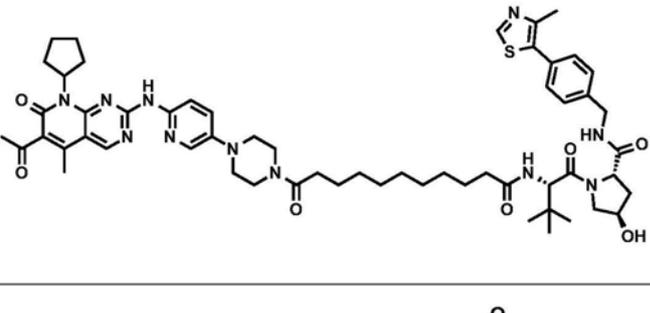
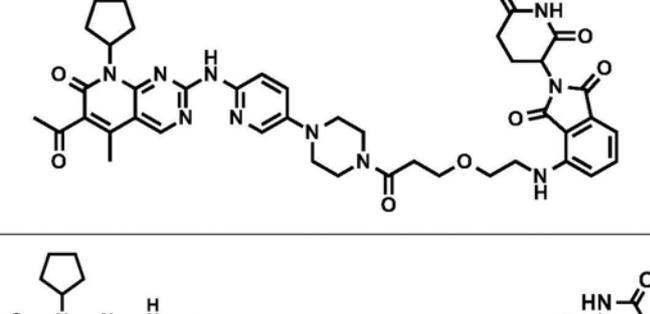
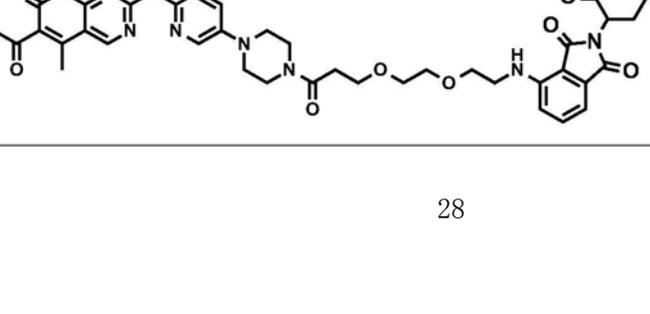
[0146]

5	XY019-098		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-14-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-(叔丁基)-4,14-二氧代-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
6	XY028-006		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-16-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-(叔丁基)-4,16-二氧代-7,10,13-三氧杂-3-氮杂十六烷酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
7	XY028-007		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-19-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-(叔丁基)-4,19-二氧代-7,10,13,16-四氧杂-3-氮杂十九烷酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
8	XY028-008		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-20-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-(叔丁基)-4,20-二氧代-6,9,12,15,18-五氧杂-3-氮杂二十烷酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
9	XY028-009		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-22-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-(叔丁基)-4,22-二氧代-7,10,13,16,19-五氧杂-3-氮杂二十二烷酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺

[0147]

10	XY028-085		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啉-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
11	XY028-084		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啉-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
12	XY028-083		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(5-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啉-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-5-氧代戊酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
13	XY028-132		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(6-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啉-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-6-氧代己酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
14	XY028-133		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啉-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺

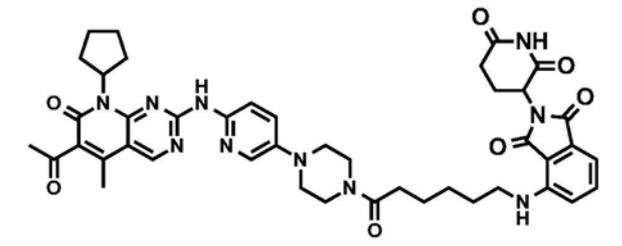
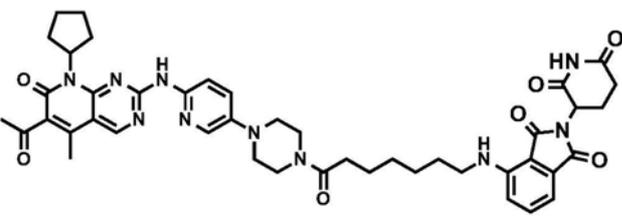
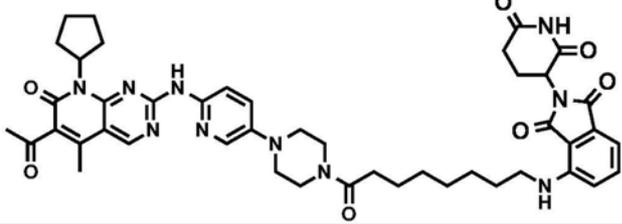
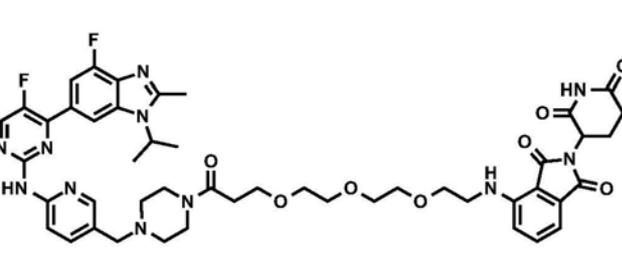
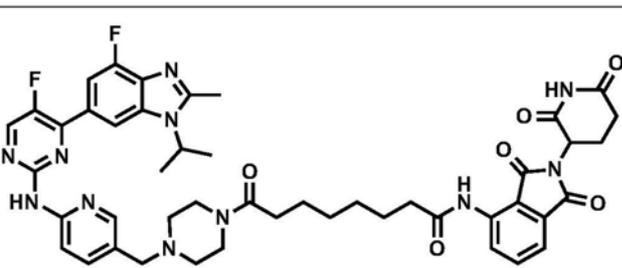
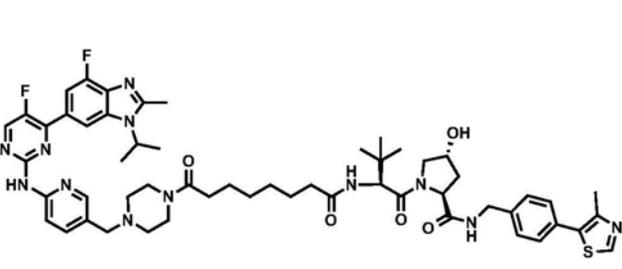
[0148]

15	XY019-106		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
16	XY028-162		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(9-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-9-氧代壬酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
17	XY028-163		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(10-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-10-氧代癸酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
18	XY028-002		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(11-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-11-氧代十一烷酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
19	XY028-114		4-((2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮
20	XY028-097		4-((2-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异

[0149]

21	XY019 -108		吡啶啉-1,3-二酮 4-((2-(2-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吡啶啉-1,3-二酮
22	XY028 -105		4-((15-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-15-氧代-3,6,9,12-四氧杂十五烷基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吡啶啉-1,3-二酮
23	XY028 -106		4-((18-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-18-氧代-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吡啶啉-1,3-二酮
24	XY028 -140		4-((2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吡啶啉-1,3-二酮
25	XY028 -141		4-((3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吡啶啉-1,3-二酮
26	XY028 -142		4-((4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吡啶啉-1,3-二酮

[0150]

27	XY028-143		4-((6-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-6-氧代己基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮
28	XY028-144		4-((7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮
29	XY028-145		4-((8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮
30	YX26-56		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((2-(2-(2-(3-(4-((5-氟-4-(4-氟-1-异丙基-2-甲基-1 <i>H</i> -苯并[<i>d</i>]咪唑-6-基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮
31	YX26-66		<i>N</i> -(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)-8-(4-((6-((5-氟-4-(4-氟-1-异丙基-2-甲基-1 <i>H</i> -苯并[<i>d</i>]咪唑-6-基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛酰胺
32	YX26-58		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(8-(4-((6-((5-氟-4-(4-氟-1-异丙基-2-甲基-1 <i>H</i> -苯并[<i>d</i>]咪唑-6-基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺

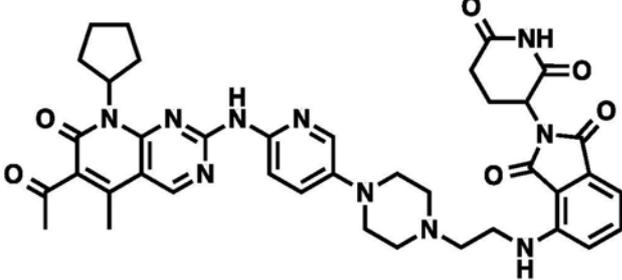
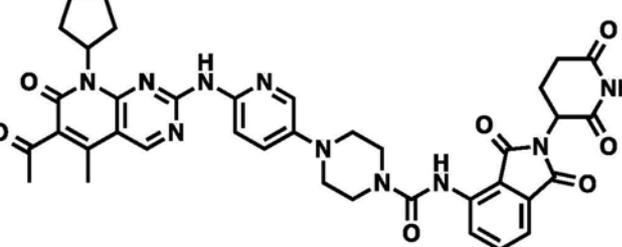
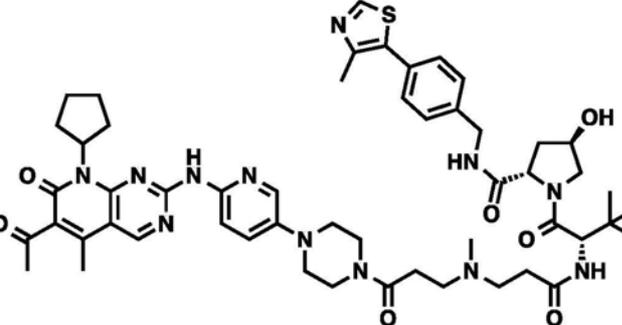
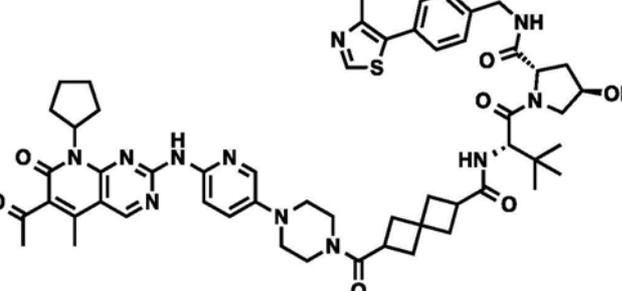
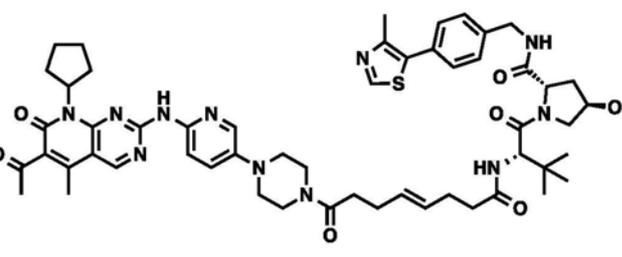
[0151]

33	YX30-108		7-环戊基-2-((5-(4-(6-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-6-氧代己酰基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基)氨基)-N,N-二甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺
34	YX30-107		7-环戊基-2-((5-(4-(7-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-7-氧代庚酰基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基)氨基)-N,N-二甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺
35	YX30-85		7-环戊基-2-((5-(4-(8-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-8-氧代辛酰基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基)氨基)-N,N-二甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺
36	YX30-86		7-环戊基-2-((5-(4-(3-(3-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-氧代丙氧基)丙酰基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基)氨基)-N,N-二甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺
37	YX30-117		(2S,4R)-1-((S)-2-(6-(4-((6-((5-氟-4-(4-氟-1-异丙基-2-甲基-1H-苯并[d]咪唑-6-基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)-6-氧代己酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺

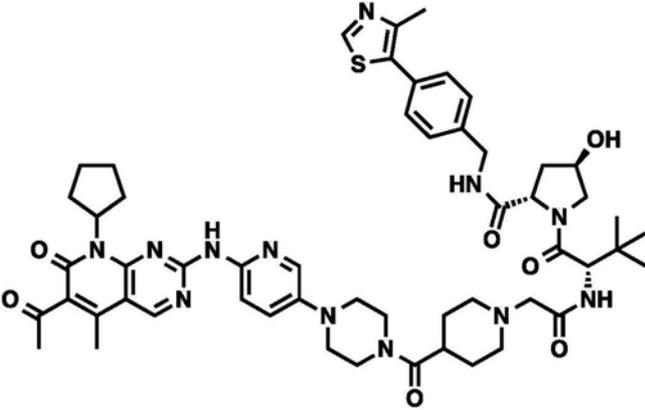
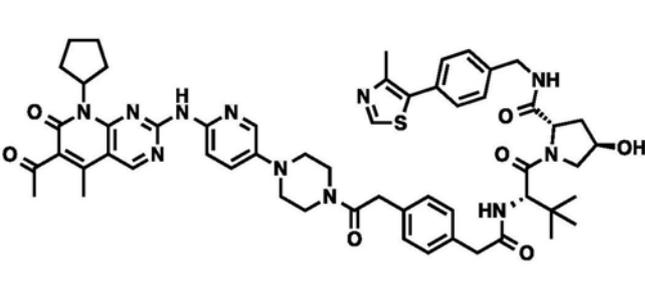
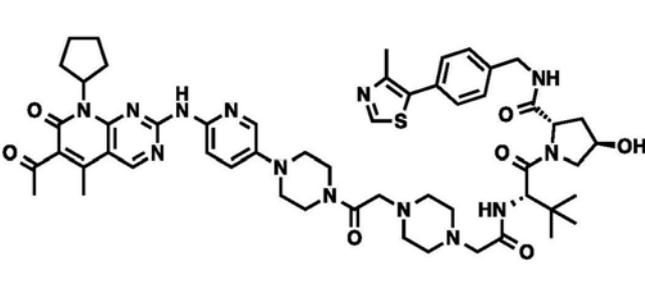
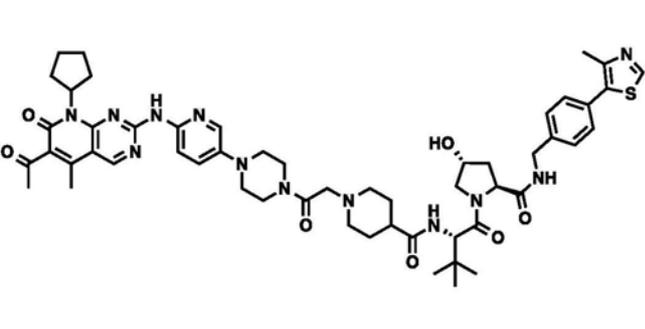
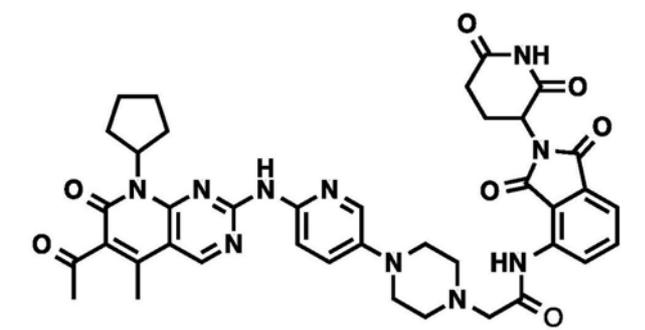
[0152]

38	YX30-118		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(7-(4-((6-((5-氟-4-(4-氟-1-异丙基-2-甲基-1 <i>H</i> -苯并[<i>d</i>]咪唑-6-基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
39	YX30-126		7-环戊基-2-((5-(4-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)甘氨酸)哌嗪-1-基)吡啶-2-基)氨基)- <i>N,N</i> -二甲基-7 <i>H</i> -吡咯并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-6-甲酰胺
40	YX30-125		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((2-(4-((6-((5-氟-4-(4-氟-1-异丙基-2-甲基-1 <i>H</i> -苯并[<i>d</i>]咪唑-6-基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮
41	XY028-186		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)庚酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
42	YX33-29		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)辛酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
43	YX33-31		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(6-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)己酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺

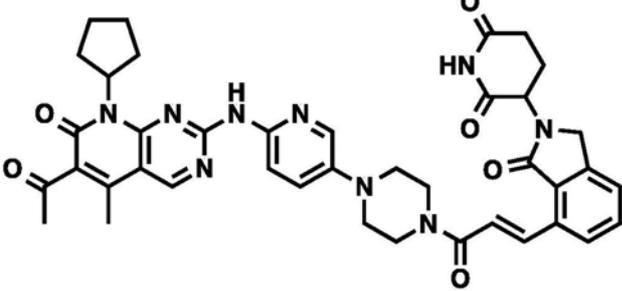
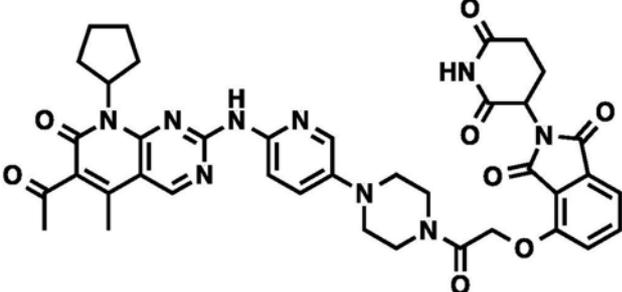
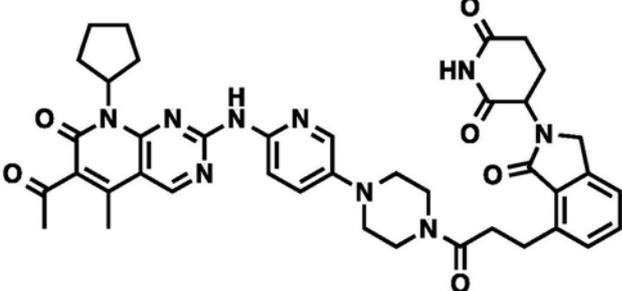
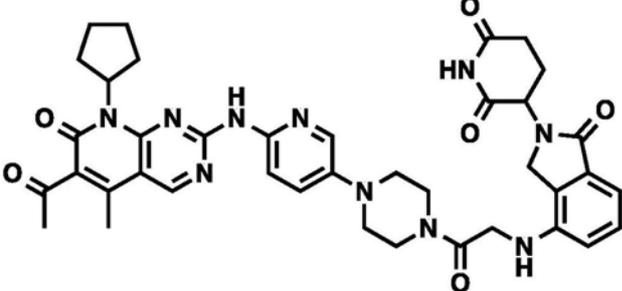
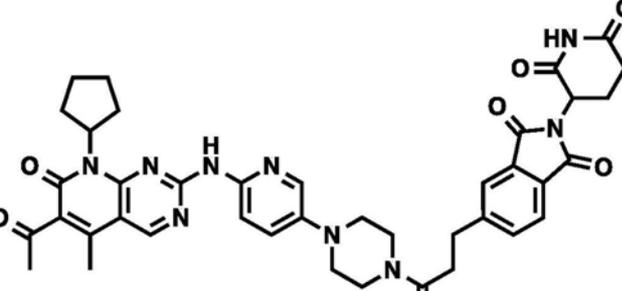
[0153]

44	YX33-74		4-((2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)乙基)氨基)-2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮
45	YX33-94		4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)- <i>N</i> -(2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1,3-二氧化异吲哚啉-4-基)哌嗪-1-甲酰胺
46	YX33-108		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(3-((3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)(甲基)氨基)丙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
47	YX33-96		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(6-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-羧基)螺[3.3]庚烷-2-甲酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
48	YX33-97		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-((<i>E</i>)-8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛-4-烯酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺

[0154]

49	YX33-109		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(2-(4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-羰基)哌啶-1-基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
50	YX33-110		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(2-(4-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)苄基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
51	YX33-122		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(2-(4-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)哌嗪-1-基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
52	YX33-123		1-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)- <i>N</i> -(<i>S</i>)-1-((2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)哌啶-4-甲酰胺
53	YX35-48		2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)- <i>N</i> -(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)乙酰胺

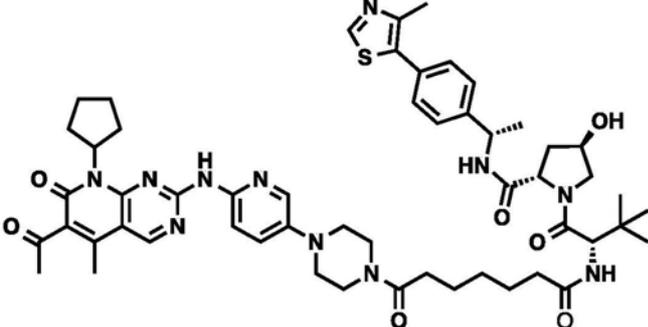
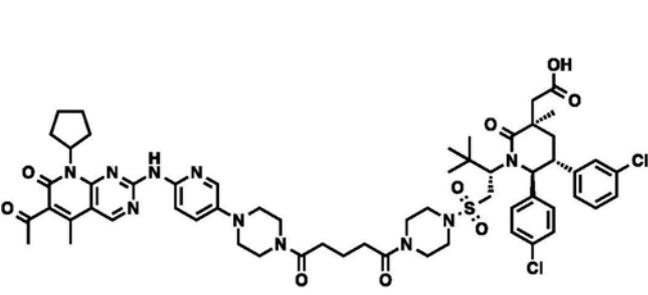
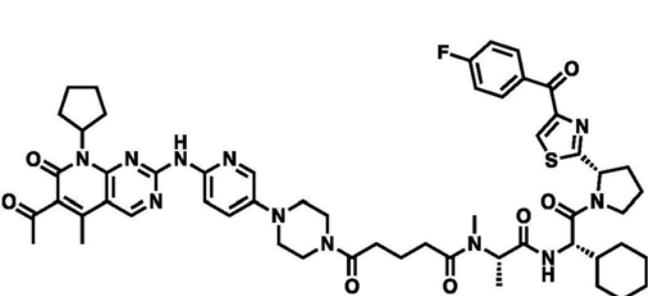
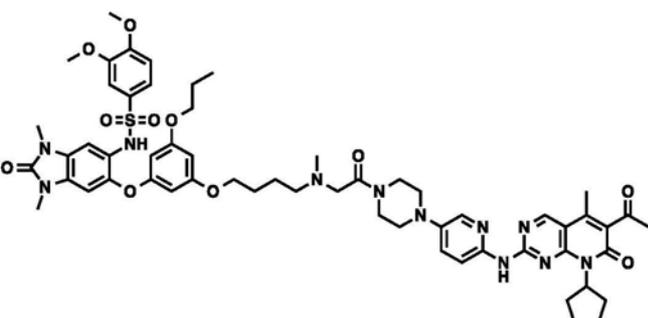
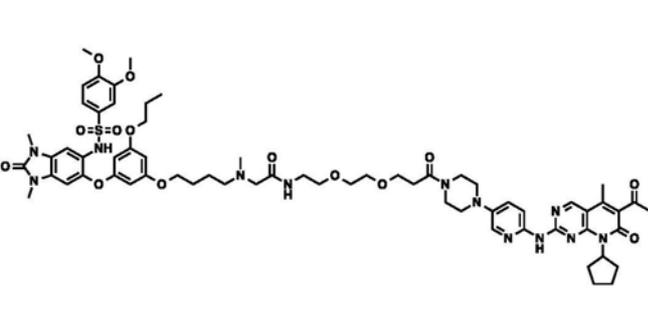
[0155]

54	YX39-47		(E)-3-(7-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙-1-烯-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
55	YX39-48		4-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)-2-(2,6-二氧化代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮
56	YX39-56		3-(7-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
57	YX39-65		3-(4-((2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
58	YX39-74		5-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)-2-(2,6-二氧化代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮

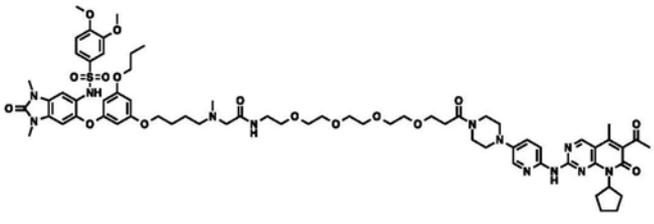
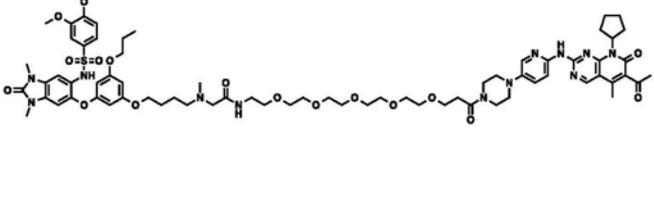
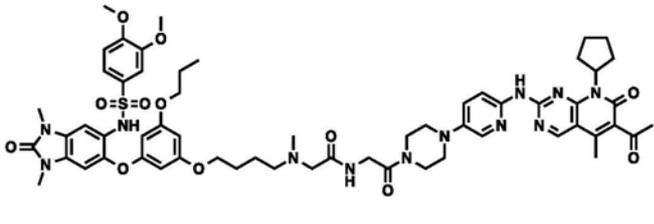
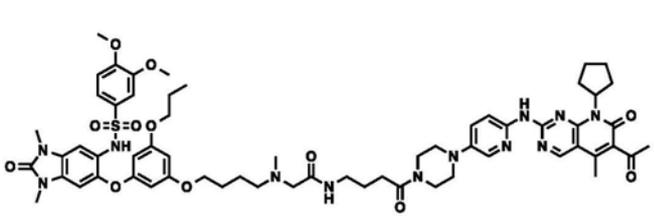
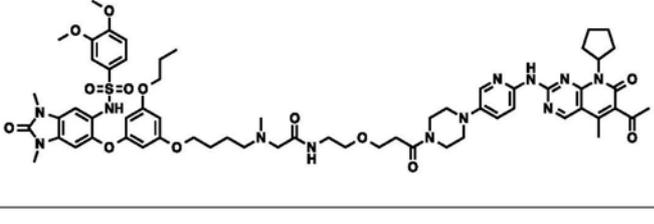
[0156]

59	YX39-123		3-(4-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
60	YX39-124		3-(4-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
61	YX39-147		4-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮
62	YX44-18		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)-1,4-二氮杂环庚烷-1-基)-7-氧代庚酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
63	YX44-19		4-((2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)-1,4-二氮杂环庚烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮

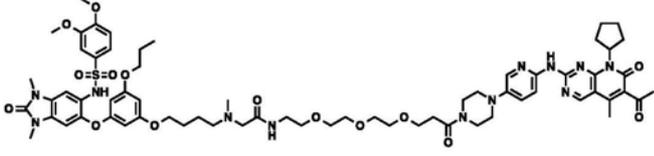
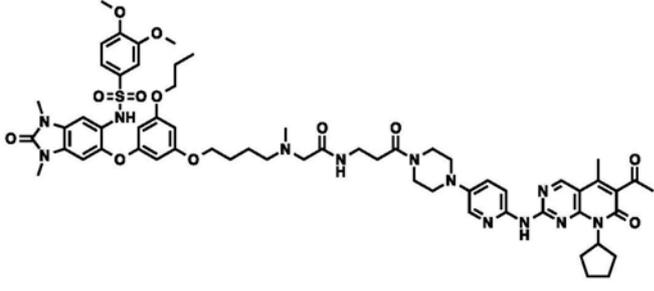
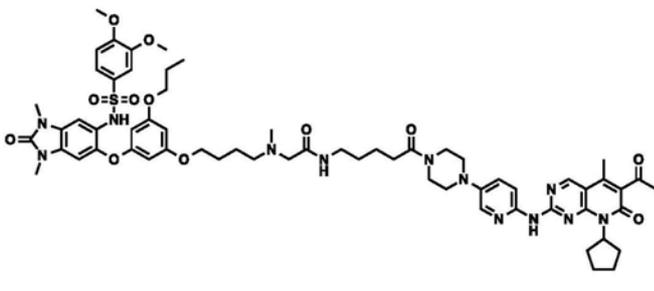
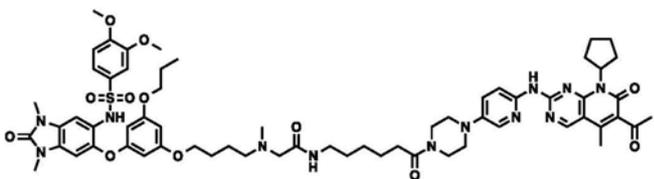
[0157]

64	YX44-22		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-((<i>S</i>)-1-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苯基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺
65	YX44-46		2-((3 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-((<i>S</i>)-1-((4-(5-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-5-氧代戊酰基)哌嗪-1-基)磺酰基)-3,3-二甲基丁烷-2-基)-5-(3-氯苯基)-6-(4-氯苯基)-3-甲基-2-氧代哌啶-3-基)乙酸
66	YX44-48		5-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-((<i>S</i>)-1-环己基-2-((<i>S</i>)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)- <i>N</i> -甲基-5-氧代戊酰胺
67	YS36-95		<i>N</i> -(6-(3-(4-((2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)(甲基)氨基)丁氧基)-5-丙氧基苯氧基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1 <i>H</i> -苯并[<i>d</i>]咪唑-5-基)-3,4-二甲氧基苯磺酰胺
68	YS36-60		<i>N</i> -(2-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)-2-((4-(3-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1 <i>H</i> -苯并[<i>d</i>]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)

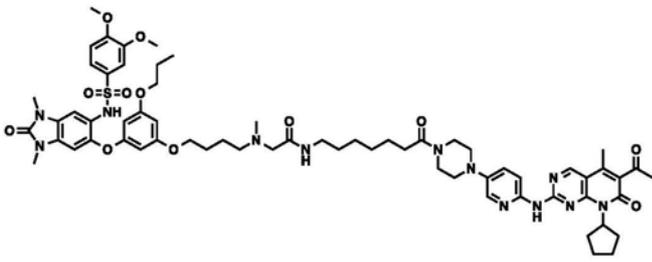
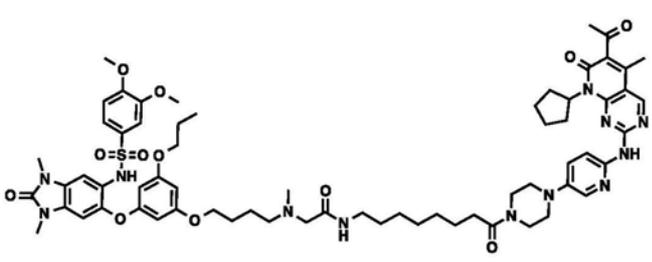
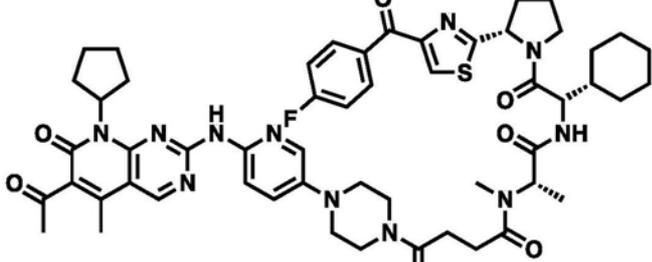
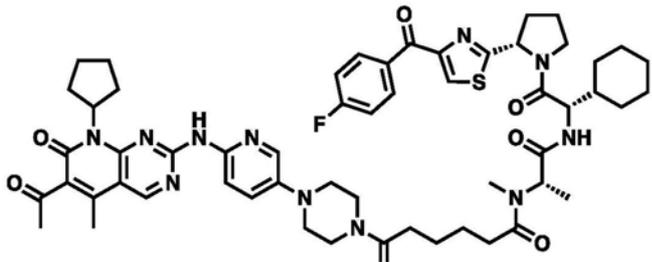
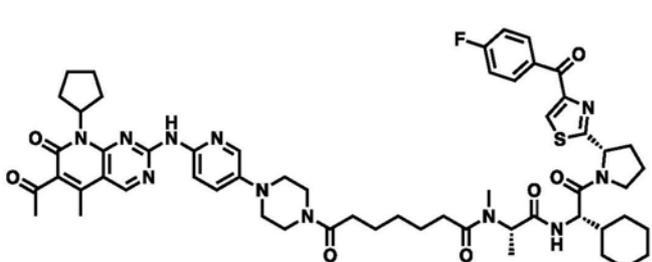
[0158]

69	YS36-61		基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺 N-(15-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-15-氧代-3,6,9,12-四氧杂十五烷基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺
70	YS36-62		基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺 N-(18-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-18-氧代-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺
71	YS36-63		基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺 N-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺
72	YS36-64		基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺 N-(4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺
73	YS36-65		基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺 N-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基

[0159]

			苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1 <i>H</i> -苯并[<i>d</i>]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺
74	YS36-66		<i>N</i> -(2-(2-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1 <i>H</i> -苯并[<i>d</i>]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺
75	YS36-67		<i>N</i> -(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1 <i>H</i> -苯并[<i>d</i>]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺
76	YS36-68		<i>N</i> -(5-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-5-氧代戊基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1 <i>H</i> -苯并[<i>d</i>]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺
77	YS36-69		<i>N</i> -(6-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-6-氧代己基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1 <i>H</i> -苯并[<i>d</i>]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺

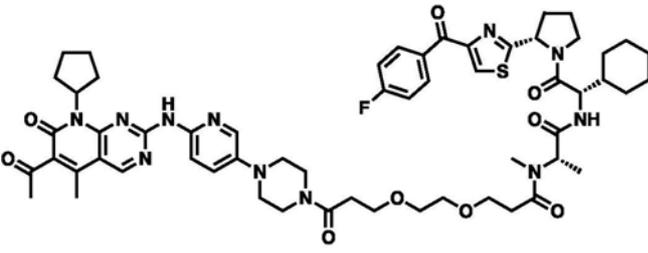
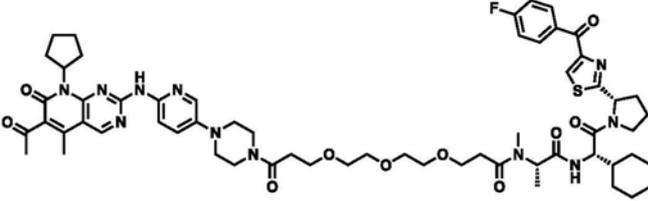
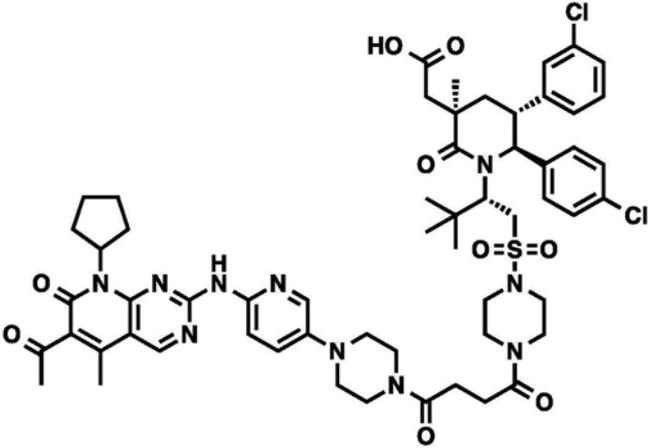
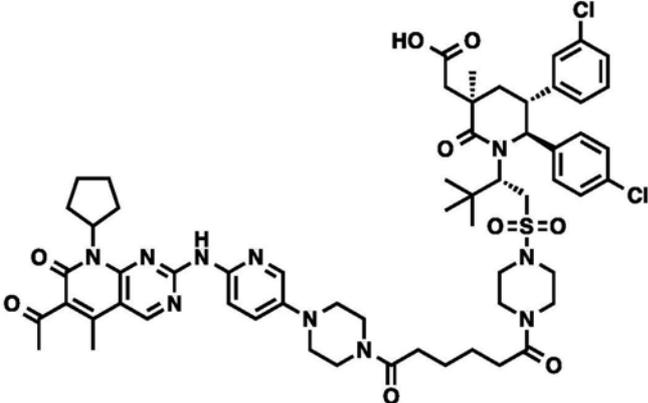
[0160]

78	YS36-70		<p><i>N</i>-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-<i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1<i>H</i>-苯并[<i>d</i>]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基氨基)乙酰胺</p>
79	YS36-71		<p><i>N</i>-(8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-<i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1<i>H</i>-苯并[<i>d</i>]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基氨基)乙酰胺</p>
80			<p>4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-<i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-<i>N</i>-((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-环己基)-2-((<i>S</i>)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)-<i>N</i>-甲基-4-氧代丁酰胺</p>
81			<p>6-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-<i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-<i>N</i>-((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-环己基)-2-((<i>S</i>)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)-<i>N</i>-甲基-6-氧代己酰胺</p>
82			<p>7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-<i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-<i>N</i>-((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-环己基)-2-((<i>S</i>)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)-<i>N</i>-甲基-7-氧代庚酰胺</p>

[0161]

83			8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啉-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-环己基-2-((<i>S</i>)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)- <i>N</i> -甲基-8-氧代辛酰胺
84			9-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啉-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-环己基-2-((<i>S</i>)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)- <i>N</i> -甲基-9-氧代壬酰胺
85			10-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啉-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-环己基-2-((<i>S</i>)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)- <i>N</i> -甲基-10-氧代癸酰胺
86			11-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啉-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-环己基-2-((<i>S</i>)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)- <i>N</i> -甲基-11-氧代十一烷酰胺
87			3-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啉-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-环己基-2-((<i>S</i>)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)- <i>N</i> -甲基-11-氧代十一烷酰胺

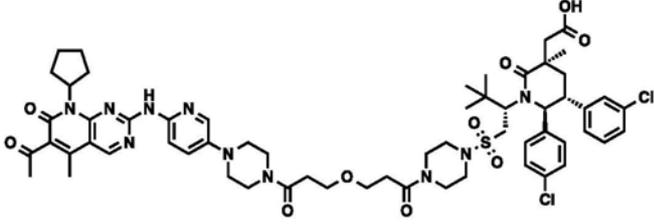
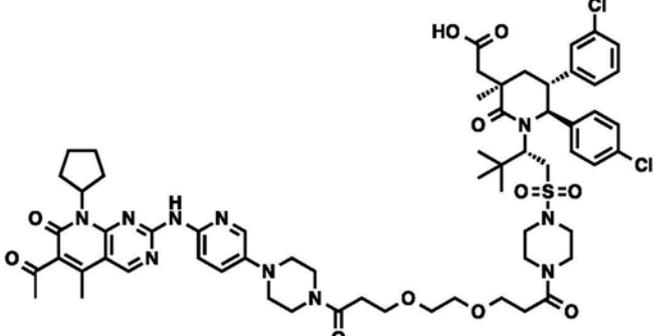
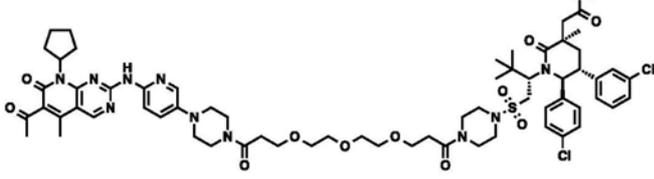
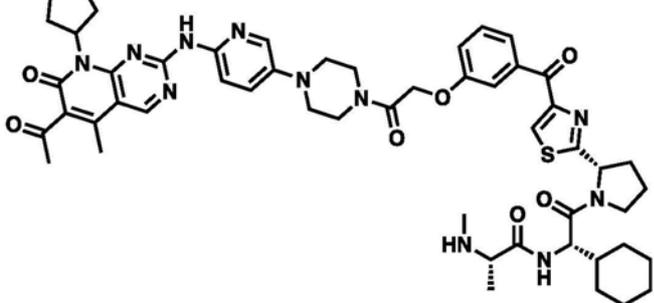
[0162]

88			基)- <i>N</i> -甲基丙酰胺 3-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-环己基-2-((<i>S</i>)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)- <i>N</i> -甲基丙酰胺
89			3-(2-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙氧基)- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-环己基-2-((<i>S</i>)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)- <i>N</i> -甲基丙酰胺
90			2-((3 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-((<i>S</i>)-1-((4-(4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酰基)哌嗪-1-基)磺酰基)-3,3-二甲基丁烷-2-基)-5-(3-氯苯基)-6-(4-氯苯基)-3-甲基-2-氧代哌啶-3-基)乙酸
91			2-((3 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-((<i>S</i>)-1-((4-(6-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-6-氧代己酰基)哌嗪-1-基)磺酰基)-3,3-二甲基丁烷-2-基)-5-(3-氯苯基)-6-(4-氯苯基)-3-甲基-2-氧代哌啶-3-基)乙酸

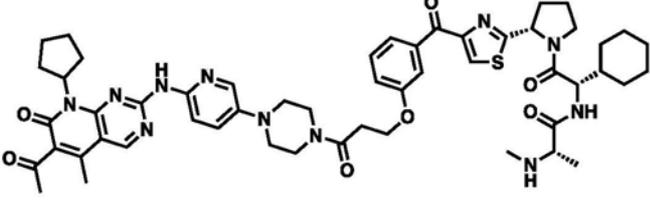
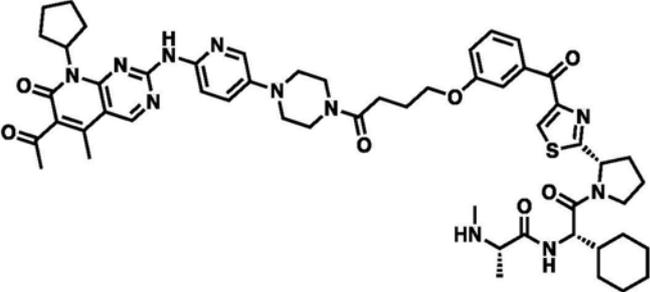
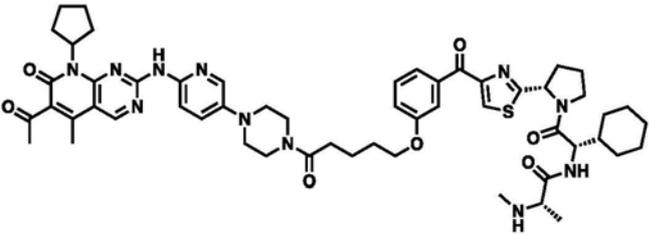
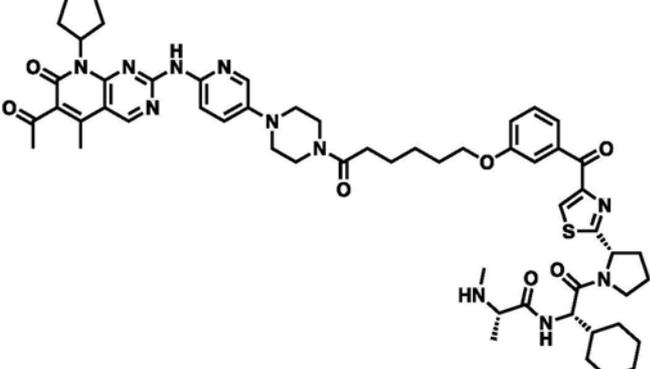
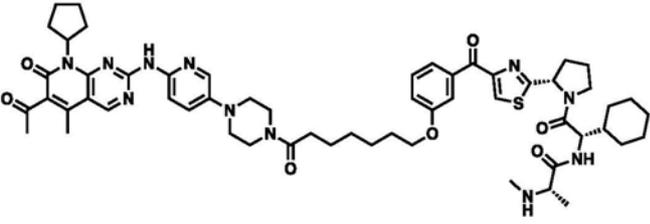
[0163]

92			2-((3 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-((<i>S</i>)-1-((4-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚酰基)哌嗪-1-基)磺酰基)-3,3-二甲基丁烷-2-基)-5-(3-氯苯基)-6-(4-氯苯基)-3-甲基-2-氧代哌啶-3-基)乙酸
93			2-((3 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-((<i>S</i>)-1-((4-(8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛酰基)哌嗪-1-基)磺酰基)-3,3-二甲基丁烷-2-基)-5-(3-氯苯基)-6-(4-氯苯基)-3-甲基-2-氧代哌啶-3-基)乙酸
94			2-((3 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-((<i>S</i>)-1-((4-(9-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-9-氧代壬酰基)哌嗪-1-基)磺酰基)-3,3-二甲基丁烷-2-基)-5-(3-氯苯基)-6-(4-氯苯基)-3-甲基-2-氧代哌啶-3-基)乙酸
95			2-((3 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-((<i>S</i>)-1-((4-(10-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-10-氧代癸酰基)哌嗪-1-基)磺酰基)-3,3-二甲基丁烷-2-基)-5-(3-氯苯基)-6-(4-氯苯基)-3-甲基-2-氧代哌啶-3-基)乙酸
96			2-((3 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-((<i>S</i>)-1-((4-(11-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-11-氧代十一烷酰基)哌嗪-1-基)磺酰基)-3,3-二甲基丁烷-2-基)-5-(3-氯苯基)-6-(4-氯苯基)-3-甲基-2-氧

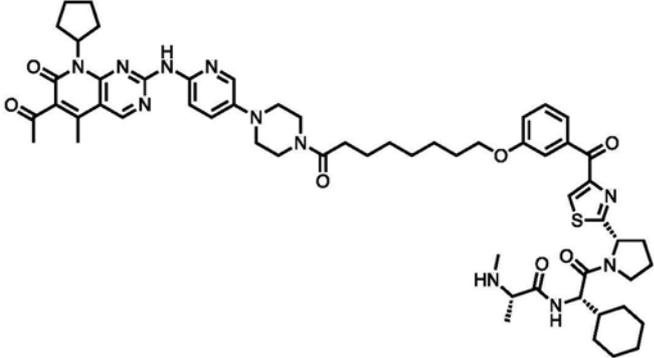
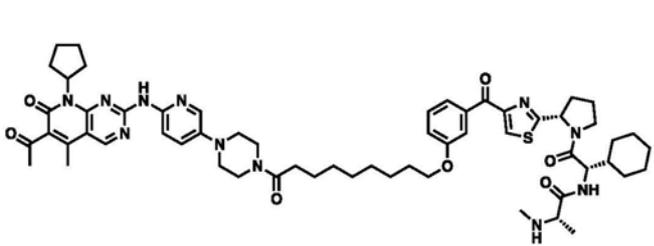
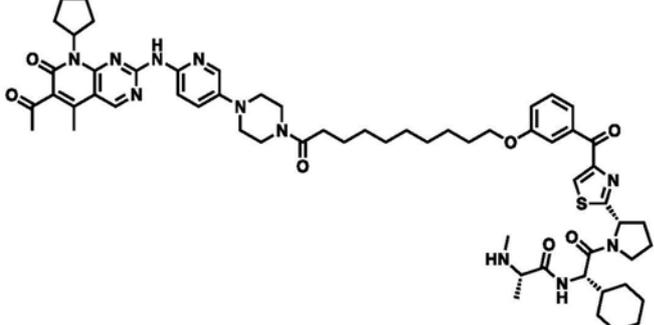
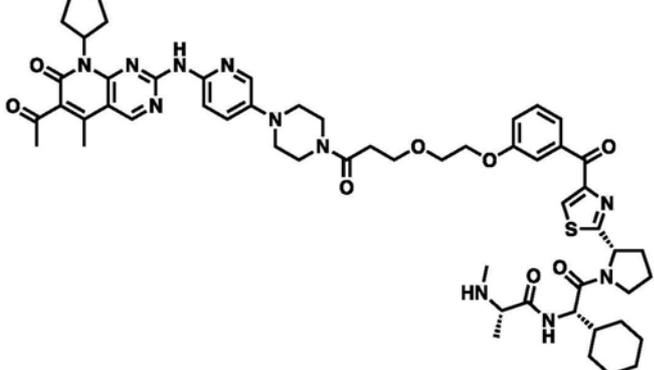
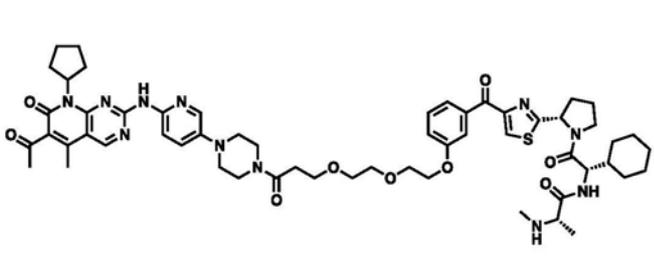
[0164]

97			<p>代哌啶-3-基)乙酸</p> <p>2-((3<i>R</i>,5<i>R</i>,6<i>S</i>)-1-((<i>S</i>)-1-((4-(3-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-<i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)丙酰基)哌嗪-1-基)磺酰基)-3,3-二甲基丁烷-2-基)-5-(3-氯苯基)-6-(4-氯苯基)-3-甲基-2-氧代哌啶-3-基)乙酸</p>
98			<p>2-((3<i>R</i>,5<i>R</i>,6<i>S</i>)-1-((<i>S</i>)-1-((4-(3-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-<i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)丙酰基)哌嗪-1-基)磺酰基)-3,3-二甲基丁烷-2-基)-5-(3-氯苯基)-6-(4-氯苯基)-3-甲基-2-氧代哌啶-3-基)乙酸</p>
99			<p>2-((3<i>R</i>,5<i>R</i>,6<i>S</i>)-1-((<i>S</i>)-1-((4-(3-(2-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-<i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酰基)哌嗪-1-基)磺酰基)-3,3-二甲基丁烷-2-基)-5-(3-氯苯基)-6-(4-氯苯基)-3-甲基-2-氧代哌啶-3-基)乙酸</p>
100			<p>(<i>S</i>)-<i>N</i>-((<i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-2-(4-(3-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-<i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺</p>

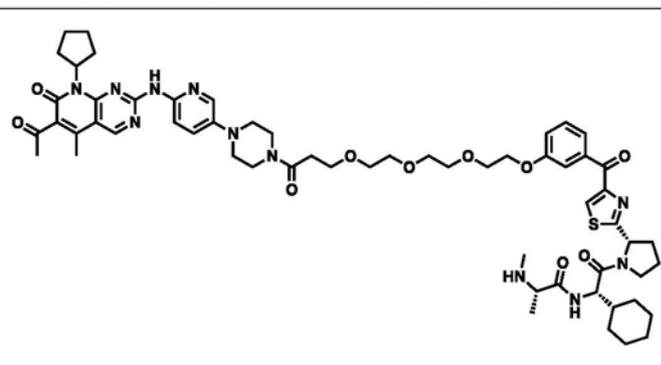
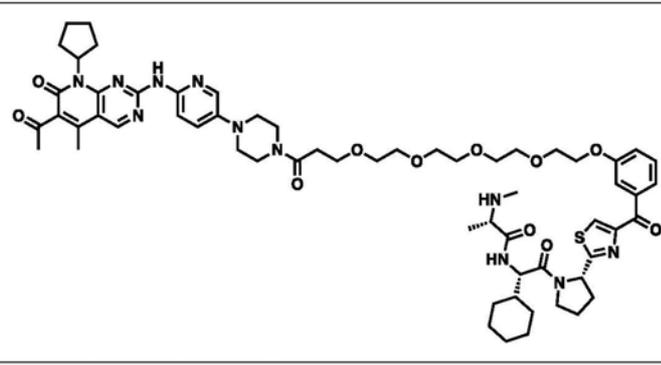
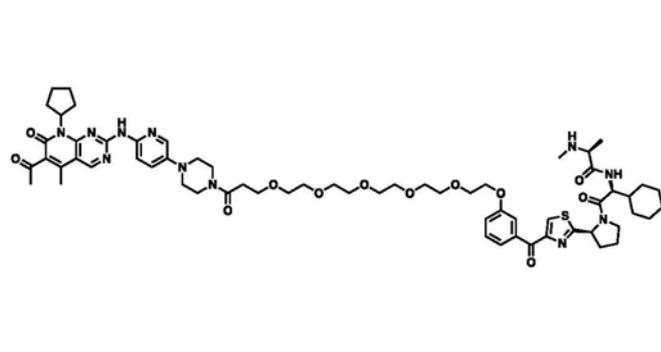
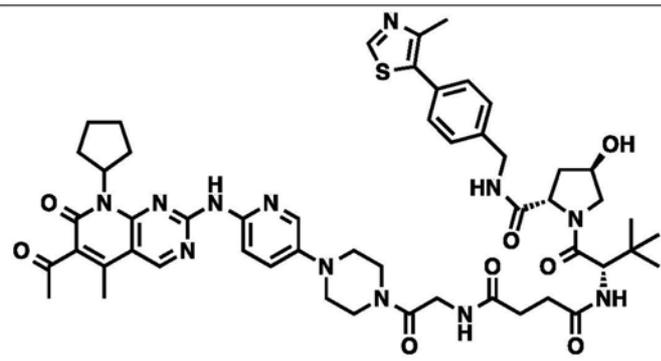
[0165]

101			<p>(S)-N-((S)-2-((S)-2-(4-(3-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺</p>
102			<p>(S)-N-((S)-2-((S)-2-(4-(3-(4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺</p>
103			<p>(S)-N-((S)-2-((S)-2-(4-(3-((5-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-5-氧代戊基)氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺</p>
104			<p>(S)-N-((S)-2-((S)-2-(4-(3-((6-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-6-氧代己基)氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺</p>
105			<p>(S)-N-((S)-2-((S)-2-(4-(3-((7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚基)氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺</p>

[0166]

106			(S)-N-((S)-2-((S)-2-(4-(3-((8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛基)氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺
107			(S)-N-((S)-2-((S)-2-(4-(3-((9-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-9-氧代壬基)氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺
108			(S)-N-((S)-2-((S)-2-(4-(3-((10-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-10-氧代癸基)氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺
109			(S)-N-((S)-2-((S)-2-(4-(3-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺
110			(S)-N-((S)-2-((S)-2-(4-(3-(2-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺

[0167]

111		基)丙酰胺 <i>(S)</i> - <i>N</i> -((<i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-2-(4-(3-(2-(2-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺
112		<i>(S)</i> - <i>N</i> -((<i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-2-(4-(3-((15-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-15-氧代-3,6,9,12-四氧杂十五烷基)氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺
113		<i>(S)</i> - <i>N</i> -((<i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-2-(4-(3-((18-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-18-氧代-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷基)氧基)苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-1-环己基-2-氧代乙基)-2-(甲基氨基)丙酰胺
114		N^1 -(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)- N^4 -((<i>S</i>)-1-((2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)琥珀酰胺

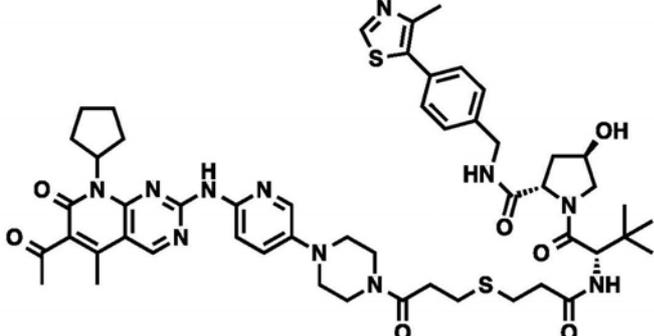
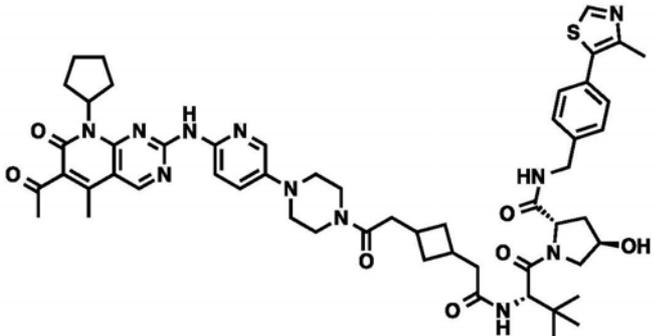
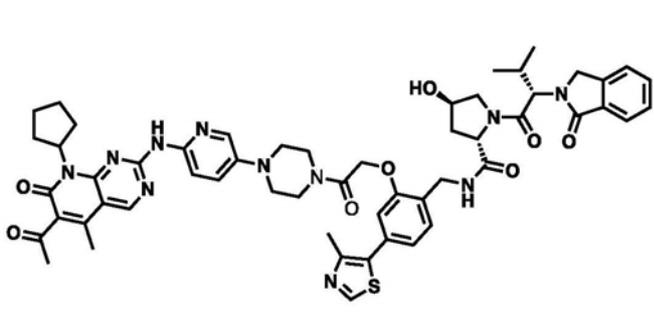
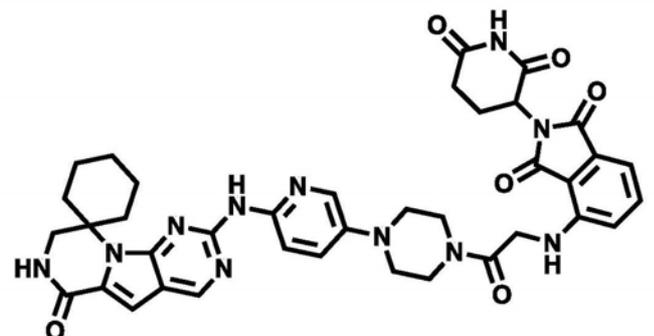
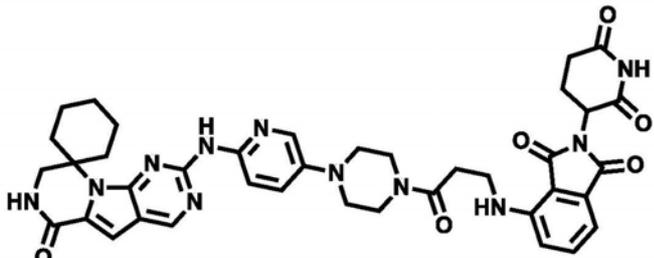
[0168]

115			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(2-(4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酰氨基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
116			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(2-(4-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)-1 <i>H</i> -1,2,3-三唑-1-基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
117			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(2-(1-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)-1 <i>H</i> -1,2,3-三唑-4-基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
118			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(3-(4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)-1 <i>H</i> -1,2,3-三唑-1-基)丙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
119			1-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-((2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)-1 <i>H</i> -1,2,3-三唑-4-甲酰胺

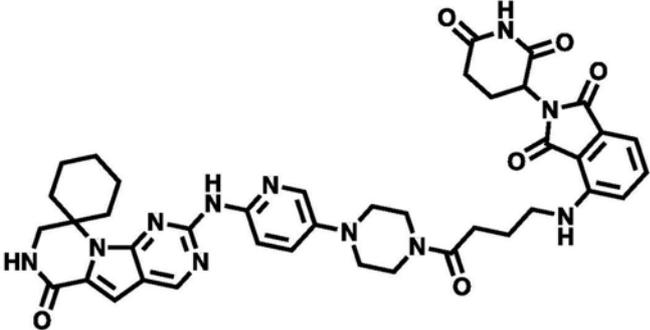
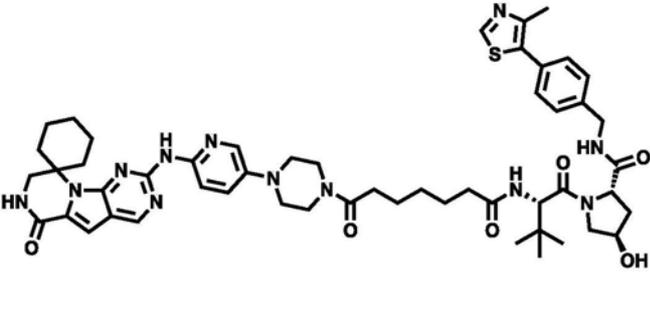
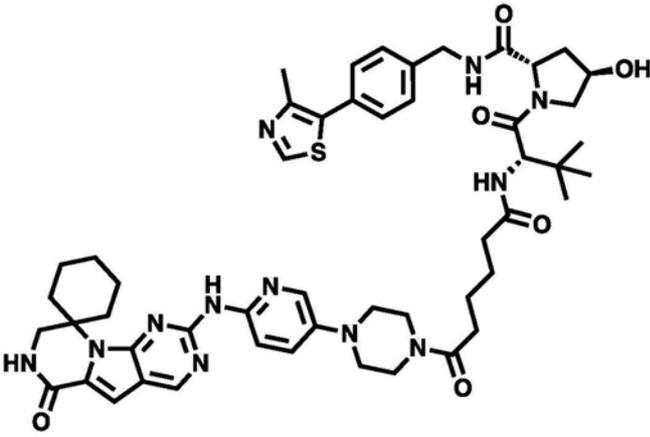
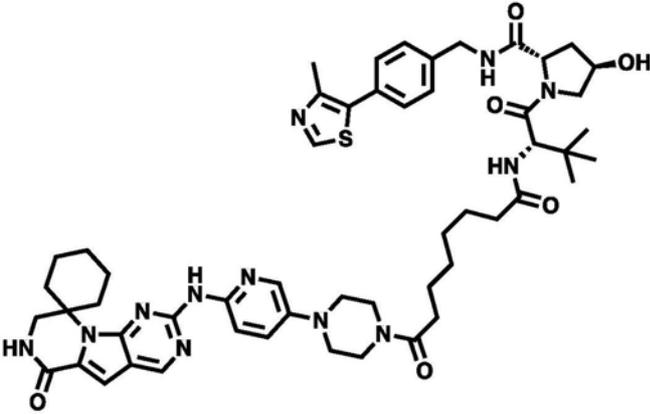
[0169]

120			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚-5-炔酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
121			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚-4-炔酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
122			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚-3-炔酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
123			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚-2-炔酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺

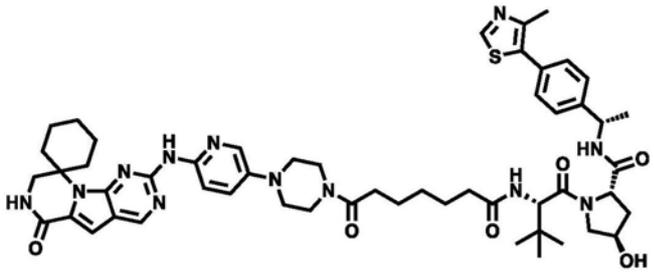
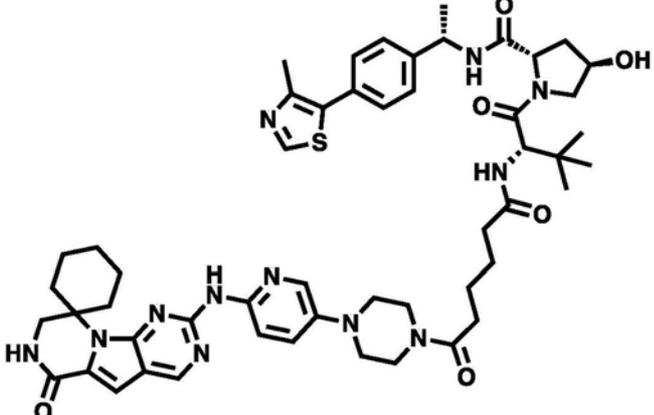
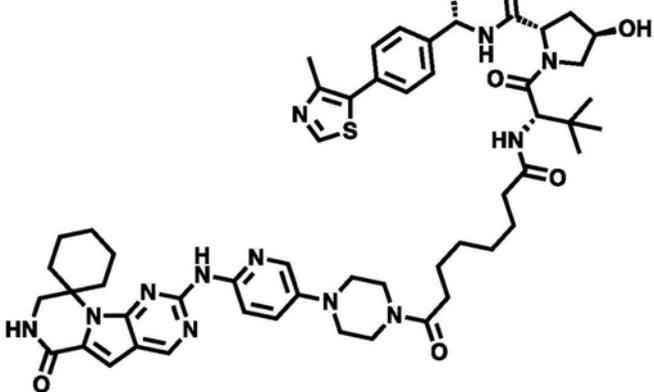
[0170]

124			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(3-((3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)硫代)丙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
125			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-2-(2-(3-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)环丁基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺
126	YX44-78		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)- <i>N</i> -(2-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)-4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)-4-羟基-1-((<i>S</i>)-3-甲基-2-(1-氧代异吲哚啉-2-基)丁酰基)吡咯烷-2-甲酰胺
127			2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((2-氧代-2-(4-(6-((6'-氧代-7',8'-二氢-6' <i>H</i> -螺[环己烷-1,9'-吡嗪并[1',2':1,5]吡咯并[2,3- <i>d</i>]嘧啶]-2'-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)乙基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮
128			2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((3-氧代-3-(4-(6-((6'-氧代-7',8'-二氢-6' <i>H</i> -螺[环己烷-1,9'-吡嗪并[1',2':1,5]吡咯并[2,3- <i>d</i>]嘧啶]-2'-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)丙基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮

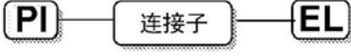
[0171]

129			2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((4-氧代-4-(4-(6-((6'-氧代-7',8'-二氢-6'H-螺[环己烷-1,9'-吡嗪并[1',2':1,5]吡咯并[2,3-d]嘧啶]-2'-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)丁基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮
130			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-3,3-二甲基-2-(7-氧代-7-(4-(6-((6'-氧代-7',8'-二氢-6'H-螺[环己烷-1,9'-吡嗪并[1',2':1,5]吡咯并[2,3-d]嘧啶]-2'-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)庚酰氨基)丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苯基)吡咯烷-2-甲酰胺
131			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-3,3-二甲基-2-(6-氧代-6-(4-(6-((6'-氧代-7',8'-二氢-6'H-螺[环己烷-1,9'-吡嗪并[1',2':1,5]吡咯并[2,3-d]嘧啶]-2'-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)己酰氨基)丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苯基)吡咯烷-2-甲酰胺
132			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-3,3-二甲基-2-(8-氧代-8-(4-(6-((6'-氧代-7',8'-二氢-6'H-螺[环己烷-1,9'-吡嗪并[1',2':1,5]吡咯并[2,3-d]嘧啶]-2'-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)辛酰氨基)丁酰基)-4-羟基- <i>N</i> -(4-(4-甲基噻唑-5-基)苯基)吡咯烷-2-甲酰胺

[0172]

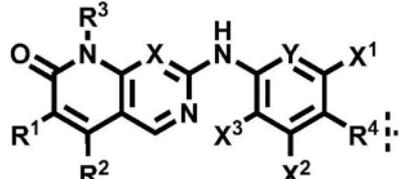
133			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-3,3- 二 甲 基 -2-(7- 氧 代 -7-(4-(6-((6'- 氧 代 -7',8'-二 氢 -6' <i>H</i> -螺[环 己 烷 -1,9'- 吡 嗪 并 [1',2':1,5] 吡 咯 并 [2,3- <i>d</i>] 嘧 啶]-2'-基)氨基)吡 啶 -3-基)哌 嗪 -1-基)庚 酰 氨 基)丁 酰 基)-4- 羟 基 - <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(4-(4- 甲 基 噻 唑 -5-基)苯 基)乙 基)吡 咯 烷 -2-甲 酰 胺
134			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-3,3- 二 甲 基 -2-(6- 氧 代 -6-(4-(6-((6'- 氧 代 -7',8'-二 氢 -6' <i>H</i> -螺[环 己 烷 -1,9'- 吡 嗪 并 [1',2':1,5] 吡 咯 并 [2,3- <i>d</i>] 嘧 啶]-2'-基)氨基)吡 啶 -3-基)哌 嗪 -1-基)己 酰 氨 基)丁 酰 基)-4- 羟 基 - <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(4-(4- 甲 基 噻 唑 -5-基)苯 基)乙 基)吡 咯 烷 -2-甲 酰 胺
135			(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1-((<i>S</i>)-3,3- 二 甲 基 -2-(8- 氧 代 -8-(4-(6-((6'- 氧 代 -7',8'-二 氢 -6' <i>H</i> -螺[环 己 烷 -1,9'- 吡 嗪 并 [1',2':1,5] 吡 咯 并 [2,3- <i>d</i>] 嘧 啶]-2'-基)氨基)吡 啶 -3-基)哌 嗪 -1-基)辛 酰 氨 基)丁 酰 基)-4- 羟 基 - <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(4-(4- 甲 基 噻 唑 -5-基)苯 基)乙 基)吡 咯 烷 -2-甲 酰 胺

[0173] 一方面,CDK4/6降解剂/破坏剂具有如下所示的“PI-连接子-EL”的形式:

[0174]  式I,

[0175] 其中PI包括CDK4/6配体(例如,CDK4/6抑制剂)和EL包括降解/破坏标签(例如,E3连接酶配体)。本文公开了示例性CDK4/6配体(PI)和示例性降解/破坏标签(EL)。

[0176] 例如,PI可以包括,但不限于:

[0177]  式II,

[0178] 其中 X^1 、 X^2 、和 X^3 独立地为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、 NR^5R^6 、CN、 NO_2 、 COR^5 、 CO_2R^5 、 $CONR^5R^6$ 、或 NR^5COR^6 ；

[0179] R^1 和 R^4 独立地为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、 OR^5 、 SR^5 、 NR^5R^6 、CN、 NO_2 、 $(CR^5R^6)_mNR^7R^8$ 、 $(CR^5R^6)_mC(O)R^7$ 、 COR^5 、 CO_2R^5 、 $CONR^5R^6$ 、 NR^5COR^6 、 NR^5SOR^6 、 $NR^5SO_2R^6$ 、 SOR^5 、 SO_2R^5 、 $SO_2NR^5R^6$ 、 $(CR^5R^6)_m$ -芳基、或 $(CR^5R^6)_m$ -杂芳基，其中m为0-8；

[0180] R^2 为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C3-C7环烷基、或C3-C7杂环基；

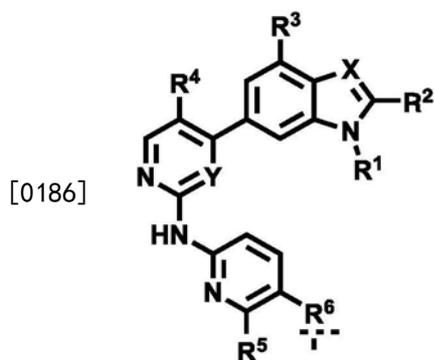
[0181] R^3 为氢、芳基、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C3-C7环烷基、或C3-C7杂环基；

[0182] R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 独立地为氢、C1-C8烷基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、芳基烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、或杂芳基烷基；

[0183] 任选地， R^1 和 R^2 ； R^5 和 R^6 ；或者 R^7 和 R^8 独立地形成4-8元烷基或杂环基环；和

[0184] X和Y独立地为 CR^5R^6 或N。

[0185] 例如，PI可以包括：



[0187] 其中 R^1 独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基；

[0188] R^2 为氢、C1-C3烷基、或环丙基；

[0189] R^3 、 R^4 、和 R^5 独立地为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C3-C7环烷基、或C3-C7杂环基；

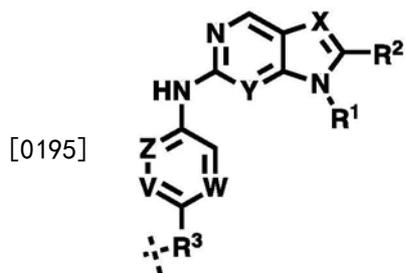
[0190] R^6 为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、 OR^7 、 SR^7 、 NR^7R^8 、CN、 NO_2 、 $(CR^7R^8)_mNR^9R^{10}$ 、 $(CR^7R^8)_mC(O)R^9$ 、 COR^7 、 CO_2R^7 、 $CONR^7R^8$ 、 NR^7COR^8 、 NR^7SOR^8 、 $NR^7SO_2R^8$ 、 SOR^7 、 SO_2R^7 、 $SO_2NR^7R^8$ 、 $(CR^7R^8)_m$ -芳基、或 $(CR^7R^8)_m$ -杂芳基，其中m为0-8；

[0191] R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 独立地为氢、C1-C8烷基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、芳基烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、或杂芳基烷基；

[0192] 任选地， R^7 和 R^8 ； R^9 和 R^{10} 独立地形成4-8元烷基或杂环基环；和

[0193] X和Y独立地为 CR^7R^8 或N。

[0194] 例如，PI可以包括：



式IV,

[0196] 其中R¹独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基；

[0197] R²为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、CN、COR⁴、CO₂R⁴、或CONR⁴R⁵；

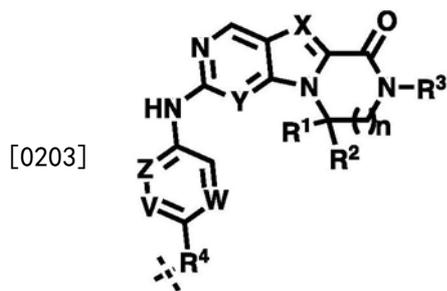
[0198] R³为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、OR⁴、SR⁴、NR⁴R⁵、CN、NO₂、(CR⁴R⁵)_mNR⁶R⁷、(CR⁴R⁵)_mC(O)R⁶、COR⁴、CO₂R⁴、CONR⁴R⁵、NR⁴COR⁵、NR⁴SOR⁵、NR⁴SO₂R⁵、SOR⁴、SO₂R⁴、SO₂NR⁴R⁵、(CR⁴R⁵)_m-芳基、或(CR⁴R⁵)_m-杂芳基，其中m为0-8；

[0199] R⁴、R⁵、R⁶、R⁷独立地为氢、C1-C8烷基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、芳基烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、或杂芳基烷基；

[0200] 任选地，R¹和R²；R⁴和R⁵；R⁶和R⁷独立地形成4-8元烷基或杂环基环；和

[0201] V、W、X、Y、和Z独立地为CR⁴R⁵或N。

[0202] 例如，PI可以包括：



式VI,

[0204] 其中R¹和R²独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基；

[0205] R³为氢、C1-C6烷基、C1-C6烷氧基烷基、C1-C6卤代烷基、C1-C6羟基烷基、C3-C6环烷基、C3-C6杂环基、C2-C6链烯基、或C2-C6炔基；

[0206] R⁴为氢、卤素、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、C2-C8炔基、OR⁵、SR⁵、NR⁵R⁶、CN、NO₂、(CR⁵R⁶)_mNR⁷R⁸、(CR⁵R⁶)_mC(O)R⁷、COR⁵、CO₂R⁵、CONR⁵R⁶、NR⁵COR⁶、NR⁵SOR⁶、NR⁵SO₂R⁶、SOR⁵、SO₂R⁵、SO₂NR⁵R⁶、(CR⁵R⁶)_m-芳基、或(CR⁵R⁶)_m-杂芳基，其中m为0-8；

[0207] n为0-4；

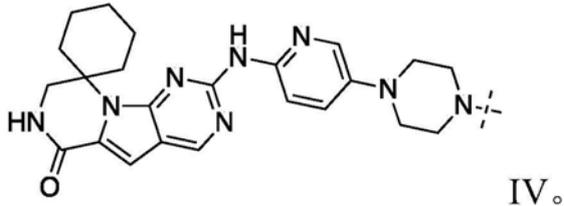
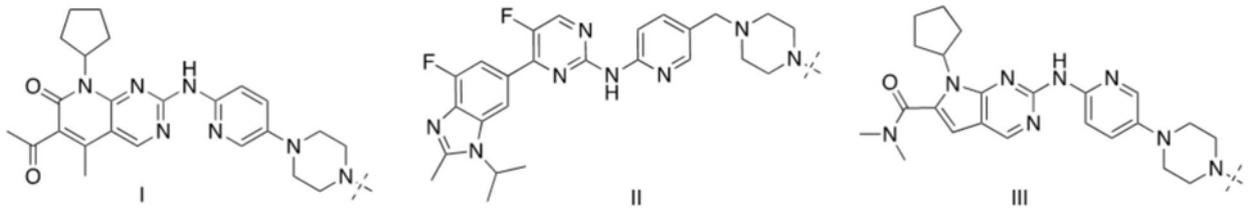
[0208] 任选地，R¹和R²；R⁵和R⁶；R⁷和R⁸独立地形成4-8元烷基或杂环基环；和

[0209] V、W、X、Y、和Z独立地为CR⁵R⁶或N。

[0210] CDK4/6配体可以为CDK4/6抑制剂，例如，玻玛西尼、帕博西尼、瑞博西尼、曲拉西尼(G1T28)、G1T38、SHR6390、和/或其类似物。

[0211] 在一些方面,CDK4/6配体可以为,例如,

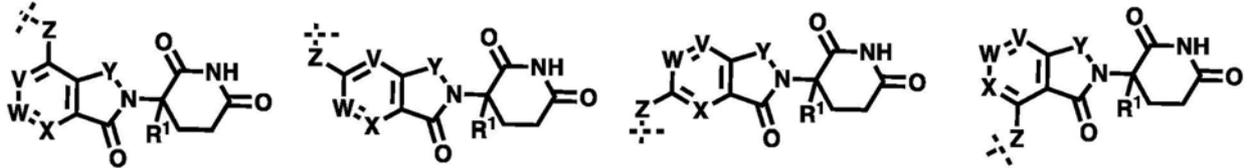
[0212]



[0213] CDK4/6配体可以结合至CDK4/6。

[0214] EL包括,但不限于:

[0215]



式VII,

式VIII,

式IX,

式XI。

[0216] 其中V、W、X独立地为CR²或N;

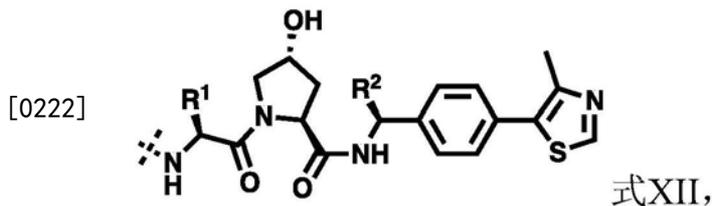
[0217] Y为CO或CH₂;

[0218] Z为CH₂、NH、或O;

[0219] R¹为氢、甲基、或氟;和

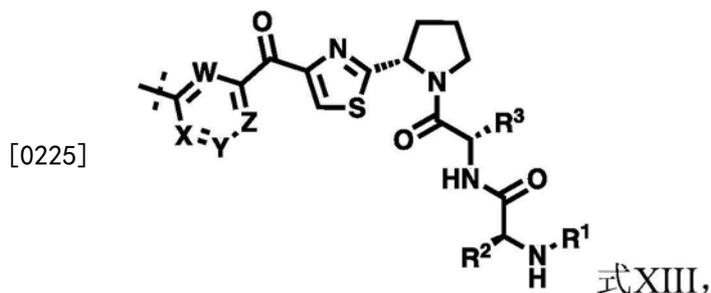
[0220] R²为氢、卤素、或C1-C5烷基。

[0221] 例如,EL可以包括:



[0223] 其中R¹和R²独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基。

[0224] 例如,EL可以包括:



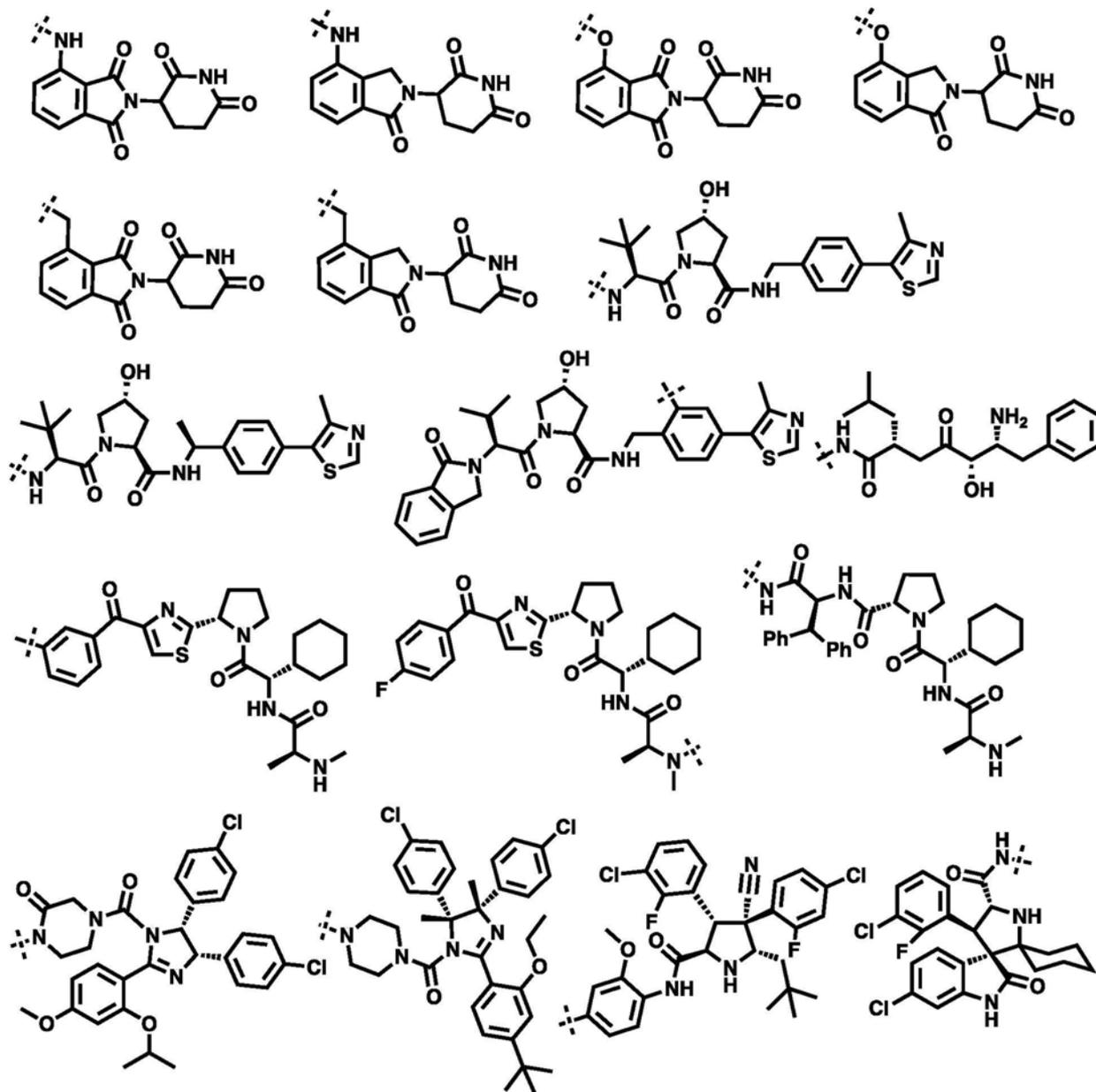
[0226] 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 独立地为氢、C1-C8烷基、C1-C8烷氧基烷基、C1-C8卤代烷基、C1-C8羟基烷基、C3-C7环烷基、C3-C7杂环基、C2-C8链烯基、或C2-C8炔基；和

[0227] V、W、X、Z独立地为 CR^4 或N。

[0228] 在一些方面，降解/破坏标签可以为，例如，泊马度胺、沙利度胺、来那度胺、VHL-1、金刚烷、1-((4,4,5,5,5-五氟戊基)亚磺酰基)壬烷、nutlin-3a、RG7112、RG7338、AMG232、AA-115、贝他定、MV-1、LCL161、和/或其类似物。

[0229] 在一些方面，降解/破坏标签可以为，例如，

[0230]

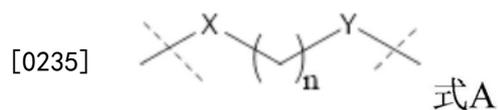


[0231] 式XIV-XXX (从左至右, 然后从上至下, 以左上角的式XIV开始, 并且以右下角的式XXX结束)。

[0232] 在一些方面, 降解/破坏标签可以结合至泛素连接酶, 例如, E3连接酶。示例性E3连接酶包括, 例如cereblon E3连接酶、VHL E3连接酶、MDM2连接酶、TRIM21连接酶、TRIM24连接酶、和/或IAP连接酶。在一些方面, 降解/破坏标签可以用作导致CDK4或CDK6蛋白质错误折叠的疏水性基团。

[0233] 在任意上述化合物中, CDK4/6配体可以通过连接子缀合至降解/破坏标签。连接子可以包括, 例如, 具有不同长度的、含非环状或环状饱和或不饱和碳、乙二醇、酰胺、氨基、醚、脲、氨基甲酸酯、芳香族、杂芳族、杂环和/或羰基的基团。

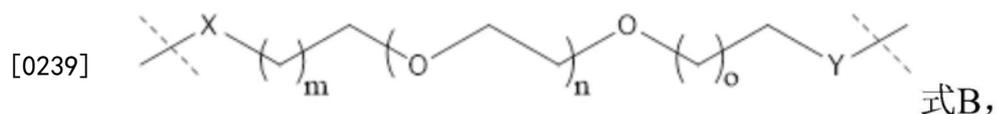
[0234] 在一些实施方案中, 连接子可以为以下结构的部分:



[0236] 其中X为C=O或CH₂,

[0237] Y为C=O或CH₂, 和

[0238] n为0-15;



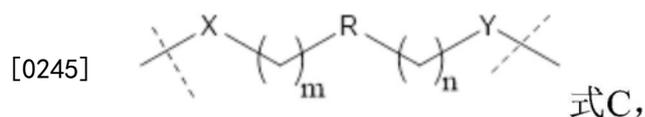
[0240] 其中X为C=O或CH₂,

[0241] Y为C=O或CH₂,

[0242] m为0-15,

[0243] n为0-6, 和

[0244] o为0-15; 或者



[0246] 其中

[0247] X为C=O或CH₂,

[0248] Y为C=O或CH₂,

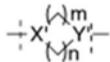
[0249] R为-CH₂-、-CF₂-、-CH(C₁₋₃烷基)-、-C(C₁₋₃烷基)(C₁₋₃烷基)-、-CH=CH-、-C(C₁₋₃烷基)=C(C₁₋₃烷基)-、-C=C-、-O-、-NH-、-N(C₁₋₃烷基)-、-C(O)NH-、-C(O)N(C₁₋₃烷基)-、3-13元环、3-13元稠环、3-13元桥环、和/或3-13元螺环,

[0250] m为0-15, 和

[0251] n为0-15。

[0252] 在式C的一些实施方案中,R为3-13元环、3-13元稠环、3-13元桥环、和/或3-13元螺环,其中一种或多种可以包含一个或多个杂原子。

[0253] 在式C的一些实施方案中,R具有以下结构:



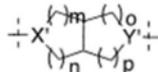
X' = N 或 CH
Y' = N 或 CH
m = 0-5
n = 0-5

式V,



X' = N 或 CH
Y' = N 或 CH
m = 0-5
n = 0-5
o = 0-5
p = 0-5

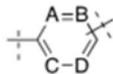
式W,



X' = N 或 CH
Y' = N 或 CH
m = 0-5
n = 0-5
o = 0-5
p = 0-5

式X,

[0254]



A = CH, C(C₁₋₃ 烷基), 或 N
B = CH, C(C₁₋₃ 烷基), 或 N
C = CH, C(C₁₋₃ 烷基), 或 N
D = CH, C(C₁₋₃ 烷基), 或 N

式Y, 或者



A = C, CH, C(C₁₋₃ 烷基), N, NH, N(C₁₋₃ 烷基), O, S
B = C, CH, C(C₁₋₃ 烷基), N, NH, N(C₁₋₃ 烷基), O, S
C = C, CH, C(C₁₋₃ 烷基), N, NH, N(C₁₋₃ 烷基), O, S
D = C, CH, C(C₁₋₃ 烷基), N, NH, N(C₁₋₃ 烷基), O, S

式Z。

[0255] 二价化合物的合成和试验

[0256] 可以使用本领域已知的标准生物物理检测(例如,ITC)来评估新合成的二价化合物(即,CDK4/6降解剂/破坏剂)的结合亲和力。然后可以使用细胞检测来评估二价化合物诱导CDK4/6降解和抑制癌细胞增殖的能力。除评价二价化合物诱导的CDK4/6的蛋白表达的变化之外,还可以评估CDK4/6酶活性。可以进行设计、合成、和生物试验的多个循环。然后可以使用本领域已知的方法进一步优化有前景的二价化合物,以改善其药代动力学/药效学特性(例如,吸收、分布、代谢、和分泌(ADME)特性)。适用于任意或所有这些步骤的检测是本领域已知的,并且包括例如,蛋白质印迹、定量质谱(MS)分析、流式细胞术、酶抑制、等温滴定量热法(ITC)、表面等离子体共振(SPR)、细胞生长抑制和异种移植和PDX模型。用于任意或所有这些步骤的合适的细胞系是本领域已知的,并且包括例如,乳腺癌细胞系(例如,如MCF7、T47D、和ZR-75-1等ER+乳腺癌细胞系)和黑色素瘤细胞系(例如,A375、SK-MEL-2、SK-MEL-30、和WM1382)。

[0257] 借助非限制性实例,在具体示例性CDK4/6降解剂/破坏剂的实施例中描述详细的

合成方案。

[0258] 考虑了本文公开的化合物的药学上可接受的同位素变体,并且可以使用本领域已知的常规方法或者对应于实施例中所描述的那些的方法(用这些试剂的合适同位素变体代替合适的试剂)来合成。具体地,同位素变体为其中至少一个原子被具有相同原子序数、但是原子质量不同于通常在自然界中发现的原子质量的原子取代的化合物。有用的同位素是本领域已知的,包括例如,氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟、和氯的同位素。因此,示例性同位素包括例如, ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、和 ^{36}Cl 。

[0259] 同位素变体(例如,包含 ^2H 的同位素变体)可以提供由较大的代谢稳定性引起的治疗优势,例如,增加的体内半衰期或减少的剂量要求。此外,某些同位素变体(特别是包含放射性同位素的那些)可以用于药物或底物组织分布研究。放射性同位素氚(^3H)和碳-14(^{14}C)鉴于它们引入的容易性和可利用的检测手段而特别适用于该目的。

[0260] 考虑了本文公开的化合物的药学上可接受的溶剂化物。溶剂化物可以通过用同位素变体代替用于使本文公开的化合物结晶的溶剂(例如, D_2O 代替 H_2O 、 d_6 -丙酮代替丙酮、或者 d_6 -DMSO代替DMSO)来产生。

[0261] 考虑了本文公开的化合物的药学上可接受的氟化变体,并且可以使用本领域已知的常规方法或者对应于实施例中所描述的那些的方法(用这些试剂的合适的氟化变体代替合适的试剂)来合成。具体地,氟化变体为其中至少一个氢原子被氟原子取代的化合物。氟化变体可以提供由较大的代谢稳定性引起的治疗优势,例如,增加的体内半衰期或减少的剂量要求。

[0262] 示例性CDK4/6降解剂/破坏剂的表征

[0263] 在各种不同的乳腺癌和黑色素瘤细胞中表征具体的示例性玻玛西尼-、瑞博西尼-、和帕博西尼-系CDK4/6降解剂/破坏剂(实施例12和13,图10-23)。特别是发现XY019-098、XY019-106、XY028-003、XY019-108、XY028-132、XY028-133、YX26-66、XY028-140、XY028-144、YX039-48、YX039-124、YX039-123、YX039-147、YX039-56和YX039-65在抑制CDK4/6表达和CDK4/6活性两方面特别有效。抑制CDK4/6表达和CDK4/6活性的该功效与抑制癌细胞增殖的功效相关。

[0264] 药物组合物

[0265] 在一些方面,本文所述的组合物和方法包括包含一种或多种本文公开的二价化合物的药物组合物和药物的制备和用途。还包括药物组合物本身。

[0266] 在一些方面,本文公开的组合物可以包括用于治疗癌症的其它化合物、药物、或药剂。例如,在一些情况下,本文公开的药物组合物可以与一种或多种(例如,一种、两种、三种、四种、五种、或少于十种)化合物组合。此类另外的化合物可以包括,例如,本领域已知的常规化学治疗剂(例如,盐酸吉西他滨和替莫唑胺)。当共同施用,本文公开的CDK4/6降解剂/破坏剂可以与常规化学治疗剂联合操作以产生机理性地累加或协同治疗效果。

[0267] 在一些方面,本文公开的组合物的pH可以用药学上可接受的酸、碱或缓冲剂调整,以增强CDK4/6降解剂/破坏剂或其递送形式的稳定性。

[0268] 药物组合物通常包括药学上可接受的载体、佐剂、或运载体(vehicle)。如本文所用,短语“药学上可接受的”是指当施用于人类时通常被认为是生理学上可耐受的,并且通常不产生过敏或者如胃部不适、和头晕等类似的不良反应的分子实体和组合物。药学上可

接受的载体、佐剂、或运载体为可以与本发明的化合物一起施用给患者，并且不破坏其药理活性，并且当以足以递送治疗量的化合物的剂量施用时无毒的组合物。示例性的常规无毒的药学上可接受的载体、佐剂、或运载体包括与药物施用相容的盐水、溶剂、分散介质、包衣、抗细菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。

[0269] 特别地，可以用于本发明的药物组合物的药学上可接受的载体、佐剂和运载体包括但不限于，离子交换剂，氧化铝，硬脂酸铝，卵磷脂，如d- α -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯等自乳化药物递送系统 (SEDDS)，如吐温等用于药物剂型的表面活性剂或其它类似的聚合物输送基质，例如人血清白蛋白等血清蛋白，如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾等缓冲物质，饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物，水，盐或者电解质，如硫酸鱼精蛋白，磷酸氢二钠，磷酸氢钾，氯化钠，锌盐，胶体二氧化硅，三硅酸镁，聚乙烯吡咯烷酮，纤维素系物质，聚乙二醇，羧甲基纤维素钠，聚丙烯酸酯，蜡，聚乙烯-聚氧丙烯嵌段聚合物，聚乙二醇和羊毛脂。如 α -、 β -、和 γ -环糊精等环糊精也可以有利地用于增强本文所述式的化合物的递送。

[0270] 如本文所用，将本文公开的CDK4/6降解剂/破坏剂定义为包括其药学上可接受的衍生物或前药。“药学上可接受的衍生物”是指任意药学上可接受的盐、溶剂化物或前药，例如氨基甲酸酯、酯、磷酸酯、酯的盐，或者本文公开的化合物或药剂的其它衍生物，其在施用给接受者时，能（直接地或间接地）提供本文所述的化合物、或其活性代谢物或残余物。特别有利的衍生物和前药是相对于母体物质，当将此类化合物施用给哺乳动物时增加本文公开的化合物的生物利用度（例如，通过使口服施用的化合物更容易地被吸收至血液中）或增强母体化合物向生物区室（例如，脑或淋巴系统）的递送的衍生物和前药。优选的前药包括其中增强水溶性或通过肠膜的主动转运的基团附加于本文所述的式的结构的衍生物。此类衍生物在无过多的实验的情况下对于本领域技术人员来说是可识别的。然而，参考Burger的 *Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, 第5版, 第1卷: Principles and Practice的教导, 其通过以教导此类衍生物的程度引用并入本文。

[0271] 本文公开的CDK4/6降解剂/破坏剂包括纯的对映异构体、对映异构体的混合物、纯的非对映异构体、非对映异构体的混合物、非对映异构外消旋体、非对映异构外消旋体和内消旋形式的混合物、和药学上可接受的盐、溶剂复合物、形态学形式、或其氘代衍生物。

[0272] 特别地，本文公开的CDK4/6降解剂/破坏剂的药学上可接受的盐包括，例如源自药学上可接受的无机和有机酸和碱的那些盐。合适的酸盐的实例包括乙酸盐、己二酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、丁酸盐、柠檬酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、甲酸盐、富马酸盐、乙醇酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、乳酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、棕榈酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐、三氟甲基磺酸盐、和十一烷酸盐。源自合适的碱的盐包括例如，碱金属（例如钠）盐、碱土金属（例如镁）盐、铵盐和N-（烷基）⁴⁺盐。本发明还包括本文公开的CDK4/6降解剂/破坏剂的任意碱性含氮基团的季铵化。通过此类季铵化可以获得水溶性或油溶性或可分散的产物。

[0273] 在一些方面，本文公开的药物组合物可以包含有效量的一种或多种CDK4/6降解剂/破坏剂。如本文所用，术语“有效量”和“有效治疗”是指在施用的背景内有效地产生预期的效果或生理结果（例如，治疗或预防细胞生长、细胞增殖、或癌症）的一段时间内（包括急性或慢性施用以及周期性或连续施用）使用的本文所述的一种或多种化合物或药物组合物

的量或浓度。在一些方面,药物组合物可以进一步包括以有效地引起预期效果或生理结果(例如,治疗或预防细胞生长、细胞增殖、或癌症)的量用于治疗癌症的一种或多种另外的化合物、药物或药剂(例如,常规化学治疗剂)。

[0274] 在一些方面,可以配制本文公开的药物组合物以在美国销售、进口至美国、或者从美国出口。

[0275] 药物组合物的施用

[0276] 可以将本文公开的药物组合物配制或调整,以通过任意途径,例如由食品和药物管理局(FDA)批准的任意途径施用给受试者。在FDA数据标准手册(DSM)(可从<http://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/FormsSubmissionRequirements/ElectronicSubmissions/DataStandardsManualmonographs>获得)中描述了示例性方法。特别地,药物组合物可以配制用于口服、胃肠外、或透皮递送,并且经口服、胃肠外、或透皮递送施用。本文所用的术语“胃肠外”包括皮下、皮内、静脉内、肌肉内、腹膜内、关节内、动脉内、滑膜内、胸骨内、鞘内、病灶内、和颅内注射或输注技术。

[0277] 例如,本文公开的药物组合物可以例如,局部地、经直肠、经鼻(例如,通过吸入喷雾或雾化器)、经口腔、经阴道、皮下(例如,通过注射或通过植入式贮药器)、或者经眼部施用。

[0278] 例如,本发明的药物组合物可以以任意口服可接受的剂型口服施用,所述口服可接受的剂型包括但不限于,胶囊、片剂、乳液和含水混悬液、分散体和溶液。在口服使用片剂的情况下,常用的载体包括乳糖和玉米淀粉。通常还添加如硬脂酸镁等润滑剂。对于胶囊形式的口服施用,有用的稀释剂包括乳糖和干玉米淀粉。当口服施用含水悬浮液或乳液时,可以悬浮或溶解于油相中的活性成分,与乳化剂或悬浮剂组合。如果期望,可以添加某些甜味剂、调味剂、或着色剂。

[0279] 例如,本发明的药物组合物可以以用于直肠施用的栓剂的形式施用。这些组合物可以通过将本发明的化合物与合适的无刺激性赋形剂混合来制备,所述赋形剂在室温下是固体但是在直肠温度下是液体,因此将在直肠中熔融以释放活性组分。此类材料包括但不限于,可可脂、蜂蜡和聚乙二醇。

[0280] 例如,本发明的药物组合物可以通过鼻气雾剂或吸入施用。此类组合物根据药物制剂的领域中熟知的技术来制备,并且可以制备成盐水中的溶液,使用苯醇或其它合适的防腐剂、提高生物利用度的吸收促进剂、碳氟化合物、或本领域已知的其它增溶剂或分散剂。

[0281] 例如,本发明的药物组合物可以通过注射(例如,作为溶液或粉末)施用。可以根据本领域已知的技术使用合适的分散剂或润湿剂(如,例如,吐温80)和悬浮剂来配制此类组合物。无菌可注射制剂也可以为在无毒的胃肠外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液,例如,在1,3-丁二醇中的溶液。可以使用的可接受的运载体和溶剂包括甘露醇、水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。此外,无菌的固定油通常用作溶剂或悬浮介质。为了该目的,可以使用任意温和的固定油,包括合成的甘油单酯或甘油二酯。脂肪酸,例如油酸及其甘油酯衍生物在注射剂的制备中是有用的,例如橄榄油或蓖麻油,尤其是它们的聚氧乙基化形式,是天然的药学上可接受的油。这些油溶液或悬浮液还可以包含长链醇稀释剂或分散剂,或者通常用于配制如乳液和/或悬浮液等药学上可接受的剂型的羧甲基纤维素

或类似的分散剂。如吐温、Span等其它常用的表面活性剂,或者通常用于制造药学上可接受的固体、液体、或其它剂型的其它类似的乳化剂或生物利用度增强剂也可以用于配制的目的。

[0282] 在一些方面,本发明的药物组合物的有效剂量可以包括,但不限于,约0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1、1.25、1.5、1.75、2、2.5、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、2500、5000、或10000mg/kg/天,或者根据特定药物组合物的要求。

[0283] 当本文公开的药物组合物包括本文所述各式的化合物(例如,CDK4/6降解剂/破坏剂)与一种或多种另外的化合物(例如,用于治疗癌症或任意其它病症或疾病,包括已知与癌症相关或由癌症引起的病症或疾病的一种或多种另外的化合物、药物或药剂)的组合时,化合物和另外的化合物两者应当以单一疗法方案中通常施用的剂量的约1至100%之间、并且更优选为约5至95%之间的剂量水平存在。作为多剂量方案的一部分,另外的药剂可以与本发明的化合物分开施用。可选地,那些药剂可以是单一剂型的一部分,在单一组合物中与本发明的化合物混合在一起。

[0284] 在一些方面,本文公开的药物组合物可以与施用说明一起包括在容器、包装、或分配器中。

[0285] 治疗方法

[0286] 本文公开的方法考虑施用有效量的化合物或组合物以实现期望的或所述的效果。通常,本发明的化合物或组合物将每天施用约1至约6次,或者可选地或另外,以连续输注。此类施用可以用作慢性或急性疗法。可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将取决于所治疗的宿主和特定的施用方式而变化。典型的制剂包含约5%至约95%的活性化合物(w/w)。可选地,此类制剂可以包含约20%至约80%的活性化合物。

[0287] 在一些方面,本公开提供使用包括CDK4/6降解剂/破坏剂的组合物的方法,所述组合物包括以下方法中的本文公开的药物组合物(下文表示为‘X’):

[0288] 用作治疗本文公开的一种或多种疾病或病症(例如,癌症,在以下实例中称为‘Y’)的药物的物质X。物质X在制备用于治疗Y的药物中的用途;和用于治疗Y的物质X。

[0289] 在一些方面,所公开的方法包括向需要或者已经确定需要此类治疗的受试者(例如,哺乳动物受试者,例如,人类受试者)施用治疗有效量的一种或多种本文所述的化合物或组合物。在一些方面,所公开的方法包括选择受试者并且向受试者施用有效量的一种或多种本文所述的化合物或组合物,并且根据需要任选地重复施用以预防或治疗癌症。

[0290] 在一些方面,受试者选择可以包括从受试者(例如,候选受试者)获得样品并且测试样品以指示受试者适合用于选择。在一些方面,例如,可以由医疗保健专业人员确认或识别受试者曾经患有或正患有病症或疾病。在一些方面,合适的受试者包括,例如,患有或曾经患有病症或疾病但是已解决疾病或其一个方面、(例如,相对于具有相同病症或疾病的其它受试者(例如,大多数受试者))呈现减轻的疾病症状、或者在例如(例如,相对于具有相同病症或疾病的其它受试者(例如,大多数受试者))无症状状态下(例如,相对于具有相同病症或疾病的其它受试者(例如,大多数受试者))具有病症或疾病的情况下长时间存活的受试者。在一些方面,可以从患者记录、家族史、或检测阳性免疫应答的指示来显示对病症或

疾病的阳性免疫应答。在一些方面,在受试者选择中可以包括多方。例如,第一方可以从候选受试者获得样品,并且第二方可以测试样品。在一些方面,受试者可以由医疗从业者(例如,全科医生)选择或提及。在一些方面,受试者选择可以包括从选择的受试者获得样品并且贮存样品或者将其用于本文公开的方法。样品可以包括例如,细胞或细胞群。

[0291] 在一些方面,治疗方法可以根据受试者所患疾病或病症(例如,CDK4/6介导的癌症,例如,ER+乳腺癌)的预防或治疗的需要而包括一种或多种本文公开的化合物的单次施用、多次施用、和重复施用。在一些方面,治疗方法可以包括评估受试者在治疗前、治疗期间、或治疗后的疾病水平。在一些方面,治疗可以持续直至检测到受试者的疾病的水平的降低。

[0292] 如本文所用,术语“受试者”是指任意动物。在一些情况下,受试者是哺乳动物。在一些情况下,如本文所用,术语“受试者”是指人(例如,男性、女性、或儿童)。

[0293] 如本文所用,术语“施用(administer)”、“施用(administering)”或“施用(administration)”是指植入、摄取、注射、吸入、或以其它方式吸收化合物或组合物,无论其形式如何。例如,本文公开的方法包括施用有效量的化合物或组合物以实现期望的或所述的效果。

[0294] 本文所用的术语“治疗(treat)”、“治疗(treating)”、或“治疗(treatment)”是指部分地或完全地减轻、抑制、改善、或缓解受试者所患的疾病或病症。这意味着疾病或病症(例如,癌症)的一种或多种症状得到改善或以其它方式有益地改变的任何方式。如本文所用,特定病症(例如,癌症)的症状的改善是指可归因于通过本发明的组合物和方法的治疗或者与通过本发明的组合物和方法的治疗相关的任何减轻,无论是永久的或暂时的,持久的或瞬时的。在一些实施方案中,治疗可以促进或导致例如肿瘤细胞(例如,在受试者中)的数量相对于治疗前肿瘤细胞的数量减少;肿瘤细胞(例如,在受试者中)的生存力(例如,平均(average/mean)生存力)相对于治疗前肿瘤细胞的生存力降低;肿瘤细胞的生长的速率的降低;局部或远端肿瘤转移速率的降低;或者与受试者中一种或多种肿瘤相关的一种或多种症状相对于治疗前的受试者的症状的减少。

[0295] 如本文所用,术语“治疗癌症”是指在本文所述的降解剂/破坏剂(例如,CDK4/6降解剂/破坏剂)的存在下,导致肿瘤的生长速率、和/或肿瘤的大小和/或局部或远端肿瘤转移速率、和/或受试者的总体肿瘤负荷的部分或完全降低,和/或肿瘤存活率的任意降低。

[0296] 如本文所用,术语“预防(prevent)”、“预防(preventing)”、和“预防(prevention)”应当指受试者中疾病发生的降低或者获得疾病或其相关症状的风险降低。预防可以是完全的,例如,受试者中疾病或病理细胞的完全不存在。预防也可以是部分的,使得受试者中疾病或病理细胞的发生少于、发生晚于、或者发展地更慢于在无本发明的情况下发生的疾病或病理细胞。

[0297] 可以用CDK4/6降解剂/破坏剂治疗的示例性CDK4/6介导的癌症包括例如,实体瘤(例如,乳腺癌(例如,ER+乳腺癌)和前列腺癌)、白血病(例如,急性淋巴细胞白血病、急性髓性白血病、慢性淋巴细胞白血病、慢性髓性白血病、毛细胞白血病和骨髓性白血病)、淋巴瘤(例如,伯基特淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、皮肤T细胞淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、霍奇金淋巴瘤、套层细胞淋巴瘤(mantel cell lymphoma)、和非霍奇金淋巴瘤(NHL))、肾上腺皮质癌、艾滋病相关癌症、肛门癌、星形细胞瘤、基底细胞

癌、皮肤癌(非黑色素瘤)、胆管癌、膀胱癌、骨癌(例如,纤维肉瘤/骨肉瘤/恶性纤维组织细胞瘤)、脑肿瘤(例如,脑星形细胞瘤、室管膜瘤、神经胶质瘤、成神经管细胞瘤、和幕上原始神经外胚层肿瘤(PNET))、脑干胶质瘤、支气管腺瘤/类癌、类癌、中枢神经系统肿瘤、宫颈癌、胆管癌、慢性骨髓增生性病症、结肠癌、子宫内膜癌、食道癌、黑色素瘤(例如,皮肤或眼内)、胆囊癌、胃肠癌(例如,结肠直肠癌、十二指肠癌、和胃(gastric)(胃(stomach))癌)、生殖细胞肿瘤、头颈癌、肝细胞(肝)癌、下咽癌、胰岛细胞癌、卡波西氏肉瘤、肾(肾细胞)癌、喉癌、唇癌和口腔癌、肺癌(小细胞和非小细胞)、梅克尔细胞癌(Merkel cell carcinoma)、间皮瘤、内分泌癌(例如,多发性内分泌肿瘤综合征)、多发性骨髓瘤/浆细胞肿瘤蕈样真菌病、骨髓增生异常综合征、骨髓增生性疾病、鼻腔和鼻窦癌、鼻咽癌、神经母细胞瘤、口咽癌、卵巢癌、胰腺癌、甲状旁腺癌、阴茎癌、垂体癌、胸膜肺母细胞瘤、直肠癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、唾液腺癌、尤文氏肉瘤(Ewing sarcoma)、软组织肉瘤、塞扎里综合征(Sezary syndrome)、鳞状细胞癌、鳞状颈癌、滑膜肉瘤、睾丸癌、胸腺瘤、胸腺癌、甲状腺癌、移行细胞癌、滋养细胞肿瘤、尿道癌、子宫癌、输卵管癌、阴道癌、视觉通路和下丘脑神经胶质瘤、外阴癌、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、和韦尔姆斯氏瘤(Wilms' tumor)。

[0298] 如本文所用,术语在受试者中“预防疾病”(例如,预防癌症)是指例如在症状发生或者例如由病人或病人的医生检测到之前,阻止受试者的疾病的一种或多种症状的发展。优选地,疾病(例如,癌症)根本不发展,即,没有检测到疾病的症状。然而,它还可以导致疾病的一种或多种症状的发展的延迟或减缓。可选地,或另外,它可以导致一种或多种随后发展的症状的严重性降低。

[0299] 任何特定患者的具体剂量和治疗方案将取决于多种因素,包括所用的具体化合物的活性,年龄,体重,一般健康状况,性别,饮食,施用时间,排泄率,药物组合,疾病、病症或症状的严重程度和病程,患者对疾病、病症或症状的处置,以及治疗医师的判断。

[0300] 有效量可以以一种或多种施用、应用或剂量来施用。治疗化合物的治疗有效量(即有效剂量)取决于所选的治疗化合物。此外,用治疗有效量的本文所述的化合物或组合物治疗受试者可以包括单次治疗或一系列治疗。例如,有效量可以施用至少一次。组合物可以从每天一次以上至每周一次以上施用;包括每隔一天一次。技术人员将理解某些因素可能影响有效地治疗受试者所需的剂量和时间,包括但不限于疾病或病症的严重程度、先前的治疗、受试者的一般健康状况或年龄、以及存在的其它疾病。

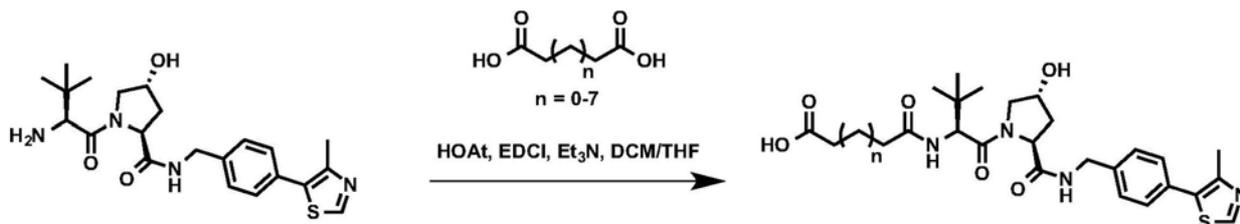
[0301] 施用后,可以评价受试者以检测、评估、或确定其疾病的水平。在一些情况下,治疗可以持续直至检测到受试者的疾病的水平的变化(例如,减少)。在改善患者的病症(例如,受试者的疾病水平的变化(例如,降低))时,如果需要,可以施用维持剂量的本文公开的化合物、或组合物。随后,施用的剂量或频率、或两者可以例如作为症状的函数降低至保持改善的病症的水平。然而,患者可能在任意疾病症状复发时需要长期间歇性治疗。

[0302] 实施例

[0303] 实施例1:

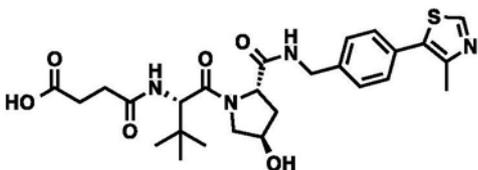
[0304] VHL-1烷基连接子的合成方法

[0305]



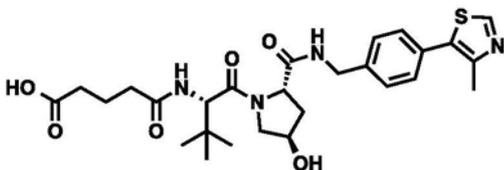
[0306] 在0℃下向二酸(10mmol)在DCM/THF(1:1,200ml)中的溶液依次添加VHL-1(2mmol)、三乙胺(1ml,7.1mmol)、HOAt(300mg,2.2mmol)、和EDCI(420mg,2.2mmol)。将所得溶液在0℃下搅拌2小时,然后升温至室温(RT)。在室温下搅拌过夜后,将反应用水猝灭。在减压下浓缩后,将所得残余物通过反相色谱法纯化以得到期望的产物。

[0307]



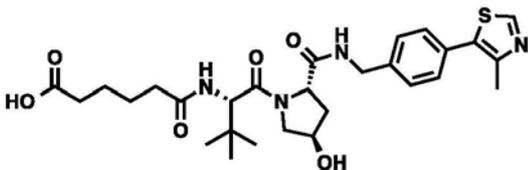
[0308] 连接子1:4-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-4-氧代丁酸(810mg,85%)作为白色固体。¹H NMR(600MHz CD₃OD) δ9.10(s,1H),7.51(d,J=7.8Hz,2H),7.44(d,J=8.4Hz,2H),4.64(s,1H),4.60-4.49(m,3H),4.39(d,J=15.6Hz,1H),3.91(d,J=10.8Hz,1H),3.82(dd,J=9.6,3.6Hz,1H),2.67-2.55(m,4H),2.52(s,3H),2.25-2.22(m,1H),2.12-2.07(m,1H),1.06(s,9H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₂₆H₃₅N₄O₆S,计算值531.2272,实测值531.2280。

[0309]



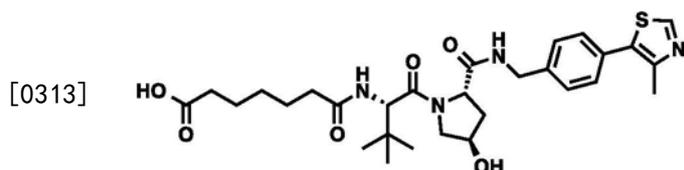
[0310] 连接子2:5-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-5-氧代戊酸(230mg,43%)作为白色固体。¹H NMR(600MHz CD₃OD) δ9.14(s,1H),7.51(d,J=9.0Hz,2H),7.46(d,J=8.4Hz,2H),4.65(s,1H),4.60-4.57(m,1H),4.56(d,J=15.6Hz,1H),4.53-4.50(m,1H),4.38(d,J=15.6Hz,1H),3.94(d,J=11.4Hz,1H),3.82(dd,J=11.4,3.6Hz,1H),2.52(s,3H),2.40-2.30(m,4H),2.26-2.22(m,1H),2.12-2.08(m,1H),1.91(t,J=7.8Hz,2H),1.06(s,9H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₂₇H₃₇N₄O₆S,计算值545.2428,实测值545.2432。

[0311]

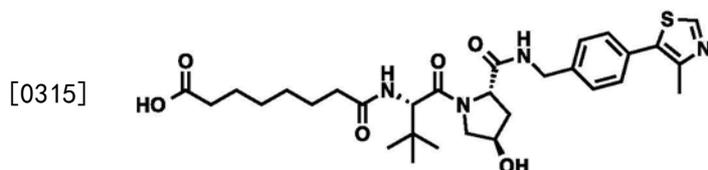


[0312] 连接子3:6-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-6-氧代己酸(700mg,63%)作为白色固体。¹H NMR(600MHz CD₃OD) δ9.12(s,1H),7.51(d,J=9.0Hz,2H),7.46(d,J=8.4Hz,

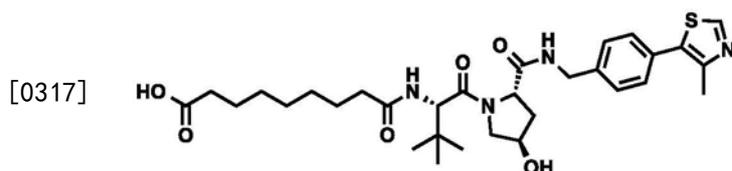
2H), 4.65 (s, 1H), 4.60-4.55 (m, 2H), 4.53-4.50 (m, 1H), 4.38 (d, J=16.8Hz, 1H), 3.93 (d, J=10.8Hz, 1H), 3.82 (dd, J=11.4, 3.6Hz, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.38-2.21 (m, 5H), 2.12-2.08 (m, 1H), 1.71-1.62 (m, 4H), 1.06 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₂₈H₃₉N₄O₆S, 计算值559.2585, 实测值559.2605。



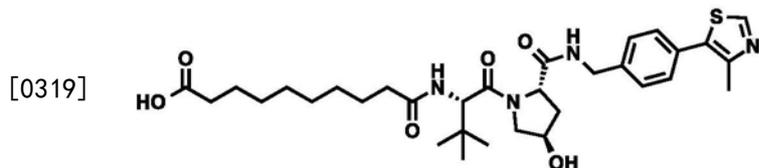
[0314] 连接子4:7-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-7-氧代庚酸(810mg, 79%)作为白色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ8.98 (s, 1H), 7.50 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.44 (d, J=9.0Hz, 2H), 4.65 (s, 1H), 4.60-4.49 (m, 3H), 4.38 (d, J=15.6Hz, 1H), 3.93 (d, J=10.8Hz, 1H), 3.82 (dd, J=11.4, 3.6Hz, 1H), 2.51 (s, 3H), 2.35-2.22 (m, 5H), 2.13-2.08 (m, 1H), 1.68-1.59 (m, 4H), 1.42-1.34 (m, 2H), 1.06 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₂₉H₄₁N₄O₆S, 计算值573.2741, 实测值573.2754。



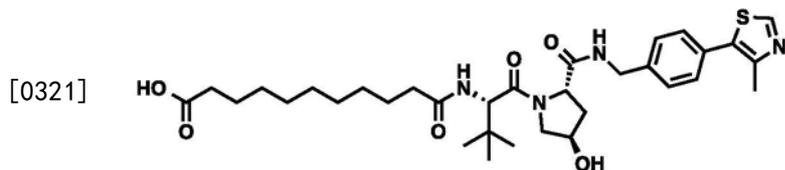
[0316] 连接子5:8-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-8-氧代辛酸(980mg, 78%)作为白色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ8.94 (s, 1H), 7.47 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.42 (d, J=8.2Hz, 2H), 4.63 (s, 1H), 4.59-4.47 (m, 3H), 4.35 (d, J=15.4Hz, 1H), 3.90 (d, J=11.0Hz, 1H), 3.80 (dd, J=10.9, 3.9Hz, 1H), 2.48 (s, 3H), 2.32-2.17 (m, 5H), 2.08 (ddd, J=13.3, 9.1, 4.5Hz, 1H), 1.67-1.55 (m, 4H), 1.40-1.28 (m, 4H), 1.03 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₃₀H₄₃N₄O₆S, 计算值587.2898; 实测值:587.2903。



[0318] 连接子6:9-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-9-氧代壬酸(750mg, 66%)作为白色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.09 (s, 1H), 7.51 (d, J=9.0Hz, 2H), 7.46 (d, J=8.4Hz, 2H), 4.66 (s, 1H), 4.61-4.50 (m, 3H), 4.38 (d, J=15.6Hz, 1H), 3.93 (d, J=10.8Hz, 1H), 3.82 (dd, J=11.4, 3.6Hz, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.36-2.22 (m, 5H), 2.12-2.07 (m, 1H), 1.68-1.59 (m, 4H), 1.40-1.34 (m, 8H), 1.06 (s, 9H); HPLC 98%; t_R=4.24min; HRMS (TOF) 对于C₃₁H₄₅N₄O₆S [M+H]⁺, 计算值601.3054, 实测值601.3064。



[0320] 连接子7:10-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-10-氧代癸酸(900mg,73%)作为白色固体。¹H NMR(600MHz CD₃OD) δ8.98(s,1H),7.50(d,J=8.4Hz,2H),7.45(d,J=9.0Hz,2H),4.66(s,1H),4.61-4.50(m,3H),4.38(d,J=14.4Hz,1H),3.93(d,J=10.8Hz,1H),3.83(dd,J=11.4,3.6Hz,1H),2.51(s,3H),2.35-2.22(m,5H),2.13-2.08(m,1H),1.66-1.58(m,4H),1.38-1.32(m,10H),1.06(s,9H).HRMS(TOF)对于C₃₂H₄₇N₄O₆S[M+H]⁺,计算值615.3211,实测值615.3224。

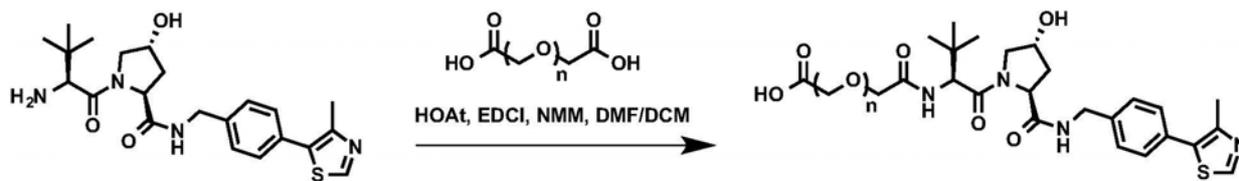


[0322] 连接子8:11-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-11-氧代十一烷酸(930mg,78%)作为白色固体。¹H NMR(600MHz CD₃OD) δ8.95(s,1H),7.49(d,J=8.4Hz,2H),7.44(d,J=7.8Hz,2H),4.66(s,1H),4.61-4.50(m,3H),4.38(d,J=15.6Hz,1H),3.93(d,J=9.6Hz,1H),3.82(dd,J=11.4,3.6Hz,1H),2.50(s,3H),2.35-2.21(m,5H),2.12-2.07(m,1H),1.66-1.57(m,4H),1.37-1.29(m,12H),1.06(s,9H).HRMS(ESI-TOF)对于C₃₃H₄₉N₄O₆S,计算值629.3367,实测值629.3368。

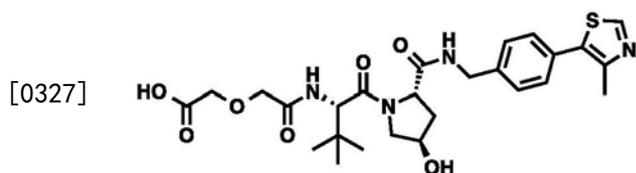
[0323] 实施例2:

[0324] VHL-1PEG连接子的合成方法

[0325]

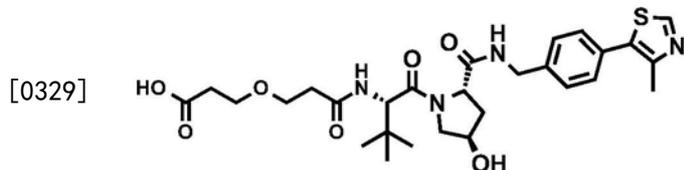


[0326] 在0℃下向二酸(4mmol)在DMF(10ml)和DCM(250ml)中的溶液添加NMM(10mmol)、VHL-1(2mmol)、HOAt(2.4mmol)、和EDCI(2.4mmol)。将所得的反应溶液在0℃下搅拌6小时,然后在室温下搅拌过夜。通过LC/MS监测反应的进程。在VHL-1完全耗尽后,将反应浓缩并且将所得残余物通过反相色谱法纯化以得到产物。

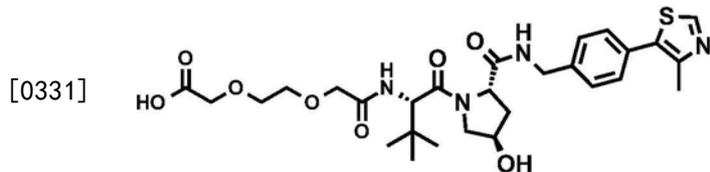


[0328] 连接子9:2-2-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-氧代乙氧基)乙酸(810mg,

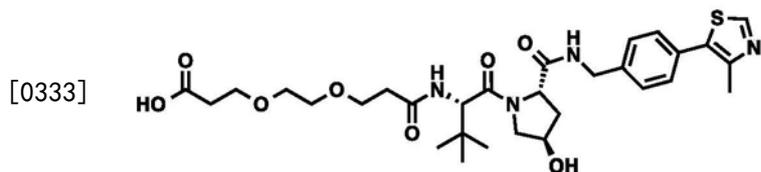
69%) 作为白色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ8.97 (s, 1H), 7.47 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.43 (d, J=8.1Hz, 2H), 4.69 (s, 1H), 4.60-4.47 (m, 3H), 4.36 (d, J=15.5Hz, 1H), 4.27-4.17 (m, 2H), 4.16-4.07 (m, 2H), 3.89 (d, J=11.0Hz, 1H), 3.81 (dd, J=11.0, 3.8Hz, 1H), 2.48 (s, 3H), 2.22 (dd, J=13.1, 7.6Hz, 1H), 2.08 (ddd, J=13.3, 9.2, 4.5Hz, 1H), 1.05 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₂₆H₃₅N₄O₇S, 计算值547.2221; 实测值:547.2230。



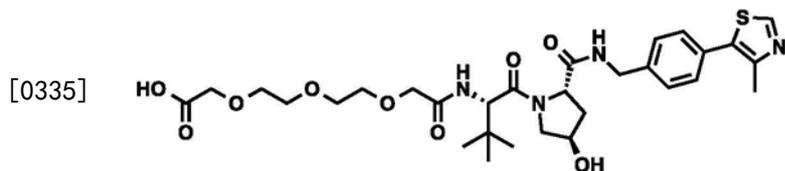
[0330] 连接子10:3-(3-((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-氧代丙氧基)丙酸 (450mg, 63%) 作为白色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.00 (s, 1H), 7.45 (d, J=22.1Hz, 4H), 4.64 (s, 1H), 4.61-4.44 (m, 3H), 4.36 (d, J=15.4Hz, 1H), 3.84 (dd, J=57.3, 10.5Hz, 2H), 3.75-3.56 (m, 4H), 2.60-2.39 (m, 7H), 2.24-2.17 (m, 1H), 2.11-2.03 (m, 1H), 1.03 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₂₈H₃₉N₄O₇S, 计算值575.2534; 实测值:575.2543。



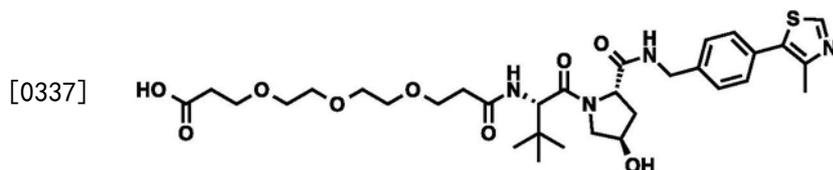
[0332] 连接子11:2-(2-(2-((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-氧代乙氧基)乙氧基)乙酸 (680mg, 54%) 作为白色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.05 (s, 1H), 7.48 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.44 (d, J=8.2Hz, 2H), 4.69 (s, 1H), 4.56 (dd, J=18.6, 12.1Hz, 2H), 4.50 (s, 1H), 4.36 (d, J=15.5Hz, 1H), 4.21 (d, J=16.8Hz, 1H), 4.13 (d, J=16.9Hz, 1H), 4.08 (d, J=15.6Hz, 1H), 4.04 (d, J=15.7Hz, 1H), 3.88 (d, J=11.0Hz, 1H), 3.83-3.69 (m, 5H), 2.49 (s, 3H), 2.25-2.19 (m, 1H), 2.08 (ddd, J=13.3, 9.2, 4.4Hz, 1H), 1.04 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₂₈H₃₉N₄O₈S, 计算值591.2483; 实测值:591.2477。



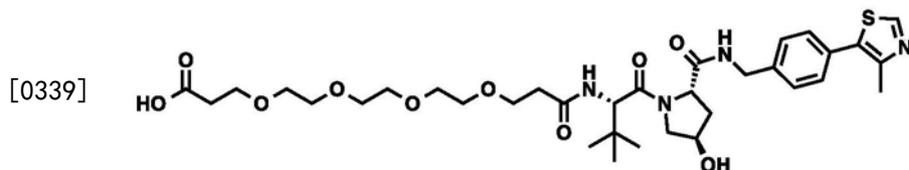
[0334] 连接子12:3-(2-(3-((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)丙酸 (680mg, 64%) 作为白色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ8.98 (d, J=20.1Hz, 1H), 7.48 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.43 (d, J=8.1Hz, 2H), 4.64 (s, 1H), 4.59-4.51 (m, 2H), 4.49 (s, 1H), 4.35 (d, J=15.5Hz, 1H), 3.89 (d, J=11.0Hz, 1H), 3.80 (dd, J=10.9, 3.8Hz, 1H), 3.76-3.67 (m, 4H), 3.63-3.55 (m, 4H), 2.60-2.43 (m, 7H), 2.21 (dd, J=13.1, 7.6Hz, 1H), 2.08 (ddd, J=13.2, 9.1, 4.5Hz, 1H), 1.04 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₃₀H₄₃N₄O₈S, 计算值619.2796; 实测值:619.2800。



[0336] 连接子13: (S)-13-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-羰基)-14,14-二甲基-11-氧代-3,6,9-三氧杂-12-氮杂十五烷酸(880mg, 54%)作为白色固体。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.05(s,1H),7.48(d,J=8.2Hz,2H),7.44(d,J=8.3Hz,2H),4.69(s,1H),4.60-4.51(m,2H),4.50(s,1H),4.36(d,J=15.5Hz,1H),4.10(s,1H),4.07(d,J=15.6Hz,1H),4.03(d,J=15.6Hz,1H),3.87(d,J=11.0Hz,1H),3.80(dd,J=11.0,3.8Hz,1H),3.76-3.64(m,9H),2.50(s,3H),2.22(dd,J=13.1,7.6Hz,1H),2.08(ddd,J=13.3,9.2,4.4Hz,1H),1.04(s,9H).HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₃₀H₄₃N₄O₉S,计算值635.2745;实测值:635.2751。



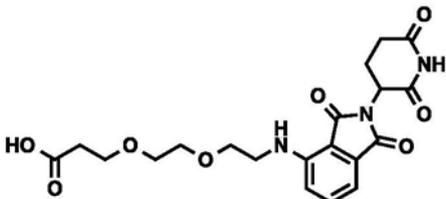
[0338] 连接子14: (S)-15-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-羰基)-16,16-二甲基-13-氧代-4,7,10-三氧杂-14-氮杂十七烷酸(677mg, 57%)作为白色固体。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ8.95(s,1H),7.47(d,J=8.1Hz,2H),7.42(d,J=8.1Hz,2H),4.65(s,1H),4.59-4.51(m,2H),4.49(s,1H),4.35(d,J=15.5Hz,1H),3.89(d,J=11.1Hz,1H),3.80(dd,J=10.9,3.9Hz,1H),3.76-3.67(m,4H),3.66-3.54(m,8H),2.60-2.50(m,3H),2.50-2.43(m,4H),2.21(dd,J=13.1,7.6Hz,1H),2.08(ddd,J=13.3,9.1,4.5Hz,1H),1.04(s,9H).HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₃₂H₄₇N₄O₉S,计算值663.3058;实测值:663.3059。



[0340] 连接子15: (S)-18-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-羰基)-19,19-二甲基-16-氧代-4,7,10,13-四氧杂-17-氮杂二十烷酸(590mg,65%)作为白色固体。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ8.99(s,1H),7.48(d,J=8.1Hz,2H),7.42(d,J=8.2Hz,2H),4.65(s,1H),4.59-4.51(m,2H),4.49(s,1H),4.35(d,J=15.5Hz,1H),3.89(d,J=11.0Hz,1H),3.80(dd,J=10.9,3.8Hz,1H),3.77-3.67(m,4H),3.67-3.54(m,12H),2.61-2.43(m,7H),2.21(dd,J=13.0,7.6Hz,1H),2.08(ddd,J=13.2,9.1,4.4Hz,1H),1.04(s,9H).HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₃₄H₅₁N₄O₁₀S,计算值707.3320;实测值:707.3321。

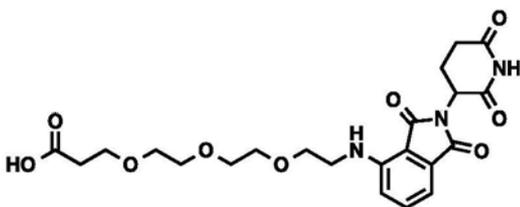
[0350] 连接子18:3-(2-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)丙酸。根据上述方法,使用3-(2-(2-氨基乙氧基)丙酸叔丁酯(1.0g,5.3mmol)来制备标题化合物(500mg,24%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ7.54(dd,J=8.3,7.0,1.2Hz,1H),7.09(d,1H),7.04(d,J=7.0,1.1Hz,1H),5.05(dd,J=12.5,5.4,1.2Hz,1H),3.75(t,J=6.2,1.2Hz,2H),3.65-3.69(m,2H),3.45-3.49(m,2H),2.88-2.82(m,1H),2.76-2.70(m,2H),2.56(t,J=6.2,1.2Hz,2H),2.10(ddt,J=14.9,7.6,3.7,1.6Hz,1H)。MS(ESI)m/z 390.2[M+H]⁺。

[0351]



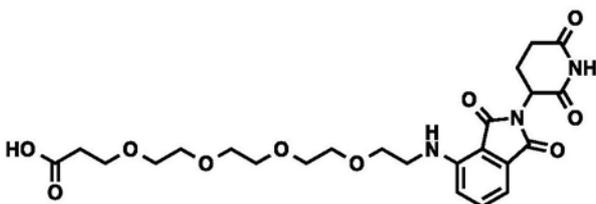
[0352] 连接子19:3-(2-(2-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)-丙酸。根据上述方法,使用3-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)丙酸叔丁酯(0.70g,3.0mmol)来制备3-(2-(2-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)-乙氧基)乙氧基)丙酸叔丁酯(575mg,39%)。¹H NMR(600MHz,CDCl₃) δ8.13(s,1H),7.53-7.45(m,1H),7.10(d,J=7.1Hz,1H),6.92(d,J=8.5Hz,1H),6.49(t,J=5.6Hz,1H),4.91(dd,J=12.4,5.3Hz,1H),3.76-3.69(m,4H),3.67-3.60(m,4H),3.46(q,J=5.5Hz,2H),2.89(dt,J=16.8,3.2Hz,1H),2.84-2.69(m,2H),2.51(t,J=6.6Hz,2H),2.16-2.08(m,1H),1.44(s,9H)。MS(ESI)m/z 490.2[M+H]⁺。将叔丁酯中间体溶解于甲酸(10ml)中,并且将所得溶液在室温下搅拌过夜。在减压下除去溶剂后,获得标题化合物(512mg,100%)并且无需进一步纯化而用于以下反应。

[0353]

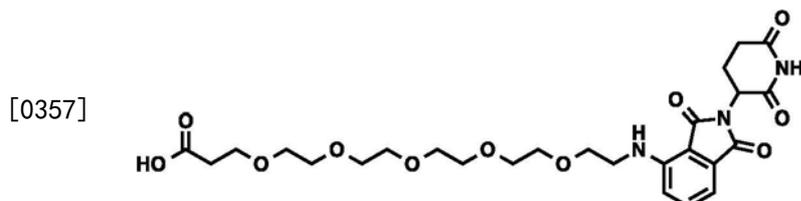


[0354] 连接子20:3-(2-(2-(2-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸。根据上述方法,使用3-(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸叔丁酯(1.0g,3.6mmol)来制备标题化合物(240mg,10%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ7.55(dd,J=8.4,7.2Hz,1H),7.10(d,J=8.6Hz,1H),7.05(d,J=7.1Hz,1H),5.05(dd,J=12.4,5.4Hz,1H),3.71(dt,J=9.4,5.7Hz,4H),3.66-3.63(m,4H),3.62(dd,J=6.0,3.5Hz,2H),3.58(dd,J=6.1,3.5Hz,2H),3.50(t,J=5.3Hz,2H),2.86(ddd,J=19.1,14.1,5.3Hz,1H),2.77-2.66(m,2H),2.52(t,J=6.3Hz,2H),2.11(ddt,J=10.3,5.0Hz,1H)。MS(ESI)m/z 478.3[M+H]⁺。

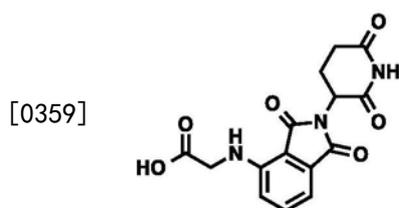
[0355]



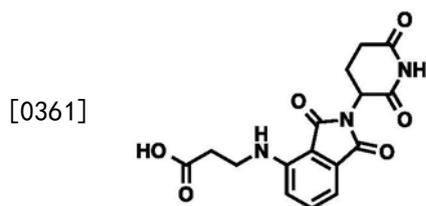
[0356] 连接子21:1-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酸。根据一般方法,使用1-氨基-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酸叔丁酯(0.96g,3.0mmol)来制备叔丁酯中间体。将叔丁酯中间体溶解于甲酸(10ml)中,并且将所得溶液在室温下搅拌过夜。在减压下除去溶剂后,获得标题化合物(950mg,61%)并且无需进一步纯化而用于以下反应。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ7.55(t,J=7.8Hz,1H),7.10(d,J=8.5Hz,1H),7.06(d,J=7.0Hz,1H),5.05(dd,J=12.6,5.3Hz,1H),3.75-3.68(m,4H),3.68-3.55(m,12H),3.50(t,J=4.9Hz,2H),2.90-2.81(m,1H),2.78-2.66(m,2H),2.52(t,J=6.0Hz,2H),2.14-2.07(m,1H)。MS(ESI)m/z 522.2[M+H]⁺。



[0358] 连接子22:1-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷-18-酸。根据上述方法,使用1-氨基-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷-18-酸叔丁酯(1.10g,3.0mmol)来制备1-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷-18-酸叔丁酯(1.35g,72%)。¹H NMR(600MHz,CDCl₃) δ8.32(s,1H),7.48(dd,J=8.5,7.1Hz,1H),7.10(d,J=7.1Hz,1H),6.91(d,J=8.6Hz,1H),6.49(t,J=5.7Hz,1H),4.91(dd,J=12.4,5.3Hz,1H),3.74-3.68(m,4H),3.68-3.63(m,12H),3.63-3.58(m,4H),3.46(q,J=5.6Hz,2H),2.92-2.85(m,1H),2.83-2.68(m,2H),2.49(t,J=6.6Hz,2H),2.15-2.08(m,1H),1.43(s,9H)。MS(ESI)m/z 622.2[M+H]⁺。将叔丁酯中间体溶解于甲酸(10ml)中,并且将所得溶液在室温下搅拌过夜。在减压下除去溶剂后,获得标题化合物(1.23g,100%)并且无需进一步纯化而用于以下反应。



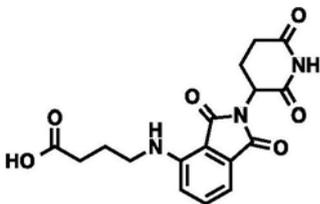
[0360] 连接子23:(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)甘氨酸。根据一般方法,使用甘氨酸叔丁酯(838mg,5.0mmol)来制备标题化合物(240mg,14%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ7.57(dd,J=8.5,7.1Hz,1H),7.11(d,J=7.1Hz,1H),6.95(d,J=8.5Hz,1H),5.07(dd,J=12.6,5.5Hz,1H),4.12(s,2H),2.86(ddd,J=18.0,14.4,5.4Hz,1H),2.74-2.67(m,2H),2.15-2.08(m,1H)。MS(ESI)m/z 332.1[M+H]⁺。



[0362] 连接子24:3-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)丙

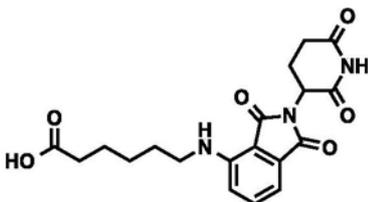
酸。根据上述方法,使用3-氨基丙酸叔丁酯HCl盐(1.0g,5.97mmol)来制备标题化合物(700mg,4%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ7.57(dd,J=8.6,7.1Hz,1H),7.11(d,J=8.6Hz,1H),7.06(d,J=7.1Hz,1H),5.05(dd,J=12.6,5.5Hz,1H),3.62(t,J=6.5Hz,2H),2.88-2.82(m,1H),2.76-2.69(m,2H),2.64(t,J=6.5Hz,2H),2.13-2.07(m,1H)。MS(ESI)m/z 346.2[M+H]⁺。

[0363]



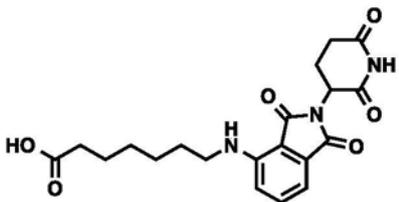
[0364] 连接子25:4-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)丁酸。根据上述方法,使用4-氨基丁酸叔丁酯(1.0g,6.2mmol)来制备标题化合物(550mg,25%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ7.55(dd,J=8.6,7.1Hz,1H),7.10(d,J=8.5Hz,1H),7.04(d,J=7.1Hz,1H),5.05(dd,J=12.4,5.5Hz,1H),3.39(t,J=7.2Hz,2H),2.85-2.82(m,1H),2.76-2.69(m,2H),2.42(t,J=7.1Hz,2H),2.10(tq,J=8.0,3.8Hz,1H),1.94(dp,J=14.3,7.0Hz,2H)。MS(ESI)m/z 360.1[M+H]⁺。

[0365]



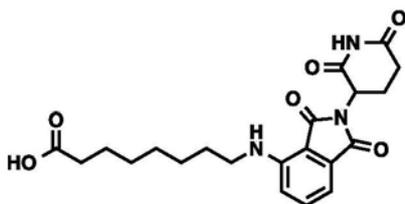
[0366] 连接子26:6-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)己酸。根据上述方法,使用6-氨基己酸叔丁酯(1.0g,4.47mmol)来制备标题化合物(460mg,27%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ7.54(dd,J=8.6,7.1Hz,1H),7.03(dd,J=7.8,3.8Hz,2H),5.05(dd,J=12.5,5.4Hz,1H),3.33(t,J=7.1Hz,2H),2.88-2.82(m,1H),2.75-2.67(m,2H),2.31(t,J=7.4Hz,2H),2.10(tdd,J=10.1,5.3,3.1Hz,1H),1.70-1.64(m,4H),1.46(dddd,J=13.0,8.9,7.1,4.2Hz,2H)。MS(ESI)m/z 388.1[M+H]⁺。

[0367]



[0368] 连接子27:7-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)庚酸。根据上述方法,使用7-氨基庚酸叔丁酯(1.0g,4.96mmol)来制备标题化合物(500mg,25%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ7.54(dd,1H),7.03(dd,J=7.8,3.7Hz,2H),5.05(dd,J=12.5,5.5Hz,1H),3.30-3.33(m,2H),2.90-2.79(m,1H),2.77-2.68(m,2H),2.29(t,J=7.4Hz,2H),2.13-2.07(m,1H),1.68-1.61(m,4H),1.46-1.40(m,4H)。MS(ESI)m/z 402.3[M+H]⁺。

[0369]

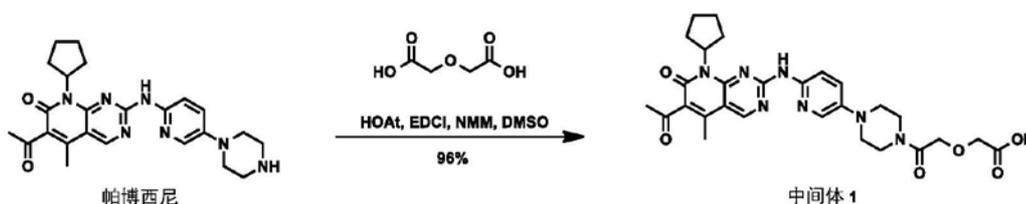


[0370] 连接子28:8-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)辛酸。根据上述方法,使用8-氨基辛酸叔丁酯(1.0g,4.6mmol)来制备标题化合物(620mg,32%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ7.53(dd,J=8.6,7.0,1.5Hz,1H),7.08-6.93(m,2H),5.05(dd,J=12.5,5.5,1.5Hz,1H),3.31(t,2H),2.90-2.79(m,1H),2.75-2.66(m,2H),2.28(t,J=7.5,1.5Hz,2H),2.13-2.07(m,1H),1.66-1.51(m,4H),1.43-1.33(m,6H)。MS(ESI)m/z416.4[M+H]⁺。

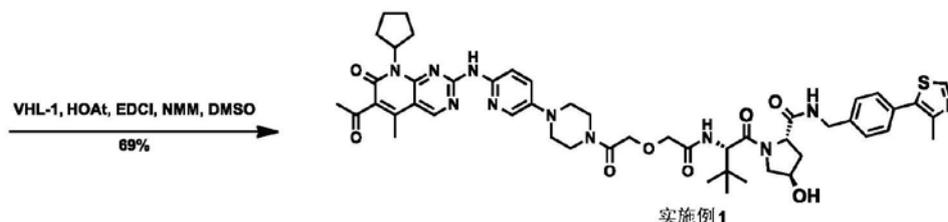
[0371] 实施例4:

[0372] 二价化合物的合成方法

[0373] 方案1:实施例1的合成



[0374]



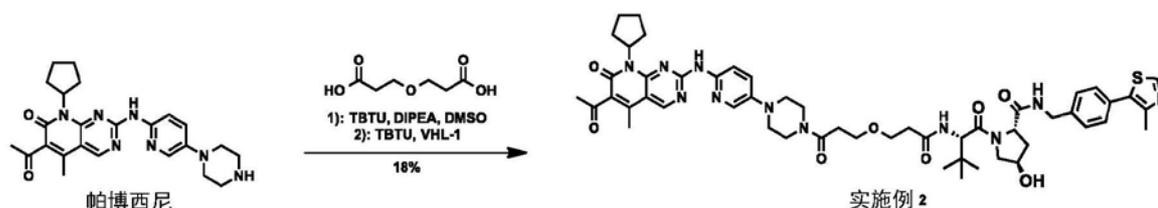
[0375] 2-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)乙酸(中间体1)。向帕博西尼(25mg,0.0559mmol)在DMSO(1ml)和DCM(10ml)中的溶液添加NMM(34mg,0.335mmol)、2,2'-氧基二乙酸(18mg,0.135mmol)、HOAt(20mg,0.134mmol)、和EDCI(28mg,0.134mmol)。使混合物在室温下搅拌过夜。在帕博西尼耗尽后,将反应在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到产物(30mg,96%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.10(s,1H),8.20(d,J=9.5Hz,1H),7.88(s,1H),7.55(d,J=9.5Hz,1H),6.00(p,J=8.9Hz,1H),4.41(s,2H),4.21(s,2H),3.85-3.70(m,4H),3.39-3.26(m,4H),2.49(s,3H),2.43(s,3H),2.35-2.25(m,2H),2.13-2.04(m,2H),1.95-1.85(m,2H),1.74-1.64(m,2H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₂₈H₃₄N₇O₆,计算值564.2565;实测值:564.2560。

[0376] (2S,4R)-1-((S)-2-(2-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例1)。向中间体1(30mg,0.0553mmol)在DMSO(1mL)中的溶液添加NMM(27mg,0.266mmol)、VHL-1(30mg,0.0639mmol)、HOAt(11mg,0.0799mmol)、和EDCI(15mg,0.0799mmol)。使混合物

在室温下搅拌过夜。在VHL-1耗尽后,将反应在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的产物(36mg,69%)。¹H NMR (600MHz,CD₃OD) δ9.07 (s,1H),9.03 (s,1H),8.17 (dd,J=2.9,9.6Hz,1H),7.86 (d,J=2.9Hz,1H),7.52 (d,J=9.6Hz,1H),7.46-7.42 (m,2H),7.38 (d,J=8.3Hz,2H),5.99 (p,J=8.9Hz,1H),4.69 (s,1H),4.62-4.30 (m,6H),4.17 (d,J=15.1Hz,1H),4.10 (d,J=15.0Hz,1H),3.90 (d,J=10.9Hz,1H),3.85-3.74 (m,3H),3.72-3.62 (m,2H),3.37-3.25 (m,4H),2.49 (s,3H),2.47 (s,3H),2.41 (s,3H),2.35-2.21 (m,3H),2.14-2.04 (m,3H),1.94-1.85 (m,2H),1.75-1.63 (m,2H),1.06 (s,9H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₀H₆₂N₁₁O₈S,计算值976.4498;实测值:976.4492。

[0377] 方案2:实施例2的合成

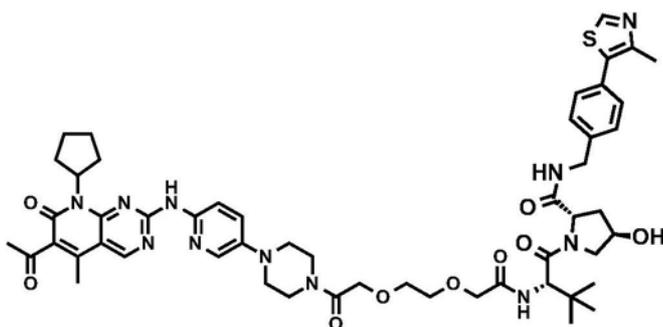
[0378]



[0379] (2S,4R)-1-((S)-2-(3-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)丙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例2)。向帕博西尼(53mg,0.119mmol)在DMSO(2ml)中的溶液添加DIPEA(76mg,0.594mmol)、3,3'-氧基二丙酸(25mg,0.154mmol)、和TBTU(57mg,0.178mmol)。使混合物在室温下搅拌过夜,此时添加TBTU(57mg,0.178mmol)和VHL-1(55mg,0.119mmol)。使反应混合物在室温下搅拌过夜。在VHL-1耗尽后,将反应在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的产物(22mg,18%)。¹H NMR (600MHz,CD₃OD) δ8.92 (s,1H),8.79 (s,1H),7.98 (s,1H),7.95 (d,J=8.9Hz,1H),7.41 (d,J=8.1Hz,1H),7.37 (d,J=8.0Hz,2H),7.32 (d,J=7.7Hz,2H),5.88 (p,J=9.1Hz,1H),4.66 (s,1H),4.56 (t,J=8.4Hz,1H),4.49 (s,1H),4.45 (d,J=15.6Hz,1H),4.33 (d,J=15.4Hz,1H),3.88 (d,J=11.1Hz,1H),3.80-3.70 (m,9H),3.15 (dt,J=5.1,29.0Hz,4H),2.73 (d,J=2.7Hz,2H),2.57-2.49 (m,2H),2.47 (s,3H),2.39 (s,3H),2.34-2.25 (m,5H),2.24-2.18 (m,1H),2.12-2.03 (m,1H),2.03-1.95 (m,2H),1.89-1.80 (m,2H),1.71-1.61 (m,2H),1.03 (s,9H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₂H₆₆N₁₁O₈S,计算值1004.4811;实测值:1004.4813。

[0380] 根据实施例2化合物的制备方法(以上)合成实施例3、4、5、6、7、8、9、和18化合物(以下)。

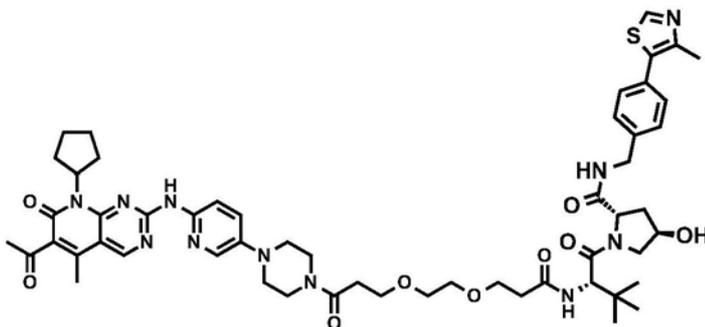
[0381]



[0382] 实施例3

[0383] (2S,4R)-1-((S)-2-(2-(2-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)乙氧基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例3)(9mg,4%)作为黄色固体。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.06(s,1H),8.94(s,1H),8.16(dd,J=2.9,9.6Hz,1H),7.82(d,J=2.9Hz,1H),7.50(d,J=9.6Hz,1H),7.41(d,J=8.2Hz,2H),7.38(d,J=8.2Hz,2H),6.00(p,J=8.8Hz,1H),4.73(d,J=9.5Hz,1H),4.57(dd,J=7.5,9.5Hz,1H),4.53-4.45(m,2H),4.41-4.31(m,3H),4.06(d,J=8.3Hz,2H),3.89(d,J=11.1Hz,1H),3.85-3.70(m,9H),3.37-3.24(m,4H),2.50(s,3H),2.45(s,3H),2.42(s,3H),2.34-2.23(m,3H),2.14-2.05(m,3H),1.94-1.86(m,2H),1.74-1.65(m,2H),1.04(s,9H).HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₂H₆₆N₁₁O₉S,计算值1020.4760;实测值:1020.4769。

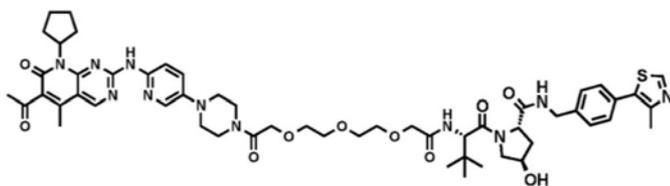
[0384]



[0385] 实施例4

[0386] (2S,4R)-1-((S)-2-(3-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)丙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例4)(13mg,11%)作为黄色固体。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.09(s,1H),8.98(s,1H),8.20(dd,J=3.1,9.6Hz,1H),7.85(d,J=2.9Hz,1H),7.53(d,J=9.5Hz,1H),7.46(d,J=8.0Hz,2H),7.40(d,J=8.2Hz,2H),6.00(p,J=8.9Hz,1H),4.64(s,1H),4.60-4.47(m,3H),4.35(d,J=15.5Hz,1H),3.88(d,J=11.0Hz,1H),3.82-3.75(m,7H),3.74-3.67(m,2H),3.65-3.57(m,5H),3.33(t,J=5.4Hz,2H),3.26(t,J=5.3Hz,2H),2.72(t,J=6.1Hz,2H),2.56-2.51(m,1H),2.50(s,3H),2.47(s,3H),2.43(s,3H),2.35-2.26(m,2H),2.25-2.20(m,1H),2.14-2.04(m,3H),1.94-1.86(m,2H),1.74-1.66(m,2H),1.03(s,9H).HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₄H₇₀N₁₁O₉S,计算值1048.5073;实测值:1048.5069。

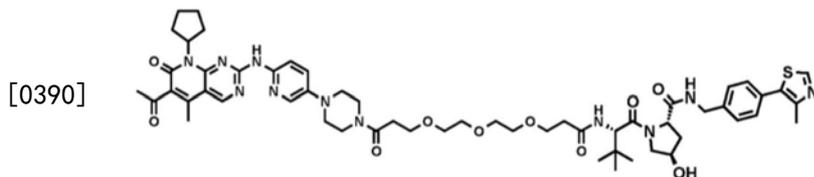
[0387]



[0388] 实施例5

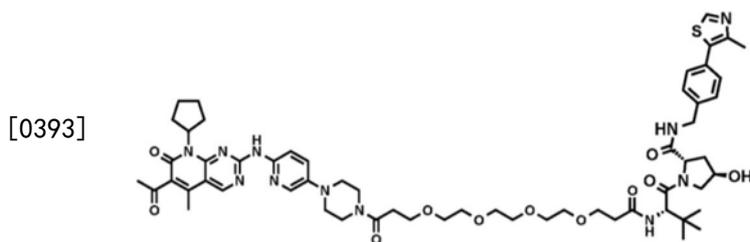
[0389] (2S,4R)-1-((S)-14-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-(叔丁基)-4,14-二氧代-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化

合物实施例5) (15mg, 17%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.08 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.18 (dd, J=3.0, 9.6Hz, 1H), 7.85 (d, J=2.9Hz, 1H), 7.53 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.46 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.42 (d, J=8.1Hz, 2H), 6.00 (p, J=8.9Hz, 1H), 4.69 (s, 1H), 4.60-4.48 (m, 3H), 4.39-4.26 (m, 3H), 4.09-3.96 (m, 2H), 3.88 (d, J=10.9Hz, 1H), 3.83-3.63 (m, 12H), 3.27 (t, J=5.0Hz, 4H), 2.49 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.34-2.21 (m, 3H), 2.13-2.04 (m, 3H), 1.93-1.86 (m, 2H), 1.72-1.66 (m, 2H), 1.04 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺ 对于C₅₄H₇₀N₁₁O₁₀S, 计算值1064.5022; 实测值: 1064.5026。



[0391] 实施例6

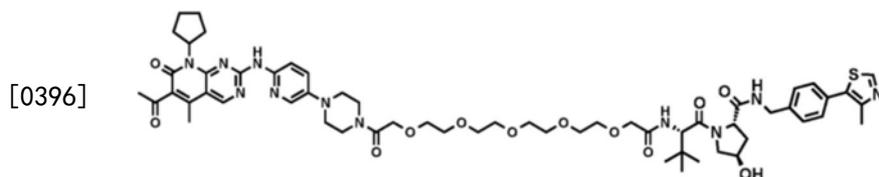
[0392] (2S, 4R)-1-((S)-16-(4-(6-(6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-(叔丁基)-4,16-二氧代-7,10,13-三氧杂-3-氮杂十六烷酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (化合物实施例6) (13mg, 13%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.09 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.20 (dd, J=3.0, 9.7Hz, 1H), 7.86 (d, J=3.0Hz, 1H), 7.53 (d, J=9.7Hz, 1H), 7.45 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.40 (d, J=8.0Hz, 2H), 6.01 (p, J=8.8Hz, 1H), 4.64 (s, 1H), 4.58-4.47 (m, 3H), 4.35 (d, J=15.5Hz, 1H), 3.88 (d, J=11.0Hz, 1H), 3.83-3.75 (m, 7H), 3.74-3.65 (m, 2H), 3.64-3.55 (m, 8H), 3.33 (t, J=5.2Hz, 2H), 3.27 (d, J=7.2Hz, 2H), 2.71 (t, J=6.2Hz, 2H), 2.59-2.52 (m, 1H), 2.50 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.34-2.26 (m, 2H), 2.24-2.19 (m, 1H), 2.13-2.04 (m, 3H), 1.94-1.86 (m, 2H), 1.74-1.65 (m, 2H), 1.03 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺ 对于C₅₆H₇₄N₁₁O₁₀S, 计算值1092.5335; 实测值: 1092.5339。



[0394] 实施例7

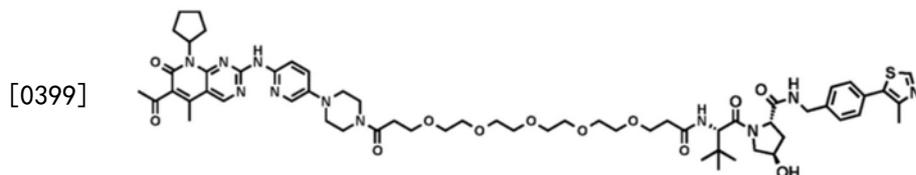
[0395] (2S, 4R)-1-((S)-19-(4-(6-(6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-(叔丁基)-4,19-二氧代-7,10,13,16-四氧杂-3-氮杂十九烷酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (化合物实施例7) (12mg, 12%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.08 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.21 (dd, J=3.0, 9.5Hz, 1H), 7.87 (d, J=2.9Hz, 1H), 7.53 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.45 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.40 (d, J=8.1Hz, 2H), 6.00 (p, J=8.9Hz, 1H), 4.64 (s, 1H), 4.59-4.47 (m, 3H), 4.35 (d, J=15.5Hz, 1H), 3.88 (d, J=11.0Hz, 1H), 3.83-3.75 (m, 7H), 3.75-3.66 (m, 2H), 3.64-3.53 (m, 13H), 3.34 (t, J=5.2Hz, 2H), 3.28 (t, J=5.3Hz, 2H), 2.72 (t, J=6.2Hz, 2H), 2.59-2.52 (m, 1H), 2.50 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.35-2.26 (m, 2H),

2.24-2.19 (m, 1H), 2.13-2.04 (m, 3H), 1.94-1.86 (m, 2H), 1.73-1.64 (m, 2H), 1.03 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{58}H_{78}N_{11}O_{11}S$, 计算值 1136.5597; 实测值: 1136.5595.



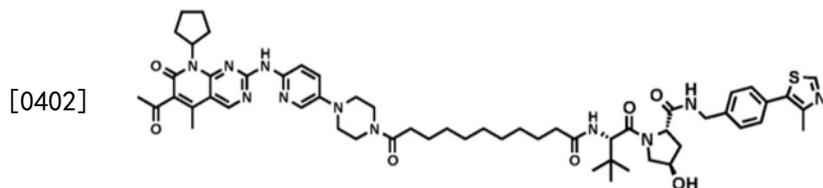
[0397] 实施例8

[0398] (2S, 4R)-1-((S)-20-(4-(6-(6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-(叔丁基)-4,20-二氧代-6,9,12,15,18-五氧杂-3-氮杂二十烷酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例8) (6mg, 7%) 作为黄色固体。 1H NMR (600MHz, CD_3OD) δ 9.08 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.20 (dd, $J=3.0, 9.6$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J=3.0$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.44 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.41 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 6.00 (p, $J=8.7$ Hz, 1H), 4.69 (s, 1H), 4.59-4.48 (m, 3H), 4.36 (d, $J=15.7$ Hz, 1H), 4.30 (s, 2H), 4.05 (d, $J=15.8$ Hz, 1H), 4.00 (d, $J=15.5$ Hz, 1H), 3.88 (d, $J=11.1$ Hz, 1H), 3.83-3.72 (m, 5H), 3.72-3.58 (m, 16H), 3.36-3.25 (m, 4H), 2.50 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.34-2.27 (m, 2H), 2.26-2.21 (m, 1H), 2.15-2.05 (m, 3H), 1.94-1.86 (m, 2H), 1.73-1.65 (m, 2H), 1.03 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{58}H_{78}N_{11}O_{12}S$, 计算值 1152.5547; 实测值: 1152.5548.



[0400] 实施例9

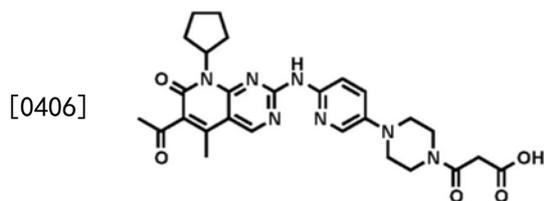
[0401] (2S, 4R)-1-((S)-22-(4-(6-(6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-(叔丁基)-4,22-二氧代-7,10,13,16,19-五氧杂-3-氮杂二十二烷酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例9) (25mg, 19%) 作为黄色固体。 1H NMR (600MHz, CD_3OD) δ 9.09 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.21 (dd, $J=3.0, 9.6$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J=3.0$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.41 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 6.00 (p, $J=8.9$ Hz, 1H), 4.64 (s, 1H), 4.60-4.46 (m, 3H), 4.35 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 3.88 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 3.84-3.66 (m, 10H), 3.65-3.55 (m, 16H), 3.35 (t, $J=5.1$ Hz, 2H), 3.28 (t, $J=5.3$ Hz, 2H), 2.72 (t, $J=6.1$ Hz, 2H), 2.61-2.53 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.34-2.26 (m, 2H), 2.25-2.19 (m, 1H), 2.12-2.03 (m, 3H), 1.94-1.86 (m, 2H), 1.73-1.65 (m, 2H), 1.03 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{60}H_{82}N_{11}O_{12}S$, 计算值 1180.5860; 实测值: 1180.5859.



[0403] 实施例18

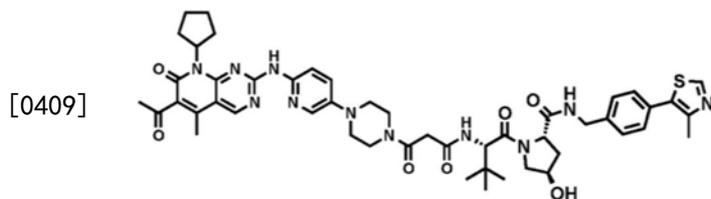
[0404] (2S,4R)-1-((S)-2-(11-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-11-氧代十一烷酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例18) (17mg, 13%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.10 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.20 (dd, J=2.9, 9.6Hz, 1H), 7.86 (d, J=3.0Hz, 1H), 7.54 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.46 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.41 (d, J=8.1Hz, 2H), 6.01 (p, J=8.9Hz, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.59-4.46 (m, 3H), 4.35 (d, J=15.5Hz, 1H), 3.90 (d, J=11.0Hz, 1H), 3.84-3.72 (m, 5H), 3.36-3.24 (m, 4H), 2.53-2.40 (m, 10H), 2.36-2.18 (m, 5H), 2.15-2.03 (m, 3H), 1.95-1.86 (m, 2H), 1.74-1.53 (m, 6H), 1.42-1.27 (m, 11H), 1.03 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺ 对于 C₅₇H₇₆N₁₁O₇S, 计算值 1058.5644; 实测值: 1058.5640。

[0405] 根据实施例1化合物的制备方法(以上)合成中间体2、3、和4以及实施例10、11、和12化合物。



[0407] 中间体2

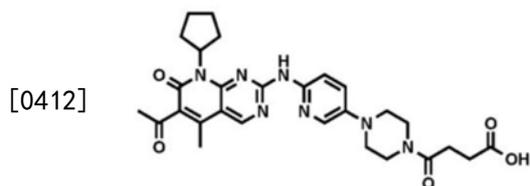
[0408] 3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙酸(中间体2) (18mg, 51%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.07 (s, 1H), 8.09 (d, J=10.2Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.62 (d, J=9.5Hz, 1H), 6.06-5.95 (m, 1H), 3.86-3.72 (m, 4H), 3.59 (d, J=9.0Hz, 2H), 3.40-3.22 (m, 4H), 2.50 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.37-2.27 (m, 2H), 2.14-2.03 (m, 2H), 1.95-1.85 (m, 2H), 1.75-1.66 (m, 2H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺ 对于 C₂₇H₃₂N₇O₅, 计算值 534.2459; 实测值: 534.2450。



[0410] 实施例10

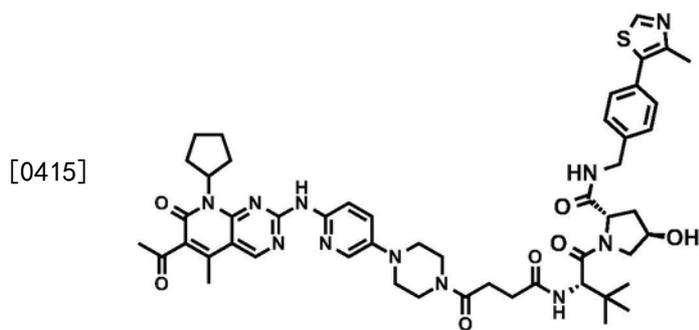
[0411] 6-乙酰基-8-环戊基-N-(5-(4-(3-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-氧代丙酰基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基)-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-胺(化合物实施例10) (19mg, 59%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.10 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.20 (dd, J=3.0, 9.7Hz, 1H), 7.86 (d, J=3.0Hz, 1H), 7.53 (d, J=9.5Hz, 1H), 7.47 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.41 (d, J=8.3Hz, 2H), 6.00 (p, J=9.0Hz, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.59-4.43 (m, 4H), 4.37 (d, J=15.5Hz, 1H), 3.94-3.84 (m, 2H), 3.84-3.68 (m, 5H), 3.41-3.20 (m, 4H), 2.49 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.34-2.27 (m, 2H), 2.24-2.18 (m, 1H), 2.13-2.04 (m, 3H), 1.93-1.86 (m, 2H), 1.73-1.66 (m, 2H), 1.06 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺ 对于

C₄₉H₆₀N₁₁O₇S, 计算值946.4392; 实测值: 946.4391。



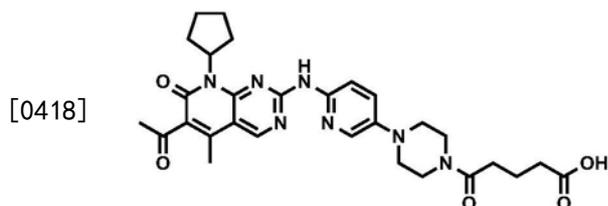
[0413] 中间体3

[0414] 4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸(中间体3) (27mg, 88%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.09 (s, 1H), 8.17 (d, J=9.5Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.57 (d, J=9.6Hz, 1H), 6.00 (p, J=9.0Hz, 1H), 3.78 (t, J=5.8Hz, 4H), 3.35 (t, J=4.9Hz, 2H), 3.28 (t, J=4.9Hz, 2H), 2.73 (t, J=6.5Hz, 2H), 2.64 (t, J=6.5Hz, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.36-2.27 (m, 2H), 2.13-2.04 (m, 2H), 1.95-1.86 (m, 2H), 1.75-1.64 (m, 2H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于 C₂₈H₃₄N₇O₅, 计算值548.2616; 实测值: 548.2612。



[0416] 实施例11

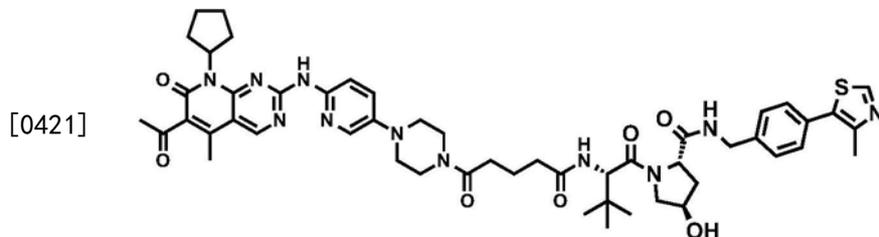
[0417] (2S, 4R)-1-((S)-2-(4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例11) (32mg, 68%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.09 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.20 (dd, J=3.0, 9.6Hz, 1H), 7.86 (d, J=2.9Hz, 1H), 7.53 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.46 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.41 (d, J=8.2Hz, 2H), 6.00 (p, J=8.8Hz, 1H), 4.61 (s, 1H), 4.58-4.54 (m, 1H), 4.52 (d, J=15.4Hz, 1H), 4.50-4.47 (m, 1H), 4.36 (d, J=15.5Hz, 1H), 3.88 (d, J=11.3Hz, 1H), 3.84-3.70 (m, 5H), 3.34 (t, J=5.1Hz, 2H), 3.27 (t, J=5.5Hz, 2H), 2.80-2.62 (m, 3H), 2.60-2.54 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.35-2.26 (m, 2H), 2.24-2.19 (m, 1H), 2.13-2.05 (m, 3H), 1.93-1.86 (m, 2H), 1.73-1.66 (m, 2H), 1.03 (s, 9H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于 C₅₀H₆₂N₁₁O₇S, 计算值960.4549; 实测值: 960.4545。



[0419] 中间体4

[0420] 5-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-

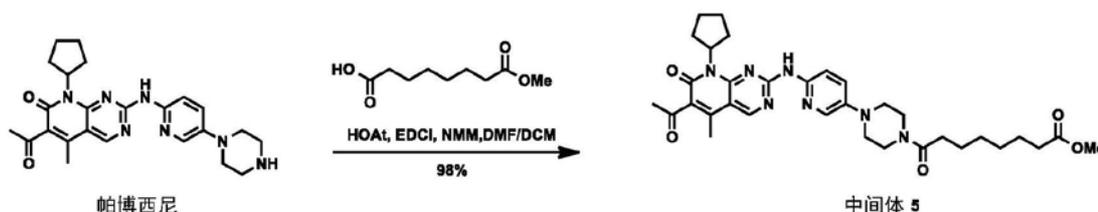
2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-5-氧代戊酸(中间体4)(30mg,96%)。¹H NMR(600MHz, CD₃OD) δ9.14(s,1H),8.21(d,J=9.4Hz,1H),7.92(s,1H),7.56(d,J=9.3Hz,1H),6.00(p,J=8.9Hz,1H),4.04(d,J=13.3Hz,2H),3.77(t,J=12.2Hz,2H),3.44(d,J=12.5Hz,2H),3.15(td,J=3.4,12.3Hz,2H),2.53(t,J=7.5Hz,2H),2.49(s,3H),2.43(s,3H),2.40(t,J=7.3Hz,2H),2.35-2.26(m,2H),2.13-2.05(m,2H),1.95-1.86(m,4H),1.74-1.65(m,2H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₂₉H₃₆N₇O₅,计算值562.2772;实测值:562.2775。



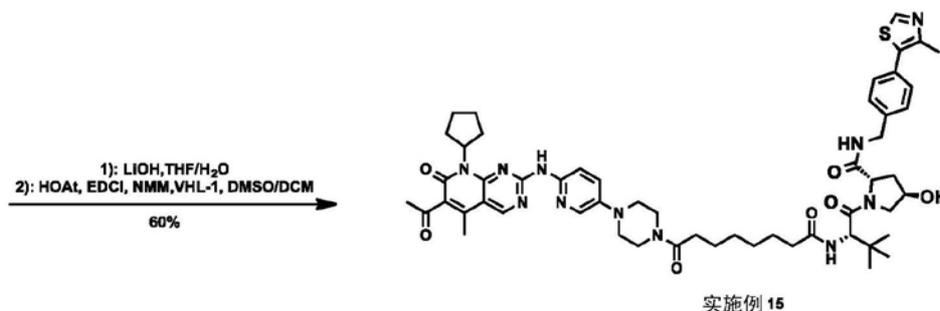
[0422] 实施例12

[0423] (2S,4R)-1-((S)-2-(5-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-5-氧代戊酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例12)(40mg,77%)作为黄色固体。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.12(s,1H),9.09(s,1H),8.17(dd,J=2.9,9.6Hz,1H),7.86(d,J=2.9Hz,1H),7.53(d,J=9.6Hz,1H),7.47(d,J=7.9Hz,2H),7.41(d,J=8.3Hz,2H),5.99(p,J=8.8Hz,1H),4.62(s,1H),4.59-4.49(m,3H),4.37(d,J=15.6Hz,1H),3.94(d,J=11.1Hz,1H),3.83-3.71(m,6H),3.34-3.25(m,4H),2.49(s,3H),2.48(s,3H),2.42(s,3H),2.39-2.20(m,6H),2.11-2.05(m,3H),1.95-1.85(m,4H),1.72-1.65(m,2H),1.04(s,9H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₁H₆₄N₁₁O₇S,计算值974.4705;实测值:974.4703。

[0424] 方案3:实施例15的合成



[0425]



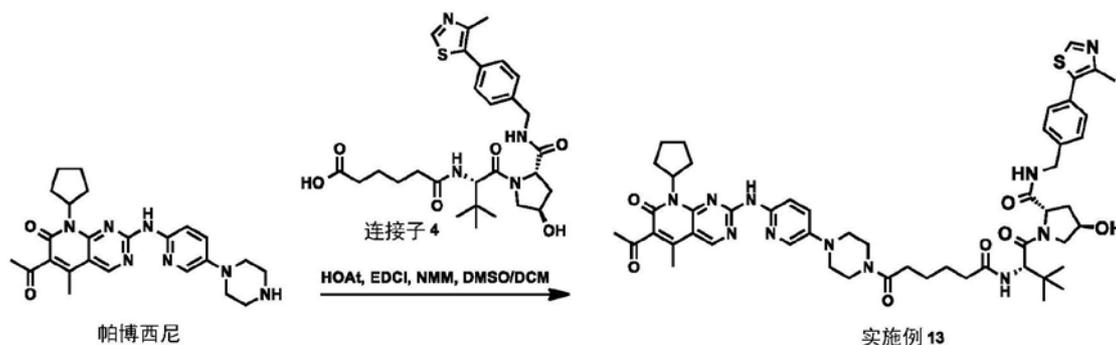
[0426] 8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛酸甲酯(中间体5)。向帕博西尼(50mg,0.112mmol)在DMF(5ml)和DCM(20ml)中的溶液添加NMM(34mg,0.335mmol)、8-甲氧基-8-氧

代辛酸 (25mg, 0.134mmol)、HOAt (20mg, 0.146mmol)、和EDCI (28mg, 0.146mmol)。使混合物在室温下搅拌过夜。在帕博西尼耗尽后,将反应在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的产物 (69mg, 98%)。HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{33}H_{44}N_7O_5$, 计算值618.3398; 实测值: 618.3401。

[0427] (2S, 4R)-1-((S)-2-(8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (化合物实施例15)。向中间体5 (69mg, 0.112mmol) 在THF/H₂O (20ml/5ml) 中的搅拌的溶液添加无水LiOH (6mg, 0.223mmol) 并且将所得混合物在室温下搅拌过夜。通过LC/MS监测原料的消失。将反应混合物在减压下浓缩并且将所得残余物溶解于DCM/DMSO (10ml/3ml) 中。向所得溶液添加NMM (13mg, 0.335mmol)、VHL-1 (57mg, 0.123mmol)、HOAt (20mg, 0.145mmol) 和EDCI (28mg, 0.145mmol)。使混合物在室温下搅拌过夜。在原料耗尽后,将反应在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的产物 (68mg, 60%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.10 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.21 (dd, $J=3.0, 9.7$ Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.53 (d, $J=9.7$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 7.42 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 6.01 (p, $J=8.9$ Hz, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.59-4.45 (m, 3H), 4.36 (d, $J=15.5$ Hz, 1H), 3.90 (d, $J=11.0$ Hz, 1H), 3.84-3.72 (m, 5H), 3.33-3.25 (m, 4H), 2.53-2.40 (m, 10H), 2.36-2.18 (m, 6H), 2.13-2.03 (m, 3H), 1.95-1.85 (m, 2H), 1.74-1.58 (m, 6H), 1.45-1.32 (m, 4H), 1.03 (s, 9H)。HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{54}H_{70}N_{11}O_7S$, 计算值1016.5175; 实测值: 1016.5180。

[0428] 方案4: 实施例13的合成

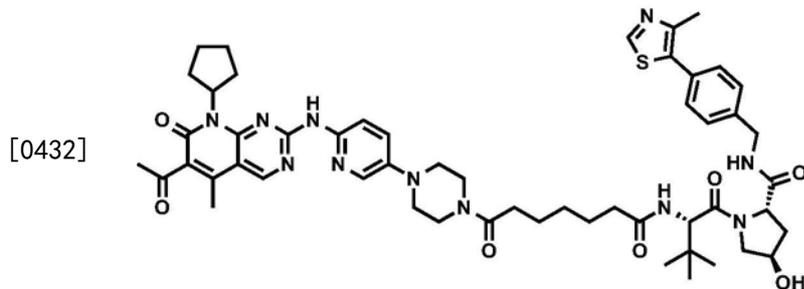
[0429]



[0430] (2S, 4R)-1-((S)-2-(6-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-6-氧代己酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (化合物实施例13)。向帕博西尼 (12mg, 0.0268mmol) 在DMSO (1mL) 和DCM (5mL) 中的溶液添加NMM (13.6mg, 0.134mmol)、连接子4 (15mg, 0.0268mmol)、HOAt (5.5mg, 0.042mmol) 和EDCI (7.7mg, 0.042mmol)。使混合物在室温下搅拌过夜。在原料耗尽后,将反应在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的产物 (24mg, 81%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.09 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.19 (dd, $J=9.6, 2.9$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J=2.8$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.40 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 6.00 (p, $J=8.9$ Hz, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.60-4.48 (m, 3H), 4.36 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 3.90 (d, $J=11.1$ Hz, 1H), 3.83-3.73 (m,

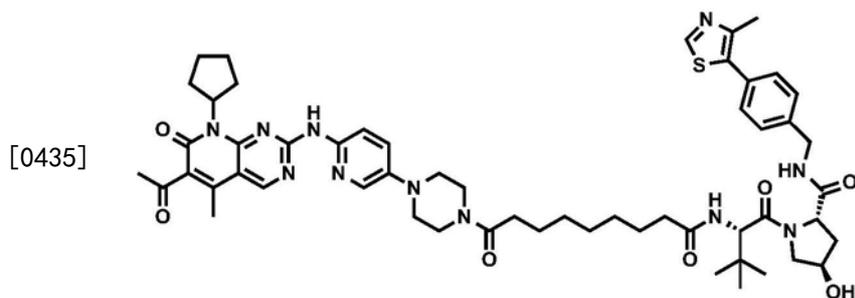
5H), 3.35-3.31 (m, 2H), 3.29-3.25 (m, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.36-2.27 (m, 4H), 2.24-2.19 (m, 1H), 2.13-2.05 (m, 3H), 1.94-1.86 (m, 2H), 1.73-1.61 (m, 6H), 1.41-1.24 (m, 2H), 1.04 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{52}H_{66}N_{11}O_7S$, 计算值 988.4862; 实测值: 988.4871。

[0431] 使用实施例13化合物的制备方法(以上)合成实施例14、16、和17化合物。



[0433] 实施例14

[0434] (2S, 4R)-1-((S)-2-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例14) (20mg, 68%) 作为黄色固体。 1H NMR (600MHz, CD_3OD) δ 9.09 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.20 (dd, $J=9.6$, 2.9Hz, 1H), 7.86 (d, $J=2.9$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.40 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 6.01 (p, $J=8.8$ Hz, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.58-4.48 (m, 3H), 4.36 (d, $J=15.5$ Hz, 1H), 3.90 (d, $J=11.1$ Hz, 1H), 3.83-3.72 (m, 5H), 3.32 (t, $J=5.0$ Hz, 2H), 3.28 (t, $J=5.0$ Hz, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 2.48-2.44 (m, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.35-2.24 (m, 4H), 2.24-2.19 (m, 1H), 2.13-2.05 (m, 3H), 1.94-1.86 (m, 2H), 1.74-1.60 (m, 6H), 1.40 (dt, $J=8.7$, 7.4Hz, 2H), 1.03 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{53}H_{68}N_{11}O_7S$, 计算值 1002.5018; 实测值: 1002.5019。

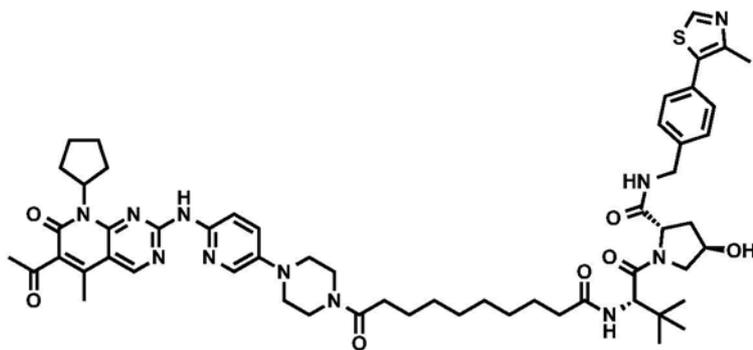


[0436] 实施例16

[0437] (2S, 4R)-1-((S)-2-(9-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-9-氧代壬酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例16) (18mg, 63%) 作为黄色固体。 1H NMR (600MHz, CD_3OD) δ 9.10 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.20 (dd, $J=9.6$, 2.8Hz, 1H), 7.86 (d, $J=2.8$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.41 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 6.00 (p, $J=8.8$ Hz, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.60-4.47 (m, 3H), 4.36 (d, $J=15.5$ Hz, 1H), 3.90 (d, $J=11.0$ Hz, 1H), 3.82-3.72 (m, 5H), 3.34-3.23 (m, 4H), 2.50 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.48-2.44 (m, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.34-2.18 (m, 5H), 2.13-2.04 (m, 3H), 1.94-1.85 (m,

2H), 1.73-1.57 (m, 6H), 1.41-1.30 (m, 6H), 1.03 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{55}H_{72}N_{11}O_7S$, 计算值1030.5331; 实测值: 1030.5335。

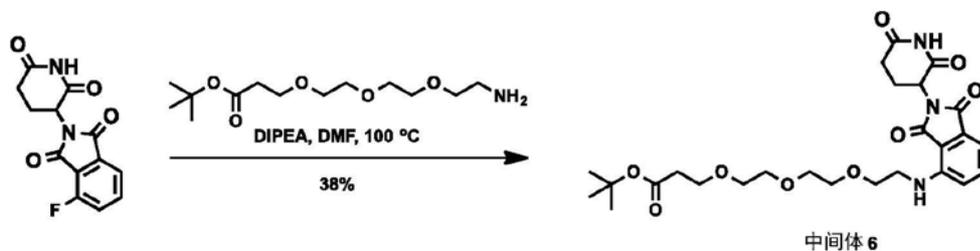
[0438]



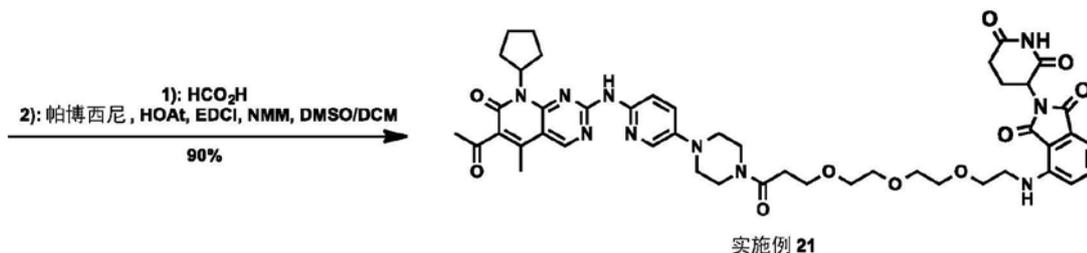
[0439] 实施Ex例a1m7p

[0440] (2S, 4R)-1-((S)-2-(10-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-10-氧代癸酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例17) (18mg, 64%) 作为黄色固体。 1H NMR (600MHz, CD_3OD) δ 9.09 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.19 (dd, $J=9.6, 2.9$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J=2.9$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.41 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 6.00 (p, $J=8.8$ Hz, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.60-4.47 (m, 3H), 4.35 (d, $J=15.5$ Hz, 1H), 3.90 (d, $J=11.0$ Hz, 1H), 3.83-3.70 (m, 5H), 3.36-3.23 (m, 4H), 2.50 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 2.48-2.44 (m, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.34-2.19 (m, 5H), 2.12-2.05 (m, 3H), 1.93-1.86 (m, 2H), 1.73-1.66 (m, 2H), 1.65-1.56 (m, 4H), 1.40-1.28 (m, 8H), 1.03 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{56}H_{74}N_{11}O_7S$, 计算值1044.5488; 实测值: 1044.5487。

[0441] 方案5: 实施例21的合成



[0442]

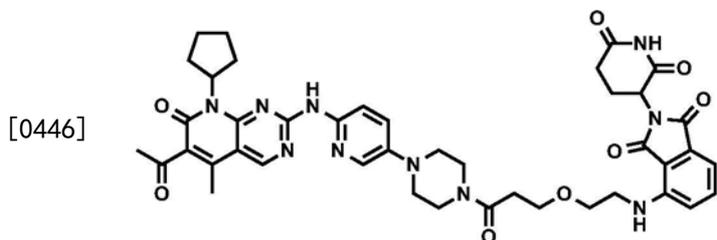


[0443] 3-(2-(2-(2-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸叔丁酯(中间体6)。将2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-氟异吲哚啉-1,3-二酮(100mg, 0.362mmol)、3-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸叔丁酯(100mg, 0.362mmol)和DIPEA(0.5ml)在DMF(5ml)中的溶液在100°C下加热过夜。在原料耗尽后,将反应在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的产物

(72mg, 37%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ7.55 (dd, J=7.1, 8.6Hz, 1H), 7.10 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.05 (d, J=7.0Hz, 1H), 5.06 (dd, J=5.4, 12.4Hz, 1H), 4.10 (q, J=7.1Hz, 1H), 3.72 (t, J=5.3Hz, 2H), 3.69-3.59 (m, 8H), 3.59-3.55 (m, 2H), 3.50 (t, J=5.3Hz, 2H), 2.91-2.82 (m, 1H), 2.78-2.68 (m, 2H), 2.45 (t, J=6.2Hz, 2H), 1.43 (s, 9H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₂₆H₃₆N₃O₉, 计算值534.2446; 实测值:534.2459。

[0444] 4-((2-(2-(2-(3-(4-(6-(6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(化合物实施例21)。将中间体6 (20mg, 0.0308mmol) 在HCO₂H (5mL) 中的溶液在室温下搅拌过夜。将反应在减压下浓缩并且将所得残余物溶解于DCM/DMSO (10ml/2ml) 中。向所得溶液添加帕博西尼 (13.7mg, 0.0308mmol)、NMM (16mg, 0.154mmol)、HOAt (5.4mg, 0.0399mmol)、和EDCI (7.6mg, 0.0399mmol)。使反应混合物在室温下搅拌过夜。在帕博西尼耗尽后, 将反应在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的产物 (25mg, 90%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ8.98 (s, 1H), 8.13 (d, J=9.7Hz, 1H), 7.72 (d, J=2.9Hz, 1H), 7.44-7.35 (m, 2H), 6.94 (d, J=8.6Hz, 1H), 6.77 (d, J=7.1Hz, 1H), 6.03-5.93 (m, 1H), 5.09 (dd, J=5.5, 12.7Hz, 1H), 3.87-3.75 (m, 8H), 3.67 (t, J=5.2Hz, 2H), 3.65-3.58 (m, 9H), 3.41-3.37 (m, 2H), 2.92-2.84 (m, 1H), 2.79-2.63 (m, 4H), 2.52 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.36-2.28 (m, 2H), 2.13-2.07 (m, 4H), 1.97-1.88 (m, 2H), 1.75-1.67 (m, 2H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₄₆H₅₅N₁₀O₁₀, 计算值907.4097; 实测值:907.4095。

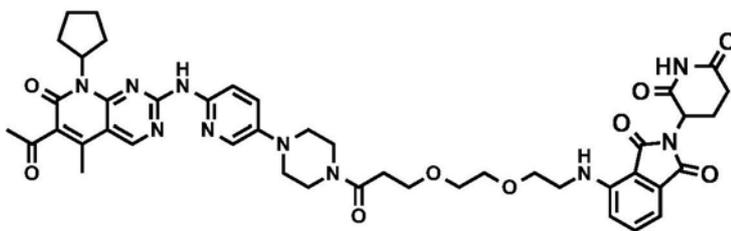
[0445] 根据实施例21化合物的制备方法(以上)合成实施例19、20、22、23、24、25、26、27、28、和29化合物。



[0447] 实施例19

[0448] 4-((2-(3-(4-(6-(6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(化合物实施例19) (28mg, 88%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.08 (s, 1H), 7.99 (dd, J=9.6, 2.8Hz, 1H), 7.64 (d, J=2.8Hz, 1H), 7.44 (dd, J=8.3, 7.2Hz, 1H), 7.30 (d, J=9.6Hz, 1H), 6.96 (d, J=8.6Hz, 1H), 6.80 (d, J=7.0Hz, 1H), 6.02 (p, J=8.9Hz, 1H), 5.07 (dd, J=12.8, 5.6Hz, 1H), 3.99-3.79 (m, 4H), 3.79-3.61 (m, 4H), 3.48-3.36 (m, 2H), 3.30-3.24 (m, 1H), 3.23-3.13 (m, 2H), 3.13-3.05 (m, 1H), 2.90-2.77 (m, 2H), 2.76-2.70 (m, 1H), 2.70-2.60 (m, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.45 (s, 3H), 2.37-2.27 (m, 2H), 2.15-2.04 (m, 3H), 1.96-1.87 (m, 2H), 1.75-1.66 (m, 2H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₄₂H₄₇N₁₀O₈, 计算值819.3573; 实测值:819.3573。

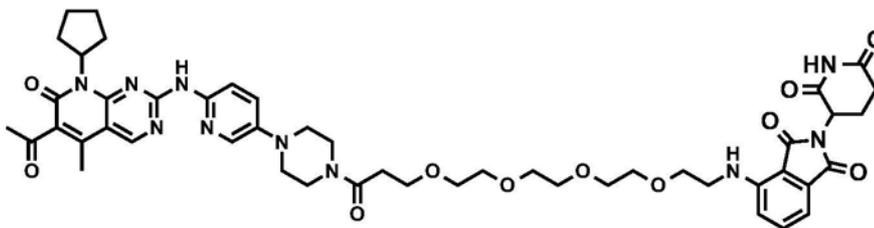
[0449]



[0450] 实施例20

[0451] 4-((2-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)氨基)-2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(化合物实施例20) (22mg, 73%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 8.99 (s, 1H), 8.08 (dd, J=9.6, 2.8Hz, 1H), 7.68 (d, J=2.6Hz, 1H), 7.40 (dd, J=8.4, 7.2Hz, 1H), 7.37 (d, J=9.6Hz, 1H), 6.94 (d, J=8.6Hz, 1H), 6.72 (d, J=7.1Hz, 1H), 5.99 (p, J=8.9Hz, 1H), 5.08 (dd, J=12.8, 5.6Hz, 1H), 3.86-3.70 (m, 6H), 3.69-3.61 (m, 6H), 3.41-3.31 (m, 4H), 3.26-3.17 (m, 2H), 2.92-2.82 (m, 1H), 2.78-2.63 (m, 4H), 2.51 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.36-2.28 (m, 2H), 2.13-2.07 (m, 3H), 1.96-1.87 (m, 2H), 1.74-1.66 (m, 2H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺ 对于 C₄₄H₅₁N₁₀O₉, 计算值 863.3835; 实测值: 863.3842.

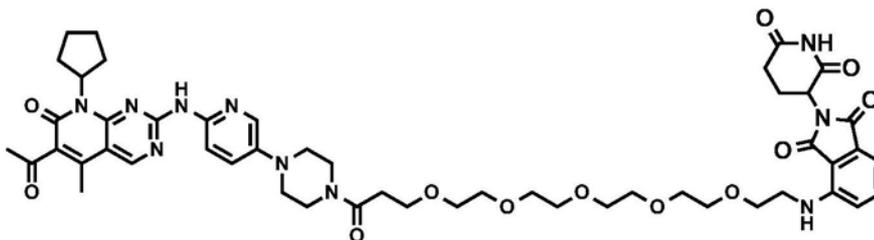
[0452]



[0453] 实施例22

[0454] 4-((15-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-15-氧代-3,6,9,12-四氧杂十五烷基)氨基)-2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(化合物实施例22) (34mg, 85%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 8.97 (s, 1H), 8.17 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.44 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.39 (t, J=7.8Hz, 1H), 6.92 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.80 (d, J=7.0Hz, 1H), 5.96 (p, J=8.7Hz, 1H), 5.07 (dd, J=12.8, 5.4Hz, 1H), 3.87-3.73 (m, 6H), 3.70-3.51 (m, 14H), 3.42-3.32 (m, 4H), 3.30-3.22 (m, 2H), 2.91-2.83 (m, 1H), 2.78-2.59 (m, 4H), 2.50 (s, 3H), 2.39 (s, 3H), 2.34-2.24 (m, 2H), 2.15-2.03 (m, 3H), 1.95-1.86 (m, 2H), 1.74-1.64 (m, 2H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺ 对于 C₄₈H₅₉N₁₀O₁₁, 计算值 951.4359; 实测值: 951.4353.

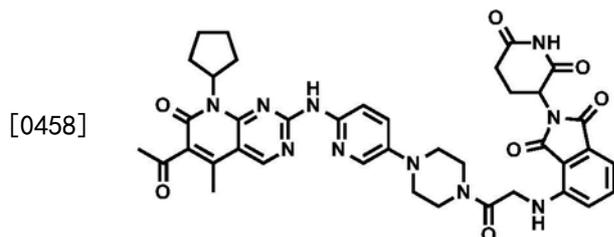
[0455]



[0456] 实施例23

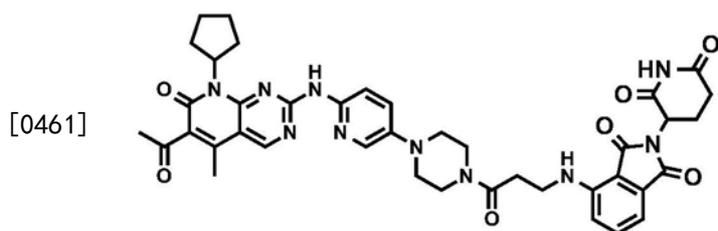
[0457] 4-((18-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]

嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-18-氧代-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷基)氨基)-2-(2,6-二氧化代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(化合物实施例23)(18mg,51%)作为黄色固体。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.03-8.97(m,1H),8.20(dd,J=9.6,2.9Hz,1H),7.78(d,J=2.9Hz,1H),7.45(d,J=9.7Hz,1H),7.43(dd,J=8.5,7.2Hz,1H),6.97(d,J=8.6Hz,1H),6.85(d,J=7.0Hz,1H),5.97(p,J=8.8Hz,1H),5.06(dd,J=12.8,5.5Hz,1H),3.84-3.78(m,4H),3.77(t,J=6.0Hz,2H),3.68(t,J=5.1Hz,2H),3.66-3.53(m,16H),3.44-3.38(m,2H),3.37-3.32(m,2H),3.29-3.22(m,2H),2.90-2.82(m,1H),2.77-2.62(m,4H),2.51(s,3H),2.41(s,3H),2.34-2.26(m,2H),2.13-2.05(m,3H),1.95-1.87(m,2H),1.74-1.65(m,2H).HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₀H₆₃N₁₀O₁₂,计算值995.4621;实测值:995.4628。



[0459] 实施例24

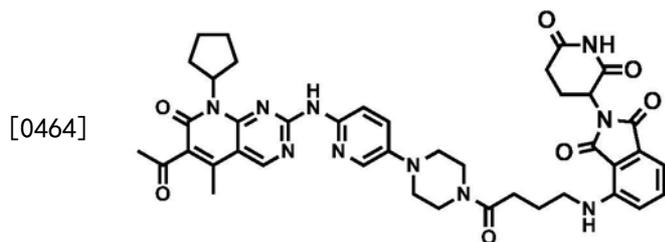
[0460] 4-((2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-2-(2,6-二氧化代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(化合物实施例24)(28mg,72%)作为黄色固体。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.08(s,1H),8.21(dd,J=9.6,2.8Hz,1H),7.86(d,J=2.8Hz,1H),7.55-7.50(m,2H),7.03(d,J=7.0Hz,1H),6.99(d,J=8.5Hz,1H),6.04-5.97(m,1H),5.08(dd,J=12.7,5.5Hz,1H),4.24(s,2H),3.88-3.73(m,4H),3.42-3.31(m,4H),2.92-2.82(m,1H),2.80-2.67(m,2H),2.50(s,3H),2.43(s,3H),2.35-2.27(m,2H),2.15-2.06(m,3H),1.94-1.87(m,2H),1.73-1.66(m,2H).HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₃₉H₄₁N₁₀O₇,计算值761.3154;实测值:761.3150。



[0462] 实施例25

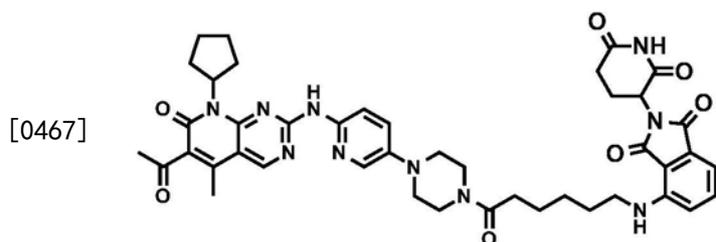
[0463] 4-((3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)氨基)-2-(2,6-二氧化代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(化合物实施例25)(26mg,67%)作为黄色固体。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.07(s,1H),8.13(dd,J=9.6,2.9Hz,1H),7.77(d,J=2.9Hz,1H),7.52(dd,J=8.5,7.1Hz,1H),7.49(d,J=9.6Hz,1H),7.09(d,J=8.6Hz,1H),6.95(d,J=7.0Hz,1H),6.00(p,J=8.9Hz,1H),5.03(dd,J=12.7,5.5Hz,1H),3.76(dt,J=10.3,4.7Hz,4H),3.68(t,J=6.1Hz,2H),3.18(br.s,4H),2.88-2.80(m,1H),2.79(td,J=5.9,1.9Hz,2H),2.75-2.62(m,2H),2.50(s,3H),2.42(s,3H),2.34-2.26(m,2H),2.13-2.03(m,3H),1.94-1.86(m,2H),

1.73-1.64 (m, 2H) .HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{40}H_{43}N_{10}O_7$, 计算值 775.3311; 实测值: 775.3316。



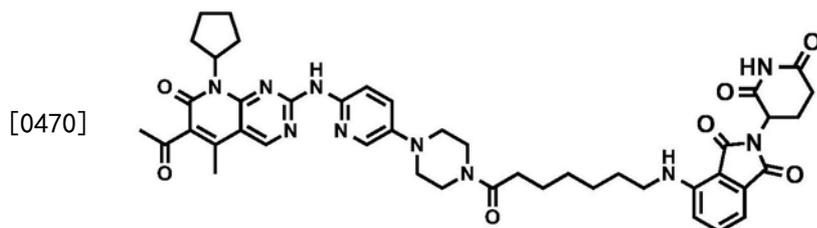
[0465] 实施^x例^{am2p6^e}

[0466] 4-((4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮 (化合物实施例26) (17mg, 45%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.09 (s, 1H), 8.13 (dd, $J=9.6, 2.9$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J=2.8$ Hz, 1H), 7.54-7.45 (m, 2H), 7.08 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J=7.0$ Hz, 1H), 6.00 (p, $J=8.8$ Hz, 1H), 5.05 (dd, $J=12.7, 5.5$ Hz, 1H), 3.80-3.70 (m, 4H), 3.41 (td, $J=6.5, 1.3$ Hz, 2H), 3.25-3.16 (m, 4H), 2.90-2.82 (m, 1H), 2.77-2.65 (m, 2H), 2.58 (t, $J=6.9$ Hz, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.35-2.27 (m, 2H), 2.13-2.06 (m, 3H), 2.00 (p, $J=6.7$ Hz, 2H), 1.95-1.86 (m, 2H), 1.70 (dt, $J=10.1, 8.6$ Hz, 2H) .HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{41}H_{45}N_{10}O_7$, 计算值 789.3467; 实测值: 789.3474。



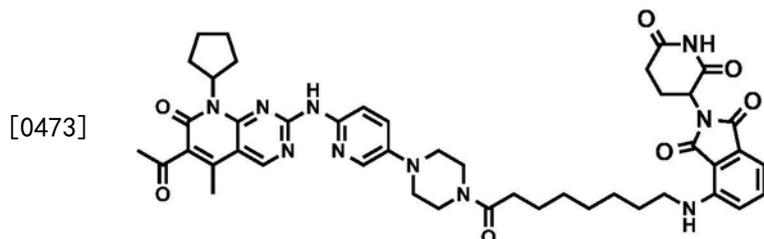
[0468] 实施例27

[0469] 4-((6-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-6-氧代己基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮 (化合物实施例27) (24mg, 66%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.09 (s, 1H), 8.13 (dd, $J=9.6, 2.9$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J=2.8$ Hz, 1H), 7.52-7.46 (m, 2H), 7.02 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J=7.0$ Hz, 1H), 6.01 (p, $J=8.8$ Hz, 1H), 5.04 (dd, $J=12.7, 5.5$ Hz, 1H), 3.83-3.69 (m, 4H), 3.36-3.29 (m, 2H), 3.27-3.16 (m, 4H), 2.85 (ddd, $J=17.5, 13.9, 5.4$ Hz, 1H), 2.76-2.62 (m, 2H), 2.54-2.45 (m, 5H), 2.43 (s, 3H), 2.36-2.27 (m, 2H), 2.14-2.04 (m, 3H), 1.95-1.86 (m, 2H), 1.75-1.63 (m, 6H), 1.54-1.44 (m, 2H) .HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{43}H_{49}N_{10}O_7$, 计算值 817.3780; 实测值: 817.3773。



[0471] 实施例28

[0472] 4-((7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚基)氨基)-2-(2,6-二氧化代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(化合物实施例28)(26mg,74%)作为黄色固体。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ 9.07(s,1H),8.16(dd,J=9.7,2.9Hz,1H),7.80(d,J=2.8Hz,1H),7.55-7.45(m,2H),7.00(d,J=8.6Hz,1H),6.93(d,J=7.1Hz,1H),6.00(p,J=8.9Hz,1H),5.04(dd,J=12.8,5.5Hz,1H),3.82-3.69(m,4H),3.32-3.20(m,6H),2.84(ddd,J=17.8,14.1,5.3Hz,1H),2.77-2.63(m,2H),2.50(s,3H),2.46(t,J=7.4Hz,2H),2.42(s,3H),2.35-2.25(m,2H),2.13-2.05(m,3H),1.95-1.85(m,2H),1.74-1.60(m,6H),1.50-1.39(m,4H).HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₄₄H₅₁N₁₀O₇,计算值831.3937;实测值:831.3929。

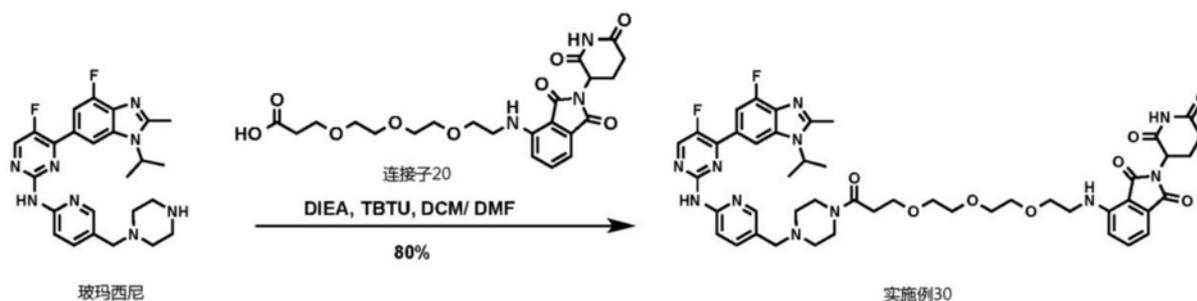


[0474] 实施例29

[0475] 4-((8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛基)氨基)-2-(2,6-二氧化代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(化合物实施例29)(23mg,66%)作为黄色固体。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ 9.07(s,1H),8.16(dd,J=9.6,2.9Hz,1H),7.82(d,J=2.8Hz,1H),7.54-7.48(m,2H),7.01(d,J=8.6Hz,1H),6.95(d,J=7.1Hz,1H),6.01(p,J=8.8Hz,1H),5.05(dd,J=12.8,5.5Hz,1H),3.82-3.71(m,4H),3.33-3.22(m,6H),2.85(ddd,J=17.7,14.1,5.3Hz,1H),2.76-2.64(m,2H),2.50(s,3H),2.46(t,J=7.4Hz,2H),2.43(s,3H),2.32(td,J=15.4,7.8Hz,2H),2.14-2.04(m,3H),1.95-1.86(m,2H),1.74-1.60(m,6H),1.50-1.36(m,6H).HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₄₅H₅₃N₁₀O₇,计算值845.4093;实测值:845.4101。

[0476] 方案6:实施例30的合成

[0477]

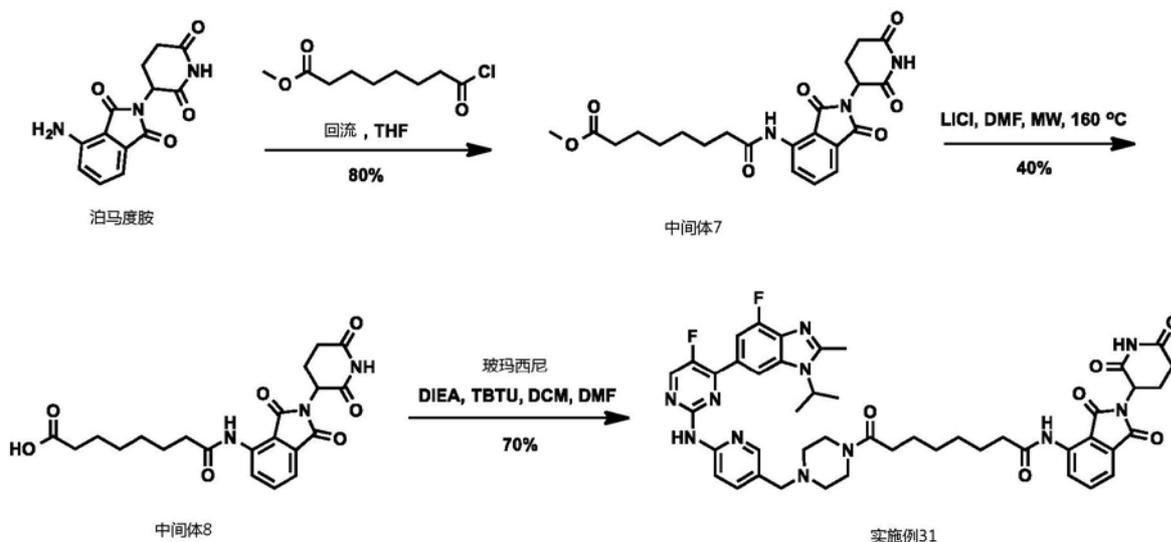


[0478] 2-(2,6-二氧化代哌啶-3-基)-4-((2-(2-(2-(3-(4-((6-((5-氟-4-(4-氟-1-异丙基-2-甲基-1H-苯并[d]咪唑-6-基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮(化合物实施例30)。向连接子20(32mg,0.07mmol)和玻玛西尼(24mg,0.05mmol)在CH₂Cl₂(4ml)和DMF(1ml)中的溶液添加DIEA(17μl,0.1mmol)和TBTU(22mg,0.07mmol)。将反应在室温下搅拌1h,然后在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以提供标题化合物(37mg,经2步80%)。¹H NMR

(600MHz, CD₃OD) δ 8.52 (d, J=3.6Hz, 1H), 8.32 (d, J=8.4Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.80-7.78 (m, 2H), 7.49 (t, J=7.8Hz, 1H), 7.02 (dd, J=6.6Hz, J=3.0Hz, 1H), 6.98 (d, J=8.4Hz, 1H), 5.00 (dd, J=12.6Hz, J=6.0Hz, 1H), 3.75 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.71 (t, J=5.4Hz, 2H), 3.66-3.60 (m, 14H), 3.46 (t, J=5.4Hz, 2H), 2.88-2.73 (m, 4H), 2.70 (s, 3H), 2.64 (t, J=6.0Hz, 2H), 2.65-2.50 (m, 4H), 2.12-2.10 (m, 1H), 1.74 (d, J=6.6Hz, 6H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺ 对于 C₄₇H₅₄F₂N₁₁O₈, 计算值 938.4119; 实测值: 938.4148。

[0479] 方案7: 实施例31的合成

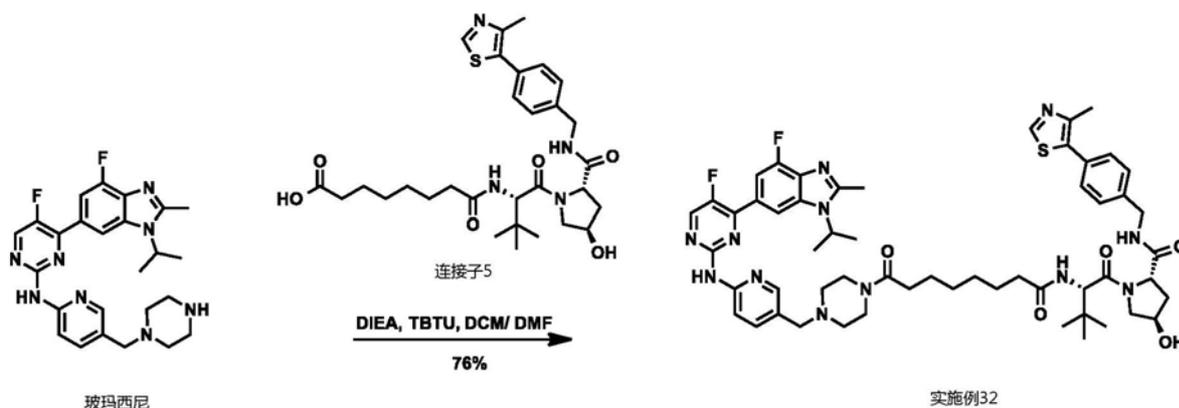
[0480]



[0481] N-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)-8-(4-((6-((5-氟-4-(4-氟-1-异丙基-2-甲基-1H-苯并[d]咪唑-6-基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛酸酰胺(化合物实施例31)。将8-氯-8-氧代辛酸甲酯(30mg, 0.15mmol)和泊马度胺(40mg, 0.15mmol)溶解于THF(5ml)中。将所得溶液加热回流3小时,然后在减压下将溶剂蒸发。将残余物通过制备型HPLC纯化以提供作为黄色油状物的中间体7(53mg, 0.12mmol)。将中间体7(53mg, 0.12mmol)在DMF(1ml)中的溶液用LiCl(25mg, 0.6mmol)在160 °C下在微波反应器中处理2小时。冷却至室温后,将反应混合物倒入水(5mL)中并且用DCM(3X5ml)提取。将有机相合并,经Na₂SO₄干燥,并且浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以提供作为黄色油状物的中间体8(21mg, 40%)。向中间体8(21mg, 0.05mmol)和玻玛西尼(19mg, 0.04mmol)在CH₂Cl₂(4ml)和DMF(1ml)中的溶液添加DIEA(17 μ l, 0.1mmol)和TBTU(15mg, 0.05mmol)。将反应在室温下搅拌1h,然后在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以提供标题化合物(25mg, 70%)。¹H NMR(600MHz, CDCl₃) δ 9.47 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.86 (d, J=8.4Hz, 1H), 8.50-8.49 (m, 2H), 8.28 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.84 (d, J=12.0Hz, 1H), 7.75-7.73 (m, 2H), 7.58 (d, J=7.2Hz, 1H), 5.02-4.99 (m, 1H), 4.79-4.74 (m, 1H), 3.86-3.85 (m, 1H), 3.61 (d, J=12.6Hz, 1H), 3.52-3.33 (m, 3H), 3.41-3.37 (m, 1H), 3.03-3.01 (m, 1H), 2.89-2.81 (m, 2H), 2.72 (s, 3H), 2.63-2.56 (m, 1H), 2.53-2.37 (m, 4H), 2.36-2.28 (m, 3H), 2.25-2.18 (m, 1H), 1.86-1.78 (m, 2H), 1.74 (d, J=6.6Hz, 6H), 1.70-1.60 (m, 2H), 1.46-1.35 (5H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺ 对于 C₄₆H₅₀F₂N₁₁O₆, 计算值 890.3908; 实测值: 890.3931。

[0482] 方案8:实施例32的合成

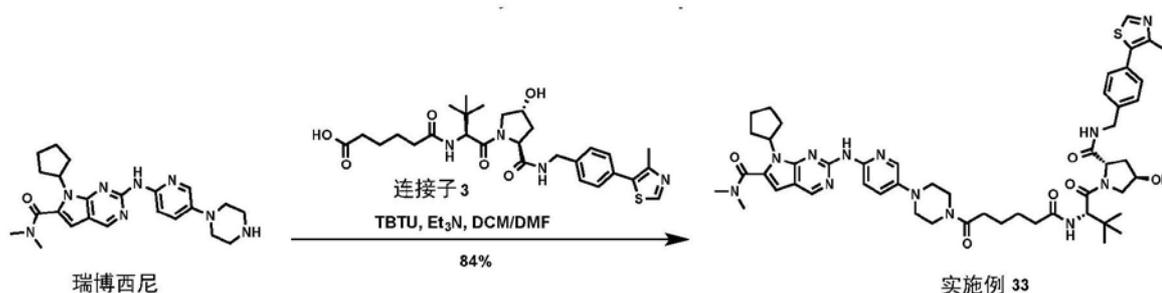
[0483]



[0484] (2S,4R)-1-((S)-2-(8-(4-((6-((5-氟-4-(4-氟-1-异丙基-2-甲基-1H-苯并[d]咪唑-6-基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例32)。向连接子5(29mg,0.05mmol)和玻玛西尼(19mg,0.04mmol)在CH₂Cl₂(4ml)和DMF(1ml)中的溶液添加DIEA(17μl,0.1mmol)和TBTU(15mg,0.05mmol)。将反应在室温下搅拌1h,然后在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以提供实施例32化合物(31mg,经2步76%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ8.88(s,1H),8.55(d,J=3.6Hz,1H),8.36-8.35(m,2H),8.25(s,1H),7.86(d,J=9.0Hz,1H),7.81-7.78(m,2H),7.48-7.41(m,3H),4.66-4.51(m,4H),4.36(d,J=8.4Hz,1H),3.91(d,J=10.8Hz,1H),3.81(dd,J=10.8Hz,3.6Hz,1H),3.66-3.54(m,7H),2.71(s,3H),2.51-2.48(m,6H),2.40(t,J=7.8Hz,2H),2.34-2.21(m,3H),2.12-2.06(m,1H),1.73(d,J=6.6Hz,6H),1.63-1.60(m,4H),1.37-1.27(m,5H),1.05(s,9H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₅H₆₉F₂N₁₂O₅S,计算值1047.5197;实测值:1047.5192。

[0485] 方案9:实施例33的合成

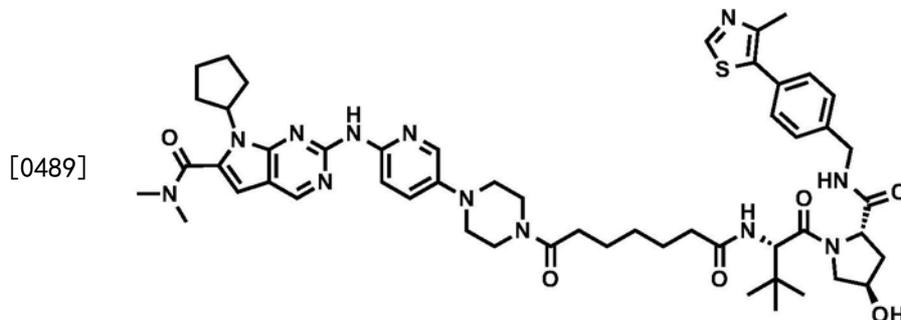
[0486]



[0487] 7-环戊基-2-((5-(4-(6-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-6-氧代己酰基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基)氨基)-N,N-二甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺(化合物实施例33)。向瑞博西尼(9mg,0.021mmol)和连接子3(14mg,0.025mmol)在DCM/DMF(1:1,2ml)中的溶液添加三乙胺(17μl,0.12mmol)和TBTU(8mg,0.025mmol)。将反应在室温下搅拌1h,然后在减压下浓缩。将所得残余物溶解于MeOH中,并且通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的产物(19mg,84%)。主要异构体的¹H NMR(600MHz,CD₃OD)(旋转异构体比例6:1) δ9.02(s,1H),8.97(s,1H),8.08(dd,J=9.6,2.4Hz,1H),7.87(d,J=2.4Hz,1H),7.48(d,J=

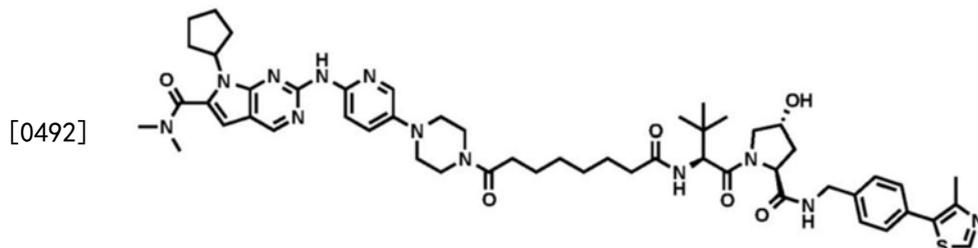
7.8Hz, 2H), 7.45 (d, J=10.2Hz, 1H), 7.43 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 4.86-4.80 (m, 1H), 4.65 (s, 1H), 4.62-4.52 (m, 3H), 4.38 (d, J=16.8Hz, 1H), 3.93 (d, J=10.8Hz, 1H), 3.84-3.76 (m, 5H), 3.29 (t, J=4.8Hz, 2H), 3.24 (t, J=4.8Hz, 2H), 3.19 (s, 3H), 3.17 (s, 3H), 2.52-2.47 (m, 7H), 2.39-2.30 (m, 3H), 2.14-2.08 (m, 5H), 1.77-1.64 (m, 6H), 1.06 (s, 9H); HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₁H₆₇N₁₂O₆S, 计算值975.5022, 实测值975.5024。

[0488] 根据实施例33化合物的制备方法(以上)合成实施例34、35、和36化合物。



[0490] 实施例34

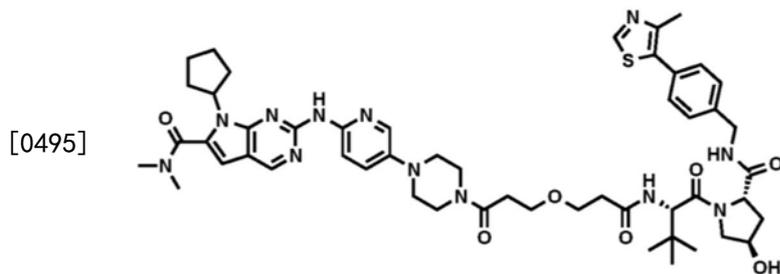
[0491] 7-环戊基-2-((5-(4-(7-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-7-氧代庚酰基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基)氨基)-N,N-二甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺(化合物实施例34) (17mg, 83%) 作为黄色固体。主要异构体的¹H NMR (600MHz, CD₃OD) (旋转异构体比例7:2) δ9.03 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.08 (dd, J=9.6, 2.4Hz, 1H), 7.88 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.49 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.46-7.43 (m, 3H), 6.82 (s, 1H), 4.86-4.80 (m, 1H), 4.66 (s, 1H), 4.61-4.51 (m, 3H), 4.39 (d, J=14.4Hz, 1H), 3.93 (d, J=10.8Hz, 1H), 3.84-3.77 (m, 5H), 3.29 (t, J=4.8Hz, 2H), 3.24 (t, J=4.8Hz, 2H), 3.19 (s, 3H), 3.17 (s, 3H), 2.51-2.47 (m, 7H), 2.37-2.23 (m, 3H), 2.16-2.08 (m, 5H), 1.79-1.73 (m, 2H), 1.70-1.63 (m, 4H), 1.45-1.39 (m, 2H), 1.06 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₂H₆₉N₁₂O₆S, 计算值989.5178, 实测值989.5180。



[0493] 实施例35

[0494] 7-环戊基-2-((5-(4-(8-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-8-氧代辛酰基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基)氨基)-N,N-二甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺(化合物实施例35) (25mg, 98%) 作为黄色固体。主要异构体的¹H NMR (600MHz, CD₃OD) (旋转异构体比例8:1) δ9.02 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.08 (dd, J=9.6, 2.4Hz, 1H), 7.87 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.49 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.50 (d, J=11.2Hz, 1H), 7.43 (d, J=8.4Hz, 2H), 6.82 (s, 1H), 4.86-4.79 (m, 1H), 4.66 (s, 1H), 4.62-4.52 (m, 3H), 4.38 (d, J=15.6Hz, 1H), 3.93 (d, J=10.8Hz, 1H), 3.84-3.77 (m, 5H), 3.29-3.28 (m, 2H), 3.24-3.22 (m, 2H), 3.19 (s, 3H), 3.17 (s, 3H), 2.50 (s,

3H), 2.49–2.47 (m, 4H), 2.36–2.32 (m, 3H), 2.16–2.08 (m, 5H), 1.80–1.72 (m, 2H), 1.69–1.62 (m, 4H), 1.46–1.36 (m, 4H), 1.06 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{53}H_{71}N_{12}O_6S$, 计算值 1003.5335, 实测值 1003.5361。

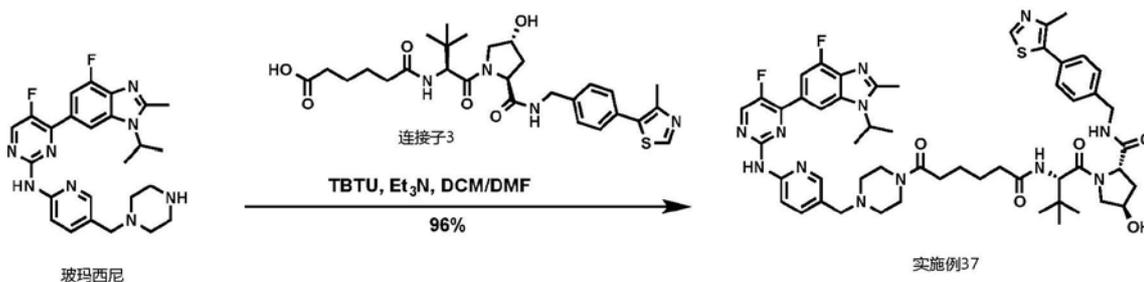


[0496] 实施例36

[0497] 7-环戊基-2-((5-(4-(3-(3-((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-氧代丙氧基)丙酰基)哌嗪-1-基)吡啶-2-基)氨基)-N,N-二甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺(化合物实施例36) (17mg, 74%) 作为黄色固体。主要异构体的¹HNMR (600MHz, CD₃OD) (旋转异构体比例7:2) δ 9.04 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.07 (dd, $J=9.6, 2.4$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.43 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.81 (s, 1H), 4.85–4.79 (m, 1H), 4.70 (s, 1H), 4.58 (t, $J=8.4$ Hz, 1H), 4.54–4.51 (m, 1H), 4.49 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 4.38 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 3.93 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 3.84–3.78 (m, 7H), 3.74 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 3.28–3.22 (m, 4H), 3.19 (s, 3H), 3.17 (s, 3H), 2.81–2.71 (m, 2H), 2.60–2.48 (m, 7H), 2.28–2.25 (m, 1H), 2.16–2.08 (m, 5H), 1.79–1.72 (m, 2H), 1.07 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M+H]^+$ 对于 $C_{51}H_{67}N_{12}O_7S$, 计算值 991.4971, 实测值 991.4975。

[0498] 方案10: 实施例37的合成

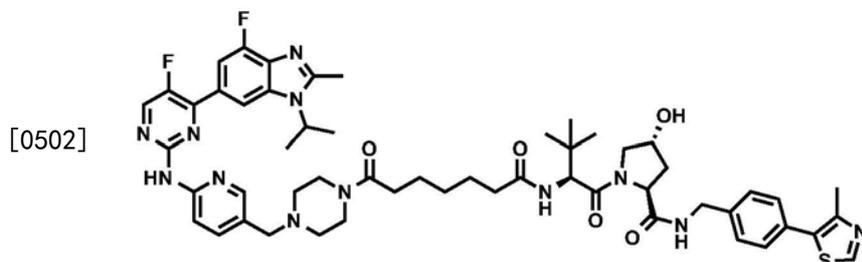
[0499]



[0500] (2S, 4R)-1-((S)-2-(6-(4-((6-((5-氟-4-(4-氟-1-异丙基-2-甲基-1H-苯并[d]咪唑-6-基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)-6-氧代己酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例37)。向玻玛西尼 (13mg, 0.028mmol) 和连接子3 (18mg, 0.032mmol) 在DCM/DMF (1:1, 2ml) 中的溶液添加三乙胺 (17 μ l, 0.12mmol) 和TBTU (10mg, 0.031mmol)。将反应在室温下搅拌1h, 然后在减压下浓缩。将所得残余物溶解于MeOH中并且通过制备型HPLC纯化以得到期望的作为白色固体的产物 (31mg, 96%)。¹HNMR (CD₃OD, 600MHz) (埋藏在溶剂峰中的1H) 9.13 (s, 1H), 8.85 (d, $J=3.6$ Hz, 1H), 8.57 (d, $J=11.4$ Hz, 1H), 8.36 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 8.14 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.44 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 5.15–5.10 (m, 1H), 4.65 (s, 1H), 4.62–4.51 (m, 5H), 4.39 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 3.93–3.82 (m, 6H), 3.41–3.33 (m, 4H),

2.94 (s, 3H), 2.51-2.45 (m, 5H), 2.39-2.29 (m, 2H), 2.26-2.23 (m, 1H), 2.12-2.08 (m, 1H), 1.82 (d, J=6.0Hz, 6H), 1.72-1.62 (m, 4H), 1.06 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₃H₆₅F₂N₁₂O₅S[M+H]⁺, 计算值1019.4884, 实测值1019.4881。

[0501] 根据实施例37化合物的制备方法(以上)合成实施例38化合物。

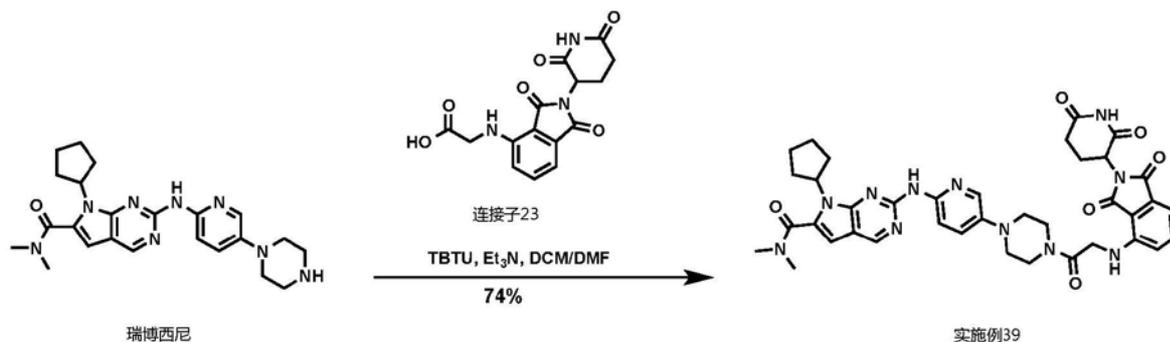


[0503] 实施例38

[0504] (2S, 4R)-1-((S)-2-(7-(4-((6-((5-氟-4-(4-氟-1-异丙基-2-甲基-1H-苯并[d]咪唑-6-基) 嘧啶-2-基) 氨基) 吡啶-3-基) 甲基) 哌嗪-1-基)-7-氧代庚酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基) 苄基) 吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例38) (24mg, 98%) 作为白色固体。¹H NMR (CD₃OD, 600MHz) (埋藏在溶剂峰中的1H) δ9.11 (s, 1H), 8.85 (d, J=3.6Hz, 1H), 8.56 (d, J=9.6Hz, 1H), 8.35 (d, J=8.4Hz, 1H), 8.14 (d, J=10.8Hz, 1H), 7.87 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.50 (d, J=7.2Hz, 2H), 7.44 (d, J=9.0Hz, 2H), 5.14-5.10 (m, 1H), 4.66 (s, 1H), 4.62-4.51 (m, 5H), 4.39 (d, J=15.6Hz, 1H), 3.94-3.82 (m, 6H), 3.46-3.30 (m, 4H), 2.95 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.47 (t, J=7.8Hz, 2H), 2.36-2.23 (m, 3H), 2.13-2.08 (m, 1H), 1.82 (d, J=6.0Hz, 6H), 1.69-1.62 (m, 4H), 1.41-1.39 (m, 2H), 1.06 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₄H₆₇F₂N₁₂O₅S, 计算值1033.5041, 实测值1033.5053。

[0505] 方案11: 实施例39的合成

[0506]



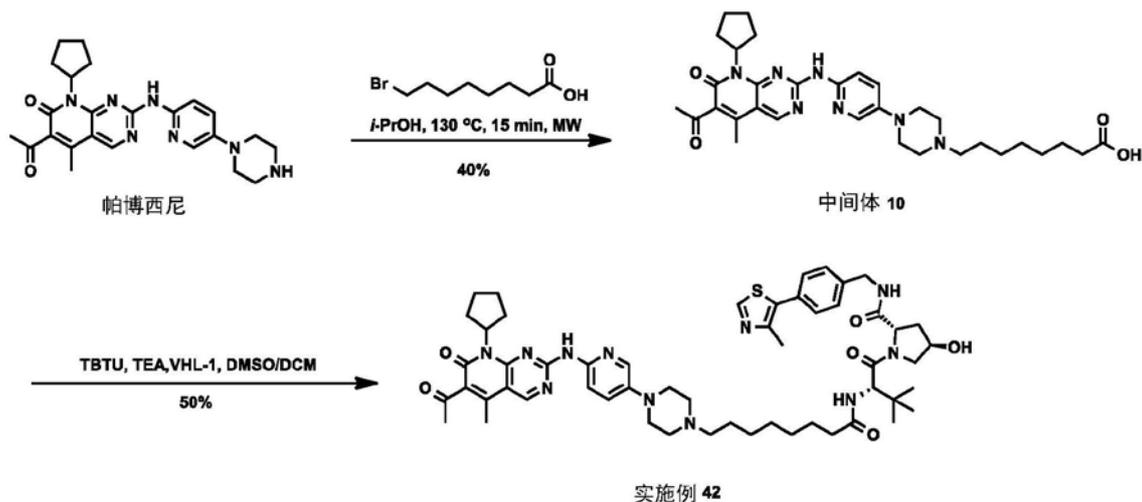
[0507] 7-环戊基-2-((5-(4-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基) 甘氨酸) 哌嗪-1-基) 吡啶-2-基) 氨基)-N,N-二甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺(化合物实施例39)。向瑞博西尼(12mg, 0.027mmol)和连接子23(11mg, 0.034mmol)在DCM/DMF(1:1, 2ml)中的溶液添加三乙胺(17μl, 0.12mmol)和TBTU(12mg, 0.038mmol)。将反应溶液在室温下搅拌1h, 然后在减压下浓缩。将所得残余物溶解于MeOH中并且通过制备型HPLC纯化以得到期望的作为黄色固体的产物(15mg, 74%)。¹H NMR (CD₃OD, 600MHz) δ8.86 (s, 1H), 7.89 (dd, J=8.4, 2.4Hz, 1H), 7.82 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.52-7.49 (m, 2H), 7.08 (d, J=7.2Hz, 1H), 6.90 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.65 (s, 1H), 4.96-4.93 (m, 1H), 4.78-4.72 (m, 1H), 4.17 (s, 2H), 3.85-3.83 (m, 2H), 3.72-3.72 (m, 2H), 3.30-3.28 (m, 2H), 3.23-3.21 (m, 2H), 3.18 (s, 3H),

微波反应器中加热1小时。冷却至室温后,将反应混合物过滤并且浓缩,并且将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(40mg,60%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.10 (s, 1H), 8.21 (dd, J=9.6, 2.7Hz, 1H), 7.98 (d, J=2.5Hz, 1H), 7.59 (d, J=9.6Hz, 1H), 5.99 (p, J=8.8Hz, 1H), 3.93 (s, 2H), 3.75 (s, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.38-3.16 (m, 6H), 2.49 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.37-2.25 (m, 4H), 2.13-2.03 (m, 2H), 1.94-1.86 (m, 2H), 1.85-1.78 (m, 2H), 1.72-1.59 (m, 4H), 1.47-1.36 (m, 4H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₃₂H₄₄N₇O₄, 计算值590.3449; 实测值:590.3446。

[0514] (2S,4R)-1-((S)-2-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)庚酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物实施例41)。向中间体9(40mg,0.0678mmol)在THF/H₂O(10ml/2ml)中的搅拌的溶液添加无水LiOH(3.3mg,0.136mmol)。在将所得混合物在室温下搅拌过夜后,将反应混合物在减压下浓缩并且将所得残余物溶解于DCM/DMSO(5ml/1ml)中。向所得溶液添加NMM(68mg,0.678mmol)、VHL-1(32mg,0.0678mmol)、HOAt(14mg,0.102mmol)、和EDCI(19.5mg,0.102mmol)。在将混合物在室温下搅拌过夜后,将反应浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(8mg,11%)。¹H NMR (600MHz,CD₃OD) δ9.10 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.20 (dd, J=9.5, 2.6Hz, 1H), 7.97 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.58 (d, J=9.5Hz, 1H), 7.47 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.42 (d, J=8.0Hz, 2H), 6.05-5.96 (m, 1H), 4.64 (s, 1H), 4.58-4.47 (m, 3H), 4.37 (d, J=15.5Hz, 1H), 3.99-3.84 (m, 3H), 3.84-3.79 (m, 1H), 3.80-3.66 (m, 2H), 3.34-3.18 (m, 6H), 2.50 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.36-2.26 (m, 4H), 2.23 (dd, J=13.1, 7.6Hz, 1H), 2.14-2.05 (m, 3H), 1.94-1.86 (m, 2H), 1.84-1.75 (m, 2H), 1.74-1.61 (m, 4H), 1.48-1.38 (m, 4H), 1.04 (s, 9H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₃H₇₀N₁₁O₆S, 计算值988.5226; 实测值:988.5226。

[0515] 方案14:实施例42的合成

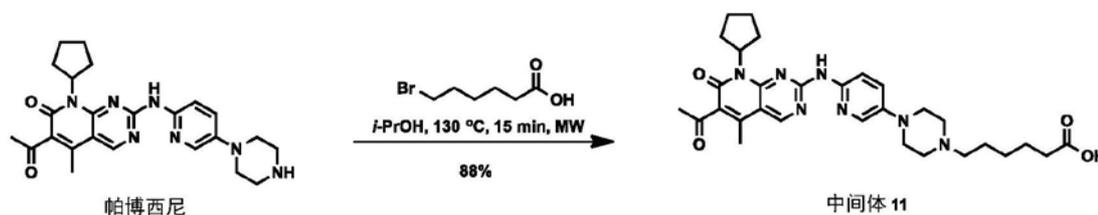
[0516]



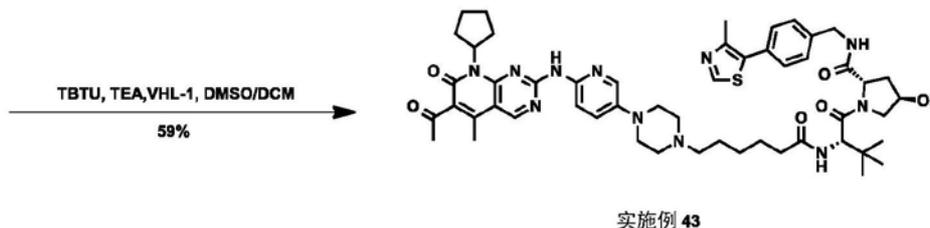
[0517] (2S,4R)-1-((S)-2-(8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)辛酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(实施例42)。将帕博西尼(45mg,

0.1mmol)、8-溴辛酸(64mg,0.28mmol)和TEA(0.05mL,0.36mmol)在*i*-PrOH(1ml)中的溶液在130℃下在微波反应器中加热15min。冷却至室温后,将反应混合物浓缩,并且将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的中间体10(24mg,40%)。向中间体10(24mg,0.04mmol)在DCM/DMSO(5ml/1ml)中的搅拌的溶液添加TEA(0.05mL,0.36mmol)、VHL-1(20mg,0.043mmol)、和TBTU(12mg,0.038mmol)。在将混合物在室温下搅拌过夜后,将反应浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(20mg,50%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.13(s,1H),9.07(s,1H),8.23(dd,J=9.6,3.0Hz,1H),8.00(d,J=2.8Hz,1H),7.60(d,J=9.6Hz,1H),7.50(d,J=8.1Hz,2H),7.45(d,J=8.2Hz,2H),6.03(p,J=8.7Hz,1H),4.67(s,1H),4.60-4.53(m,3H),4.40(d,J=15.5Hz,1H),3.96-3.71(m,6H),3.30-3.20(m,6H),2.52(s,3H),2.51(s,3H),2.45(s,3H),2.37-2.24(m,5H),2.17-2.03(m,3H),1.97-1.87(m,2H),1.84-1.80(m,2H),1.77-1.60(m,4H),1.50-1.33(m,6H),1.05(s,9H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₄H₇₂N₁₁O₆S,计算值1002.5389;实测值:1002.5390。

[0518] 方案15:实施例43的合成



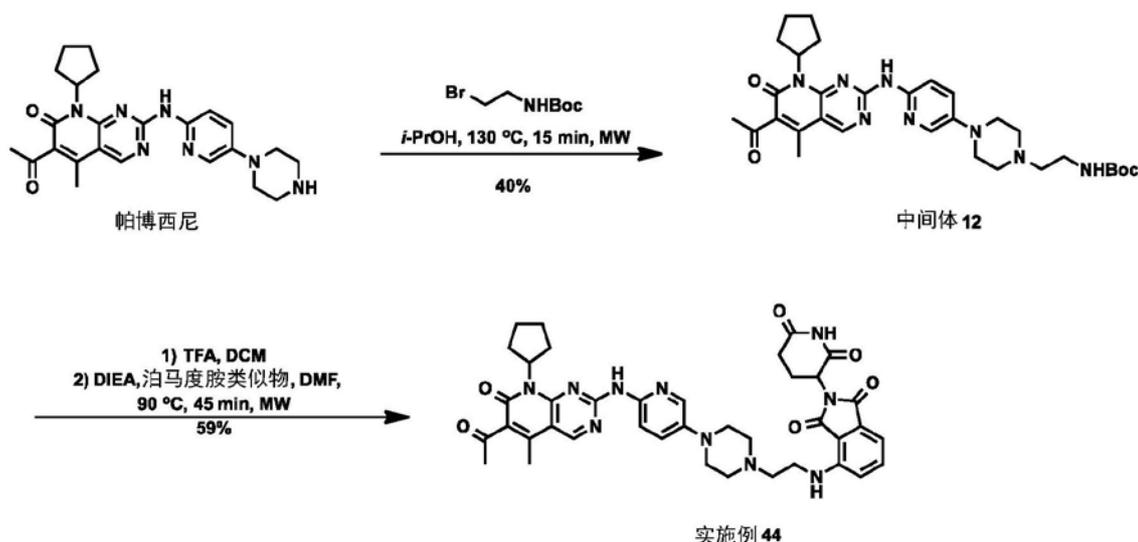
[0519]



[0520] (2S,4R)-1-((S)-2-(6-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)己酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(实施例43)。将帕博西尼(40mg,0.09mmol)、6-溴己酸(55mg,0.28mmol)和TEA(0.05mL,0.36mmol)在*i*-PrOH(1ml)中的溶液在130℃下在微波反应器中加热15min。冷却至室温后,将反应混合物浓缩,并且将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的中间体11(44mg,88%)。向中间体11(44mg,0.065mmol)在DCM/DMSO(5ml/1ml)中的搅拌的溶液添加TEA(0.05mL,0.36mmol)、VHL-1(34mg,0.073mmol)、和TBTU(22mg,0.070mmol)。在将混合物在室温下搅拌过夜后,将反应浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(37mg,59%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.12(s,1H),9.12(s,1H),8.23(dd,J=9.8,2.4Hz,1H),8.00(d,J=2.7Hz,1H),7.60(d,J=9.6Hz,1H),7.49(d,J=7.8Hz,2H),7.44(d,J=8.1Hz,2H),6.02(p,J=8.8Hz,1H),4.67(s,1H),4.62-4.49(m,3H),4.40(d,J=15.5Hz,1H),3.96-3.71(m,6H),3.30-3.20(m,6H),2.52(s,3H),2.51(s,3H),2.45(s,3H),2.40-2.21(m,5H),2.16-2.05(m,3H),1.97-1.88(m,2H),1.88-1.78(m,2H),1.72-1.67(m,4H),1.49-1.40(m,2H),1.07(s,9H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₂H₆₈N₁₁O₆S,计算值974.5069;实测值:974.5069。

[0521] 方案16: 实施例44的合成

[0522]

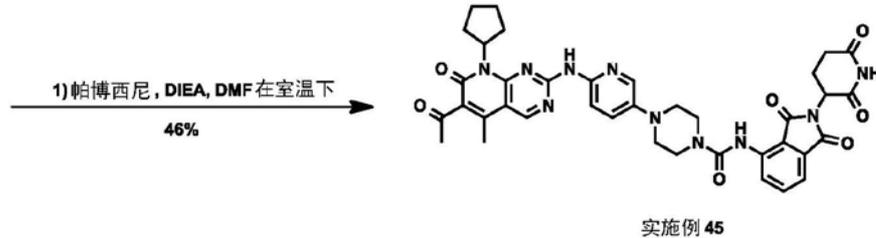


[0523] 4-((2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)乙基)氨基)-2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(实施例44)。将帕博西尼(45mg, 0.1mmol)、(2-溴乙基)氨基甲酸叔丁酯(69mg, 0.31mmol)和TEA(0.05mL, 0.36mmol)在*i*-PrOH(1mL)中的溶液在130°C下在微波反应器中加热15min。冷却至室温后,将反应混合物浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的中间体12(24mg, 40%)。向中间体12(24mg, 0.04mmol)在DCM(2mL)中的搅拌的溶液添加TFA(1mL)。将混合物在室温下搅拌,并且通过LC/MS监测反应进程。反应结束后,将反应溶液浓缩,并且将所得残余物溶解于DMF(1mL)中。向该溶液添加TEA(0.05mL, 0.36mmol)和泊马度胺类似物(17mg, 0.06mmol)。将所得混合物在90°C下在微波反应器中加热45min。冷却至室温后,将反应混合物浓缩,并且将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(4mg, 13%)。¹H NMR(600MHz, CD₃OD) δ9.10(s, 1H), 8.14(dd, J=9.5, 2.7Hz, 1H), 8.01(d, J=2.8Hz, 1H), 7.70-7.65(m, 2H), 7.22(d, J=7.8Hz, 1H), 7.21(d, J=6.6Hz, 1H), 6.02(p, J=8.9Hz, 1H), 5.11(dd, J=12.5, 5.5Hz, 1H), 3.90(t, J=6.2Hz, 2H), 3.63(br, 8H), 3.55(t, J=6.1Hz, 2H), 2.94-2.86(m, 1H), 2.80-2.65(m, 2H), 2.52(s, 3H), 2.43(s, 3H), 2.38-2.26(m, 42H), 2.17-2.05(m, 3H), 1.99-1.84(m, 2H), 1.77-1.64(m, 2H)。HRMS(ESI-TOF) *m/z*: [M+H]⁺对于C₃₉H₄₃N₁₀O₆, 计算值747.3362; 实测值: 747.3342。

[0524] 方案17: 实施例45的合成



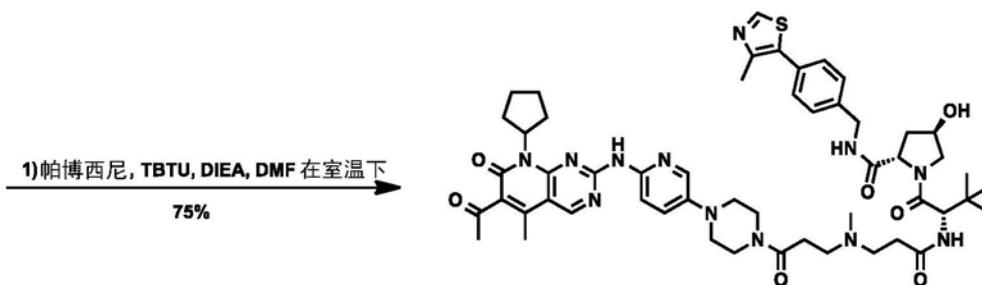
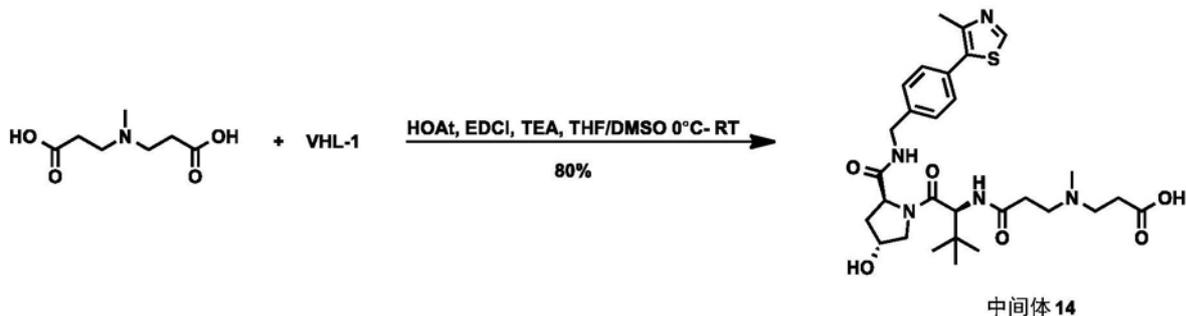
[0525]



[0526] 4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)-N-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)哌嗪-1-甲酰胺(实施例45)。将泊马度胺(278mg, 1mmol)、4-硝基苯基氯甲酸酯(307mg, 1.52mmol)在THF(5ml)中的溶液加热回流过夜。冷却至室温后,将反应混合物浓缩。将所得残余物用乙酸乙酯洗涤,经NaSO₄干燥并且浓缩以得到作为黄色固体的中间体13(240mg, 55%)。向中间体13(19mg, 0.043mmol)在DMF(1mL)中的搅拌的溶液添加DIEA(0.014mL, 0.1mmol)和帕博西尼(18mg, 0.041mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜,然后浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(14mg, 46%)。¹H NMR(600MHz, CD₃OD) δ9.07(s, 1H), 8.56(d, J=8.5Hz, 1H), 8.10(dd, J=9.6, 2.6Hz, 1H), 7.78-7.70(m, 1H), 7.64(d, J=8.8Hz, 1H), 7.51(d, J=7.3Hz, 1H), 5.97(p, J=8.9Hz, 1H), 5.07(dd, J=12.5, 5.5Hz, 1H), 3.86-3.79(m, 4H), 3.45-3.40(m, 4H), 2.89-2.72(m, 3H), 2.54(s, 3H), 2.44(s, 3H), 2.33-2.27(m, 2H), 2.22-2.15(m, 1H), 2.11-2.06(m, 2H), 1.96-1.86(m, 2H), 1.73-1.59(m, 2H)。HRMS(ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₃₈H₃₉N₁₀O₇, 计算值747.2998;实测值:747.2970。

[0527] 方案18:实施例46的合成

[0528]



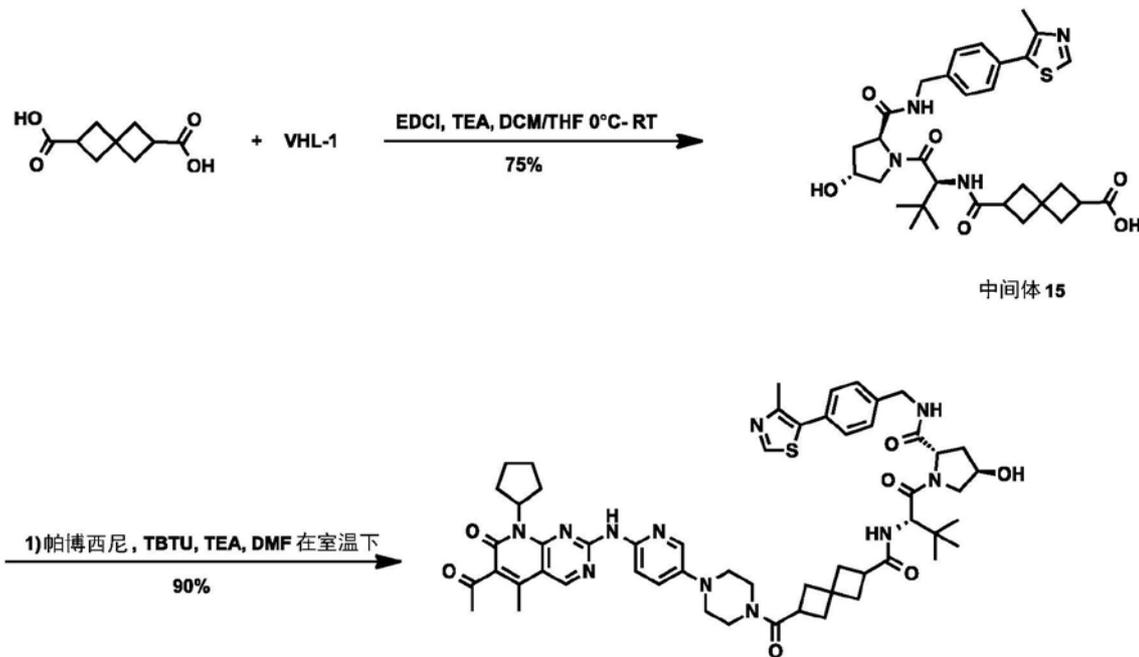
[0529] 3-((3-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-氧代丙基)(甲基)氨基)丙酸(中间体14)。在0℃下向3,3'-((甲基亚氨基(methylazanediyl)))二丙酸(700mg,4mmol)在DMSO/THF(1:1,10ml)中的溶液依次添加VHL-1(472mg,1mmol)、三乙胺(0.5ml,3.5mmol)、HOAt(173mg,1.3mmol)、和EDCI(242mg,1.3mmol)。将所得溶液在0℃下搅拌2小时,然后升温至室温(RT)。在室温下搅拌过夜后,将反应用水猝灭,并且在减压下浓缩。将所得残余物通过反相色谱法纯化以得到作为白色固体的标题化合物(470mg,80%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ 8.93(s,1H),7.49(d,J=8.7Hz,2H),7.44(d,J=8.1Hz,2H),4.61-4.54(m,4H),4.37(d,J=15.4Hz,1H),3.98(d,J=11.0Hz,1H),3.82(dd,J=10.9,3.8Hz,1H),3.37(s,4H),2.92(s,3H),2.87(dt,J=18.1,6.5Hz,4H),2.50(s,3H),2.28-2.22(m,1H),2.16-2.09(m,1H),1.08(s,9H)。

[0530] (2S,4R)-1-((S)-2-(3-((3-(4-(6-(6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)(甲基)氨基)丙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(实施例46)。向中间体14(22mg,0.031mmol)在DMF(1ml)中的搅拌的溶液添加TEA(0.015mL,0.11mmol)、帕博西尼(13.1mg,0.029mmol)、和TBTU(11.3mg,0.035mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜,然后浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(22mg,75%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ 9.11(s,1H),8.92(s,1H),8.19(d,J=7.9Hz,1H),7.93(d,J=2.7Hz,1H),7.59(d,J=9.6Hz,1H),7.47(d,J=7.8Hz,2H),7.42(d,J=8.1Hz,2H),6.03(p,J=8.8Hz,1H),4.65-4.49(m,4H),4.38(d,J=15.5Hz,1H),3.97(d,J=10.8Hz,1H),3.90-3.64(m,5H),3.64-3.51(m,2H),3.43-3.36(m,4H),3.10-3.02(m,2H),2.93(s,3H),2.93-2.85(m,4H),2.52(s,3H),2.49(s,3H),2.45(s,3H),2.37-2.29(m,2H),

2.29-2.20 (m, 1H), 2.16-2.07 (m, 3H), 1.97-1.88 (m, 2H), 1.76-1.66 (m, 2H), 1.07 (d, J=10.7Hz, 9H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₃H₆₉N₁₂O₇S, 计算值1017.5127; 实测值: 1017.5013。

[0531] 方案18: 实施例47的合成

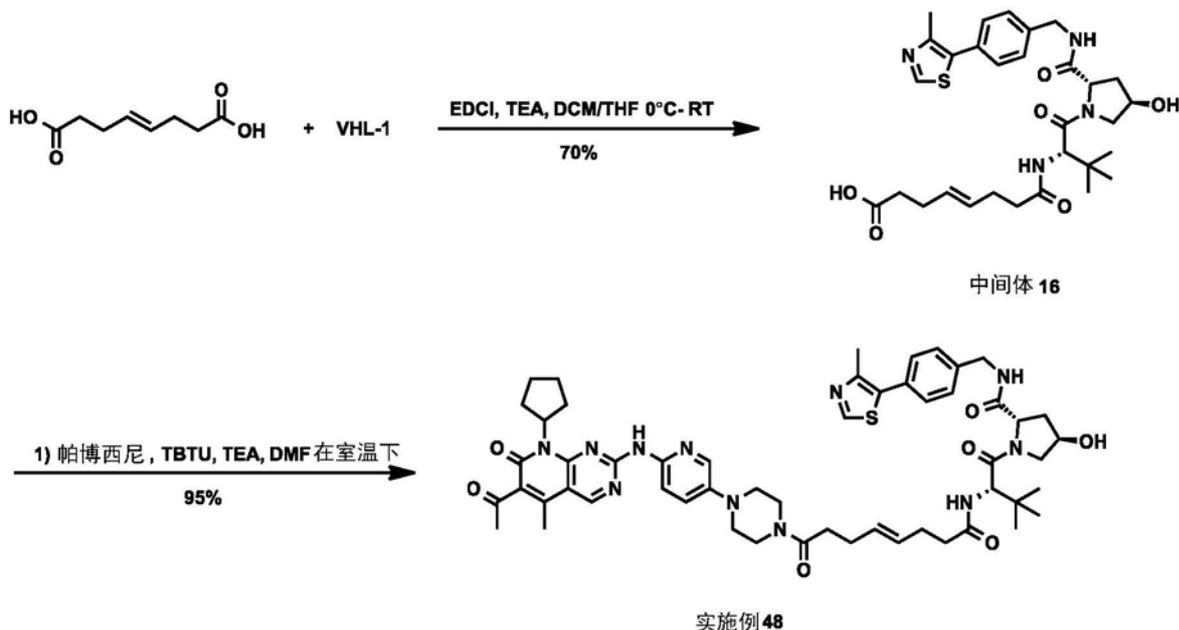
[0532]



[0533] (2S, 4R)-1-((S)-2-(6-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-羰基)螺[3.3]庚烷-2-甲酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(实施例47)。在0°C下向螺[3.3]庚烷-2,6-二羧酸(250mg, 1.36mmol)在DCM/THF(1:1, 5ml)中的溶液依次添加VHL-1(218mg, 0.47mmol)、三乙胺(0.21ml, 1.4mmol)、和EDCI(112mg, 0.59mmol)。将所得溶液在0°C下搅拌2小时, 然后升温至室温(RT)。在室温下搅拌过夜后, 将反应用水猝灭, 并且在减压下浓缩。将所得残余物通过反相色谱法纯化以得到作为白色固体的中间体15(210mg, 75%)。向中间体15(19mg, 0.031mmol)在DMF(1ml)中的搅拌的溶液添加TEA(0.01mL, 0.07mmol)、帕博西尼(12.7mg, 0.028mmol)、和TBTU(14.2mg, 0.044mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜, 然后浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(26mg, 90%)。¹HNMR(600MHz, CD₃OD) δ 9.11 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.21 (dd, J=9.6, 3.0Hz, 1H), 7.88 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.57 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.48 (dd, J=8.0, 1.6Hz, 2H), 7.45-7.42 (m, 2H), 6.02 (p, J=8.8Hz, 1H), 4.69-4.62 (m, 1H), 4.62-4.47 (m, 3H), 4.41-4.27 (m, 1H), 3.92 (dd, J=11.0, 4.4Hz, 1H), 3.86-3.70 (m, 3H), 3.71-3.56 (m, 2H), 3.37-3.22 (m, 6H), 3.17-3.03 (m, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.45 (s, 3H), 2.40-2.04 (m, 13H), 1.96-1.88 (m, 2H), 1.76-1.68 (m, 2H), 1.04 (d, J=3.4Hz, 9H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₅H₆₈N₁₁O₇S, 计算值1026.5018; 实测值: 1026.4985。

[0534] 方案19: 实施例48的合成

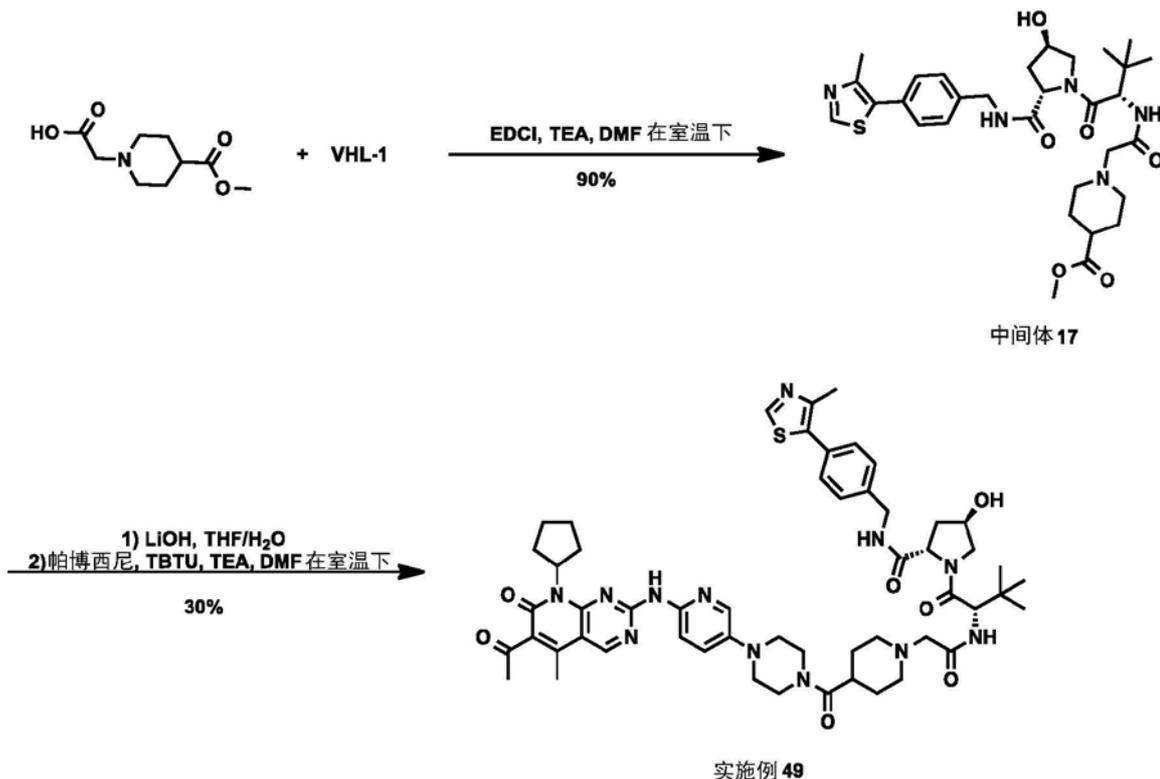
[0535]



[0536] (2S,4R)-1-((S)-2-((E)-8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛-4-烯酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(实施例48)。在0℃下向(E)-辛-4-烯二酸(250mg,1.45mmol)在THF(5ml)中的溶液依次添加VHL-1(239mg,0.51mmol)、三乙胺(0.21ml,1.4mmol)、和EDCI(104mg,0.54mmol)。将所得溶液在0℃下搅拌2小时,然后升温至室温(RT)。在室温下搅拌过夜后,将反应用水猝灭,并且在减压下浓缩。将所得残余物通过反相色谱法纯化以得到作为白色固体的中间体16(208mg,70%)。向中间体16(19mg,0.032mmol)在DMF(1ml)中的搅拌的溶液添加TEA(0.01mL,0.07mmol)、帕博西尼(11.1mg,0.025mmol)、和TBTU(10.4mg,0.032mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜,然后浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(24mg,95%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.12(s,1H),9.00(s,1H),8.21(dd,J=9.6,2.9Hz,1H),7.88(d,J=2.8Hz,1H),7.56(d,J=9.6Hz,1H),7.49(d,J=8.1Hz,2H),7.43(d,J=8.1Hz,2H),6.03(p,J=8.8Hz,1H),5.61-5.50(m,2H),4.66(s,1H),4.60-4.48(m,3H),4.37(dd,J=15.3,8.6Hz,1H),3.92(d,J=11.0Hz,1H),3.83-3.77(m,5H),3.31-3.25(m,3H),2.54(t,J=7.8Hz,2H),2.51(s,3H),2.49(s,3H),2.45(s,3H),2.40-2.28(m,9H),2.26-2.23(m,1H),2.16-2.07(m,3H),1.96-1.87(m,2H),1.76-1.66(m,2H),1.04(s,9H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₄H₆₈N₁₁O₇S,计算值1014.5018;实测值:1014.5011。

[0537] 方案20:实施例49的合成

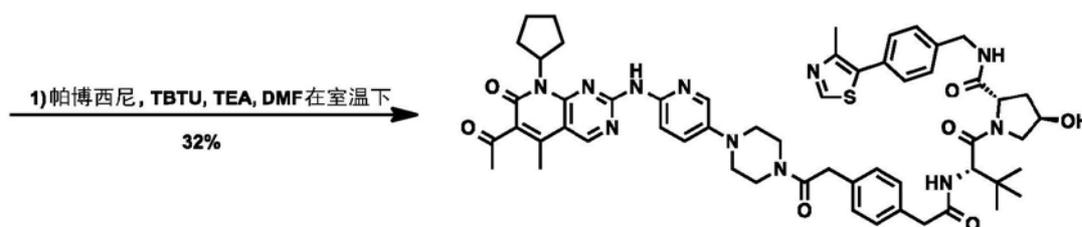
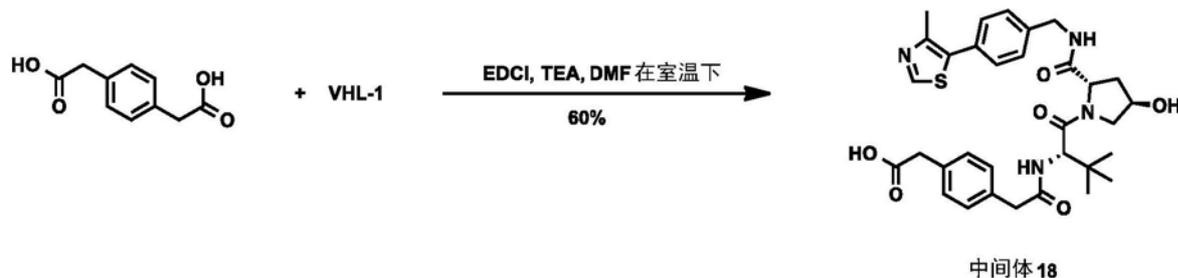
[0538]



[0539] (2S,4R)-1-((S)-2-(2-(4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]噻啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-羰基)哌啶-1-基)乙酰胺)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(实施例49)。在室温下向2-(4-(甲氧基羰基)哌啶-1-基)乙酸(300mg,1.5mmol)在DMF(10ml)中的溶液依次添加VHL-1(715mg,1.5mmol)、三乙胺(1.07ml,7.7mmol)、和TBTU(513mg,1.6mmol)。在室温下搅拌过夜后,将反应用水猝灭并且在减压下浓缩,将所得残余物通过反相色谱法纯化以得到作为白色固体的中间体17(552mg,90%)。向中间体17(52mg,0.085mmol)在THF/H₂O(5:1,3ml)中的搅拌的溶液添加无水LiOH(3.3mg,0.136mmol)。将所得混合物在室温下搅拌过夜,然后在减压下浓缩。将所得残余物溶解于DMF(1ml)中。向所得溶液添加TEA(0.015mL,0.11mmol)、帕博西尼(13.3mg,0.030mmol)、和TBTU(14mg,0.044mmol)。在将混合物在室温下搅拌过夜后,将反应浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(25mg,30%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD)δ9.12(s,1H),8.97(s,1H),8.22(dd,J=10.1,3.0Hz,1H),7.91(d,J=3.0Hz,1H),7.58(dd,J=9.6,5.5Hz,1H),7.50(d,J=8.0Hz,2H),7.43(d,J=8.2Hz,2H),6.03(p,J=8.8Hz,1H),4.69-4.65(m,1H),4.61-4.54(m,3H),4.38(d,J=15.5Hz,1H),4.13-3.90(m,3H),3.90-3.76(m,5H),3.72-3.64(m,2H),3.40-3.32(m,2H),3.30-3.28(m,2H),3.15(br,2H),2.52(s,3H),2.50(s,3H),2.45(s,3H),2.37-2.29(m,2H),2.29-2.23(m,1H),2.16-1.99(m,9H),1.98-1.88(m,2H),1.77-1.65(m,2H),1.09(s,9H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₄H₆₉N₁₂O₇S,计算值1029.5127;实测值:1029.5048。

[0540] 方案21:实施例50的合成

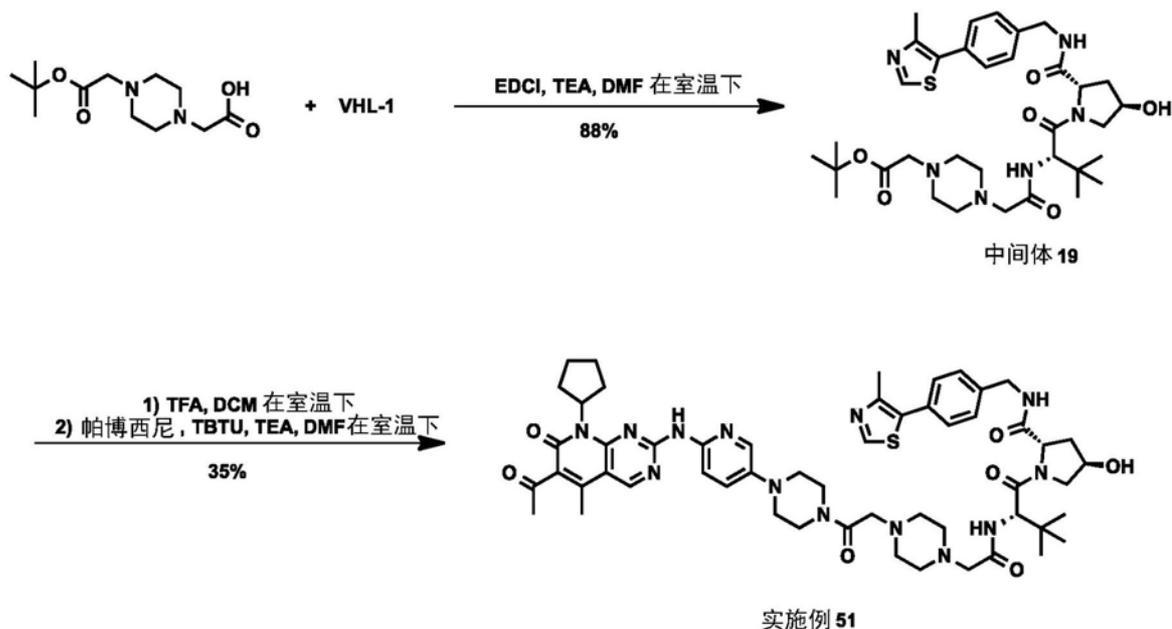
[0541]



[0542] (2S,4R)-1-((S)-2-(2-(4-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)苯基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(实施例50)。在0℃下向2,2'-(1,4-亚苯基)二乙酸(414mg,2.13mmol)在THF(10ml)中的溶液依次添加VHL-1(217mg,0.47mmol)、三乙胺(0.21ml,1.4mmol)、和EDCI(110mg,0.58mmol)。将所得溶液在0℃下搅拌2小时,然后升温至室温(RT)。在室温下搅拌过夜后,将反应用水猝灭,并且在减压下浓缩。将所得残余物通过反相色谱法纯化以得到作为白色固体的中间体18(170mg,60%)。向中间体18(20mg,0.033mmol)在DMF(1ml)中的搅拌的溶液添加TEA(0.015mL,0.11mmol)、帕博西尼(12mg,0.027mmol)、和TBTU(12.2mg,0.038mmol)。在将混合物在室温下搅拌过夜后,将反应在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(9mg,32%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.08(s,1H),8.95(s,1H),8.15(dd,J=9.7,2.8Hz,1H),7.78(d,J=2.6Hz,1H),7.51(d,J=11.4Hz,1H),7.46-7.38(m,4H),7.34-7.25(m,4H),6.06-5.97(m,1H),4.66-4.61(m,1H),4.59-4.46(m,3H),4.38-4.32(m,1H),3.92-3.83(m,3H),3.81-3.70(m,4H),3.64(d,J=14.4Hz,1H),3.58(d,J=14.7Hz,1H),3.24-3.18(m,1H),3.16-3.09(m,1H),3.08-3.02(m,1H),2.52(s,3H),2.49(s,3H),2.44(s,3H),2.37-2.31(m,2H),2.26-2.20(m,1H),2.15-2.08(m,3H),1.96-1.87(m,2H),1.76-1.68(m,2H),0.97(s,9H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₆H₆₆N₁₁O₇S,计算值1036.4862;实测值:1036.4860。

[0543] 方案22:实施例51的合成

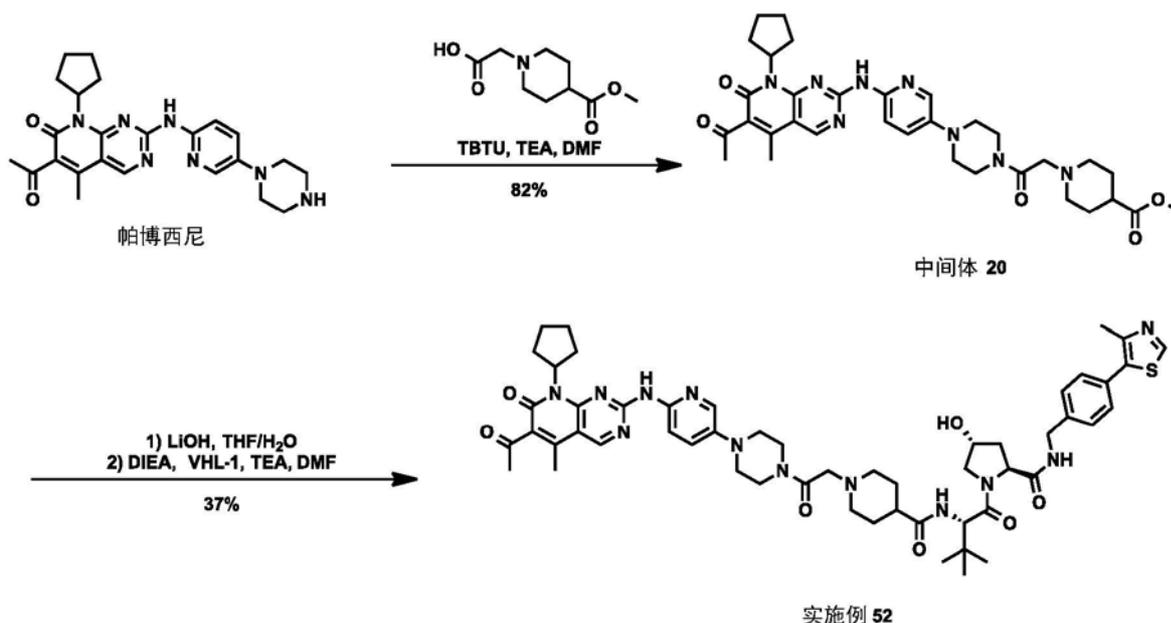
[0544]



[0545] (2S,4R)-1-((S)-2-(2-(4-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)哌嗪-1-基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(实施例51)。在室温下向2-(4-(2-(叔丁氧基)-2-氧代乙基)哌嗪-1-基)乙酸(340mg, 0.7mmol)在DMF(5ml)中的溶液依次添加VHL-1(277mg, 0.6mmol)、三乙胺(0.7ml, 5mmol)、和EDCI(224mg, 1.2mmol)。在室温下搅拌过夜后,将反应用水猝灭,并且在减压下浓缩。将所得残余物通过反相色谱法纯化以得到作为白色固体的中间体17(350mg, 88%)。向中间体19(15mg, 0.023mmol)在DCM(1ml)中的搅拌的溶液添加TFA(1mL)。将所得混合物在室温下搅拌。通过LC/MS监测原料的消失。将反应混合物在减压下浓缩并且将所得残余物溶解于DMF(1ml)中。向所得溶液添加TEA(0.015mL, 0.11mmol)、帕博西尼(8.3mg, 0.019mmol)、和TBTU(7mg, 0.022mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜,然后浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(7mg, 35%)。¹H NMR(600MHz, CD₃OD) δ 9.13(s, 1H), 8.99(s, 1H), 8.24(dd, J=9.6, 2.4Hz, 1H), 7.93(s, 1H), 7.59(d, J=9.6Hz, 1H), 7.49(d, J=8.4Hz, 2H), 7.45(d, J=8.2Hz, 2H), 6.08-5.98(m, 1H), 4.69(s, 1H), 4.61-4.50(m, 3H), 4.44-4.38(m, 1H), 4.25(s, 2H), 3.92(d, J=11.1Hz, 1H), 3.88-3.79(m, 3H), 3.68(br, 2H), 3.50-3.37(m, 8H), 3.37-3.34(m, 2H), 3.06(br, 4H), 2.53(s, 2H), 2.51(s, 2H), 2.46(s, 3H), 2.37-2.25(m, 3H), 2.17-2.07(m, 3H), 1.97-1.87(m, 2H), 1.76-1.69(m, 2H), 1.07(s, 9H)。HRMS(ESI-TOF)m/z: [M+H]⁺对于C₅₄H₇₀N₁₃O₇S, 计算值1044.5236;实测值:1044.5226。

[0546] 方案23:实施例52的合成

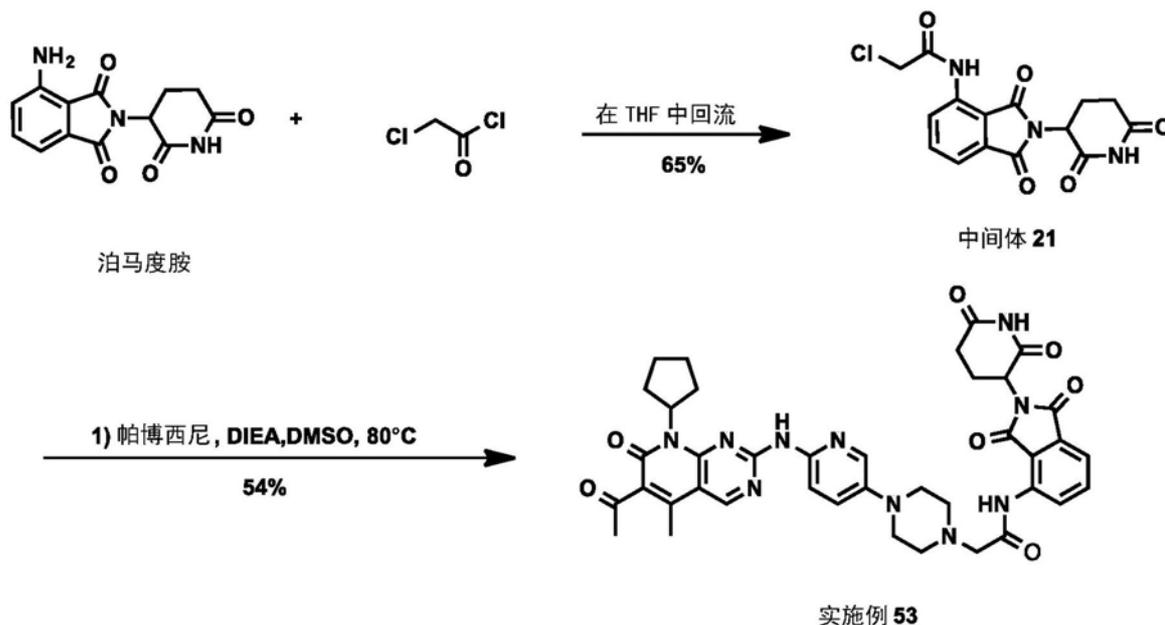
[0547]



[0548] 1-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)-N-((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)哌啶-4-甲酰胺(实施例52)。在室温下向帕博西尼(43mg, 0.096mmol)在DMF中的溶液依次添加2-(4-(甲氧基羰基)哌啶-1-基)乙酸(20mg, 0.1mmol)、TEA(0.035mL, 0.25mmol)和TBTU(42mg, 0.13mmol)。在室温下搅拌过夜后,将反应用水猝灭。在减压下浓缩后,将所得残余物通过反相色谱法纯化以得到作为白色固体的中间体20(50mg, 82%)。向中间体20(50mg, 0.079mmol)在THF/H₂O(5:1, 3mL)中的搅拌的溶液添加无水LiOH(6mg, 0.025mmol)。将混合物在室温下搅拌并且通过LC/MS监测反应进程。在中间体20完全耗尽后,将反应浓缩。将所得残余物溶解于DMF(1mL)中。向溶液添加TEA(0.02mL, 0.14mmol)、VHL-1(26mg, 0.055mmol)和TBTU(16mg, 0.05mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜,然后浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(30mg, 37%)。¹HNMR(600MHz, CD₃OD) δ 9.15(s, 1H), 9.13(s, 1H), 8.24(dd, J=9.6, 2.7Hz, 1H), 7.93(d, J=2.2Hz, 1H), 7.58(d, J=9.6Hz, 1H), 7.51(d, J=8.1Hz, 2H), 7.46(d, J=8.2Hz, 2H), 6.03(p, J=8.8Hz, 1H), 4.65(d, J=8.3Hz, 1H), 4.62-4.51(m, 3H), 4.42-4.32(m, 3H), 3.91(d, J=9.6Hz, 1H), 3.87-3.82(m, 3H), 3.79-3.70(m, 1H), 3.65(br, 2H), 3.50(br, 1H), 3.40(br, 2H), 3.37-3.34(m, 3H), 3.20-3.07(m, 1H), 2.74(br, 1H), 2.52(s, 3H), 2.52(s, 3H), 2.45(s, 3H), 2.36-2.24(m, 3H), 2.21-2.03(m, 7H), 1.97-1.88(m, 2H), 1.77-1.64(m, 2H), 1.07(s, 9H)。HRMS(ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₄H₆₉N₁₂O₇S, 计算值1029.5127; 实测值:1029.5106。

[0549] 方案24: 实施例53的合成

[0550]

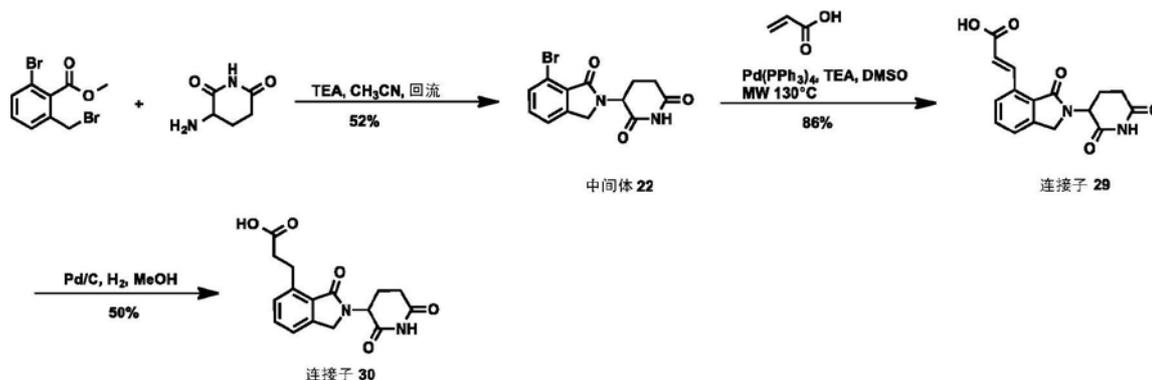


[0551] 2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-N-(2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1,3-二氧化异吲哚啉-4-基)乙酰胺(实施例53)。将泊马度胺(90mg, 0.33mmol)和2-氯乙酰氯(0.026mL, 0.33mmol)在THF(2ml)中的溶液加热回流过夜。冷却至室温后,将反应混合物浓缩,并且将所得残余物用乙酸乙酯洗涤以得到作为黄色固体的中间体21(75mg, 65%)。向中间体13(36mg, 0.082mmol)在DMSO(1mL)中的搅拌的溶液添加DIEA(0.043mL, 0.24mmol)和帕博西尼(39mg, 0.087mmol)。将混合物在80°C下加热。在原料耗尽后,将反应在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(36mg, 54%)。¹HNMR(600MHz, CDCl₃) δ11.19(s, 1H), 8.89(d, J=8.5Hz, 1H), 8.81(s, 1H), 8.20(d, J=9.1Hz, 1H), 8.14(d, J=2.8Hz, 1H), 7.71(t, J=4.2Hz, 1H), 7.55(d, J=7.3Hz, 1H), 7.38(dd, J=9.1, 2.9Hz, 1H), 5.87(p, J=9.0Hz, 1H), 4.94(dd, J=12.7, 5.3Hz, 1H), 3.39(br, 4H), 3.34(AB, J_{ab}=17.4Hz, 1H), 3.27(AB, J_{ab}=17.4Hz, 1H), 2.92-2.73(m, 8H), 2.54(s, 3H), 2.40-2.29(m, 4H), 2.14-2.09(m, 1H), 2.08-2.00(m, 2H), 1.90-1.81(m, 2H), 1.70-1.59(m, 2H)。HRMS(ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₃₉H₄₁N₁₀O₇, 计算值761.3154;实测值:761.3157。

[0552] 各种泊马度胺类似物的连接子的合成

[0553] 方案25:连接子29和30的合成

[0554]



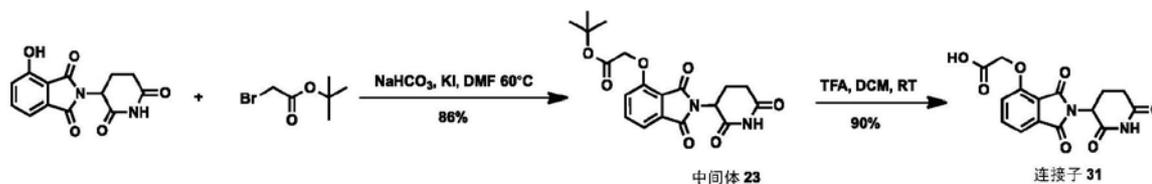
[0555] 3-(7-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(中间体22)。将2-溴-6-(溴甲基)苯甲酸甲酯(970mg, 3.16mmol)、3-氨基哌啶-2,6-二酮(667mg, 4.06mmol)和TEA(0.62mL, 4.4mmol)在CH₃CN(10mL)中的溶液加热回流16h。冷却至室温后,将反应浓缩。向所得残余物添加乙酸乙酯(10mL)和H₂O(10mL)。过滤后,将固体收集并且干燥以得到作为紫色固体的标题化合物(534mg, 54%)。

[0556] (E)-3-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-3-氧代异吲哚啉-4-基)丙烯酸(连接子29)。将中间体22(46mg, 0.14mmol)、丙烯酸(0.02mL, 0.29mmol)、四(三苯基膦)钯(23.3mg, 0.02mmol)和TEA(0.02mL, 0.14mmol)在DMSO(1mL)中的溶液在130°C下在微波反应器中加热30min。冷却至室温后,将混合物过滤。将溶液浓缩并且通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(38mg, 86%)。¹H NMR(600MHz, DMSO-d₆) δ12.51(s, 1H), 11.03(s, 1H), 8.87(d, J=16.2Hz, 1H), 7.98(t, J=6.0Hz, 1H), 7.64(d, J=4.7Hz, 2H), 6.69(d, J=16.3Hz, 1H), 5.10(dd, J=13.3, 5.1Hz, 1H), 4.47(d, J=17.4Hz, 1H), 4.35(d, J=17.4Hz, 1H), 2.98-2.86(m, 1H), 2.62(d, J=17.1Hz, 1H), 2.42(qd, J=13.2, 4.5Hz, 1H), 2.07-1.99(m, 1H)。

[0557] 3-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-3-氧代异吲哚啉-4-基)丙酸(连接子30)。将连接子29(20mg, 0.064mmol)和Pd/C(5mg)在MeOH/DMSO(1:1, 2mL)中的混合物在H₂气氛下搅拌16h。在通过过滤除去Pd/C后,将溶液在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(11mg, 50%)。¹H NMR(600MHz, DMSO-d₆) δ10.99(br, 2H), 7.55-7.47(m, 1H), 7.43(d, J=7.5Hz, 1H), 7.31(d, J=7.7Hz, 1H), 5.13-5.03(m, 1H), 4.41(dd, J=16.8, 8.8Hz, 1H), 4.30(dd, J=16.8, 8.8Hz, 1H), 3.33-3.27(m, 2H), 2.97-3.84(m, 1H), 2.63-2.55(m, 3H), 2.43-2.38(m, 1H), 2.06-1.98(m, 1H)。

[0558] 方案26:连接子31的合成

[0559]

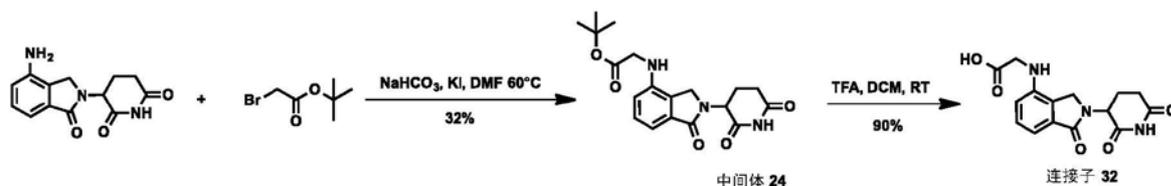


[0560] 2-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氧基)乙酸(连接子31)。将圆底烧瓶装入2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-羟基异吲哚啉-1,3-二酮(68mg, 0.25mmol)、DMF(2mL)、2-溴乙酸叔丁酯(0.045mL, 0.3mmol)、碳酸氢钠(49mg, 0.058mmol)、

和碘化钾(10mg, 0.06mmol)。将反应混合物在60℃下加热过夜。冷却至室温后,通过过滤除去不溶性固体。将溶液收集并且浓缩。将所得残余物通过反相ISCO纯化以得到中间体23(83mg, 86%)。将中间体23(83mg, 0.21mmol)溶解于DCM/TFA(2:1, 3mL)中。将反应在室温下搅拌3小时后,除去溶剂以得到作为白色固体的标题化合物(60mg, 90%)。¹H NMR(600MHz, DMSO-d₆) δ11.11(br, 2H), 7.82-7.77(m, 1H), 7.48(d, J=7.2Hz, 1H), 7.40(d, J=8.6Hz, 1H), 5.11(ddd, J=12.8, 5.4, 1.2Hz, 1H), 5.00(s, 2H), 2.95-2.80(m, 1H), 2.63-2.53(m, 2H), 2.08-2.00(m, 1H)。

[0561] 方案27:连接子32的合成

[0562]



[0563] (2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)甘氨酸(连接子32)。使用与连接子31相同的制备方法合成标题化合物。¹H NMR(600MHz, DMSO-d₆) δ12.66(br, 1H), 11.03(s, 1H), 7.29(t, J=7.7Hz, 1H), 6.99(d, J=7.4Hz, 1H), 6.66(d, J=8.0Hz, 1H), 5.13(dd, J=13.3, 4.9Hz, 1H), 4.27(d, J=17.0Hz, 1H), 4.18(d, J=17.4Hz, 1H), 3.93(s, 2H), 2.98-2.84(m, 1H), 2.63(d, J=17.0Hz, 1H), 2.34(qd, J=13.2, 4.1Hz, 1H), 2.08-1.97(m, 1H)。

[0564] 方案28:连接子33的合成

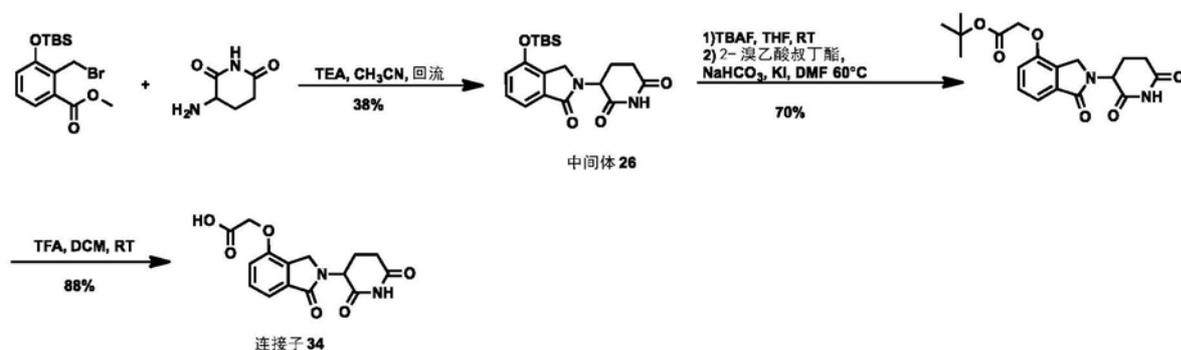
[0565]



[0566] 3-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-5-基)丙酸(连接子33)。使用与连接子30相同的制备方法合成标题化合物。¹H NMR(600MHz, DMSO-d₆) δ11.15(br, 2H), 7.85(d, J=7.7Hz, 1H), 7.82(s, 1H), 7.76(d, J=7.7Hz, 1H), 5.14(dd, J=12.9, 5.4Hz, 1H), 3.02(t, J=7.4Hz, 2H), 2.93-2.84(m, 1H), 2.65(t, J=7.5Hz, 2H), 2.60-2.53(m, 2H), 2.08-2.04(m, 1H)。

[0567] 方案29:连接子34的合成

[0568]

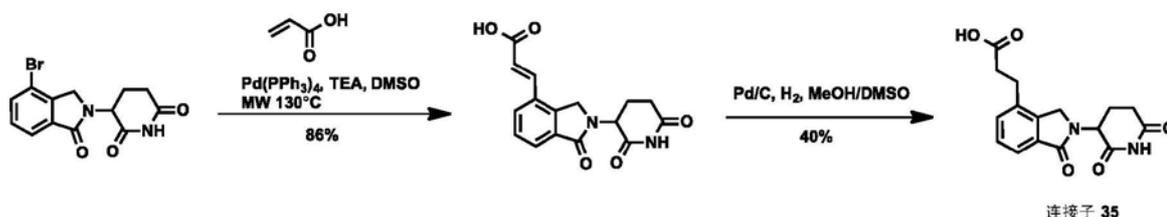


[0569] 3-(4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(中间体26)。使用与中间体22相同的制备方法合成标题化合物(38%)。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ10.98 (s, 1H), 7.44 (t, J=7.7Hz, 1H), 7.36 (d, J=7.4Hz, 1H), 7.11 (d, J=7.9Hz, 1H), 5.11 (dd, J=13.2, 4.8Hz, 1H), 4.34 (d, J=17.3Hz, 1H), 4.25 (d, J=17.2Hz, 1H), 2.96-2.82 (m, 1H), 2.66-2.53 (m, 2H), 2.02-1.96 (m, 1H), 0.99 (s, 9H), 0.26 (s, 6H)。

[0570] 2-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)乙酸(连接子34)。使用与连接子31相同的制备方法合成标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ11.00 (s, 1H), 7.47 (t, J=7.8Hz, 1H), 7.36 (d, J=8.6Hz, 1H), 7.17 (d, J=8.2Hz, 1H), 5.19-5.05 (m, 2H), 4.84 (s, 2H), 4.41 (d, J=17.4Hz, 1H), 4.28 (d, J=17.3Hz, 1H), 3.00-2.84 (m, 1H), 2.63-2.58 (m, 1H), 2.49-2.38 (m, 1H), 2.04-1.92 (m, 1H)。

[0571] 方案30:连接子35的合成

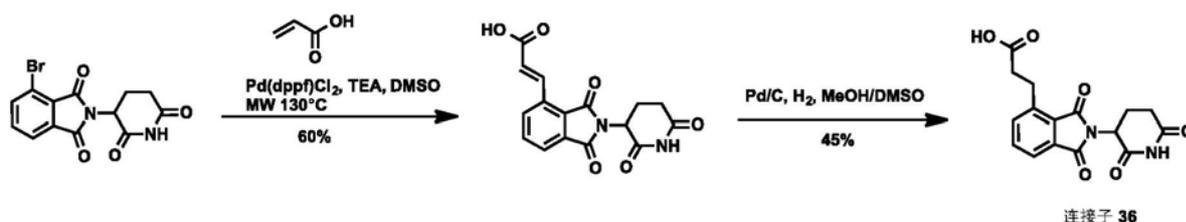
[0572]



[0573] 3-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)丙酸(连接子35)。使用与连接子30相同的制备方法合成标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ12.23 (br, 1H), 11.01 (s, 1H), 7.59 (d, J=7.1Hz, 1H), 7.51-7.46 (m, 2H), 5.14 (dd, J=13.3, 5.1Hz, 1H), 4.51 (d, J=17.0Hz, 1H), 4.36 (d, J=17.1Hz, 1H), 2.97-2.83 (m, 3H), 2.67-2.58 (m, 3H), 2.49-2.39 (m, 1H), 2.05-1.99 (m, 1H)。

[0574] 方案31:连接子36的合成

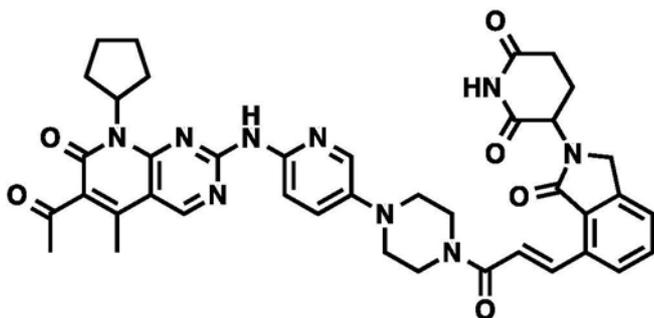
[0575]



[0576] 3-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)丙酸(连接子36)。使用与连接子30相同的制备方法合成标题化合物。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ11.15 (br, 2H), 7.79-7.73 (m, 3H), 5.14 (dd, J=12.9, 5.4Hz, 1H), 3.27 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.95-2.83 (m, 1H), 2.67-2.52 (m, 4H), 2.12-2.01 (m, 1H)。

[0577] 使用与实施例40化合物相同的制备方法用连接子29-36合成实施例54-61化合物。

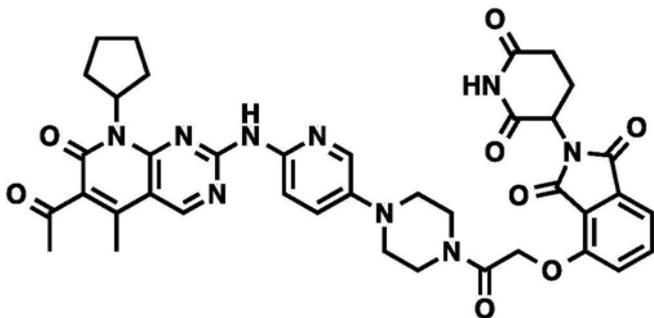
[0578]



[0579] 实施例54

[0580] (E)-3-(7-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙-1-烯-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(实施例54) (52mg, 58%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.08 (s, 1H), 8.74 (d, J=15.7Hz, 1H), 8.17 (dd, J=9.7, 2.7Hz, 1H), 7.90 (d, J=2.7Hz, 1H), 7.84 (d, J=7.7Hz, 1H), 7.62-7.54 (m, 2H), 7.51 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.27 (d, J=15.7Hz, 1H), 5.98 (p, J=8.8Hz, 1H), 5.13 (dd, J=12.6, 5.4Hz, 1H), 4.47 (AB, J_{ab}=16.8Hz, 1H), 4.43 (AB, J_{ab}=16.8Hz, 1H), 3.97 (br, 2H), 3.90 (br, 2H), 3.28 (br, 2H), 3.34 (br, 2H), 2.87-2.75 (m, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.50-2.44 (m, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.35-2.25 (m, 2H), 2.25-2.15 (m, 2H), 2.14-2.03 (m, 3H), 1.94-1.86 (m, 2H), 1.73-1.64 (m, 2H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺ 对于 C₄₀H₄₂N₉O₆, 计算值744.3253; 实测值:744.3274。

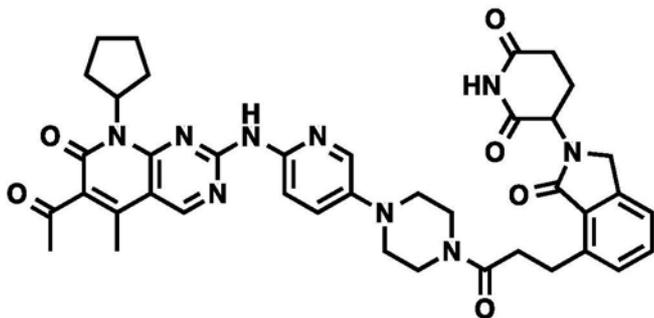
[0581]



[0582] 实施例55

[0583] 4-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(实施例55) (27mg, 51%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.11 (s, 1H), 8.19 (d, J=8.6Hz, 1H), 7.88 (br, 1H), 7.76 (t, J=7.9Hz, 1H), 7.57 (d, J=7.9Hz, 1H), 7.49 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.41 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.06-5.96 (m, 1H), 5.22-5.15 (m, 2H), 5.12 (dd, J=12.7, 5.4Hz, 1H), 3.93-3.76 (m, 4H), 3.45-3.24 (m, 4H), 2.95-2.69 (m, 3H), 2.53 (s, 3H), 2.45 (s, 3H), 2.37-2.27 (m, 2H), 2.20-2.05 (m, 3H), 1.96-1.87 (m, 2H), 1.77-1.62 (m, 2H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺ 对于 C₃₉H₄₀N₉O₈, 计算值762.2994; 实测值:762.3008。

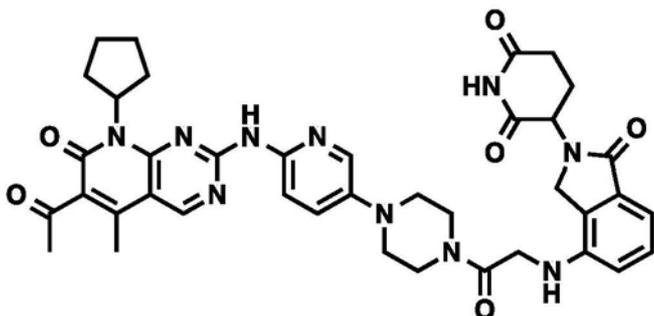
[0584]



[0585] 实施例56

[0586] 3-(7-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(实施例56) (9mg, 48%) 作为黄色固体。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 8.81 (s, 1H), 7.73-7.65 (m, 2H), 7.63 (s, 1H), 7.31 (t, J=7.5Hz, 1H), 7.18 (d, J=7.4Hz, 1H), 7.13 (d, J=7.4Hz, 1H), 5.75-5.70 (m, 1H), 4.93 (dd, J=13.2, 5.1Hz, 1H), 3.69-3.48 (m, 4H), 3.31-3.21 (m, 1H), 3.21-3.09 (m, 3H), 3.07-3.00 (m, 2H), 2.99-2.77 (m, 2H), 2.76-2.63 (m, 3H), 2.63-2.54 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.28-2.16 (m, 4H), 2.15-2.02 (m, 3H), 1.94-1.85 (m, 2H), 1.75-1.65 (m, 2H), 1.55-1.44 (m, 2H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₄₀H₄₄N₉O₆, 计算值746.3409; 实测值:746.3427。

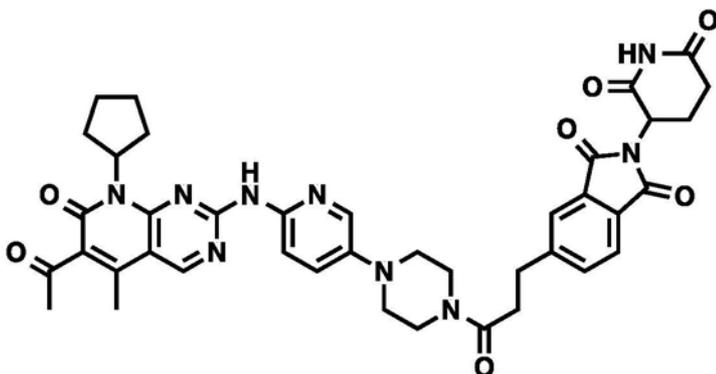
[0587]



[0588] 实施例57

[0589] 3-(4-((2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(实施例57) (39mg, 80%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.07 (s, 1H), 8.09 (d, J=9.5Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.61 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.34 (t, J=7.6Hz, 1H), 7.16 (d, J=7.4Hz, 1H), 6.79 (d, J=7.9Hz, 1H), 5.96 (p, J=8.7Hz, 1H), 5.14 (dd, J=13.2, 4.1Hz, 1H), 4.37 (s, 2H), 4.18-4.06 (m, 2H), 3.85-3.79 (m, 4H), 3.38-3.22 (m, 4H), 2.90-2.76 (m, 2H), 2.56-2.48 (m, 3H), 2.49-2.38 (m, 4H), 2.27 (t, J=18.1Hz, 2H), 2.24-2.14 (m, 1H), 2.09 (s, 2H), 1.90 (s, 2H), 1.68 (d, J=3.0Hz, 2H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₃₉H₄₃N₁₀O₆, 计算值747.3362; 实测值:747.3370。

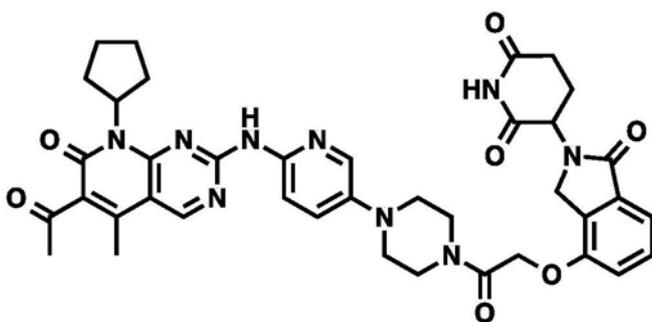
[0590]



[0591] 实施例58

[0592] 5-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(实施例58)(4mg,33%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.04(s,1H),7.99-7.96(m,1H),7.85(s,1H),7.82-7.78(m,1H),7.74-7.70(m,1H),7.67-7.63(m,1H),6.31(s,1H),5.99-5.93(m,1H),5.04(dd,J=11.8,6.0Hz,1H),3.87-3.63(m,4H),3.26-3.01(m,5H),2.88-2.72(m,4H),2.54(s,3H),2.43(s,3H),2.35-2.22(m,2H),2.19-2.10(m,1H),2.08-2.04(m,2H),1.92-1.87(m,2H),1.74-1.63(m,2H),1.30-1.26(m,2H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₄₀H₄₂N₉O₇,计算值760.3202;实测值:760.3226。

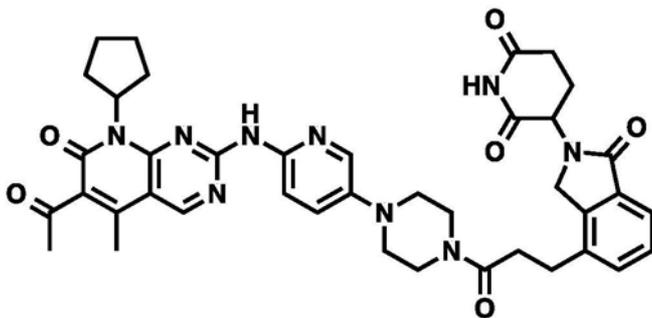
[0593]



[0594] 实施例59

[0595] 3-(4-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(实施例59)(43mg,90%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.09(s,1H),8.14(dd,J=9.7,2.8Hz,1H),7.89(d,J=2.5Hz,1H),7.59(d,J=9.6Hz,1H),7.48-7.40(m,2H),7.15(d,J=8.0Hz,1H),5.98(p,J=8.8Hz,1H),5.15(dd,J=13.3,5.1Hz,1H),5.03(AB,J_{ab}=14.4Hz,1H),4.99(AB,J_{ab}=14.4Hz,1H),4.53(AB,J_{ab}=17.4Hz,1H),4.49(AB,J_{ab}=17.4Hz,1H),3.90-3.67(m,4H),3.42-3.20(m,4H),2.96-2.73(m,2H),2.54(s,3H),2.52-2.47(m,1H),2.44(s,3H),2.34-2.28(m,2H),2.26-2.16(m,1H),2.12-2.05(m,2H),1.96-1.83(m,2H),1.74-1.59(m,2H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₃₉H₄₉N₉O₇,计算值748.3202;实测值:748.3236。

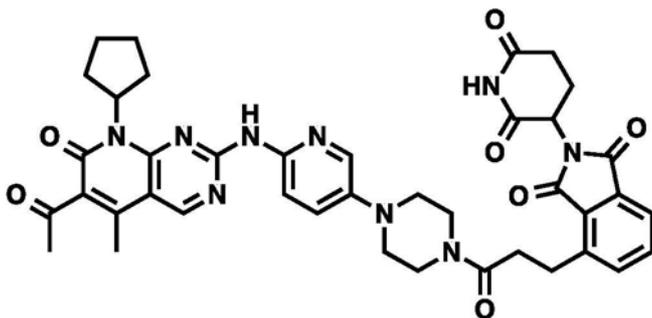
[0596]



[0597] 实施例60

[0598] 3-(4-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(实施例60)(15mg,75%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.12(s,1H),8.11(dd,J=9.7,2.9Hz,1H),7.79(d,J=2.8Hz,1H),7.65(d,J=4.8Hz,1H),7.58-7.52(m,2H),7.49(t,J=7.5Hz,1H),6.01(p,J=8.9Hz,1H),5.17(dd,J=13.3,5.2Hz,1H),4.56(q,J=16.9Hz,2H),3.83-3.72(m,2H),3.63(t,J=5.1Hz,2H),3.22-3.13(m,2H),3.08(t,J=7.1Hz,2H),3.03-2.97(m,1H),2.94-2.82(m,5H),2.59-2.49(m,4H),2.45(s,3H),2.35-2.29(m,2H),2.27-2.16(m,1H),2.14-2.04(m,2H),1.95-1.83(m,2H),1.75-1.63(m,2H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₄₀H₄₄N₉O₆,计算值746.3409;实测值:746.3382。

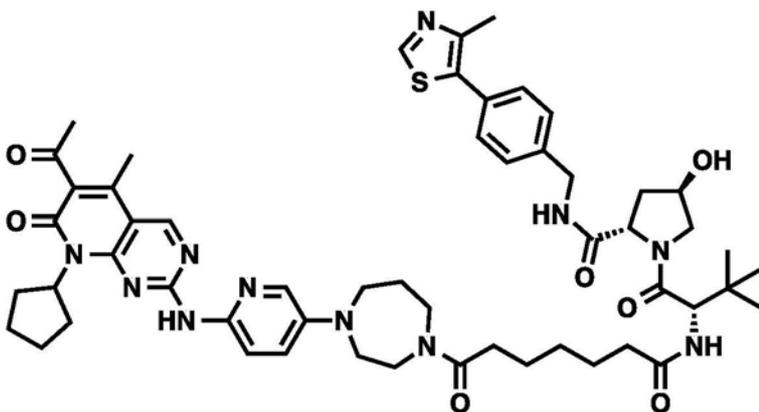
[0599]



[0600] 实施例61

[0601] 4-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(实施例61)(17mg,43%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.10(s,1H),8.14(d,J=9.4Hz,1H),7.86(s,1H),7.81-7.65(m,3H),7.59(d,J=9.5Hz,1H),6.00(p,J=8.8Hz,1H),5.13(dd,J=12.5,5.3Hz,1H),3.82-3.74(m,4H),3.47-3.37(m,2H),3.31-3.20(m,4H),2.92-2.69(m,5H),2.54(s,3H),2.45(s,3H),2.39-2.26(m,2H),2.22-2.16(m,1H),2.14-2.06(m,2H),1.96-1.86(m,2H),1.76-1.65(m,2H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₄₀H₄₂N₉O₇,计算值760.3202;实测值:760.3210。

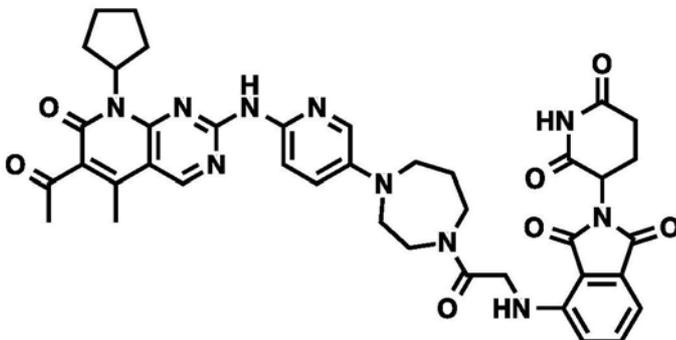
[0602]



[0603] 实施例62

[0604] (2S, 4R)-1-((S)-2-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)-1,4-二氮杂环庚烷-1-基)-7-氧代庚酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(实施例62)。使用与实施例40化合物相同的制备方法用连接子4合成作为白色固体的标题化合物(9mg, 74%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.10 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.06-8.01 (m, 1H), 7.80-7.75 (m, 1H), 7.55-7.41 (m, 5H), 6.06-5.98 (m, 1H), 4.66-4.49 (m, 5H), 4.38 (dd, J=15.4, 4.1Hz, 1H), 3.93-3.77 (m, 5H), 3.77-3.54 (m, 4H), 2.52 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.45 (s, 3H), 2.40-2.05 (m, 9H), 2.00-1.88 (m, 4H), 1.76-1.46 (m, 6H), 1.40-1.23 (m, 3H), 1.06-1.01 (m, 9H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₄H₇₀N₁₁O₇S, 计算值1016.5175; 实测值:1016.5166。

[0605]

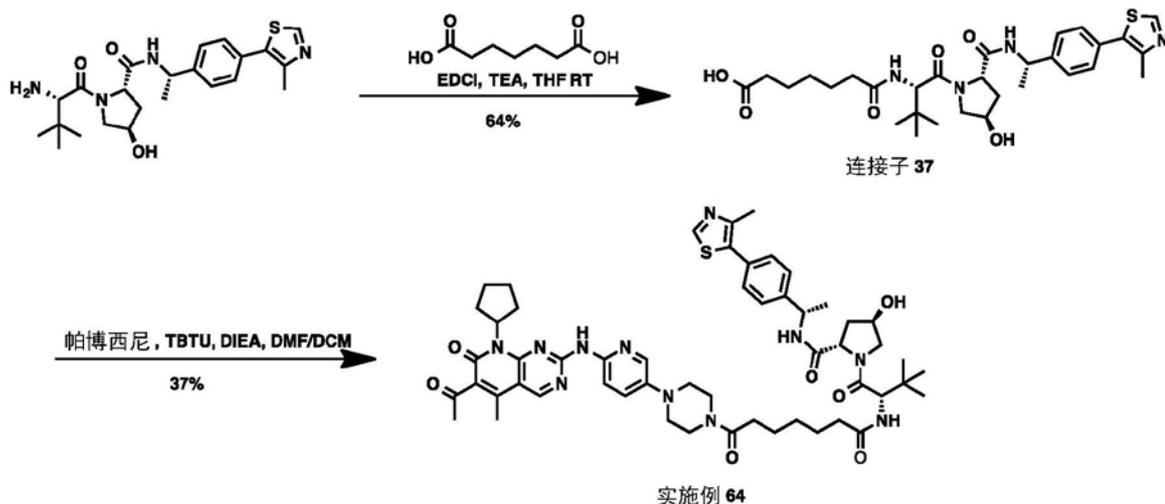


[0606] 实施例63

[0607] 4-((2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)-1,4-二氮杂环庚烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(实施例63)。使用与实施例40化合物相同的制备方法用连接子24合成作为黄色固体的标题化合物(4mg, 44%)。主要的一个旋转异构体(3:2) ¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.02 (s, 1H), 7.81 (dd, J=9.6, 3.0Hz, 1H), 7.51 (d, J=2.9Hz, 1H), 7.37-7.33 (m, 2H), 6.92 (d, J=8.6Hz, 1H), 6.87 (d, J=7.8Hz, 1H), 6.06-6.00 (m, 1H), 5.05 (dd, J=12.8, 5.5Hz, 1H), 4.24 (d, J=16.2Hz, 1H), 4.16-4.14 (m, 1H), 3.96-3.79 (m, 4H), 3.74-3.65 (m, 4H), 2.90-2.63 (m, 4H), 2.54 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.40-2.28 (m, 2H), 2.16-2.06 (m, 2H), 1.98-1.87 (m, 4H), 1.78-1.65 (m, 2H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₄₀H₄₃N₁₀O₇, 计算值775.3311; 实测值:775.3314。

[0608] 方案32: 实施例64的合成

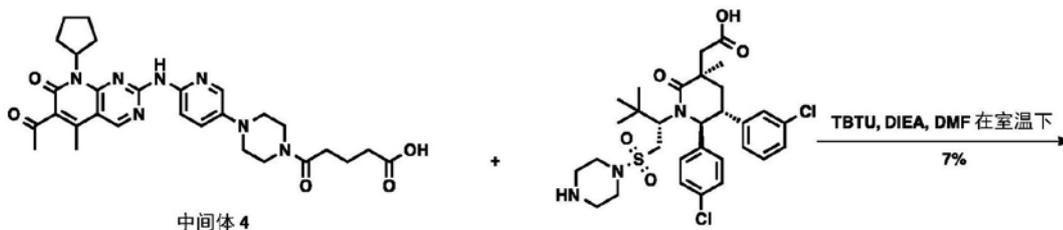
[0609]



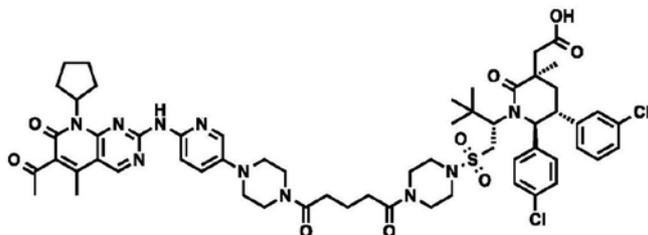
[0610] 7-(((S)-1-((2S,4R)-4-羟基-2-(((S)-1-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苯基)乙基)氨基)甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-7-氧代庚酸(连接子37)。使用与连接子1相同的制备方法合成标题化合物(22mg,64%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.23(s,1H),7.48(dd,J=12.0,7.3Hz,4H),5.06-5.00(m,1H),4.64(s,1H),4.59(t,J=8.4Hz,1H),4.46-4.42(m,1H),3.91(d,J=11.1Hz,1H),3.77(dd,J=11.0,4.0Hz,1H),2.53(s,3H),2.35-2.26(m,4H),2.24-2.16(m,1H),1.99-1.94(m,1H),1.67-1.62(m,4H),1.52(d,J=7.2Hz,3H),1.45-1.34(m,2H),1.06(s,9H)。

[0611] (2S,4R)-1-((S)-2-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-((S)-1-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苯基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺(实施例64)。使用与实施例40化合物相同的制备方法用连接子37合成标题化合物(15mg,37%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.12(s,1H),8.98(s,1H),8.23(dd,J=9.6,2.9Hz,1H),7.90(d,J=2.6Hz,1H),7.57(d,J=9.5Hz,1H),7.45(q,J=8.3Hz,4H),6.03(p,J=8.8Hz,1H),5.02(q,J=6.6Hz,1H),4.66(s,1H),4.60(t,J=7.7Hz,1H),4.46(br,1H),3.90(d,J=11.0Hz,1H),3.85-3.74(m,5H),3.39-3.34(m,2H),3.33-3.30(m,2H),2.52(s,3H),2.50(s,3H),2.45(s,3H),2.39-2.26(m,5H),2.26-2.18(m,1H),2.14-2.09(m,2H),2.01-1.88(m,3H),1.76-1.62(m,7H),1.51(d,J=6.6Hz,3H),1.46-1.41(m,2H),1.06(s,9H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₄H₇₀N₁₁O₇S,计算值1016.5175;实测值:1016.5154。

[0612] 方案33:实施例65的合成

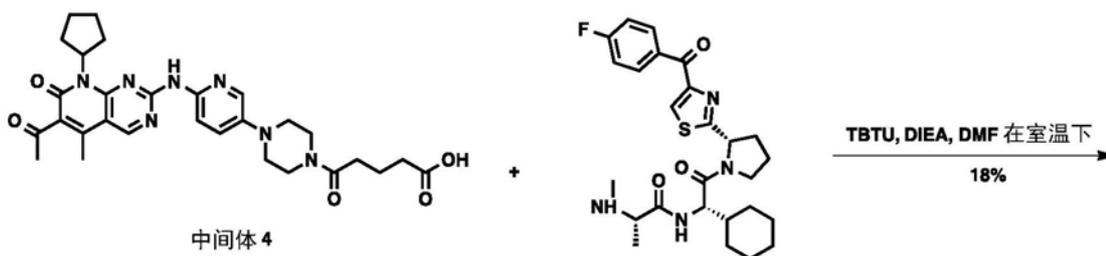


[0613]

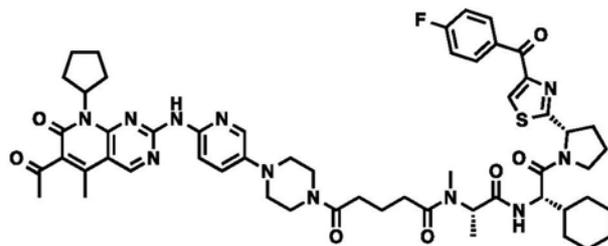


[0614] 2-((3R,5R,6S)-1-((S)-1-((4-(5-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-5-氧代戊酰基)哌嗪-1-基)磺酰基)-3,3-二甲基丁烷-2-基)-5-(3-氯苯基)-6-(4-氯苯基)-3-甲基-2-氧代哌啶-3-基)乙酸(实施例65)。使用与实施例15化合物相同的制备方法合成标题化合物(4mg,7%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.13(s,1H),8.24(dd,J=9.6,2.8Hz,1H),7.89(d,J=2.8Hz,1H),7.79(br,1H),7.57(d,J=9.6Hz,1H),7.47(br,1H),7.19(br,1H),7.16-7.07(m,3H),7.07(br,1H),7.02(d,J=7.4Hz,1H),6.08-5.98(m,1H),5.09(d,J=11.2Hz,1H),3.96(dd,J=13.6,11.5Hz,1H),3.87-3.67(m,8H),3.55(dd,J=11.4,2.2Hz,1H),3.43-3.36(m,9H),3.03(d,J=13.4Hz,1H),2.94(dd,J=13.6,2.2Hz,1H),2.66(d,J=13.5Hz,1H),2.56(dd,J=13.6,7.0Hz,4H),2.53(s,3H),2.46(s,3H),2.89-2.35(m,3H),2.16-2.08(m,3H),2.01-1.90(m,4H),1.72(dd,J=10.5,5.4Hz,2H),1.40(s,3H),0.73(s,9H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₉H₇₃Cl₂N₁₀O₉S,计算值1167.4654;实测值:1167.4653。

[0615] 方案34:实施例66的合成



[0616]

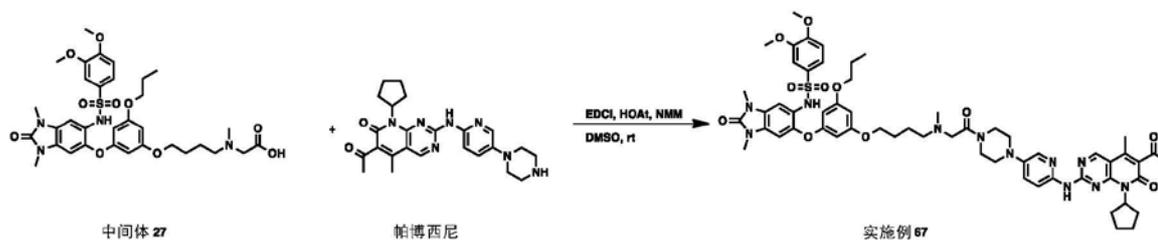


[0617] 5-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-

2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-环己基-2-((S)-2-(4-(4-氟苯甲酰基)噻唑-2-基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)-N-甲基-5-氧代戊酰胺(实施例66)。使用与实施例15化合物相同的制备方法合成标题化合物(9mg,18%)。主要的一个旋转异构体(4:3)¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.10(s,1H),8.41-8.15(m,3H),7.88(d,J=8.4Hz,1H),7.83(s,1H),7.56-7.50(m,1H),7.30-7.20(m,2H),6.08-6.00(m,1H),5.46(d,J=7.8Hz,1H),5.17-5.13(m,1H),4.58-4.52(m,1H),4.28-4.23(m,1H),3.85-3.69(m,5H),3.36-3.19(m,4H),2.88(s,3H),2.56-2.25(m,12H),2.21-2.06(m,4H),2.01-1.66(m,11H),1.35(d,J=7.1Hz,4H),1.34-0.84(m,7H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₅H₆₇FN₁₁O₇S,计算值1044.4924;实测值:1044.4940。

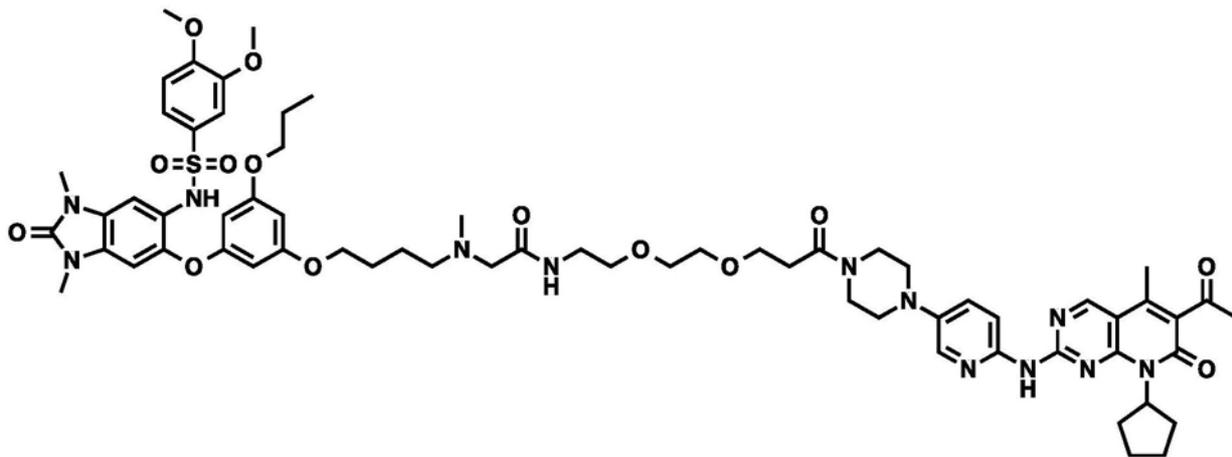
[0618] 方案35:实施例67的合成

[0619]



[0620] N-(6-(3-(4-((2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]噻唑-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)(甲基)氨基)丁氧基)-5-丙氧基苯氧基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-3,4-二甲氧基苯磺酰胺(实施例67)。在室温下向中间体27(10mg,0.01mmol)、HOAt(1-羟基-7-氮杂苯并三唑)(4.3mg,0.03mmol)、和中间体2(5mg,0.01mmol)在DMSO(1mL)中的溶液添加NMM(14μL,0.13mmol)和EDCI(6.05mg,0.03mmol)。在室温下搅拌过夜后,将混合物通过制备型HPLC(在H₂O中10%-100%甲醇/0.1%TFA)纯化以得到作为白色固体的实施例67(6mg,54%)。¹H NMR(600MHz,CD₃OD) δ9.07(s,1H),8.15(dd,J=10.0,2.7Hz,1H),7.83(s,1H),7.51(d,J=9.6Hz,1H),7.29(s,1H),7.18(dd,J=8.5,2.2Hz,1H),7.13(d,J=2.1Hz,1H),6.77(d,J=8.5Hz,1H),6.59(s,1H),6.14(s,1H),6.04-5.97(m,1H),5.72(t,J=2.1Hz,1H),5.61(t,J=2.1Hz,1H),4.52-4.25(m,2H),3.97-3.83(m,4H),3.82-3.78(m,3H),3.75(t,J=6.5Hz,2H),3.60(s,6H),3.39(s,5H),3.24(s,6H),2.99(s,3H),2.50(s,3H),2.43(s,3H),2.31(dt,J=15.7,8.4Hz,2H),2.09(dq,J=12.3,7.0Hz,2H),2.02-1.87(m,4H),1.83(p,J=6.8Hz,2H),1.76-1.65(m,4H),1.00(t,J=7.4Hz,3H)。HRMS(ESI-TOF)m/z:[M+H]⁺对于C₅₇H₇₀N₁₁O₁₁S⁺,计算值1116.4971;实测值,1116.4961。

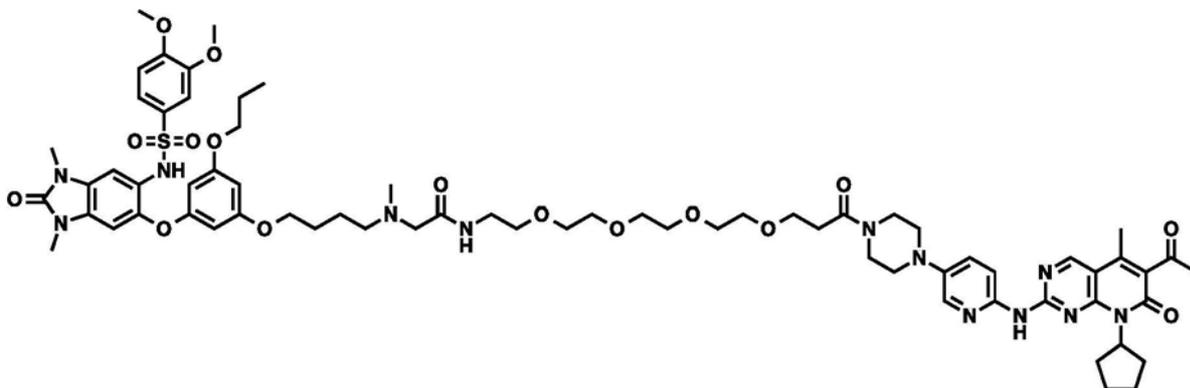
[0621]



[0622] 实施例68

[0623] N-(2-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺(实施例68)。使用与实施例67化合物相同的制备方法合成作为白色固体的标题化合物(7mg, 55%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.05 (s, 1H), 8.16 (dd, J=9.7, 2.9Hz, 1H), 7.84 (d, J=2.9Hz, 1H), 7.52 (d, J=9.5Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.17 (dd, J=8.5, 2.1Hz, 1H), 7.12 (d, J=2.1Hz, 1H), 6.78 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.60 (s, 1H), 6.14 (d, J=2.7Hz, 1H), 6.00 (p, J=8.9Hz, 1H), 5.73 (d, J=2.3Hz, 1H), 5.62 (d, J=2.4Hz, 1H), 3.96 (d, J=45.2Hz, 2H), 3.86 (t, J=5.9Hz, 2H), 3.82-3.71 (m, 14H), 3.59 (d, J=3.9Hz, 7H), 3.54 (t, J=5.3Hz, 2H), 3.45-3.37 (m, 5H), 3.28-3.22 (m, 6H), 2.95 (d, J=1.1Hz, 3H), 2.72 (t, J=6.2Hz, 2H), 2.50 (d, J=1.1Hz, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.31 (dt, J=15.2, 7.6Hz, 2H), 2.09 (s, 2H), 1.92 (dt, J=15.9, 8.2Hz, 4H), 1.82 (p, J=6.3Hz, 2H), 1.71 (dq, J=20.6, 6.3, 5.6Hz, 4H), 1.00 (dd, J=7.9, 6.8Hz, 3H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于 C₆₄H₈₃N₁₂O₁₄S⁺, 计算值1275.5867; 实测值, 1275.5887。

[0624]

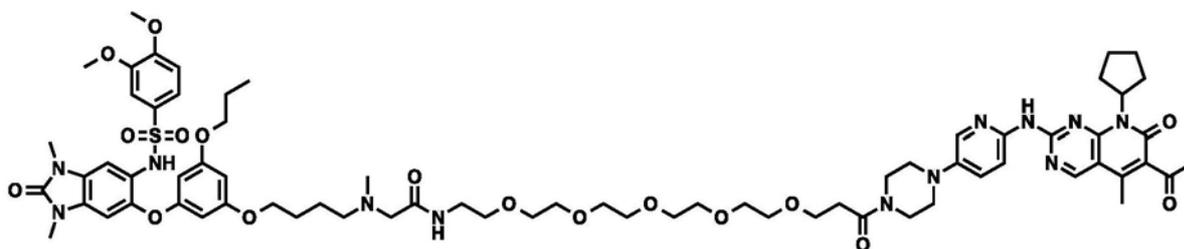


[0625] 实施例69

[0626] N-(15-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-15-氧代-3,6,9,12-四氧杂十五烷基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-

基) 氧基)-5-丙氧基苯氧基) 丁基) (甲基) 氨基) 乙酰胺(实施例69)。使用与实施例67化合物相同的制备方法合成作为白色固体的标题化合物(6mg, 44%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.06 (d, J=1.2Hz, 1H), 8.17 (dd, J=9.6, 3.0Hz, 1H), 7.85 (d, J=2.9Hz, 1H), 7.53 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.31 (d, J=1.2Hz, 1H), 7.18 (dd, J=8.5, 1.9Hz, 1H), 7.13 (d, J=2.0Hz, 1H), 6.78 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.60 (d, J=1.2Hz, 1H), 6.20-6.11 (m, 1H), 6.05-5.92 (m, 1H), 5.75 (d, J=2.3Hz, 1H), 5.63-5.41 (m, 1H), 3.97 (d, J=43.7Hz, 2H), 3.88-3.84 (m, 2H), 3.83-3.68 (m, 13H), 3.62-3.56 (m, 14H), 3.54 (t, J=5.3Hz, 2H), 3.45-3.38 (m, 5H), 3.35-3.19 (m, 8H), 2.95 (d, J=1.3Hz, 3H), 2.72 (t, J=6.2Hz, 2H), 2.50 (d, J=1.3Hz, 3H), 2.42 (d, J=1.2Hz, 3H), 2.30 (d, J=9.6Hz, 2H), 2.09 (s, 2H), 1.95-1.87 (m, 4H), 1.82 (q, J=7.1, 6.7Hz, 2H), 1.72 (dq, J=20.9, 7.2Hz, 4H), 1.01 (td, J=7.4, 1.2Hz, 3H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₆₈H₉₁N₁₂O₁₆S⁺, 计算值1363.6391; 实测值, 1363.6387。

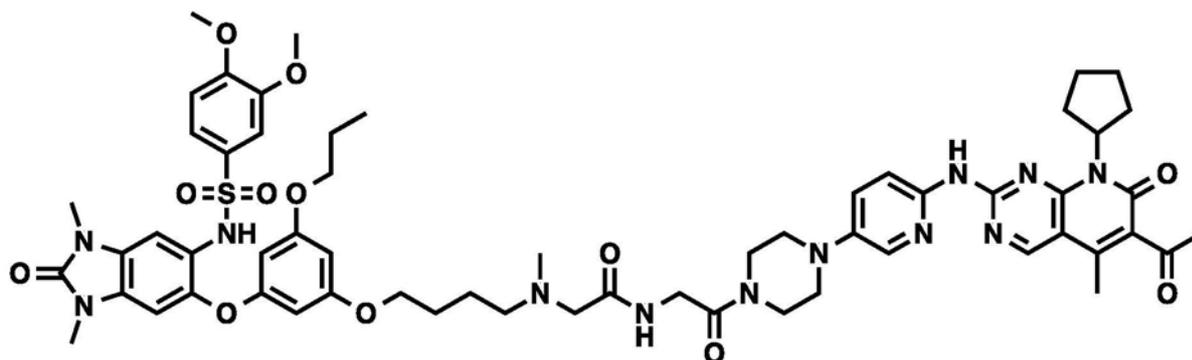
[0627]



[0628] 实施例70

[0629] N-(18-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-18-氧代-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺(实施例70)。使用与实施例67化合物相同的制备方法合成作为白色固体的标题化合物(9mg, 64%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.09-9.04 (m, 1H), 8.18 (dd, J=9.6, 2.9Hz, 1H), 7.86 (d, J=2.9Hz, 1H), 7.53 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.31 (d, J=0.9Hz, 1H), 7.18 (dd, J=8.4, 1.9Hz, 1H), 7.13 (d, J=2.2Hz, 1H), 6.78 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.60 (d, J=0.9Hz, 1H), 6.15 (d, J=2.3Hz, 1H), 6.00 (p, J=8.9Hz, 1H), 5.75 (d, J=2.3Hz, 1H), 5.61 (d, J=2.5Hz, 1H), 3.97 (d, J=42.8Hz, 2H), 3.86 (t, J=5.9Hz, 2H), 3.83-3.73 (m, 13H), 3.63-3.56 (m, 18H), 3.54 (t, J=5.3Hz, 2H), 3.48-3.38 (m, 5H), 3.36-3.21 (m, 8H), 2.95 (d, J=1.0Hz, 3H), 2.72 (t, J=6.2Hz, 2H), 2.50 (d, J=1.0Hz, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.31 (dd, J=12.5, 7.3Hz, 2H), 2.09 (s, 2H), 1.96-1.88 (m, 4H), 1.82 (q, J=7.2, 6.6Hz, 2H), 1.72 (dq, J=25.3, 6.3, 5.6Hz, 4H), 1.07-0.88 (m, 3H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₇₀H₉₄N₁₂O₁₇S⁺, 计算值1407.6653; 实测值, 1407.6628。

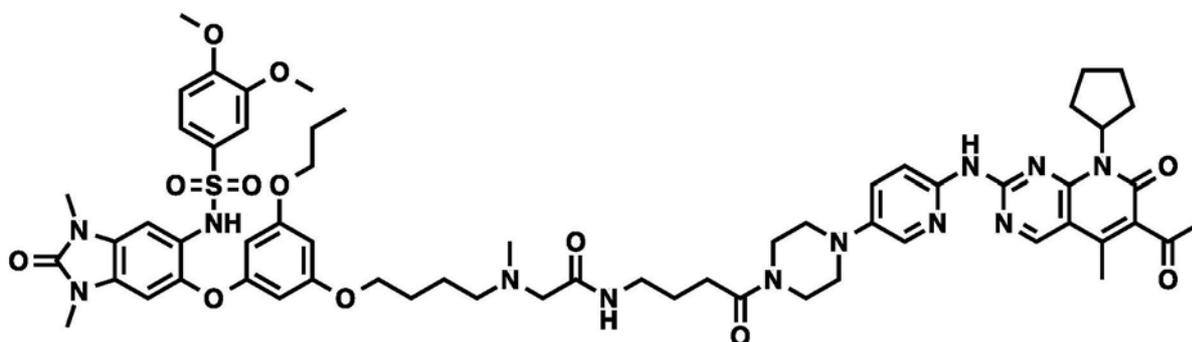
[0630]



[0631] 实施例71

[0632] N-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺(实施例71)。使用与实施例67化合物相同的制备方法合成作为白色固体的标题化合物(7mg, 60%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.08 (s, 1H), 8.13 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.54 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.32 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.18 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.13 (d, J=1.9Hz, 1H), 6.78 (dd, J=8.6, 1.6Hz, 1H), 6.62 (d, J=1.6Hz, 1H), 6.14 (d, J=2.0Hz, 1H), 6.01 (t, J=8.8Hz, 1H), 5.73 (d, J=2.1Hz, 1H), 5.64 (d, J=2.1Hz, 1H), 4.23 (d, J=37.0Hz, 2H), 4.08 (d, J=31.5Hz, 2H), 3.87 (t, J=5.9Hz, 2H), 3.82-3.68 (m, 10H), 3.60 (d, J=1.6Hz, 3H), 3.41 (d, J=1.6Hz, 3H), 3.25 (d, J=1.6Hz, 8H), 2.98 (d, J=1.6Hz, 3H), 2.50 (d, J=1.6Hz, 3H), 2.43 (d, J=1.7Hz, 3H), 2.31 (d, J=9.0Hz, 2H), 2.09 (s, 2H), 1.93 (dd, J=16.5, 9.0Hz, 4H), 1.83 (d, J=7.2Hz, 2H), 1.73 (dt, J=19.8, 9.9Hz, 4H), 1.00 (td, J=7.4, 1.7Hz, 3H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₉H₇₃N₁₂O₁₂S⁺, 计算值1173.5186; 实测值, 1173.5195。

[0633]

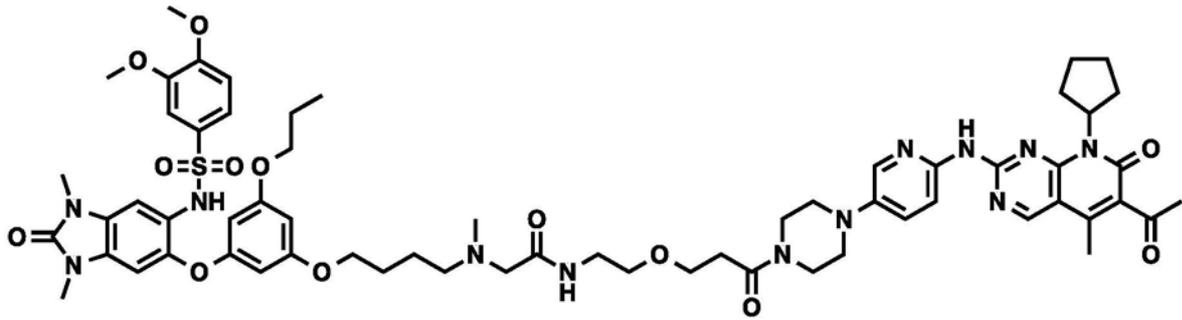


[0634] 实施例72

[0635] N-(4-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺(实施例72)。使用与实施例67化合物相同的制备方法合成作为白色固体的标题化合物(7mg, 58%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.07 (s, 1H), 8.14 (dd, J=9.5, 2.9Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.54 (d, J=9.5Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.18 (d, J=8.5Hz, 1H),

7.13 (d, J=2.2Hz, 1H), 6.78 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.14 (d, J=2.5Hz, 1H), 6.00 (p, J=8.9Hz, 1H), 5.74 (s, 1H), 5.62 (d, J=2.5Hz, 1H), 3.98 (d, J=50.2Hz, 2H), 3.86 (t, J=5.9Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.78-3.66 (m, 7H), 3.61 (s, 3H), 3.41 (d, J=1.1Hz, 3H), 3.31-3.18 (m, 10H), 2.95 (s, 3H), 2.52-2.46 (m, 5H), 2.42 (s, 3H), 2.31 (q, J=9.1, 7.5Hz, 2H), 2.09 (s, 2H), 1.94-1.88 (m, 4H), 1.83 (dt, J=14.3, 7.4Hz, 4H), 1.76-1.66 (m, 4H), 1.00 (t, J=7.4Hz, 3H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₆₁H₇₇N₁₂O₁₂S⁺, 计算值1201.5499; 实测值, 1201.5489。

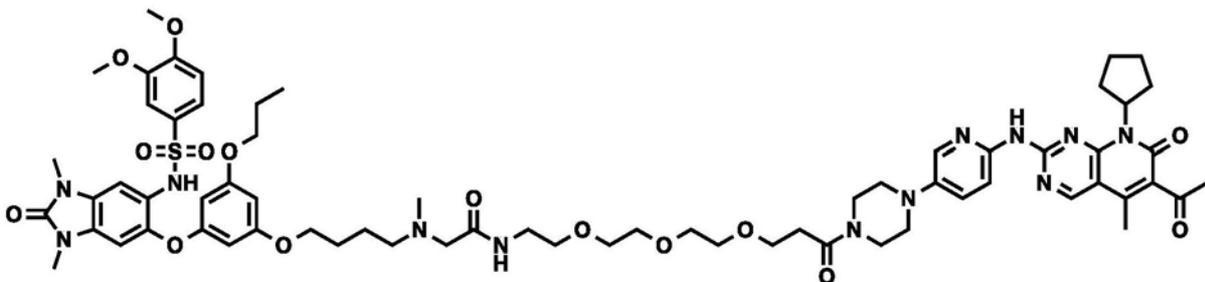
[0636]



[0637] 实施例73

[0638] N-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺(实施例73)。使用与实施例67化合物相同的制备方法合成作为白色固体的标题化合物(8mg, 65%)。¹HNMR (600MHz, CD₃OD) δ9.05 (s, 1H), 8.10 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.56 (d, J=9.4Hz, 1H), 7.34-7.26 (m, 1H), 7.18 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.13 (d, J=1.7Hz, 1H), 6.84-6.72 (m, 1H), 6.67-6.50 (m, 1H), 6.14 (s, 1H), 6.00 (p, J=8.9Hz, 1H), 5.74 (s, 1H), 5.63 (s, 1H), 3.99 (s, 2H), 3.86 (t, J=5.8Hz, 2H), 3.83-3.72 (m, 15H), 3.60 (d, J=1.1Hz, 3H), 3.56 (t, J=5.4Hz, 2H), 3.40 (d, J=1.1Hz, 4H), 3.26-3.22 (m, 5H), 2.96 (d, J=1.2Hz, 3H), 2.70 (t, J=5.9Hz, 2H), 2.50 (d, J=1.2Hz, 3H), 2.42 (d, J=1.2Hz, 3H), 2.31 (dd, J=12.5, 7.3Hz, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.93 (dt, J=16.9, 8.3Hz, 4H), 1.86-1.79 (m, 2H), 1.72 (dt, J=19.2, 9.6Hz, 4H), 1.00 (td, J=7.5, 1.2Hz, 3H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₆₂H₇₉N₁₂O₁₃S⁺, 计算值1231.5605; 实测值, 1231.5621。

[0639]

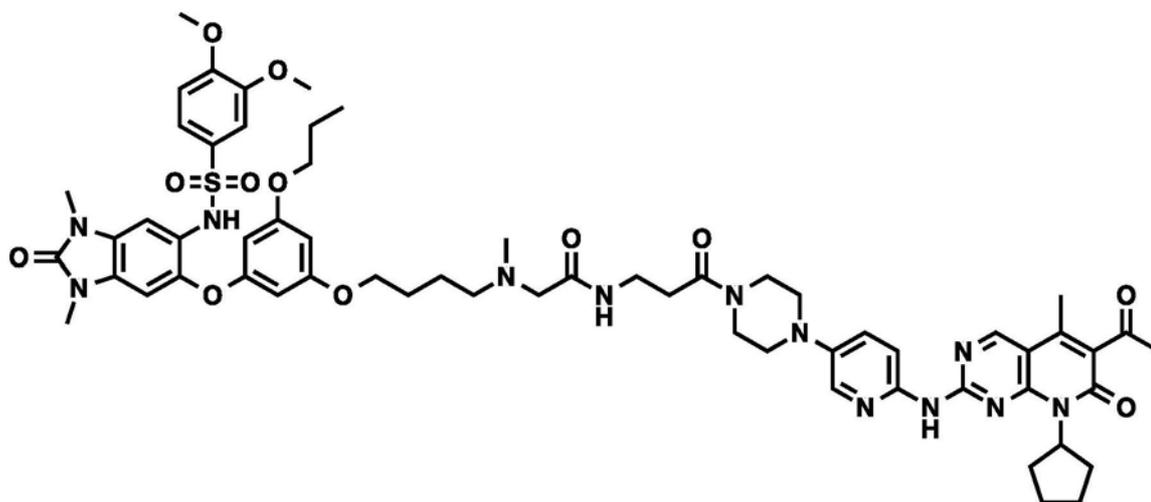


[0640] 实施例74

[0641] N-(2-(2-(2-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-

2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺(实施例74)。使用与实施例67化合物相同的制备方法合成作为白色固体的标题化合物(8mg, 61%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.06 (s, 1H), 8.16 (dd, J=9.6, 2.9Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.53 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.18 (dd, J=8.5, 2.1Hz, 1H), 7.12 (d, J=2.1Hz, 1H), 6.78 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.60 (s, 1H), 6.14 (d, J=2.6Hz, 1H), 6.00 (p, J=9.0Hz, 1H), 5.74 (d, J=2.4Hz, 1H), 5.61 (d, J=2.5Hz, 1H), 3.98 (d, J=36.9Hz, 2H), 3.85 (t, J=5.9Hz, 2H), 3.82-3.70 (m, 13H), 3.63-3.52 (m, 15H), 3.45-3.36 (m, 5H), 3.29-3.19 (m, 5H), 2.95 (d, J=1.1Hz, 3H), 2.72 (t, J=6.2Hz, 2H), 2.50 (d, J=1.2Hz, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.30 (d, J=9.4Hz, 2H), 2.09 (s, 2H), 1.92 (q, J=8.3, 7.9Hz, 4H), 1.81 (p, J=6.3Hz, 2H), 1.71 (ddd, J=23.2, 12.4, 6.2Hz, 4H), 1.00 (t, J=7.4Hz, 3H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₆₆H₈₇N₁₂O₁₅S⁺, 计算值1319.6129; 实测值, 1319.6132。

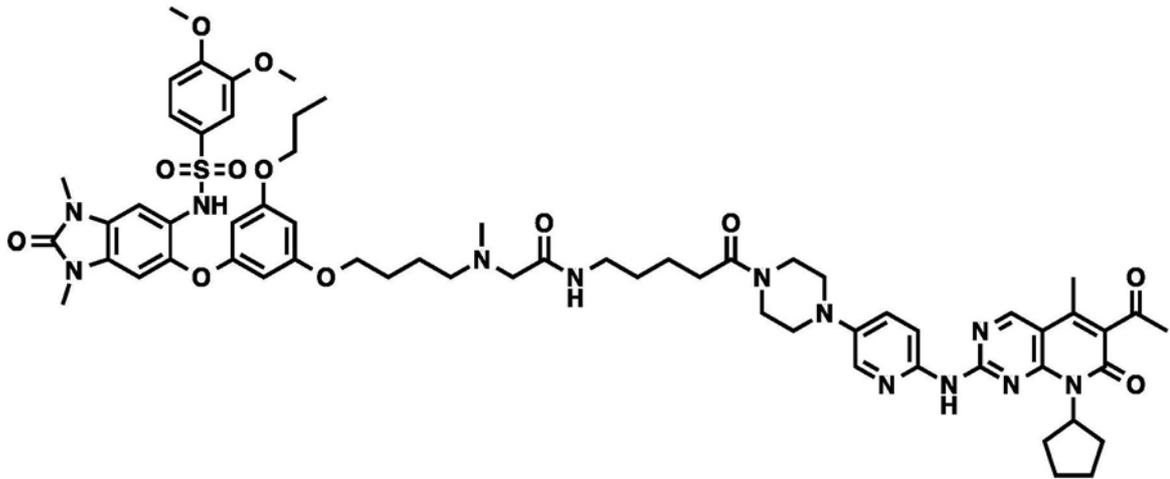
[0642]



[0643] 实施例75

[0644] N-(3-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺(实施例75)。使用与实施例67化合物相同的制备方法合成作为白色固体的标题化合物(9mg, 76%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.07 (s, 1H), 8.15 (dd, J=9.6, 2.9Hz, 1H), 7.82 (d, J=2.9Hz, 1H), 7.52 (d, J=9.5Hz, 1H), 7.30 (d, J=1.2Hz, 1H), 7.17 (dd, J=8.4, 2.0Hz, 1H), 7.12 (d, J=2.2Hz, 1H), 6.77 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.60 (d, J=1.2Hz, 1H), 6.14 (t, J=1.9Hz, 1H), 6.01 (p, J=8.9Hz, 1H), 5.74 (t, J=1.9Hz, 1H), 5.61 (t, J=1.9Hz, 1H), 3.96 (d, J=48.7Hz, 2H), 3.86 (t, J=5.9Hz, 2H), 3.80 (d, J=1.3Hz, 3H), 3.76 (t, J=6.6Hz, 6H), 3.69 (t, J=5.2Hz, 2H), 3.60 (d, J=1.2Hz, 5H), 3.40 (d, J=1.3Hz, 3H), 3.30-3.21 (m, 7H), 2.95 (d, J=1.2Hz, 3H), 2.68 (t, J=6.4Hz, 2H), 2.51 (d, J=1.2Hz, 3H), 2.43 (d, J=1.2Hz, 3H), 2.37-2.27 (m, 2H), 2.10 (s, 2H), 1.91 (q, J=8.1Hz, 4H), 1.86-1.79 (m, 2H), 1.72 (dq, J=14.0, 7.1Hz, 4H), 1.00 (td, J=7.4, 1.2Hz, 3H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₇H₇₀N₁₁O₁₁S⁺, 计算值1187.5343; 实测值, 1187.5355。

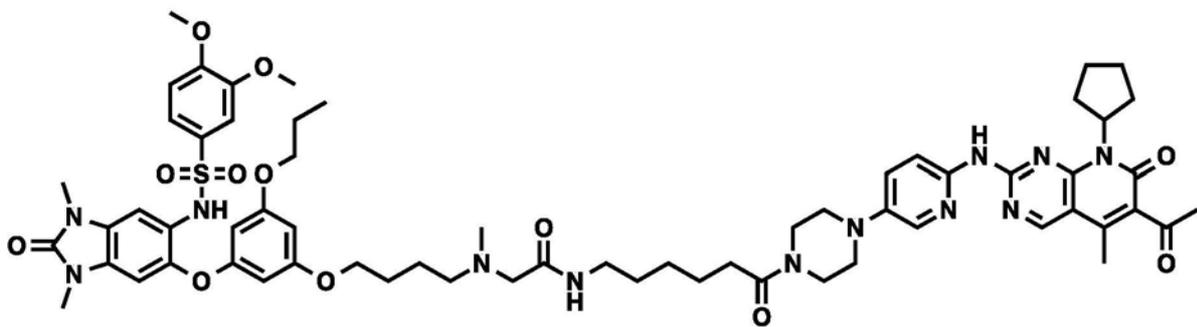
[0645]



[0646] 实施例76

[0647] N-(5-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-5-氧代戊基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺(实施例76)。使用与实施例67化合物相同的制备方法合成作为白色固体的标题化合物(5mg, 41%)。¹H NMR(600MHz, CD₃OD) δ9.08(d, J=1.2Hz, 1H), 8.17(dd, J=9.6, 2.9Hz, 1H), 7.83(d, J=2.9Hz, 1H), 7.52(d, J=9.5Hz, 1H), 7.31(d, J=1.2Hz, 1H), 7.18(dd, J=8.5, 2.0Hz, 1H), 7.13(d, J=2.0Hz, 1H), 6.78(dd, J=8.5, 1.2Hz, 1H), 6.61(d, J=1.1Hz, 1H), 6.14(t, J=2.0Hz, 1H), 6.01(p, J=8.9Hz, 1H), 5.73(t, J=2.0Hz, 1H), 5.62(t, J=2.0Hz, 1H), 4.07-3.93(m, 2H), 3.86(t, J=5.9Hz, 2H), 3.80(d, J=1.2Hz, 3H), 3.79-3.68(m, 10H), 3.60(d, J=1.2Hz, 3H), 3.40(d, J=1.2Hz, 3H), 3.34-3.23(m, 7H), 2.95(d, J=1.3Hz, 3H), 2.50(d, J=1.3Hz, 3H), 2.48-2.38(m, 5H), 2.31(q, J=9.0, 7.5Hz, 2H), 2.10(s, 2H), 1.92(dt, J=15.5, 7.9Hz, 4H), 1.82(p, J=6.3Hz, 2H), 1.72(dq, J=20.1, 6.3, 5.5Hz, 4H), 1.61(dq, J=28.9, 7.8Hz, 4H), 1.00(td, J=7.5, 1.3Hz, 3H)。HRMS(ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₆₂H₇₉N₁₂O₁₂S⁺, 计算值1215.5656; 实测值, 1215.5637。

[0648]

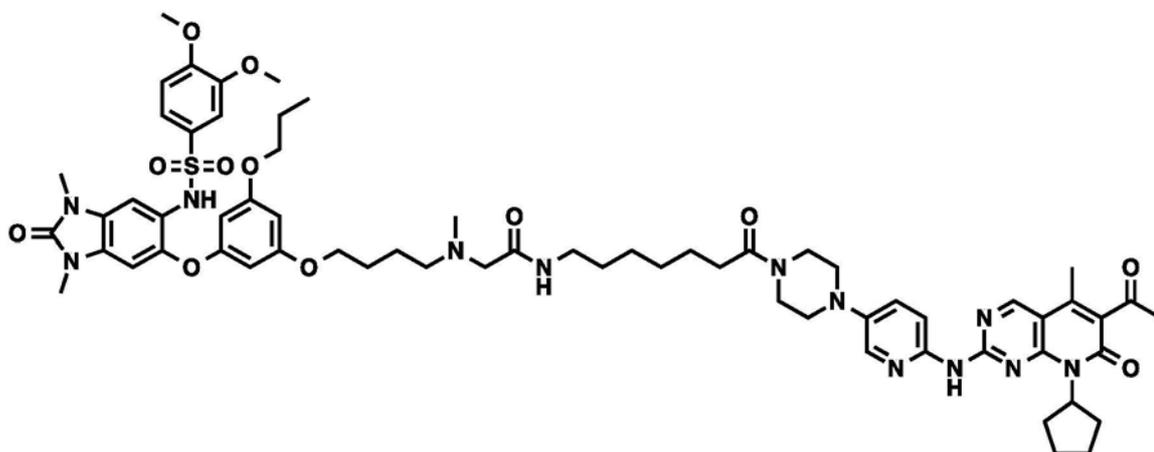


[0649] 实施例77

[0650] N-(6-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-6-氧代己基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯

氧基)丁基)(甲基氨基)乙酰胺(实施例77)。使用与实施例67化合物相同的制备方法合成作为白色固体的标题化合物(6mg, 41%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.07 (s, 1H), 8.16 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.53 (d, J=9.5Hz, 1H), 7.31 (d, J=1.2Hz, 1H), 7.18 (dd, J=8.5, 1.9Hz, 1H), 7.13 (d, J=2.1Hz, 1H), 6.78 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.61 (d, J=1.2Hz, 1H), 6.14 (t, J=1.9Hz, 1H), 6.05-5.93 (m, 1H), 5.74 (t, J=1.9Hz, 1H), 5.62 (t, J=1.9Hz, 1H), 3.96 (d, J=46.5Hz, 2H), 3.86 (t, J=5.9Hz, 2H), 3.81 (d, J=1.3Hz, 3H), 3.79-3.69 (m, 10H), 3.60 (d, J=1.3Hz, 3H), 3.41 (d, J=1.3Hz, 3H), 3.25 (d, J=1.3Hz, 7H), 2.95 (d, J=1.3Hz, 3H), 2.50 (d, J=1.3Hz, 3H), 2.43 (d, J=6.8Hz, 5H), 2.31 (q, J=9.0, 7.5Hz, 2H), 2.09 (s, 2H), 1.92 (dt, J=15.7, 8.0Hz, 4H), 1.82 (q, J=7.1, 6.6Hz, 2H), 1.73 (ddt, J=16.9, 10.7, 6.1Hz, 4H), 1.59 (dp, J=38.0, 7.4Hz, 4H), 1.38 (p, J=7.8Hz, 2H), 1.01 (td, J=7.4, 1.3Hz, 3H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₆₃H₈₀N₁₂O₁₂S⁺, 计算值1229.5812; 实测值, 1229.5802。

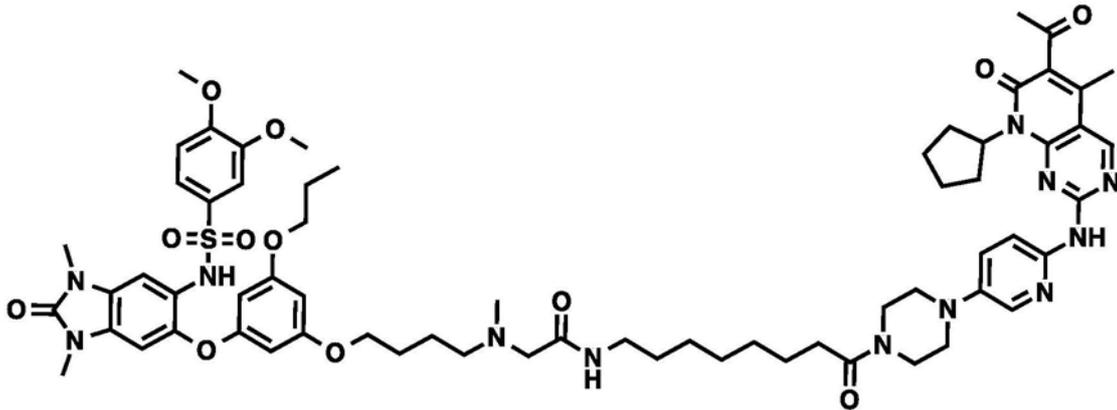
[0651]



[0652] 实施例78

[0653] N-(7-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基氨基)乙酰胺(实施例78)。使用与实施例67化合物相同的制备方法合成作为白色固体的标题化合物(8mg, 64%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ9.08 (s, 1H), 8.18 (d, J=9.5Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.53 (d, J=9.5Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.22-7.16 (m, 1H), 7.13 (d, J=2.1Hz, 1H), 6.78 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.14 (t, J=1.9Hz, 1H), 6.00 (p, J=8.9Hz, 1H), 5.74 (t, J=1.9Hz, 1H), 5.61 (d, J=1.8Hz, 1H), 3.96 (d, J=44.8Hz, 2H), 3.85 (t, J=5.8Hz, 2H), 3.82-3.67 (m, 13H), 3.60 (d, J=1.3Hz, 3H), 3.41 (d, J=1.2Hz, 3H), 3.26 (dd, J=10.4, 3.4Hz, 7H), 2.94 (d, J=1.3Hz, 3H), 2.50 (d, J=1.3Hz, 3H), 2.43 (d, J=5.7Hz, 5H), 2.36-2.29 (m, 2H), 2.09 (s, 2H), 1.92 (p, J=7.6Hz, 4H), 1.81 (p, J=6.4Hz, 2H), 1.72 (dq, J=19.2, 6.7Hz, 4H), 1.59 (d, J=6.9Hz, 2H), 1.53 (t, J=6.9Hz, 2H), 1.36 (s, 4H), 1.03-0.89 (m, 3H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₆₄H₈₃N₁₂O₁₂S⁺, 计算值1243.5969; 实测值, 1243.5967。

[0654]

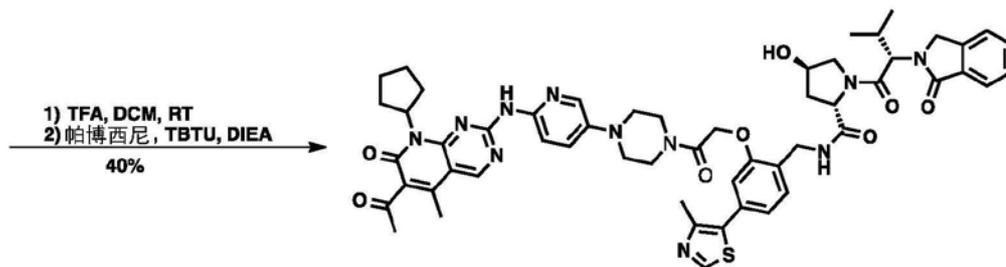
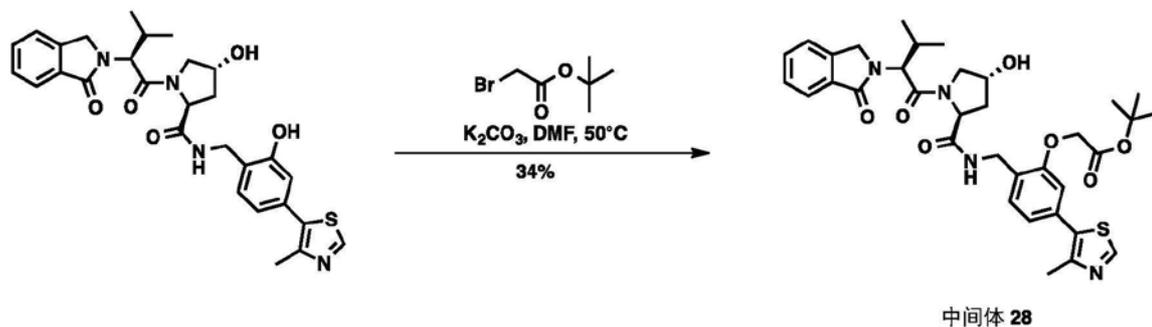


[0655] 实施例79

[0656] N-(8-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛基)-2-((4-(3-((6-((3,4-二甲氧基苯基)磺酰氨基)-1,3-二甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)氧基)-5-丙氧基苯氧基)丁基)(甲基)氨基)乙酰胺(实施例79)。使用与实施例67化合物相同的制备方法合成作为白色固体的标题化合物(8mg, 64%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 9.08 (s, 1H), 8.19 (dd, J=9.6, 2.9Hz, 1H), 7.85 (d, J=2.9Hz, 1H), 7.52 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.18 (dd, J=8.4, 2.1Hz, 1H), 7.14 (d, J=2.1Hz, 1H), 6.78 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.14 (d, J=2.4Hz, 1H), 6.01 (p, J=8.9Hz, 1H), 5.75 (d, J=2.4Hz, 1H), 5.60 (d, J=2.4Hz, 1H), 3.96 (d, J=48.0Hz, 2H), 3.85 (t, J=5.9Hz, 2H), 3.83-3.69 (m, 13H), 3.61 (d, J=1.0Hz, 3H), 3.41 (d, J=1.0Hz, 3H), 3.28-3.21 (m, 7H), 2.94 (d, J=1.1Hz, 3H), 2.50 (d, J=1.0Hz, 3H), 2.43 (q, J=3.4Hz, 5H), 2.31 (dd, J=12.5, 7.5Hz, 2H), 2.10 (s, 2H), 1.96-1.87 (m, 4H), 1.82 (q, J=7.1, 6.6Hz, 2H), 1.78-1.66 (m, 4H), 1.59 (d, J=7.4Hz, 2H), 1.56-1.48 (m, 2H), 1.34 (s, 6H), 1.03-0.90 (m, 3H)。HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₆₅H₈₅N₁₂O₁₂S⁺, 计算值1257.6125; 实测值, 1257.6103。

[0657] 方案36: 实施例126的合成

[0658]



[0659] 2-(2-(((2S,4R)-4-羟基-1-((S)-3-甲基-2-(1-氧代异吲哚啉-2-基)丁酰基)吡咯烷-2-甲酰氨基)甲基)-5-(4-甲基噻唑-5-基)苯氧基)乙酸叔丁酯(中间体28)。向(2S,4R)-4-羟基-N-(2-羟基-4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)-1-((S)-3-甲基-2-(1-氧代异吲哚啉-2-基)丁酰基)吡咯烷-2-甲酰胺(124mg,0.23mmol)在DMF(2mL)中的溶液添加 K_2CO_3 (130mg,0.94mmol)和2-溴乙酸叔丁酯(0.037mL,0.25mmol)。将混合物在50℃下搅拌18小时。冷却至室温后,将混合物过滤以除去不溶解的物质。将滤液在减压下浓缩。将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为棕色油状物的标题化合物(52mg,34%)。 1H NMR(600MHz, CD_3OD) δ 9.10(s,1H),7.80(d, $J=7.8$ Hz,1H),7.67-7.57(m,2H),7.56-7.47(m,2H),7.11(d, $J=7.9$ Hz,1H),6.98(s,1H),4.88-4.85(m,1H),4.78(s,2H),4.68-4.46(m,6H),3.99(d, $J=11.2$ Hz,1H),3.91(d, $J=11.1$ Hz,1H),2.53(s,3H),2.50-2.40(m,1H),2.27-2.18(m,1H),2.15-2.05(m,1H),1.50(s,9H),1.04(d, $J=6.6$ Hz,3H),0.84(d, $J=6.6$ Hz,3H)。

[0660] (2S,4R)-N-(2-(2-(4-(6-((6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-7-氧代-7,8-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-2-基)氨基)吡啶-3-基)哌嗪-1-基)-2-氧代乙氧基)-4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)-4-羟基-1-((S)-3-甲基-2-(1-氧代异吲哚啉-2-基)丁酰基)吡咯烷-2-甲酰胺(实施例126)。将中间体28(52mg,0.078mmol)溶解于DCM/TFA(2:1,3mL)中。将溶液在室温下搅拌3小时,然后浓缩。将残余物溶解于DCM/DMF(3:1,2mL)中。向所得溶液添加帕博西尼(33mg,0.074mmol)、TBTU(25mg,0.076mmol)、和DIEA(0.04mL,0.24mmol)。将反应混合物在室温下搅拌18小时。浓缩后,将所得残余物通过制备型HPLC纯化以得到作为黄色固体的标题化合物(32mg,40%)。 1H NMR(600MHz,甲醇- d_4) δ 9.07(s,1H),8.96(s,1H),8.18(dd, $J=9.7,2.9$ Hz,1H),7.89(d, $J=2.9$ Hz,1H),7.74(d, $J=7.6$ Hz,1H),7.58(t, $J=7.5$ Hz,1H),7.55(d, $J=9.6$ Hz,1H),7.51(d, $J=7.7$ Hz,1H),7.48-7.44(m,2H),7.12-7.07(m,2H),5.99(p, $J=8.9$ Hz,1H),5.14-5.00(m,2H),4.88(d, $J=11.2$ Hz,1H),4.62-4.41(m,6H),4.02(d, J

=11.1Hz, 1H), 3.96 (dd, J=11.1, 3.9Hz, 1H), 3.91-3.83 (m, 4H), 3.39-3.30 (m, 4H), 2.53 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.43-2.38 (m, 1H), 2.37-2.23 (m, 3H), 2.16-2.05 (m, 3H), 1.98-1.85 (m, 2H), 1.76-1.66 (m, 2H), 1.03 (d, J=6.5Hz, 3H), 0.83 (d, J=6.6Hz, 3H). HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]⁺对于C₅₅H₆₂N₁₁O₈S⁺, 计算值1036.4498; 实测值, 1036.4508。

[0661] 材料和方法:

[0662] 一般化学方法

[0663] 使用具有DAD检测器的Agilent 1200系列系统获得所有化合物的HPLC谱。在2.1×150mm Zorbax 300SB-C18 5μm柱上进行色谱法, 其中包含0.1%甲酸的水作为溶剂A和包含0.1%甲酸的乙腈作为溶剂B, 流速为0.4ml/min。梯度程序如下: 1%B (0-1min), 1-99%B (1-4min), 和99%B (4-8min)。使用具有电喷雾电离 (ESI) 源的Agilent G1969A API-TOF以正离子模式获得高分辨率质谱 (HRMS) 数据。在Bruker DRX-600谱仪上获得核磁共振 (NMR) 谱, 其中对于质子 (¹H NMR) 为600MHz和对于碳 (¹³C NMR) 为150MHz; 化学位移以 (δ) 报告。在具有设定为254nm的UV检测器的Agilent Prep 1200系列上进行制备型HPLC。在室温下将样品注射至Phenomenex Luna 75x30mm, 5μm, C18柱上。流速为40ml/min。在H₂O (具有0.1% TFA) (B) 中的10% (或50%) 的MeOH (A) 至100%的MeOH (A) 的情况下使用线性梯度。HPLC用于确定目标化合物的纯度。使用上述HPLC方法, 所有最终化合物的纯度>95%。

[0664] 细胞培养

[0665] 在青霉素和链霉素的存在下, 在补充有10% FBS的DMEM或RPMI的存在下培养乳腺癌细胞系 (MCF7、T47D、和ZR-75-1) 和黑色素瘤细胞系 (A375、SK-MEL-2、SK-MEL-30、和WM1382)。

[0666] 细胞活力测定

[0667] 在不同化合物的存在下将细胞培养7-11天。每两天补充具有化合物的培养基。在实验结束时, 吸出培养基并且用0.5% 结晶紫染料使活细胞染色。

[0668] BrdU细胞增殖测定

[0669] 根据制造商的说明, 使用BrdU细胞增殖试剂盒 (Millipore) 测量BrdU掺入。简而言之, 将ER+或黑色素瘤细胞以1×10⁵个细胞/ml接种在96孔板中。第二天, 用不同浓度的玻璃西尼或帕博西尼将培养的细胞处理12小时, 然后用BrdU标记溶液温育4小时。用分光光度计酶标仪在450/550nm的双波长下测量BrdU吸光度。测量的吸光度反映了细胞增殖的程度。各组培养一式三份。

[0670] 定量实时PCR分析

[0671] 用CDK4/6i将细胞处理24小时, 并且使用RNeasy Mini试剂盒 (Qiagen) 提取总RNA。用SuperScript III第一链合成系统 (Thermo Fisher) 合成互补DNA (cDNA)。使用具有ABI-7500快速实时PCR系统的Fast SYBR Green Master Mix进行定量实时PCR。使用管家基因 (housekeeping gene) GAPDH对样品进行标准化。使用ΔΔCT方法计算表达差异。

[0672] 以下引物序列用于PCR分析:

[0673] GAPDH:

[0674] F: 5' -ACAACCTTGGTATCGTGAAGG-3' (SEQ ID NO:1);

[0675] R: 5' -GCCATCACGCCACAGTTTC-3' (SEQ ID NO:2)

[0676] CDK4:

[0677] F:5' -CTGGTGTGGAGCATGTAGACC-3' (SEQ ID NO:3);

[0678] R:5' -GATCCTTGATCGTTTCGGCTG-3' (SEQ ID NO:4)

[0679] CDK6:

[0680] F:5' -TCTTCATTACACCGAGTAGTGC-3' (SEQ ID NO:5);

[0681] R:5' -TGAGGTTAGAGCCATCTGGAAA-3' (SEQ ID NO:6)

[0682] CCNA2:

[0683] F:5' -CGCTGGCGGTACTGAAGTC-3' (SEQ ID NO:7);

[0684] R:5' -GAGGAACGGTGACATGCTCAT-3' (SEQ ID NO:8)

[0685] PLK1:

[0686] F:5' -CACCAGCACGTCGTAGGATTC-3' (SEQ ID NO:9);

[0687] R:5' -CCGTAGGTAGTATCGGGCCTC-3' (SEQ ID NO:10)

[0688] 蛋白质印迹测定

[0689] 通过BCA从细胞裂解物中确定蛋白质浓度,并且将等量的蛋白质装载至Bis-Tris 4-12%凝胶。使用1X运行缓冲液 (25mM Tris, pH 8.3, 1.92M甘氨酸, 0.1% SDS) 在80V下将凝胶运行4小时。使用转移缓冲液 (25mM Tris, pH 8.3, 1.92M甘氨酸, 20% 甲醇) 在100V下将蛋白质转移至硝酸纤维素膜2小时。使用Ponceau S染色 (0.1% Ponceau S, 1% 乙酸) 以确认蛋白质转移至膜, 然后使用封闭缓冲液 (在TBS中5% 干燥脱脂乳, 0.1% 吐温, 0.02% 叠氮化钠) 在室温下将膜封闭30分钟。将封闭的膜与一抗 (1:1000稀释) 在封闭缓冲液中在4°C下温育过夜。当使用磷酸化一抗 (primary phosphor-antibodies) 时, 接着将膜与5% BSA而不是脱脂乳一起温育。将膜用洗涤缓冲液 (在TBS中0.1% 吐温) 洗涤三次, 每次10分钟, 然后在TBS中的2.5% 干燥脱脂乳、0.1% 吐温中与HRP缀合的二抗 (1:5000稀释) 在室温下温育1小时。将膜用洗涤缓冲液 (在TBS中0.1% 吐温) 洗涤三次, 每次10分钟。将膜与ECL温育1分钟, 并且在暴露于蓝色放射自显影胶片后检测蛋白质。

[0690] 实施例5. CDK4/6抑制剂在高浓度下不能抑制CDK4/6活性

[0691] 用0、0.1、0.3、1、3、10、或30 μ M的帕博西尼 (PB) 或玻玛西尼 (AB) 将MCF7、T47D或ZR-75-1乳腺癌细胞处理24小时, 然后裂解并且用针对磷酸化-Rb、PLK1、细胞周期蛋白A、以及总Rb和肌动蛋白 (作为对照) 的抗体进行免疫印迹 (图1, 子图 (panel) A和B)。类似地, 用0、0.1、0.3、1、3、10、或30 μ M的帕博西尼 (PB)、玻玛西尼 (AB)、或219476将SK-MEL-2、SK-MEL-30、或MCF7黑色素瘤细胞处理24小时, 然后裂解并且用针对磷酸化-Rb、PLK1、细胞周期蛋白A、以及总Rb和肌动蛋白 (作为对照) 的抗体进行免疫印迹 (图1, 子图C、D、和E)。结果表明, 所试验的所有三种CDK4/6抑制剂仅具有窄的活性窗口。正如预期的那样, 当以低浓度施用, 它们不能抑制乳腺癌或黑色素瘤细胞中的CDK4/6活性 (通过Rb磷酸化 (pRb水平) 证明); 令人惊讶的是, 当以高浓度 (例如, 浓度 \geq 约10 μ M) 施用, 它们也不能抑制CDK4/6活性。

[0692] 实施例6. CDK4/6抑制剂增加PLK1和细胞周期蛋白A mRNA的表达

[0693] 用0、1、7.5、15、或30 μ M的帕博西尼或玻玛西尼将MCF7、T47D、或ZR-75-1乳腺癌细胞或者SK-MEL-2或SK-MEL-30黑色素瘤细胞处理24小时, 然后裂解并且进行Rb/E2F下游靶标PLK1和细胞周期蛋白A (CCNA2) 表达的PCR分析。帕博西尼和玻玛西尼均未抑制PLK1或细胞周期蛋白A在mRNA水平上的表达; 实际上, 在增加的抑制剂浓度与增加的基因表达之间存在正相关 (图2和图3)。该数据表明CDK4/6抑制剂当以高浓度施用不能抑制CDK4/6活性的

机理解释。

[0694] 实施例7. CDK4/6抑制剂在高浓度下不太有效地抑制细胞增殖

[0695] 用0、0.3、1、3、10、20、或30 μ M的帕博西尼或玻玛西尼将MCF7、T47D、或ZR-75-1乳腺癌细胞或者SK-MEL-2或SK-MEL-30黑色素瘤细胞处理16小时；使用BrdU掺入测定确定通过S期的细胞周期进程。与实施例5和6(上文)中的结果一致，结果表明在增加的抑制剂浓度与细胞周期进程的抑制之间存在负相关(图4)。

[0696] 实施例8. CDK4/6抑制剂增加CDK4/6的表达

[0697] 用0、0.1、0.3、1、3、10、或30 μ M的帕博西尼或玻玛西尼将MCF7、T47D或ZR-75-1乳腺癌细胞或SK-MEL-2黑色素瘤细胞处理24小时，然后裂解并且用针对CDK4、CDK6、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹。结果表明，尽管CDK4/6抑制剂的抑制CDK4和CDK6活性的能力，但是抑制剂实际上使CDK4和CDK6二者的表达上调，其中在增加的抑制剂浓度与增加的CDK4/6表达之间存在正相关(图5，子图A-C)。该数据表明CDK4/6抑制剂浓度与PLK1和细胞周期蛋白A mRNA的增加的表达之间的正相关的机理解释。

[0698] 用0、1、7.5、15、或30 μ M的帕博西尼或玻玛西尼将MCF7、T47D、或ZR-75-1乳腺癌细胞处理24小时，然后裂解并且进行CDK4的表达的PCR分析。CDK4/6抑制剂不使CDK4 mRNA的表达上调(图6)，表明CDK4/6抑制剂通过抑制蛋白质降解(而不是通过增加转录或延长mRNA半衰期)来增加CDK4/6蛋白质表达。

[0699] 为了证实上述发现，用1、3、或10 μ M的帕博西尼(PB)、玻玛西尼(AB)、或瑞博西尼(RIB)将异位表达V5标记的CDK4或V5标记的CDK6的293H细胞处理24小时，然后裂解并且用针对V5的抗体(检测V5标记的CDK4或CDK6)和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹。与图5一致，检测的所有三种CDK4/6抑制剂均使V5标记的CDK4和CDK6的表达上调(图7)。

[0700] 实施例9. CDK4/6抑制剂防止CDK4的泛素化

[0701] 用1或10 μ M的帕博西尼或玻玛西尼将异位共表达V5标记的CDK4和HA标记的泛素的293H细胞处理24小时，然后裂解，并且1)用V5抗体进行免疫沉淀(以拉下V5标记的CDK4)，然后对于HA进行免疫印迹(以检测HA标记的泛素)，或者2)用针对V5、HA和肌动蛋白的抗体直接地进行免疫印迹。数据表明CDK4/6抑制剂抑制CDK4的泛素化，从而保护其免于降解并且诱导CDK4的细胞水平升高(图8，子图A)。

[0702] 在存在或不存在1或10 μ M的玻玛西尼的情况下，用蛋白酶体抑制剂MG132将T47D乳腺癌细胞处理24小时，然后裂解，并且1)用CDK4抗体进行免疫沉淀，然后对泛素进行免疫印迹，或者2)用针对泛素、CDK4、和肌动蛋白的抗体直接地进行免疫印迹。与上述V5标记的CDK4的结果一致，数据表明CDK4/6抑制剂抑制天然CDK4的泛素化(图8，子图B)。

[0703] 实施例10. 增加的CDK4/6表达与降低的CDK4/6抑制剂功效相关

[0704] 通过用1 μ M帕博西尼将MCF7细胞处理12周来产生对帕博西尼(MCF7-PBR)具有抗性的MCF7乳腺癌细胞。然后用1、3、或10 μ M帕博西尼(PB)将MCF7-PBR细胞处理24小时，然后裂解并且用针对磷酸化-Rb(pRB)、Rb(RB)、PLK1、细胞周期蛋白A、CDK2、CDK6和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹(图9)。这些结果证实了MCF7-PBR细胞对帕博西尼的抗性，并且证明该抗性与CDK6的表达升高有关(比较MCF7泳道中的CDK6水平与任意MCF7-PBR泳道中的CDK6水平，注意肌动蛋白对照表明MCF7和MCF7-PBR泳道中的总蛋白质量相等)。

[0705] 实施例11. 帕博西尼在ER+乳腺癌细胞中更有效地抑制Rb磷酸化

[0706] 用或不用0.5 μ M帕博西尼将MCF7或T47D乳腺癌细胞或SK-MEL-2、A375或WM1382黑色素瘤细胞处理24小时,然后裂解并且用针对磷酸化-Rb (pRb)、细胞周期蛋白A、PLK1、CDK4、CDK6和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹(图9)。结果表明,帕博西尼在ER+乳腺癌细胞中比在黑色素瘤细胞中更有效地抑制Rb磷酸化。

[0707] 实施例12. CDK4/6降解剂/破坏剂抑制CDK4/6活性并且抑制CDK4/6表达

[0708] 用1或5 μ M的XY019-095、XY019-098、XY019-0100、XY019-105A、XY019-105B、XY019-106、或XY019-108将MCF7乳腺癌细胞处理24h,然后裂解并且用针对CDK4、CDK6和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹(图10,子图A)。结果表明XY019-098、XY019-106和XY019-108即使在1 μ M时也特别有效地抑制CDK4/6表达;该效果在5 μ M时没有减弱。用0.1、0.3、1、3、10、或30 μ M的XY019-106将T47D乳腺癌细胞处理24h,然后裂解并且用针对磷酸化-Rb (pRb)、CDK4、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹(图10,子图B)。结果显示XY019-106既抑制CDK4表达也抑制CDK4活性(通过降低的Rb磷酸化证明),其中在低至0.3 μ M的浓度下具有显著效果。此外,与如帕博西尼等CDK4/6抑制剂不同,XY019-106即使当以高浓度(例如,在高达30 μ M的浓度下)施用,也抑制Rb磷酸化。

[0709] 用1或3 μ M的XY019-106、XY028-002、XY028-003、XY028-004、XY028-005、XY028-006、或XY028-007将SK-MEL-2或A375黑色素瘤细胞(图11,子图A和B)处理24h,然后裂解并且用针对CDK4、CDK6、磷酸化-Rb (pRb)、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹。类似地,用1或3 μ M的帕博西尼(PB)、XY019-106、XY028-003、XY028-082、XY028-083、XY028-084、或XY028-085将A375黑色素瘤细胞处理24h,然后裂解并且用针对CDK6、CDK4、磷酸化-Rb (pRb)、细胞周期蛋白A、PLK1、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹(图11,子图C)。

[0710] 结果证实CDK4/6降解剂/破坏剂,特别是XY019-106和XY028-003在抑制CDK4/6表达和CDK4/6活性(通过降低的Rb磷酸化证明)两者中的功效。

[0711] 用1或3 μ M的帕博西尼(PB)、XY019-106、XY028-003、XY028-132、XY028-133、XY028-114、XY028-097、XY028-105、或XY028-106将A375黑色素瘤细胞(图12,子图A)处理24h,然后裂解并且用针对CDK4、CDK6、磷酸化-Rb (pRb)、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹。类似地,用1或3 μ M的帕博西尼(PB)、XY019-106、XY028-003、XY028-132、XY028-133、XY028-140、XY028-141、XY028-142、或XY028-143将A375黑色素瘤细胞处理24h,然后裂解并且用针对CDK6、CDK4、磷酸化-Rb (pRb)、细胞周期蛋白A、PLK1、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹(图12,子图B)。类似地,用1或3 μ M的XY028-132、XY028-133、XY028-140、XY028-141、XY028-142、XY028-143、XY028-144、或XY028-145将A375黑色素瘤细胞处理24h,然后裂解并且用针对CDK6、CDK4、细胞周期蛋白A、PLK1、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹(图12,子图C)。类似地,用1或3 μ M的帕博西尼(PB)、XY019-106、XY028-103、XY028-108、XY028-132、XY028-133、或XY028-140将A375黑色素瘤细胞处理24h,然后裂解并且用针对CDK6、CDK4、磷酸化-Rb (pRb)、细胞周期蛋白A、PLK1、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹(图12,子图D)。

[0712] 结果证实CDK4/6降解剂,特别是XY028-133、XY028-140、XY019-106和XY028-003在抑制CDK4/6表达和CDK4/6活性(通过降低的Rb磷酸化证明)两者中的功效。

[0713] 用1或3 μ M的瑞博西尼(RB)、YX030-126、YX030-108、YX030-107、YX030-086、YX030-085或XY028-133将A375黑色素瘤细胞(图13)处理24h,然后裂解并且用针对CDK4、CDK6、细胞周期蛋白A、PLK1、磷酸化-Rb (pRb)、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹。

[0714] 结果证明瑞博西尼系CDK4/6降解剂,特别是YX-085在抑制CDK4/6表达和CDK4/6活性(通过降低的Rb磷酸化证明)两方面同样有效。

[0715] 用1或3 μ M的玻玛西尼(AB)、YX030-125、YX030-117、YX030-118或XY028-133将A375黑色素瘤细胞(图14)处理24h,然后裂解并且用针对CDK4、CDK6、细胞周期蛋白A、PLK1、磷酸化-Rb(pRb)、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹。

[0716] 用1或5 μ M的玻玛西尼(AB)、YX26-56、YX26-58、或YX26-66将ZR-75-1乳腺癌细胞(图15,子图A)或SK-MEL-2黑色素瘤细胞(图15,子图B)处理24h,然后裂解并且用针对磷酸化-Rb(pRb)、总Rb、PLK1、细胞周期蛋白A、CDK4、CDK6、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹。结果证明玻玛西尼系CDK4/6降解剂/破坏剂在抑制CDK4/6表达和CDK4/6活性(通过降低的Rb磷酸化证明)两方面同样有效。

[0717] 用0.3或1 μ M的XY028-140、YX039-65、YX039-48、YX039-123、YX039-56、YX039-124或YX039-147将A375黑色素瘤细胞(图16,子图A)处理24h。用1或3 μ M的XY028-140、YX039-56、YX039-65或XY028-133处理A375黑色素瘤细胞(图16,子图B)。将细胞裂解并且用针对磷酸化-Rb(pRb)、总Rb、PLK1、细胞周期蛋白A、CDK4、CDK6、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹。结果证实CDK4/6降解剂,特别是XY028-133在抑制CDK4/6表达和CDK4/6活性(通过降低的Rb磷酸化证明)两者中的功效。

[0718] 用0.3或1 μ M的XY028-140、YX039-48、YX039-123、YX039-56、YX039-124、YX039-65、YX039-147或YX039-74将T47D乳腺癌细胞(图17)处理24h,然后裂解并且用针对磷酸化-Rb(pRb)、总Rb、PLK1、细胞周期蛋白A、CDK4、CDK6、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹。结果证实CDK4/6降解剂,特别是XY028-140和YX039-123在抑制CDK4/6表达和CDK4/6活性(通过降低的Rb磷酸化证明)两者中的功效。

[0719] 用1或3 μ M的XY028-133、YX044-18、YX044-22、XY028-140、YX044-19或YX044-38将A375黑色素瘤细胞(图18)处理24h,然后裂解并且用针对磷酸化-Rb(pRb)、总Rb、PLK1、细胞周期蛋白A、CDK4、CDK6、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹。结果证实CDK4/6降解剂,特别是XY028-133和YX044-18在抑制CDK4/6表达和CDK4/6活性(通过降低的Rb磷酸化证明)两者中的功效。

[0720] 用0.3或1 μ M的XY028-133、YX044-18、YX044-22、XY028-140、YX044-19或YX044-38将T47D乳腺癌细胞(图19)处理24h,然后裂解并且用针对磷酸化-Rb(pRb)、总Rb、PLK1、细胞周期蛋白A、CDK4、CDK6、和肌动蛋白的抗体进行免疫印迹。结果证实CDK4/6降解剂,特别是XY028-140和YX044-22和YX044-19在抑制CDK4/6表达和CDK4/6活性(通过降低的Rb磷酸化证明)两者中的功效。

[0721] 实施例13. CDK4/6降解剂/破坏剂抑制癌细胞增殖

[0722] 用1或2 μ M帕博西尼或XY028-133将A375黑色素瘤细胞(图20)处理7天。明场成像表明在黑色素瘤细胞中在相同浓度下,XY028-133比帕博西尼更有效地抑制癌细胞增殖。

[0723] 用0.03、0.1、0.3、1、或3 μ M帕博西尼或XY028-133将A375黑色素瘤细胞(图21)处理11天。结晶紫染色表明在黑色素瘤细胞中在1和3 μ M下,XY028-133比帕博西尼更有效地抑制癌细胞增殖。

[0724] 用0.03、0.1、0.3、1、或3 μ M帕博西尼、XY028-140、YX039-48、YX039-124、YX039-123、YX039-147、YX039-56、或YX039-65将T47D乳腺癌细胞(图22)处理11天。结晶紫染色表

明在乳腺癌细胞中在相同浓度下,CDK4/6降解剂,并且特别是XY028-140、YX039-123、YX039-56、和YX039-65比帕博西尼更有效地抑制癌细胞增殖。

[0725] 用0.003、0.01、或0.03 μ M帕博西尼、XY028-140、YX039-123、YX039-56、或YX039-65将T47D乳腺癌细胞(图23)处理11天。结晶紫染色表明在乳腺癌细胞中在相同浓度下,CDK4/6降解剂比帕博西尼更有效地抑制癌细胞增殖。

[0726] 其它实施方案

[0727] 应当理解虽然已经结合本发明的详细说明书描述了本发明,但是前面的说明书旨在说明而不是限制本发明的范围,本发明的范围由所附权利要求的范围限定。其它方面、优点、和修改在所附权利要求的范围内。

[0728] 参考文献

[0729] Bondeson, D. P., A. Mares, I. E. Smith, E. Ko, S. Campos, A. H. Miah, K. E. Mulholland, N. Routly, D. L. Buckley, J. L. Gustafson, N. Zinn, P. Grandi, S. Shimamura, G. Bergamini, M. Faelth-Savitski, M. Bantscheff, C. Cox, D. A. Gordon, R. R. Willard, J. J. Flanagan, L. N. Casillas, B. J. Votta, W. den Besten, K. Famm, L. Kruidenier, P. S. Carter, J. D. Harling, I. Churcher and C. M. Crews (2015). "Catalytic in vivo protein knockdown by small-molecule PROTACs." Nat Chem Biol 11 (8) :611-617.

[0730] Buckley, D. L. and C. M. Crews (2014). "Small-molecule control of intracellular protein levels through modulation of the ubiquitin proteasome system." Angew Chem Int Ed Engl 53 (9) :2312-2330.

[0731] Buckley, D. L., J. L. Gustafson, I. Van Molle, A. G. Roth, H. S. Tae, P. C. Gareiss, W. L. Jorgensen, A. Ciulli and C. M. Crews (2012). "Small-molecule inhibitors of the interaction between the E3 ligase VHL and HIF1 α ." Angew Chem Int Ed Engl 51 (46) :11463-11467.

[0732] Buckley, D. L., K. Raina, N. Darricarrere, J. Hines, J. L. Gustafson, I. E. Smith, A. H. Miah, J. D. Harling and C. M. Crews (2015). "HaloPROTACS: Use of Small Molecule PROTACs to Induce Degradation of HaloTag Fusion Proteins." ACS Chem Biol 10 (8) :1831-1837.

[0733] Buckley, D. L., I. Van Molle, P. C. Gareiss, H. S. Tae, J. Michel, D. J. Noblin, W. L. Jorgensen, A. Ciulli and C. M. Crews (2012). "Targeting the von Hippel-Lindau E3 ubiquitin ligase using small molecules to disrupt the VHL/HIF-1 α interaction." J Am Chem Soc 134 (10) :4465-4468.

[0734] Burkhardt, D. L. and J. Sage (2008). "Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene." Nat Rev Cancer 8 (9) :671-682.

[0735] Chamberlain, P. P., A. Lopez-Girona, K. Miller, G. Carmel, B. Pagarigan, B. Chie-Leon, E. Rychak, L. G. Corral, Y. J. Ren, M. Wang, M. Riley, S. L. Delker, T. Ito, H. Ando, T. Mori, Y. Hirano, H. Handa, T. Hakoshima, T. O. Daniel and B. E. Cathers (2014). "Structure of the human Cereblon-DDB1-lenalidomide complex reveals basis for responsiveness to thalidomide analogs." Nat Struct Mol Biol 21 (9) :803-809.

- [0736] Finn, R.S., J.P. Crown, I. Lang, K. Boer, I.M. Bondarenko, S.O. Kulyk, J. Ettl, R. Patel, T. Pinter, M. Schmidt, Y. Shparyk, A.R. Thummala, N.L. Voytko, C. Fowst, X. Huang, S.T. Kim, S. Randolph and D.J. Slamon (2015). "The cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor palbociclib in combination with letrozole versus letrozole alone as first-line treatment of oestrogen receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer (PALOMA-1/TRIO-18): a randomised phase 2 study." Lancet Oncol 16 (1):25-35.
- [0737] Fischer, E.S., K. Bohm, J.R. Lydeard, H. Yang, M.B. Stadler, S. Cavadini, J. Nagel, F. Serluca, V. Acker, G.M. Lingaraju, R.B. Tichkule, M. Schebesta, W.C. Forrester, M. Schirle, U. Hassiepen, J. Ottl, M. Hild, R.E. Beckwith, J.W. Harper, J.L. Jenkins and N.H. Thoma (2014). "Structure of the DDB1-CRBN E3 ubiquitin ligase in complex with thalidomide." Nature 512 (7512):49-53.
- [0738] Galdeano, C., M.S. Gadd, P. Soares, S. Scaffidi, I. Van Molle, I. Birced, S. Hewitt, D.M. Dias and A. Ciulli (2014). "Structure-guided design and optimization of small molecules targeting the protein-protein interaction between the von Hippel-Lindau (VHL) E3 ubiquitin ligase and the hypoxia inducible factor (HIF) alpha subunit with in vitro nanomolar affinities." J Med Chem 57 (20):8657-8663.
- [0739] Hamilton, E. and J.R. Infante (2016). "Targeting CDK4/6 in patients with cancer." Cancer Treat Rev 45:129-138.
- [0740] Herrera-Abreu, M.T., M. Palafox, U. Asghar, M.A. Rivas, R.J. Cutts, I. Garcia-Murillas, A. Pearson, M. Guzman, O. Rodriguez, J. Grueso, M. Bellet, J. Cortes, R. Elliott, S. Pancholi, J. Baselga, M. Dowsett, L.A. Martin, N.C. Turner and V. Serra (2016). "Early Adaptation and Acquired Resistance to CDK4/6 Inhibition in Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer." Cancer Res 76 (8):2301-2313.
- [0741] Ito, T., H. Ando, T. Suzuki, T. Ogura, K. Hotta, Y. Imamura, Y. Yamaguchi and H. Handa (2010). "Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity." Science 327 (5971):1345-1350.
- [0742] Lai, A.C., M. Toure, D. Hellerschmied, J. Salami, S. Jaime-Figueroa, E. Ko, J. Hines and C.M. Crews (2016). "Modular PROTAC Design for the Degradation of Oncogenic BCR-ABL." Angew Chem Int Ed Engl 55 (2):807-810.
- [0743] Lim, J.S., N.C. Turner and T.A. Yap (2016). "CDK4/6 Inhibitors: Promising Opportunities beyond Breast Cancer." Cancer Discov 6 (7):697-699.
- [0744] Lu, J., Y. Qian, M. Altieri, H. Dong, J. Wang, K. Raina, J. Hines, J.D. Winkler, A.P. Crew, K. Coleman and C.M. Crews (2015). "Hijacking the E3 Ubiquitin Ligase Cereblon to Efficiently Target BRD4." Chem Biol 22 (6):755-763.
- [0745] Matsushime, H., M.E. Ewen, D.K. Strom, J.Y. Kato, S.K. Hanks, M.F. Roussel and C.J. Sherr (1992). "Identification and properties of an atypical catalytic subunit (p34^{PSK}-J3/cdk4) for mammalian D type G1 cyclins." Cell 71 (2):323-334.

- [0746] Meyerson, M. and E. Harlow (1994). "Identification of G1 kinase activity for cdk6, a novel cyclin D partner." Mol Cell Biol 14(3):2077-2086.
- [0747] Sherr, C.J., D. Beach and G.I. Shapiro (2016). "Targeting CDK4 and CDK6: From Discovery to Therapy." Cancer Discov 6(4):353-367.
- [0748] Turner, N.C., J. Ro, F. Andre, S. Loi, S. Verma, H. Iwata, N. Harbeck, S. Loibl, C. Huang, Bartlett, K. Zhang, C. Giorgetti, S. Randolph, M. Koehler, M. Cristofanilli and P.S. Group (2015). "Palbociclib in Hormone-Receptor-Positive Advanced Breast Cancer." N Engl J Med 373(3):209-219.
- [0749] Winter, G.E., D.L. Buckley, J. Paulk, J.M. Roberts, A. Souza, S. Dhe-Paganon and J.E. Bradner (2015). "Phthalimide conjugation as a strategy for in vivo target protein degradation." Science 348(6241):1376-1381.
- [0750] Xie, T., S.M. Lim, K.D. Westover, M.E. Dodge, D. Ercan, S.B. Ficarro, D. Udayakumar, D. Gurbani, H.S. Tae, S.M. Riddle, T. Sim, J.A. Marto, P.A. Janne, C.M. Crews and N.S. Gray (2014). "Pharmacological targeting of the pseudokinase Her3." Nat Chem Biol 10(12):1006-1012.
- [0751] Yu, Q., E. Sicinska, Y. Geng, M. Ahnstrom, A. Zagodzdzon, Y. Kong, H. Gardner, H. Kiyokawa, L.N. Harris, O. Stal and P. Sicinski (2006). "Requirement for CDK4 kinase function in breast cancer." Cancer Cell 9(1):23-32.
- [0752] Zengerle, M., K.H. Chan and A. Ciulli (2015). "Selective Small Molecule Induced Degradation of the BET Bromodomain Protein BRD4." ACS Chem Biol 10(8):1770-1777.

序列表

<110> 西奈山伊坎医学院 (Icahn School of Medicine at Mount Sinai)

<120> 用于治疗CDK4/6介导的癌症的组合物和方法

<130> 27527-0152W01

<150> US 62/431,806

<151> 2016-12-08

<160> 10

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 扩增引物

<400> 1

acaactttgg tatcgtggaa gg 22

<210> 2

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 扩增引物

<400> 2

gccatcacgc cacagtttc 19

<210> 3

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 扩增引物

<400> 3

ctggtgtttg agcatgtaga cc 22

<210> 4

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 扩增引物

<400> 4
gatccttgat cgtttcggct g 21
<210> 5
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 5
tcttcattca caccgagtag tgc 23
<210> 6
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 6
tgaggtaga gccatctgga aa 22
<210> 7
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 7
cgctggcggc actgaagtc 19
<210> 8
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 8
gaggaacggc gacatgctca t 21
<210> 9
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 扩增引物
<400> 9
caccagcacg tcgtaggatt c 21
<210> 10
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 10
ccgtaggtag tategggcct c 21

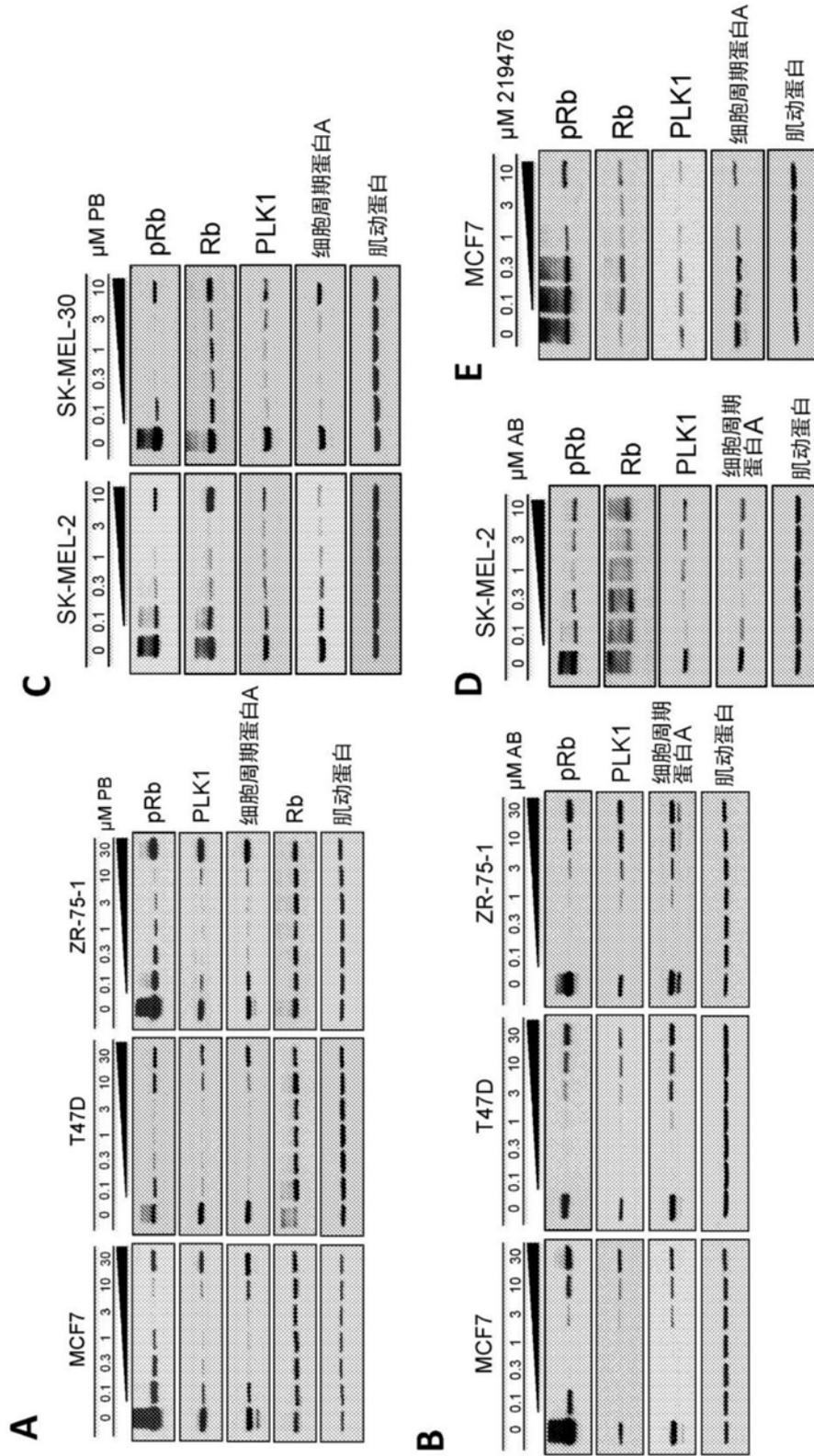


图1

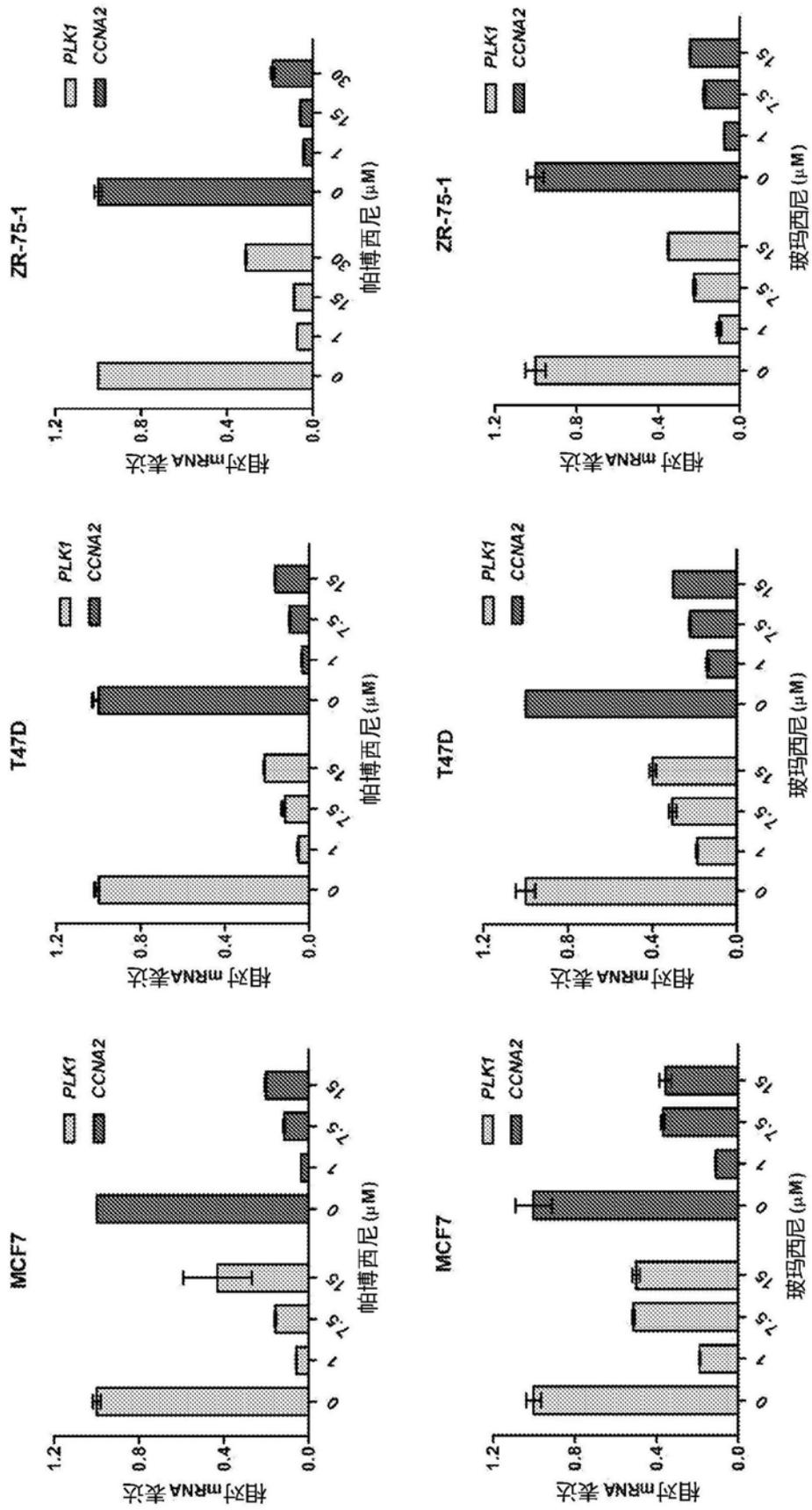


图2

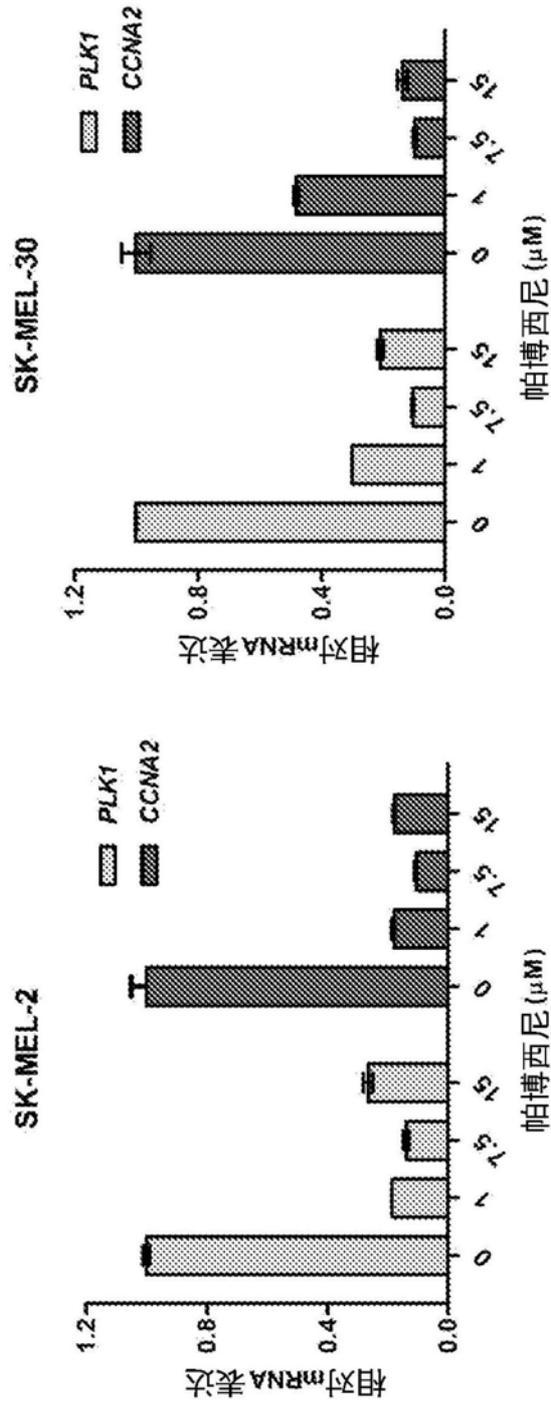


图3

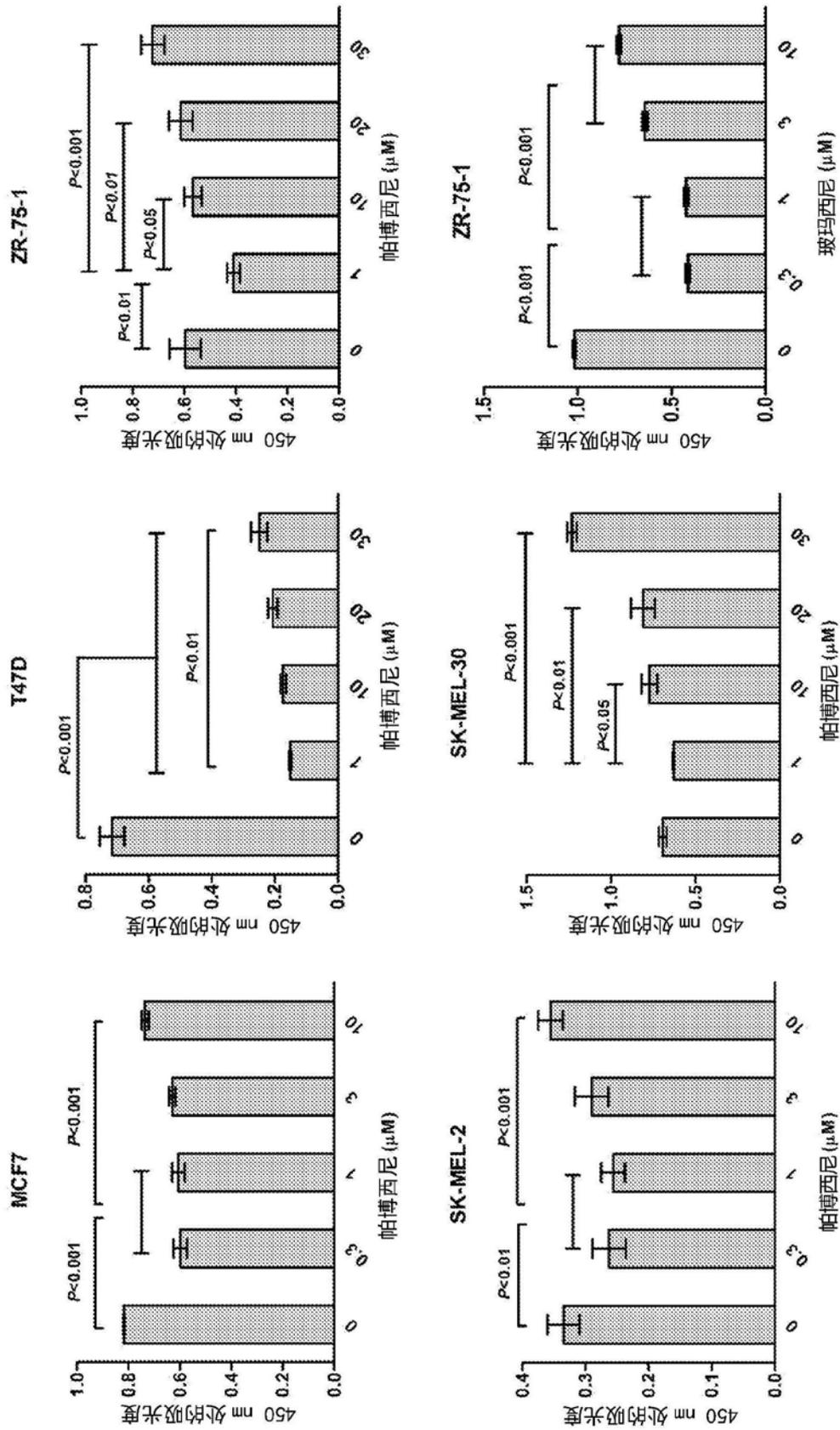


图4

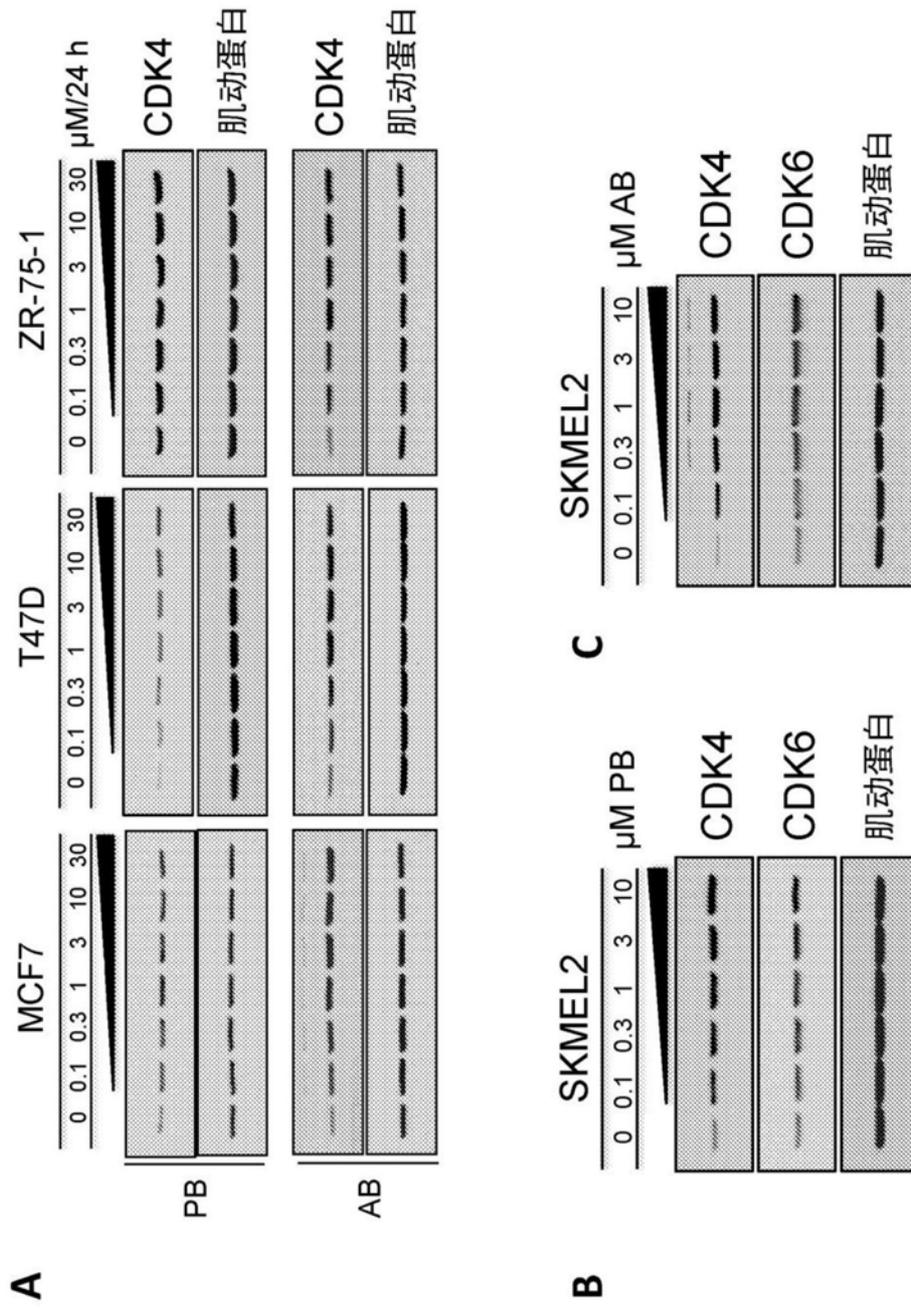


图5

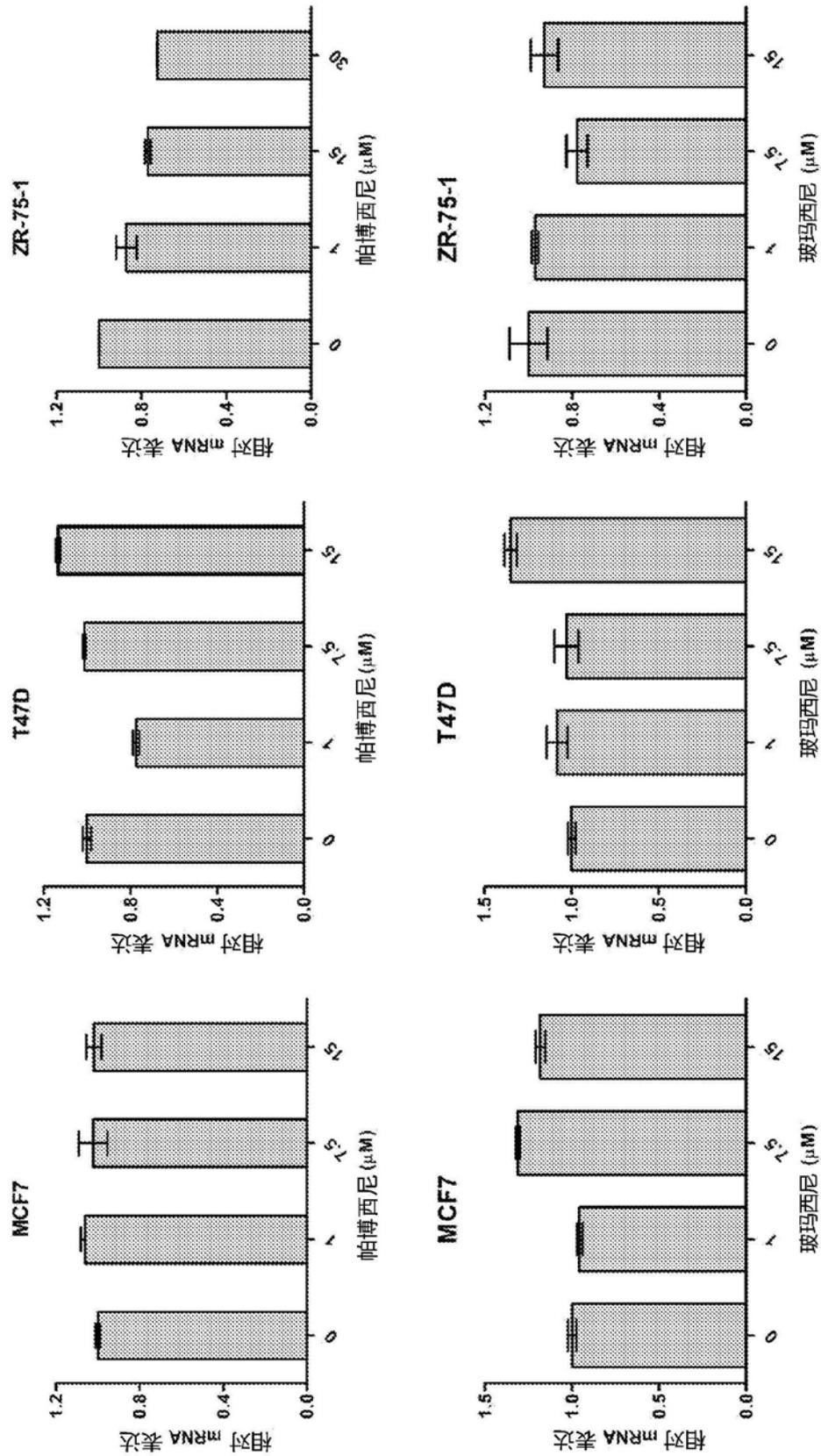


图6

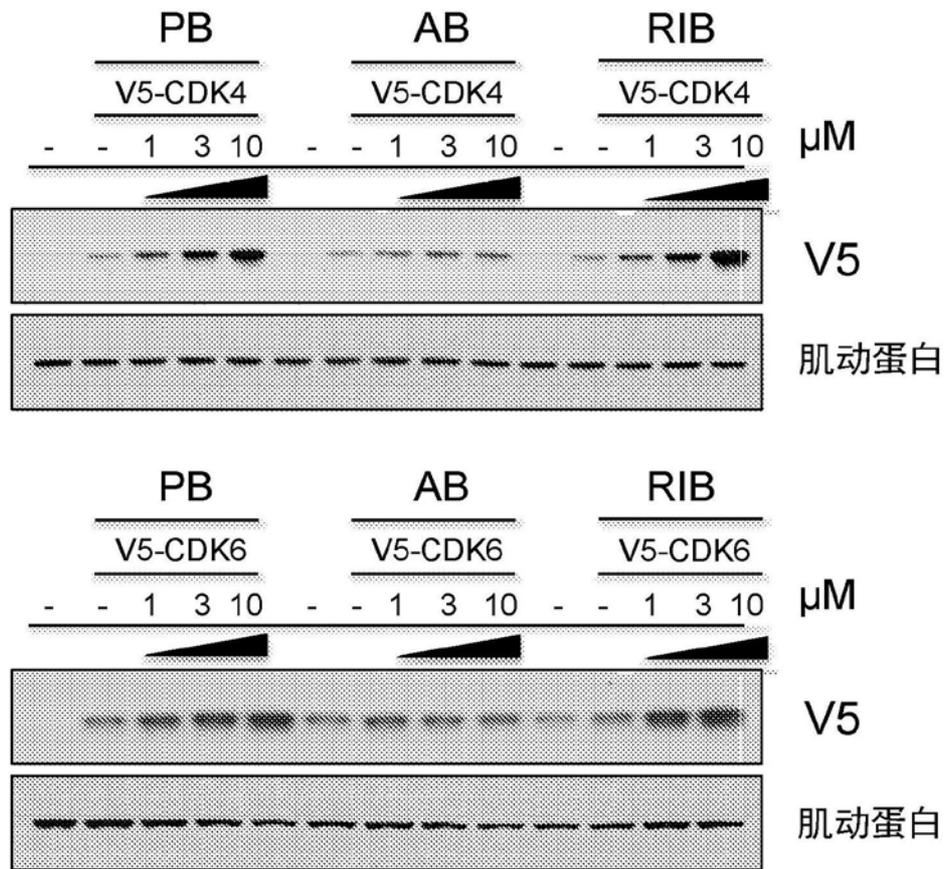


图7

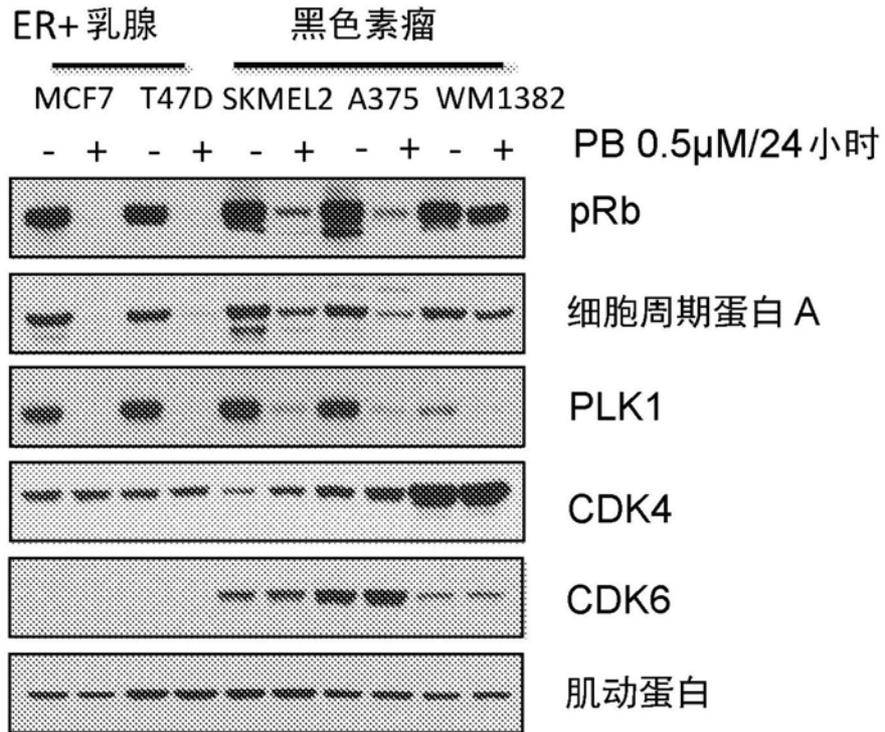


图9

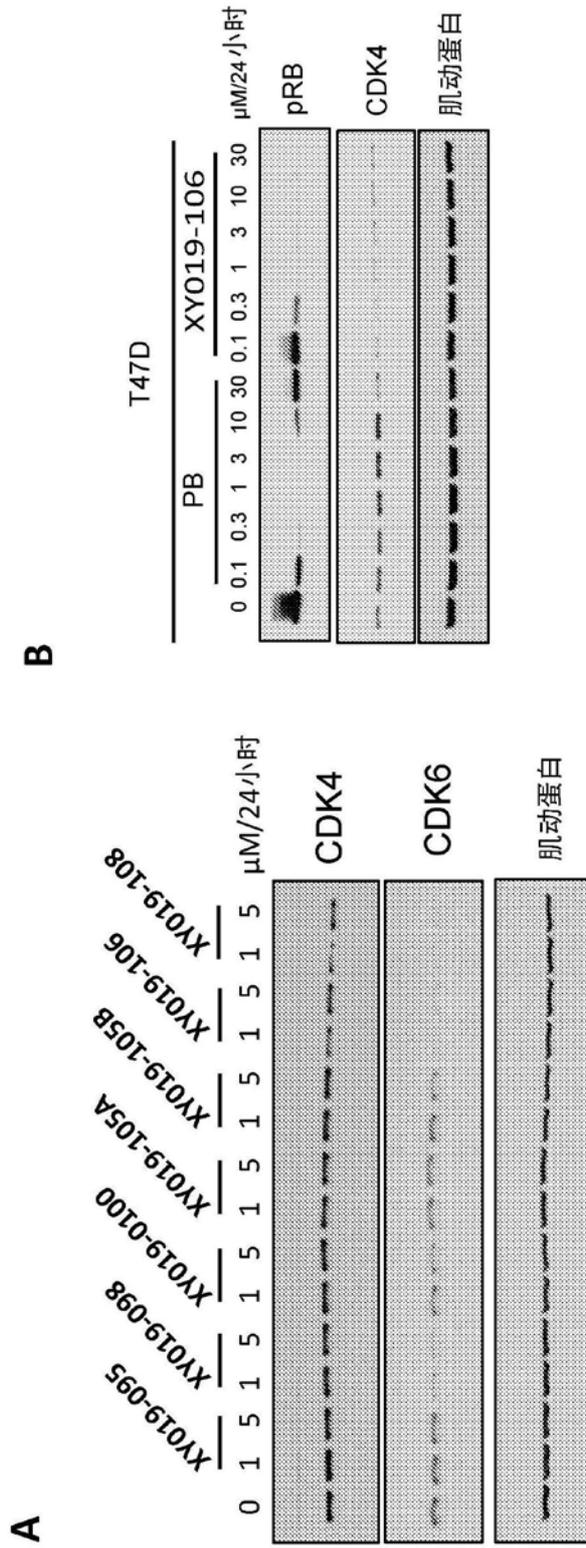


图10

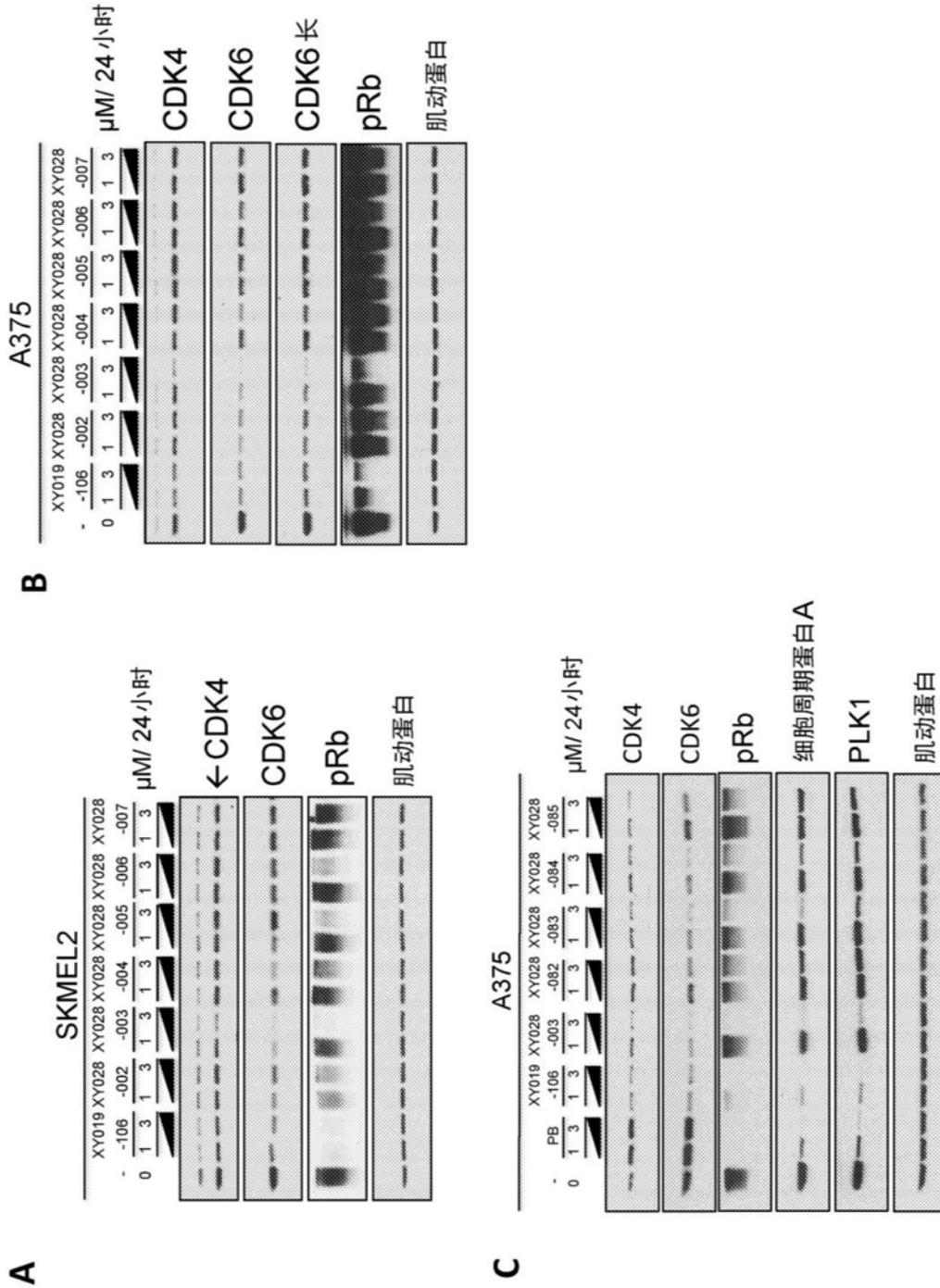


图11

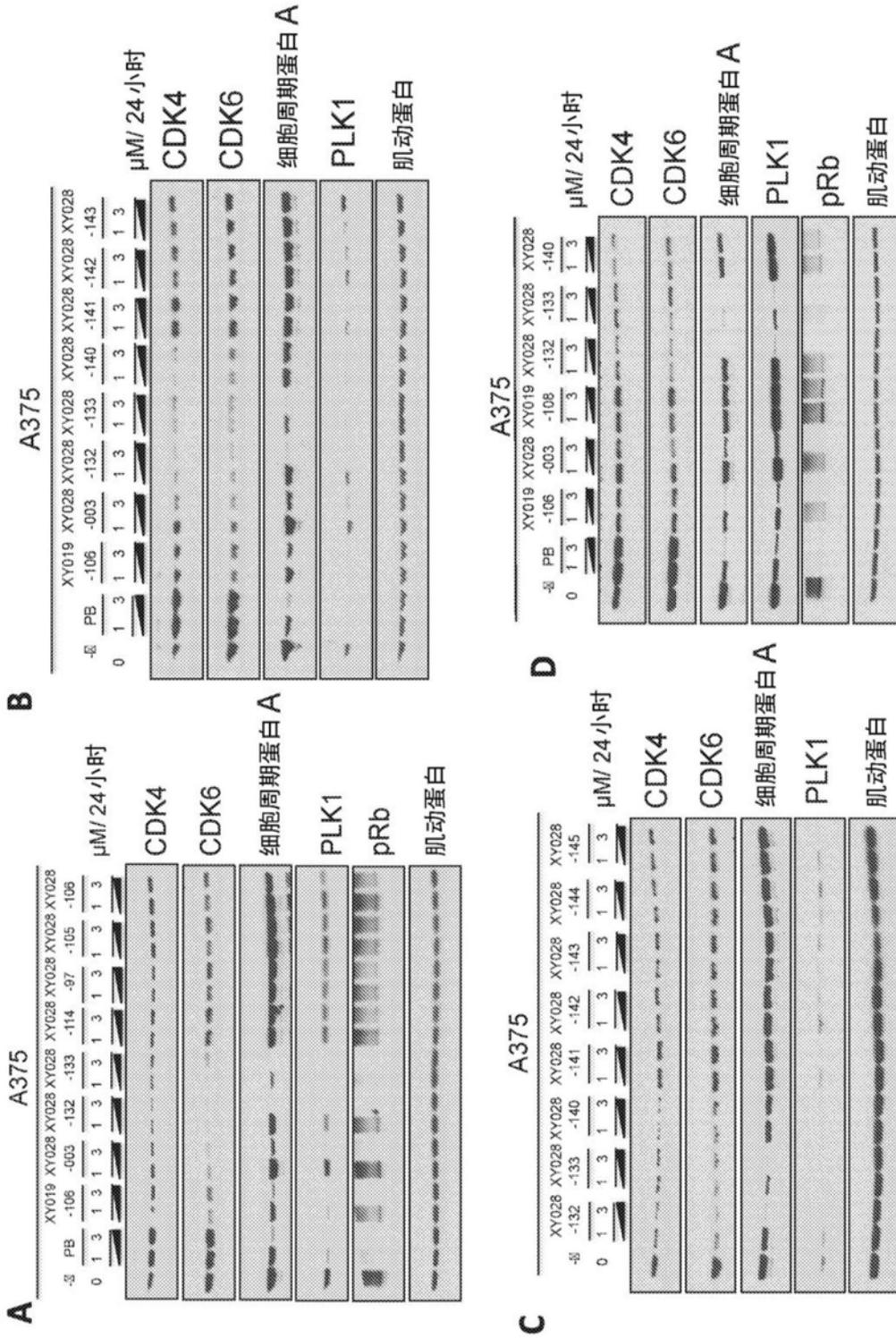


图12

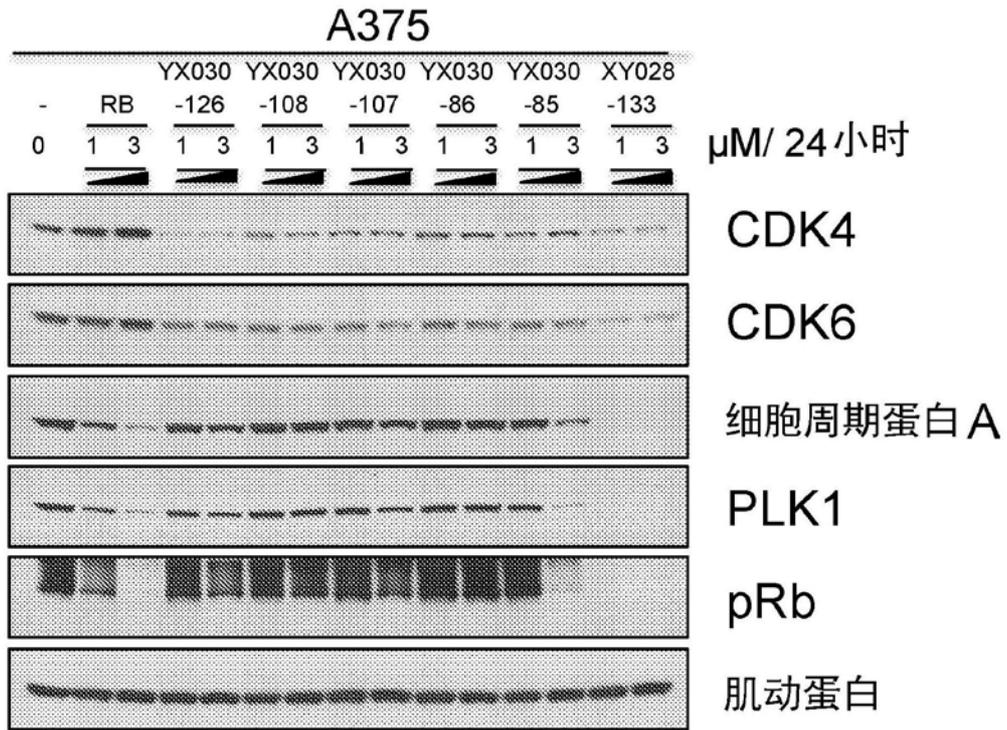


图13

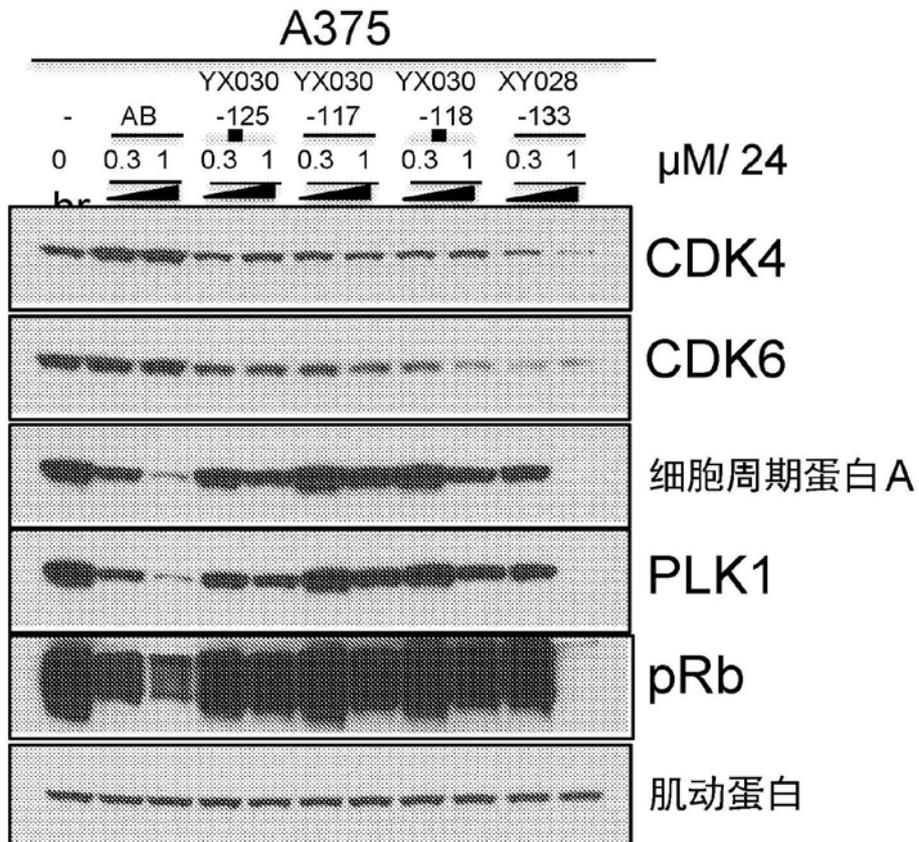


图14

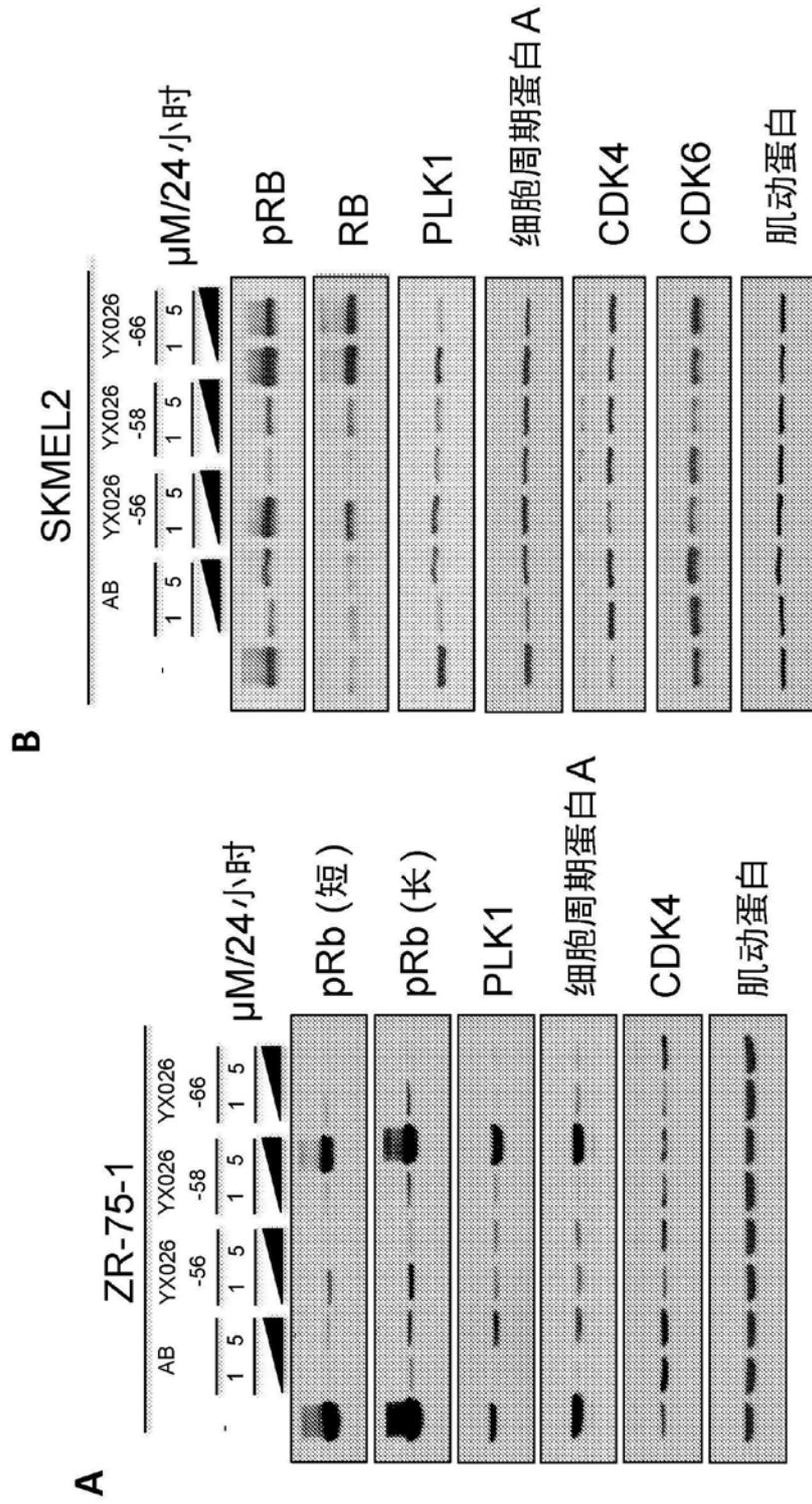


图15

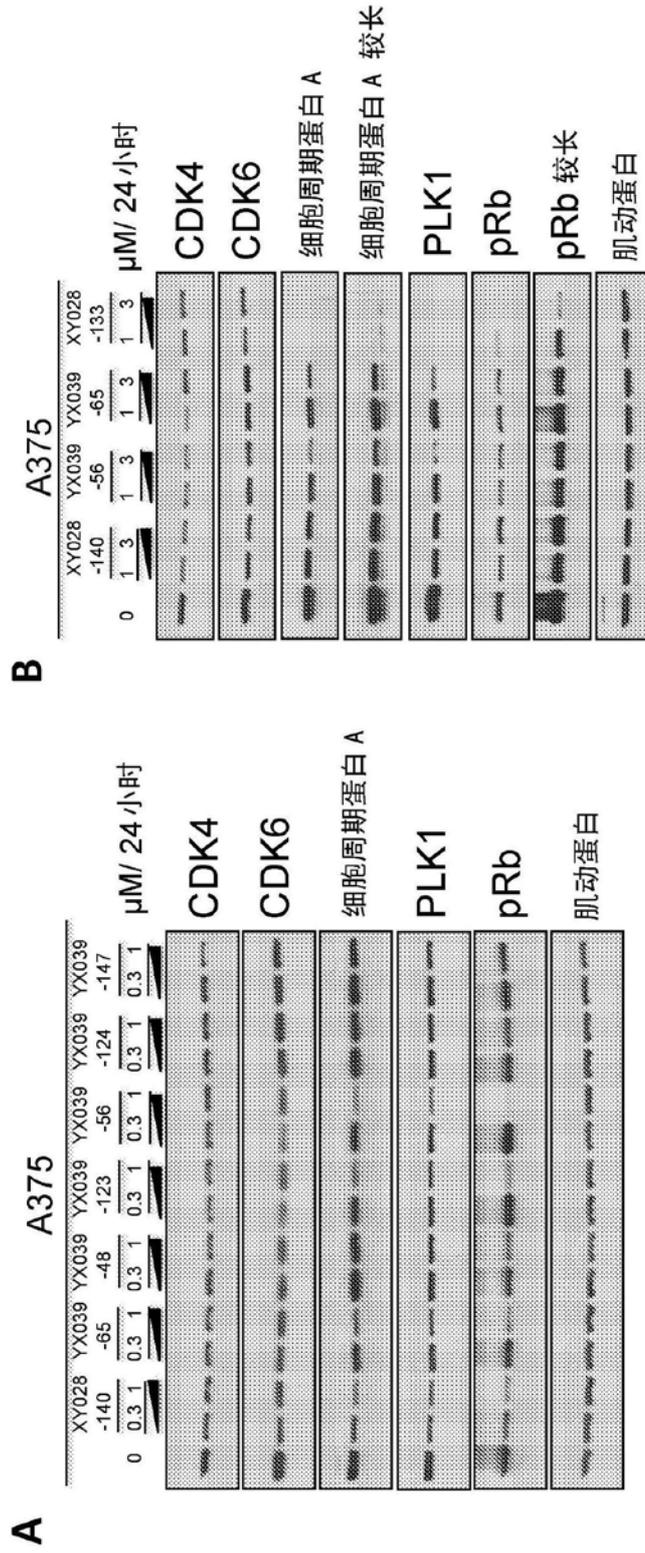


图16

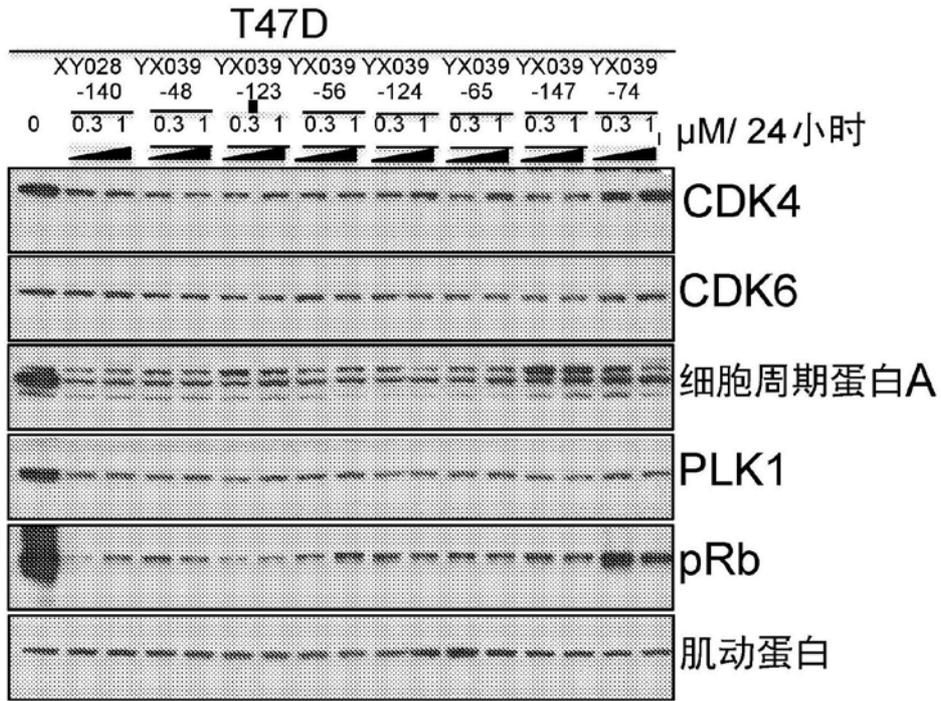


图17

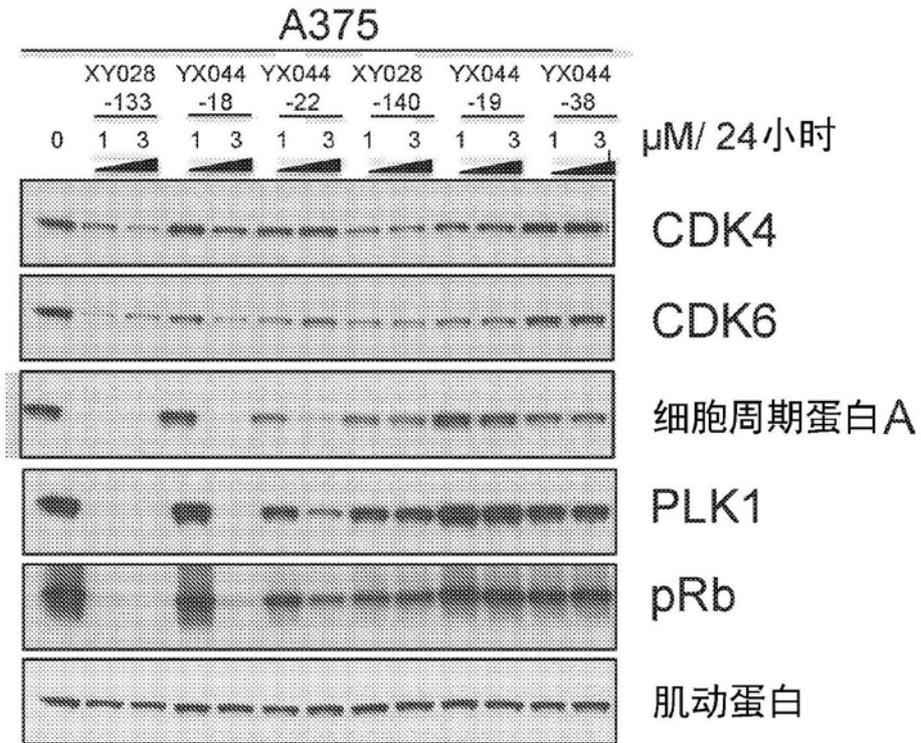


图18

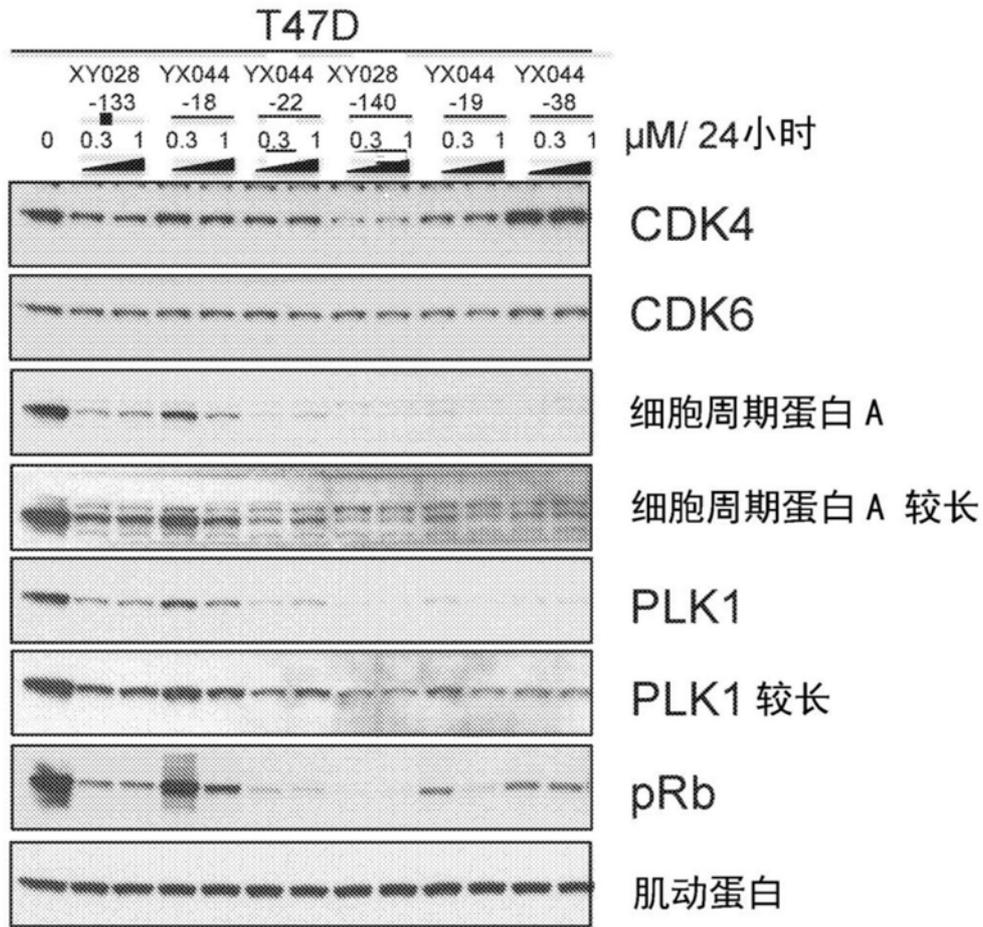


图19

A375 - 7天的处理

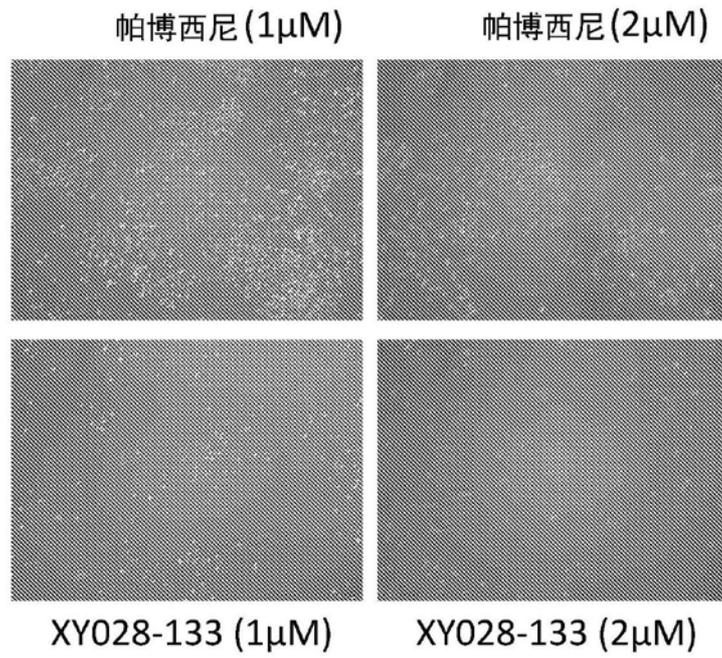


图20

A375 细胞 -11 天

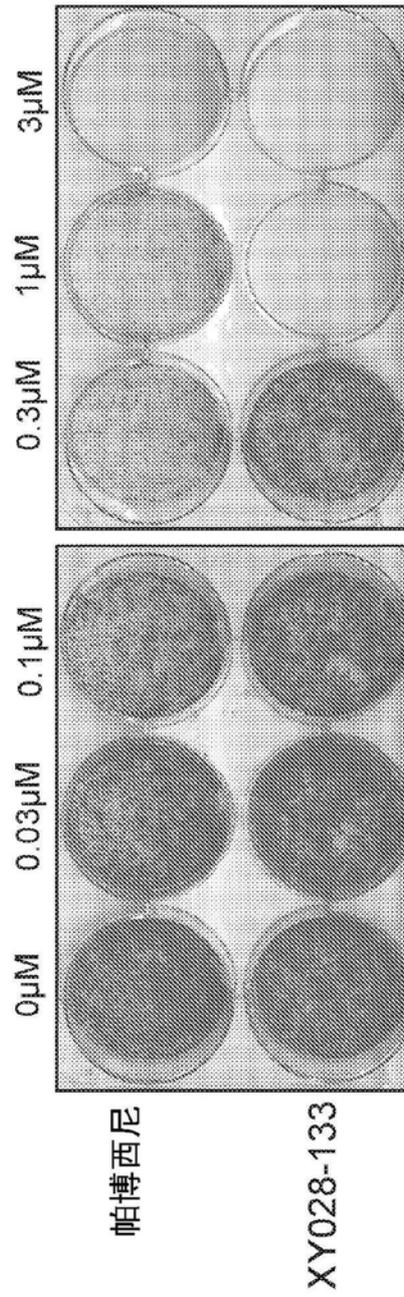


图21

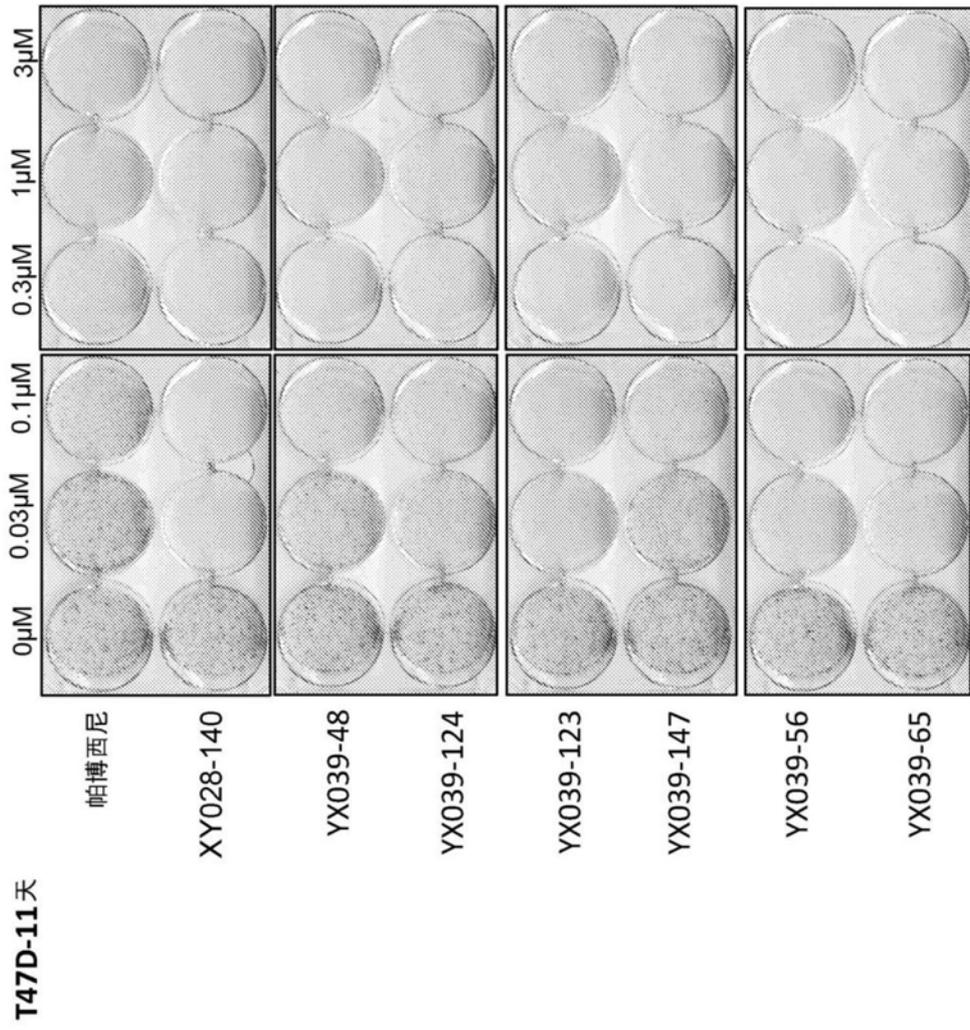


图22

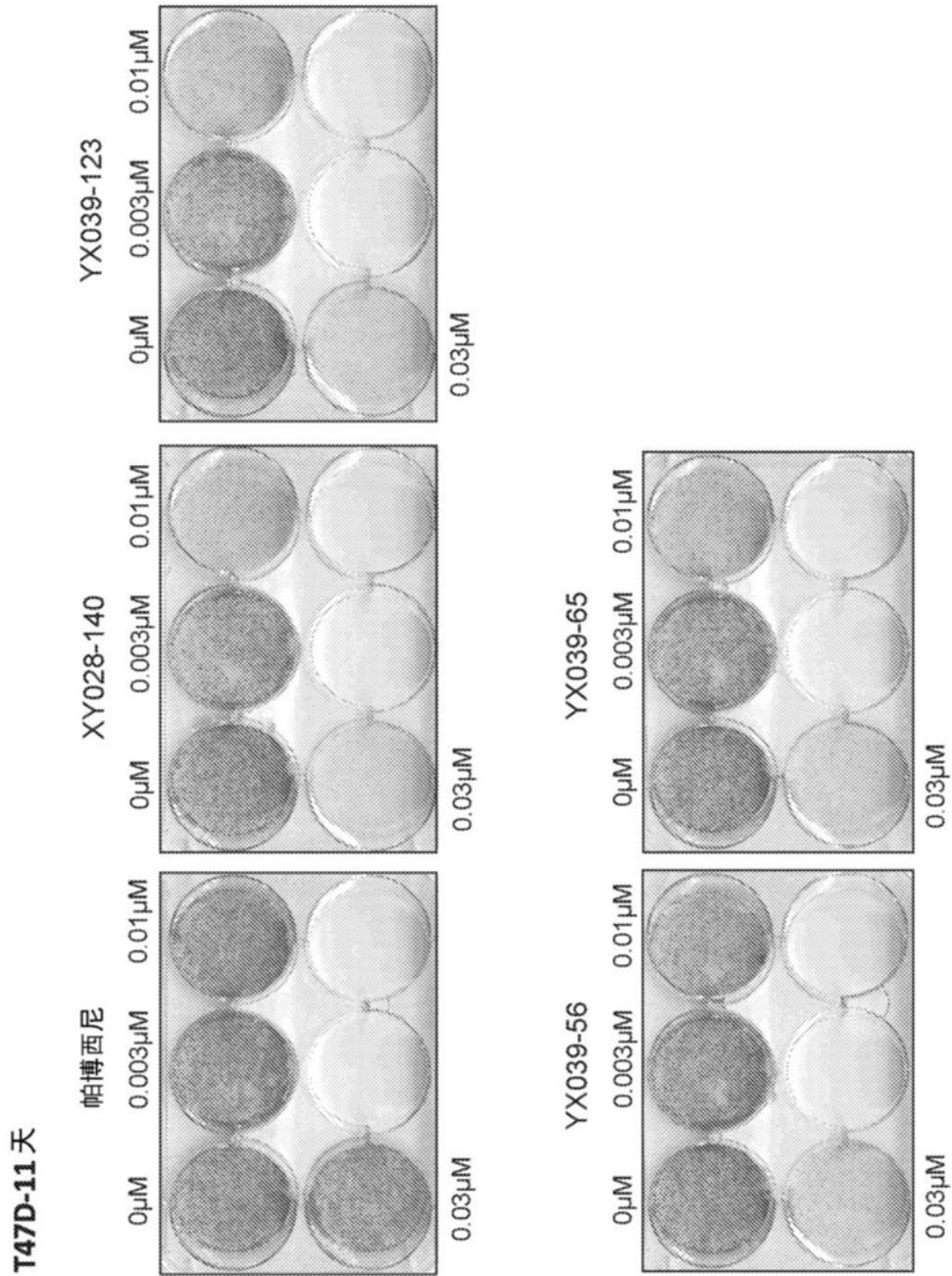


图23