



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106459055 B

(45)授权公告日 2019.11.01

(21)申请号 201580005981.1

(22)申请日 2015.01.14

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106459055 A

(43)申请公布日 2017.02.22

(30)优先权数据

61/932,118 2014.01.27 US

(续)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.07.27

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2015/050280 2015.01.14

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/110935 EN 2015.07.30

(73)专利权人 辉瑞大药厂

地址 美国纽约州

(72)发明人 A·玛特纳 M·D·多罗什基

陈泽成 H·L·里斯利 (续)

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专  
利商标事务所 11038

代理人 袁志明

(51)Int.Cl.

C07D 487/04(2006.01)

(续)

(56)对比文件

EP 0359454 A1,1990.03.21,

EP 0359454 A1,1990.03.21,

US 20090118349 A1,2009.05.07,

US 20090118349 A1,2009.05.07,

WO 2011054837 A2,2011.05.12,

WO 2011054837 A2,2011.05.12,

WO 2012162482 A1,2012.11.29,

审查员 房长进

B

权利要求书30页 说明书156页

(54)发明名称

双功能细胞毒类药剂

(57)摘要

CN

包含基于CBI的亚单元和/或基于CPI的亚单

元的细胞毒二聚体,包含此二聚体的抗体药物缀合物,以及使用它们治疗癌症及其它病症的方法。

[接上页]

(30)优先权数据

62/046,685 2014.09.05 US

(72)发明人 J·M·卡萨万 C·J·奥丹尼尔  
A·M·波特 C·萨布拉曼亚姆

(51)Int.Cl.

A61K 31/407(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

(56)对比文件

Yasumichi Fukuda, 等.THE NOVEL CYCLOPROPAPYRROLINOINDOLE(CPI)  
BISALKYLATORS BEARING 3,3''-(1,4-PHENYLENE)DIACRYLOYL GROUP AS A LINKER.  
《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》.1998,第8卷(第15期),2003-2004.  
Yasumichi Fukuda, 等.THE NOVEL CYCLOPROPAPYRROLINOINDOLE(CPI)

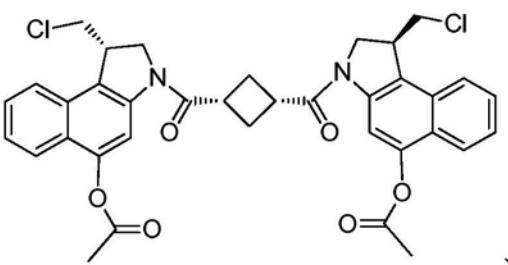
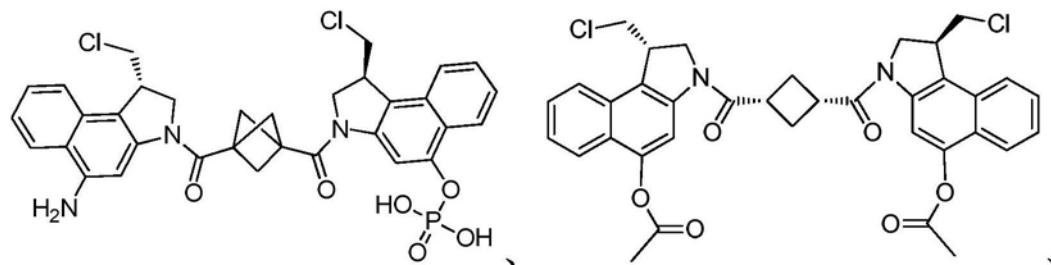
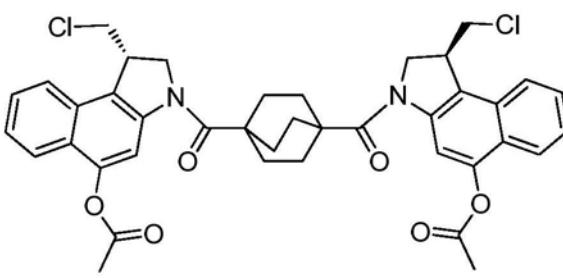
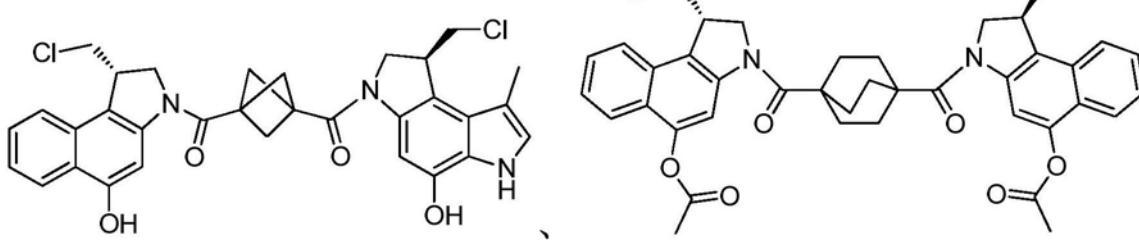
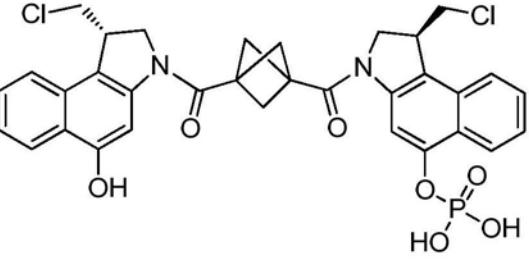
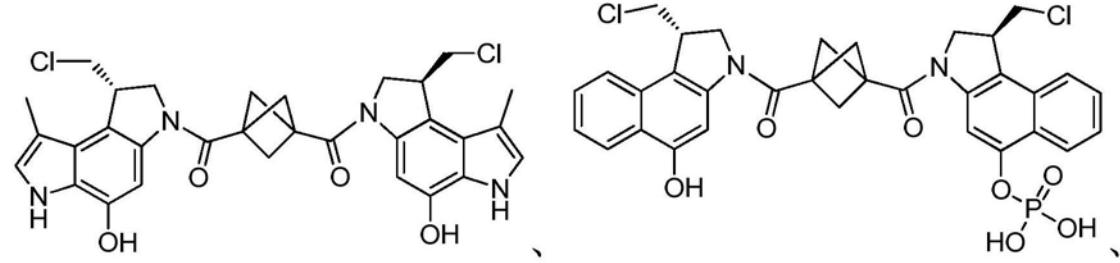
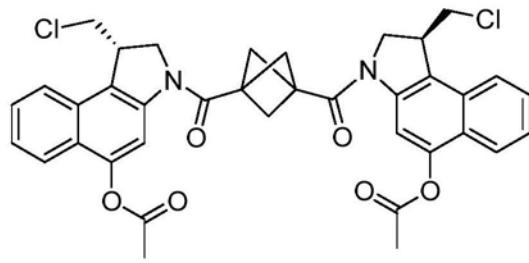
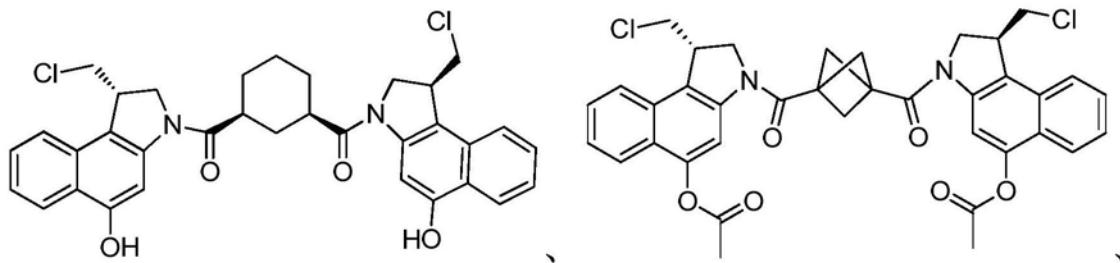
BISALKYLATORS BEARING 3,3''-(1,4-PHENYLENE)DIACRYLOYL GROUP AS A LINKER.  
《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》.1998,第8卷(第15期),2003-2004.

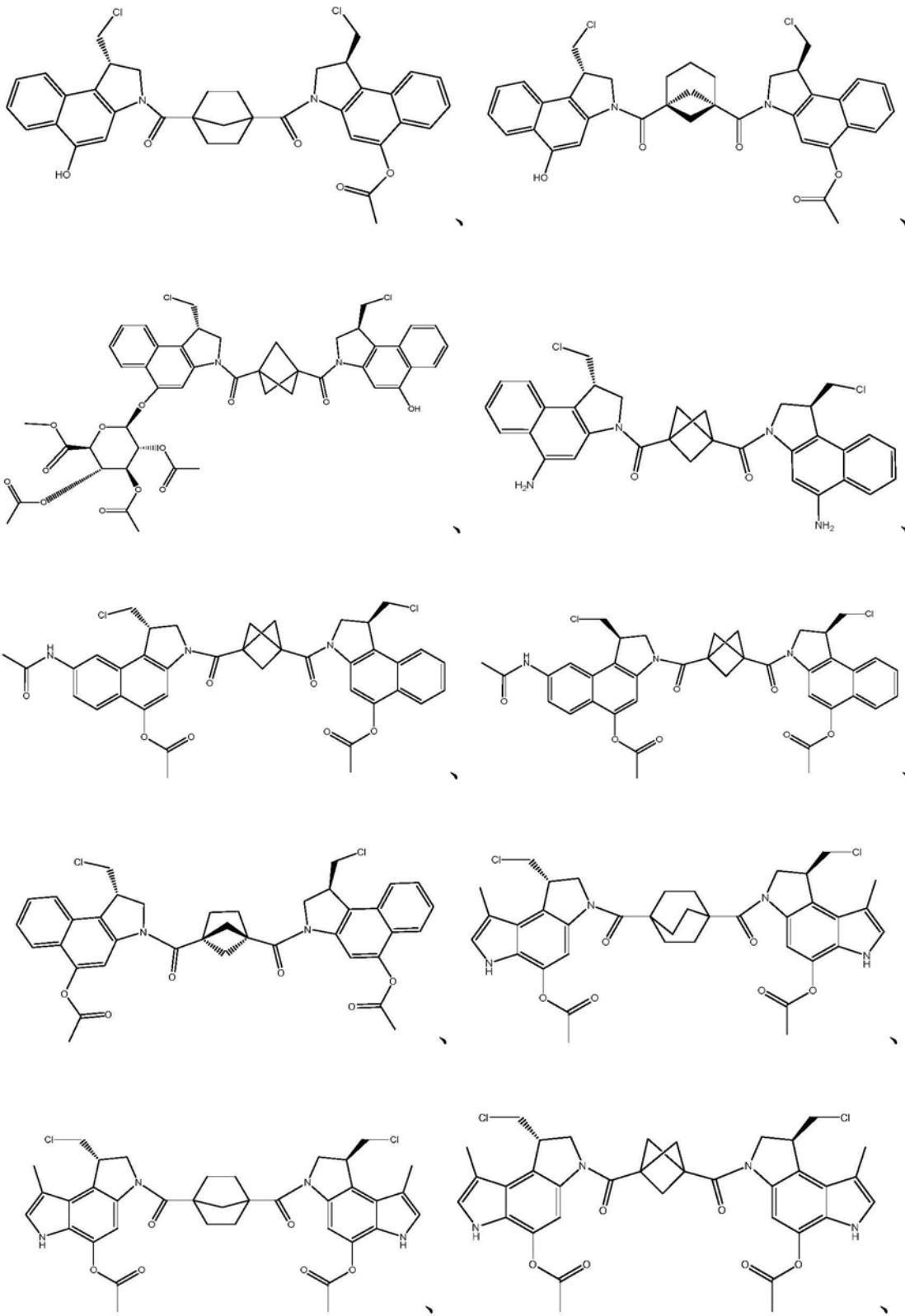
朱贵东, 等.设计新一代抗体药物偶联物.  
《药学学报》.2013,第48卷(第7期),1053-1070.

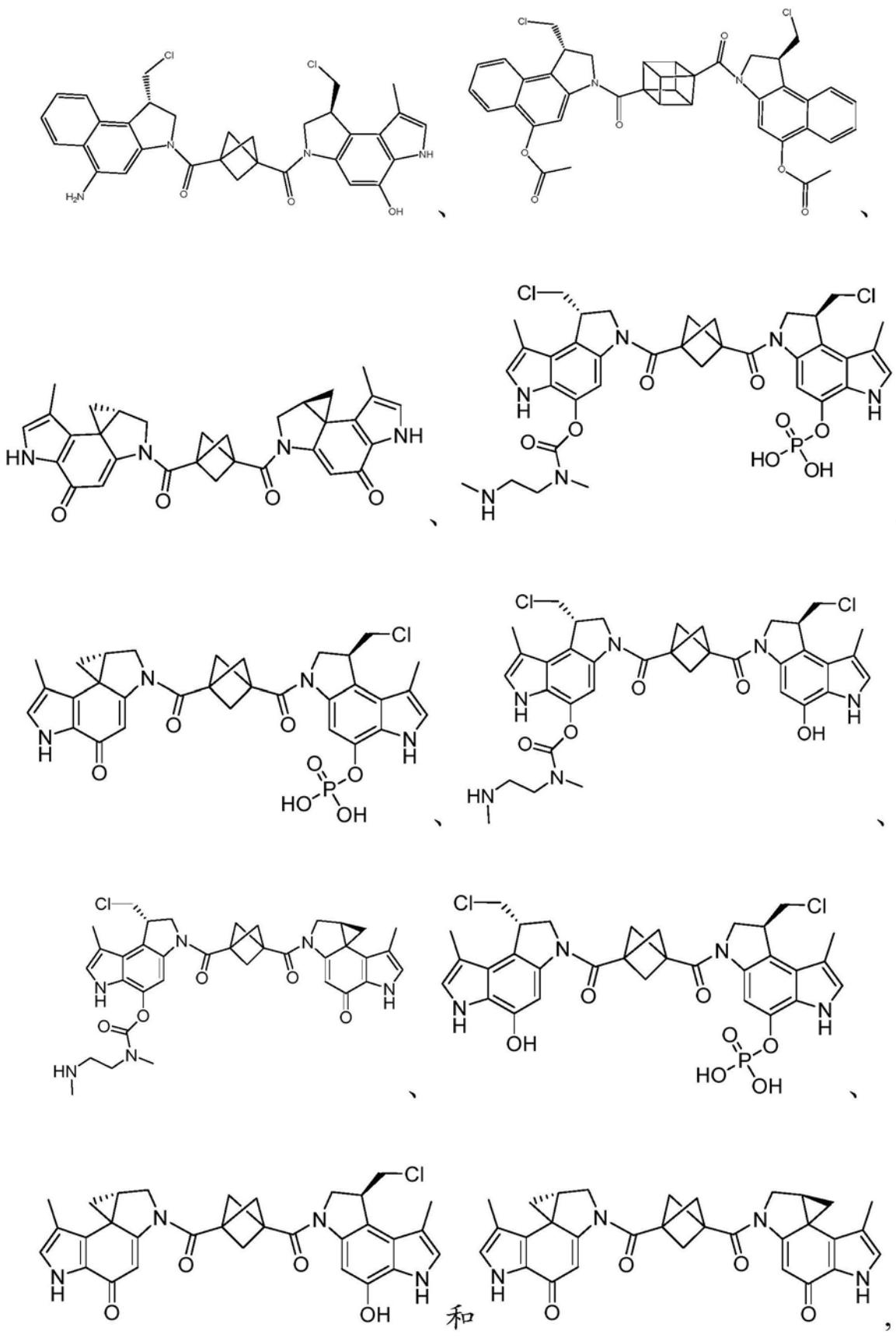
Lutz F. Tietze等.Glycosidic Prodrugs of Highly Potent Bifunctional Duocarmycin Derivatives for Selective Treatment of Cancer.《Angew.Chem. Int. Ed.》.2010,第49卷(第40期),7336-7339.

Lutz F. Tietze等.Glycosidic Prodrugs of Highly Potent Bifunctional Duocarmycin Derivatives for Selective Treatment of Cancer.《Angew.Chem. Int. Ed.》.2010,第49卷(第40期),7336-7339.

1. 一种化合物, 其选自:

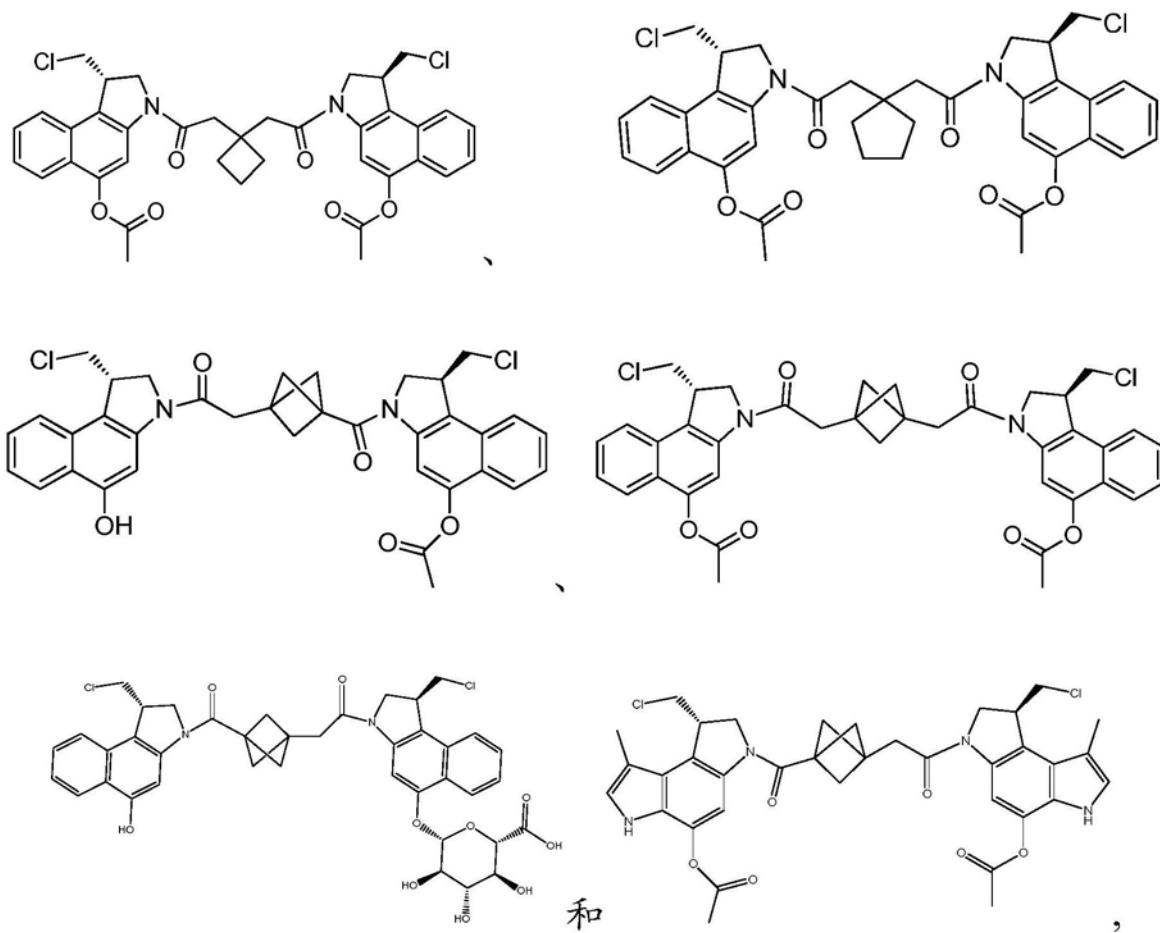






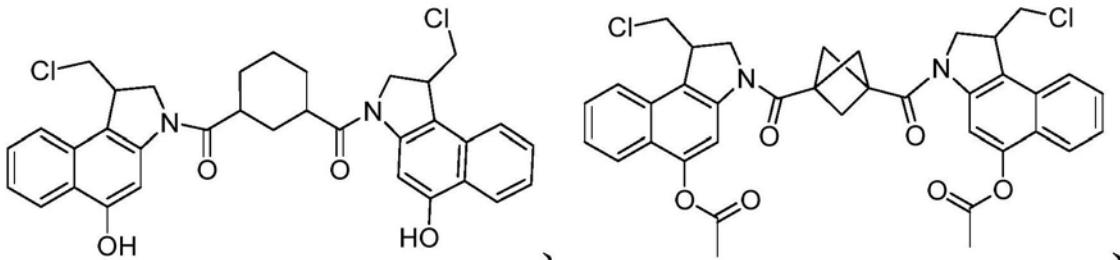
或其药学上可接受的盐。

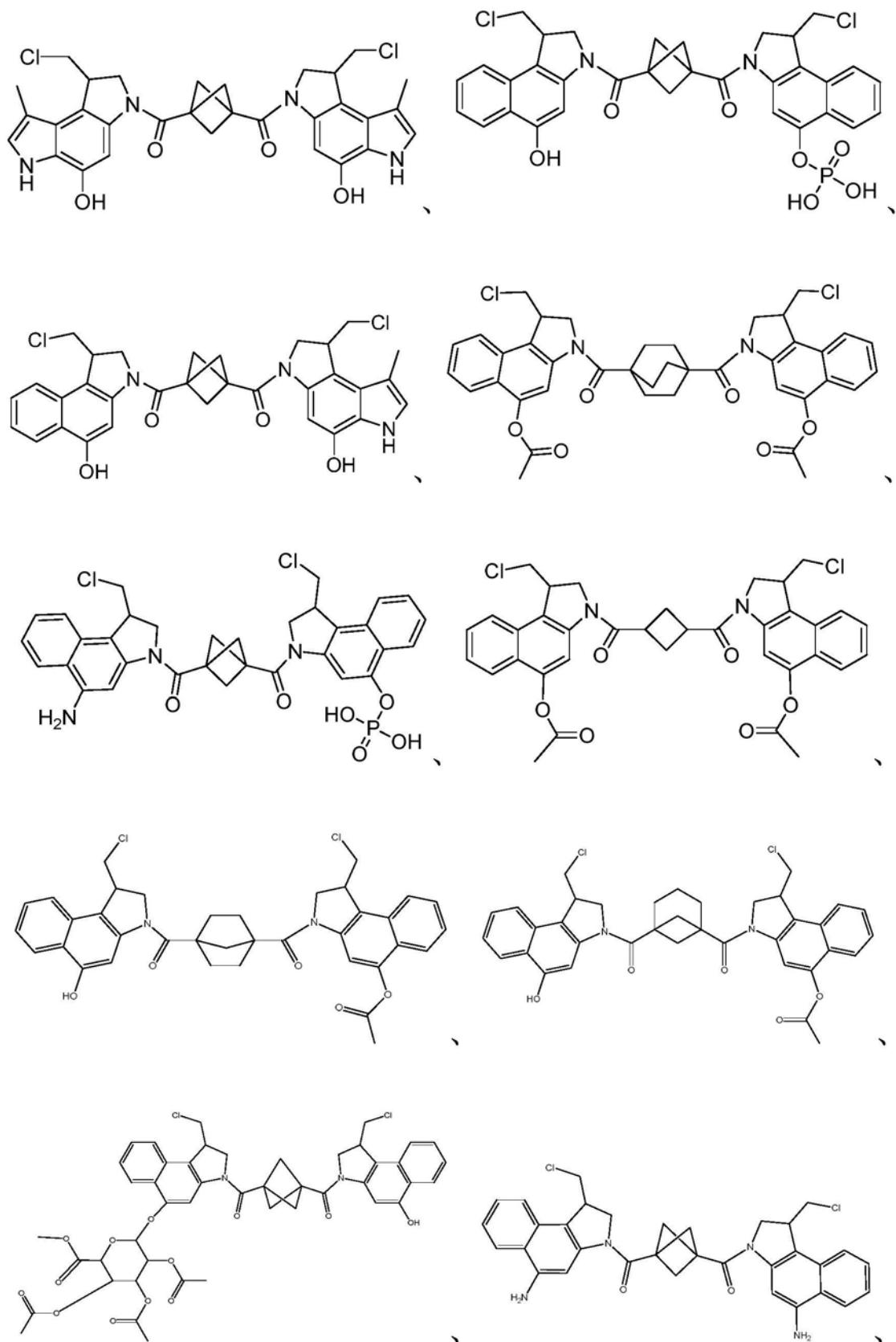
2. 一种化合物，其选自：

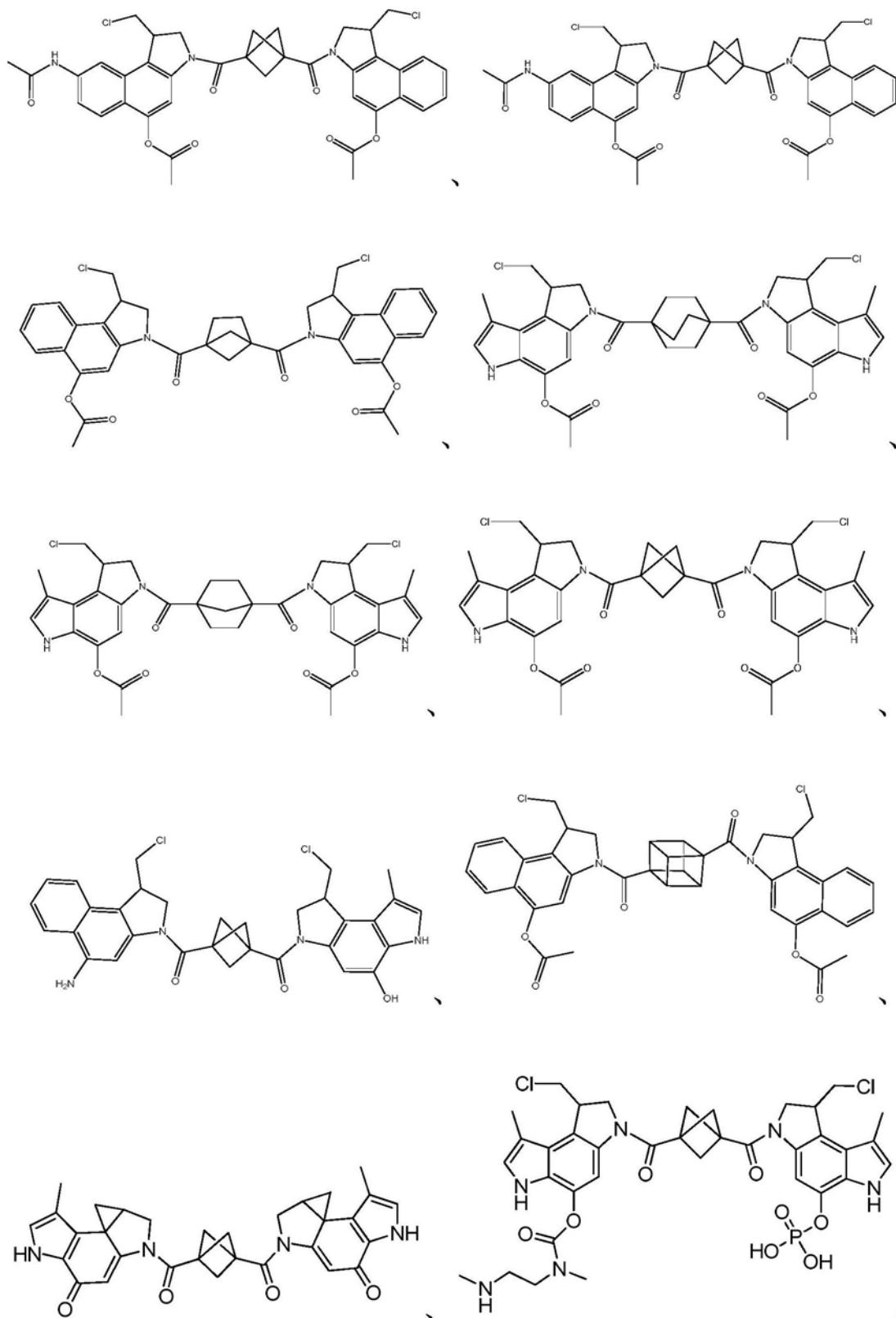


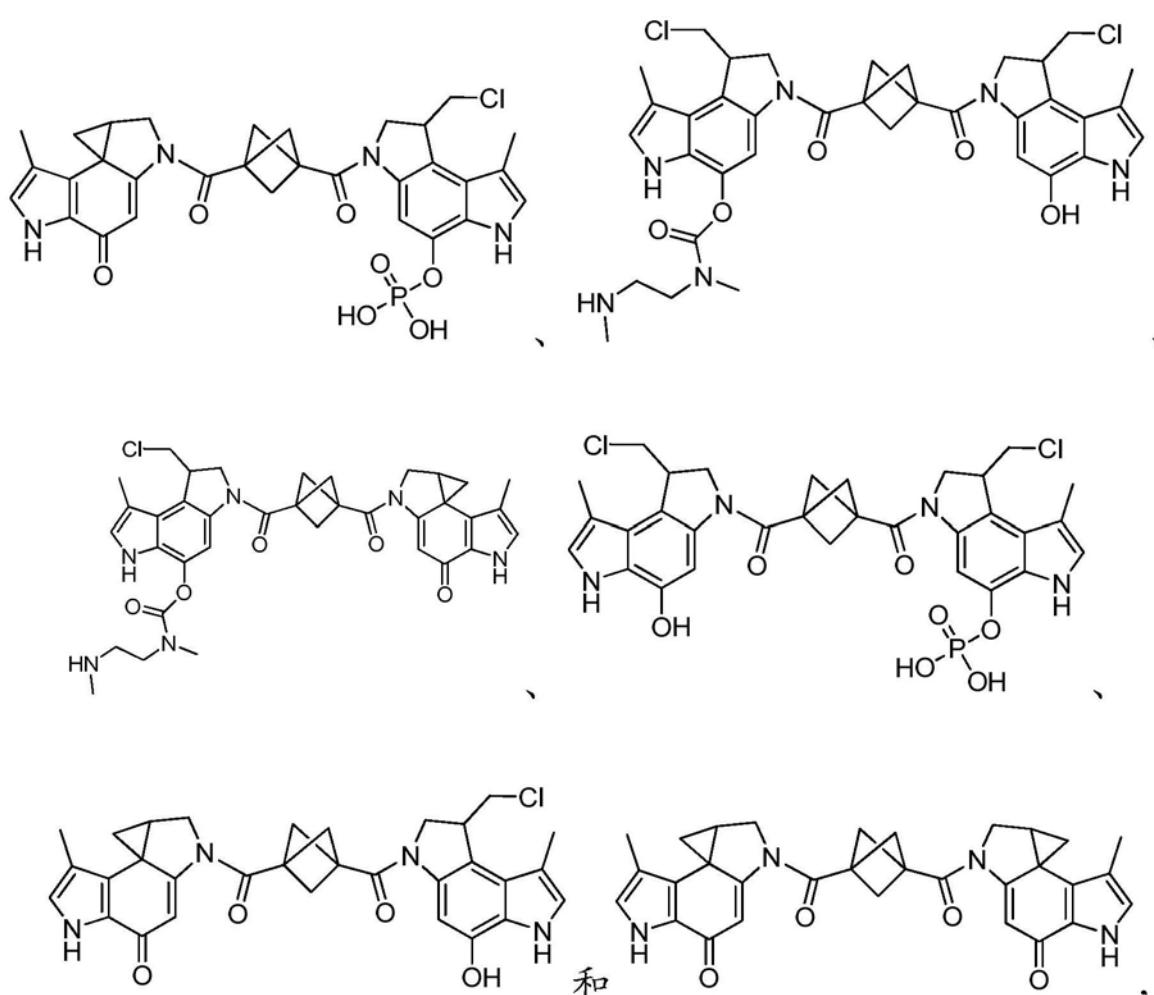
或其药学上可接受的盐。

3. 一种化合物, 其选自:



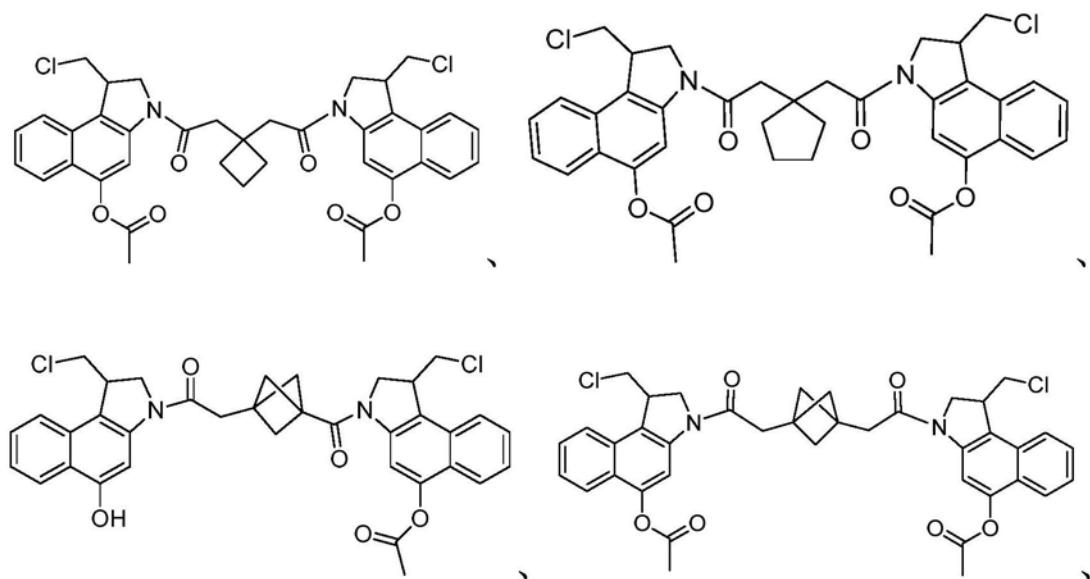


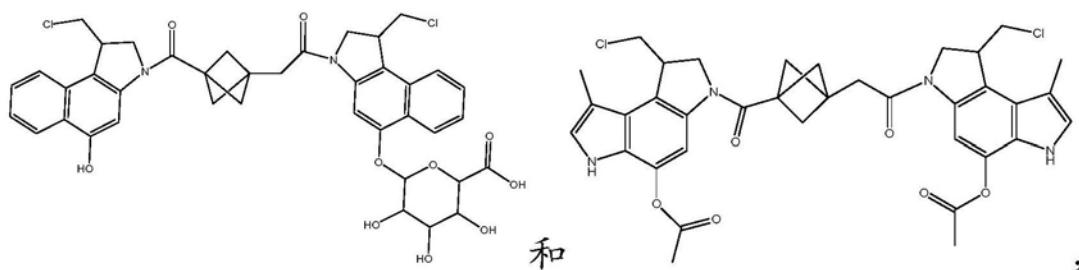




或其药学上可接受的盐。

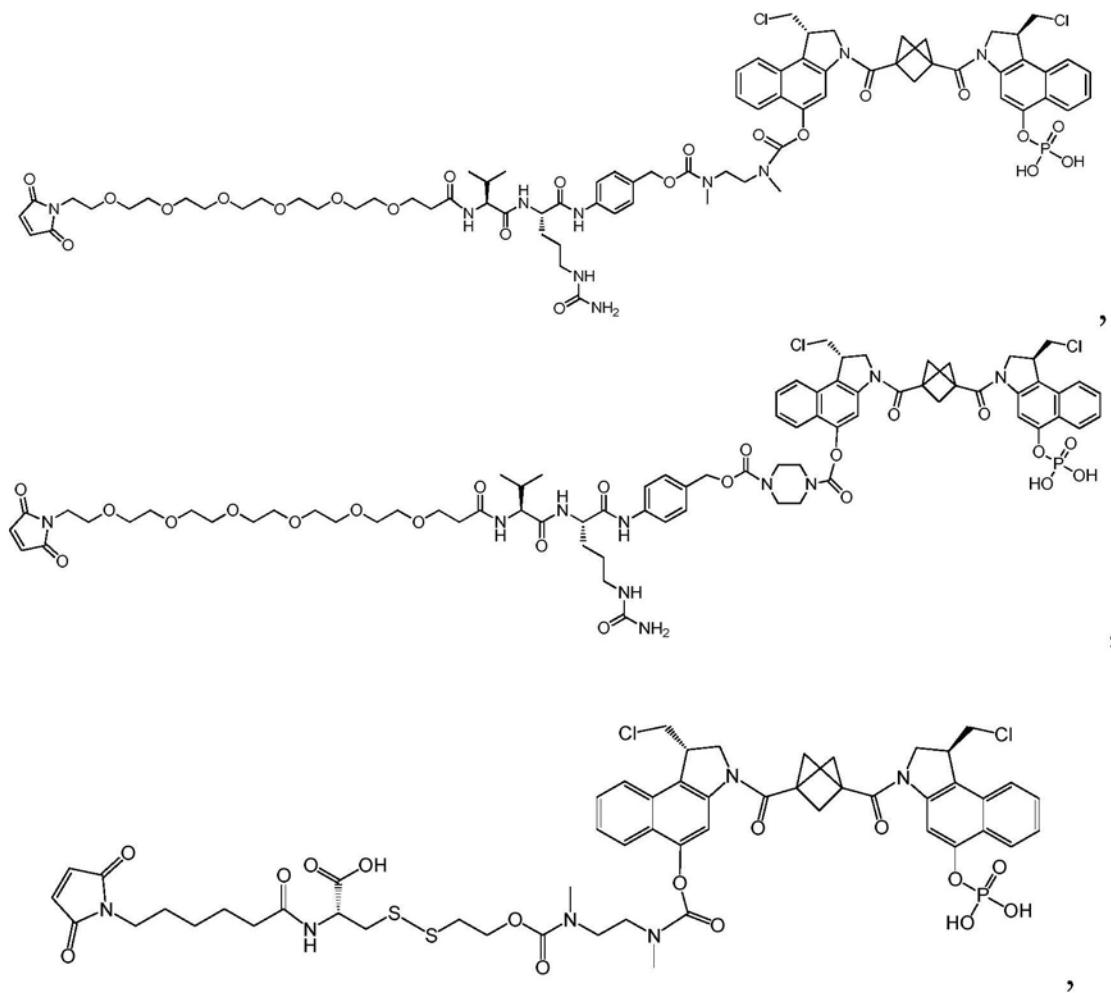
4. 一种化合物, 其选自:

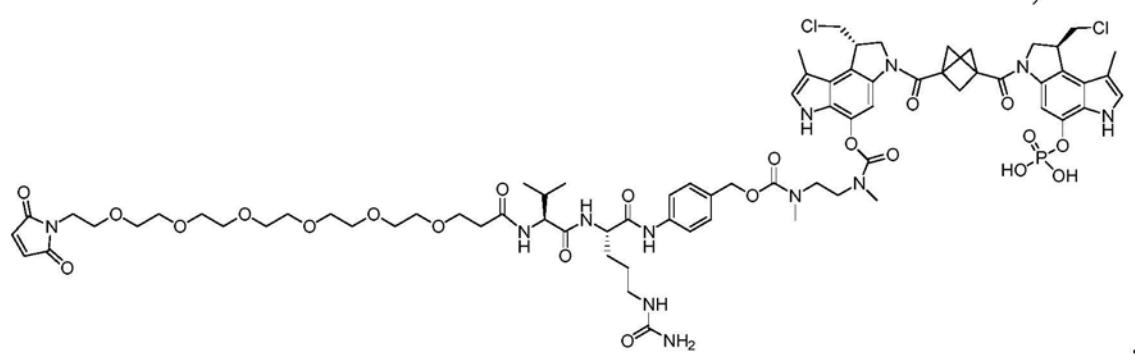
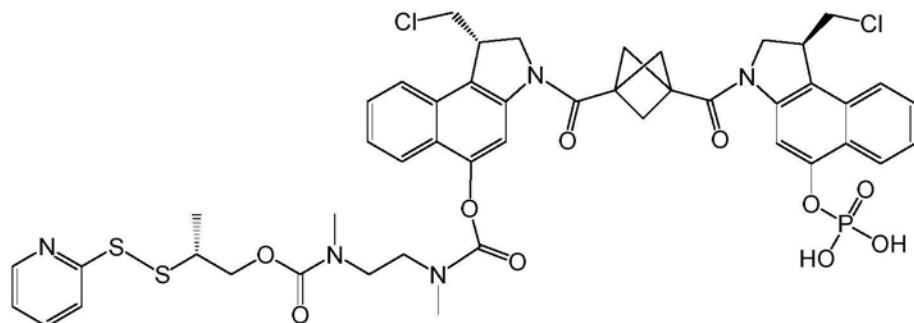
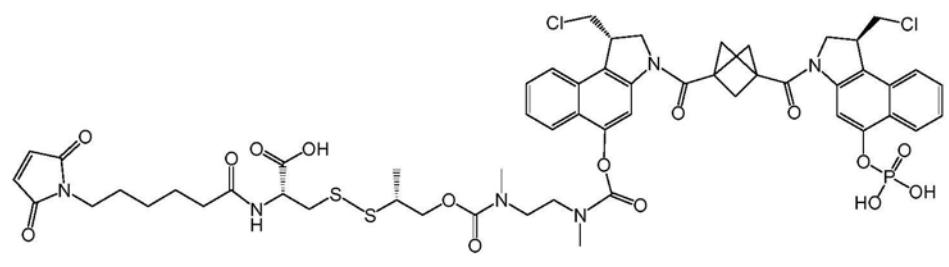
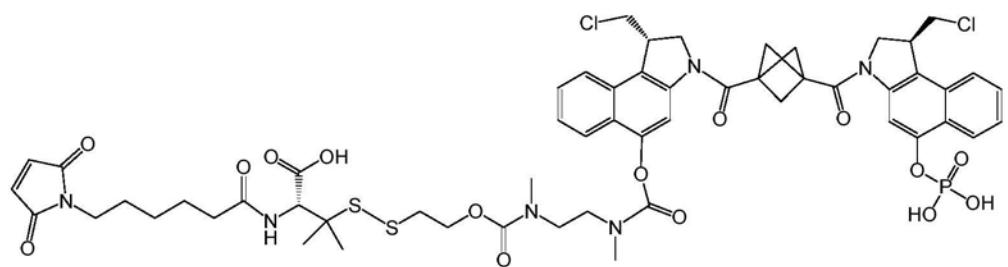


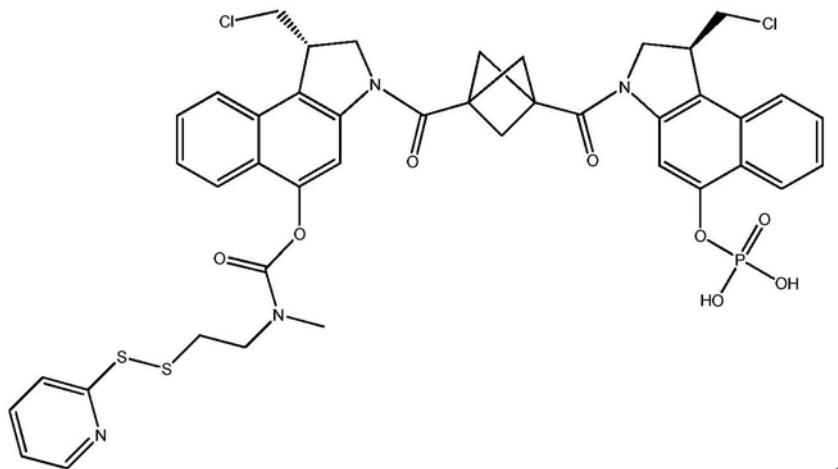


或其药学上可接受的盐。

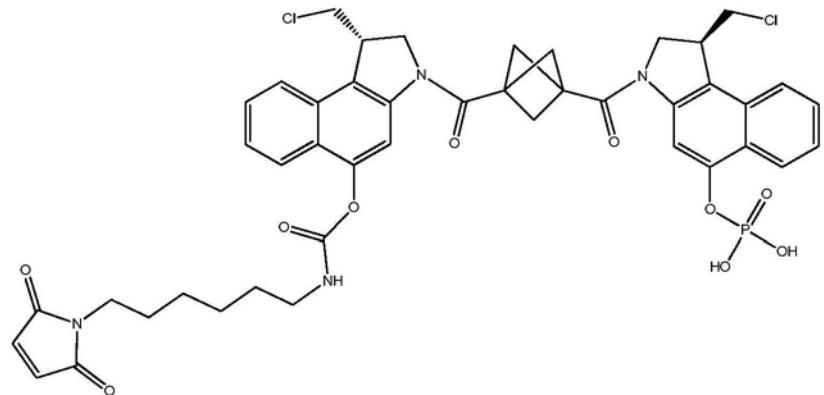
5. 一种化合物，其选自：



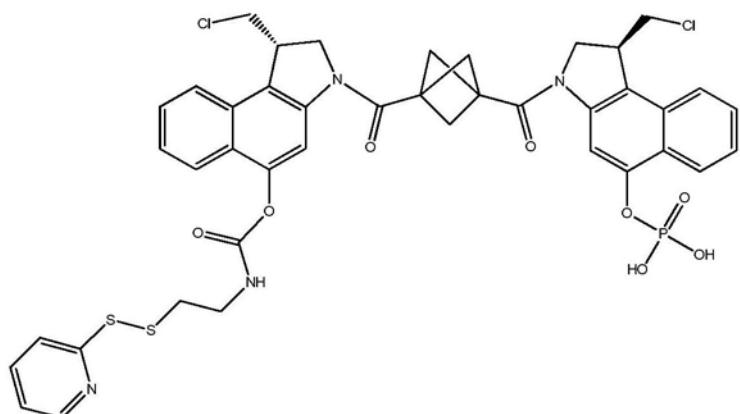




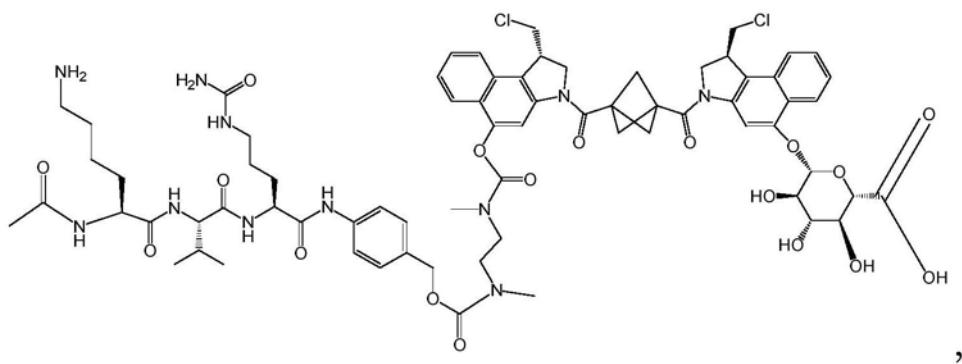
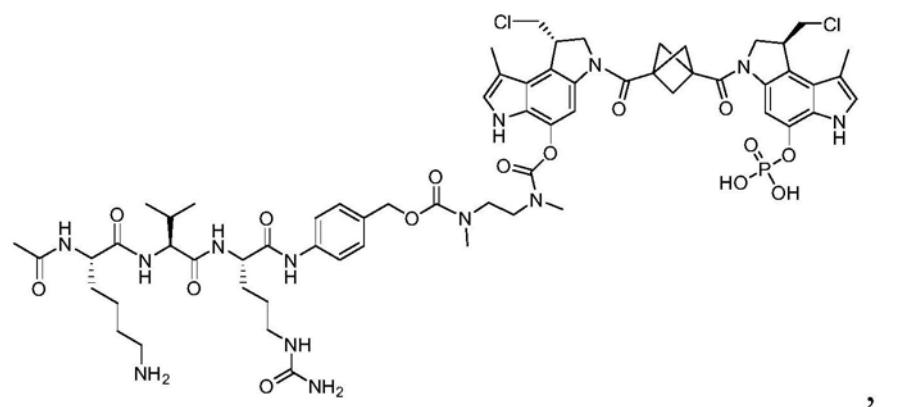
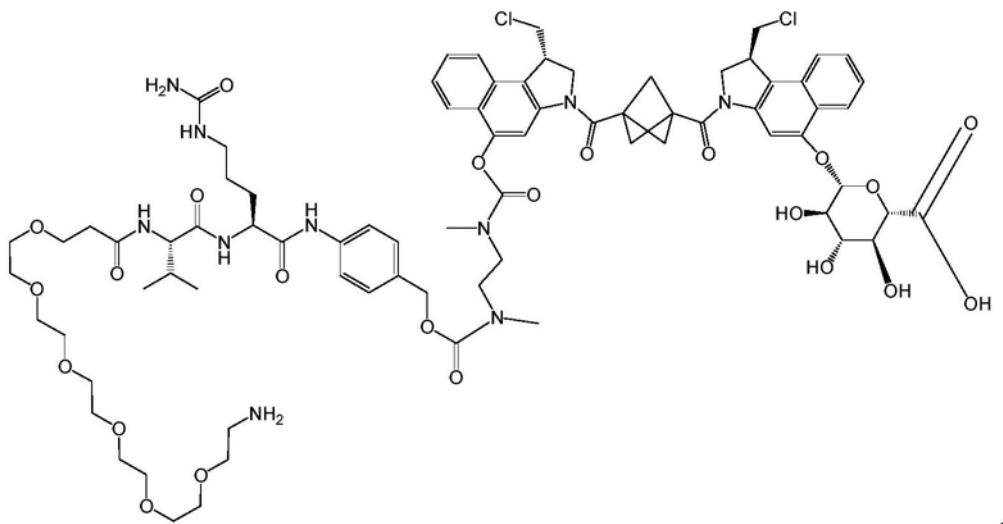
，

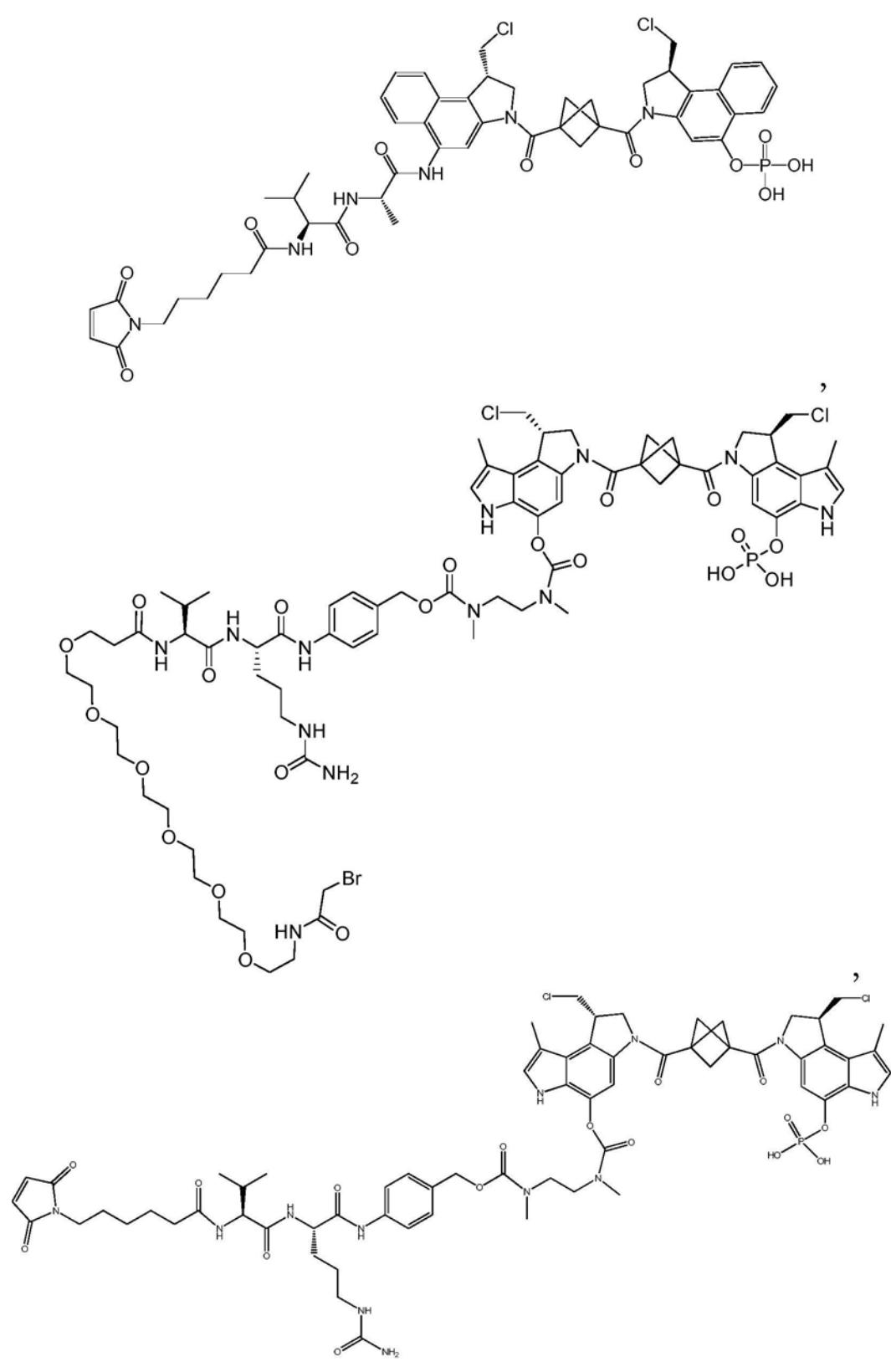


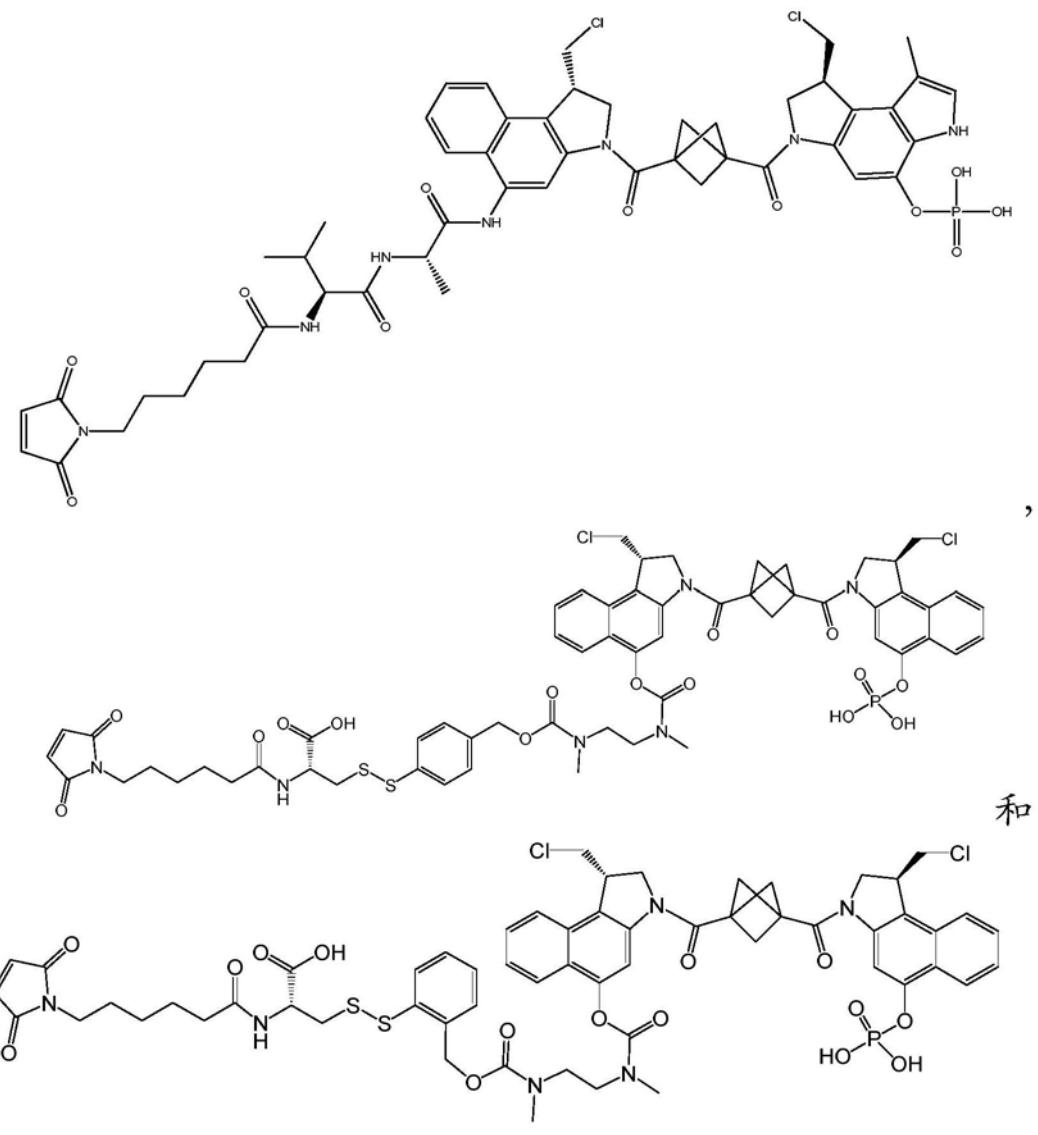
，



，

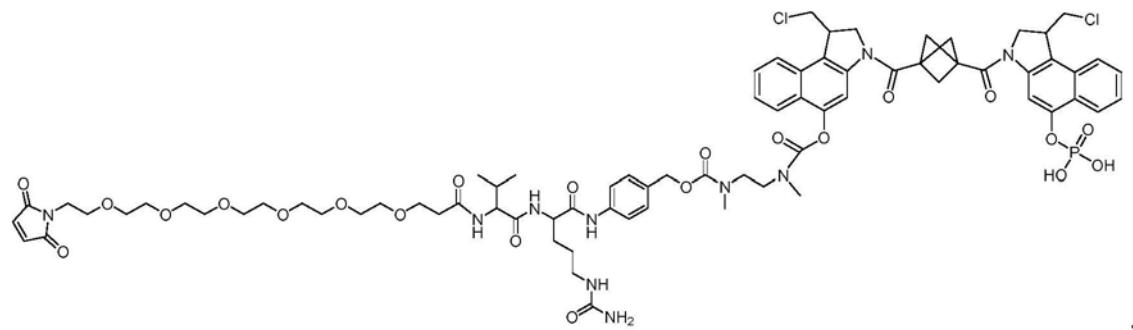


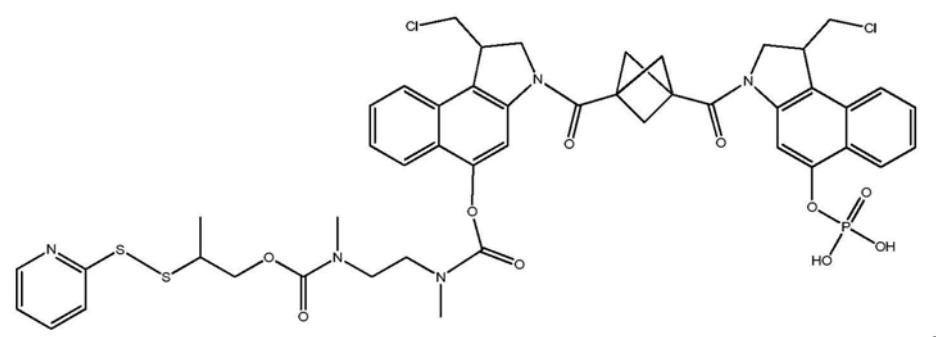
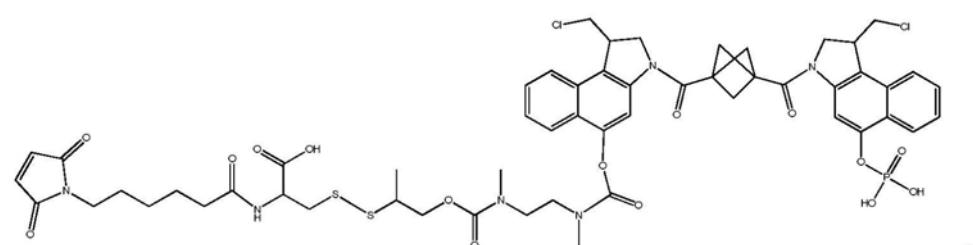
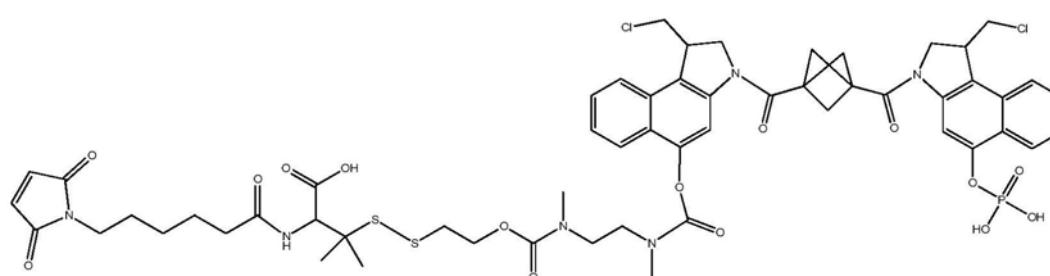
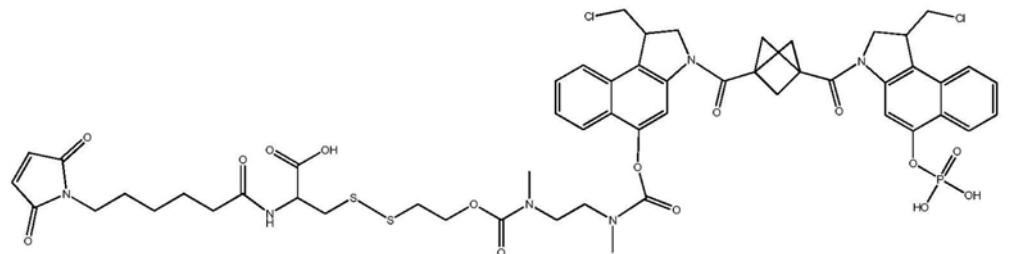
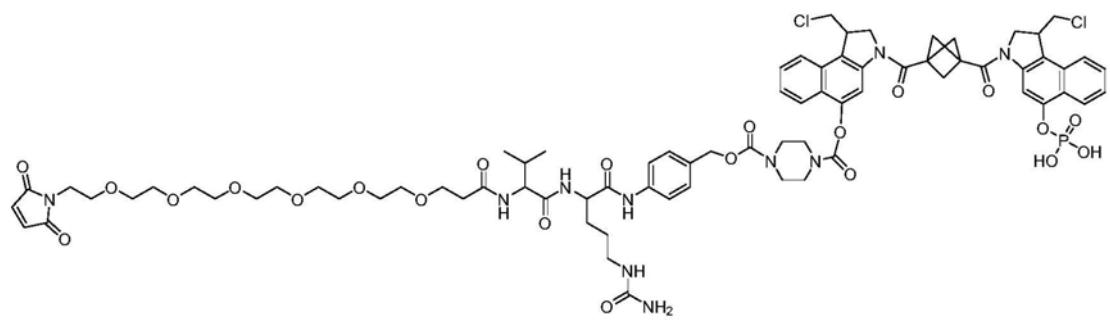


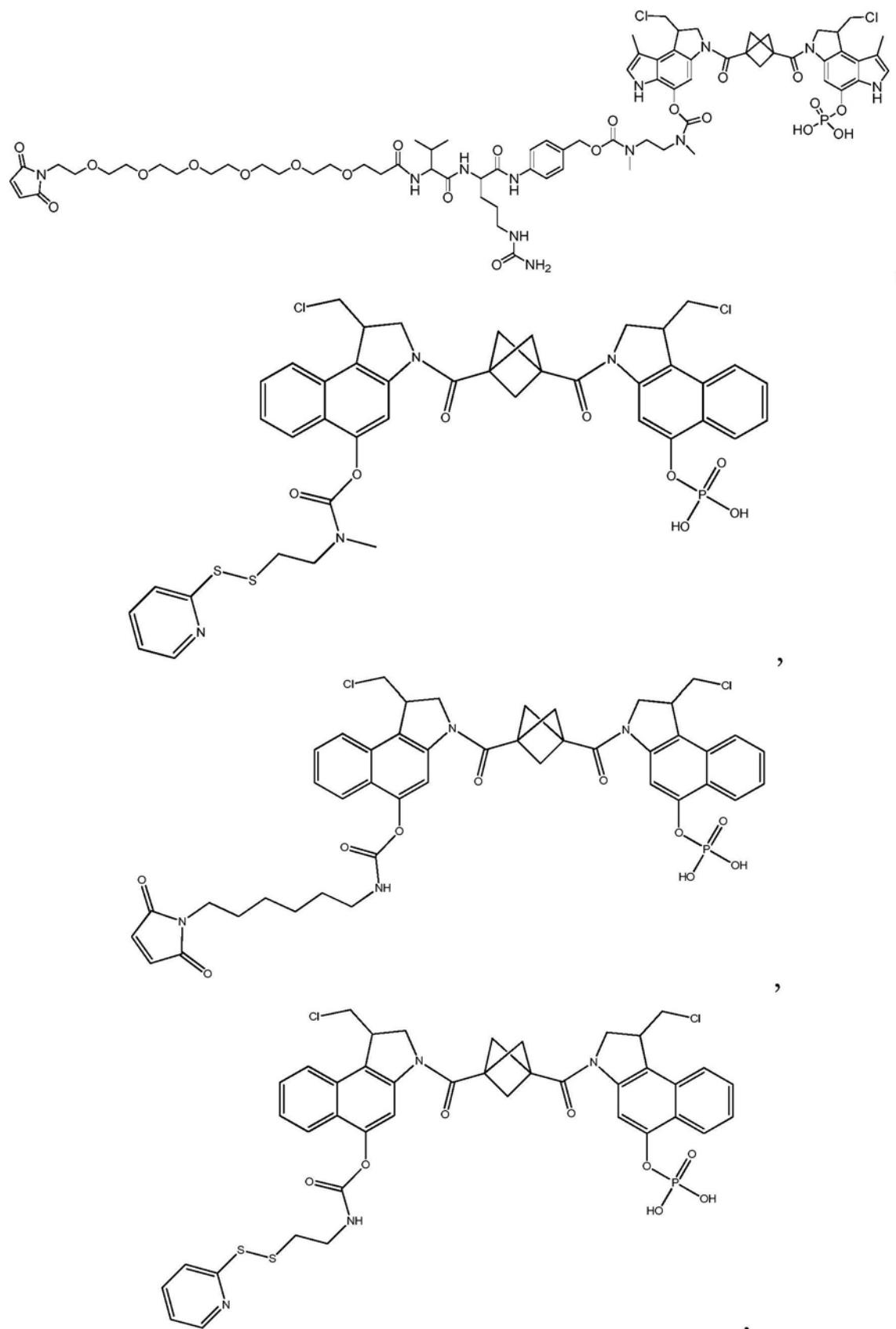


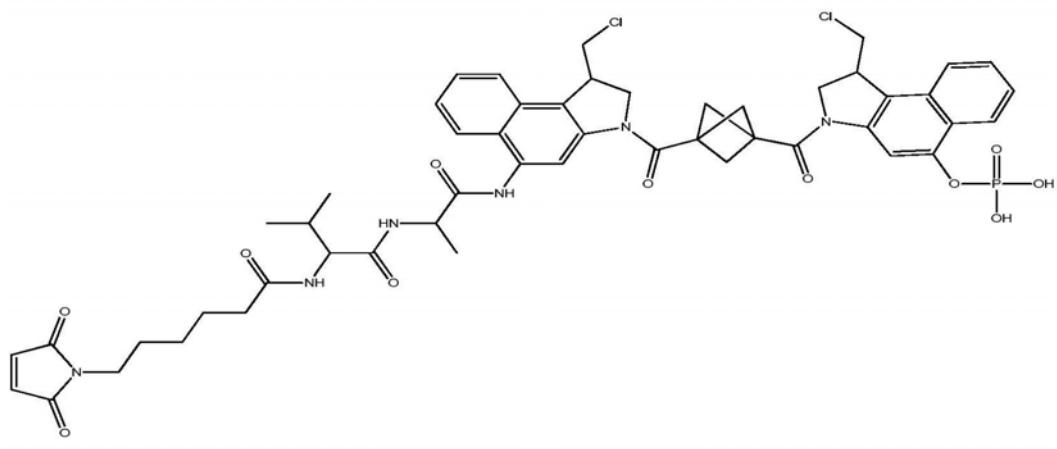
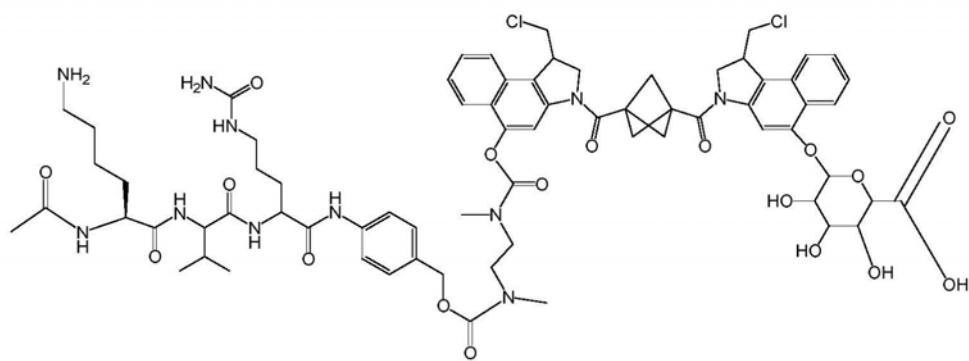
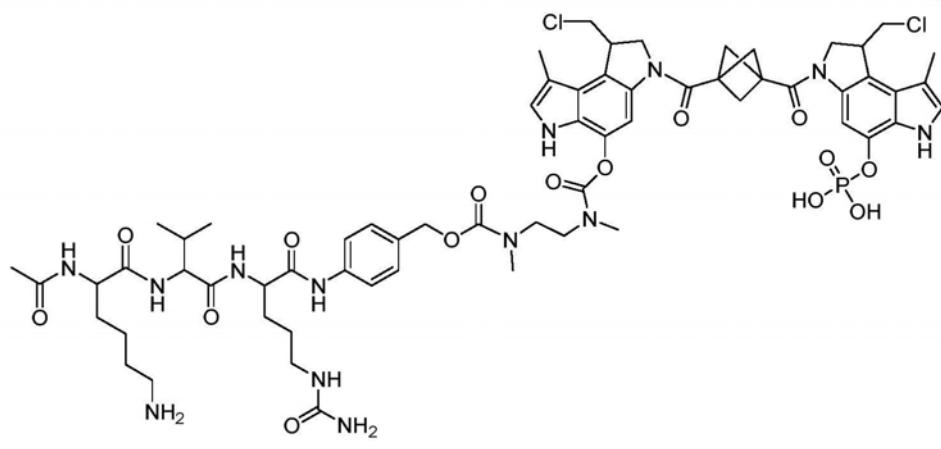
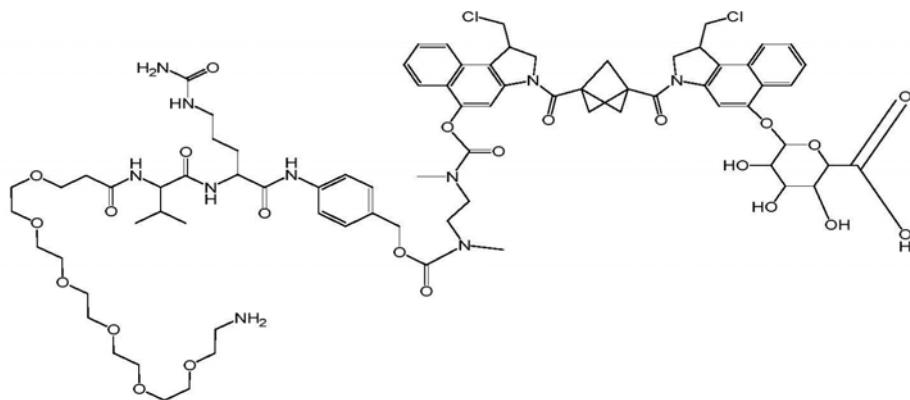
或其药学上可接受的盐。

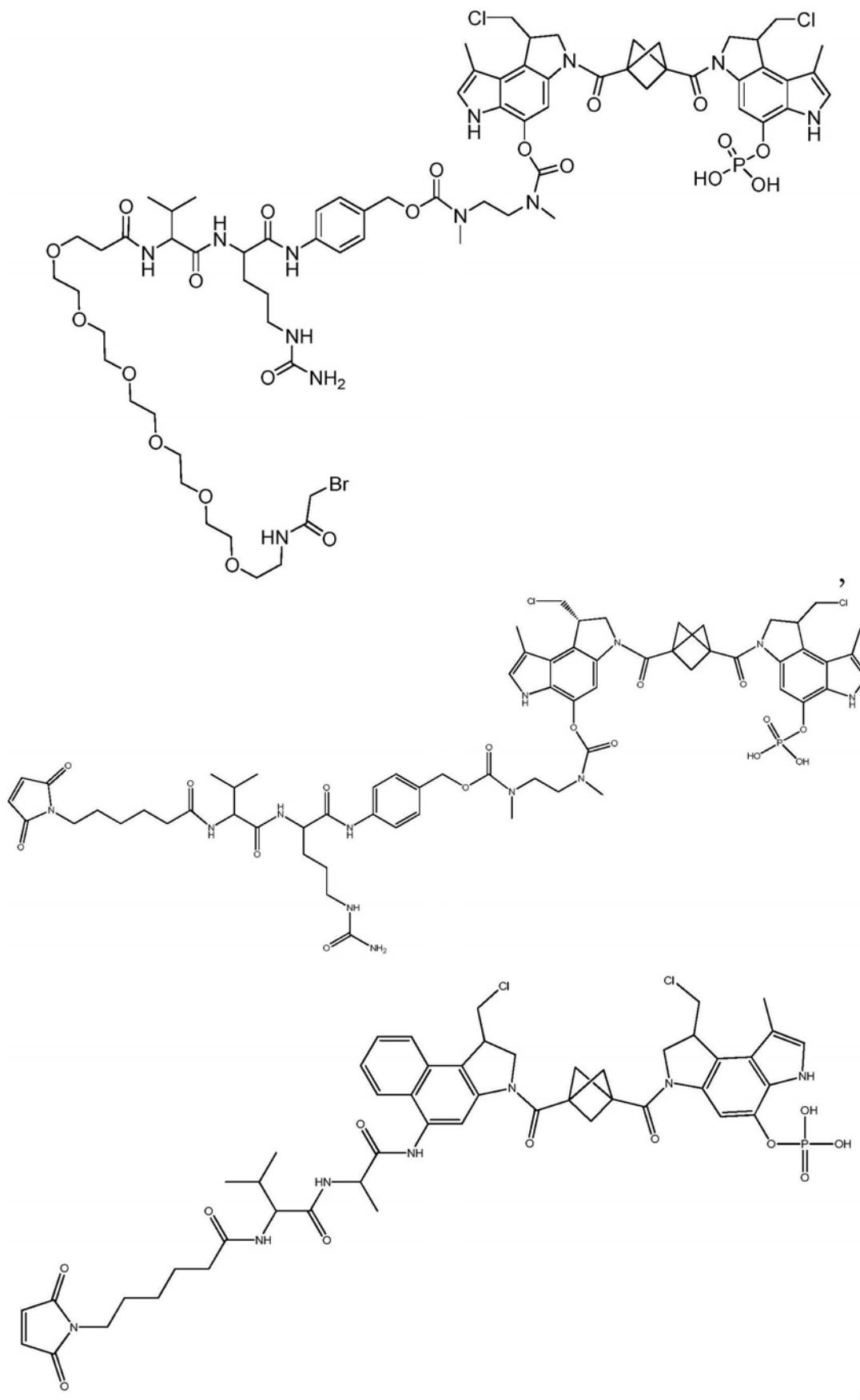
6. 一种化合物, 其选自:

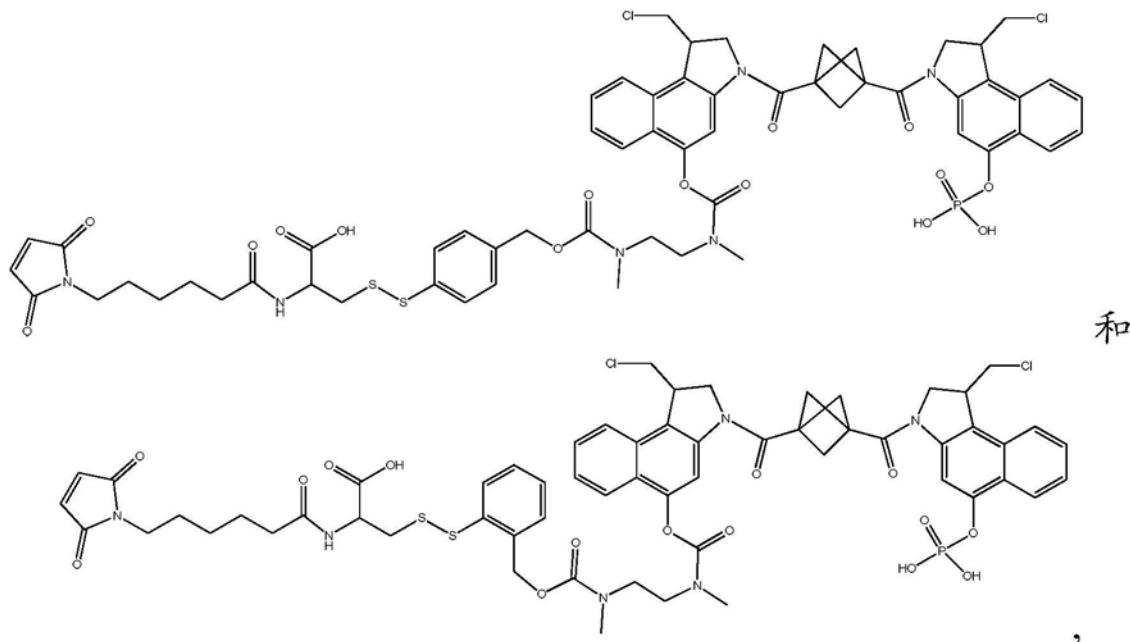






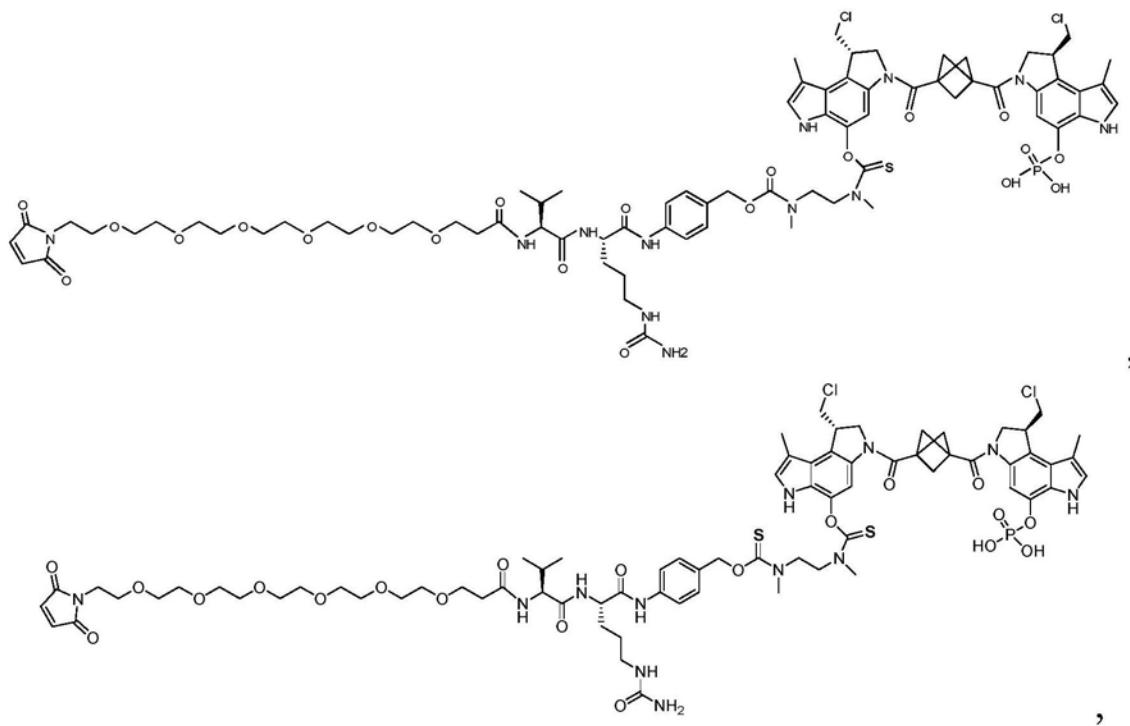


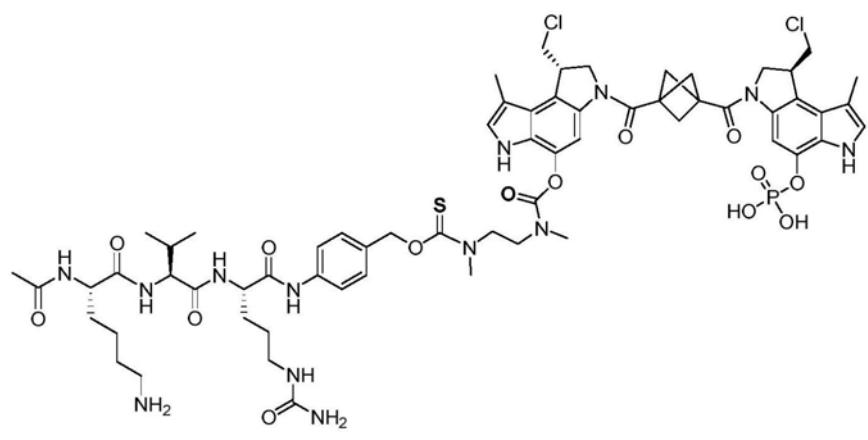
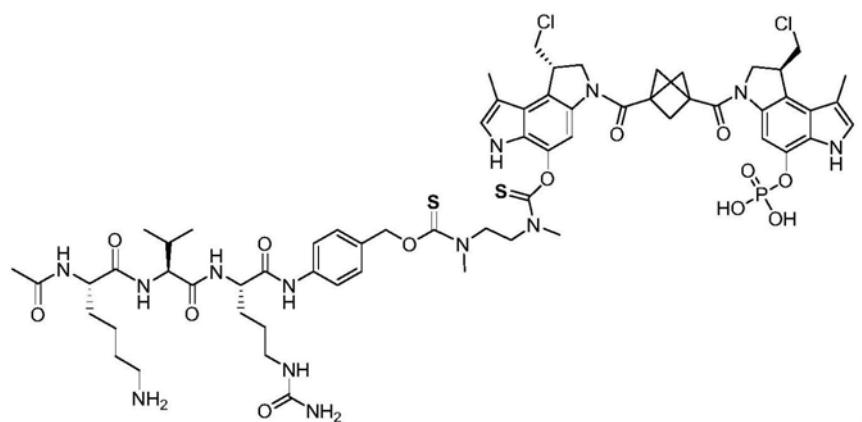
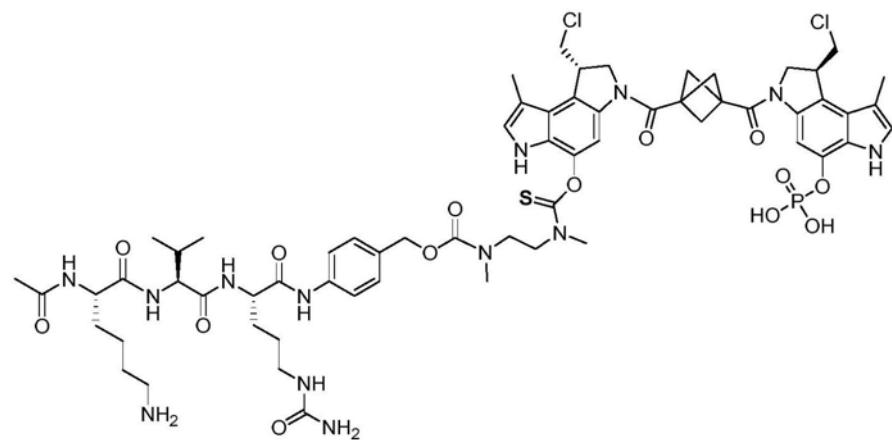
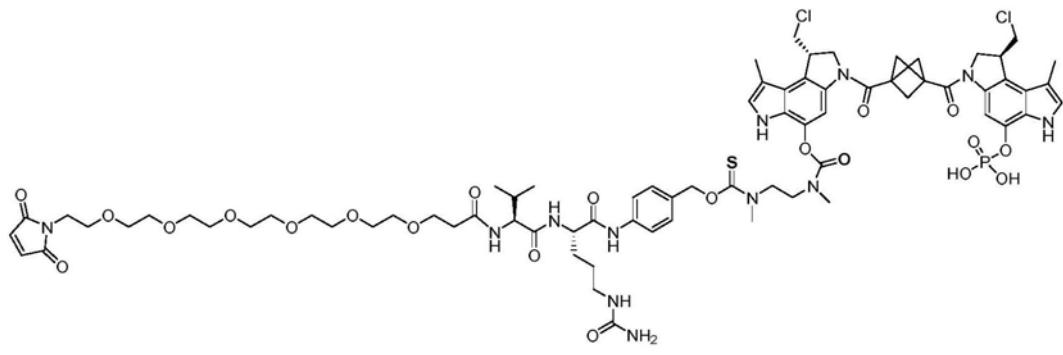


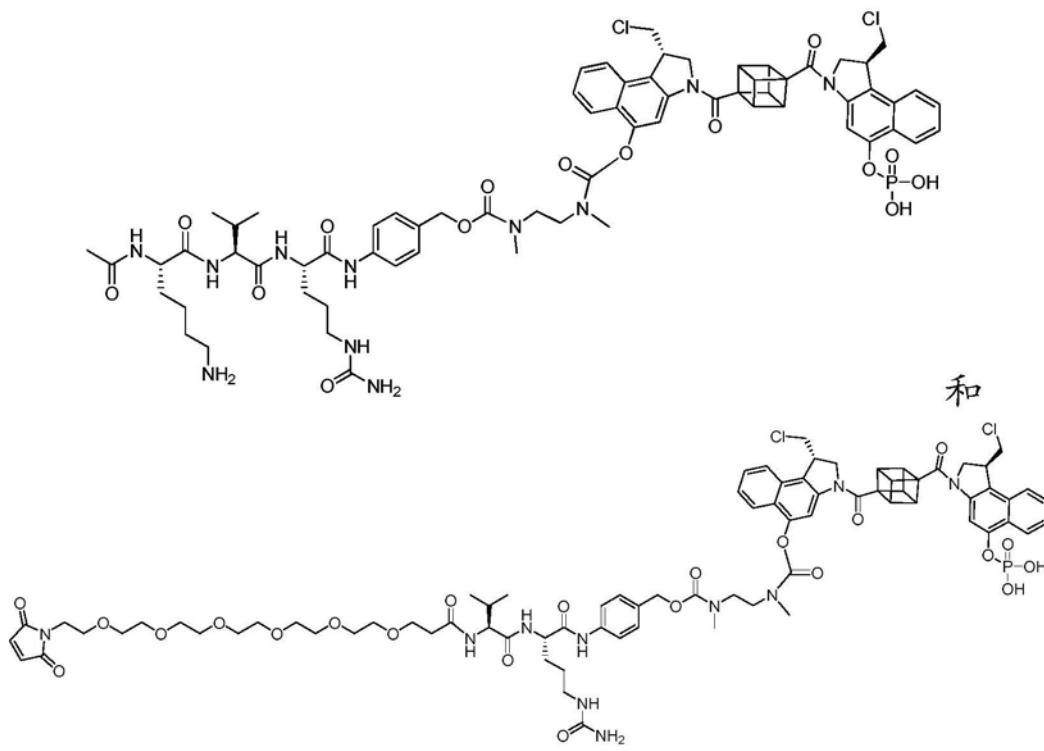


，或其药学上可接受的盐。

7. 一种化合物，其选自：

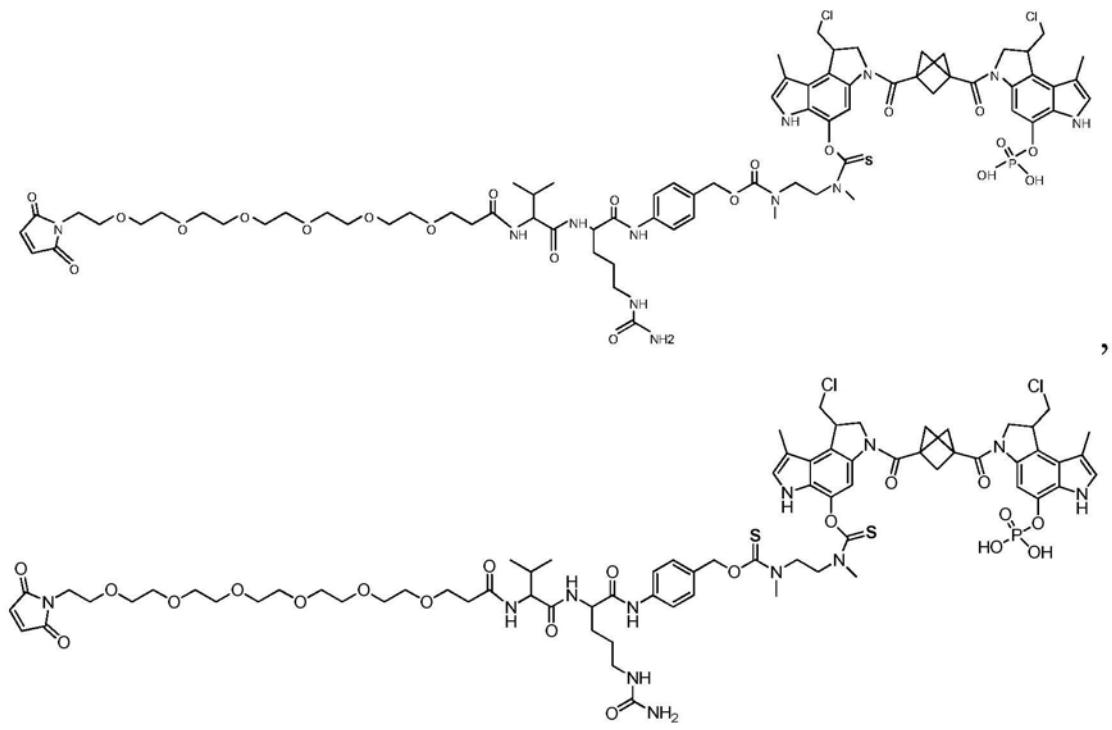


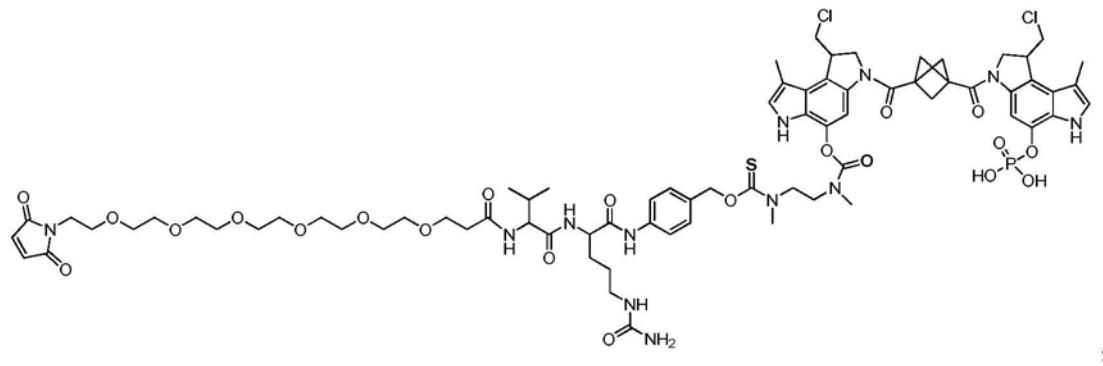




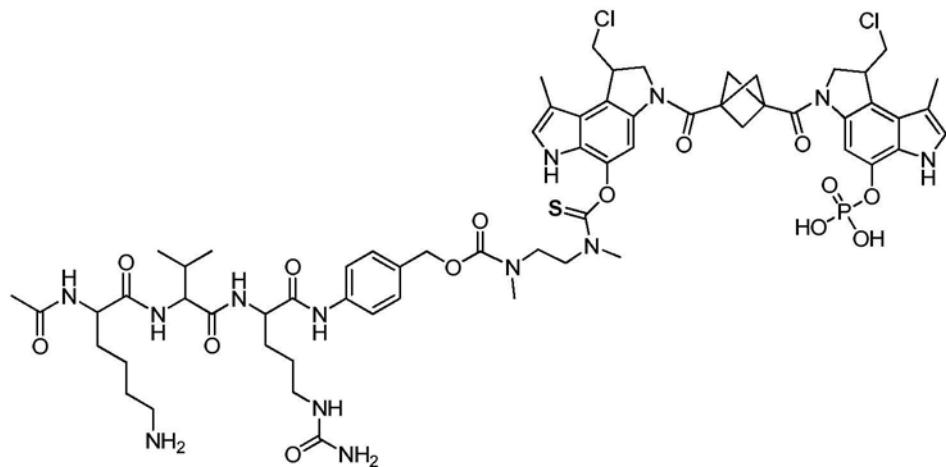
或其药学上可接受的盐。

8. 一种化合物, 其选自:

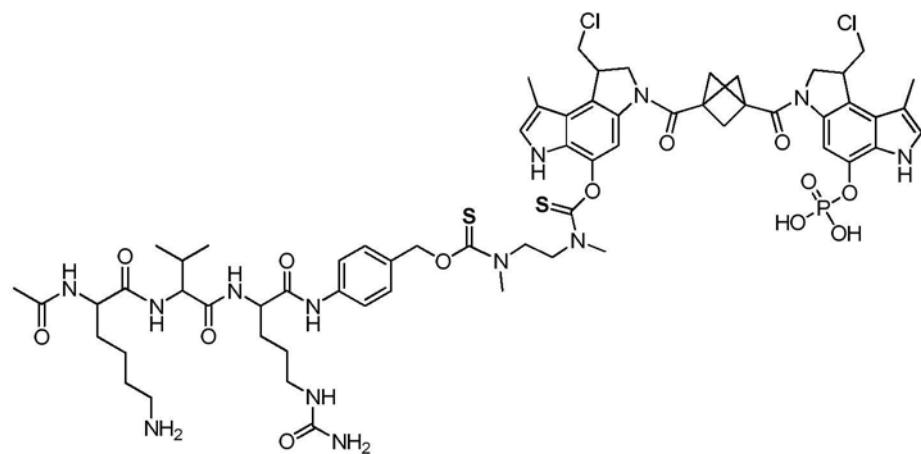




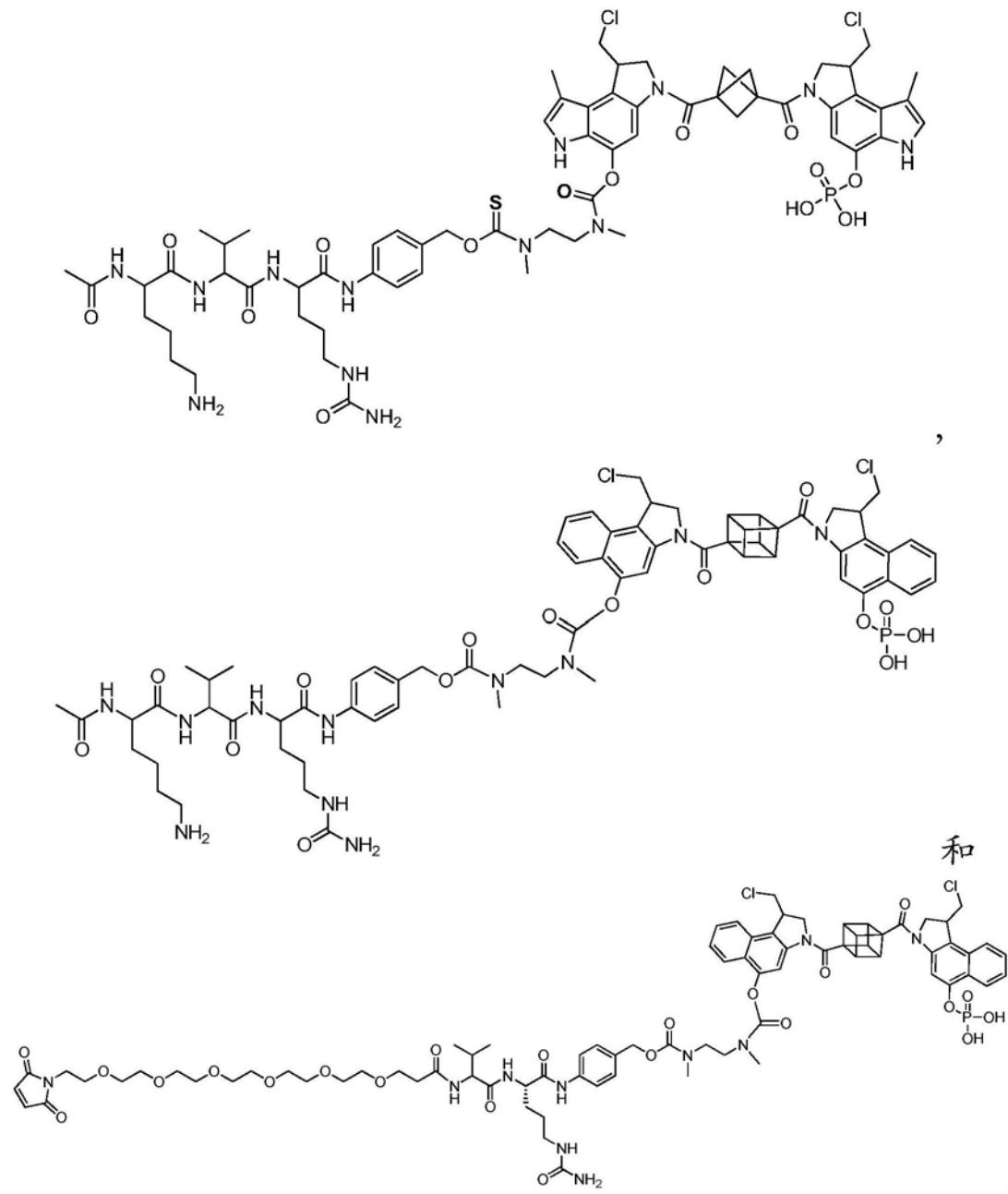
，



，

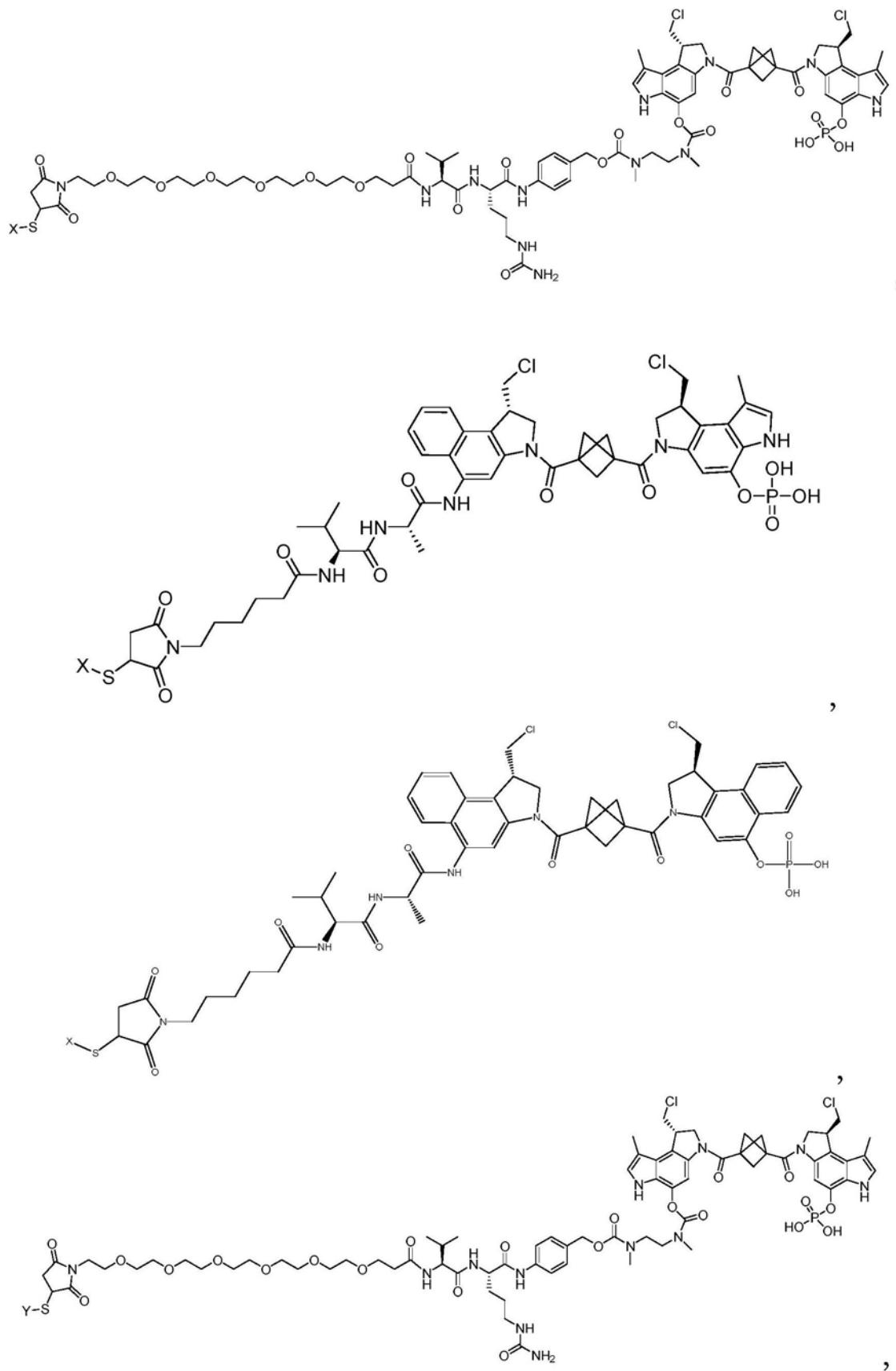


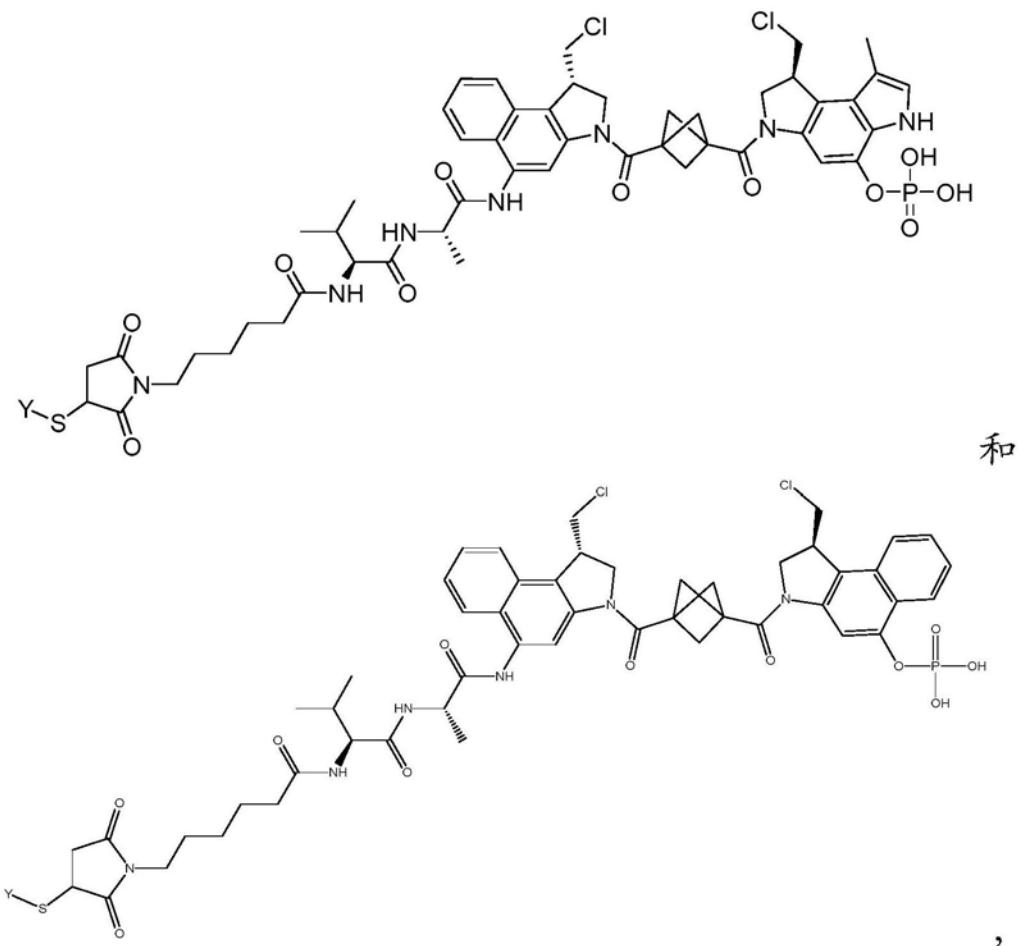
，



或其药学上可接受的盐。

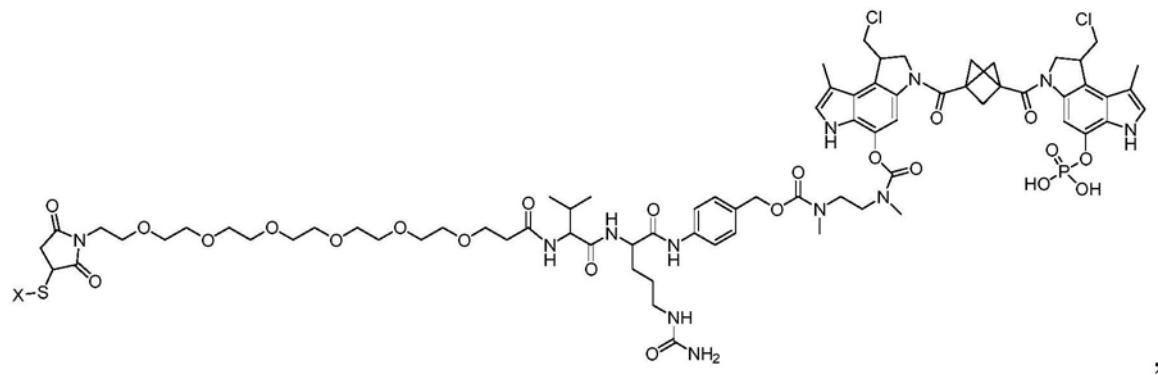
9. 一种化合物，其选自：

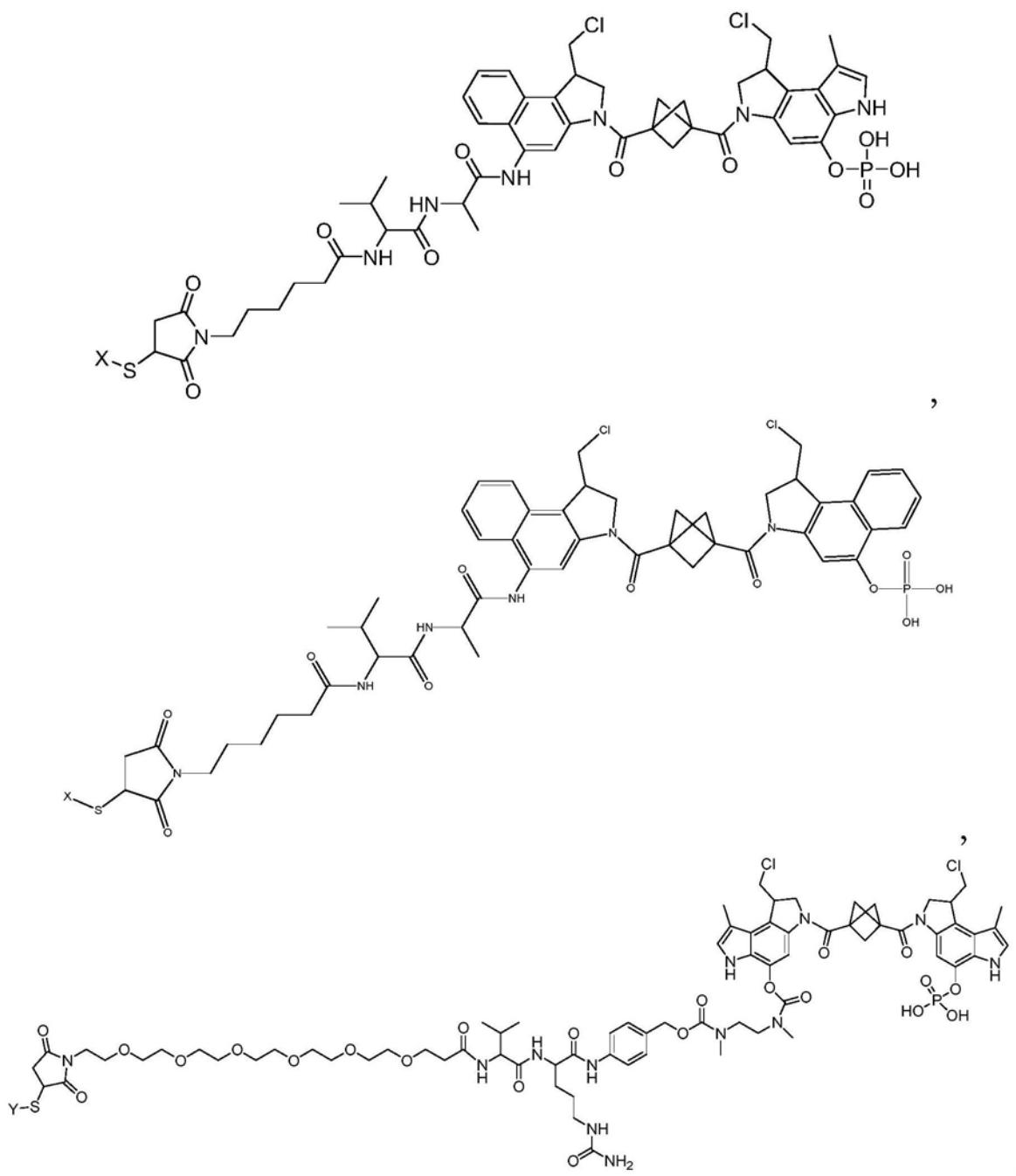


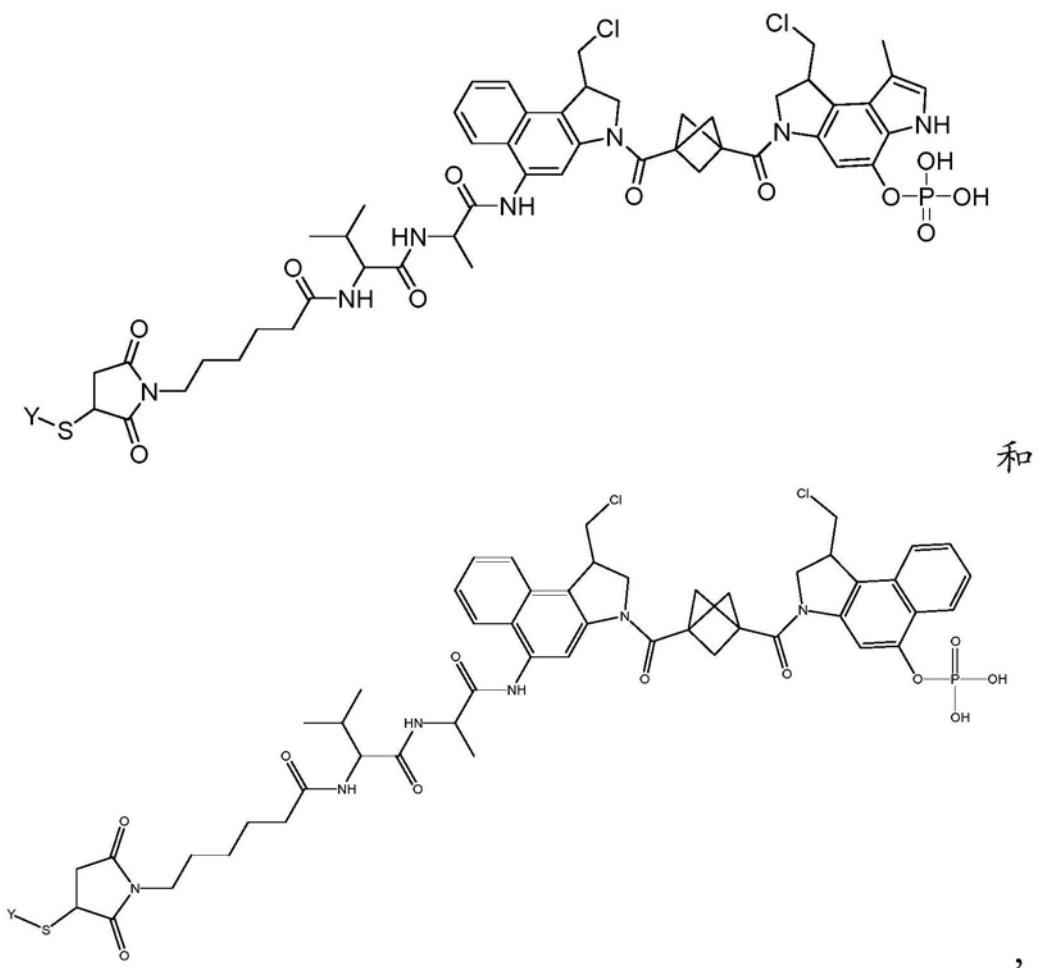


或其药学上可接受的盐，其中X为IL13抗体或者Y为VEGF抗体。

10.一种化合物，其选自：

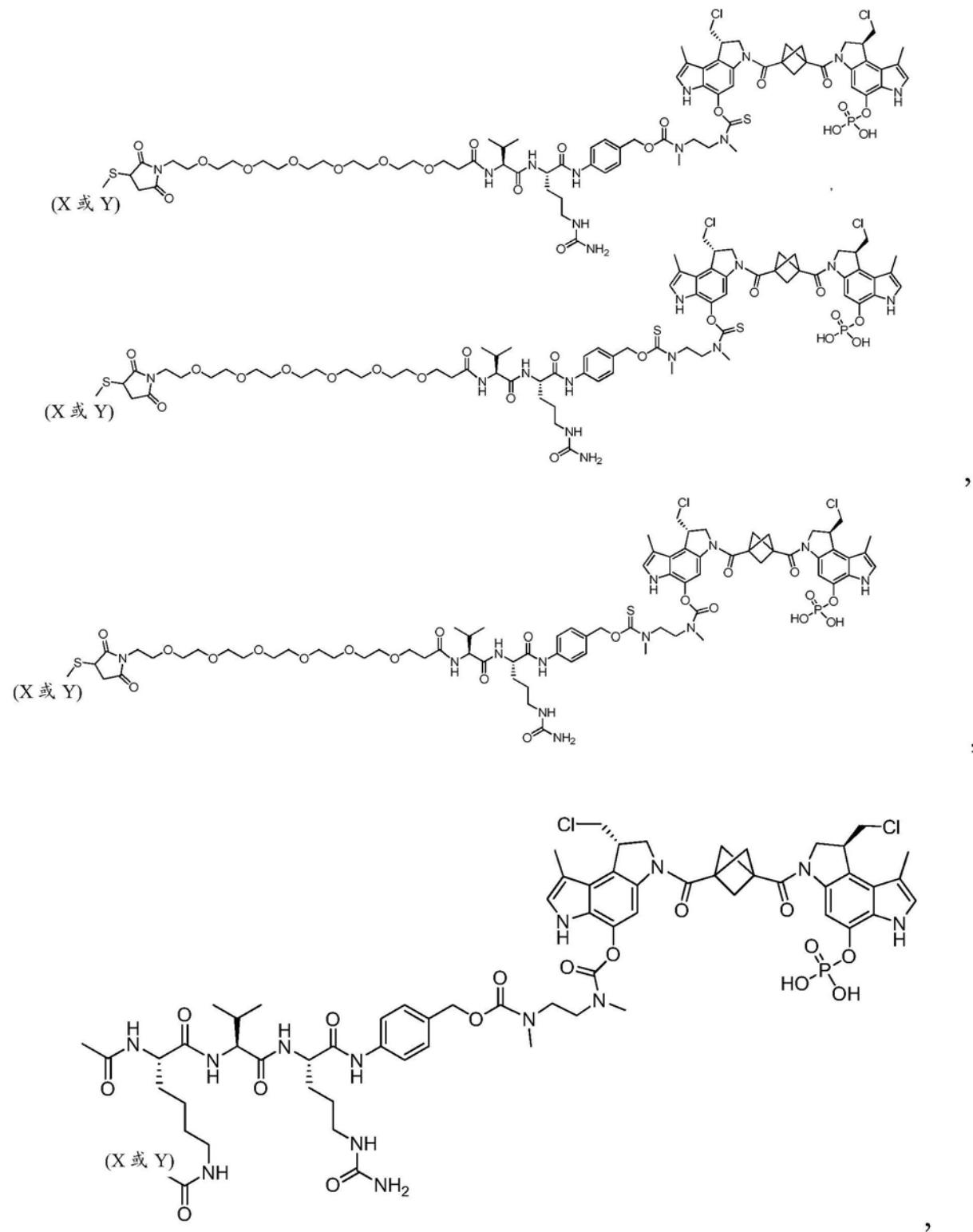


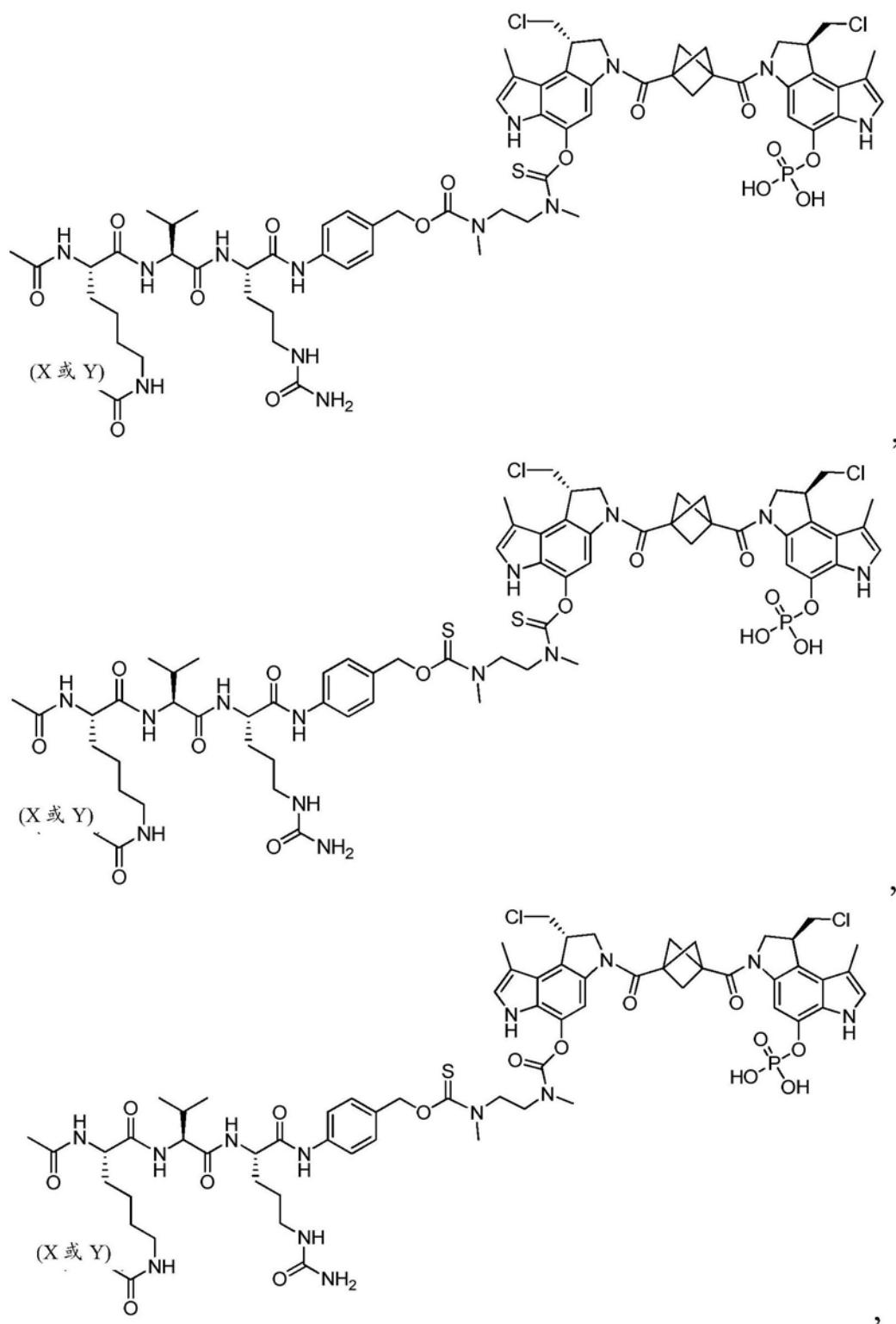




或其药学上可接受的盐，其中X为IL13抗体或者Y为VEGF抗体。

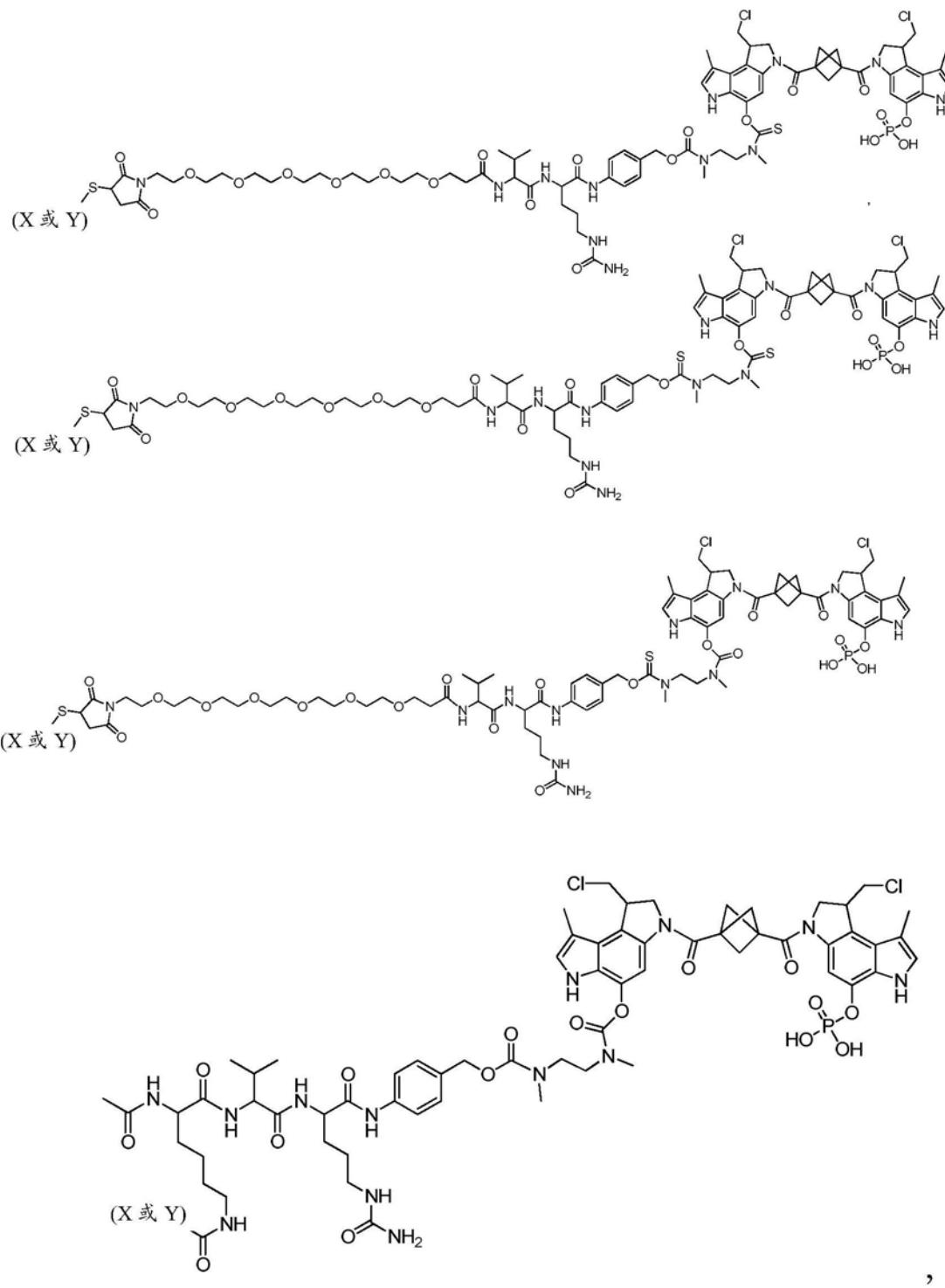
11. 一种化合物，其选自：

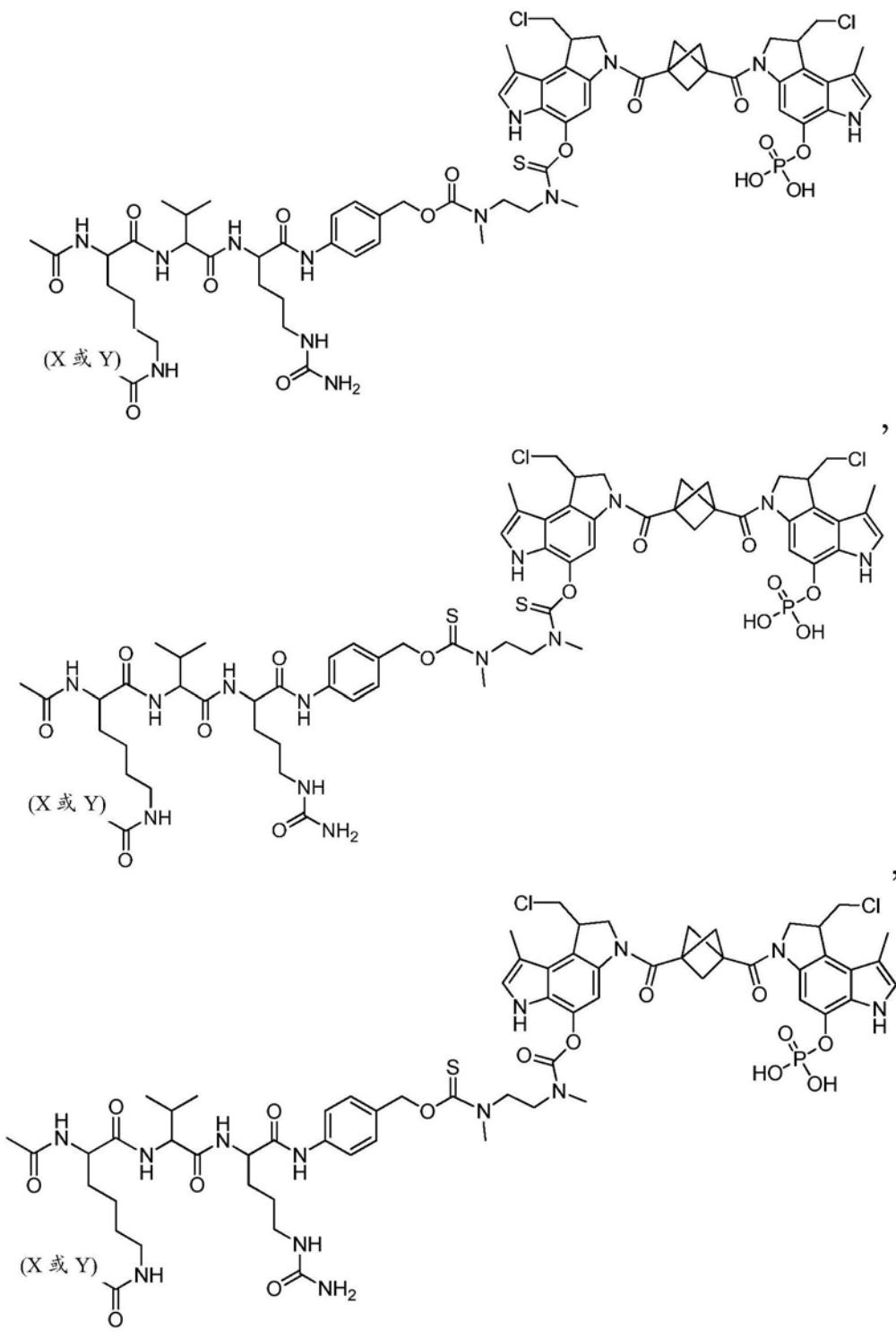




或其药学上可接受的盐，其中X为IL13抗体或者Y为VEGF抗体。

12.一种化合物，其选自：





或其药学上可接受的盐,其中X为IL13抗体或者Y为VEGF抗体。

13.一种药物组合物,其包含权利要求1至12中任一项的化合物或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的赋形剂。

14.权利要求1至12中任一项的化合物或其药学上可接受的盐或权利要求13的药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

15.权利要求14的用途,其中所述癌症为膀胱癌、乳癌、宫颈癌、结肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肺癌、食道癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、白血病及淋巴瘤。

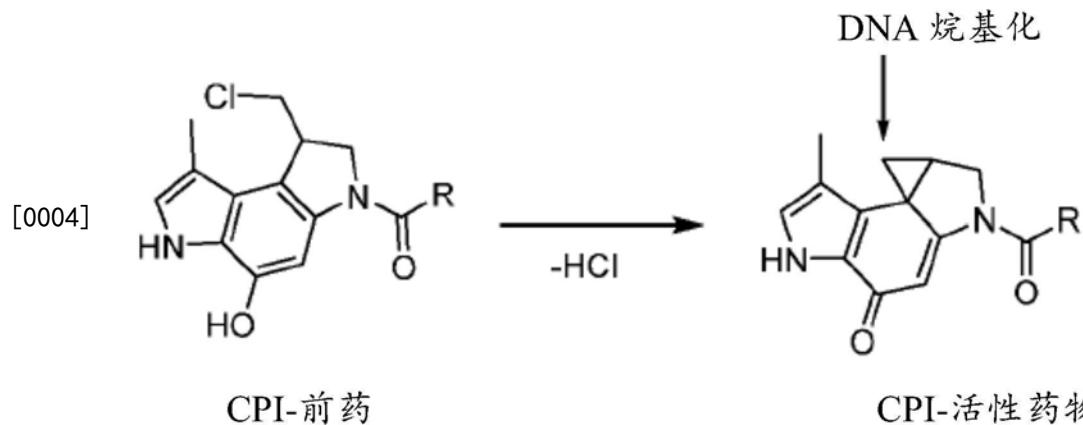
## 双功能细胞毒类药剂

### 发明领域

[0001] 本发明涉及可用于治疗增生疾病的新颖双功能CBI及CPI二聚体。该二聚体可用作为独立药物、抗体药物缀合物(ADC)中的有效负载体(payload)及在所述抗体药物缀合物的制造及施用方面有用的连接子-有效负载体化合物。本发明进一步涉及包括上述二聚体、连接子-有效负载体及抗体药物缀合物的组合物,以及使用这些二聚体、连接子-有效负载体及抗体药物缀合物治疗病理性状况(包括癌症)的方法。

### [0002] 背景

[0003] 基于CPI的单体已为近来公开案的主题。例如,化合物(+)-CC-1065及倍瘤霉素为由链霉菌属(*Streptomyces species*)的培养液中分离出来的天然产物,其已显现对培养的癌细胞及于实验动物中发挥超强活性。(+)-谷田霉素(Yatakemycin)已由链霉菌属中分离出来且代表此类天然产物的最有效成员。这些天然产物的生物活性被认为与富含AT的部位中的腺嘌呤N3藉由活化环丙烷的最少经取代的碳进行特征序列选择性DNA烷基化作用有关。此小沟结合被认为引发一连串细胞事件,导致对于倍瘤霉素所观察到的细胞凋亡(“Chemical and Biological Explorations of the Family of CC-1065and the Duocarmycin Natural Products”,*Current Topics in Medicinal Chemistry*,2009,9,1494-1524)。这些及相关类似物的关键结构模体为CPI结构,其为将DNA烷基化的反应基:

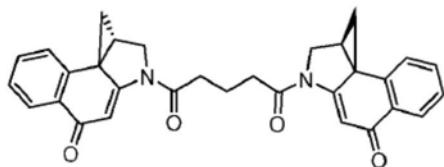


[0005] 在生物媒介中CPI前药形式通过分子内环化反应转化成活性药物种类。(术语“CPI”衍生自化学名:1,2,8,8a-四氢环丙[c]吡咯并[3,2-e]吲哚-4(5H)-酮)。因此CPI前药通过分子内环化反应转化成活性药物种类。酚合成前体(前药形式)与环丙烷衍生物本身(活性形式)相比具有不可区分的生物性质(DNA烷基化效率及选择性、体外细胞毒活性、体内抗肿瘤活性)(“Design, Synthesis, and Evaluation of Duocarmycin O-Amino Phenol Prodrugs Subject to Tunable Reductive Activation”,*J.Med.Chem.*2010,53,7731-7738)。换言之,CPI弹头是否其活性环丙烷化形式或其前药形式无关紧要。重要的关注事项是这些化合物中仅有一个CPI模体存在,因此这些化合物充当DNA单烷化剂。随后开发了该CPI结构的其它几个合成类似物,亦即,显示于(“Chemical and Biological Explorations of the Family of CC-1065and the Duocarmycin Natural Products”,*Current Topics in Medicinal Chemistry*,2009,9,1494-1524)中的那些。此参考文献中值得注意的是合成

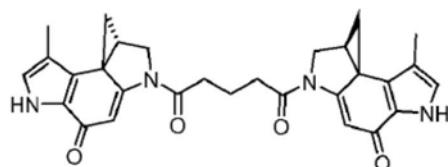
类似物CBI、CpzI、CFI、CI及CBQ。单烷基化的倍癌霉素类似物已广泛地于临床前及临床研究中进行研究(“Chemical and Biological Explorations of the Family of CC-1065and the Duocarmycin Natural Products, Current Topics in Medicinal Chemistry, 2009, 9, 1494–1524)。

[0006] 独立但相关类别的化合物为含有两个活性DNA烷基化模体(亦即,CPI)的双功能类似物。这些化合物与惯用的倍癌霉素的不同指出在于它们缺乏倍癌霉素内的部分,该部分作为DNA辨识模体发挥作用。取而代之的是,这些双功能化合物仅仅含有两个稠合一起的烷基化(亦即,两个CPI模体)。由于存在两个反应性烷基化模体,这些化合物为活性DNA交联剂,而仅有一个烷基化模体的化合物(所有倍癌霉素)则仅为DNA单烷基化剂。

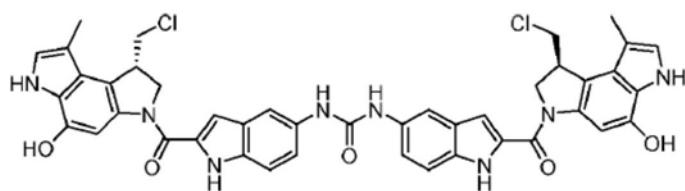
[0007]



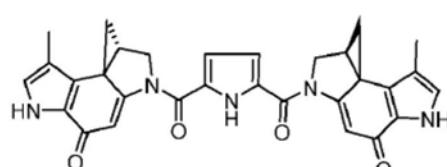
CBI-二聚体 A



CPI-二聚体 B



CPI-二聚体 (比折来新) C

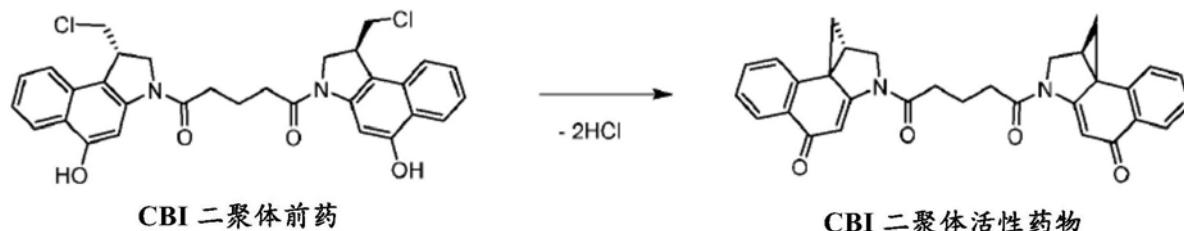


CPI-二聚体 D

[0008] 上示化合物为文献中的代表性实例且据报道为有效的细胞毒素:A (“Glycosidic Prodrugs of Highly Potent Bifunctional Duocarmycin Derivatives for Selective Treatment of Cancer”, Angew.Chem.Int.Ed. 2010, 49, 7336–7339; “Duocarmycin Analogues Target Aldehyde Dehydrogenase 1 in Lung Cancer Cells”, Angew.Chem.Int.Ed. 2012, 51, 2874–2877; “Bifunctional prodrugs and drugs”, WO 2011/054837, DE 10 2009 051 799; “The Two Faces of Potent Antitumor Duocarmycin-Based Drugs: A Structural Dissection Reveals Disparate Motifs for DNA versus Aldehyde Dehydrogenase 1Affinity”, Angew.Chem.Int.Ed. 2013, 52, 1–6. B (“Interstrand DNA Cross-linking with Dimers of the Spirocyclopropyl Alkylating Moiety of CC-1065”, J.Am.Chem.SOC.1989, 111, 6428–6429; “CC-1065analogs having two CPI subunits useful as antitumor agents and ultraviolet light absorbers”, Eur.Pat.Appl. (1990), EP 359454, 亦用于化合物C及D; C (“Synthesis and DNA Cross-Linking by a Rigid CPI Dimer”, J.Am.Chem.SOC.1991, 113, 8994–8995; “Nucleotide Preferences for DNA Interstrand Cross-Linking Induced by the Cyclopropylpyrroloindole Analogue U-77,779”, Biochemistry 1993, 32, 2592–2600; “Determination of the Structural Role of the Internal Guanine-Cytosine Base Pair in Recognition of a Seven-Base-Pair Sequence Cross-Linked

by Bizelesin”, Biochemistry 1995, 34, 11005–11016; “Analysis of the Monoalkylation and Cross-Linking Sequence Specificity of Bizelesin, a Bifunctional Alkylation Agent Related to (+)-CC-1065”, J. Am. Chem. Soc. 1993, 115, 5925–5933; “Mapping of DNA Alkylation Sites Induced by Adozelesin and Bizelesin in Human Cells by Ligation-Mediated Polymerase Chain Reaction”, Biochemistry 1994, 33, 6024–6030; “DNA Interstrand Cross-Links Induced by the Cyclopropylpyrroloindole Antitumor Agent Bizelesin Are Reversible upon Exposure to Alkali”, Biochemistry 1993, 32, 9108–9114; “Replacement of the Bizelesin Ureadiyl Linkage by a Guanidinium Moiety Retards Translocation from Monoalkylation to Cross-Linking Sites on DNA”, J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 3434–3442; “DNA interstrand cross-linking, DNA sequence specificity, and induced conformational changes produced by a dimeric analog of (+)-CC-1065”, Anti-Cancer Drug Design (1991), 6, 427–452; “A phase I study of bizelesin, a highly potent and selective DNA interactive agent, in patients with advanced solid malignancies”, Ann Oncol. 2003 May; 14(5): 775–782; “A Phase I study of bizelesin (NSC 615291) in patients with advanced solid tumors”, Clin Cancer Res. 2002, 8, 712–717; “Solution conformation of a bizelesin A-tract duplex adduct:DNA-DNA cross-linking of an A-tract straightens out bent DNA”, J Mol Biol. 1995, 252, 86–101; “Preclinical pharmacology of bizelesin, a potent bifunctional analog of the DNA-binding antibiotic CC-1065”, Cancer Chemother Pharmacol. 1994, 34, 317–322. D (“CC-1065analog having two CPI subunits useful as antitumor agents and ultraviolet light absorbers”, Eur. Pat. Appl. (1990), EP 359454。活性DNA烷基化模体原则上可以其前药形式存在,该前药形式于生物媒介中转化成活性药物,或者以其活性状态存在,其不需进一步转化。有关双功能交联剂的前药-活性药物转化以CBI二聚体为例显示如下:

[0009]



[0010] 相同的转化发生于所有以其前药状态存在的双功能交联剂。已报告了其它相关的双功能交联剂。(“Chemical and Biological Explorations of the Family of CC-1065and the Duocarmycin Natural Products”, Current Topics in Medicinal Chemistry, 2009, 9, 1494–1524; “DNA interstrand cross-linking agents and their chemotherapeutic potential”, Curr Med Chem. 2012, 19, 364–385; “Design and Synthesis of a Novel DNA-DNA Interstrand Adenine-Guanine Cross-Linking Agent”, J. Am. Chem. Soc. 2001, 123, 4865–4866; “Effect of base sequence on the DNA cross-linking properties of pyrrolobenzodiazepine (PBD) dimers”, Nucleic Acids

Res.2011,39,5800–5812; “Sequence-selective recognition of duplex DNA through covalent interstrand cross-linking:kinetic and molecular modeling studies with pyrrolobenzodiazepine dimers”, Biochemistry.2003,42,8232–8239; “Bifunctional alkylating agents derived from duocarmycin SA:potent antitumor activity with altered sequence selectivity”, Bioorg Med Chem Lett.2000,10,495–498; “Design, Synthesis and Cytotoxicity Evaluation of 1-Chloromethyl-5-hydroxy-1,2-dihydro-3H-benz[e]indole (seco-CBI) Dimers”, Bioorganic&Medicinal Chemistry 2000,8,1607–1617。

[0011] 关于包含单体开环-CBI (seco-CBI) 的细胞毒素的磷酸盐前药策略已描述在 Zhao 等人 (“Synthesis and biological evaluation of antibody conjugates of phosphate prodrugs of cytotoxic DNA alkylators for the targeted treatment of cancer”, J.Med.Chem.2012,55,766–782) 及 Zhang 等人 (“Immunoconjugates containing phosphate-prodrugged DNA minor groove binding agents, compositions containing them, and methods of making them and their use for treating cancer”, WO 2012/162482) 中。

[0012] 上述具有两个CBI和/或CPI核接合在一起形成二聚体种类(所谓的CBI二聚体、CPI二聚体或CBI/CPI二聚体)的化合物中没有一个被考虑作为有效负载体用于抗体药物缀合物(ADC)中。

[0013] 药物与抗体的缀合(直接地或经由连接子)涉及多种因素的考虑,包括用于药物缀合的化学基团的身份及位置、药物释放的机制、提供药物释放的结构组件及对所释放的游离药物的结构修饰。此外,如果药物于抗体内化后释放,则药物释放的机制必须与缀合物的细胞内运输一致。

[0014] 虽然许多不同的药物类别已被尝试用于藉由抗体递送,但仅有少数药物类别证实有效作为抗体药物缀合物,同时保持适当的毒性特征。一种这样的类别为奥里斯他汀类(auristatins),即天然产物多拉司他汀(海兔毒素)10的衍生物。代表性奥里斯他汀包括(N-甲基缬氨酸-缬氨酸-海兔异亮氨酸(dolaisoleuine)-海兔脯氨酸(dolaproline)-降麻黄碱)及(N-甲基缬氨酸-缬氨酸-海兔异亮氨酸-海兔脯氨酸-苯丙氨酸)。其它相关的微管蛋白结合剂包括美登素类(例如参见以WO 2005/037992公开的“Cell-binding agent-maytansinoid conjugates linked via a noncleavable linker, preparation methods, and methods using them for targeting specific cell populations”)。其它已用于与抗体连接的细胞毒药物包括DNA结合性药物诸如卡奇霉素,其导致序列特异性双股DNA的裂解。其它类别的用于抗体药物缀合物中的DNA结合性细胞毒药物包括二聚吡咯并苯并二氮杂革类(例如参见以W02013/041606公开的“Preparation of unsymmetrical pyrrolobenzodiazepines dimers for inclusion in targeted conjugates”)。另一类已尝试抗体递送的此这样的药物为DNA结合性烷化剂,诸如倍癌霉素类似物CC-1065(参见以W02010/062171公开的“Preparation of CC-1065 analogs and their conjugates for treatment of cancer”)及相关化合物(参见以W0 2007/038658公开的“Antibody-drug peptide conjugates for use as cytotoxins in cancer treatment”,以及以W02012/162482公开的“Immunoconjugates containing phosphate-prodrugged DNA minor

groove binding agents, compositions containing them, and methods of making them and their use for treating cancer”。然而,这些药物全部具有与疾病适应症及治疗特性有关的限制,因此对于可经由抗体缀合递送的具有改良性质的另外药物仍然存在需求。因此,本发明提供具有二聚体作为有效负载体的新颖抗体药物缀合物。

[0015] 发明概述

[0016] 本发明描述新结构的二聚体类似物,其含有新颖的连接子组件。这些新颖的间隔子模体导致化合物具有不同的生物学性质,例如在肿瘤细胞增殖试验中的改进活性及血浆稳定性。本发明亦描述用于相应CPI二聚体及CBI-CPI混合结构的新颖间隔子组件。

[0017] 此外,本发明是第一个以与抗体药物缀合物关联的模式公开所述这些化合物,且将这些化合物结合在靶向抗体药物缀合物中是一种显著的进步。

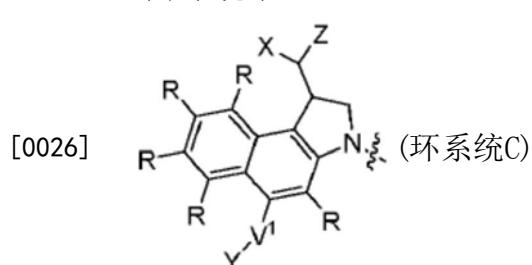
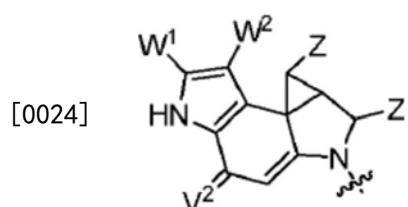
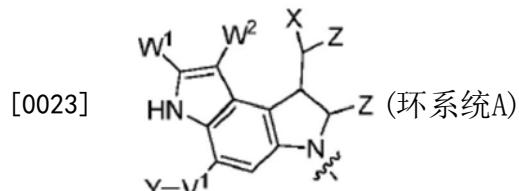
[0018] 本发明涉及包含基于CBI的和/或基于CPI的(包括本申请中详述的CBI和/或CPI的开环形式)的亚单元的细胞毒二聚体、包含该二聚体的抗体药物缀合物,以及使用它们治疗癌症的方法。CBI及CPI结构二者均可以其开环形式表示且可如本申请中所详述地被取代及衍生化。

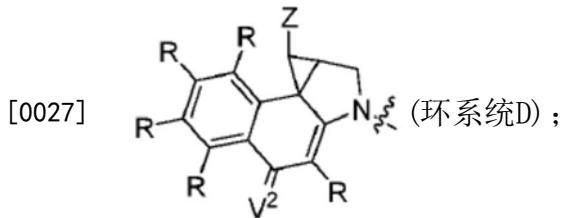
[0019] 因此,本发明涉及化合物及包含它们的药物组合物、它们的制备以及化合物作为(主要地但非排它地)抗癌剂的用途。根据一方面,本发明涉及式I的“有效负载体”化合物,

[0020]  $F^1-L^1-T-L^2-F^2$  (式I)

[0021] 或其药学上可接受的盐或溶剂化物,其中:

[0022]  $F^1$ 及 $F^2$ 各自独立地选自环系统A、B、C及D:





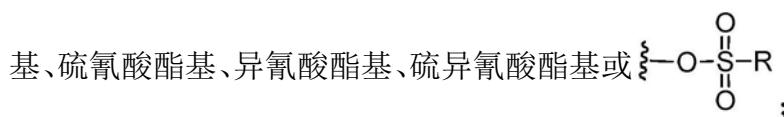
[0028] 对于出现R的每一环系统而言,R各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基、-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔基、卤代、羟基、烷氧基、-NH<sub>2</sub>、-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基及-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基,其中二个或更多个R任选地接合以形成一个环或多个环,且其中所述-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基及-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基任选地被1至5个取代基取代,该取代基独立地选自-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、-卤代、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷硫基、-三氟甲基、-NH<sub>2</sub>、-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷硫基、-NO<sub>2</sub>或-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基;

[0029] 对于V<sup>1</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>1</sup>各自独立地为键、O、N(R)或S;

[0030] 对于V<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>2</sup>各自独立地为O、N(R)或S;

[0031] 对于W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>各自独立地为H、-C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基、-苯基、-C(O)OR、-C(O)SR、-C(O)NHN(R)<sub>2</sub>或-C(O)N(R)<sub>2</sub>;

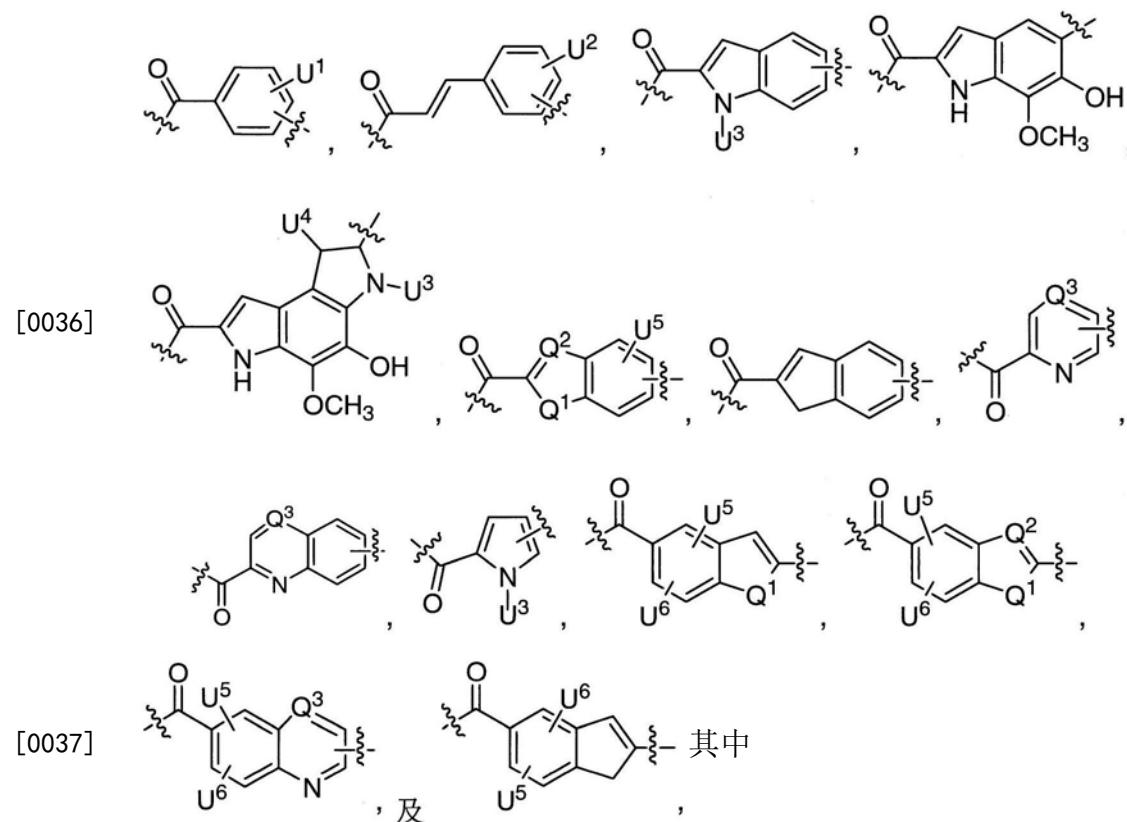
[0032] 对于出现X的每一环系统而言,X各自独立地为-OH、-O-酰基、叠氮基、卤代、氰酸酯



[0033] 对于出现Y的每一环系统而言,Y各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-R<sup>A</sup>、-C(O)R<sup>A</sup>、-C(S)R<sup>A</sup>、-C(O)OR<sup>A</sup>、-S(O)OR<sup>A</sup>、-C(O)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、-C(S)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、糖基、-NO<sub>2</sub>及-PO(OR<sup>A</sup>)<sub>2</sub>,其中R<sup>A</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基及-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)<sub>2</sub>,其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基及-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)<sub>2</sub>任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代;

[0034] 对于出现Z的每一环系统而言,Z各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(O)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(O)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C(O)OH、-C(O)NHNH<sub>2</sub>及-C(O)-卤代,且其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(O)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(O)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C(O)OH、-C(O)NHNH<sub>2</sub>及-C(O)-卤代各自任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代;

[0035] L<sup>1</sup>及L<sup>2</sup>各自独立地选自直接键、羰基或于酰基部分键合至F<sup>1</sup>或F<sup>2</sup>的羰基酰基,其中所述羰基酰基选自由以下基团组成的组:

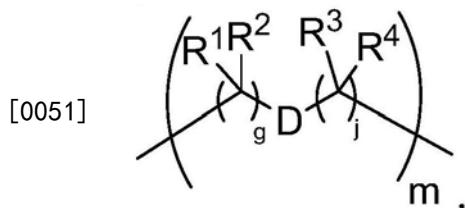


- [0038]  $U^1$ 选自H、-CH<sub>3</sub>、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHNHAc、-NHNHC(0)CH<sub>3</sub>、-NHC(0)苯基或-卤代，
- [0039]  $U^2$ 为H、-OH或-OCH<sub>3</sub>，
- [0040]  $U^3$ 为H、-CH<sub>3</sub>或-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>，
- [0041]  $U^4$ 为H或CH<sub>3</sub>S-，
- [0042]  $U^5$ 及 $U^6$ 各自独立地选自H、-卤代、-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷氧基、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>二烷基氨基、-NO<sub>2</sub>、-NHC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、-OH、-NH<sub>2</sub>、-NHC(0)NH<sub>2</sub>、-NHC(0)CH<sub>3</sub>或-NHC(0)苯基，
- [0043]  $Q^1$ 为-O-、-S-或-NH-，且
- [0044]  $Q^2$ 及 $Q^3$ 各自独立地为-CH-或-N-；
- [0045] T选自：-NHC(0)-、-C(0)NH-、-C(0)O-、-OC(0)-、-NR<sup>B</sup>-T<sup>1</sup>-NR<sup>C</sup>-、-C(0)hetC(0)-、-C(A<sup>1</sup>)X<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>C(B<sup>1</sup>)-和-G<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-G<sup>2</sup>-，
- [0046] 在-NR<sup>B</sup>-T<sup>1</sup>-NR<sup>C</sup>-中，R<sup>B</sup>及R<sup>C</sup>各自独立地为H或-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基，或者R<sup>B</sup>及R<sup>C</sup>接合在一起形成环且合起来为(CH<sub>2</sub>)<sub>2-3</sub>，其中T<sup>1</sup>选自-C(0)-、-C(0)(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(0)-（其中n为0至50的整数）、-C(0)PhC(0)-（其中Ph为1,3-或1,4-亚苯基），
- [0047] 在-C(0)hetC(0)-中，het为5至12元的单环、双环或三环杂芳基，含有一、二或三个独立地选自O、N、S、P及B的杂原子，其中het任选地被1至8个各自独立地选自由以下基团组成的组的取代基取代：-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sup>D</sup>及-NO<sub>2</sub>，且het上的所述任选取代基任选地被R<sup>E</sup>取代，其中当T为-C(0)hetC(0)-时，F<sup>1</sup>及F<sup>2</sup>的至少一个选自由环系统C及环系统D组成的组，
- [0048] 其中R<sup>D</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组：H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(0)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)N

(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>及-C(0)-卤代,任选地被R<sup>E</sup>取代,

[0049] 其中R<sup>E</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(0)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>及-C(0)-卤代,且其中R<sup>E</sup>各自任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代,

[0050] 在-C(A<sup>1</sup>)X<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>C(B<sup>1</sup>)中,T<sup>2</sup>为:



[0052] 其中X<sup>1</sup>各自独立地为键、-NR<sup>E</sup>-、-O-或-S-,其中A<sup>1</sup>及B<sup>1</sup>各自独立地为=O或=S,其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自独立地为R<sup>E</sup>,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>形成环系统,或者R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>,以及R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>形成环系统,或者R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>,以及R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,其中所述环系统独立地选自-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基或-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,或者R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自键合至D上的不同碳,其中g及j各自独立地为0至50的整数且m为1至50的整数,且其中D为键或选自由以下基团组成的组:-S-、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基、-亚芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基、-亚芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基任选地被-R<sup>E</sup>、-C(0)R<sup>E</sup>、-C(0)OR<sup>E</sup>、-N(R<sup>E</sup>)<sub>2</sub>、-N(R)C(0)R<sup>E</sup>或-N(R)C(0)OR<sup>E</sup>取代,且D额外地任选地被1至2个R取代,前提是如果g为0、J为0且T<sup>2</sup>为-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基,则F<sup>1</sup>及F<sup>2</sup>的一个选自由环系统A及环系统B组成的组,且F<sup>1</sup>及F<sup>2</sup>的另一个选自由环系统C及环系统D组成的组,以及

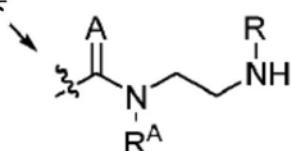
[0053] 在-G<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-G<sup>2</sup>-中,G<sup>1</sup>及G<sup>2</sup>各自独立地为-S(0)X<sup>1</sup>-或-S(0)<sub>2</sub>X<sup>1</sup>-。

[0054] 在本发明的实施方案中,变量n为0至50,优选0至25,优选0至10,且优选1至5。优选,变量n可为0、1、2、3、4或5。

[0055] 本发明的其它实施方案中,变量-Y-为C(0)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>或C(S)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>,其中一个R<sup>A</sup>为氢或-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基且另一R<sup>A</sup>为-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基-N(R)<sub>2</sub>,如此形成以下结构:

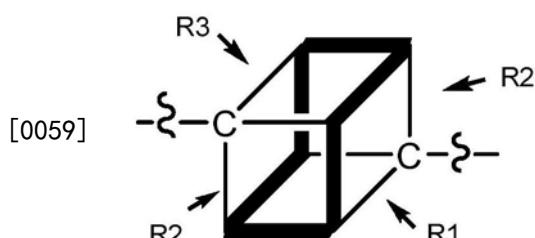
与有效负载体的其余部分连接

[0056]



[0057] 其中A为氧或硫。

[0058] 如上所述,本发明的实施方案包括其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自键合至D上的不同碳的实施方案。当D为6元碳环(粗体,下示)时,此实施方案可采用立方烷的形式:



[0060] 其它形式的立方烷(例如本申请中所概述的被取代的形式)及非立方烷亦可行且包括在本发明内。

[0061] 根据本发明的另一方面,提供式IIA的“连接子-有效负载体”化合物,

[0062] L-P (式IIA)

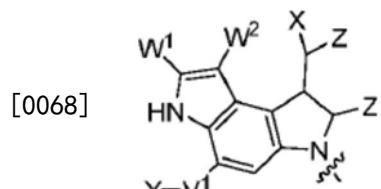
[0063] 或其药学上可接受的盐或溶剂化物,其中:

[0064] P为:

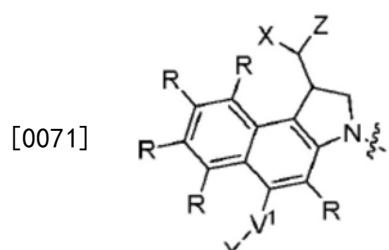
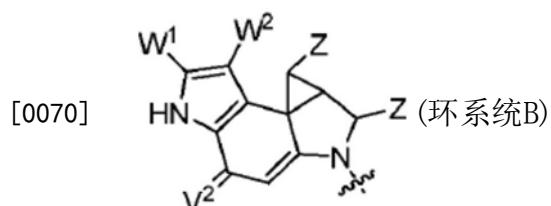
[0065] F<sup>1</sup>-L<sup>1</sup>-T-L<sup>2</sup>-F<sup>2</sup>

[0066] 其中:

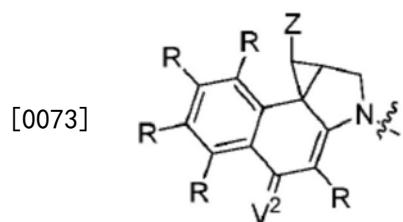
[0067] F<sup>1</sup>及F<sup>2</sup>各自独立地选自环系统A、B、C及D:



[0069] (环系统A)



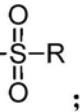
[0072] (环系统C)



[0074] (环系统D)

[0075] 对于出现R的每一环系统而言,R各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基、-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔基、卤代、羟基、烷氧基、-NH<sub>2</sub>、-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基及-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基,其中二个或更多个R任选地接合以形成一个环或多个环,且其中所述-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基及-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基任选地被1至5个取代基取代,该取代基独立地选自-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、-卤代、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷硫基、-三氟甲基、-NH<sub>2</sub>、-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷硫基、-NO<sub>2</sub>或-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基;

[0076] 对于V<sup>1</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>1</sup>各自独立地为键、O、N(R)或S;

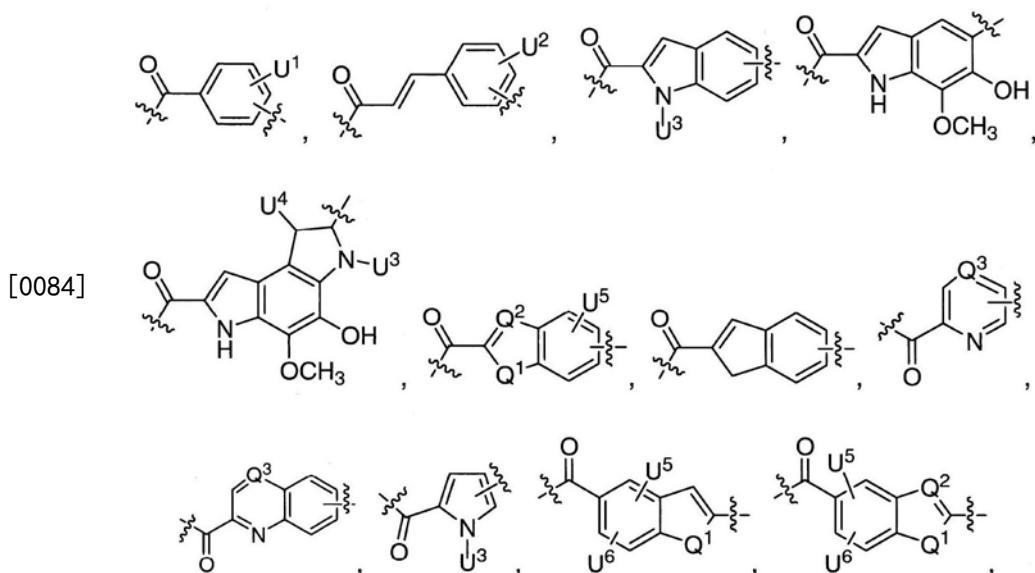
- [0077] 对于V<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>2</sup>各自独立地为O、N(R)或S;
- [0078] 对于W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>各自独立地为H、-C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基、-苯基、-C(O)OR、-C(O)SR、-C(O)NHN(R)<sub>2</sub>或-C(O)N(R)<sub>2</sub>;
- [0079] 对于出现X的每一环系统而言,X各自独立地为-OH、-O-酰基、叠氮基、卤代、氰酸酯基、硫氰酸酯基、异氰酸酯基、硫异氰酸酯基或

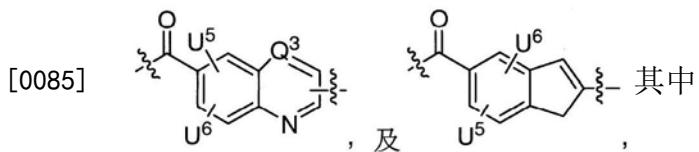
[0080] 对于出现Y的每一环系统而言,Y各自独立地选自键、H、-C(O)R<sup>A</sup>、-C(S)R<sup>A</sup>、-C(O)OR<sup>A</sup>、-S(O)OR<sup>A</sup>、-C(O)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、-C(S)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、糖基、-NO<sub>2</sub>及-P(O)(OR<sup>A</sup>)<sub>2</sub>,其中R<sup>A</sup>各自独立地选自H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)<sub>2</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>亚烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基、亚芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基及-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)-及R<sup>F</sup>,其中所述R<sup>A</sup>任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代,且其中一个Y为二价且键合至L,

[0081] R<sup>F</sup>为-N(R<sup>6</sup>)QN(R<sup>5</sup>)C(O)-且于邻近N(R<sup>5</sup>)的羰基键合至L,其中R<sup>5</sup>及R<sup>6</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,或者R<sup>5</sup>或R<sup>6</sup>与Q上的被取代的碳接合以形成-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环或-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基环,或者R<sup>5</sup>及R<sup>6</sup>接合在一起形成-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环或-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基环系统,且其中Q为-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基、-亚芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基或-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基-,且其中Q、R<sup>5</sup>及R<sup>6</sup>各自独立地任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代;

[0082] 对于出现Z的每一环系统而言,Z各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(O)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(O)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C(O)OH、-C(O)NHNH<sub>2</sub>及-C(O)-卤代,且其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(O)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(O)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C(O)OH、-C(O)NHNH<sub>2</sub>及-C(O)-卤代各自任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代;

[0083] L<sup>1</sup>及L<sup>2</sup>各自独立地选自直接键、羰基或于酰基部分键合至F<sup>1</sup>或F<sup>2</sup>的羰基酰基,其中所述羰基酰基选自由以下基团组成的组:





[0086]  $U^1$ 选自H、-CH<sub>3</sub>、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHNHAc、-NHNHC(0)CH<sub>3</sub>、-NHC(0)苯基或-卤代，

[0087]  $U^2$ 为H、-OH或-OCH<sub>3</sub>，

[0088]  $U^3$ 为H、-CH<sub>3</sub>或-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>，

[0089]  $U^4$ 为H或CH<sub>3</sub>S-，

[0090]  $U^5$ 及 $U^6$ 各自独立地选自H、-卤代、-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷氧基、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>二烷基氨基、-NO<sub>2</sub>、-NHC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、-OH、-NH<sub>2</sub>、-NHC(0)NH<sub>2</sub>、-NHC(0)CH<sub>3</sub>或-NHC(0)苯基，

[0091]  $Q^1$ 为-0-、-S-或-NH-，且

[0092]  $Q^2$ 及 $Q^3$ 各自独立地为-CH-或-N-；

[0093] T选自:-NHC(0)-、-C(0)NH-、-C(0)O-、-OC(0)-、-NR<sup>B</sup>-T<sup>1</sup>-NR<sup>C</sup>-、-C(0)hetC(0)-、-C(A<sup>1</sup>)X<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>C(B<sup>1</sup>)-和-G<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-G<sup>2</sup>-，

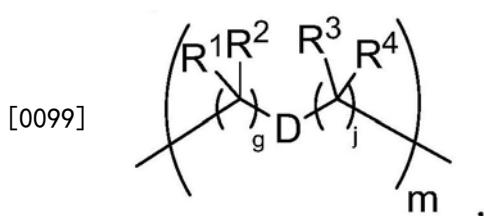
[0094] 在-NR<sup>B</sup>-T<sup>1</sup>-NR<sup>C</sup>-中，R<sup>B</sup>及R<sup>C</sup>各自独立地为H或-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基，或者R<sup>B</sup>及R<sup>C</sup>接合在一起形成环且合起来为(CH<sub>2</sub>)<sub>2-3</sub>，其中T<sup>1</sup>选自-C(0)-、-C(0)(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(0)-（其中n为0至50的整数）、-C(0)PhC(0)-（其中Ph为1,3-或1,4-亚苯基），

[0095] 在-C(0)hetC(0)-中，het为5至12元的单环、双环或三环杂芳基，含有一、二或三个独立地选自O、N、S、P及B的杂原子，其中het任选地被1至8个各自独立地选自由以下基团组成的组的取代基取代：-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sup>D</sup>及-NO<sub>2</sub>，且het上的所述任选取代基任选地被R<sup>E</sup>取代，其中当T为-C(0)hetC(0)-时，F<sup>1</sup>及F<sup>2</sup>的至少一个选自由环系统C及环系统D组成的组，

[0096] 其中R<sup>D</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组：H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(0)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>及-C(0)-卤代，任选地被R<sup>E</sup>取代，

[0097] 其中R<sup>E</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组：H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(0)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>及-C(0)-卤代，且其中R<sup>E</sup>各自任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代，

[0098] 在-C(A<sup>1</sup>)X<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>C(B<sup>1</sup>)-中，T<sup>2</sup>为：

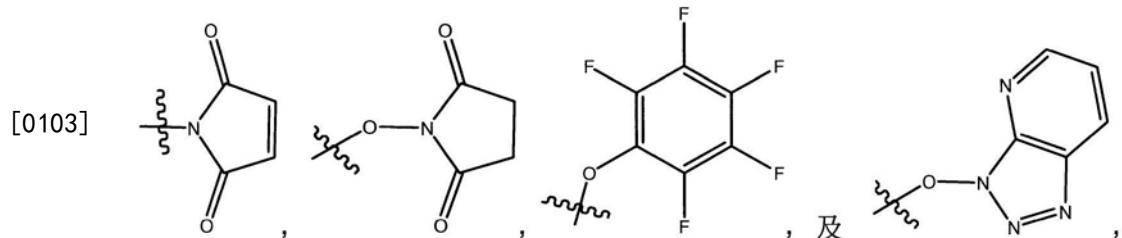


[0100] 其中X<sup>1</sup>各自独立地为键、-NR<sup>E</sup>-、-O-或-S-，其中A<sup>1</sup>及B<sup>1</sup>各自独立地为=O或=S，其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自独立地为R<sup>E</sup>，或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>形成环系统，或者R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统，或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>，以及R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统，或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>形成环系统，或者R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统，或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>，以及R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统，其中所述环系统独立地选自-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基或-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基，或者R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自键合至D上的不同碳，其中g及j各自独立地为0至

50的整数且m为1至50的整数,且其中D为键或选自由以下基团组成的组:-S-、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基-、-亚芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基-、-亚芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基任选地被-R<sup>E</sup>、-C(0)R<sup>E</sup>、-C(0)OR<sup>E</sup>、-N(R)<sub>2</sub>、-N(R)C(0)R<sup>E</sup>或-N(R)C(0)OR<sup>E</sup>取代,且D额外任选地被1至2个R取代,以及

[0101] -G<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-G<sup>2</sup>-,其中G<sup>1</sup>及G<sup>2</sup>各自独立地为-S(0)X<sup>1</sup>-或-S(0)<sub>2</sub>X<sup>1</sup>-;

[0102] L为L<sup>A</sup>-L<sup>B</sup>-(L<sup>C</sup>)<sub>1-3</sub>,其中L<sup>A</sup>选自由以下基团组成的组:-卤代、-N(R)<sub>2</sub>、-CON(R)<sub>2</sub>、任选地被-NO<sub>2</sub>或-CON(R)<sub>2</sub>取代的-S-芳基、任选地被-NO<sub>2</sub>取代的-S-杂芳基、烷基-SO<sub>2</sub>-杂芳基、芳基SO<sub>2</sub>-杂芳基-、



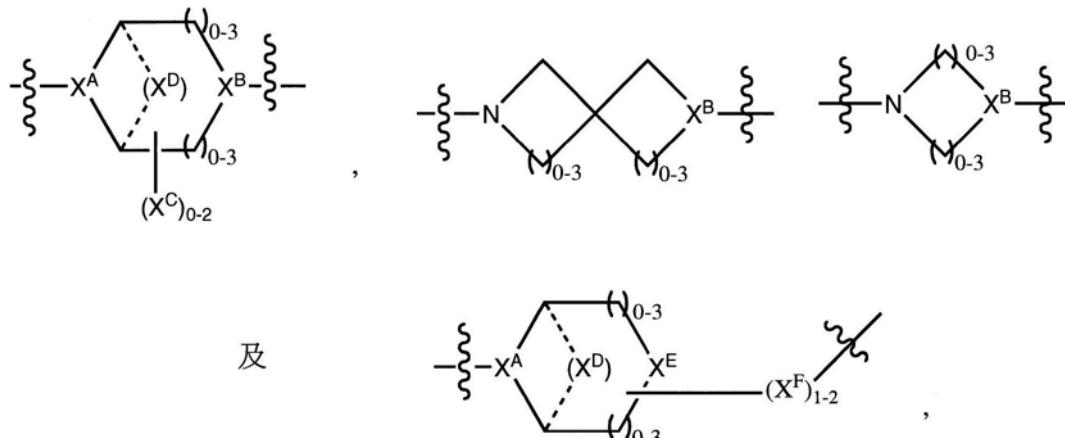
[0104] L<sup>B</sup>为L<sup>B1</sup>-L<sup>B2</sup>-L<sup>B3</sup>,其中L<sup>B1</sup>不存在或为一个或多个选自由以下基团组成的组的组分:-C(0)-、-C(S)-、-C(0)NR-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C(0)NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NRC(0)-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-C(0)-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-S-S-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NRC(0)CH<sub>2</sub>-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>NRC(0)CH<sub>2</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-NRC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-N=CR-苯基-0-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-N=CR-苯基-0-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-C(0)-、-C(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>NRC(0)-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-苯基(NR-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)<sub>1-4</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>NRC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-S-、-C(0)-CH(NR-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-及(-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-)<sub>1-20</sub>,

[0105] 其中L<sup>B2</sup>为AA<sub>0-12</sub>,其中AA为天然氨基酸、非天然氨基酸或-(CR<sup>15</sup>)<sub>o</sub>-S-S-(CR<sup>15</sup>)<sub>p</sub>,其中o及p各自独立地为1至20的整数,

[0106] L<sup>B3</sup>为-PABA-、-PABC-或者不存在;

[0107] L<sup>C</sup>不存在或独立地选自由以下基团组成的组:-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>亚烷基-、-NRC<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-杂环基NR-、-NRC<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-碳环基NR-、-NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NR-、-NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>亚烷基-、-S-、-NR-、-NRNR-、-O(CR<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>S-S(CR<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>N(R)-、-NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-亚烷基亚苯基NR-、-NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>亚烷基亚苯基SO<sub>2</sub>NR-、-OC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基S-SC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基C(COOR)NR-、-NRC(COOR)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基S-SC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基O-、

[0108]



[0109] 其中

[0110]  $X^A$ 为CR或N,

[0111]  $X^B$ 为CH、CR( $C(R)_2$ )<sub>1-3</sub>NR、CR( $C(R)_2$ )<sub>1-3</sub>O、CR( $C(R)_2$ )<sub>1-3</sub>C(0)NR、CR-( $C(R)_2$ )<sub>1-3</sub>C(0)NRNR、CR( $C(R)_2$ )<sub>1-3</sub>SO<sub>2</sub>NR、CR( $C(R)_2$ )<sub>1-3</sub>NRNR、CR( $C(R)_2$ )<sub>1-3</sub>NRC(0)或N,

[0112]  $X^C$ 各自为R,

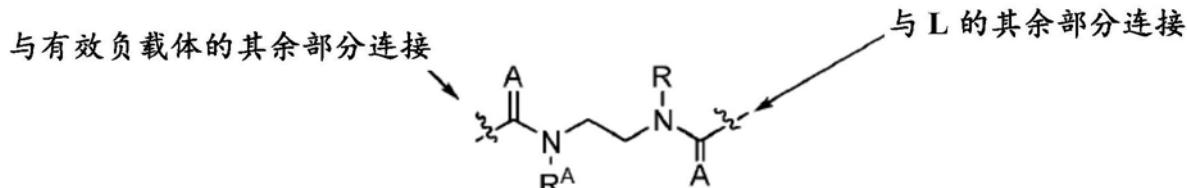
[0113]  $X^D$ 各自为-( $CH_2$ )<sub>1-5</sub>-，或者不存在；

[0114]  $X^E$ 为O、S、C( $R$ )<sub>2</sub>、C( $R$ )( $C(R)_2$ )<sub>1-3</sub>-NR<sub>2</sub>或NR，且

[0115]  $X^F$ 各自为( $C(R)_2$ )<sub>1-3</sub>-NR或C( $R$ )<sub>2</sub>-( $C(R)_2$ )<sub>1-3</sub>-O。

[0116] 本发明的其它实施方案中，变量-Y-为C(0)N( $R^A$ )<sub>2</sub>或C(S)N( $R^A$ )<sub>2</sub>，其中一个 $R^A$ 为氢或-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基且另一个 $R^A$ 为-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基-N( $R$ )-，如此形成以下结构：

[0117]



[0118] 其中A各自独立地为为氧或硫。

[0119] 根据本发明的又另一方面，提供式IIIA的抗体药物缀合物化合物，

[0120] AB-(L-P)<sub>1-20</sub> (式IIIA)

[0121] 或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中：

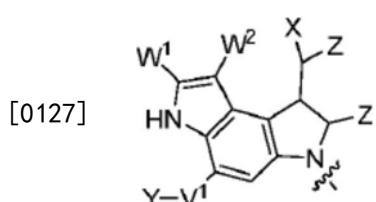
[0122] AB为抗体；

[0123] P为：

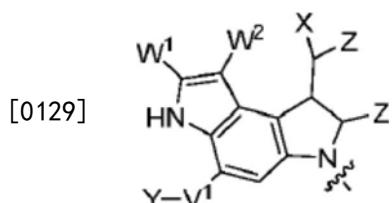
[0124] F<sup>1</sup>-L<sup>1</sup>-T-L<sup>2</sup>,F<sup>2</sup>

[0125] 其中：

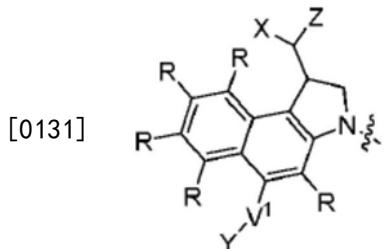
[0126] F<sup>1</sup>及F<sup>2</sup>各自独立地选自环系统A、B、C及D：



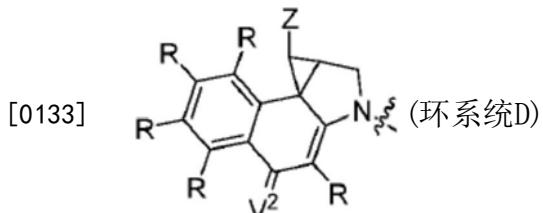
[0127] (环系统A)



[0128] (环系统B)



[0132] (环系统C)



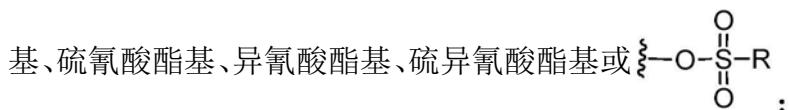
[0134] 对于出现R的每一环系统而言,R各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基、-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔基、卤代、羟基、烷氧基、-NH<sub>2</sub>、-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基及-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基,其中二个或更多个R任选地接合以形成一个环或多个环,且其中所述-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基及-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基任选地被1至5个取代基取代,该取代基独立地选自-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、-卤代、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷硫基、-三氟甲基、-NH<sub>2</sub>、-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷硫基、-NO<sub>2</sub>或-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基;

[0135] 对于V<sup>1</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>1</sup>各自独立地为键、O、N(R)或S;

[0136] 对于V<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>2</sup>各自独立地为O、N(R)或S;

[0137] 对于W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>各自独立地为H、-C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基、-苯基、-C(O)OR、-C(O)SR、-C(O)NHN(R)<sub>2</sub>或-C(O)N(R)<sub>2</sub>;

[0138] 对于出现X的每一环系统而言,X各自独立地为-OH、-O-酰基、叠氮基、卤代、氰酸酯



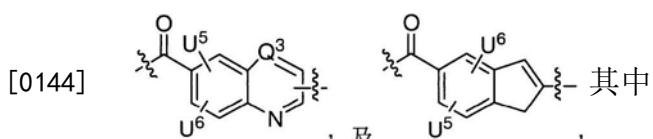
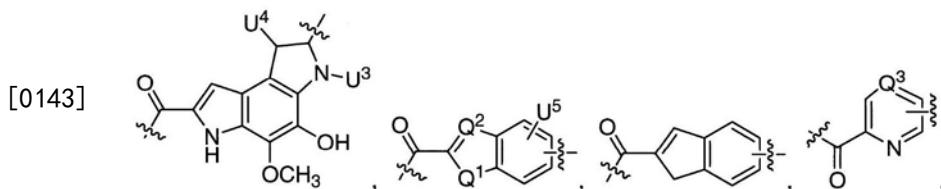
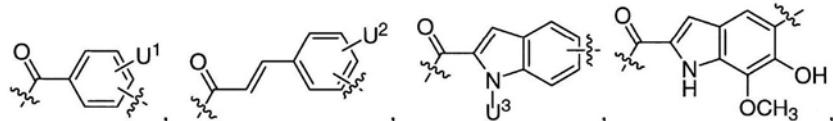
[0139] 对于出现Y的每一环系统而言,Y各自独立地选自键、H、-C(O)R<sup>A</sup>、-C(S)R<sup>A</sup>、-C(O)OR<sup>A</sup>、-S(O)OR<sup>A</sup>、-C(O)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、-C(S)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、糖基、-NO<sub>2</sub>及-P(O)(OR<sup>A</sup>)<sub>2</sub>,其中R<sup>A</sup>各自独立地选自H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)<sub>2</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>亚烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基、亚芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基及-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)-及R<sup>F</sup>,其中所述R<sup>A</sup>任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代,且其中一个Y为二价且键合至L,

[0140] R<sup>F</sup>为-N(R<sup>6</sup>)QN(R<sup>5</sup>)C(O)-且于邻近N(R<sup>5</sup>)的羰基键合至L,其中R<sup>5</sup>及R<sup>6</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,或者R<sup>5</sup>或R<sup>6</sup>与Q上的被取代的碳接合以形成-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环或-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基环,或者R<sup>5</sup>及R<sup>6</sup>接合在一起形成-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环或-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基环系统,且其中Q为-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基、-亚芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基或-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基-,且其中Q、R<sup>5</sup>及R<sup>6</sup>各自独立地任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代;

[0141] 对于出现Z的每一环系统而言,Z各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(O)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C

(0) N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C(0)OH、-C(0)NHNH<sub>2</sub>及-C(0)-卤代，且其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(0)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C(0)OH、-C(0)NHNH<sub>2</sub>及-C(0)-卤代各自任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代；

[0142] L<sup>1</sup>及L<sup>2</sup>各自独立地选自直接键、羰基或于酰基部分键合至F<sup>1</sup>或F<sup>2</sup>的羰基酰基，其中所述羰基酰基选自由以下基团组成的组：



[0145] U<sup>1</sup>选自H、-CH<sub>3</sub>、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHNHAc、-NHNHC(0)CH<sub>3</sub>、-NHC(0)苯基或-卤代，

[0146] U<sup>2</sup>为H、-OH或-OCH<sub>3</sub>，

[0147] U<sup>3</sup>为H、-CH<sub>3</sub>或-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>，

[0148] U<sup>4</sup>为H或CH<sub>3</sub>S-，

[0149] U<sup>5</sup>及U<sup>6</sup>各自独立地选自H、-卤代、-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷氧基、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>二烷基氨基、-NO<sub>2</sub>、-NHC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、-OH、-NH<sub>2</sub>、-NHC(0)NH<sub>2</sub>、-NHC(0)CH<sub>3</sub>或-NHC(0)苯基，

[0150] Q<sup>1</sup>为-O-、-S-或-NH-，且

[0151] Q<sup>2</sup>及Q<sup>3</sup>各自独立地为-CH-或-N-；

[0152] T选自：-NHC(0)-、-C(0)NH-、-C(0)O-、-OC(0)-、-NR<sup>B</sup>-T<sup>1</sup>-NR<sup>C</sup>-、-C(0)hetC(0)-、-C(A<sup>1</sup>)X<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>C(B<sup>1</sup>)-和-G<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-G<sup>2</sup>-，

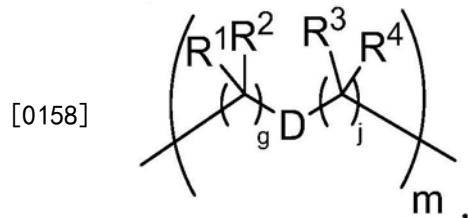
[0153] 在-NR<sup>B</sup>-T<sup>1</sup>-NR<sup>C</sup>-中，R<sup>B</sup>及R<sup>C</sup>各自独立地为H或-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基，或者R<sup>B</sup>及R<sup>C</sup>接合在一起形成环且合起来为(CH<sub>2</sub>)<sub>2-3</sub>，其中T<sup>1</sup>选自-C(0)-、-C(0)(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(0)-（其中n为0至50的整数）、-C(0)PhC(0)-（其中Ph为1,3-或1,4-亚苯基），

[0154] 在-C(0)hetC(0)-中，het为5至12元的单环、双环或三环杂芳基，含有一、二或三个独立地选自O、N、S、P及B的杂原子，其中het任选地被1至8个各自独立地选自由以下基团组成的组的取代基取代：-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sup>D</sup>及-NO<sub>2</sub>，且het上的所述任选取代基任选地被R<sup>E</sup>取代，其中当T为-C(0)hetC(0)-时，F<sup>1</sup>及F<sup>2</sup>的至少一个选自由环系统C及环系统D组成的组，

[0155] 其中R<sup>D</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组:H或-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(0)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>及-C(0)-卤代,任选地被R<sup>E</sup>取代,

[0156] 其中R<sup>E</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(0)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>及-C(0)-卤代,且其中R<sup>E</sup>各自任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代,

[0157] 在-C(A<sup>1</sup>)X<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>C(B<sup>1</sup>)中,T<sup>2</sup>为:

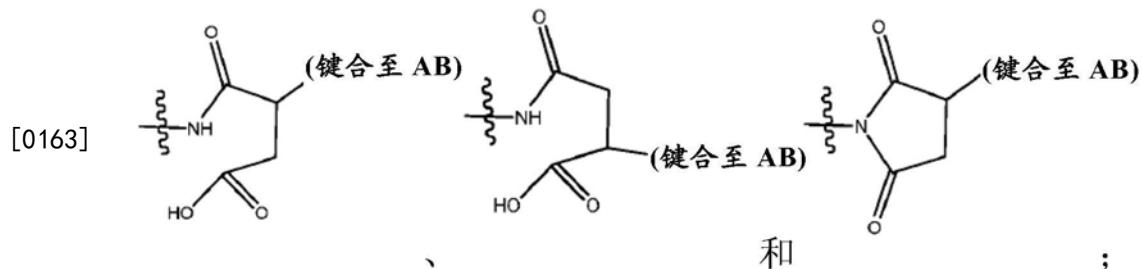


[0159] 其中X<sup>1</sup>各自独立地为键、-NR<sup>E</sup>-、-O-或-S-,其中A<sup>1</sup>及B<sup>1</sup>各自独立地为=O或=S,其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自独立地为R<sup>E</sup>,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>形成环系统,或者R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>,以及R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>形成环系统,或者R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>,以及R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,其中所述环系统独立地选自-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基或-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,或者R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自键合至D上的不同碳,其中g及j各自独立地为0至50的整数且m为1至50的整数,且其中D为键或选自由以下基团组成的组:-S-、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基、-亚芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基、-亚芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基任选地被-R<sup>E</sup>、-C(0)R<sup>E</sup>、-C(0)OR<sup>E</sup>、-N(R<sup>E</sup>)<sub>2</sub>、-N(R)C(0)R<sup>E</sup>或-N(R)C(0)OR<sup>E</sup>取代,且D额外地任选地被1至2个R取代,以及

[0160] 在-G<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-G<sup>2</sup>中,G<sup>1</sup>及G<sup>2</sup>各自独立地为-S(0)X<sup>1</sup>-或-S(0)<sub>2</sub>X<sup>1</sup>-;

[0161] L为L<sup>A</sup>-L<sup>B</sup>-(L<sup>C</sup>)<sub>1-3</sub>;

[0162] L<sup>A</sup>选自:键合至AB的键、-NR- (键合至AB)、烷基-SO<sub>2</sub>-杂芳基、芳基SO<sub>2</sub>-杂芳基-、



[0164] L<sup>B</sup>为L<sup>B1</sup>-L<sup>B2</sup>-L<sup>B3</sup>

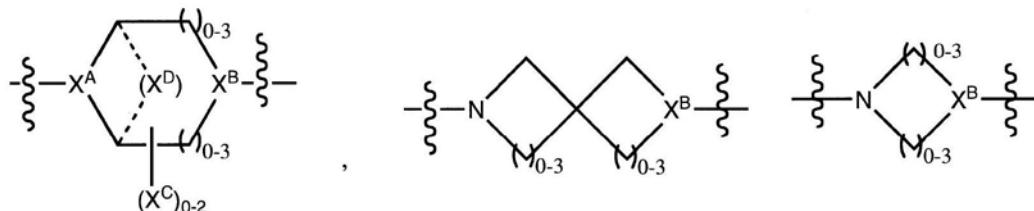
[0165] 其中L<sup>B1</sup>不存在或为一个或多个选自由以下基团组成的组的组分:-C(0)-、-C(S)-、-C(0)NR-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、-C(0)NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NRC(0)-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-C(0)-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-S-S-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NRC(0)CH<sub>2</sub>-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>NRC(0)CH<sub>2</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-NRC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-N=CR-苯基-O-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-N=CR-苯基-O-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-C(0)-、-C(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>NRC(0)-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-苯基(NR-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)<sub>1-4</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-NRC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-S-、-C(0)-CH(NR-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-

基-及  $(-\text{CH}_2\text{--CH}_2\text{--O--})_{1-20}$ ;

[0166]  $L^{B2}$  为  $\text{AA}_{0-12}$ , 其中 AA 为天然氨基酸、非天然氨基酸或  $-(\text{CR}^{15})_o\text{--S--S--}(\text{CR}^{15})_p$ , 其中 o 及 p 各自独立地为 1 至 20 的整数,

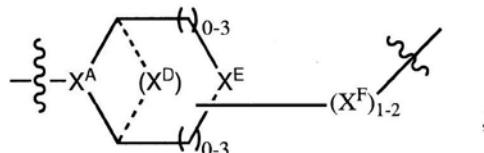
[0167]  $L^{B3}$  为  $-\text{PABA--}$ 、 $-\text{PABC--}$  或者不存在;

[0168]  $L^C$  不存在或独立地选自由以下基团组成的组:  $-\text{C}_1\text{--C}_6$  亚烷基-、 $-\text{NRC}_3\text{--C}_8$ -杂环基  $\text{NR--}$ 、 $-\text{NRC}_3\text{--C}_8$ -碳环基  $\text{NR--}$ 、 $-\text{NRC}_1\text{--C}_6$  烷基  $\text{NR--}$ 、 $-\text{NRC}_1\text{--C}_6$  亚烷基-、 $-\text{S--}$ 、 $-\text{NR--}$ 、 $-\text{NRNR--}$ 、 $-\text{O}(\text{CR}_2)_{1-4}\text{S--S}(\text{CR}_2)_{1-4}\text{N}(\text{R})-$ 、 $-\text{NRC}_1\text{--C}_6$ -亚烷基亚苯基  $\text{NR--}$ 、 $-\text{NRC}_1\text{--C}_6$  亚烷基亚苯基  $\text{SO}_2\text{NR--}$ 、 $-\text{OC}_1\text{--C}_6$  烷基  $\text{S--SC}_1\text{--C}_6$  烷基  $\text{C}(\text{COOR})\text{NR--}$ 、 $-\text{NRC}(\text{COOR})\text{C}_1\text{--C}_6$  烷基  $\text{S--SC}_1\text{--C}_6$  烷基  $\text{O--}$ 、



[0169]

及



[0170] 其中

[0171]  $X^A$  为  $\text{CR}$  或  $\text{N}$ ,

[0172]  $X^B$  为  $\text{CH}$ 、 $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{NR}$ 、 $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{O}$ 、 $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{C}(\text{O})\text{NR}$ 、 $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{C}(\text{O})\text{NRNR}$ 、 $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{SO}_2\text{NR}$ 、 $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{NRNR}$ 、 $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{NRC(O)}$  或  $\text{N}$ ,

[0173]  $X^C$  各自为  $\text{R}$ ,

[0174]  $X^D$  各自为  $-(\text{CH}_2)_{1-5}-$ , 或者不存在;

[0175]  $X^E$  为  $0$ 、 $\text{S}$ 、 $\text{C}(\text{R})_2$ 、 $\text{C}(\text{R})(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{NR}_2$  或  $\text{NR}$ , 且

[0176]  $X^F$  各自为  $(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{--NR}$  或  $\text{C}(\text{R})_2\text{--}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{--O}$ 。

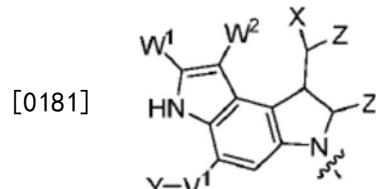
[0177] 根据本发明的另一方面, 提供式 IIB 的“连接子-有效负载体”化合物,

$\text{F}^1\text{--L}^1\text{--T--L}^2\text{--F}^2$

[0178]  $\begin{matrix} \text{L} \\ | \\ \text{L} \end{matrix}$  (式 IIB)

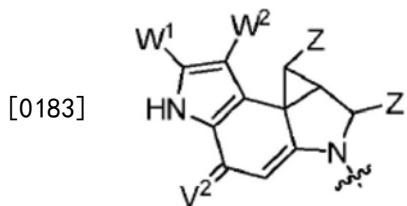
[0179] 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中:

[0180]  $\text{F}^1$  及  $\text{F}^2$  各自独立地选自环系统 A、B、C 及 D:

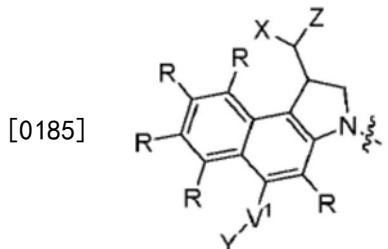


[0181]

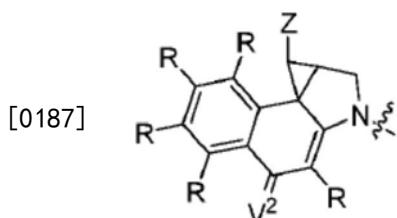
[0182] (环系统 A)



[0184] (环系统B)



[0186] (环系统C)



[0188] (环系统D)

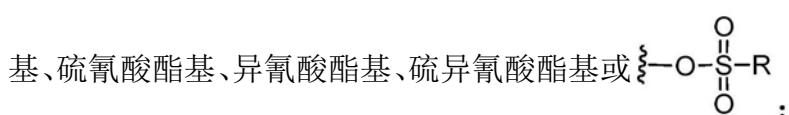
[0189] 对于出现R的每一环系统而言,R各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基、-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔基、卤代、羟基、烷氧基、-NH<sub>2</sub>、-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基及-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基,其中二个或更多个R任选地接合以形成一个环或多个环,且其中所述-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基及-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基任选地被1至5个取代基取代,该取代基独立地选自-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、-卤代、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷硫基、-三氟甲基、-NH<sub>2</sub>、-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷硫基、-NO<sub>2</sub>或-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基;

[0190] 对于V<sup>1</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>1</sup>各自独立地为键、O、N(R)或S;

[0191] 对于V<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>2</sup>各自独立地为O、N(R)或S;

[0192] 对于W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>各自独立地为H、-C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基、-苯基、-C(O)OR、-C(O)SR、-C(O)NHN(R)<sub>2</sub>或-C(O)N(R)<sub>2</sub>;

[0193] 对于出现X的每一环系统而言,X各自独立地为-OH、-O-酰基、叠氮基、卤代、氰酸酯

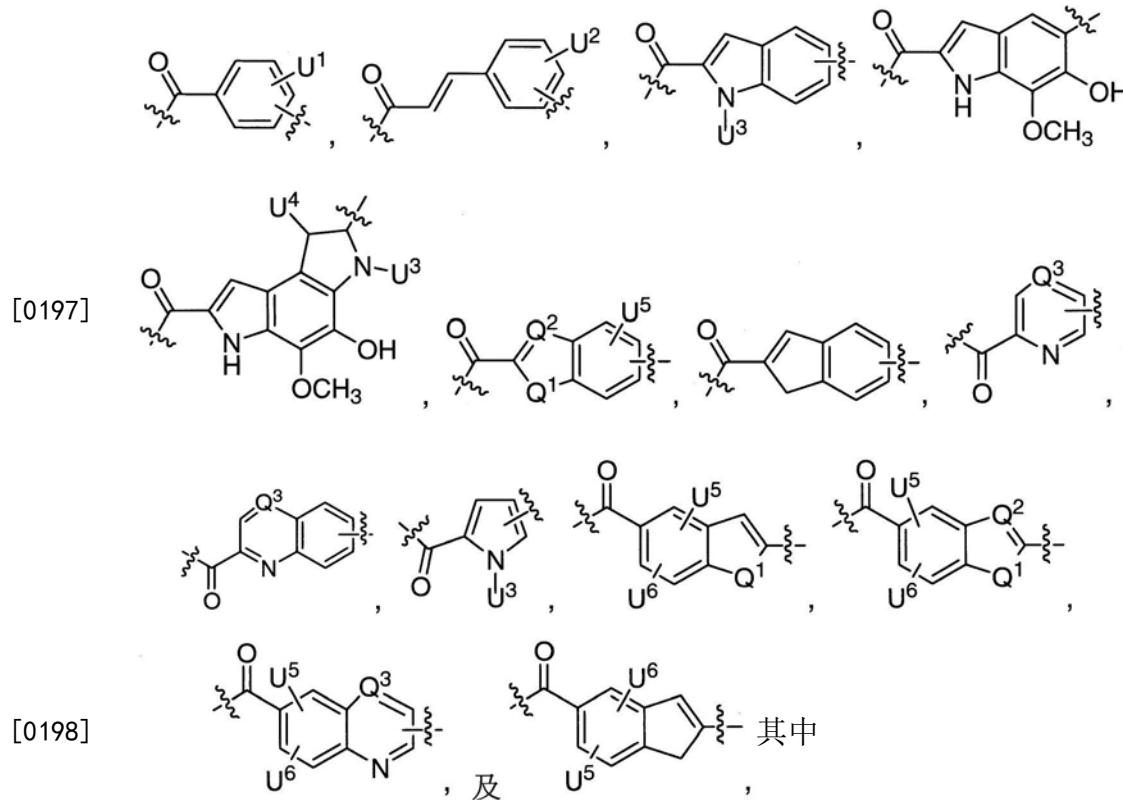


[0194] 对于出现Y的每一环系统而言,Y各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-R<sup>A</sup>、-C(O)R<sup>A</sup>、-C(S)R<sup>A</sup>、-C(O)OR<sup>A</sup>、-S(O)OR<sup>A</sup>、-C(O)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、-C(S)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、糖基、-NO<sub>2</sub>及-PO(OR<sup>A</sup>)<sub>2</sub>,其中R<sup>A</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基及-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)<sub>2</sub>,其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基及-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)<sub>2</sub>任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代;

[0195] 对于出现Z的每一环系统而言,Z各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷

基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(0)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C(0)OH、-C(0)NHNH<sub>2</sub>及-C(0)-卤代，且其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(0)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C(0)OH、-C(0)NHNH<sub>2</sub>及-C(0)-卤代各自任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代；

[0196] L<sup>1</sup>及L<sup>2</sup>各自独立地选自直接键、羰基或于酰基部分键合至F<sup>1</sup>或F<sup>2</sup>的羰基酰基，其中所述羰基酰基选自由以下基团组成的组：



[0199] U<sup>1</sup>选自H、-CH<sub>3</sub>、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHNHAc、-NHNHC(O)CH<sub>3</sub>、-NHC(O)苯基或-卤代，

[0200] U<sup>2</sup>为H、-OH或-OCH<sub>3</sub>，

[0201] U<sup>3</sup>为H、-CH<sub>3</sub>或-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>，

[0202] U<sup>4</sup>为H或CH<sub>3</sub>S-，

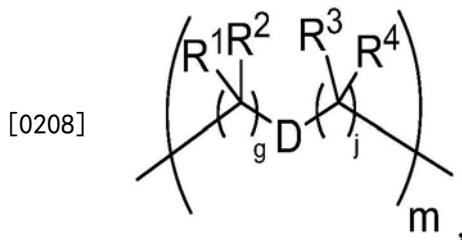
[0203] U<sup>5</sup>及U<sup>6</sup>各自独立地选自H、-卤代、-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷氧基、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>二烷基氨基、-NO<sub>2</sub>、-NHC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、-OH、-NH<sub>2</sub>、-NHC(O)NH<sub>2</sub>、-NHC(O)CH<sub>3</sub>或-NHC(O)苯基，

[0204] Q<sup>1</sup>为-O-、-S-或-NH-，且

[0205] Q<sup>2</sup>及Q<sup>3</sup>各自独立地为-CH-或-N-；

[0206] T选自：

[0207] -C(A<sup>1</sup>)X<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>C(B<sup>1</sup>)-，其中T<sup>2</sup>为：

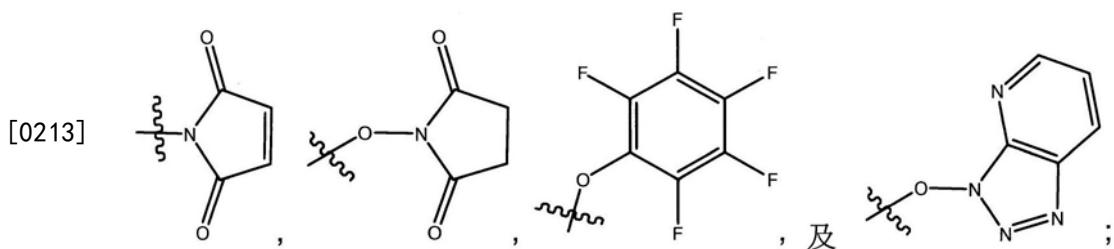


[0209] 其中X<sup>1</sup>各自独立地为键、-NR<sup>E</sup>-、-O-或-S-,其中A<sup>1</sup>及B<sup>1</sup>各自独立地为=O或=S,其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自独立地为R<sup>E</sup>,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>形成环系统,或者R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>,以及R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>形成环系统,或者R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>,以及R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,其中所述环系统独立地选自-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基或-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,或者R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自键合至D上的不同碳,其中g及j各自独立地为0至50的整数且m为1至50的整数,且其中D选自由以下基团组成的组:-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基-、-亚芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基-、-亚芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基被一个选自下组的成员取代:N(R<sup>E</sup>)C(0)- (其中羰基键合至L)及-C(0)- (其中羰基键合至L),且D额外地任选地被1至2个R取代,

[0210] 其中R<sup>E</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(0)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>及-C(0)-卤代,且其中R<sup>E</sup>各自任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代;

[0211] L为L<sup>A</sup>-L<sup>B</sup>- (L<sup>C</sup>)<sub>1-3</sub>;

[0212] L<sup>A</sup>选自-卤代、-N(R)<sub>2</sub>、-CON(R)<sub>2</sub>、任选地被-NO<sub>2</sub>或-CONR<sub>2</sub>取代的-S-芳基、任选地被-NO<sub>2</sub>取代的-S-杂芳基、烷基-SO<sub>2</sub>-杂芳基、芳基SO<sub>2</sub>-杂芳基-、



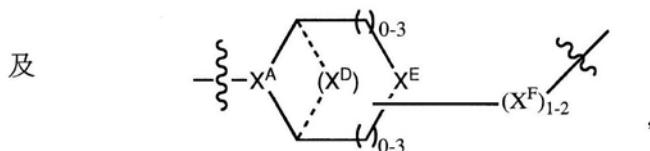
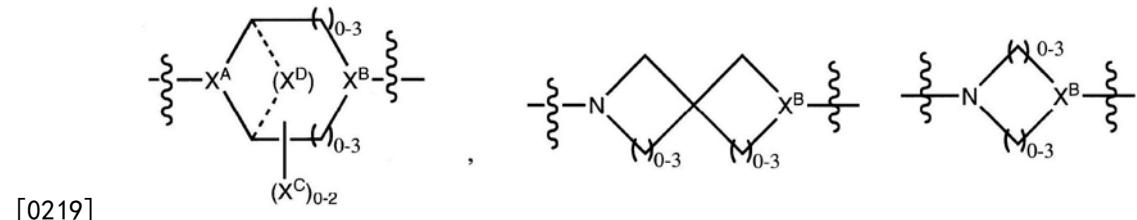
[0214] L<sup>B</sup>为L<sup>B1</sup>-L<sup>B2</sup>-L<sup>B3</sup>

[0215] 其中L<sup>B1</sup>不存在或为一个或多个选自由以下基团组成的组的组分:-C(0)-、-C(S)-、-C(0)NR-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C(0)NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NRC(0)-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-C(0)-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-S-S-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NRC(0)CH<sub>2</sub>-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>NRC(0)CH<sub>2</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-NRC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-N=CR-苯基-0-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-N=CR-苯基-0-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-C(0)-、-C(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>NRC(0)-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-苯基(NR-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)<sub>1-4</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-NRC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-S-、-C(0)-CH(NR-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-及(-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-)<sub>1-20</sub>;

[0216] L<sup>B2</sup>为AA<sub>0-12</sub>,其中AA为天然氨基酸、非天然氨基酸或-(CR<sup>15</sup>)<sub>o</sub>-S-S-(CR<sup>15</sup>)<sub>p</sub>,其中o及p各自独立地为1至20的整数,

[0217] L<sup>B3</sup>为-PABA-、-PABC-或者不存在;

[0218]  $L^C$ 不存在或独立地选自由以下基团组成的组: -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>亚烷基-、-NRC<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-杂环基NR-、-NRC<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-碳环基NR-、-NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NR-、-NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>亚烷基-、-S-、-NR-、-NRNR-、-O(CR<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>S-S(CR<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>N(R)-、-NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-亚烷基亚苯基NR-、-NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>亚烷基亚苯基SO<sub>2</sub>NR-、-OC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基S-SC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基C(COOR)NR-、-NRC(COOR)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基S-SC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基O-、



[0220] 其中

[0221] X<sup>A</sup>为CR或N,

[0222] X<sup>B</sup>为CH、CR(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>NR、CR(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>O、CR(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>C(0)NR、CR-(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>C(0)NRNR、CR(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>SO<sub>2</sub>NR、CR(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>NRNR、CR(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>NRC(0)或N;

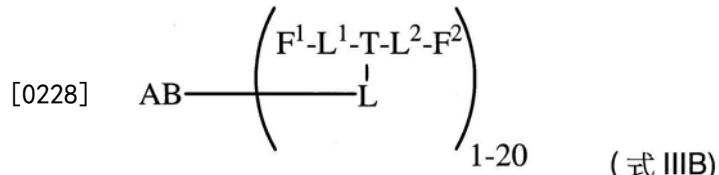
[0223] X<sup>C</sup>各自为R,

[0224] X<sup>D</sup>各自为-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-，或者不存在；

[0225] X<sup>E</sup>为O、S、C(R)<sub>2</sub>、C(R)(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-NR<sub>2</sub>或NR，且

[0226] X<sup>F</sup>各自为(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-NR或C(R)<sub>2</sub>-(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-O。

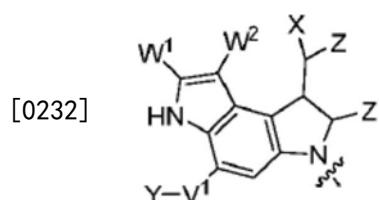
[0227] 根据本发明的又另一方面，提供式IIIB的抗体药物缀合物化合物，



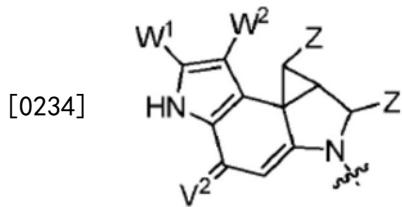
[0229] 或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中：

[0230] AB为抗体；

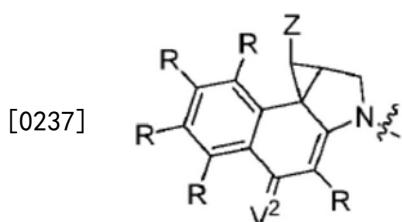
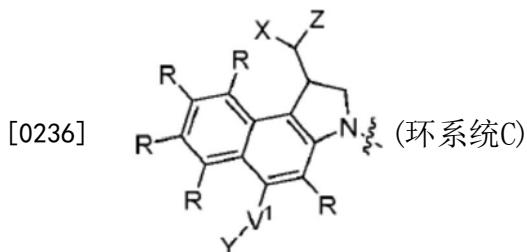
[0231] F<sup>1</sup>及F<sup>2</sup>各自独立地选自环系统A、B、C及D:



[0233] (环系统A)



[0235] (环系统B)



[0238] (环系统D)

[0239] 对于出现R的每一环系统而言,R各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基、-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔基、卤代、羟基、烷氧基、-NH<sub>2</sub>、-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基及-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基,其中二个或更多个R任选地接合以形成一个环或多个环,且其中所述-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基及-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基任选地被1至5个取代基取代,该取代基独立地选自-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、-卤代、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷硫基、-三氟甲基、-NH<sub>2</sub>、-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基-N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷硫基、-NO<sub>2</sub>或-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基;

[0240] 对于V<sup>1</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>1</sup>各自独立地为键、O、N(R)或S;

[0241] 对于V<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>2</sup>各自独立地为O、N(R)或S;

[0242] 对于W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>各自独立地为H、-C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基、-苯基、-C(O)OR、-C(O)SR、-C(O)NHN(R)<sub>2</sub>或-C(O)N(R)<sub>2</sub>;

[0243] 对于出现X的每一环系统而言,X各自独立地为-OH、-O-酰基、叠氮基、卤代、氰酸酯

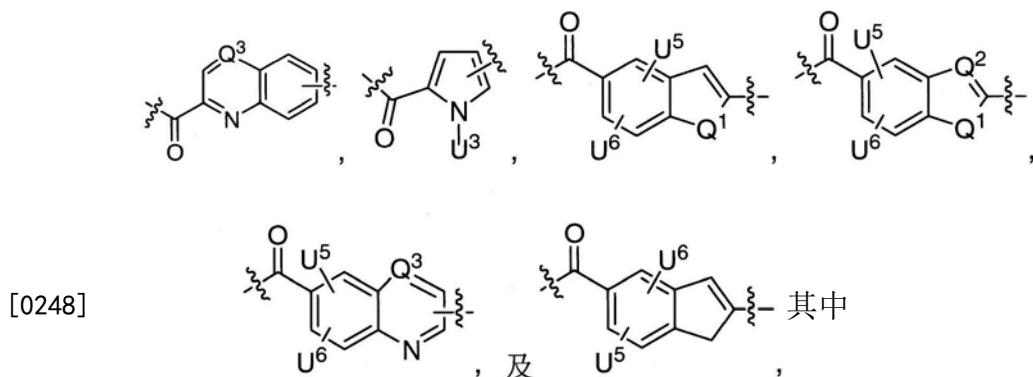
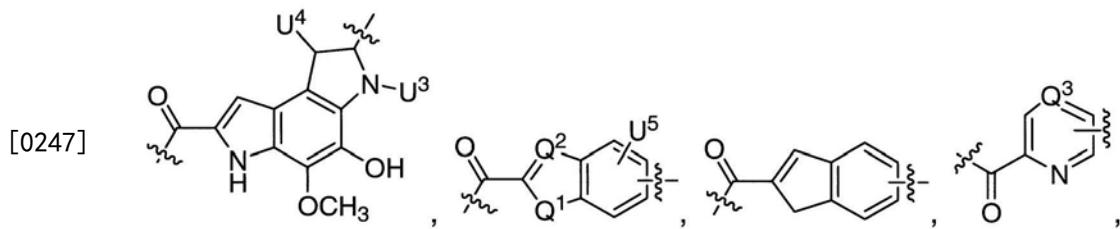
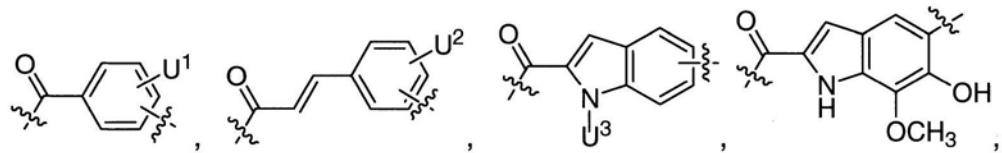
基、硫氰酸酯基、异氰酸酯基、硫异氰酸酯基或 $\text{---}\ddot{\text{O}}\text{---}\text{S}(\text{---R})\text{---}\ddot{\text{O}}\text{---}$ ;

[0244] 对于出现Y的每一环系统而言,Y各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-R<sup>A</sup>、-C(O)R<sup>A</sup>、-C(S)R<sup>A</sup>、-C(O)OR<sup>A</sup>、-S(O)OR<sup>A</sup>、-C(O)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、-C(S)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、糖基、-NO<sub>2</sub>及-PO(OR<sup>A</sup>)<sub>2</sub>,其中R<sup>A</sup>各自独立地选自H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基及-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)<sub>2</sub>,其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基及-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)<sub>2</sub>任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代;

[0245] 对于出现Z的每一环系统而言,Z各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(O)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C

(0) N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C(0)OH、-C(0)NHNH<sub>2</sub>及-C(0)-卤代，且其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(0)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C(0)OH、-C(0)NHNH<sub>2</sub>及-C(0)-卤代各自任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代；

[0246] L<sup>1</sup>及L<sup>2</sup>各自独立地选自直接键、羰基或于酰基部分键合至F<sup>1</sup>或F<sup>2</sup>的羰基酰基，其中所述羰基酰基选自由以下基团组成的组：



[0249] U<sup>1</sup>选自H、-CH<sub>3</sub>、-OH、-OCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHNHAc、-NHNHC(O)CH<sub>3</sub>、-NHC(O)苯基或-卤代，

[0250] U<sup>2</sup>为H、-OH或-OCH<sub>3</sub>，

[0251] U<sup>3</sup>为H、-CH<sub>3</sub>或-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>，

[0252] U<sup>4</sup>为H或CH<sub>3</sub>S-，

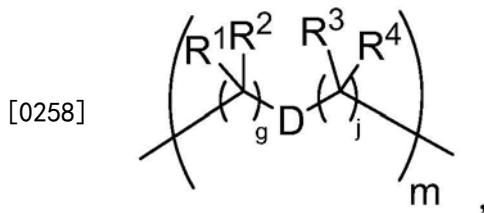
[0253] U<sup>5</sup>及U<sup>6</sup>各自独立地选自H、-卤代、-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷氧基、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>二烷基氨基、-NO<sub>2</sub>、-NHC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、-OH、-NH<sub>2</sub>、-NHC(O)NH<sub>2</sub>、-NHC(O)CH<sub>3</sub>或-NHC(O)苯基，

[0254] Q<sup>1</sup>为-O-、-S-或-NH-，且

[0255] Q<sup>2</sup>及Q<sup>3</sup>各自独立地为-CH-或-N-；

[0256] T选自：

[0257] -C(A<sup>1</sup>)X<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>C(B<sup>1</sup>)-，其中T<sup>2</sup>为：

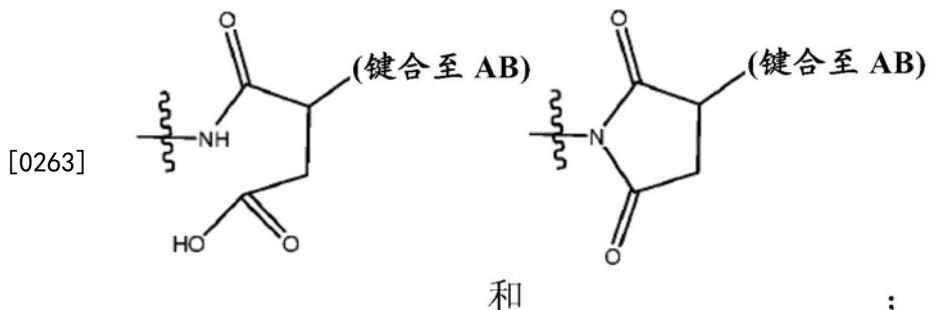


[0259] 其中X<sup>1</sup>各自独立地为键、-NR<sup>E</sup>-、-O-或-S-,其中A<sup>1</sup>及B<sup>1</sup>各自独立地为=O或=S,其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自独立地为R<sup>E</sup>,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>形成环系统,或者R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>,以及R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>形成环系统,或者R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>,以及R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,其中所述环系统独立地选自-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基或-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,或者R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自键合至D上的不同碳,其中g及j各自独立地为0至50的整数且m为1至50的整数,且其中D选自由以下基团组成的组:-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基-、-亚芳烷基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基-、-亚芳烷基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基被一个选自下组的成员取代:N(R<sup>E</sup>)C(0)- (其中羰基键合至L)及-C(0)- (其中羰基键合至L),且D额外地任选地被1至2个R取代;

[0260] 其中R<sup>E</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-芳基、-芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C(0)OC<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-C(0)N(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)<sub>2</sub>及-C(0)-卤代,且其中R<sup>E</sup>各自任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代;

[0261] L为L<sup>A</sup>-L<sup>B</sup>-(L<sup>C</sup>)<sub>1-3</sub>;

[0262] L<sup>A</sup>选自:键合至AB的键、-NR- (键合至AB)、烷基-SO<sub>2</sub>-杂芳基、芳基SO<sub>2</sub>-杂芳基-、



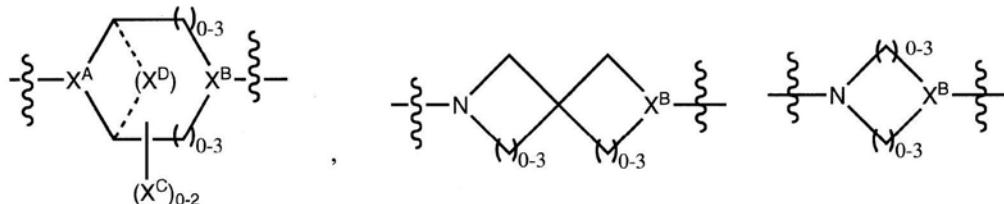
[0264] L<sup>B</sup>为L<sup>B1</sup>-L<sup>B2</sup>-L<sup>B3</sup>

[0265] 其中L<sup>B1</sup>不存在或为一个或多个选自由以下基团组成的组分:-C(0)-、-C(S)-、-C(0)NR-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C(0)NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NRC(0)-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-C(0)-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-S-S-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NRC(0)CH<sub>2</sub>-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>NRC(0)CH<sub>2</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-NRC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-N=CR-苯基-0-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-N=CR-苯基-0-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-C(0)-、-C(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>NRC(0)-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-苯基(NR-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)<sub>1-4</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-NRC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-S-、-C(0)-CH(NR-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-及(-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-)<sub>1-20</sub>;

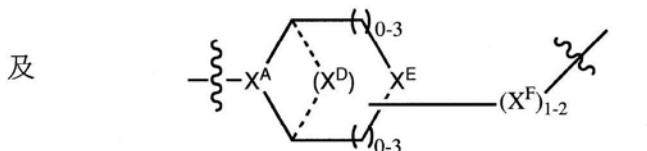
[0266] L<sup>B2</sup>为AA<sub>0-12</sub>,其中AA为天然氨基酸、非天然氨基酸或-(CR<sup>15</sup>)<sub>o</sub>-S-S-(CR<sup>15</sup>)<sub>p</sub>,其中o及p各自独立地为1至20的整数,

[0267] L<sup>B3</sup>为-PABA-、-PABC-或者不存在;

[0268]  $L^C$ 不存在或独立地选自由以下基团组成的组: $-C_1-C_6$ 亚烷基 $-$ 、 $-NRC_3-C_8$  $-$ 杂环基NR $-$ 、 $-NRC_3-C_8$  $-$ 碳环基NR $-$ 、 $-NRC_1-C_6$ 烷基NR $-$ 、 $-NRC_1-C_6$ 亚烷基 $-$ 、 $-S-$ 、 $-NR-$ 、 $-NRNR-$ 、 $-O(CR_2)_{1-4}S-S(CR_2)_{1-4}N(R)-$ 、 $-NRC_1-C_6$ 亚烷基亚苯基NR $-$ 、 $-NRC_1-C_6$ 亚烷基亚苯基SO<sub>2</sub>NR $-$ 、 $-OC_1-C_6$ 烷基S-SC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基C(COOR)NR $-$ 、 $-NRC(COOR)C_1-C_6$ 烷基S-SC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基O $-$ 、



[0269]



[0270] 其中

[0271]  $X^A$ 为CR或N，

[0272]  $X^B$ 为CH、CR(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>NR、CR(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>O、CR(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>C(O)NR、CR-(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>C(O)NRNR、CR(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>SO<sub>2</sub>NR、CR(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>NRNR、CR(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>NRC(O)或N，

[0273]  $X^C$ 各自为R，

[0274]  $X^D$ 各自为 $-(CH_2)_{1-5}-$ ，或者不存在；

[0275]  $X^E$ 为O、S、C(R)<sub>2</sub>、C(R)(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-NR<sub>2</sub>或NR，且

[0276]  $X^F$ 各自为(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-NR或C(R)<sub>2</sub>-(C(R)<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-O。

[0277] 本发明的其它方面包括化合物，诸如本申请中所提及的化合物，其中

[0278] R各自独立地选自由以下基团组成的组:H、 $-C_1-C_{20}$ 烷基及-NH<sub>2</sub>；

[0279] 对于V<sup>1</sup>出现的每一环系统而言，V<sup>1</sup>各自独立地为O或N(R)；

[0280] 对于V<sup>2</sup>出现的每一环系统而言，V<sup>2</sup>各自独立地为O或N(R)；

[0281] 对于W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>出现的每一环系统而言，W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>各自独立地为H、 $-C_1-C_5$ 烷基、-C(O)OR或-C(O)NR<sub>2</sub>；

[0282] 对于出现X的每一环系统而言，X各自独立地为卤代；

[0283] 对于出现Y的每一环系统而言，Y各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C(O)R<sup>A</sup>、-C(O)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、糖基、-NO<sub>2</sub>及-PO(OR<sup>A</sup>)<sub>2</sub>，其中R<sup>A</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组:H、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_1-C_8$ 杂烷基、 $-C_3-C_8$ 碳环基及 $-C_1-C_{20}$ 烷基N(R)<sub>2</sub>，其中所述 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_1-C_8$ 杂烷基、 $-C_3-C_8$ 碳环基及 $-C_1-C_{20}$ 烷基N(R)<sub>2</sub>任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代；

[0284] L<sup>1</sup>及L<sup>2</sup>各自独立地选自直接键及羰基；且

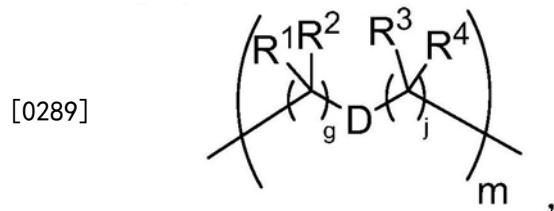
[0285] T选自：

[0286]  $-NR^B-T^1-NR^C-$ ，其中R<sup>B</sup>及R<sup>C</sup>各自独立地为H或 $-C_1-C_8$ 烷基，

[0287]  $-C(O)hetC(O)-$ ，其中het为5至12元的单环杂芳基，含有一或二个独立地选自O、N及S的杂原子，其中het任选地被1至8个各自独立地选自由以下基团组成的组的取代基取代: $-C_1-C_8$ 烷基、-NH<sub>2</sub>及-NH<sub>2</sub>，且het上的所述任选取代基任选地被 $-C_1-C_8$ 烷基取代，其中当T

为-C(0)hetC(0)-时,F<sup>1</sup>及F<sup>2</sup>的至少一个选自由环系统C及环系统D组成的组,以及

[0288] -C(A<sup>1</sup>)X<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>C(B<sup>1</sup>)-,其中T<sup>2</sup>为:



[0290] 其中X<sup>1</sup>各自为键,其中A<sup>1</sup>及B<sup>1</sup>各自独立地为=0,其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自独立地为H,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>形成环系统,或者R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>,以及R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>形成环系统,或者R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>,以及R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,其中所述环系统独立地选自-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基或-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,且其中D为键或选自由以下基团组成的组:-S-、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基任选地被-NH<sub>2</sub>、-N(R)C(0)H或-N(R)C(0)OH取代。

[0291] 本发明的另一方面包括化合物,诸如本申请中所提及的化合物,其中二个或更多个R任选地接合以形成一个环或多个环。

[0292] 本发明的另一方面包括化合物,诸如本申请中所提及的化合物,其中

[0293] R各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基及-NH<sub>2</sub>;

[0294] 对于V<sup>1</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>1</sup>各自独立地为0或N(R);

[0295] 对于V<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>2</sup>各自独立地为0或N(R);

[0296] 对于W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>各自独立地为H、-C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基、-C(0)OR或-C(0)NR<sub>2</sub>;

[0297] 对于出现X的每一环系统而言,X各自独立地为卤代;

[0298] 对于出现Y的每一环系统而言,Y各自独立地选自键、H、-C(0)R<sup>A</sup>、-C(S)R<sup>A</sup>、-C(0)OR<sup>A</sup>、-S(0)OR<sup>A</sup>、-C(0)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、-C(S)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、糖基、-NO<sub>2</sub>及-P(0)(OR<sup>A</sup>)<sub>2</sub>,其中R<sup>A</sup>各自独立地选自H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基、芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)<sub>2</sub>、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>亚烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚杂烷基、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基、亚芳烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基及-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)-及R<sup>F</sup>,其中所述R<sup>A</sup>任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代,且其中一个Y为二价且键合至L,

[0299] R<sup>F</sup>为-N(R<sup>6</sup>)QN(R<sup>5</sup>)C(0)-且于邻近N(R<sup>5</sup>)的羰基键合至L,其中R<sup>5</sup>及R<sup>6</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基及-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基,或者R<sup>5</sup>或R<sup>6</sup>与Q上的被取代的碳接合以形成-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环或-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基环,或者R<sup>5</sup>及R<sup>6</sup>接合在一起形成-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环或-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>杂芳基环系统,且其中Q为-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基-或-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基-,且其中Q、R<sup>5</sup>及R<sup>6</sup>各自独立地任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代;

[0300] L<sup>1</sup>及L<sup>2</sup>各自独立地选自直接键及羰基;且

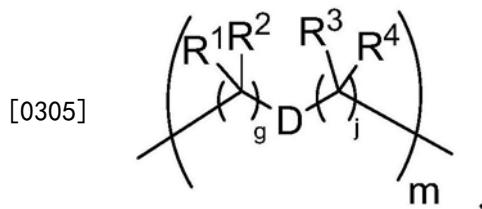
[0301] T选自:

[0302] -NR<sup>B</sup>-T<sup>1</sup>-NR<sup>C</sup>-,其中R<sup>B</sup>及R<sup>C</sup>各自独立地为H或-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基,

[0303] -C(0)hetC(0)-,其中het为5至12元的单环杂芳基,含有一或二个独立地选自O、N及S的杂原子,其中het任选地被1至8个各自独立地选自由以下基团组成的组的取代基取

代:-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、-NH<sub>2</sub>及-NH<sub>2</sub>,且het上的所述任选取代基任选地被-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基取代,其中当T为-C(0)hetC(0)-时,F<sup>1</sup>及F<sup>2</sup>的至少一个选自由环系统C及环系统D组成的组,以及

[0304] -C(A<sup>1</sup>)X<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>C(B<sup>1</sup>)-,其中T<sup>2</sup>为:



[0306] 其中X<sup>1</sup>各自为键,其中A<sup>1</sup>及B<sup>1</sup>各自独立地为=0,其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自独立地为H,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>形成环系统,或者R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>,以及R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>形成环系统,或者R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>,以及R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,其中所述环系统独立地选自-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基或-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,且其中D为键或选自由以下基团组成的组:-S-、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基任选地被-NH<sub>2</sub>、-N(R)C(0)H或-N(R)C(0)OH取代。

[0307] 本发明的另一方面包括化合物,诸如本申请中所提及的化合物,其中

[0308] R各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基及-NH<sub>2</sub>;

[0309] 对于V<sup>1</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>1</sup>各自独立地为0或N(R);

[0310] 对于V<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,V<sup>2</sup>各自独立地为0或N(R);

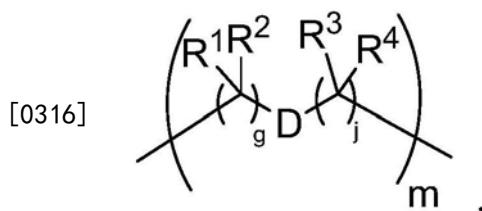
[0311] 对于W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>出现的每一环系统而言,W<sup>1</sup>及W<sup>2</sup>各自独立地为H、-C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基、-C(0)OR或-C(0)NR<sub>2</sub>;

[0312] 对于出现X的每一环系统而言,X各自独立地为卤代;

[0313] 对于出现Y的每一环系统而言,Y各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C(0)R<sup>A</sup>、-C(0)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>、糖基、-NO<sub>2</sub>及-PO(OR<sup>A</sup>)<sub>2</sub>,其中R<sup>A</sup>各自独立地选自由以下基团组成的组:H、-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基及-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)<sub>2</sub>,其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基及-C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基N(R)<sub>2</sub>任选地被1至3个独立地选自R的取代基取代;

[0314] L<sup>1</sup>及L<sup>2</sup>各自独立地选自直接键及羰基;且

[0315] T为-C(A<sup>1</sup>)X<sup>1</sup>-T<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>C(B<sup>1</sup>)-,其中T<sup>2</sup>为:

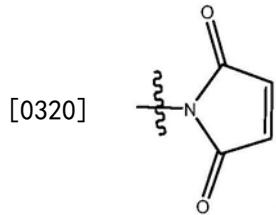


[0317] 其中X<sup>1</sup>各自为键,其中A<sup>1</sup>及B<sup>1</sup>各自独立地为=0,其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>各自独立地为H,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>形成环系统,或者R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>2</sup>,以及R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>形成环系统,或者R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>形成环系统,或者R<sup>1</sup>及R<sup>3</sup>,以及R<sup>2</sup>及R<sup>4</sup>均各自独立地形成环系统,其中所述环系统独立地选自-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基或-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,且其中D为键或选自由以下基团组成的组:-S-、-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基,其中所述-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>亚烷基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚芳基-、-C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>亚杂芳基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基任选地被-NH<sub>2</sub>、-N(R)C(0)H或-N(R)C(0)OH取代。

C<sub>10</sub>杂环基及-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基任选地被-NH<sub>2</sub>、-N(R)C(0)H或-N(R)C(0)OH取代。

[0318] 本发明的其它方面包括化合物，诸如本申请中所提及的化合物，其中

[0319] L<sup>A</sup>选自由以下基团组成的组：-卤代、-N(R)<sub>2</sub>、-CON(R)<sub>2</sub>、任选地被-NO<sub>2</sub>或-CON(R)<sub>2</sub>取代的-S-芳基、任选地被-NO<sub>2</sub>取代的-S-杂芳基、烷基-SO<sub>2</sub>-杂芳基、芳基SO<sub>2</sub>-杂芳基-及

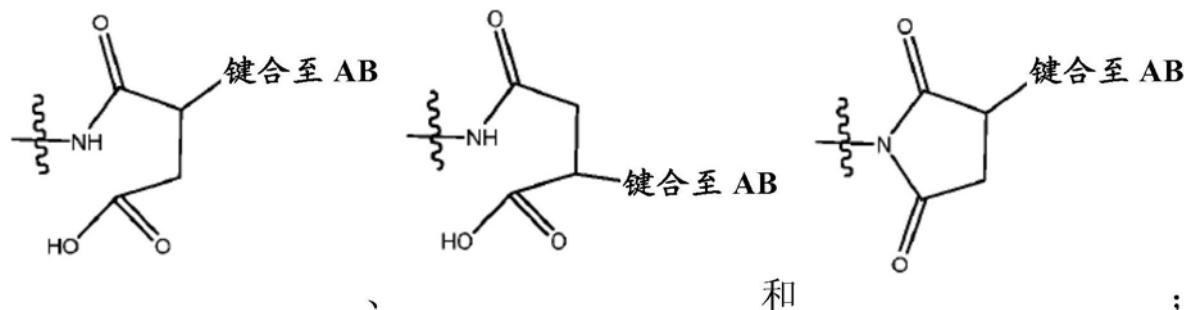


[0321] L<sup>B</sup>为L<sup>B1</sup>-L<sup>B2</sup>-L<sup>B3</sup>，其中L<sup>B1</sup>不存在或为一个或多个选自由以下基团组成的组的组分：-C(0)-、-C(S)-、-C(0)NR-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C(0)NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NRC(0)-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-C(0)-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-S-S-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NRC(0)CH<sub>2</sub>-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>NRC(0)CH<sub>2</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-NRC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>NRC(0)-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-苯基(NR-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)<sub>1-4</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-NRC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-S-、-C(0)-CH(NR-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-及(-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-)<sub>1-20</sub>，其中L<sup>B2</sup>为AA<sub>0-12</sub>，其中AA为天然氨基酸、非天然氨基酸或-(CR<sup>15</sup>)<sub>o</sub>-S-S-(CR<sup>15</sup>)<sub>p</sub>，其中o及p各自独立地为1至20的整数，且L<sup>B3</sup>为-PABA-、-PABC-或不存在；且

[0322] L<sup>C</sup>不存在。

[0323] 本发明的其它方面包括抗体药物缀合物，诸如本申请中所提及者，其中L<sup>A</sup>选自：键合至AB的键、-NR-（键合至AB）、烷基-SO<sub>2</sub>-杂芳基、芳基SO<sub>2</sub>-杂芳基-、

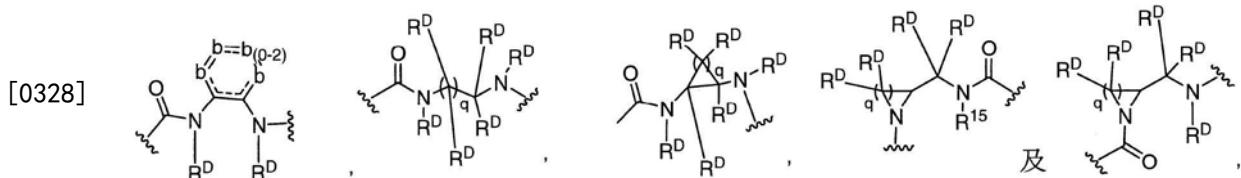
[0324]



[0325] L<sup>B</sup>为L<sup>B1</sup>-L<sup>B2</sup>-L<sup>B3</sup>，其中L<sup>B1</sup>不存在或为一个或多个选自由以下基团组成的组的组分：-C(0)-、-C(S)-、-C(0)NR-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C(0)NRC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NRC(0)-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-C(0)-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-S-S-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基NRC(0)CH<sub>2</sub>-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>NRC(0)CH<sub>2</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-NRC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C(0)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>NRC(0)-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-苯基(NR-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)<sub>1-4</sub>-、-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-NRC(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-、-S-、-C(0)-CH(NR-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-及(-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-)<sub>1-20</sub>，其中L<sup>B2</sup>为AA<sub>0-12</sub>，其中AA为天然氨基酸、非天然氨基酸或-(CR<sup>15</sup>)<sub>o</sub>-S-S-(CR<sup>15</sup>)<sub>p</sub>，其中o及p各自独立地为1至20的整数，且L<sup>B3</sup>为-PABA-、-PABC-或者不存在；且

[0326] L<sup>C</sup>不存在。

[0327] 本发明的其它方面包括化合物,诸如本申请中所提及的化合物,其中R<sup>F</sup>选自:



[0329] 其中q为1-10,且b各自独立地为CR<sup>D</sup>、N、NR<sup>D</sup>、O或S。

[0330] 本发明的其它方面包括化合物,诸如本申请中所提及的化合物,其中一个或多个W为C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。

[0331] 本发明的其它方面包括化合物,诸如本申请中所提及的化合物,其中X为卤代。

[0332] 本发明的其它方面包括化合物,诸如本申请中所提及的化合物,其中一个Y为H或-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基。

[0333] 本发明的其它方面包括化合物,诸如本申请中所提及的化合物,其中一个或多个Z为H。

[0334] 本发明的其它方面包括化合物,诸如本申请中所提及的化合物,其中T选自酰胺或式-NH-C(0)-NH-或-NH-C(0)-het-C(0)-NH-的氨基-系链-氨基。

[0335] 本发明的其它方面包括化合物,诸如本申请中所提及的化合物,其中所述酰胺为-C(0)NH-或-NHC(0)-。

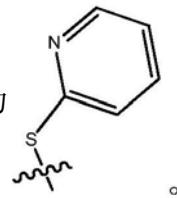
[0336] 本发明的其它方面包括化合物,诸如本申请中所提及的化合物,其中het为选自以下的杂芳基:吡咯-2,5-二基-、呋喃-2,5-二基-、吲哚-2,5-二基-、苯并呋喃-2,5-二基-及3,6-二氢苯并[1,2-b:4,3-b]二吡咯-2,7-二基。

[0337] 本发明的其它方面包括化合物,诸如本申请中所提及的化合物,其中L<sup>1</sup>及L<sup>2</sup>选自羰基、2-羰基吲哚-5-基、2-羰基-6-羟基-7-甲氧基吲哚-5-基、2-羰基-1,2,3,6-四氢苯并[1,2-b:4,3-b]二吡咯-7-基、2-羰基-4-羟基-5-甲氧基-1,2,3,6-四氢苯并[1,2-b:4,3-b']二吡咯-7-基及2-羰基-4-羟基-5-甲氧基-1,2,3,6-四氢苯并[1,2-b:4,3-b']二吡咯-7-基。

[0338] 本发明的其它方面为本申请中所述的化合物,其中下列者一个或多个适用:W为甲基;X为卤素;Y为氢或-COR,其中R为C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基;且Z为氢。

[0339] 本发明亦包括本申请中所述的化合物,其中T选自酰胺(亦即,-C(0)NH-或-NHC(0)-);或式-NH-T'-NH的氨基-系链-氨基,其中T'为羰基或-C-(0)-het-C(0)-。当T为式-NH-T'-NH的氨基-系链-氨基时,T'可为羰基(亦即,-C-(0)-)或-C(0)-het-C(0)-,其中het为选自以下的杂芳基:吡咯-2,5-二基-、呋喃-2,5-二基-、吲哚-2,5-二基-、苯并呋喃-2,5-二基-或3,6-二氢苯并[1,2-b:4,3-b]二吡咯-2,7-二基。

[0340] 亦包括于本发明实施方案中的为本申请中所述的化合物,其中L<sup>1</sup>及L<sup>2</sup>选自2-羰基吲哚-5-基、2-羰基-6-羟基-7-甲氧基吲哚-5-基、2-羰基-1,2,3,6-四氢苯并[1,2-b:4,3-b]二吡咯-7-基、2-羰基-4-羟基-5-甲氧基-1,2,3,6-四氢苯并[1,2-b:4,3-b']二吡咯-7-基及2-羰基-4-羟基-5-甲氧基-1,2,3,6-四氢苯并[1,2-b:4,3-b']二吡咯-7-基。



[0341] 本发明的另一方面包括本申请中所述的化合物,其中L<sup>A</sup>为

[0342] 本发明亦包括连接子-有效负载体或抗体药物缀合物,其包含本申请中所述的有效负载体化合物的基团。

[0343] 重要的是,本发明包括本申请中所述的化合物及其任何药学上可接受的盐或溶剂化物的药物组合物,其中所述药物组合物包括药学上可接受的赋形剂。

[0344] 本发明进一步涉及治疗癌症的方法,其包括将治疗有效量的一种或多种本申请中所述的化合物或包含一种或多种这些化合物的药物组合物或组合物给予有此需求的患者。

[0345] 一些化合物,包括本申请中所述的有效负载体、连接子-有效负载体及抗体药物缀合物以特定的立体异构体形式显现。然而,本发明意味着包括这些化合物的所有立体异构体形式。例如,具有两个立体异构体中心的化合物可被描述成化合物的R,S形式,但本发明表达所有的立体异构体形式,例如,R,R;R,S;S,R及S,S。

#### [0346] 详细描述

[0347] 本发明涉及细胞毒双功能化合物、含该细胞毒双功能化合物的抗体药物缀合物(ADC),以及使用它们治疗癌症及其它病理性状况的方法。本发明亦涉及体外、原地及体内使用所述化合物和/或缀合物进行检测、诊断或治疗哺乳动物细胞或相关病理性状况的方法。

#### [0348] 定义及缩写

[0349] 除非另有指定,否则本申请中所用的下列术语及短语意欲具有下面的定义。当本申请中使用商标名时,除非上下文另有指定,否则该商标名包括产品配方、通用名药及商标名产品的活性药物成分。

[0350] 本申请中的术语“抗体”(或“Ab”)是最广义地使用的,特别涵盖完整单克隆抗体、多克隆抗体、单特异性抗体、多重特异性抗体(例如,双特异性抗体)及显现所期望的生物活性的抗体片段。完整抗体主要具有两个区域:可变区和恒定区。可变区结合至目标抗原且与其相互作用。可变区包括互补决定区(CDR),其识别并结合至特定抗原上的特定结合部位。恒定区可被免疫系统识别且与其相互作用(例如参见Janeway等人,2001,Immuno.Biology,5th Ed.,Garland Publishing,New York)。抗体可为任何型式或类别(例如IgG、IgE、IgM、IgD及IgA)或亚类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)。抗体可衍生自任何适当物种。一些实施方案中,抗体为人类或鼠类来源。抗体可以是,例如,人类、人源化或嵌合式的。

[0351] 术语“特异地结合”及“特异性结合”意指抗体结合至预定抗原。典型地,抗体以至少约 $1 \times 10^7 M^{-1}$ 的亲合力结合,且以结合至不是预定抗原或密切相关抗原的非特异性抗原(例如,BSA、酪蛋白)的亲和力的至少两倍的亲合力结合至预定抗原。

[0352] 本申请中所用的术语“单克隆抗体”意指得自实质上同质的抗体群体的抗体,亦即,除了可能小量地存在的天然发生的突变以外,包含该群体的个体抗体是相同的。单克隆抗体具高度特异性,对准单一的抗原位点。修饰字“单克隆”表示抗体的特征为得自实质上同质的抗体群体,而不应被解释成需要通过任何特定方法制造该抗体。

[0353] 术语“单克隆抗体”特别包括“嵌合”抗体，其中有一部分重链和/或轻链与衍生自特定物种或属于特定抗体类别或亚类别的相应序列相同或同源，而其余的链则与衍生自另一个物种或属于另一个抗体类别或亚类别的相应序列相同或同源，以及此类抗体的片段，只要它们显现所期望的生物活性即可。

[0354] 本申请中所用的“H(C)-”意指曲妥珠单抗(商标名HERCEPTIN<sup>®</sup>)，其为干扰HER2/neu受体的单克隆抗体，经由其胱氨酸之一结合至本发明化合物。本申请中所用的“H(K)-”意指曲妥珠单抗，其为干扰HER2/neu受体的单克隆抗体，经由其赖氨酸之一结合至本发明化合物。

[0355] “完整抗体”为依抗体类别而适当地包含抗原结合性可变区以及轻链恒定区(C<sub>L</sub>)及重链恒定区C<sub>H1</sub>、C<sub>H2</sub>、C<sub>H3</sub>及C<sub>H4</sub>的抗体。恒定区可为天然序列恒定区(例如人类天然序列恒定区)或其氨基酸序列变体。

[0356] 完整抗体可具有一个或多个“效应器功能”，其意指归因于抗体Fc区(例如天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)的那些生物活性。抗体效应器功能的实例包括补体依赖性细胞毒性、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)及抗体依赖性细胞介导的吞噬作用。

[0357] “抗体片段”包含完整抗体的一部分，优选包含其抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>及Fv片段、双抗体、三链抗体、四链抗体、线性抗体、单链抗体分子、scFv、scFv-Fc、由抗体片段形成的多特异性抗体片段、由Fab表达库所产生的片段或免疫特异地结合至目标抗原(例如癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原)的上述任一的表位结合性片段。

[0358] 抗体上下文中的术语：“可变的”意指抗体可变结构域的某些部分，其序列广泛地不同且用于每一特定抗体对其特定抗原的结合及特异性中。此可变性集中在轻链及重链可变结构域中被称为“高度可变区”的三个片段。可变结构域的更高度保守部分被称为框架区(FR)。天然重及轻链的可变结构域各自包括四个通过三个高度可变区连接的框架区。

[0359] 术语“高度可变区”用于本申请中时，意指抗体的氨基酸残基，其负责抗原结合。高度可变区通常包含来自“互补决定区”或“CDR”的氨基酸残基(例如，轻链可变结构域中的残基24-34(L1)、50-56(L2)及89-97(L3)及重链可变区中的31-35(H1)、50-65(H2)及95-102(L3)；Kabat等人(Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))和/或来自“高度可变环”的残基(例如，轻链可变结构域中的残基26-32(L1)，50-52(L2)及91-96(L3)及重链可变结构域中的那些残基26-32(H1)，53-55(142)及96-101(H3)；Chothia和Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-917)。框架区(FR)残基为除了本申请中所定义的高度可变区残基以外的那些可变结构域残基。

[0360] “单链Fv”或“scFv”抗体片段包含抗体的V.sub.H及V.sub.L结构域，其中这些结构域以单一多肽链存在。典型地，Fv多肽进一步地包含在V.sub.H及V.sub.L结构域之间的多肽连接子，其可使scFv形成期望的用于抗原结合的结构。有关scFv的综述，参见Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)。

[0361] 术语“双抗体”意指具有两个抗原结合位点的小抗体片段，该片段包含连接至相同多肽链中的轻链可变结构域(V<sub>L</sub>)的重链可变结构域(V<sub>H</sub>)。通过使用连接子(其太短以致于不

能在相同链上的两个结构域之间进行配对)所述结构域被迫与另一链的互补结构域配对而产生两个抗原结合位点。双抗体更完整地述于,例如,EP 0 404 097;W0 93/11161;及 Hollinger等人,1993,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448中。

[0362] 非人类(例如,啮齿类动物)抗体的“人源化”形式为嵌合抗体,其含有衍生自非人类免疫球蛋白的最小序列。就绝大部分而言,人源化抗体为人类免疫球蛋白(受者抗体),其中来自受者高度可变区的残基被具有期望特异性、亲合力及容量的来自非人类物种(供者抗体)诸如小鼠、大鼠、兔或非人类灵长类动物的高度可变区的残基替代。一些情况下,人类免疫球蛋白的框架区(FR)残基被相应的非人类残基替代。此外,人源化抗体可包含受者抗体或供者抗体中未发现的残基。这些修饰用来进一步精炼抗体的性能。通常,人源化抗体将包含实质上所有的至少一种且典型地两种可变结构域,其中所有或实质上所有高度可变环相当于非人类免疫球蛋白的高度可变环,且所有或实质上所有框架区(FR)为人类免疫球蛋白序列的框架区。人源化抗体任选地亦包含至少一部分的免疫球蛋白恒定区(Fc),典型地为人类免疫球蛋白恒定区。有关进一步的细节,参见Jones等人,1986,Nature 321:522-525;Riechmann等人,1988,Nature 332:323-329;以及Presta,1992,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596。

[0363] 本申请中所用的“分离的”意指与(a)天然来源诸如植物或动物细胞或细胞培养物,或(b)合成有机化学反应混合物的其它组分分离。本申请中所用的“纯化的”意指当被分离时,该分离物含有(以分离物的重量计)至少95%,且另一方面至少98%的化合物(例如,缀合物)。

[0364] “分离的”抗体为已由其天然环境的组分中鉴定及分开和/或回收的抗体。其天然环境的污染组分为会干扰抗体的诊断或医疗用途的物质,且可包括酶、激素及其它蛋白质或非蛋白质溶质。优选实施方案中,抗体将被纯化(1)至大于95重量%的抗体(通过劳里(Lowry)法测定)且最优先大于99重量%, (2)至足以得到至少15个N端或内部氨基酸序列的残基的程度(通过使用旋转杯测序仪测得),或(3)至同质性,通过SDS-PAGE于还原或非还原条件下使用Coomassie蓝或优选银染色测得。因为抗体的天然环境的至少一种组分将不存在,故分离的抗体包括原地在重组细胞内的抗体。然而,通常,分离的抗体将通过至少一个纯化步骤制得。

[0365] “诱导细胞凋亡”的抗体为诱导程序化细胞死亡的抗体,其通过膜联蛋白V的结合、DNA的片段化、细胞皱缩、内质网的扩张、细胞片段化和/或膜囊(称为细胞凋亡体)的形成进行测定。该细胞为肿瘤细胞,例如,乳房、卵巢、胃、子宫内膜、唾液腺、肺、肾、结肠、甲状腺、胰腺或膀胱细胞。不同的方法可用于评估与细胞凋亡有关的细胞事件。例如,磷脂酰丝氨酸(PS)易位可通过膜联蛋白结合法测量;DNA片段化可经由DNA断裂成梯法评估;且核/染色质凝聚连同DNA片段化可通过于亚二倍体细胞的任何增加来评估。

[0366] 术语“治疗有效量”意指有效治疗哺乳动物的疾病或障碍的药物的量。在癌症的情况下,药物的治疗有效量可减少癌症细胞的数目;减小肿瘤大小;抑制(亦即,某种程度地减缓且优先停止)癌细胞浸润至周边器官;抑制(亦即,某种程度地减缓且优先停止)肿瘤转移;某种程度地抑制肿瘤生长;和/或某种程度地缓解与癌症有关的一个或多个症状。至于药物可抑制现有癌细胞生长和/或杀死现有癌细胞的程度,它可以为细胞抑制性的和/或细胞毒性的。在癌症疗法方面,可以,例如,通过评估疾病进展时间(TTP)和/或测量响应率

(RR), 测定功效。

[0367] 术语“实质量”意指大多数, 亦即, 大于50%的群体、混合物或样品。

[0368] 术语“细胞内代谢物”意指细胞内部对抗体药物缀合物(ADC)的代谢过程或反应所产生的化合物。所述代谢过程或反应可以为酶过程诸如抗体药物缀合物的肽连接子的蛋白分解裂解作用。细胞内代谢物包括(但不限于)进入、扩散、摄取或运送至细胞中之后经历细胞内裂解作用的抗体及游离药物。

[0369] 术语“分子内裂解的”及“分子内裂解”意指细胞内部对抗体药物缀合物等的代谢过程或反应, 通过该代谢过程或反应药物部分与抗体之间的共价连接(例如, 连接子)被破裂, 导致游离药物或缀合物的其它代谢物于细胞内部与抗体解离。因此抗体药物缀合物的裂解的部分为分子内代谢物。

[0370] 术语“生物利用度”意指给予患者后的特定量的药物的系统性利用率(亦即, 血液/血浆水平)。生物利用度为绝对术语, 其意指从所施用的剂型达到全身循环的药物的时间(速率)及总量(程度)二者。

[0371] 术语“细胞毒活性”意指抗体药物缀合物或抗体药物缀合物的细胞内代谢物的杀灭细胞、抑制细胞或抗增殖的效应。细胞毒活性可以IC<sub>50</sub>值表示, IC<sub>50</sub>值为细胞的一半存活时每单位体积的浓度(摩尔或质量浓度)。

[0372] “障碍”为将从使用药物或抗体药物缀合物的治疗中获得益处的任何状况。它包括慢性及急性障碍或疾病, 包括使哺乳动物易患所讨论的障碍的那些病理状况。本申请中被治疗的障碍的非限制性实例包括良性及恶性癌症; 白血病及淋巴系统恶性疾病、神经元障碍、神经胶质障碍、星状胶质细胞障碍、下丘脑障碍及其它腺体障碍、巨噬细胞障碍、上皮障碍、基质障碍及胚囊障碍; 及炎性障碍、血管生成性障碍及免疫性障碍。

[0373] 术语“癌症”及“癌性的”意指或描述哺乳动物中典型地以失调的细胞生长为特征的生理状况或障碍。“肿瘤”包含一种或多种癌性细胞。

[0374] “患者”的实例包括(但不限于)人类、大鼠、小鼠、豚鼠、猴、猪、山羊、奶牛、马、狗、猫、鸟及家禽。在例示性实施方案中, 患者为人类。

[0375] 除非上下文另有指定, 否则术语“治疗”意指治疗性处理及避免复发的预防性措施, 其中的目标是抑制或减缓(减轻)不期望的生理变化或障碍, 诸如癌症的发展或扩散。就本发明的目的而言, 有益或期望的临床结果包括(但不限于)症状的减轻、疾病程度的减小、疾病的稳定化(亦即, 不恶化)状态、疾病进展的延缓或减缓、疾病状态的改善或缓和以及缓解(无论是部分或全部), 无论是可检测的或不可检测的。“治疗”亦可意指与未接受治疗的预期存活相比的延长存活。需要治疗者包括已具有所述病况或障碍者以及有患所述病况或障碍倾向者。

[0376] 在癌症的上下文中, 术语“治疗”包括任何或所有的抑制肿瘤细胞、癌细胞或肿瘤的生长; 抑制肿瘤细胞或癌细胞的复制、减轻整体肿瘤负荷或降低癌性细胞数目, 以及改善与所述疾病有关的一个或多个症状。

[0377] 在自体免疫疾病的上下文中, 术语“治疗”包括任何或所有的抑制与自体免疫疾病状态有关的细胞(包括, 但不限于可产生自体免疫抗体的细胞)的复制、减轻自体免疫抗体负荷及改善自体免疫疾病的一个或多个症状。

[0378] 在感染疾病的上下文中, 术语“治疗”包括任何或所有的: 抑制可导致感染性疾病

的病原体的生长、增殖或复制,以及改善感染性疾病的一个或多个症状。

[0379] 术语“包装插入物”用于意指治疗产品的商业包装中通常包括的使用说明书,其含有关于涉及此治疗产品使用的适应症、用法、剂量、施用、禁忌症和/或警告的信息。

[0380] 本申请中所用的术语“细胞”、“细胞系”及“细胞培养物”可互换使用且所有此类称呼包括后代。字语“转化体”及“转化的细胞”包括初代目标细胞及培养物或由其所衍生之后代而无关于转移数目。也应该理解,由于蓄意或无意的突变所有后代可能在DNA内容上未必精确相同。包括具有与原始转化细胞中筛选出者相同功能或生物学活性的突变后代。如果想表示不同的称号,其可由上下文中清楚看出。

[0381] 本申请中所用的CBI意指1,2,9,9a-四氢-4H-苯并[e]环丙[c]吲哚-4-酮,或其被取代或衍生化形式。CBI亦可意指CBI的开环形式或seco-CBI,其亦称的为1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-醇,或其被取代或衍生化形式。

[0382] 本申请中所用的CPI意指1,2,8,8a-四氢环丙[c]吡咯并[3,2-e]吲哚-4(5H)-酮或其被取代或衍生化形式。CPI亦可意指CPI的开环形式或seco-CPI,其亦称的为8-(氯甲基)-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-醇,或其被取代或衍生化形式。

[0383] 除非另有指定,否则术语“烷基”(本身或作为另一术语的一部分)意指具有指定碳原子数的直链或支链、饱和烃(例如,“C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>”烷基意指具有1至8个碳原子的烷基)。烷基典型地包含1至20个碳原子,优选1至8个碳原子,且更优选1至4个碳原子。当碳原子数未指定时,该烷基具有1至8个碳原子。代表性直链C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基包括(但不限于)甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基、正庚基及正辛基;而支链C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基包括(但不限于)-异丙基、-仲丁基、-异丁基、-叔丁基、-异戊基及-2-甲基丁基;不饱和C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>烷基包括(但不限于)乙烯基、烯丙基、1-丁烯基、2-丁烯基、异丁烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、3-甲基-1-丁烯基、2-甲基-2-丁烯基、2,3-二甲基-2-丁烯基、1-己烯基、2-己烯基、3-己烯基、乙炔基、丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、1-戊炔基、2-戊炔基及3-甲基-1-丁炔基。本申请中提及的“烷基”意指如上所述的未被取代及被取代的部分。

[0384] 除非另有指定,否则“亚烷基”(本身或作为另一术语的一部分)意指具有指定碳原子数,典型地1至18个碳原子,且具有两个通过移除来自母烷的相同或两个不同碳原子的两个氢原子而衍生的单价基团中心的饱和、支链或直链或环状烃基。亚烷基典型地包含1至18个碳原子,优选1至10个碳原子,更优选1至8个碳原子,且最优选地1至4个碳原子。典型的亚烷基包括(但不限于):亚甲基(-CH<sub>2</sub>-)、1,2-亚乙基-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)、1,3-亚丙基(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)、1,4-亚丁基(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)等等。“C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>”直链亚烷基为式-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-10</sub>-的直链、饱和烃基。C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>亚烷基的实例包括亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚丁基、亚戊基、亚己基、亚庚基、亚辛基、亚壬基及亚癸基。本申请中提及的“亚烷基”意指如上所述的未被取代和被取代的部分。

[0385] 除非另有指定,否则术语“杂烷基”(本身或与其它术语组合地)意指稳定的直或支链烃或其组合,完全饱和或含1至3个不饱和度,由指定的碳原子数及一至三个选自由O、N、Si及S所组成的组的杂原子所组成,且其中氮及硫原子可任选地氧化且氮杂原子可任选地季铵化。杂原子O、N及S可位于杂烷基的任何内部位置。杂原子Si可位于杂烷基的任何位置,包括其中烷基连接至分子剩余部分的位置。最多为两个的杂原子可以是连续的。杂烷基典型地包含1至15个碳原子,优选1至12个碳原子,更优选1至8个碳原子,且最优选地1至4个碳原子。本申请中提及的“杂烷基”意指如上所述的未被取代及被取代的部分。

[0386] 除非另有指定,否则“亚杂烷基”(本身或作为另一术语的一部分)意指衍生自杂烷基(如上所讨论)的二价基。对于亚杂烷基,杂原子亦可占据链端的任一端或两端皆占据。本申请中所提及的“亚杂烷基”意指如上所述的未被取代及被取代的部分。

[0387] 除非另有指定,否则“芳基”(本身或作为另一术语的一部分)意指通过从母芳族环系统的单一碳原子中移除一个氢原子所衍生的5-20个,优选5-14个或6-14个碳原子的被取代或未被取代单价碳环芳族烃基。典型的芳基包括(但不限于)衍生自苯、被取代苯、萘、蒽、联苯等等的基团。被取代碳环芳族基(例如,芳基)可被一个或多个,优选1至5个下列基团取代: $C_1-C_8$ 烷基、 $-O-(C_1-C_8\text{烷基})$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-OC(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR'$ 、 $-C(O)N(R')_2$ 、 $-NHC(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-OH$ 、卤素、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(R^9)$ 、 $-N(R^9)_2$ 及 $-CN$ ;其中 $R^9$ 各自独立地选自-H、 $C_1-C_8$ 烷基及未被取代的芳基。一些实施方案中,被取代的碳环芳族基可进一步包括一个或多个下列者: $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-NHCONH_2$ 、 $-S(=O)_2R^9$ 及 $-SR^9$ 。“亚芳基”为相应的二价部分。

[0388] “被取代的烷基”(或“被取代的亚烷基”、“被取代的杂烷基”或“被取代的亚杂烷基”)意指如上所讨论的相关烷基含烷基基团,其中一个或多个氢各自独立地被取代基替代。典型的取代基包括(但不限于) $-X$ 、 $-R^{10}$ 、 $-O-$ 、 $-OR^{10}$ 、 $-SR^{10}$ 、 $-S^-$ 、 $-NR^{10}_2$ 、 $-NR^{10}_3$ 、 $=NR^{10}$ 、 $-CX_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-N=C=O$ 、 $-NCS$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-NR^{10}C(=O)R^{10}R^{10}$ 、 $-C(=O)NR^{10}_2$ 、 $-SO_3^-$ 、 $-SO_3H$ 、 $-S(=O)_2R^{10}$ 、 $-OS(=O)_2OR^{10}$ 、 $-S(=O)_2NR^{10}$ 、 $-S(=O)R^{10}$ 、 $-OP(=O)(OR^{10})_2$ 、 $-P(=O)(OR^{10})_2$ 、 $-PO_3^{2-}$ 、 $PO_3H_2$ 、 $-AsO_2H_2$ 、 $-C(=O)R^{10}$ 、 $-C(=O)X$ 、 $-C(=S)R^{10}$ 、 $-CO_2R^{10}$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-C(=S)OR^{10}$ 、 $-C(=S)SR^{10}$ 、 $-C(=O)NR^{10}_2$ 、 $-C(=S)NR^{10}_2$ 或 $-C(=NR^{10})NR^{10}_2$ ,其中X各自独立地为卤素:-F、-Cl、-Br或-I;且 $R^{10}$ 各自独立地为-H、 $C_1-C_{20}$ 烷基、 $C_1-C_{20}$ 杂烷基、 $C_6-C_{20}$ 芳基、 $C_1-C_{10}$ 杂环基、保护基或前药部分。如上所述的芳基、亚烷基及亚杂烷基亦可类似地被取代。

[0389] 除非另有指定,否则“芳烷基”(本身或作为另一术语的一部分)意指如上所定义的烷基,被如上所定义的芳基取代。

[0390] 除非另有指定,否则“ $C_3-C_{10}$ 杂环基”(本身或作为另一术语的一部分)意指具有2至10个,2至14个,或2至20个碳原子,优选3至8个碳原子(亦称之为环成员)及一至四个独立地选自N、O、P或S的杂原子环成员,且通过移除母环系统的环原子中的一个氢原子所衍生的单价被取代或未被取代芳族或非芳族单环、双环或三环系统。杂环基中的一个或多个N、C或S原子可被氧化。包括杂原子的环可以为芳族或非芳族。芳族杂环在本申请中有时被称为杂芳基。除非另有注明,否则杂环基于任何杂原子或碳原子处连接至其侧基而得到稳定的结构。 $C_2-C_{10}$ 杂环基的代表性实例包括(但不限于)四氢呋喃基、氧杂环丁烷基、吡喃基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、苯并呋喃基、苯并噻吩、苯并噻唑基、吲哚基、苯并吡唑基、吡咯基、噻吩基(噻吩)、呋喃基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、三唑基、喹啉基(包括诸如1,2,3,4-四氢-喹啉基等部分)、嘧啶基、毗啶基、毗啶酮基、吡嗪基、哒嗪基、异噻唑基、异恶唑基、四唑基、环氧化物、氧杂环丁烷及BODIPY(被取代或未被取代)。 $C_2-C_{10}$ 杂环基可经最多七个基团包括(但不限于) $C_1-C_8$ 烷基、 $C_1-C_8$ 杂烷基、 $-OR^{11}$ 、芳基、 $-C(O)R^{11}$ 、 $-OC(O)R^{11}$ 、 $-C(O)OR^{11}$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR^{11}$ 、 $-C(O)N(R^{11})_2$ 、 $-NHC(O)R^{11}$ 、 $-S(=O)_2R^{11}$ 、 $-S(O)R^{11}$ 、卤素、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(R^{11})$ 、 $-N(R^{11})_2$ 及 $-CN$ 取代;其中 $R^{11}$ 各自独立地选自-H、 $C_1-C_8$ 烷基、 $C_1-C_8$ 杂烷基及芳基。一些实施方案中,被取代杂环基亦包括一个或多个下列者: $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-NHCONH_2$ 、 $-S(=O)_2R^{11}$ 及-

SR<sup>11</sup>。杂环基(heterocyclo)或C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>杂环基(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>heterocyclo)为相应的二价部分。二价芳族杂环在本申请中有时被称为亚杂芳基或C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>亚杂芳基。

[0391] 如上所述,芳族杂环有时称杂芳基,且除了杂原子外,优选含有5-14个、6-14个或6-20个碳原子。杂芳基可以为单环、双环或三环状环系统。代表性杂芳基包括(但不限于)三唑基、四唑基、恶二唑基、吡啶基、呋喃基、苯并呋喃基、噻吩基、苯并噻吩基、喹啉基、吡咯基、吲哚基、恶唑基、苯并恶唑基、咪唑基、苯并咪唑基、噻唑基、苯并噻唑基、异恶唑基、吡唑基、异噻唑基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基、噌啉基、吠嗪基、喹唑啉基、嘧啶基、氮杂环庚三烯基、氧杂环庚三烯基及喹喔啉基。杂芳基任选地被取代。典型的取代基包括(但不限于)-X、-R<sup>h</sup>、-O-、-OR<sup>h</sup>、-SR<sup>h</sup>、-S<sup>-</sup>、-NR<sup>h</sup><sub>2</sub>、-NR<sup>h</sup><sub>3</sub>、=NR<sup>h</sup>、-CX<sub>3</sub>、-CN、-OCN、-SCN、-N=C=0、-NCS、-NO、-NO<sub>2</sub>、=N<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-NR<sup>h</sup>C(=O)R<sup>h</sup>、-C(=O)NR<sup>h</sup><sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>、-SO<sub>3</sub>H、-S(=O)R<sup>h</sup>、-OS(=O)R<sup>h</sup>、-S(=O)NR<sup>h</sup>、-S(=O)R<sup>h</sup>、-OP(=O)(OR<sup>h</sup>)<sub>2</sub>、-P(=O)(OR<sup>h</sup>)<sub>2</sub>、-PO<sub>3</sub><sup>2-</sup>、PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-AsO<sub>2</sub>H<sub>2</sub>、-C(=O)R<sup>h</sup>、-C(=S)R<sup>h</sup>、-CO<sub>2</sub>R<sup>h</sup>、-CO<sub>2</sub><sup>-</sup>、-C(=S)OR<sup>h</sup>、-C(=O)SR<sup>h</sup>、-C(=S)SR<sup>h</sup>、-C(=O)NR<sup>h</sup><sub>2</sub>、-C(=S)NR<sup>h</sup><sub>2</sub>、-C(=NR)NR<sup>h</sup><sub>2</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>杂烷基、C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环基、保护基或前药部分,其中X各自独立地为卤素:-F、-Cl、-Br或-I;且R<sup>h</sup>各自独立地为-H或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。二价芳族杂环在本申请中有时被称为亚杂芳基或C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>亚杂芳基。

[0392] 除非另有指定,否则“杂芳烷基”(本身或作为另一术语的一部分)意指如上所定义的烷基,其被如上所定义的芳族杂环基取代。亚杂芳烷基(Heteroaralkyl)为相应的二价部分。

[0393] 除非另有指定,否则“C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基”(本身或作为另一术语的一部分)为通过从母环系统的环原子中移除一个碳原子所衍生的3-、4-、5-、6-、7-或8-元单价、被取代或未被取代、饱和或不饱和非芳族单环或双环状碳环。代表性C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基包括(但不限于)环丙基、环丁基、环戊基、环戊二烯基、环己基、环己烯基、1,3-环己二烯基、1,4-环己二烯基、环庚基、1,3-环庚二烯基、1,3,5-环庚三烯基、环辛基、环辛二烯基、双环(1.1.1.)戊烷及双环(2.2.2.)辛烷。C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基可未被取代或经最高为七个的包括(但不限于)下列的基团取代:C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基、-OR<sup>11</sup>、芳基、-C(0)R<sup>11</sup>、-OC(0)R<sup>11</sup>、-C(0)OR<sup>11</sup>、-C(0)NH<sub>2</sub>、-C(0)NHR<sup>11</sup>、-C(0)N(R<sup>11</sup>)<sub>2</sub>、-NHC(0)R<sup>11</sup>、-S(=O)R<sup>11</sup>、-S(=O)R<sup>11</sup>、-OH、卤素、-N<sub>3</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NH(R<sup>11</sup>)、-N(R<sup>11</sup>)<sub>2</sub>及-CN;其中R<sup>11</sup>各自独立地选自-H、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>杂烷基及芳基。“亚C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>carbocyclo)”为相应的二价部分。

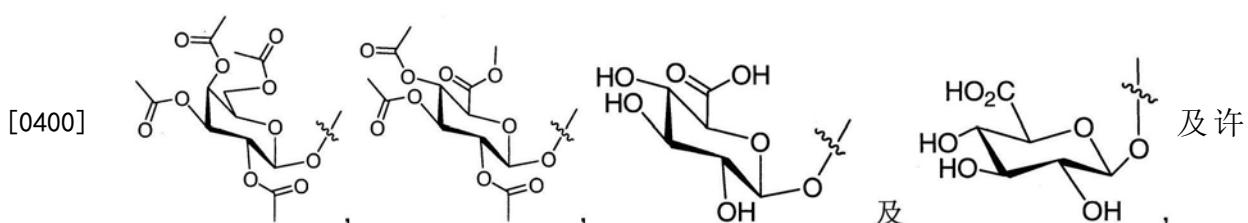
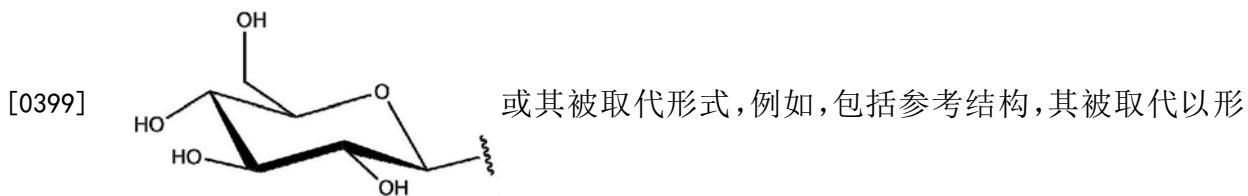
[0394] 本申请中所用的叠氨基取代基意指-N=N=N;氰酸酯基取代基意指-O-CN;硫氰酸酯基取代基意指-S-CN;异氰酸酯基取代基意指-N=C=0;且硫异氰酸酯基取代基意指-S-N=C=0。

[0395] 术语“手性”意指具有与镜像伙伴不可重迭的性质的分子,而术语“非手性”意指可与镜像伙伴重迭的分子。

[0396] 术语“立体异构体”意指具有相同的化学组成,但有原子或基团在空间中的排列不同的化合物。

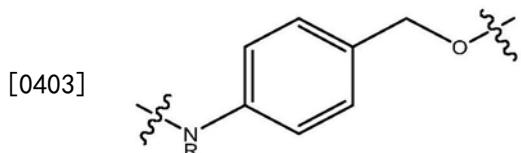
[0397] “非对映异构体”意指具有二个或更多个手性中心的立体异构体且它们的分子彼此不为镜像。非对映异构体具有不同的物理性质,例如,熔点、沸点、光谱性质及反应性。非对映异构体的混合物可在高分辨分析程序诸如电泳及色谱法下分离。

[0398] “糖基”意指下列结构:



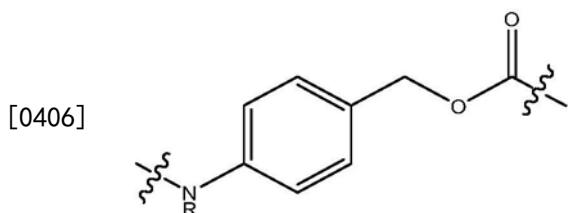
[0401] 本申请中所用的立体化学定义及命名法一般遵循S.P.Parker,Ed.,McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms,McGraw-Hill Book Company,New York(1984);及Eliel和Wilen,Stereochemistry of Organic Compounds,John Wiley&Sons,Inc.,New York(1994)。许多有机化合物以光学活性形式存在,亦即,它们具有将平面偏振光的平面旋转的能力。在说明光学活性化合物时,前缀D及L或R及S用以意指分子关于其手性中心的绝对构型。前缀d及l或(+)及(-)用以标示平面偏极光被化合物旋转的现象,(-)或l意指化合物为左旋。以(+)或d为前缀的化合物则为右旋。就给定的化学结构而言,这些立体异构体为完全相同的,惟彼此为镜像除外。特异的立体异构体亦可称为对映异构体,而这些异构体的混合物通常称为对映异构体混合物。对映异构体的50:50混合物称为外消旋混合物或外消旋物,如果在化学反应或过程当中没有立体选择或立体特异性,可发生这种物质。术语“外消旋混合物”及“外消旋物”意指两种对映异构体物质的等摩尔混合物,无光学活性。

[0402] 本申请中所用的“-PABA-”或“PABA”意指对氨基苯甲酸及由其衍生的部分,例如,下列结构:



[0404] 或其变体。

[0405] 本申请中所用的“-PABC-”或“PABC”意指对氨基苄氧羰基及由其衍生的部分,例如,下列结构:



[0407] 或其变体。

[0408] 氨基酸“衍生物”包括具有通过母氨基酸的共价连接诸如通过烷基化、糖基化、乙酰化、磷酸化等等进行的取代或修饰的氨基酸。“衍生物”的定义范围内进一步包括,例如,

具有被取代的键,以及技术领域中已知的其它修饰的氨基酸的一种或多种类似物。

[0409] 除非上下文中另有指定,否则“天然氨基酸”意指精氨酸、谷氨酰胺、苯基丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、赖氨酸、甘氨酸、丙氨酸、组氨酸、丝氨酸、脯氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、蛋氨酸、亮氨酸、天冬酰胺、异亮氨酸及缬氨酸。

[0410] “保护基”意指当连接至分子中的反应基时,可遮蔽、降低或避免反应性的部分。保护基的实例可见于T.W.Greene和P.G.M.Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, John Wiley&Sons, New York, 1999, 以及Harrison和Harrison等人, *Compendium of Synthetic Organic Methods*, Vols.1-8 (John Wiley and Sons, 1971-1996) 中,它们的全部内容并入本申请中以供参考。代表性羟基保护基包括酰基、苄基及三苯甲基醚、四氢吡喃基醚、三烷基硅烷基醚及烯丙基醚。代表性氨基保护基包括甲酰基、乙酰基、三氟乙酰基、苄基、苄氧羰基(CBZ)、叔丁氧羰基(Boc)、三甲基硅烷基(TMS)、2-三甲基硅烷基-乙磺酰基(SES)、三苯甲基及被取代的三苯甲基、烯丙氧羰基、9-芴基甲氧羰基(FMOC)、硝基-藜芦氧羰基(NVOC)等等。

[0411] “羟基保护基”包括(但不限于)甲氧基甲基醚、2-甲氧基乙氧基甲基醚、四氢吡喃基醚、苄基醚、对甲氧基苄基醚、三甲基硅烷基醚、三乙基硅烷基醚、三异丙基硅烷基醚、叔丁基二甲基硅烷基醚、三苯甲基硅烷基醚、乙酸酯、被取代的乙酸酯、三甲基乙酸酯、苯甲酸酯、甲磺酸酯及对甲苯磺酸酯。

[0412] “离去基”意指可被另一官能基取代的官能基。这类离去基是本技术领域中熟知的,实例包括(但不限于)卤化物(例如,氯化物、溴化物、碘化物)、甲磺酰基、对甲苯磺酰基、三氟甲磺酰基及三氟甲磺酸酯。

[0413] 本申请中所用的短语“药学上可接受的盐”意指化合物的药学上可接受的有机或无机盐。化合物典型地含有至少一个氨基,因此酸加成盐可以此氨基形成。例示的盐类包括(但不限于)硫酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、草酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸磷酸盐、异烟酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、酸柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、鞣酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖醛酸盐、糖酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐及扑酸盐(亦即,1,1'-亚甲基-双-(2-羟基基-3-萘甲酸盐))。药学上可接受的盐可包括另一分子诸如乙酸根离子、琥珀酸根离子或其它抗衡离子的纳入。抗衡离子可以为任何有机或无机部分,其可使母化合物上的电荷稳定化。此外,药学上可接受的盐可在其结构中具有大于一个的荷电原子。在当多重荷电原子为药学上可接受的盐的一部分的情况下可具有多重抗衡离子。因此,药学上可接受的盐可具有一个或多个荷电原子和/或一个或多个抗衡离子。

[0414] “药学上可接受的溶剂化物”或“溶剂化物”意指一种或多种溶剂分子与本发明化合物或缀合物的缔合。形成药学上可接受的溶剂化物的溶剂实例包括(但不限于)水、异丙醇、乙醇、甲醇、二甲亚砜、乙酸乙酯、乙酸及乙醇胺。

[0415] 术语“负载”或“药物负载”或“有效负载体负载”表示或意指抗体药物缀合物分子中每个抗体的有效负载体(本申请中“有效负载体”可与“药物”互换使用)的平均数。药物负载可在每个抗体1至20个药物的范围内。有时将其称为DAR,或药物抗体比。本申请中所述的抗体药物缀合物的组合物典型地具有1-20的DAR,某些实施方案中具有1-8、2-8、2-6、2-5及

2-4的DAR。典型的DAR值为2、4、6及8。每个抗体的药物平均数(或DAR值)可以通过惯用的方法诸如紫外线/可见光光谱术、质谱术、ELISA分析法及HPLC法表征。定量DAR值亦可测定。一些情况下,具有特定DAR值的同质抗体药物缀合物的分离、纯化及表征可通过诸如反相HPLC或电泳等方法实现。DAR可被抗体上的连接部位数所限制。例如,当连接点为半胱氨酸硫醇,则抗体仅可能仅具有一个或数个半胱氨酸硫醇基,或者可能仅具有一个或数个足够反应的硫醇基以使连接子单元经由此连接。一些实施方案中,半胱氨酸硫醇为半胱氨酸残基的硫醇基,其形成链间的二硫键。一些实施方案中,半胱氨酸硫醇为半胱氨酸残基的硫醇基,并不形成链间的二硫键。典型地,少于理论最大值的药物部分于缀合反应期间缀合至抗体。抗体可含有,例如,许多并不与连接子或连接子中间体反应的赖氨酸残基。仅有最具反应性的赖氨酸基可与反应性连接子试剂反应。

[0416] 通常,抗体并不含有许多(如有的话)可经由连接子连接至药物的游离及反应性半胱氨酸硫醇基。抗体中大多数的半胱氨酸硫醇残基以二硫桥形式存在且必需以还原剂诸如二硫苏糖醇(DTT)还原。抗体可接受变性条件以显露反应性亲核基诸如赖氨酸或半胱氨酸。抗体药物缀合物的负载(药物/抗体比)可以数种不同方式控制,包括:(i)限制药物连接子相对于抗体的摩尔过量,(ii)限制缀合反应时间或温度,以及(iii)部分或限制供半胱氨酸硫醇修饰的还原条件。当大于一个亲核基与药物连接子反应,则所得产物为每个抗体具有一个或多个药物部分分布的抗体药物缀合物的混合物。每个抗体的药物平均数可通过,例如,双重ELISA抗体分析法(对抗体具特异性及对药物具特异性)由混合物中计算出。个别的抗体药物缀合物可通过质谱术于混合物中鉴定出,以及通过HPLC例如,疏水性相互作用色谱法分离。

[0417] 下列者为本申请中可能不另行定义及说明的缩写及定义的列表:DMSO(意指二甲亚砜),HRMS(意指高分辨质谱术),DAD(意指二极管矩阵检测),TFA(意指2,2,2-三氟乙酸或三氟乙酸),TFF(意指切向流过滤),EtOH(意指乙醇),MW(意指分子量),HPLC(意指高效液相色谱法),prep HPLC(意指制备型高效液相色谱法),etc.(意指等等),trityl(意指1,1',1"-乙烷-1,1,1-三基三苯),THF(意指四氢呋喃),NHS(意指1-羟基-2,5-吡咯烷二酮),Cbz(意指羧苄基),eq.(意指当量),n-BuLi(意指正丁基锂),OAc(意指乙酸酯),MeOH(意指甲醇),i-Pr(意指异丙基或丙-2-基),NMM(意指4-甲基吗啉),且“-”(於表中意指此时无数据可得)。

[0418] 本申请中所用的二价部分及取代基意指该部分或取代基于任一方向或两个方向均可结合或连接。例如,-C(0)NR-部分(于L<sup>B1</sup>的定义中,或于别处)意指表达-C(0)NR-以及-NRC(0)-,-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-部分意指表达-C(0)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-以及-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基C(0)-等等。更通常地,非对称部分于其“左”及“右”侧连接的说明意指表达所呈现的部分(该部分的左侧连接于所书写的左侧,该部分的右侧连接于所书写的右侧)及所呈现的部分的反向(该部分的左侧连接于所书写的右侧,该部分的右侧连接于所书写的左侧)。

[0419] 本申请中所用的“键”及“不存在”均说明不包括原子或诸原子的变量。因此,当二价变量“不存在”时,当然意指邻近的部分彼此结合。例如,如果,L<sup>B2</sup>不存在,则L<sup>B1</sup>当然可结合至L<sup>B3</sup>;或者如果L<sup>B1</sup>及L<sup>B2</sup>均不存在,则L<sup>A</sup>当然可结合至L<sup>B3</sup>。类似地,如果二价变量定义为“键”,则其当然意指无原子存在且邻近的部分彼此结合。因此,例如,当变量“D”被定义为键时,应了解邻近D的碳(于定义T<sup>2</sup>的结构中)彼此结合。不存在的单价变量当然为氢或为可进

一步共价键结的电子对。

[0420] 抗体单元(A、Ab或AB)

[0421] 如上所述,本申请中的术语“抗体”(或“A”、“Ab”或“AB”)是最广义使用的,尤其涵盖完整的单克隆抗体、多克隆抗体、单特异性抗体、多重特异性抗体(例如,双特异性抗体)及显现所期望的生物学活性的抗体片段。此外,虽然本申请中所述的本发明的某些方面意指抗体药物缀合物,但可进一步设想该缀合物的抗体部分可被任何可特异地与受体、抗原或其它有关于给定目标细胞群体的反应部分结合或反应性缔合或复合的物质所替代。例如,本发明的缀合物可含有与受体、抗原或其它寻求治疗修饰或其它方式生物修饰的细胞群体的接受性部分结合、复合或反应的靶向分子,而不是含有抗体。这类些分子的实例包括较小分子量的蛋白质、多肽或肽类、凝集素、糖蛋白、非肽类、维生素、营养物运输分子(诸如但不限于运铁蛋白)或任何其它细胞结合分子或物质。某些方面,抗体或其它此类靶向分子用来将药物递送至与该抗体或其它靶向分子相互作用的特定目标细胞群体。

[0422] 另一方面,本发明涉及式IIIA或IIIB的抗体药物缀合物,其中抗体AB选自:曲妥珠单抗、曲妥珠单抗突变体(例如,本申请中或国际专利申请案PCT/IB2012/056234中公开的曲妥珠单抗突变体)、奥戈伏单抗(oregovomab)、依决洛单抗(edrecolomab)、西妥昔单抗(cetuximab)、抗玻连蛋白受体( $\alpha_v\beta_3$ )的人源化单克隆抗体、阿仑珠单抗(alemtuzumab)、用于治疗非何杰金氏淋巴瘤的抗HLA-DR抗体(包括人源化抗HLA-DR抗体)、131I Lym-1、用于治疗非何杰金氏淋巴瘤的抗HLA-Dr10抗体(包括鼠抗HLA-Dr10抗体)、抗cd33抗体、用于治疗何杰金氏淋巴瘤或非何杰金氏淋巴瘤的抗cd22抗体(包括人源化抗CD22mAb)、拉贝珠单抗(labetuzumab)、贝伐珠单抗(bevacizumab)、替伊莫单抗(ibritumomab tiuxetan)、奥法木单抗(ofatumumab)、帕尼单抗(panitumumab)、利妥昔单抗(rituximab)、托西莫单抗(tositumomab)、伊匹木单抗(ipilimumab)及吉妥珠单抗(gentuzumab)。

[0423] 可存在于抗体单元上的杂原子包括硫(在一个实施方案中,来自抗体的巯基)、氧(在一个实施方案中,来自抗体的羰基、羧基或羟基)及氮(一个实施方案中,来自抗体的伯氨基或仲氨基)。这些杂原子可存在于抗体天然状态的抗体上,例如,天然存在的抗体上,或者可经由化学修饰引入抗体中。

[0424] 一个实施方案中,抗体单元具有巯基且抗体单元经由巯基的硫原子键合。

[0425] 另一个实施方案中,抗体具有赖氨酸残基,其可与活化的酯类(此类酯包括,但不限于,N-羟基琥珀酰亚胺酯、五氟苯酯及对硝苯酯)反应,因此形成由抗体单元的氮原子与羰基所组成的酰胺键。

[0426] 又另一方面,抗体单元具有一个或多个赖氨酸残基,其可经化学修饰以引入一个或多个巯基。可用于修饰赖氨酸的试剂包括(但不限于)N-琥珀酰亚氨基S-乙酰基硫代乙酸酯(SATA)及2-亚氨基硫杂环戊烷盐酸盐(托特氏试剂(Traut氏试剂))。

[0427] 另一个实施方案中,抗体单元可具有一个或多个碳水化合物基团,其可经化学修饰以具有一个或多个巯基。

[0428] 另一个实施方案中,抗体单元可具有一个或多个碳水化合物基团,其可以被氧化以提供醛基(例如,参见Laguzza,等人,1989,J.Med.Chem.32(3):548-55)。相应的醛可与反应性位点诸如肼及羟胺形成键。其它用于蛋白质修饰以供药物连接或缔合的方案描述于Coligan等人,Current Protocols in Protein Science,vol.2,John Wiley&Sons (2002)

中(通过引用其并入本申请中)。

[0429] 当所述缀合物包含非免疫反应性蛋白质、多肽或肽单元而不是抗体时,可用的非免疫反应性蛋白质、多肽或肽单元包括(但不限于)运铁蛋白、表皮生长因子(“EGF”)、铃蟾肽、促胃液素、促胃液素释放肽、血子板衍生生长因子、IL-2、IL-6、转化生长因子(“TOP”)(诸如TGF- $\alpha$ 及TGF- $\beta$ )、牛痘生长因子(“VGF”)、胰岛素及胰岛素样生长因子I及II、促生长素抑制素、凝集素及源自低密度脂蛋白的脱辅基蛋白。

[0430] 可用的多克隆抗体为从经免疫的动物的血清中得到的异质性抗体分子群体。可用的单克隆抗体为针对特定抗原决定簇(例如,癌细胞抗原、病毒抗原、微生物抗原、蛋白质、肽、碳水化合物、化学物、核酸或其片段)的同质性抗体群体。针对目标抗原的单克隆抗体(mAb)可通过使用本技术领域中已知的任何技术制得,所述技术可通过培养物中连续细胞系提供抗体分子的制造。

[0431] 可用的单克隆抗体包括(但不限于)人类单克隆抗体、人源化单克隆抗体、抗体片段或嵌合单克隆抗体。人类单克隆抗体可通过本技术领域中已知的许多技术中的任意一种制得(例如,Teng等人,1983,Proc.Natl.Acad.Sci.U.SA.80:7308-7312;Kozbor等人,1983,Immunology Today 4:72-79;及Olsson等人,1982,Meth.Enzymol.92:3-16)。

[0432] 抗体亦可以为双特异性抗体。制造双特异性抗体的方法为本技术领域中已知的且于下文讨论。

[0433] 抗体可以为与目标细胞(例如,癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原)免疫特异性结合的抗体或其它与肿瘤细胞或基质结合的抗体的功能活性片段、衍生物或类似物。就此点而言,“功能活性”意指该片段、衍生物或类似物能够引发抗抗独特型抗体,其识别与衍生所述片段、衍生物或类似物的抗体识别的相同抗原。具体地说,在例示性实施方案中,免疫球蛋白分子的独特型的抗原性可通过删除框架及CDR序列(其为特异地识别抗原的CDR序列的C端)得到增强。为测定哪个CDR序列结合至抗原,可将含CDR序列的合成肽与抗原通过本技术领域中已知的任何结合试验方法(例如,BIA核心试验)用于结合分试验中(有关于CDR序列的定位,例如,参见Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,National Institute of Health,Bethesda,Md.;Kabat E等人,1980,J.Immunology 125 (3):961-969)。

[0434] 其它可用的抗体包括抗体片段诸如(但不限于) $F(ab')_2$ 片段、Fab片段、Fvs、单链抗体、双抗体、三链抗体、四链抗体、scFv、scFv-FV或具有与所述抗体相同特异性的任何其它分子。

[0435] 此外,重组抗体,诸如嵌合及人源化单克隆抗体(包含人类及非人类部分二者,其可通过使用标准重组DNA技术制得)亦为有用的抗体。嵌合抗体为不同的部分从不同的动物物种中得到的分子,例如,具有从鼠单克隆得到的可变区及人类免疫球蛋白恒定区的抗体(例如,参见美国专利号4,816,567;及美国专利号4,816,397,通过引用将它们的全部内容并入本申请)。人源化抗体为来自非人类物种的抗体分子,其具有一个或多个来自非人类物种的互补决定区(CDR)及来自人类免疫球蛋白分子的框架区(例如,参见美国专利号5,585,089,通过引用将其全部内容并入本申请)。此嵌合及人源化单克隆抗体可通过本技术领域中已知的重组DNA技术制得,例如,使用国际公开号W0 87/02671;欧洲专利公开号0 184 187;欧洲专利公开号0 171 496;欧洲专利公开号0 173 494;国际公开号WO 86/01533;美

国专利号4,816,567;欧洲专利公开号012 023;Berter等人,1988,Science 240:1041-1043;Liu等人,1987,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:3439-3443;Liu等人,1987,J.Immunol.139:3521-3526;Sun等人,1987,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:214-218;Nishimura等人,1987,Cancer.Res.47:999-1005;Wood等人,1985,Nature 314:446-449;及Shaw等人,1988,J.Natl.Cancer Inst.80:1553-1559;Morrison,1985,Science 229:1202-1207;0i等人,1986,BioTechniques 4:214;美国专利号5,225,539;Jones等人,1986,Nature 321:552-525;Verhoeven等人,1988,Science 239:1534;及Beidler等人,1988,J.Immunol.141:4053-4060中所述的方法制得;通过引用将上述文献的每一篇的全部内容并入本申请。

[0436] 完全人类抗体特别合乎需要且可使用不能表达内源性免疫球蛋白重链及轻链基因但可表达人类重链及轻链基因的转基因小鼠制得。转基因小鼠以正常方式使用经选定的抗原,例如,本发明多肽的全部或一部分进行免疫。对抗该抗原的单克隆抗体可使用惯用的杂交瘤技术获得。被转基因小鼠所携带的人类免疫球蛋白转基因在B细胞分化期间重新排列,且继而经受种类转移及体细胞突变。因此,使用此类技术,则可能制得治疗有用的IgG、IgA、IgM及IgE抗体。关于制造人类抗体的这种技术的综述,请参见Lonberg和Huszar,1995,Int.Rev.Immunol.13:65-93。有关制造人类抗体及人类单克隆抗体的这种技术及制造此类抗体的方案的详细讨论,请参见例如,美国专利号5,625,126;5,633,425;5,569,825;5,661,016;5,545,806;通过引用将上述文献中的每一篇的全部内容并入本申请。其它人类抗体可购自,例如,Abgenix,Inc.(现在的Amgen,Freemont,Calif.)及Medarex(Princeton,N.J.)。

[0437] 识别所选定表位的完全人类抗体可使用被称为“导向选择”的技术产生。此方法中,所选定的非人类单克隆抗体(例如,小鼠抗体)用以引导选择识别相同表位的完全人类抗体。(例如,参见Jespers等人,1994,Biotechnology 12:899-903)。人类抗体亦可使用本技术领域中已知的各种技术(包括噬菌体展示文库)制得(例如,参见Hoogenboom和Winter,1991,J.Mol.Biol.227:381;Marks等人,1991,J.Mol.Biol.222:581;Quan和Carter,2002,The rise of monoclonal antibodies as therapeutics,In Anti-IgE and Allergic Disease,Jardieu和Fick编辑,Marcel Dekker,纽约,N.Y.,第20章,pp.427-469)。

[0438] 其它实施方案中,抗体为抗体的融合蛋白,或其功能活性片段,例如,其中抗体于N端或C端经由共价键(例如,肽键)融合至不是来自抗体的另一蛋白质的氨基酸序列(或其部分,优选蛋白质的至少10、20或50氨基酸部分)。优选,抗体或其片段于恒定区的N端共价连接至其它蛋白质。

[0439] 抗体包括经过修饰的类似物及衍生物,亦即,通过任何类型的分子的共价连接修饰,只要此共价连接允许抗体保留其抗原结合免疫特异性即可。例如,(但非限制),抗体的衍生物及类似物包括进一步,例如,通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、以已知的保护/阻滞基团衍生化、蛋白溶解性裂解、连接至细胞抗体单元或其它蛋白质等等的键进行修饰的那些。许多化学修饰中的任一修饰均可通过已知技术(包括(但不限于)特异性化学裂解、乙酰化、甲酰化、于衣霉素存在下的代谢合成法等等)进行。此外,类似物或衍生物可含有一种或多种非天然氨基酸。

[0440] 抗体可在与Fc受体相互作用的氨基酸残基中具有修饰(例如,取代、删除或增加)。

尤其是,抗体可在经鉴定为涉及抗Fc结构域与FcRn受体之间相互作用的氨基酸残基中具有修饰(例如,参见国际公开号WO 97/34631,通过引用将其全部内容并入本申请)。

[0441] 癌细胞抗原免疫特异性的抗体可经商业获得或可通过本技术领域中已知的任何方法例如,诸如化学合成或重组表达技术制得。编码癌细胞抗原免疫特异性的抗体的核苷酸序列可由,例如,GenBank数据库或与其类似的数据数据库、文献公开或通过常规克隆及测序获得。

[0442] 具体实施方案中,可使用用于治疗癌症的已知抗体。癌细胞抗原免疫特异性的抗体可经商业获得或可通过本领域技术人员已知的任何方法诸如重组表达技术获得。编码癌细胞抗原免疫特异性的抗体的核苷酸序列可由,例如,GenBank数据库或与其类似的数据数据库、文献公开或通过常规克隆及测序获得。可利用于治疗癌症的抗体的实例包括(但不限于)OVAREX,其为用于治疗卵巢癌的鼠抗体;PANOREX(Glaxo Wellcome,NC),其为用于治疗大肠直肠癌的鼠IgG<sub>2a</sub>抗体;西妥昔单抗ERBITUX(Imclone Systems Inc.,NY),其为用于治疗表皮生长因子阳性癌症诸如头颈部癌症的抗EGFR IgG嵌合抗体;Vitaxin(MedImmune,Inc.,MD),其为用于治疗肉瘤的人源化抗体;CAMPATH I/H(Leukosite,MA),其为用于治疗慢性淋巴细胞白血病(CLL)的人源化IgG<sub>1</sub>抗体;SMART ID10(Protein Design Labs,Inc.,CA),其为用于治疗非何杰金氏淋巴瘤的人源化抗HLA-DR抗体;ONCOLYM(Technicclone,Inc.,CA),其为用于治疗非何杰金氏淋巴瘤的放射标记鼠抗HLA-Dr10抗体;ALLOMUNE(BioTransplant,CA),其为用于治疗何杰金氏病或非何杰金氏淋巴瘤的人源化抗CD2 mAb;及CEACIDE(Immunomedics,NJ),其为用于治疗大肠直肠癌的人源化抗CEA抗体。

[0443] 为了发现用于癌症诊断及治疗的有效细胞目标,研究者已寻求鉴别出跨膜或其它的肿瘤相关性多肽,与一种或多种正常非癌性细胞上相比,它们特异地于一种或多种特定类型的癌细胞表面上被表达。通常,与非癌性细胞的表面上相比,这类肿瘤相关性多肽更为丰富地表达在癌细胞表面上。此类肿瘤相关性细胞表面抗原多肽的鉴别造就了可特异地靶向癌细胞以供经由以抗体为基础的疗法进行破坏的能力。

[0444] 连接子单元(L)

[0445] 连接子(本申请中有时称其为“[linker]”)为双功能化合物,其可用以连接药物及抗体以形成抗体药物缀合物(ADC)。此缀合物可用于,例如,形成对抗肿瘤相关性抗原的免疫缀合物。此缀合物使得细胞毒药物能够选择性递送至肿瘤细胞。

[0446] 在抗体药物缀合物中,连接子的作用是将有效负载体连接至抗体。

[0447] 一方面,引入连接子单元的第二区段,该第二区段具有第二反应位点例如,亲电基,其可与抗体单元(例如,抗体)上存在的亲核基反应。抗体上可用的亲核基包括(但不限于)巯基、羟基及氨基。抗体亲核基的杂原子与连接子单元上的亲电基反应且形成键合至连接子单元的共价键。可用的亲电基包括(但不限于)马来酰亚胺及卤代乙酰胺基团。亲电基提供供抗体连接的便利位置。

[0448] 另一个实施方案中,连接子单元具有反应位点,其具有亲核基,此亲核基可与抗体上存在的亲电基反应。抗体上可用的亲电基包括(但不限于)醛及酮羰基。连接子亲核基的杂原子可与抗体上的亲电基反应且形成键合至抗体的共价键。连接子单元上可用的亲核基包括(但不限于)酰肼、肟、氨基、肼、缩氨基硫脲、肼羧酸酯及芳基酰肼。抗体上的亲电基提供供连接子单元连接的便利位置。

[0449] 氨基官能团亦为用于连接子的可用反应位点,因为它们可与化合物的羧酸或活化酯反应以形成酰胺键。典型地,以肽为基础的本发明化合物可通过在二个或更多个氨基酸和/或肽片段之间形成肽键而制得。此肽键可,例如,根据肽化学领域中详知的液相合成法(例如,参见Schroder和Lubke,“The Peptides”,第1卷,pp 76-136,1965,Academic Press)制得。

[0450] 本发明的上下文中,特别是(但不限于)连接子组分,诸如L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>(包括L<sub>2</sub><sup>A</sup>、L<sub>2</sub><sup>B</sup>及L<sub>2</sub><sup>C</sup>)及L<sub>3</sub>,语言“选自一个或多个”或“一个或多个”意指多个组分,它们可以相同或不同,为或可以为接续排列。因此,例如,L<sub>3</sub>可以为-C<sub>1-6</sub>烷基-、-NR-或其它个体列出的组分,但亦可以为-C<sub>1-6</sub>烷基-NR-,或2或更多个所列组分的任何其它组合。

[0451] 另一个实施方案中,连接子单元具有反应位点,该反应位点可与抗体亲核体诸如半胱氨酸反应。反应位点由经砜取代的杂环所组成。然后砜被抗体亲核体(亦即,半胱氨酸)替代,且抗体与杂环之间新形成的键将抗体连接至连接子。参见WO 2014/144878。

#### [0452] 化合物及其抗体药物缀合物的合成

[0453] 本发明的化合物及缀合物可使用以下于实例中所述的合成步骤制得。如同以下更详细地说明,本发明的化合物及缀合物可使用具有供结合至化合物的反应位点的连接子区段来制备。一方面,引入连接子单元的第二区段,该第二区段具有第二反应位点例如,亲电基,其可与抗体单元(例如,抗体)上存在的亲核基反应。抗体上可用的亲核基包括(但不限于)巯基、羟基及氨基。抗体亲核基的杂原子与连接子单元上的亲电基反应且形成键合至连接子单元的共价键。可用的亲电基包括(但不限于)马来酰亚胺及卤代乙酰氨基。亲电基提供供抗体连接的便利位置。

[0454] 另一个实施方案中,连接子单元具有反应位点,其具有亲核基,此亲核基可与抗体上存在的亲电基反应。抗体上可用的亲电基包括(但不限于)醛及酮羰基。连接子亲核基的杂原子可与抗体上的亲电基反应且形成键合至抗体的共价键。连接子单元上可用的亲核基包括(但不限于)酰肼、肟、氨基、肼、缩氨基硫脲、肼羧酸酯及芳基酰肼。抗体上的亲电基提供供连接子单元连接的便利位置。

[0455] 氨基官能团亦为供连接子用的可用反应位点,因为它们可与化合物的羧酸或活化酯反应以形成酰胺键。通常,以肽为基础的本发明化合物可通过在二个或更多个氨基酸和/或肽片段之间形成肽键而制得。此肽键可,例如,根据肽化学领域中详知的液相合成法(例如,参见Schroder和Lubke,“The Peptides”,第1卷,pp 76-136,1965,Academic Press)制得。

[0456] 如以下更详细地说明,缀合物可使用具有供结合至本发明化合物的反应位点的连接子区段及引入具有供抗体用的反应位点的连接子另一区段来制备。一方面,连接子单元具有反应位,其具有亲电基,此亲电基可与抗体单元(诸如抗体)上存在的亲核基反应。亲电基提供供抗体连接的便利位置。抗体上可用的亲核基包括(但不限于)巯基、羟基及氨基。抗体亲核基的杂原子与连接子单元上的亲电基反应且形成键合至连接子单元的共价键。可用的亲电基包括(但不限于)马来酰亚胺及卤代乙酰氨基。

[0457] 另一个实施方案中,连接子单元具有反应位点,其具有亲核基,此亲核基可与抗体上存在的亲电基反应。抗体上的亲电基提供供连接子单元连接的便利位置。抗体上可用的亲电基包括(但不限于)醛及酮羰基。连接子亲核基的杂原子可与抗体上的亲电基反应且形

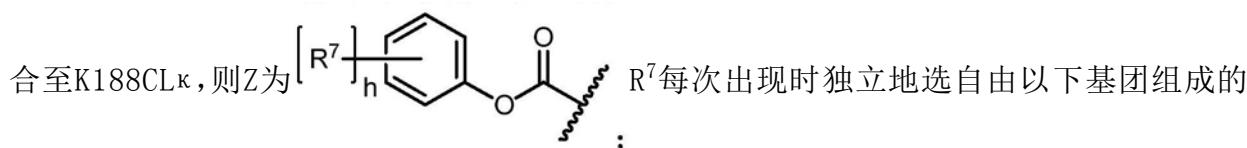
成键合至抗体的共价键。连接子单元上可用的亲核基包括(但不限于)酰肼、肟、氨基、肼、缩氨基硫脲、肼羧酸酯及芳基酰肼。

[0458] 以转谷氨酰胺酶进行的缀合

[0459] 某些实施方案中,本发明化合物可于转谷氨酰胺酶的存在下共价交联至经由以酰基供体含谷氨酰胺标签(例如,含Gln的多肽标签或Q-标签)所工程化的含Fc或含Fab多肽或通过多肽工程化(例如,经由于多肽上的氨基酸删除、插入、取代、突变或其任何组合)使具反应性的内源性谷氨酰胺(亦即,于胺及转谷氨酰胺酶的存在下作为酰基供体形成共价键的能力)上,前提是本发明化合物包含胺供体剂(例如,包含或连接至反应胺的小分子),因而形成与胺供体剂缀合的工程化含-Fc多肽的稳定及同质群体,此胺供体剂部位特异地经由酰基供体含谷氨酰胺标签或暴露/易接近/具反应性的内源性谷氨酰胺缀合至含Fc或含Fab多肽上。例如,本发明化合物可如同国际专利申请序号PCT/IB2011/054899所述地缀合,通过引用将其全部内容并入本申请。某些实施方案中,为促进本发明化合物于转谷氨酰胺酶的存在下缀合至以酰基供体含谷氨酰胺标签所工程化的含Fc或含Fab多肽或通过多肽工程化使具反应性的内源性谷氨酰胺上,Z为NH<sub>2</sub>。

[0460] 缀合至人类轻链κ结构域恒定区

[0461] 某些实施方案中,本发明化合物可共价连接至人类轻链κ区恒定区(CL<sub>κ</sub>)(根据Kabat的全轻链编号)的K<sup>188</sup>侧链。例如,本发明化合物可如同于美国专利申请案序号13/180,204中所述地缀合,其整体内容均并入本申请中以供参考。某些实施方案中,欲促进缀



组:F、Cl、I、Br、NO<sub>2</sub>、CN及CF<sub>3</sub>;且h为1、2、3、4或5。

[0462] 某些实施方案中,本发明提供组合物,其包含共价缀合至抗体(或其抗原结合部分)的本发明化合物,其中组合物中至少约50%或至少约60%或至少约70%或至少约80%或至少约90%的本发明化合物缀合至抗体或其抗原结合部分的K<sup>188</sup>CL<sub>κ</sub>。

[0463] 某些实施方案中,本发明化合物可缀合至催化性抗体诸如醛缩酶抗体或其抗原结合部分的结合位点。醛缩酶抗体含有结合位点部分,其当不受防碍时(例如,通过缀合),可催化脂族酮供体与醛受体间的醛醇加成反应。美国专利申请案公开号US 2006/205670的内容乃并入本申请中以供参考,尤其第78-118页说明连接子,且段落[0153]-[0233]说明抗体、其可用的片段、变体及修饰、h38C2、结合位点及互补决定区(CDR)及相关抗体技术。术语“结合位点”包括互补决定区(CDR)及涉及抗原结合的邻近框架残基。

[0464] 组合物及施用方法

[0465] 其它实施方案中,本发明另一方面涉及药物组合物,其包括有效量的本发明化合物和/或其抗体药物缀合物及药学上可接受的载体或载剂。某些实施方案中,组合物适于兽医学或人类施用。

[0466] 本药物组合物可以为得以使组合物给予患者的任何形式。例如,组合物可以为固体或液体形式。典型的施用路径包括(非限制)肠胃外、眼部及肿瘤内。肠胃外施用包括皮下注射、静脉内、肌内或胸骨内注射或输注技术。一方面,组合物系肠胃外施用。具体实施方案

中,组合物系静脉内施用。

[0467] 药物组合物可予调配以令本发明化合物和/或其抗体药物缀合物在将组合物给予患者后具有生物利用性。组合物可采用具一种或多种剂量单位的形式,其中例如,片剂可以为单一剂量单位,而含有液态形式本发明化合物和/或其抗体药物缀合物的容器则可容纳多个单位剂量。

[0468] 用于制备药物组合物的材料在所用的量下可以为无毒性。本领域技术人员明显已知,药物组合物中活性成分的最理想剂量将依各种因素而定。相关的因素包括(但非限制)动物型式(例如,人类)、本发明化合物和/或其抗体药物缀合物的特定形式、施用方式及所用组合物。

[0469] 药学上可接受的载体或载剂可以为固态或微粒,故组合物为,例如,片剂或粉末形式。载体可以为液态。此外,载体可以为微粒。

[0470] 组合物可以为液态形式,例如,溶液、乳胶或悬浮液。于通过注射法施用的组合物中,一种或多种表面活性剂、防腐剂、湿化剂、分散剂、分散剂、悬浮剂、缓冲剂、稳定剂及等张剂亦可包括。

[0471] 液态组合物无论它们是否为溶液、悬浮液或其它类似形式,亦可包括一种或多种下列者:无菌稀释剂诸如注射用水、盐水溶液,优选生理食盐水、林格氏溶液、等张氯化钠、固定油诸如合成单及二酸甘油酯(其可充作溶剂或悬浮介质)、聚乙二醇、甘油、环糊精、丙二醇或其它溶剂;抗细菌剂诸如苯酚或对羟苯甲酸甲酯;抗氧化剂诸如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂诸如乙二胺四乙酸;缓冲剂诸如乙酸盐、柠檬酸盐、磷酸盐或氨基酸及用于调整张力的制剂诸如氯化钠或右旋糖。肠胃外组合物可封在玻璃、塑料或其它材质所制的安瓶、可丢弃式注射管或多重剂量管瓶中。生理食盐水为例示的辅剂。注射用组合物优选为无菌。

[0472] 有效治疗特定障碍或病症的本发明化合物和/或其抗体药物缀合物的量将依该障碍或病症的特性而定,且可通过标准的临床技术决定。此外,体外或体内分析法可任选地使用以协助鉴定出最理想的剂量范围。组合物中所用的精确剂量亦将依施用路径及疾病或障碍的严重性而定,且应根据医师的诊断及每个患者的情况来决定。

[0473] 组合物包含有效量的本发明化合物和/或其抗体药物缀合物因而将可得到适当的剂量。典型地,此量为占组合物重量的至少约0.01%的本发明化合物和/或其抗体药物缀合物。例示性实施方案中,药物组合物系予制备以使得肠胃外单位剂量含有约0.01重量%至约2重量%的量的本发明化合物和/或其抗体药物缀合物。

[0474] 供静脉内施用方面,组合物可包含每千克患者体重约0.01至约100毫克的本发明化合物和/或其抗体药物缀合物。一方面,组合物可包括每千克患者体重约1至约100毫克的本发明化合物和/或其抗体药物缀合物。另一方面,施用量会在约0.1至约25毫克/千克体重的本发明化合物和/或其抗体药物缀合物的范围内。

[0475] 通常,给予患者的本发明化合物和/或其抗体药物缀合物的剂量典型为约0.01毫克/千克至约20毫克/千克患者体重。一方面,给予患者的剂量介于约0.01毫克/千克至约10毫克/千克患者体重之间。另一方面,给予患者的剂量介于约0.1毫克/千克至约10毫克/千克患者体重之间。又另一方面,给予患者的剂量介于约0.1毫克/千克至约5毫克/千克患者体重之间。又另一方面,施用剂量介于约0.1毫克/千克至约3毫克/千克患者体重之间。又另

一方面，施用剂量介于约1毫克/千克至约3毫克/千克患者体重之间。

[0476] 本发明化合物和/或其抗体药物缀合物可通过任何便利的路径施用，例如，通过输注或快速浓注。施用可以为全身性或局部。各种递送系统系已知，例如，封装于微脂粒、微细微粒、微胶囊、胶囊等等中，且可用以施用本发明化合物和/或其抗体药物缀合物。某些实施方案中，系将大于一种的本发明化合物和/或其抗体药物缀合物给予患者。

[0477] 具体实施方案中，理想的情况是将一种或多种本发明化合物和/或其抗体药物缀合物局部给予需要治疗的区域。此可通过（例如，但非限制）手术期间的局部输注；于手术后，例如，连同伤口敷料一起局部涂敷；通过注射法；通过导管；或通过植入物（该植入物为多孔性、无孔性或凝胶状材料包括膜，诸如硅橡胶膜或纤维）达成。一个实施方案中，施用可通过对癌症、肿瘤或新生物或前新生物组织的部位（或较早部位）的直接注射。另一个实施方案中，施用可通过对自动免疫疾病表征部位（或较早部位）的直接注射。

[0478] 又另一个实施方案中，本发明化合物和/或其抗体药物缀合物可以控释系统递送，诸如（但不限于）泵或各种聚合物材料可予使用。又另一个实施方案中，控释系统可放在邻近于本发明化合物和/或其抗体药物缀合物的目标，例如，肝，故仅需要全身剂量的一小部分（例如，参见Goodson, in *Medical Applications of Controlled Release*, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984)）。其它于Langer (*Science* 249:1527-1533 (1990)) 的综述中所讨论的控释系统可予使用。

[0479] 术语“载体”意指可与化合物或其抗体药物缀合物一起施用的稀释剂、辅剂或赋形剂。此药物载体可以为液体，诸如水及油类，包括石油醚、动物、植物或合成来源者。载体可以为盐水等等。此外，辅助剂、稳定剂及其它化学剂可予使用。一个实施方案中，当给予患者时，化合物或缀合物及药学上可接受的载体为无菌性。当化合物或缀合物由静脉内施用，则以水为例示的载体。盐水溶液及水性右旋糖及甘油溶液亦可用作为液态载体，尤其用于注射溶液。如有需要，本组合物亦可含有较小量的湿化剂或乳化剂或pH缓冲剂。

[0480] 本发明可采用溶液、丸剂、粉末、缓释型配方形式或任何其它适于使用的形式。适当药物载体的其它实例描述于E.W.Martin的“*Remington's Pharmaceutical Sciences*”中。

[0481] 一个实施方案中，本发明化合物和/或其抗体药物缀合物系根据常规步骤调配成适合于静脉内给予动物，尤其人类的药物组合物。典型地，供静脉内施用的载体或载剂为无菌等张水性缓冲溶液。当需要时，组合物亦可包括溶解剂。供静脉内施用的组合物可任选地包含局部麻醉剂诸如利多卡因以减轻注射部位的疼痛。通常，诸成分系分别供应或一起混合于单位剂型中，例如，为干燥低压冻干粉末或不含水的浓缩物于指示活性剂的量的密封容器诸如安瓶或小袋中。当本发明化合物和/或其抗体药物缀合物欲通过输注法施用时，其可，例如，使用含无菌药物级的水或盐水的输注瓶分配。当本发明化合物和/或其抗体药物缀合物欲通过注射法施用，则可提供无菌注射用水或盐水的安瓶以便于施用前可将诸成分混合。

[0482] 组合物可包括各种可改善固态或液态剂量单位的物理形式的材料。例如，组合物可包括可形成环绕活性成分的包衣壳的材料。形成包衣壳的材料典型地为惰性，且可选自，例如，糖、虫胶及其它肠溶性包衣剂。另外，活性成分可装入明胶胶囊中。

[0483] 无论是固体或液体形式，本组合物可包括用于治疗癌症的药理学剂。

[0484] 化合物及其抗体药物缀合物的治疗用途

[0485] 本发明另一方面涉及使用本发明化合物及其抗体药物缀合物治疗癌症的方法。

[0486] 本发明化合物和/或其抗体药物缀合物可用于抑制肿瘤细胞或癌细胞的增殖，导致肿瘤或癌细胞的凋亡，或用于治疗患者的癌症。因此本发明化合物和/或其抗体药物缀合物可用于供治疗动物癌症的各种背景中。该缀合物可用以将本发明化合物递送至肿瘤细胞或癌细胞。不被理论所束缚，一个实施方案中，缀合物中的抗体结合至或与癌细胞或肿瘤细胞相关性抗原缀合，且缀合物可经由受体媒介性细胞内吞作用或其它内化机制而引入(内化)至肿瘤细胞或癌细胞内部。抗原可连接至肿瘤细胞或癌细胞或可以为与肿瘤细胞或癌细胞相关的细胞外基质蛋白。某些实施方案中，一旦进入细胞内部，一种或多种特异性肽序列被一种或多种肿瘤细胞或癌细胞相关性蛋白酶所酶地或水解地裂解，导致本发明化合物由缀合物中释放。所释放的本发明化合物继而自由地在细胞内游移且诱导细胞毒性或细胞抑制活性。缀合物亦可被细胞内蛋白酶裂解而释放本发明化合物。另一个实施方案中，本发明化合物在肿瘤细胞或癌细胞外侧由缀合物中裂解，且本发明化合物继而穿透细胞。

[0487] 某些实施方案中，缀合物提供缀合作用-特异性肿瘤或癌症药物靶向，故降低本发明化合物的一般毒性。

[0488] 另一个实施方案中，抗体单元结合至肿瘤细胞或癌细胞。

[0489] 另一个实施方案中，抗体单元结合至肿瘤细胞或癌细胞抗原，该抗原位在肿瘤细胞或癌细胞的表面上。

[0490] 另一个实施方案中，抗体单元结合至肿瘤细胞或癌细胞抗原，该抗原为与肿瘤细胞或癌细胞相关的细胞外基质蛋白。

[0491] 抗体单元对特定肿瘤细胞或癌细胞的特异性具有重要性以决定那些可最有效地予治疗的肿瘤或癌症。

[0492] 可以本发明化合物和/或其抗体药物缀合物治疗的特定类型的癌症包括(但不限于)膀胱、乳房、子宫颈、结肠、子宫内膜、肾、肺、食道、卵巢、前列腺、胰脏、皮肤、胃及睾丸的癌；以及血源性癌症包括(但不限于)白血病及淋巴瘤。

[0493] 癌症的多模式疗法：癌症包括(但不限于)肿瘤、转移或以不受控制的细胞生长为特征的其它疾病或障碍，可通过施用本发明化合物和/或其抗体药物缀合物而治疗或抑制。

[0494] 其它实施方案中，系提供治疗癌症的方法，其包括将有效量的本发明化合物和/或其抗体药物缀合物及化疗剂给予有此需求的患者。一个实施方案中，化疗剂为以其治疗癌症尚未发现难治者。另一个实施方案中，化疗剂为以其治疗癌症已发现难治者。本发明化合物和/或其抗体药物缀合物可给予亦接受手术作为癌症治疗的患者。

[0495] 一些实施方案中，患者亦接受另外的治疗，诸如放射疗法。具体实施方案中，本发明化合物和/或其抗体药物缀合物系与化疗剂或与放射疗法同时给予。另一具体实施方案中，化疗剂或放射疗法系在施用本发明化合物和/或其抗体药物缀合物之前或之后给予。

[0496] 化疗剂可在一系列治疗期间施用。任一种或组合的化疗剂诸如照护标准的化疗剂可予施用。

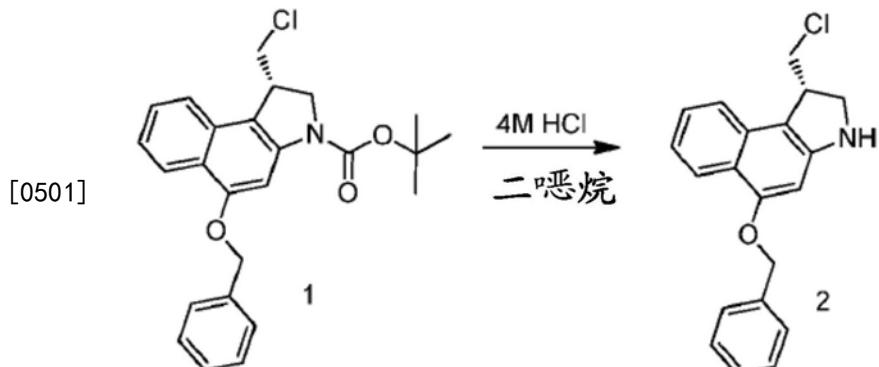
[0497] 另外，当化疗或放射疗法已证实或可证实太具毒性例如，导致被治疗的患者不可接受或不能忍受的副作用时，可提供以本发明化合物和/或其抗体药物缀合物治疗癌症的方法作为化疗或放射疗法的替代法。被治疗的患者可任选地以其它癌症治疗法诸如手术、

放射疗法或化疗法治疗,依此治疗经发现为可接受性或可忍受性而定。

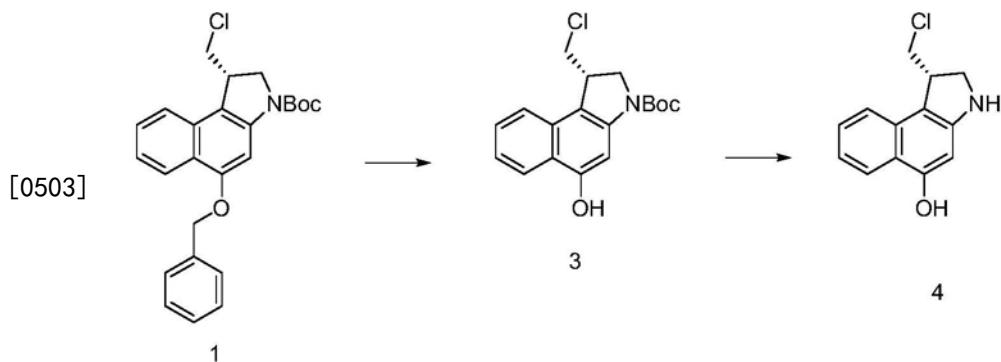
[0498] 本发明化合物和/或其抗体药物缀合物亦可以体外或活体外的型式使用,诸如用于治疗某些癌症包括(但不限于)白血病及淋巴瘤,此治疗涉及自体干细胞移植。其可包含多步骤的过程,其包括采收动物的自体造血干细胞,再将所有癌细胞清除,然后经由施用高剂量的本发明化合物和/或其抗体药物缀合物(含或不含伴随的高剂量放射疗法)将动物余留的骨髓细胞群根绝,再将干细胞移植植物输注回动物。然后提供支持性照护,而骨髓功能恢复且患者复原。

[0499] 于下列实施例中进一步说明本发明,这些实施例无意用于限制本发明的范围。

[0500] 有效负载体和连接子-有效负载体的示例

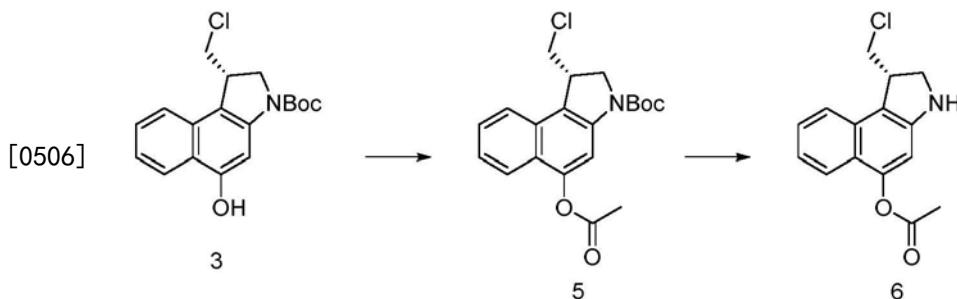


[0502] 化合物2为商业上已知的化合物,参见PCT国际申请,2005112919,2005年12月1日



[0504] (S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-羧酸叔丁酯(3)的制备: 将钯/碳(Pd-C,0.7克)于40℃加至(S)-5-(苄氧基)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-羧酸叔丁酯(4克,9毫摩尔)的四氢呋喃(THF,250毫升)溶液中。然后将水性甲酸铵(HCOONH<sub>4</sub>水溶液,9.5毫升,25%)于40℃分批加入,再将反应混合物于40℃搅拌1小时。将反应混合物过滤,再将滤液浓缩至干。将所得残留物溶于乙酸乙酯(250毫升)中,再以水(20毫升)清洗,于硫酸钠上干燥,浓缩至干以得灰色固体状的3(2.9克,90%)。

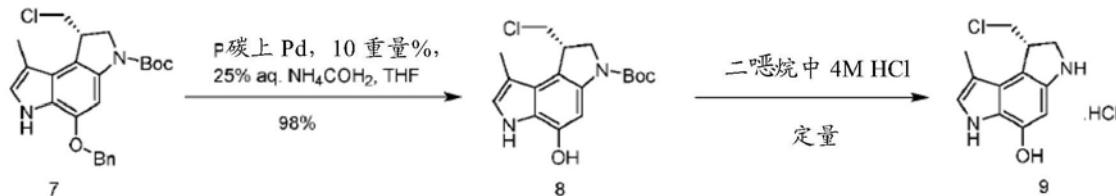
[0505] (S)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-醇(4)的制备: 将4M盐酸(HCl)的二恶烷液(36毫升,140毫摩尔)加至含3(820毫克,2.46毫摩尔)的圆底烧瓶中。令反应于室温搅拌。将反应减量,然后置于真空(皮带泵)底下,即得灰色固体状的4(684毫克,100%)。



[0507] (S)-5-乙酰氧基-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-羧酸叔丁酯(5)的制备：于0℃将乙酰氯(0.1毫升,1.4毫摩尔)加至1-(氯甲基)-5-羟基-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-羧酸(S)-叔丁酯[3](230毫克,0.7毫摩尔)的二氯甲烷(6毫升)溶液中,其后将吡啶(0.11毫升,1.4毫摩尔)加入。将混合物于0℃搅拌2分钟,然后于室温搅拌1小时。将混合物浓缩,再将残留物以乙酸乙酯及水处理,以乙酸乙酯萃取。将结合的有机相以水及盐水清洗,于硫酸镁上干燥。将溶剂于真空下移出,以得淡黄色固体状的5(235毫克,91%)。LC-MS(方案B): $m/z$  398.3[M+H]<sup>+</sup>。

[0508] 乙酸(S)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯(6)的制备：将10毫升4M盐酸的二恶烷液(40mM)加至含(S)-叔丁基-5-乙酰氧基-1-(氯甲基)-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-羧酸酯(375毫克,0.998mM)的圆底烧瓶中。令反应于室温搅拌,然后将溶剂于真空中移出,即得6(312毫克,100%)。

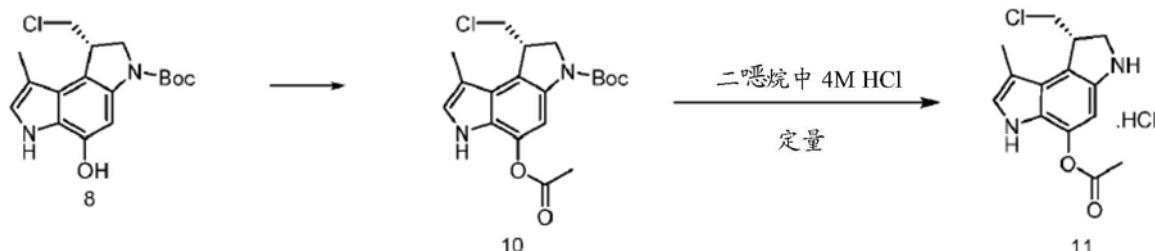
[0509]



[0510] 叔丁基-(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-羧酸酯(8)的制备。将10重量%钯/碳(4克)加至于0℃的正搅拌的7(参见J.Am.Chem.Soc.1987,109,6837-6838)(12.2克,28.6毫摩尔)的200毫升四氢呋喃溶液中,其后将30毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌约90分钟。将反应以乙醚稀释,其后将硫酸钠加入。将反应通过薄赛力特硅藻土(celite)垫中过滤,然后将其以乙醚清洗两次。将有机结合,然后减量,其后置于真空底下,即得淡灰色固体状的7(9.65克,定量)。LC-MS(方案B): $m/z$  337.2[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.81分钟。

[0511] (S)-8-(氯甲基)-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-醇的制备

[0512]



[0513] 步骤1: (1S)-5-(乙酰氧基)-1-(氯甲基)-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3

(2H)-羧酸叔丁酯(188)的合成。将乙酰氯(0.462毫升,6.50毫摩尔)加至于0℃的正搅拌的43(1.99克,5.91毫摩尔)的30毫升二氯甲烷溶液中,其后将吡啶(0.714毫升,8.86毫摩尔)立即加入。令反应于0℃搅拌约10分钟。将反应减量至硅石上。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%-15%丙酮的庚烷液)。将适当试管浓缩及置于高真空底下以得淡棕色固体状的10(2.13克,95%)。LC-MS(方案B): $m/z$  401.1[M+Na]<sup>+</sup>,保留时间=1.93分钟。

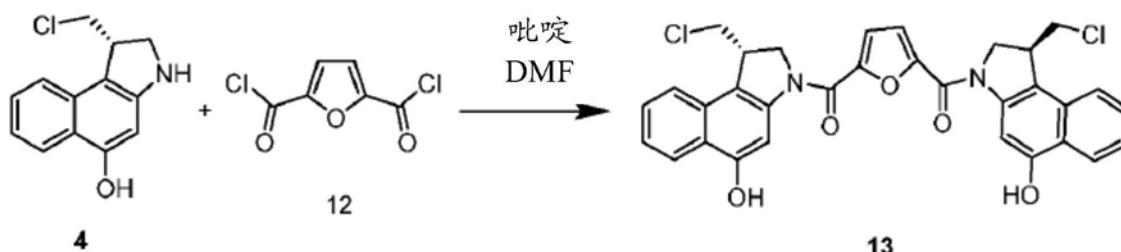
[0514] 步骤2:乙酸(8S)-8-(氯甲基)-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-酯盐酸盐(189)的合成。将4M盐酸的二恶烷液(24毫升,96毫摩尔)加至含10(606毫克,1.60毫摩尔)的圆底烧瓶中。令反应于室温搅拌90分钟。将反应减量,然后置于高真空底下,即得淡绿色固体状的11(589毫克,定量)。LC-MS(方案B): $m/z$  279.1[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=0.72分钟。

[0515] 一般步骤A:将草酰氯(1-2.5当量)加至于0℃的正搅拌的一元或二元酸的四氢呋喃、二氯甲烷或该二溶剂混合液的溶液中,其后将催化量的N,N-二甲基甲酰胺(DMF)加入。令反应于0℃搅拌数分钟,其后令其加温至室温,然后于室温搅拌30分钟至数小时。然后将反应于真空中浓缩。一些情况下,接着将原料与庚烷或其它相关一种溶剂或多种溶剂共沸一至数次。然后将原料于高真空上干燥,其后用于下一步骤中。

[0516] 一般步骤B:将酰基氯或二酰基氯加至于0℃的正搅拌的胺(2-2.5当量)的四氢呋喃、二氯甲烷或该二溶剂混合液(或者于一些情况下为其它有关一种溶剂或多种溶剂)的溶液中,其后将吡啶(3-6当量)、三乙胺(3-6当量)或其它相关的碱(3-6当量)加入。令反应于0℃搅拌数秒至数分,其后令其加温至室温,接着于室温搅拌10分钟至数小时。然后将反应于真空中浓缩。一些情况下,接着将原料与庚烷或与其它相关一种溶剂或多种溶剂共沸一至数次。大部分情况下,接着将原料通过已述的方法诸如硅胶色谱法或中压反相C18色谱法予以纯化。

[0517] (S)-呋喃-2,5-二基双(((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-基)甲酮)(13)的制备

[0518]

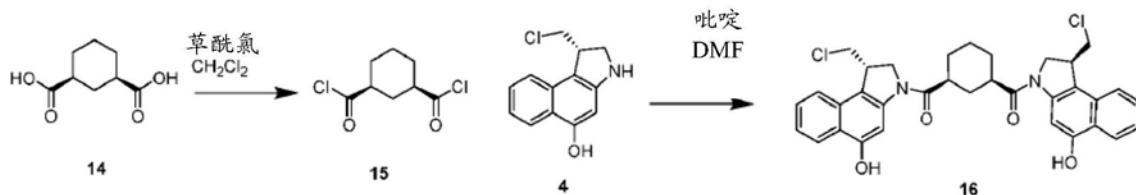


[0519] 将4溶于N,N-二甲基甲酰胺(0.75毫升)中,将吡啶(13微升)及12(8毫克)的N,N-二甲基甲酰胺(0.2毫升,0.168毫摩尔)溶液加入,再将所得溶液于室温搅拌过夜。将混合物以二氯甲烷稀释,再以水及盐水清洗,以及于硫酸镁上干燥。将粗制物通过于硅胶中进行急骤色谱法(二氯甲烷/甲醇=0-10%)予以纯化,即得绿色固体状的产物13(8毫克,30%)。LC-MS: $m/z$  587.4[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.0分钟。

[0520] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>),δ10.50(s),8.14(d),7.95(s),7.88(d),7.55(t),7.50(s),7.40(t),4.78(m),4.58(d),4.25(s),4.02(d),3.92(m)。

[0521] (S)-((1R,3S)-环己烷-1,3-二基)双(((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-基)甲酮)(16)的制备

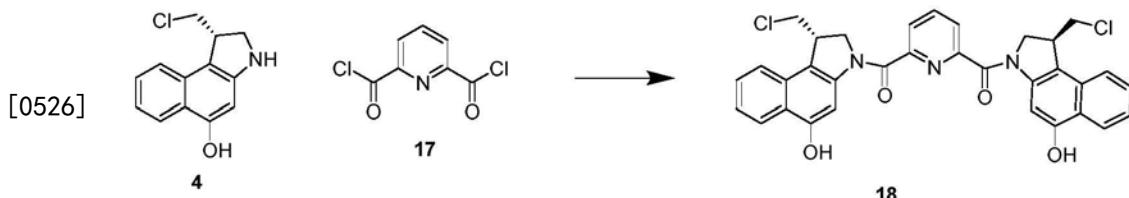
[0522]



[0523] 步骤1：将顺-环己烷-1,3-二羧酸(14,10毫克,0.058毫摩尔)溶于四氢呋喃(2毫升)中,将草酰氯(2M的二氯甲烷液,0.09毫升,0.17毫摩尔)及N,N-二甲基甲酰胺(2滴)于0℃加入。将混合物于0℃搅拌5分钟,然后于室温搅拌1小时。于真空中浓缩,即得灰白色固体状的相应酰基氯15,其系用于下一步骤中而不必进一步纯化。

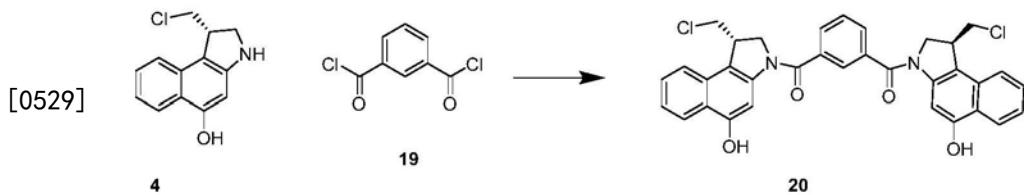
[0524] 步骤2：于0℃将上述化合物15溶于N,N-二甲基甲酰胺(2毫升)中,将(S)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-醇盐酸盐(4,25毫克,0.093毫摩尔)其后吡啶(0.029毫升,0.36毫摩尔)加入。将混合物于室温搅拌过夜。将N,N-二甲基甲酰胺于减压下移出,再将残留物通过ISCO使用甲醇/二氯甲烷(0-20%)予以纯化,即得暗蓝色固体状的16(8.5毫克,31%)。LC-MS: $m/z$  603.4[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.03分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>), $\delta$  10.36(s),8.09(d),8.03(s),7.80(t),7.53(t),7.33(t),4.44(m),4.33(d),4.18(s),4.02(m),3.85(m),2.88(m),2.04-1.90(m),1.74(q),1.52-1.45(m)。

[0525] (S)-吡啶-2,6-二基双((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-基)甲酮(18)的制备



[0527] 将(S)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-醇(4)(13.5毫克,盐酸盐,0.05毫摩尔)溶于N,N-二甲基甲酰胺(2毫升)中,再将吡啶(8毫克,0.10毫摩尔)加入,其后将2,6-吡啶二羧基二氯(8.5毫克,0.025毫摩尔)加入。将混合物于室温搅拌2小时。将粗制物通过ISCO使用甲醇/二氯甲烷(0-10%)予以纯化以得绿色固体状产物,将其以甲醇清洗,即得灰色固体状的产物18(10毫克,67%)。LC-MS: $m/z$  598.1[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.0分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>), $\delta$  10.51(s),8.29(t),8.13(d),8.02(s),7.82(d),7.52(t),7.38(t),4.63(s),4.19-4.10(m),3.96(m),3.84(m)。

[0528] (S)-1,3-亚苯基双((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-基)甲酮[20]的制备

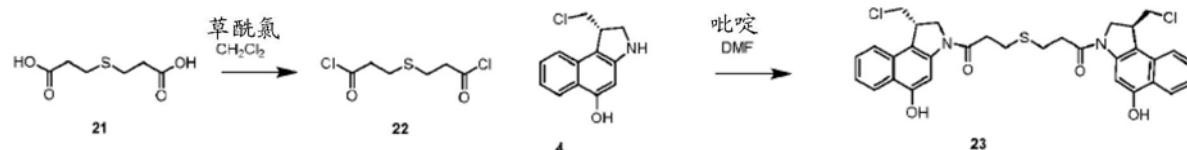


[0530] 将(S)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-醇(4)(27毫克,盐酸盐,0.1毫摩尔)溶于N,N-二甲基甲酰胺(2毫升)中,再将吡啶(0.024毫升,0.29毫摩尔)加入,其后将异酞酰氯(19,10毫克,0.05毫摩尔)加入。将混合物于室温搅拌过夜。将溶剂移出,再将残留

物通过ISCO使用甲醇/二氯甲烷(0-10%)予以纯化,即得灰色固体状的产物20(20毫克,68%)。LC-MS(方案B): $m/z$  597.2[M+H],保留时间=0.99分钟。 $^1H$  NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>), $\delta$  10.47(s),8.13(d),7.96(s),7.84(d),7.72(t),7.52(t),7.37(t),4.44(s),4.08(s),3.97(s),3.86(s)。

[0531] (S)-3,3'-硫基双((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-基)丙-1-酮)(23)的制备

[0532]

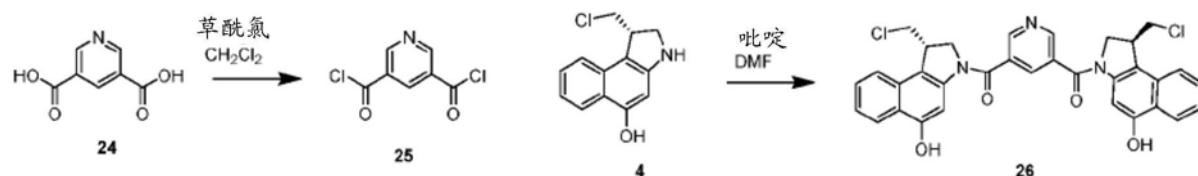


[0533] 步骤1:将3,3'-硫基二丙酸(21,8毫克,0.04毫摩尔)溶于四氢呋喃(2毫升)中,将草酰氯(2M的二氯甲烷液,0.4毫升,0.2毫摩尔)及N,N-二甲基甲酰胺(2滴)于0℃加入。将混合物于0℃搅拌5分钟,然后于室温搅拌1小时。于真空中浓缩,即得相应的酰基氯22,其系用于下一步骤中而不必进一步纯化。

[0534] 步骤2:于0℃将上述化合物22溶于N,N-二甲基甲酰胺(2毫升)中,将(S)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-醇盐酸盐(6)(25毫克,0.09毫摩尔)其后吡啶(0.022毫升,0.27毫摩尔)加入。将混合物于室温搅拌过夜。将N,N-二甲基甲酰胺于减压下移出,再将残留物通过ISCO使用甲醇/二氯甲烷(0-10%)予以纯化,即得灰白色固体状的产物23(15毫克,50%)。LC-MS(方案B): $m/z$  609.1[M+H],保留时间=1.0分钟。 $^1H$  NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>), $\delta$  10.36(s),8.09(d),7.99(s),7.79(d),7.50(t),7.33(t),4.37(m),4.19(m),3.99(d),3.82(m),2.90-2.82(m)。

[0535] (S)-吡啶-3,5-二基双((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-基)甲酮)(26)的制备

[0536]



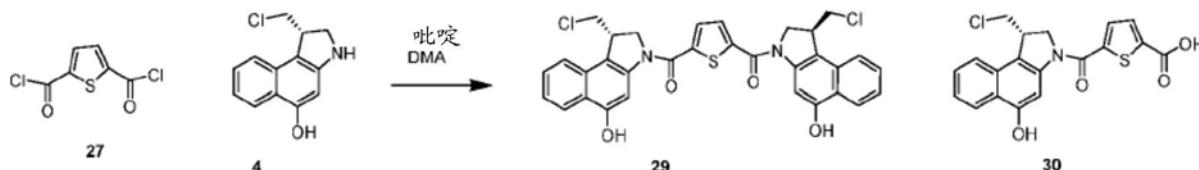
[0537] 步骤1:将2毫升二氯甲烷加至吡啶-3,5-二羧酸(24,7毫克,0.04毫摩尔)中,其后将2M草酰氯(0.2毫升,0.4毫摩尔)及N,N-二甲基甲酰胺(2滴)加入。将此清澈溶液于室温搅拌2小时,再浓缩以得黄色固体状的相应酰基氯25。

[0538] 步骤2:将上述固状物25溶于N,N-二甲基甲酰胺(0.2毫升)中,再将此溶液加至(S)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-醇盐酸盐(4)(25毫克,0.09毫摩尔)的N,N-二甲基甲酰胺(1毫升)溶液中,其后将吡啶(0.02毫升,0.25毫摩尔)加入。将混合物于室温搅拌过夜。将溶剂于真空中移出,再将残留物通过使用ISCO(甲醇/二氯甲烷=0-10%)予以纯化,即得灰色固体状的产物26(20毫克,80%)。LC-MS(方案B): $m/z$  598.1[M+H],保留时间=0.95分钟。 $^1H$  NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>), $\delta$  10.55(s),9.00(s),8.2(s),7.97(s),7.84(d),7.53(t),7.36(t),4.50(s),4.10(s),3.98(s),3.86(s)。

[0539] (S)-噻吩-2,5-二基双((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-基)甲

酮) (29) 及 (S)-5-(1-(氯甲基)-5-羟基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基) 嘧吩-2-羧酸(30) 的制备

[0540]



[0541] 将(S)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-醇[4](102毫克,盐酸盐,0.38毫摩尔)溶于N,N-二甲基乙酰胺(DMA,2毫升)中,再将吡啶(0.061毫升,0.76毫摩尔)加入,其后将噻吩-2,5-二羧基二氯(27,40毫克,0.19毫摩尔)加入。将混合物于室温搅拌2小时。将粗制物通过Gilson HPLC(0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得两种产物:

[0542] 黄色固体状的(S)-噻吩-2,5-二基双(((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-基)甲酮)(29)(60毫克,52%)。LC-MS(方案B):m/z 603.0[M+H],保留时间=1.99分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>),δ10.48(s),8.14(d),7.86(m),7.55(t),7.40(t),4.78(t),4.44(d),4.23(s),4.03(d),3.91(m)。

[0543] 绿色固体状的(S)-5-(1-(氯甲基)-5-羟基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羧酸(30)(23毫克,31%)。LC-MS(方案B):m/z 388.1[M+H],保留时间=0.82分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,MeOD-d<sub>4</sub>),δ8.23(d),7.82(m),7.71(s),7.55(t),7.40(t),4.64(m),4.53(d),4.15(t),4.01(dd),3.74(m)。

[0544] (S)-(1H-吡咯-2,5-二基)双(((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-基)甲酮)(32)的制备

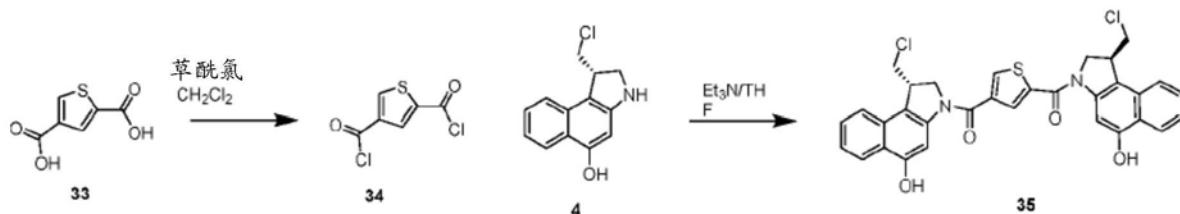
[0545]



[0546] 将DIPEA(33毫克,0.25毫摩尔)加至1H-吡咯-2,5-二羧酸(31,10毫克,0.064毫摩尔)的N,N-二甲基甲酰胺(1.5毫升)溶液中,其后将(S)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-醇[4](38毫克,盐酸盐,0.14毫摩尔)及COMU(82毫克,0.19毫摩尔)加入,再将混合物于室温搅拌过夜。将粗制物通过Gilson HPLC(乙腈/水,0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得黄色固体状的产物32(5毫克,10%)。LC-MS(方案B):m/z 586.3[M+H],保留时间=2.04分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>),δ11.66(s),10.44(s),8.13(d),7.92(s),7.86(d),7.55(t),7.38(t),5.76(s),4.71(t),4.44(d),4.22(s),4.03(d),3.88(m)。

[0547] (S)-噻吩-2,4-二基双(((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-基)甲酮)(35)的制备

[0548]

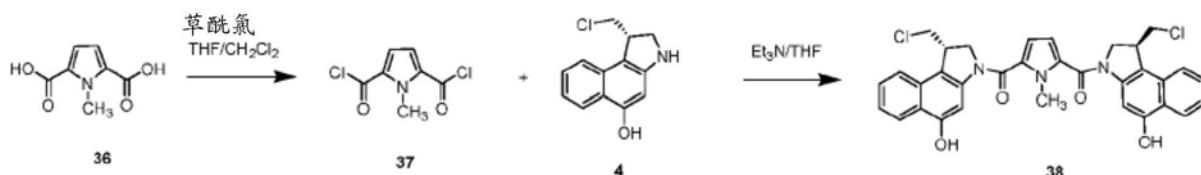


[0549] 步骤1: 将2,4-噻吩二羧酸(33,100毫克,0.58毫摩尔)溶于四氢呋喃(5毫升)中,以冰浴冷却至0℃。将草酰氯(0.75毫升,2M的二氯甲烷液,1.5毫摩尔)加入,其后将2滴N,N-二甲基甲酰胺加入。令所得混合物加温至室温,再搅拌1小时。此期间可观察到一些白色沉淀物。将混合物于真空中浓缩,即得灰白色固体状的噻吩-2,4-二羧基二氯(34)(122毫克,100%)。

[0550] 步骤2:将(S)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-醇[4](81毫克,盐酸盐,0.3毫摩尔)溶于四氢呋喃(3毫升)中,再于0℃将三乙胺(0.125毫升,0.9毫摩尔)加入,其后将噻吩-2,4-二羰基二氯(24,31.4毫克,0.15毫摩尔)的二氯甲烷(1毫升)溶液加入。将混合物于0℃搅拌5分钟,然后于室温搅拌2小时。将反应混合物减量,再将残留物以甲醇处理,再将所得黄色固状物通过过滤法收集以得粗制产物。将粗制物通过Gislon HPLC(乙腈/水,0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得黄色固体状的产物35(40毫克,44%)。LC-MS(方案B):m/z 603.3 [M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.96分钟。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>), δ 10.46 (d), 8.41 (s), 8.13 (d), 8.05 (s), 7.87 (t), 7.54 (t), 7.39 (m), 4.81 (t), 4.61 (s), 4.46 (d), 4.21 (m), 4.18 (m), 4.00 (m), 3.98–3.86 (m)。

[0551] (S)-{(1-甲基-1H-吡咯-2,5-二基)双(((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-基)甲酮)}(38)的制备

〔0552〕



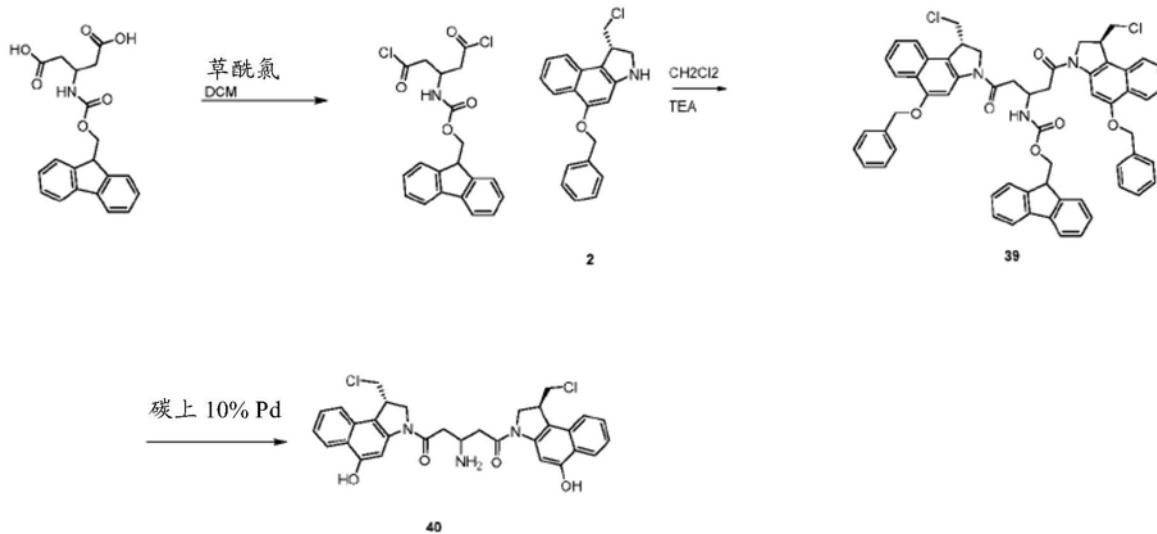
[0553] 步骤1: 将1-甲基-1H-吡咯-2,5-二羧酸(36,20毫克,0.12毫摩尔)溶于四氢呋喃(2毫升)中,于0℃将草酰氯(2M的二氯甲烷液,0.18毫升,0.35毫摩尔)及N,N-二甲基甲酰胺(2滴)加入。将混合物于0℃搅拌5分钟,然后于室温搅拌1小时。于真空中浓缩以得灰白色固体状的相应酰基氯37,其系用于下一步骤中而不必进一步纯化。

[0554] 步骤2:于0℃将化合物37溶于四氢呋喃(2毫升)中,将(S)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-醇盐酸盐[4](65毫克,0.24毫摩尔)其后三乙胺(0.1毫升,0.71毫摩尔)加入。将混合物于0℃搅拌5分钟,然后于室温搅拌1小时。将混合物于真空中浓缩,再将残留物通过Gilson HPLC(0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得灰白色固体状的产物38(31毫克,44%)。LC-MS: $m/z$  600.5[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.04分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>),δ10.44(s),8.13(d),7.84(d),7.75(s),7.53(t),7.38(t),6.78(s),4.60(t),4.30(d),4.08(s),4.02(d),3.9(s),3.87(d)。

[0555] 3-氨基-1,5-双-((S)-1-氯甲基-5-羟基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-基)-戊-1,5-

二酮(40)的制备。

[0556]

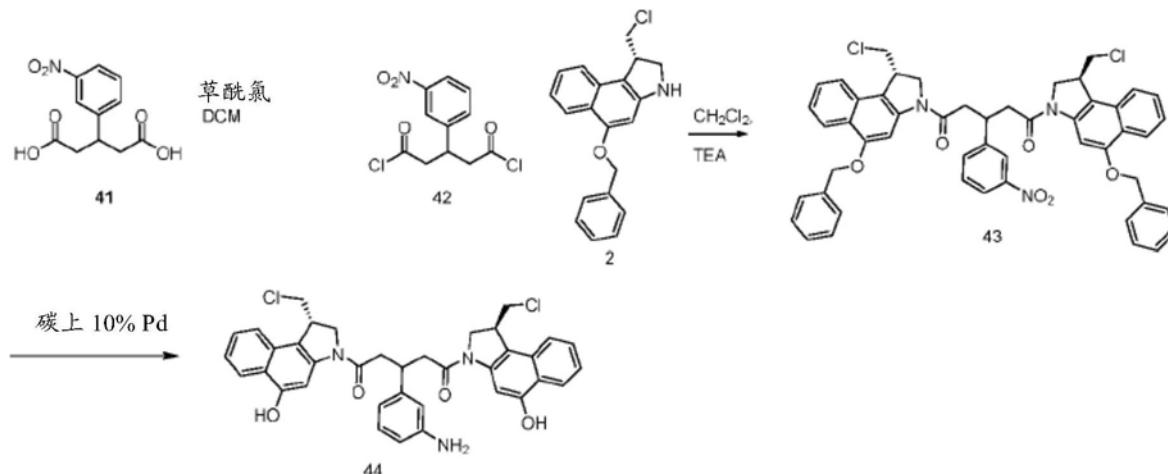


[0557] 步骤1：将草酰氯(5.22毫摩尔, 0.469毫升)加至含有3-(9H-芴-9-基甲氧羰基氨基)-戊二酸(918毫克, 2.48毫摩尔)的20毫升无水二氯甲烷液的已以氮吹洗的圆底烧瓶中。将1滴N,N-二甲基甲酰胺加至此溶液中。将反应混合物搅拌3小时，再于真空中浓缩成粗制残留物。将残留物置回二氯甲烷(10毫升)中，再逐滴加至含(2)(1610毫克, 4.97毫摩尔)的25毫升二氯甲烷液及三乙胺(2.08毫升)的圆底烧瓶中。将粗制反应混合物于真空中浓缩，再置回25毫升二氯甲烷中，再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥，过滤及将滤液浓缩成粗制固状物。然后进行硅胶色谱法(梯度：0%-100%乙酸乙酯的庚烷液)，即得浅白色固体状的(39)(2.103克, 86%)。LC-MS(方案B) : m/z 982 [M+H<sup>+</sup>]，保留时间=2.81分钟。

[0558] 步骤2：将正搅拌的39、{3-((S)-5-苄氧基-1-氯甲基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-基)-1-[2-((S)-5-苄氧基-1-氯甲基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-基)-2-氧化-乙基]-3-氧化-丙基}-氨基甲酸9H-芴-9-基甲酯(92毫克, 0.104毫摩尔)的10毫升四氢呋喃溶液于氮下使用冰浴冷却至0℃。然后将10重量%钯/活性碳(16毫克, 0.15毫摩尔)加入，其后将1毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌5小时。然后将反应通过赛力特硅藻土垫中过滤，接着将滤液于真空中浓缩。将粗制残留物置于二氯甲烷中，再以水清洗。将二氯甲烷层浓缩，再将2毫升1M盐酸(水性)加入，再浓缩。将残留物置于乙酸乙酯中，再将固状物过滤，即得白色固体状的40(52毫克, 51%)。LC-MS(方案B) : m/z 578 [M+H<sup>+</sup>]，保留时间=1.42分钟。

[0559] 3-(3-氨基-苯基)-1,5-双-((S)-1-氯甲基-5-羟基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-基)-戊-1,5-二酮(44)的制备

[0560]



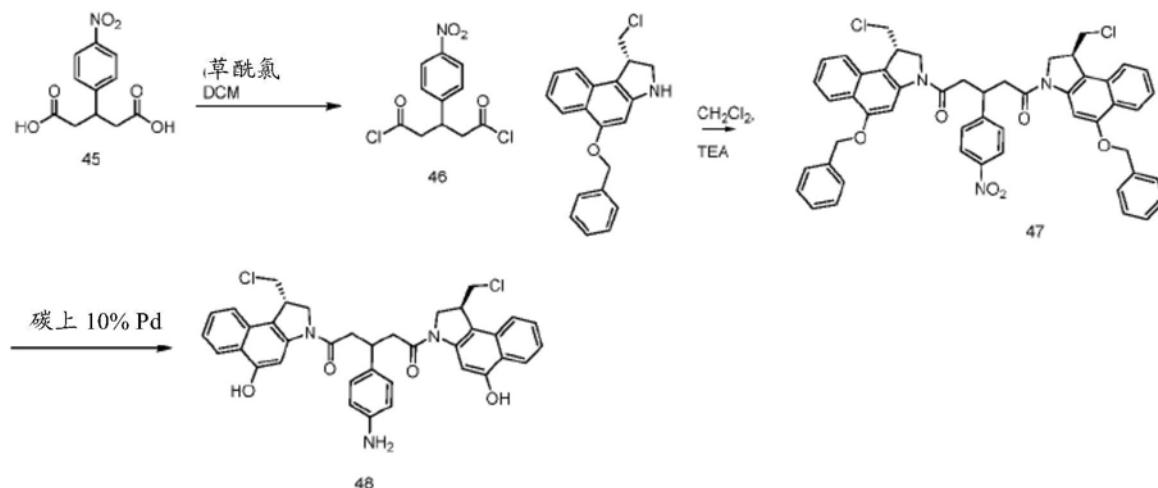
[0561] 步骤1：将草酰氯(2.6毫摩尔, 0.24毫升)加至含有3-(3-硝基-苯基)-戊二酸(3, 330毫克, 1.30毫摩尔)的15毫升无水二氯甲烷液的已以氮吹洗的圆底烧瓶中。将1滴N,N-二甲基甲酰胺加至此溶液中。将反应混合物搅拌3小时，再于真空中浓缩以得白色固体状的42(378毫克, 1.30毫摩尔, 定量)。

[0562] 步骤2：将3-(3-硝基-苯基)-戊二酰二氯(42)(42毫克, 0.172毫摩尔)加至含有2(124毫克, 0.344毫摩尔)的15毫升二氯甲烷液的圆底烧瓶中。然后将三乙胺(0.08毫升)加入，再将系统于室温搅拌1小时。将粗制反应混合物于真空中浓缩，再置回25毫升二氯甲烷中，再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥，过滤及将滤液浓缩成粗制固状物。将粗制固状物置于10%甲醇的乙酸乙酯液中，再将白色固状物过滤，即得期望产物43(120毫克, 0.172毫摩尔, 80%)。LC-MS(方案B) :m/z 864 [M+H<sup>+</sup>]，保留时间=2.75分钟。

[0563] 步骤3：将正搅拌的43(85毫克, 0.098毫摩尔)的10毫升四氢呋喃溶液于氮下使用冰浴冷却至0℃。然后将10重量%钯/活性碳(16毫克, 0.15毫摩尔)加入，其后将2毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌5小时。然后将反应通过赛力特硅藻土垫中过滤，接着将滤液于真空中浓缩。将粗制残留物置于二氯甲烷中，再以水清洗。将二氯甲烷层浓缩，再将2毫升1M盐酸(水性)加入，再浓缩。将残留物置于乙酸乙酯中，再将固状物过滤，即得白色固体状的(44)(35毫克, 52%)。LC-MS:m/z 654 [M+H<sup>+</sup>]，保留时间=1.93分钟。

[0564] 3-(4-氨基-苯基)-1,5-双-((S)-1-氯甲基-5-羟基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-基)-戊-1,5-二酮48的制备

[0565]



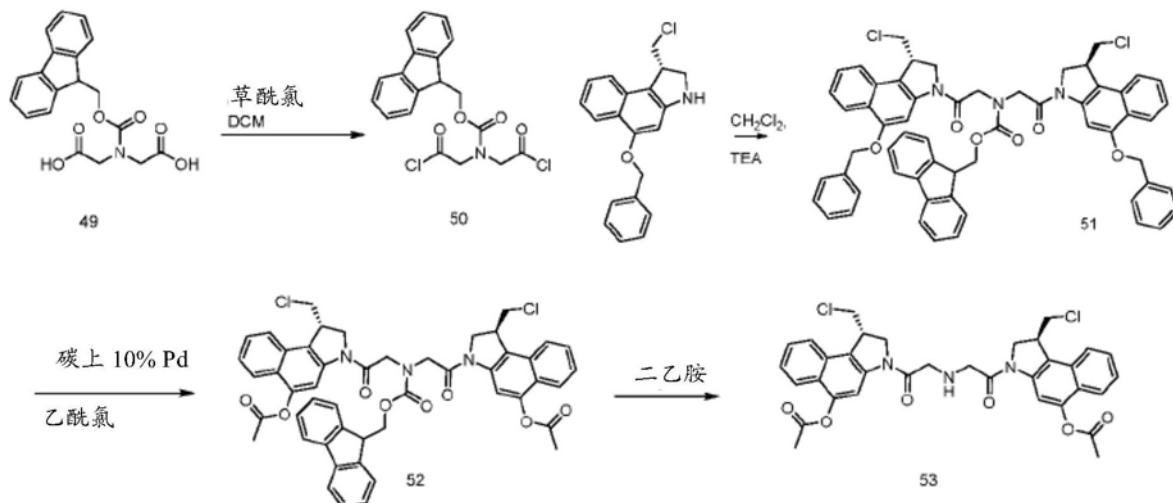
[0566] 步骤1：将草酰氯(0.911毫摩尔,0.082毫升)加至含有3-(4-硝基-苯基)-戊二酸(45,110毫克,0.434毫摩尔)的5毫升无水二氯甲烷液的已以氮吹洗的圆底烧瓶中。将1滴N,N-二甲基甲酰胺加至此溶液中。将反应混合物搅拌3小时,再于真空中浓缩以得白色固体状的(46)(125毫克,0.434毫摩尔,定量)。LCMS,置于甲醇中:m/z 282.0[M+H<sup>+</sup>,用于双甲醇分解产物]。保留时间=1.38分钟。(7)(商业上已知且文献上已知:Tetrahedron,63(39),9741-9745;2007)。

[0567] 步骤2:将3-(4-硝基-苯基)-戊二酰二氯(46)(50毫克,0.172毫摩尔)加至含有2(111毫克,0.344毫摩尔)的15毫升二氯甲烷液的圆底烧瓶中。然后将三乙胺(0.144毫升)加入,再将系统于室温搅拌1小时。将粗制反应混合物于真空中浓缩,再置回25毫升二氯甲烷中,再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥,过滤及将滤液浓缩成粗制固状物。将粗制固状物置于10%甲醇的乙酸乙酯液中,再将白色固状物过滤,即得期望产物(47)(101毫克,0.115毫摩尔,68%)。LC-MS:m/z 864[M+H<sup>+</sup>] ,保留时间=2.72分钟。

[0568] 步骤3:(10).将正搅拌的(47),3-(4-硝基-苯基)-1,5-双-((S)-1-氯甲基-5-羟基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-基)-戊-1,5-二酮(90毫克,0.1毫摩尔)的10毫升四氢呋喃溶液于氮下使用冰浴冷却至0℃。然后将10重量%钯/活性碳(17毫克,0.16毫摩尔)加入,其后将1毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌5小时。然后将反应通过赛力特硅藻土垫中过滤,接着将滤液于真空中浓缩。将粗制残留物置于二氯甲烷中,再以水清洗。将二氯甲烷层浓缩,再将2毫升1M盐酸(水性)加入,再浓缩。将残留物置于乙酸乙酯中,再将固状物过滤,即得白色固体状的48(44毫克,61%)。LC-MS:m/z 654[M+H<sup>+</sup>] ,保留时间=1.73分钟。

[0569] 乙酸(S)-3-{2-[2-((S)-5-乙酰氧基-1-氯甲基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-基)-2-氧化-乙氨基]-乙酰基}-1-氯甲基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯(53)的制备。

[0570]



[0571] 步骤1：将草酰氯(1.94毫摩尔,0.175毫升)加至含有3[羧甲基-(9H-芴-9-基甲氧羰基)-氨基]-乙酸(49,300毫克,0.844毫摩尔)的5毫升无水二氯甲烷液的已以氮吹洗的圆底烧瓶中。将1滴N,N-二甲基甲酰胺加至此溶液中。将反应混合物搅拌3小时,再于真空中浓缩以得白色固体状的(50)(330毫克,0.844毫摩尔,定量)。LCMS,置于甲醇中:m/z 384.0[M+H<sup>+</sup>,用于双甲醇分解产物]。保留时间=1.91分钟。

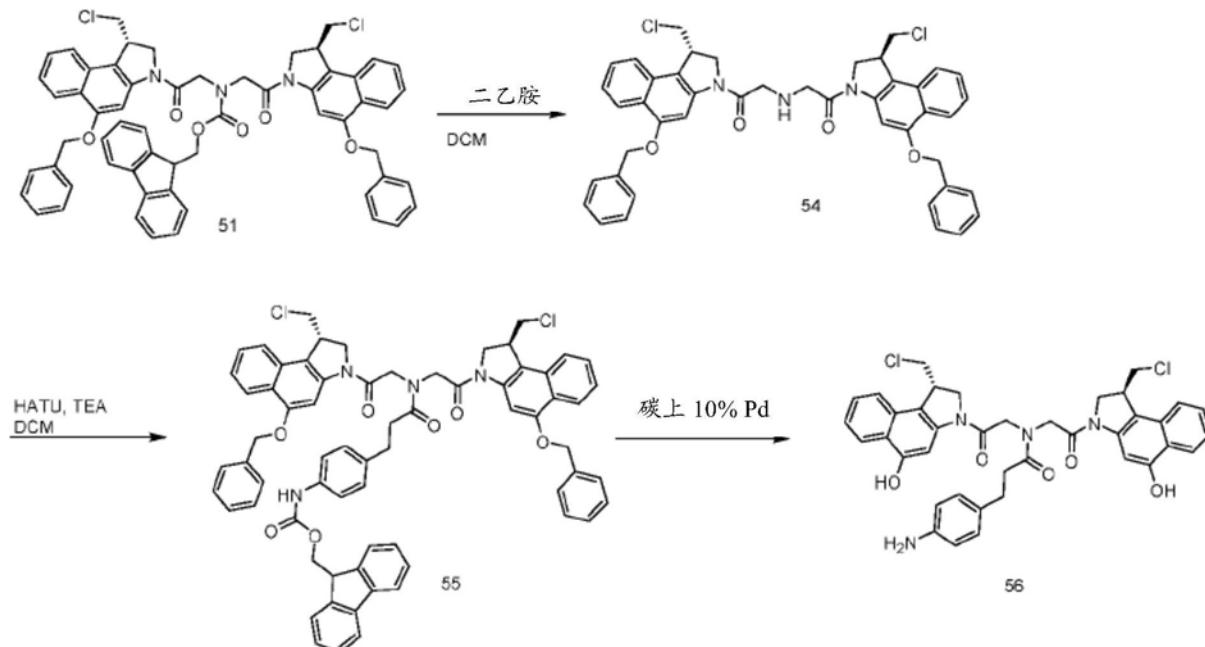
[0572] 步骤2：将50(41毫克,0.105毫摩尔)加至含有2(76毫克,0.21毫摩尔)的5毫升二氯甲烷液的圆底烧瓶中。然后将三乙胺(0.088毫升)加入,再将系统于室温搅拌1小时。将粗制反应混合物于真空中浓缩,再置回25毫升二氯甲烷中,再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥,过滤及将滤液浓缩成粗制固状物。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%-75%乙酸乙酯的庚烷液),即得浅白色固体状的(51)(91毫克,90%)。LC-MS:m/z 966[M+H<sup>+</sup>] ,保留时间=2.91分钟。

[0573] 步骤3：将正搅拌的51(40毫克,0.041毫摩尔)的10毫升四氢呋喃溶液于氮下使用冰浴冷却至0℃。然后将10重量%钯/活性碳(10毫克,0.09毫摩尔)加入,其后将1毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌5小时。然后将反应通过赛力特硅藻土垫中过滤,接着将滤液于真空中浓缩。将粗制残留物置于二氯甲烷中,再将乙酰氯(1毫升)加入,然后将反应于真空中浓缩。将残留物置回15毫升二氯甲烷中,再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥,过滤及将滤液浓缩成粗制固状物。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%-100%乙酸乙酯的庚烷液),即得白色固体状的(52)(27毫克,76%)。LC-MS:m/z 870[M+H<sup>+</sup>] ,保留时间=2.51分钟。

[0574] 步骤4：将5毫升二氯甲烷及5毫升二乙胺加至含有52(25毫克,0.29毫摩尔)的备有搅拌棒的圆底烧瓶中。将溶液搅拌3小时。将反应混合物于真空中浓缩,再置于50%二氯甲烷及庚烷中,且再度地于真空中浓缩。将此步骤重复3次。将粗制固状物置于50%四氢呋喃及1M盐酸(水性)中。将白色固状物置于乙醚中,再过滤,即得白色固体状的(15)(14毫克,70%)。LC-MS:m/z 648[M+H<sup>+</sup>] ,保留时间=1.78分钟。

[0575] 3-(4-氨基-苯基)-N,N-双-[2-((S)-1-氯甲基-5-羟基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-基)-2-氧代-乙基]-丙酰胺(56)的制备

[0576]



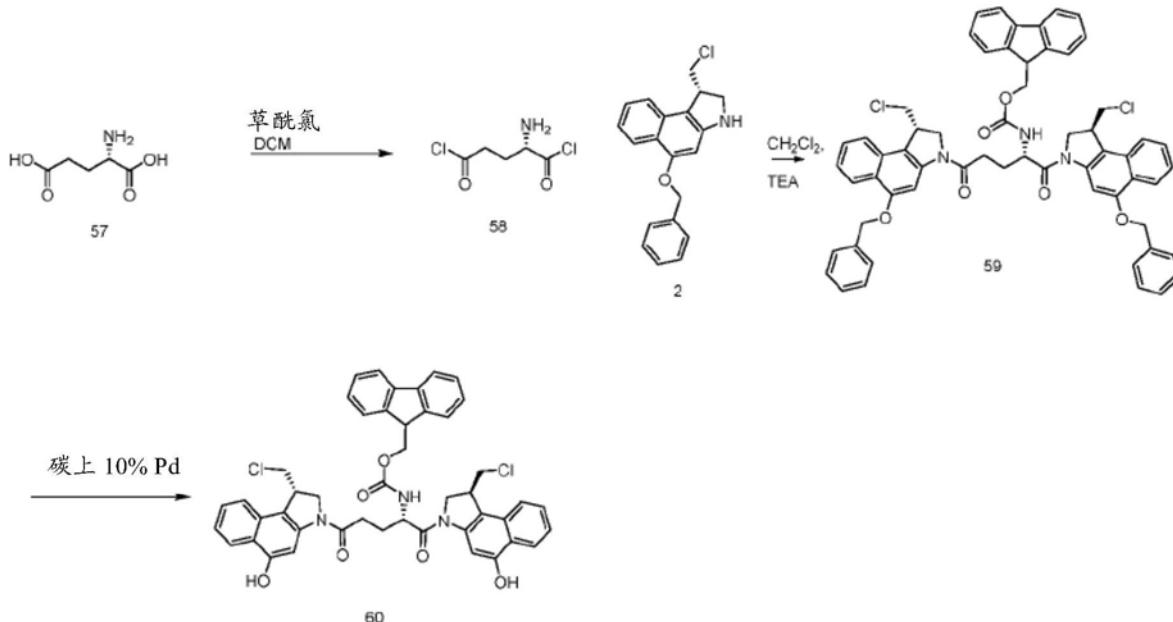
[0577] 步骤1：将5毫升二氯甲烷及5毫升二乙胺加至含有51(300毫克,0.310毫摩尔)的备有搅拌棒的圆底烧瓶中。将溶液搅拌3小时。将反应混合物于真空中浓缩，再置于50%二氯甲烷及庚烷中，且再度地于真空中浓缩。将此步骤重复3次，即得白色固体状的(54)(216毫克,93%)。LC-MS: $m/z$  744[M+H<sup>+</sup>]，保留时间=2.26分钟。

[0578] 步骤2：将3-[4-(9H-芴-9-基甲氧羰基氨基)-苯基]-丙酸(52毫克,0.134毫摩尔)加至含有54(100毫克,0.134毫摩尔)的5毫升无水二氯甲烷液的已以氮吹洗的圆底烧瓶中。将(二甲氨基)-N,N-二甲基(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基氧基)甲亚胺鎓六氟磷酸盐(52毫克,0.134毫摩尔)及三乙胺(0.05毫升)加至此溶液中。将反应混合物搅拌3小时，再于真空中浓缩成粗制残留物。将残留物置回25毫升二氯甲烷中，再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥，过滤及将滤液浓缩成粗制固状物。然后进行硅胶色谱法(梯度：0%-100%乙酸乙酯的庚烷液)，即得浅白色固体状的(55)(130毫克,87%)。LC-MS: $m/z$  1113[M+H<sup>+</sup>]，保留时间=2.771分钟。

[0579] 步骤3：将正搅拌的55(115毫克,0.103毫摩尔)的10毫升四氢呋喃溶液于氮下使用冰浴冷却至0℃。然后将10重量%钯/活性碳(10毫克,0.1毫摩尔)加入，其后将1毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌5小时。然后将反应通过赛力特硅藻土垫中过滤，接着将滤液于真空中浓缩。将粗制残留物置于二氯甲烷中，再以水清洗。将二氯甲烷层浓缩，再将2毫升1M盐酸(水性)加入，再浓缩。将残留物置于乙酸乙酯中，再将固状物过滤，即得白色固体状的(56)(26毫克,34%)。LC-MS: $m/z$  711[M+H<sup>+</sup>]，保留时间=1.6分钟。

[0580] [(S)-1-((S)-1-氯甲基-5-羟基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-羰基)-4-((S)-1-氯甲基-5-羟基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-基)-4-氧化-丁基]-氨基甲酸9H-芴-9-基甲酯60的制备

[0581]

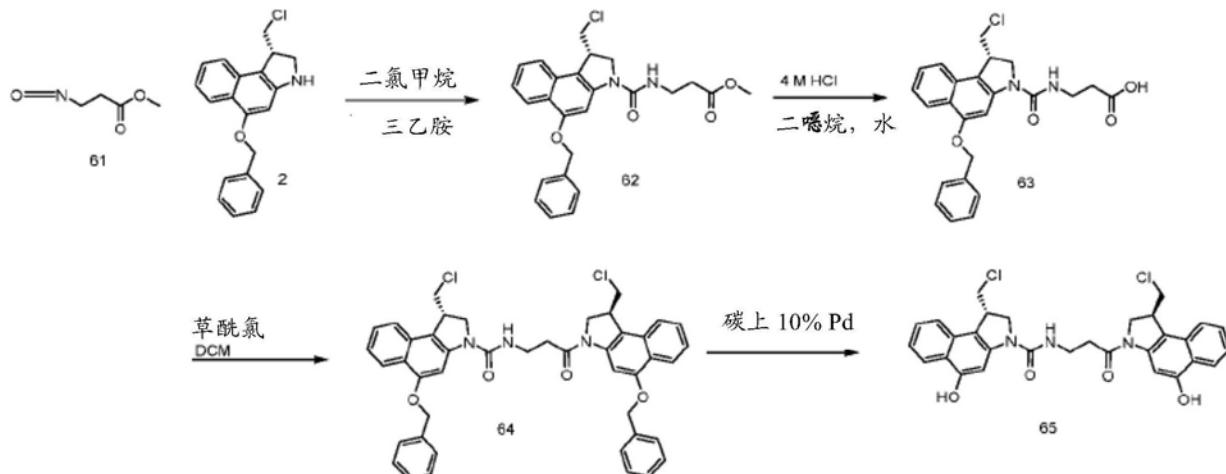


[0582] 步骤1: 将草酰氯(2.27毫摩尔, 0.205毫升)加至含有(S)-2-(9H-芴-9-基甲氧羰基氨基)-戊二酸57(400毫克, 1.08毫摩尔)的15毫升无水二氯甲烷液的已以氮吹洗的圆底烧瓶中。将1滴N,N-二甲基甲酰胺加至此溶液中。将反应混合物搅拌3小时, 再于真空中浓缩成粗制残留物58。将残留物置于二氯甲烷(10毫升)中, 再逐滴加至含有2(700毫克, 2.17毫摩尔)的10毫升二氯甲烷液及三乙胺(0.905毫升)的圆底烧瓶中。将粗制反应混合物置回25毫升二氯甲烷中, 再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥, 过滤及将滤液浓缩成粗制固状物。然后进行硅胶色谱法(梯度: 0% - 100% 乙酸乙酯的庚烷液), 即得浅白色固体状的(59)(260毫克, 24%)。LC-MS: $m/z$  980[M+H<sup>+</sup>], 保留时间=2.84分钟。

[0583] 步骤2:将正搅拌的(59)(250毫克,0.255毫摩尔)的10毫升四氢呋喃溶液于氮下使用冰浴冷却至0℃。然后将10重量%钯/活性碳(64毫克,12.8毫摩尔)加入,其后将2.1毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌30分钟。然后将反应通过赛力特硅藻土垫中过滤,接着将滤液于真空中浓缩。将粗制残留物置于二氯甲烷中,再以水清洗。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%-100%乙酸乙酯的庚烷液),即得浅白色固体状的(60)(121毫克,59%)。LC-MS: $m/z$  800 $[M+H^+]$ ,保留时间=2.25分钟。

[0584] (S)-1-氯甲基-5-羟基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-羧酸[3-((S)-1-氯甲基-5-羟基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-基)-3-氧化丙基]-酰胺(31)的制备。正搅拌的(65)的溶液

[0585]



[0586] 步骤1：将3-异氰酸基-丙酸甲酯61(79毫克,0.555毫摩尔)及三乙胺(0.5毫升)逐滴加至含有(2)(200毫克,0.555毫摩尔)的二氯甲烷(10毫升)液的圆底烧瓶中。将反应搅拌3小时。将粗制反应混合物于真空中浓缩,再置回25毫升二氯甲烷中,再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥,过滤及将滤液浓缩成粗制固状物。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%-100%乙酸乙酯的庚烷液),即得浅白色固体状的(62)(0.231毫克,89%)。LC-MS:m/z 467[M+H<sup>+</sup>],保留时间=2.11分钟。有NMR。

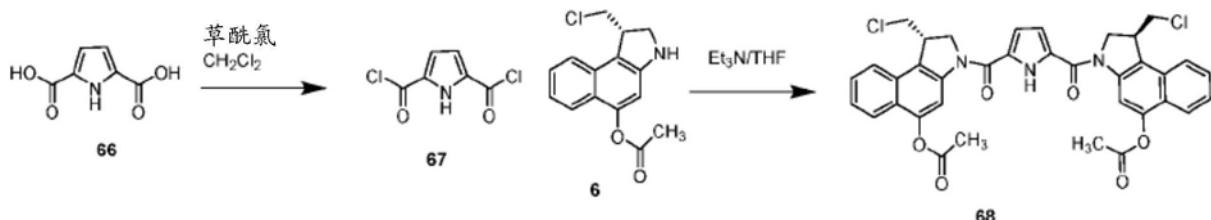
[0587] 步骤2：将5毫升1M盐酸(水性)的5毫升四氢呋喃液加至含有62(230毫克,0.493毫摩尔)的备有搅拌棒的圆底烧瓶中。将溶液于70℃搅拌3小时。将反应混合物于真空中浓缩,再置于50%二氯甲烷的庚烷液中,再于真空中浓缩。将此步骤重复3次,浓缩后可得白色固体状的(63)(180毫克,83%)。LC-MS:m/z 439[M+H<sup>+</sup>],保留时间=1.83分钟。

[0588] 步骤3：将草酰氯(0.250毫摩尔,0.02毫升)加至含有(63)(110毫克,0.250毫摩尔)的5毫升无水二氯甲烷液的已以氮吹洗的圆底烧瓶中。将1滴N,N-二甲基甲酰胺加至此溶液中。将反应混合物搅拌3小时,再于真空中浓缩成粗制残留物。将残留物置回二氯甲烷(10毫升)中,再逐滴加至含2(90毫克,250毫摩尔)的10毫升二氯甲烷液及三乙胺(0.5毫升)的圆底烧瓶中。将粗制反应混合物于真空中浓缩,再置回15毫升二氯甲烷中,再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥,过滤及将滤液浓缩成粗制固状物。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%-100%乙酸乙酯的庚烷液),即得浅白色固体状的(64)(80克,43%)。LC-MS:m/z 744[M+H<sup>+</sup>],保留时间=2.60分钟。

[0589] 步骤4：将64(75毫克,0.100毫摩尔)的10毫升四氢呋喃液于氮下使用冰浴冷却至0℃。然后将10wt%钯/活性碳(25毫克,0.24毫摩尔)加入,其后将1毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌5小时。然后将反应通过赛力特硅藻土垫中过滤,接着将滤液于真空中浓缩。将粗制残留物置于二氯甲烷中,再以水清洗。将二氯甲烷层浓缩,再将2毫升1M盐酸(水性)加入,再浓缩。将残留物置于乙酸乙酯中,再将固状物过滤,即得白色固体状的(65)(15毫克,26%)。LC-MS:m/z 564[M+H<sup>+</sup>],保留时间=1.88分钟。

[0590] 二乙酸(1S,1'S)-3,3'-(1H-吡咯-2,5-二羰基)双(1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5,3-二酯)[68]的制备

[0591]

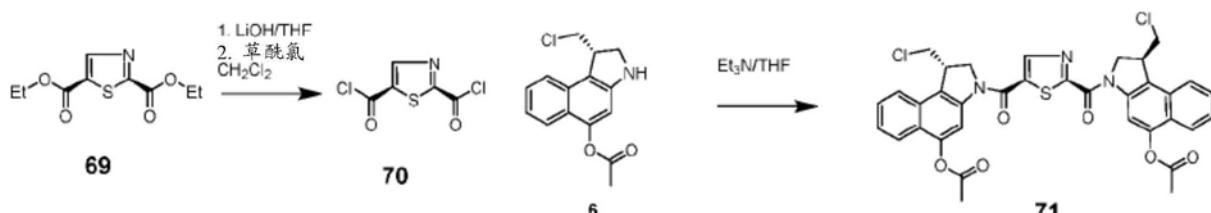


[0592] 步骤1:于0℃将1H-吡咯-2,5-二羧酸(32,50毫克,0.3毫摩尔)溶于四氢呋喃(5毫升)中,将草酰氯(0.4毫升,2M的二氯甲烷液,0.8毫摩尔)加入,其后将2滴N,N-二甲基甲酰胺加入。将混合物于0℃搅拌5分钟,然后于室温搅拌2小时。于真空中浓缩以得黄色固体状的1H-吡咯-2,5-二羧基二氯(33),其系用于下一步骤中而不必进一步纯化。

[0593] 步骤2:于0℃将其溶于四氢呋喃(12毫升)中,将1H-吡咯-2,5-二羧基二氯(33,得自步骤2)加入,其后将三乙胺(0.28毫升)加入。将混合物于0℃搅拌5分钟,然后于室温搅拌3小时。将混合物于真空中浓缩,再将残留物以甲醇处理以得灰色固状物。将固状物通过过滤法收集以得灰色固体状的粗制产物。将粗制物通过Gilson HPLC(乙腈/水,0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得灰白色固体状的纯产物二乙酸(1S,1'S)-3,3'-(1H-吡咯-2,5-二羧基)双(1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5,3-二酯)(34,60毫克,30%)。LC-MS:m/z 670.4[M+H],保留时间=2.20分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>),δ11.77(s),8.17(s),8.06(d),7.92(d),7.65(t),7.52(t),4.80(t),4.5(d),4.41(s),4.10(d),4.02(m),2.10(s)。

[0594] 二乙酸(1S,1'S)-3,3'-(噻唑-2,5-二羧基)双(1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5,3-二酯)[71]的制备

[0595]



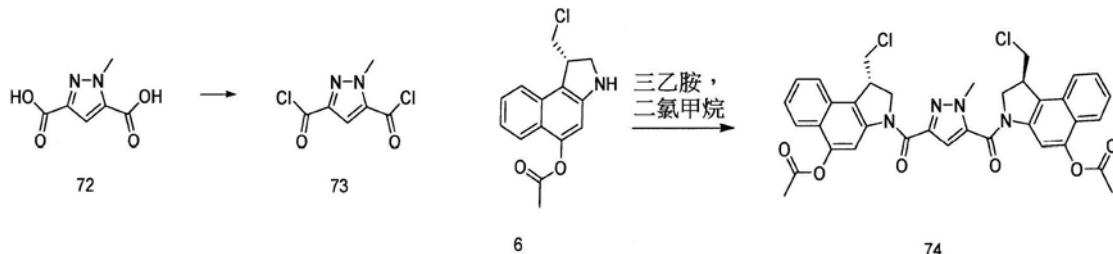
[0596] 步骤1:将噻唑-2,5-二羧酸二乙酯(35,348毫克,1.5毫摩尔)溶于四氢呋喃(10毫升)中,于0℃将氢氧化锂单水合物(LiOH·H<sub>2</sub>O,383毫克,9.0毫摩尔)的水(5毫升)溶液加入。将混合物于0℃搅拌30分钟,然后于室温搅拌4小时。于真空中浓缩以移出四氢呋喃,再将残留物通过加入1M盐酸水性溶液以酸化至pH约4-5。将所得固状物通过过滤法收集以得白色固体状的噻唑-2,5-二羧酸(63毫克,24%)。将噻唑-2,5-二羧酸(20毫克,0.12毫摩尔)溶于四氢呋喃(2毫升)中,于0℃将草酰氯(0.18毫升,2M的二氯甲烷液)加入,其后将2滴N,N-二甲基甲酰胺加入。将混合物于0℃搅拌5分钟,然后于室温搅拌1小时。于真空中浓缩以得白色固体状的相应酰基氯70。

[0597] 步骤2:将黄色固状物5悬浮于四氢呋喃(3毫升)中,将得自步骤2的酰基氯加入,其后于0℃将三乙胺(0.05毫升,0.4毫摩尔)加入。将混合物于0℃搅拌5分钟,然后于室温搅拌1小时。将反应混合物于真空中浓缩,再将残留物通过Gilson HPLC予以纯化,即得黄色固体状的期望化合物71(3.6毫克,3.9%)。LC-MS:m/z 688.5[M+H],保留时间=2.27分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>),δ8.81(s),8.41(s),8.27(s),8.16(m),8.04(m),7.74(m),7.64(m),

5.25 (d) , 4.94 (q) , 4.53 (m) , 4.21–4.08 (m) , 2.63 (s)。

[0598] 乙酸(S)-3-[5-((S)-5-乙酰氧基-1-氯甲基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-羰基)-1-甲基-1H-吡唑-3-羰基]-1-氯甲基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯(74)的制备。

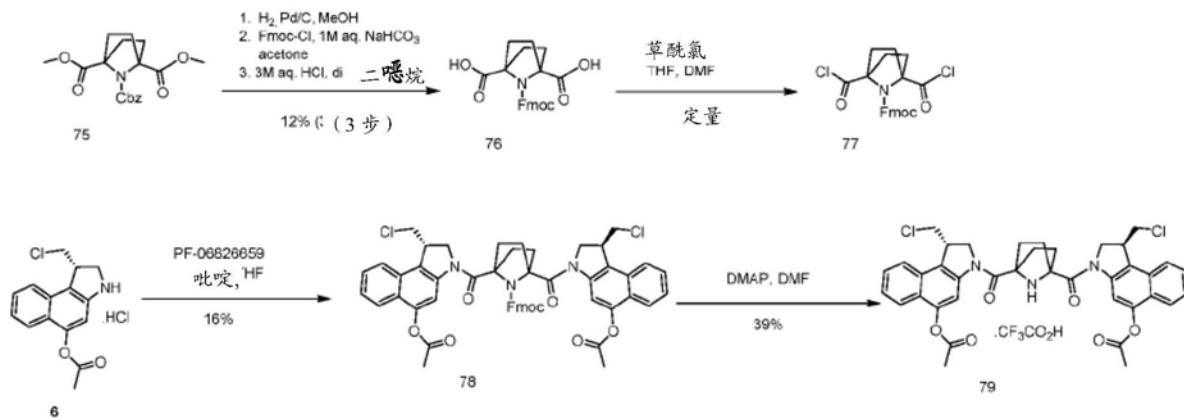
[0599]



[0600] 将草酰氯(0.248毫摩尔,0.022毫升)加至含有1-甲基-1H-吡唑-3,5-二羧酸38(20毫克,0.12毫摩尔)的5毫升无水二氯甲烷液的已以氮吹洗的圆底烧瓶中。将1滴N,N-二甲基甲酰胺加至此溶液中。将反应混合物搅拌3小时,再于真空中浓缩成粗制残留物73。将73置于二氯甲烷(10毫升)中,再逐滴加至含有乙酸(S)-1-氯甲基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯(5,73毫克,0.236毫摩尔)的5毫升二氯甲烷液及三乙胺(2.08毫升)的圆底烧瓶中。将粗制反应混合物于真空中浓缩,再置回25毫升二氯甲烷中,再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥,过滤及将滤液浓缩成粗制固状物。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%–100%乙酸乙酯的庚烷液),即得浅白色固体状的(74)(12毫克,15%)。LC-MS:m/z 6852[M+H<sup>+</sup>],保留时间=2.21分钟。

[0601] 二乙酸7-氮杂双环[2.2.1]庚烷-1,4-二基双[羰基(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]79的制备

[0602]



[0603] 步骤1:将7-氮杂双环[2.2.1]庚烷-1,4,7-三羧酸7-苄酯1,4-二甲酯(3.20克,9.21毫摩尔)[依Chem.Eur.J.2012,18,1127–1141所述地制备]于钯/碳(10%,1000毫克)的存在下、于气球压力、于室温氢化约2小时。将反应通过赛力特硅藻土垫中过滤,再将滤块以40毫升甲醇及40毫升二氯甲烷清洗。将有机相结合,再于真空中浓缩成淡黄色固状物。于0°C将水性碳酸氢钠(1M,65毫升,64.6毫摩尔)加至正搅拌的此粗制固状物的40毫升丙酮溶液中,其后将Fmoc-Cl(3.34克,12.9毫摩尔)的40毫升丙酮溶液逐滴加入。将反应以100毫升水稀释,再以乙酸乙酯(100毫升,3x)萃取。将结合的有机相以水、盐水清洗,于硫酸钠上干燥,再于真空中浓缩。然后进行硅胶色谱法(梯度:12.5%至17%乙酸乙酯的石油醚液)。将

适当的试管结合,再于真空中浓缩以得白色固状物。然后将粗制材料悬浮于水性盐酸(3M,60毫升)及80毫升二恶烷中。将反应加热至回流,然后令其于回流搅拌约16小时。接着将反应于真空中浓缩以移出大部分的二恶烷。然后将水性相以乙酸乙酯(100毫升,2x)萃取。将有机相结合,以盐水清洗,于硫酸钠上干燥,再于真空中浓缩,然后进行硅胶色谱法(梯度:8.3%至25%甲醇的二氯甲烷液)。将适当的试管结合,再于真空中浓缩,然后通过制备HPLC(方法M,30分钟期间使用梯度50%B至80%B,然后5分钟期间95%)再度纯化,即得白色固体状的76(400毫克,12%,3步骤)<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ7.81-7.79(d,2H),7.72-7.71(d,2H),7.42-7.38(m,2H),7.34-7.31(m,2H),4.35-4.33-7.33(d,2H),4.22-4.19(m,1H),2.28-2.26(d,4H),1.93-1.91(d,2H)。

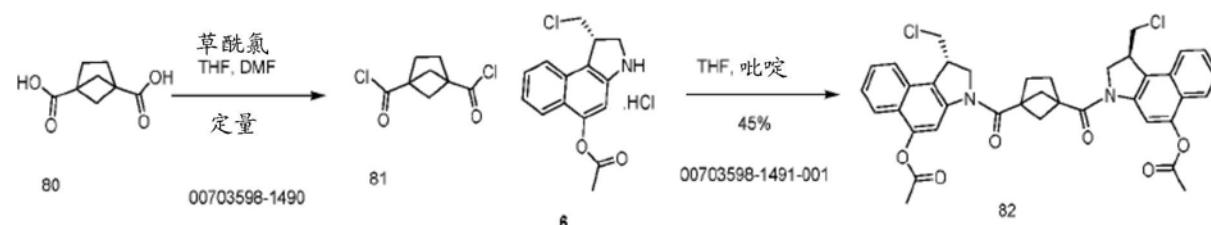
[0604] 步骤2:遵循一般步骤A,使用76(90毫克,0.40毫摩尔)、草酰氯(0.033毫升,0.39毫摩尔)、四氢呋喃(8毫升)及1滴N,N-二甲基甲酰胺制备,即得灰白色固状物77(79毫克,定量)。粗制物77系原样地立即用于下一步骤中。

[0605] 步骤3:遵循一般步骤B,使用6(103毫克,0.331毫摩尔)、77(70毫克,0.16毫摩尔)、吡啶(0.051毫升,0.63毫摩尔)及四氢呋喃(12毫升)以制得粗制材料。将于真空中浓缩的反应溶于二甲亚砜中,再注于12克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度:30%至95%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化。将适当的试管使用genevac浓缩以得淡棕色固体状的78(23毫克,16%)。LC-MS(方案B):m/z 922.0[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.59分钟。

[0606] 步骤4:将4-二甲氨基吡啶(DMAP,47.4毫克,0.388毫摩尔)加至正搅拌的78(17.9毫克,0.019毫摩尔)的1.0毫升N,N-二甲基甲酰胺溶液中。令反应于室温搅拌约60分钟。将粗制反应注至5克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度:30%至95%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化。将适当的试管使用genevac浓缩,即得淡棕色固体状的79(6.1毫克,39%)。LC-MS(方案B):m/z 700.1[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.47分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ10.26-10.17(m,2H),8.28-8.24(m,2H),8.11-8.06(d,2H),8.00-7.95(d,2H),7.71-7.64(t,2H),7.60-7.53(t,2H),4.56-4.37(m,6H),4.18-4.05(m,4H),2.83-2.59(m,8H),2.49-2.37(m,6H)。

[0607] 二乙酸(1S,4S)-双环[2.1.1]己烷-1,4-二基双[羰基(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]82的制备。

[0608]



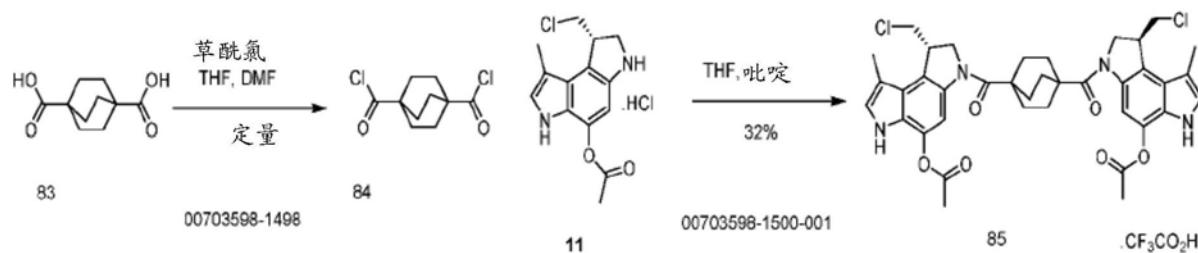
[0609] 步骤1:遵循一般步骤A,使用双环[2.1.1]己烷-1,4-二羧酸80(30毫克,0.18毫摩尔)、草酰氯(0.0303毫升,0.353毫摩尔)、四氢呋喃(4毫升)及1滴N,N-二甲基甲酰胺,即制得灰白色固体状的81(39毫克,定量)。粗制物81系原样地立即用于下一步骤中。

[0610] 步骤2:遵循一般步骤B,使用6(106毫克,0.338毫摩尔)、81(35毫克,0.17毫摩尔)、

吡啶(0.0545毫升,0.676毫摩尔)及四氢呋喃(8毫升),再使用中压反相C18色谱法(梯度:10%至75%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得白色固体状的82(52毫克,45%)。LC-MS(方案B): $m/z$  685.2[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.16分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ88.23(s,2H),8.03-7.99(d,2H),7.92-7.87(d,2H),7.63-7.57(t,2H),7.51-7.44(t,2H),4.47-4.25(m,6H),4.13-3.98(m,4H),2.47(s,6H),2.27-2.07(m,8H)。

[0611] 二乙酸双环[2.2.2]辛烷-1,4-二基双[羰基(1S)-1-(氯甲基)-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3,5(2H)-二酯]85的制备。

[0612]

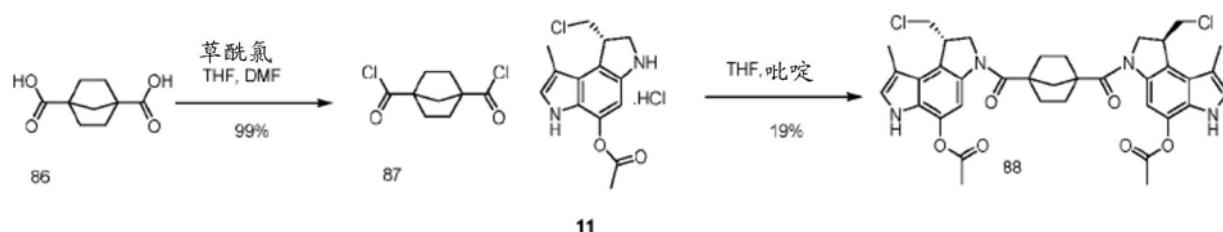


[0613] 步骤1:遵循一般步骤A,使用双环[2.2.2]辛烷-1,4-二羧酸83(16毫克,0.081毫摩尔)、草酰氯(0.015毫升,0.17毫摩尔)、四氢呋喃(5毫升)及1滴N,N-二甲基甲酰胺,即制得灰白色固体状的84(19毫克,定量)。粗制物84系原样地立即用于下一步骤中。

[0614] 步骤2:遵循一般步骤B,使用189(50.9毫克,0.145毫摩尔)、84(17.0毫克,0.0723毫摩尔)、吡啶(0.0233毫升,0.289毫摩尔)及四氢呋喃(4毫升),再使用中压反相C18色谱法(梯度:10%至75%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得白色固体状的85(21.6毫克,32%)。LC-MS(方案B): $m/z$  719.3[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.27分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ811.00(s,2H),7.79(s,2H),7.19(s,2H),4.68-4.62(m,2H),4.27-4.19(m,2H),4.06-3.94(m,4H),3.65-3.57(m,2H),2.42-2.32(m,12H),2.12-1.96(m,12H)。

[0615] 二乙酸双环[2.2.1]庚烷-1,4-二基双[羰基(1S)-1-(氯甲基)-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3,5(2H)-二酯]88的制备。

[0616]



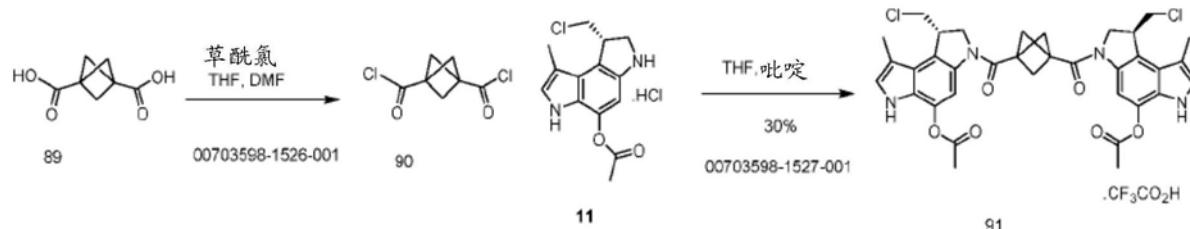
[0617] 步骤1:遵循一般步骤A,使用双环[2.2.1]庚烷-1,4-二羧酸86(16毫克,0.087毫摩尔)、草酰氯(0.016毫升,0.18毫摩尔)、四氢呋喃(5毫升)及1滴N,N-二甲基甲酰胺,即制得灰白色固体状的87(19毫克,99%)。粗制物87系原样地立即用于下一步骤中。

[0618] 步骤2:遵循一般步骤B,使用189(54.1毫克,0.154毫摩尔)、87(17.0毫克,0.0769毫摩尔)、吡啶(0.0248毫升,0.308毫摩尔)及四氢呋喃(4毫升),再使用中压反相C18色谱法(梯度:10%至75%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得淡棕色固体状的88(13.6毫克,19%)。LC-MS(方案B): $m/z$  705.3[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.32分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ811.02(s,2H),7.82(s,2H),7.19(s,2H),4.50-4.45(d,2H),4.26-4.16

(m, 2H), 4.10–4.02 (m, 2H), 3.98–3.92 (m, 2H), 3.65–3.58 (m, 2H), 2.41–2.33 (m, 12H), 2.22–2.03 (m, 10H)。

[0619] 二乙酸双环[1.1.1]戊烷-1,3-二基双[羰基(1S)-1-(氯甲基)-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3,5(2H)-二酯]91的制备。

[0620]

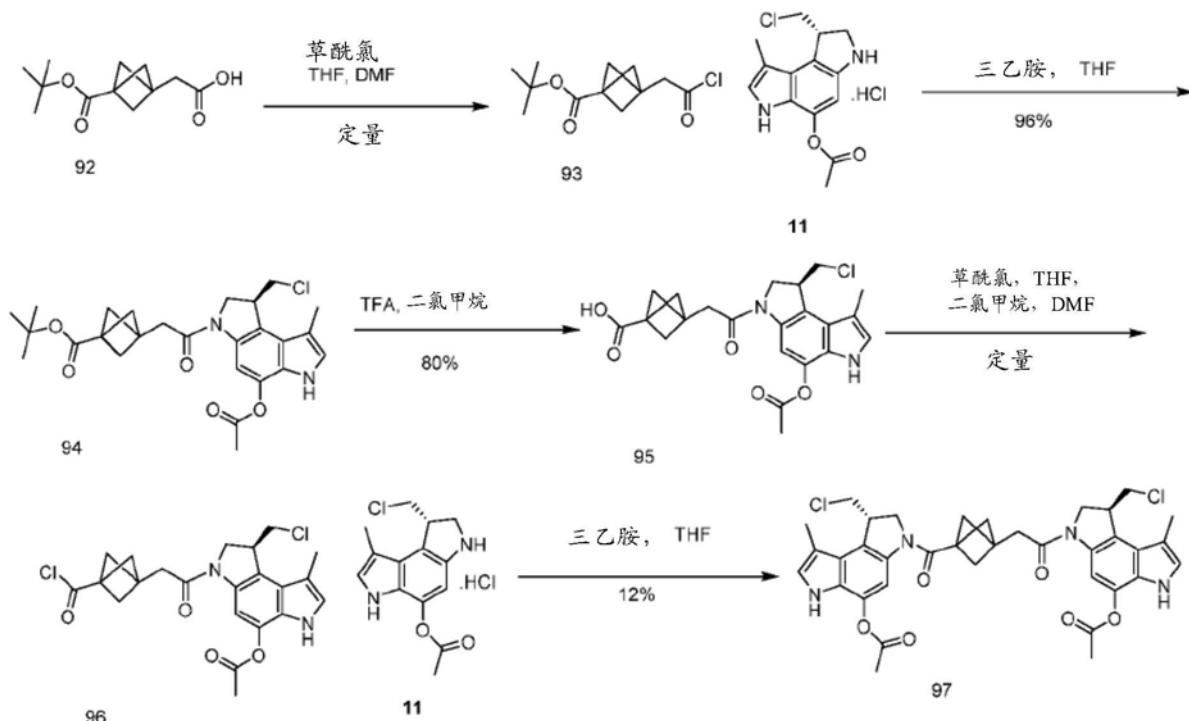


[0621] 步骤1: 遵循一般步骤A, 使用双环[1.1.1]戊烷-1,3-二羧酸89 (31毫克, 0.20毫摩尔)、草酰氯 (0.025毫升, 0.40毫摩尔)、四氢呋喃 (8毫升) 及1滴N,N-二甲基甲酰胺, 即制得灰白色固体状的90 (40毫克, 定量)。粗制物90系原样地立即用于下一步骤中。

[0622] 步骤2: 遵循一般步骤B, 使用189 (142毫克, 0.404毫摩尔)、90 (39毫克, 0.20毫摩尔)、吡啶 (0.065毫升, 0.81毫摩尔) 及四氢呋喃 (12毫升), 再使用中压反相C18色谱法 (梯度: 10%至75%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸) 予以纯化, 即得淡灰色固体状的91 (45.5毫克, 30%)。LC-MS (方案B) : m/z 677.2 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间 = 1.89分钟。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) : δ 11.04 (s, 2H), 7.78 (s, 2H), 7.20 (s, 2H), 4.47–4.39 (m, 2H), 4.36–4.26 (m, 2H), 4.18–4.08 (m, 2H), 4.03–3.94 (m, 2H), 3.77–3.66 (m, 2H), 2.56 (s, 6H), 2.41–2.31 (m, 12H)。

[0623] 乙酸(8S)-6-[ (3-{[(1S)-5-(乙酰氧基)-1-(氯甲基)-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)乙酰基]-8-(氯甲基)-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-酯97的制备。

[0624]



[0625] 步骤1: 遵循一般步骤A, 使用3-(2-叔丁氧基-2-氧化乙基) 双环[1.1.1]戊烷-1-羧酸92[如同于Bioorg.Med.Chem.2009,17,242-250中所述地制备](90毫克,0.40毫摩尔)、草酰氯(0.041毫升,0.477毫摩尔)、四氢呋喃(8毫升)及1滴N,N-二甲基甲酰胺, 即制得灰白色固体状的93(103毫克,定量)。粗制物93系原样地立即用于下一步骤中。

[0626] 步骤2: 遵循一般步骤B, 使用11(141毫克,0.40毫摩尔)、93(98毫克,0.40毫摩尔)、三乙胺(0.168毫升,1.20毫摩尔)及四氢呋喃(30毫升), 再使用硅胶色谱法(梯度:0%至35%丙酮的庚烷液)予以纯化, 即得灰白色固体状的94(188毫克,96%)。LC-MS(方案B): m/z 487.2 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=2.04分钟。

[0627] 步骤3: 将三氟乙酸(4.0毫升,52毫摩尔)加至正搅拌的94(184毫克,0.378毫摩尔)的8毫升二氯甲烷溶液中。令反应于室温搅拌约45分钟。将反应于真空中浓缩, 再置于高真空底下, 即得淡灰色固体状的95(164毫克,80%)。LC-MS(方案B): m/z 431.7 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.39分钟。

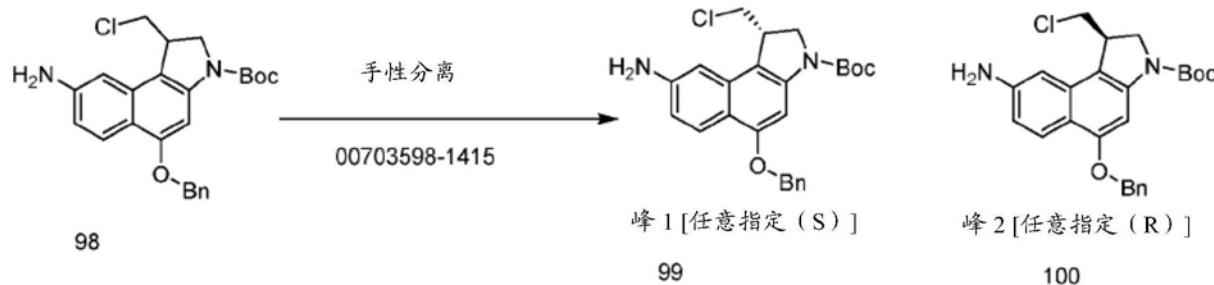
[0628] 步骤4: 遵循一般步骤A, 使用95(55毫克,0.101毫摩尔)、草酰氯(0.0104毫升,0.121毫摩尔)、四氢呋喃(3毫升)、二氯甲烷(1毫升)及1滴N,N-二甲基甲酰胺, 即制得灰白色固体状的96(46毫克,定量)。粗制物96系原样地立即用于下一步骤中。

[0629] 步骤5: 遵循一般步骤B, 使用11(31.3毫克,0.089毫摩尔)、96(40毫克,0.089毫摩尔)、吡啶(0.0215毫升,0.267毫摩尔)及四氢呋喃(8.0毫升), 再使用中压反相C18色谱法(梯度:10%至70%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化, 即得淡灰色固体状的97(10.1毫克,12%)。LC-MS(方案B): m/z 691.3 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.93分钟。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.02 (s, 2H), 7.86-7.72 (d, 2H), 7.19 (s, 2H), 4.43-4.36 (m, 1H), 4.28-4.14 (m, 3H), 4.13-4.05 (m, 2H), 3.96-3.89 (m, 2H), 3.68-3.60 (m, 2H), 2.89-2.82 (m, 2H), 2.73-2.66 (m, 2H), 2.40-2.30 (m, 12H), 2.24-2.15 (m, 6H)。

[0630] (1S)-8-氨基-5-(苄氧基)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-羧酸叔丁

酯99及(1R)-8-氨基-5-(苄氧基)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-羧酸叔丁酯98的制备。

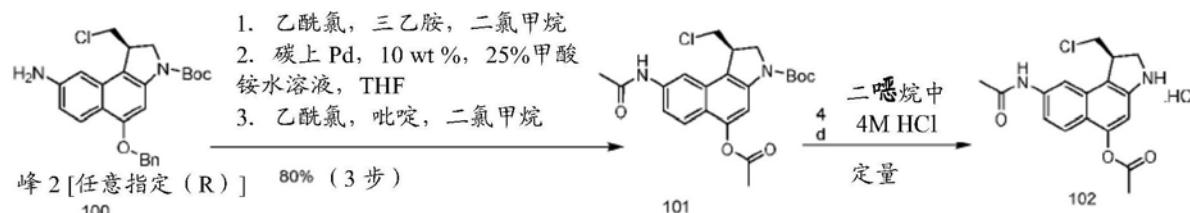
[0631]



[0632] 将8-氨基-5-(苄氧基)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-羧酸叔丁酯98[使用于J.Med.Chem.2012,55,5878-5886中所述的化学制备]使用超临界流体色谱法(方法L1)分离。将峰1于真空中浓缩以得99(385毫克),其经任意配置为(S)。LC-MS(方案B):m/z 439.1[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.34分钟。将峰2于真空中浓缩以得100(401毫克),其经任意配置为(R)。LC-MS(方案B):m/z 439.1[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.34分钟。

[0633] (1R)-8-(乙酰氨基)-5-(乙酰氧基)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-羧酸叔丁酯102的制备

[0634]

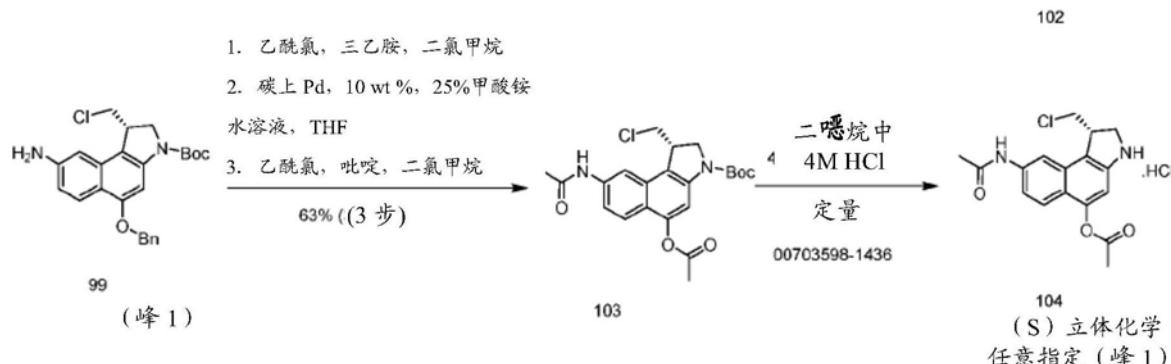


[0635] 步骤1:于0℃将乙酰氯(0.015毫升,0.206毫摩尔)加至正搅拌的99(60毫克,0.14毫摩尔)的6毫升二氯甲烷溶液中,其后将三乙胺(0.029毫升,0.206毫摩尔)加入。令反应于0℃搅拌约1分钟,然后令其加温至室温。令反应于室温搅拌约25分钟。将反应以二氯甲烷稀释,然后转移至分液漏斗。将有机层分离出,接着以1N盐酸然后水清洗。将有机层于硫酸钠上干燥,过滤,然后于真空中浓缩以得橙色固状物。于0℃将10重量%钯/碳(45毫克)加至正搅拌的粗制材料的4毫升四氢呋喃溶液中,其后将25%甲酸铵水溶液(0.3毫升)加入。令反应于0℃搅拌约4小时。将反应以四氢呋喃及乙醚稀释。将硫酸钠加入,再将反应通过薄赛力硅藻土垫中过滤。将有机相于真空中浓缩,再置于高真空底下以得淡棕色固状物。于0℃将乙酰氯(0.015毫升,0.211毫摩尔)加至正搅拌的粗制材料的6毫升二氯甲烷溶液中,其后将吡啶(0.017毫升,0.211毫摩尔)加入。令反应于0℃搅拌1分钟,然后令其加温至室温。令反应于室温搅拌约25分钟。将反应于真空中浓缩。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%至45%丙酮的庚烷液)。将适当的试管结合,再于真空中浓缩,即得灰白色固体状的101(49毫克,80%,3步骤)。LC-MS(方案B):m/z 455.9[M+Na]<sup>+23</sup>,保留时间=2.05分钟。

[0636] 步骤2:将4M盐酸的二噁烷液(6.0毫升,24毫摩尔)加至含101(45毫克,0.10毫摩尔)的圆底烧瓶中。令反应于室温搅拌约2小时。将反应于真空中浓缩,再置于高真空底下,即得暗棕色固体状的102(42毫克,定量)。LC-MS(方案B):m/z 333.0[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.65分钟。

[0637] (1S)-8-(乙酰氨基)-5-(乙酰氧基)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-羧酸叔丁酯103的制备

[0638]

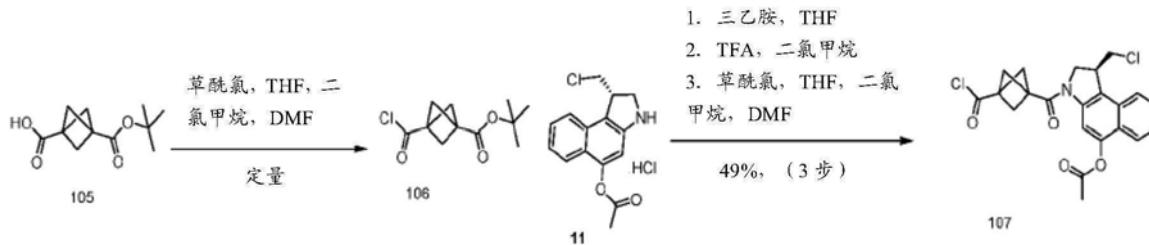


[0639] 步骤1:于0℃将乙酰氯(0.016毫升,0.22毫摩尔)加至正搅拌的99(65毫克,0.15毫摩尔)的6毫升二氯甲烷溶液中,其后将三乙胺(0.031毫升,0.22毫摩尔)加入。令反应于0℃搅拌约1分钟,然后令其加温至室温。令反应于室温搅拌约25分钟。将反应以二氯甲烷稀释,然后转移至分液漏斗。将有机层分离出,接着以1N盐酸然后水清洗。将有机层于硫酸钠上干燥,过滤,然后于真空中浓缩以得橙色固状物。于0℃将10重量%钯/碳(45毫克)加至正搅拌的粗制材料的4毫升四氢呋喃溶液中,其后将25%甲酸铵水溶液(0.5毫升)加入。令反应于0℃搅拌约4小时。将反应以四氢呋喃及乙醚稀释。将硫酸钠加入,再将反应通过薄赛力硅藻土垫中过滤。将有机相于真空中浓缩,再置于高真空底下以得淡棕色固状物。于0℃将乙酰氯(0.015毫升,0.21毫摩尔)加至正搅拌的粗制材料的8毫升二氯甲烷溶液中,其后将吡啶(0.017毫升,0.21毫摩尔)加入。令反应于0℃搅拌1分钟,然后令其加温至室温。令反应于室温搅拌约25分钟。将反应于真空中浓缩。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%至25%丙酮的庚烷液)。将适当的试管结合,再于真空中浓缩,即得白色固体状的103(39.1毫克,63%,3步骤)。LC-MS(方案B): $m/z$  455.0 [ $M+Na$ ]<sup>+23</sup>,保留时间=2.00分钟。

[0640] 步骤2:将4M盐酸的二恶烷液(4.0毫升,16毫摩尔)加至含103(37毫克,0.085毫摩尔)的圆底烧瓶中。令反应于室温搅拌约2小时。将反应于真空中浓缩,再置于高真空底下,即得绿色固体状的104(34毫克,定量)。LC-MS(方案B): $m/z$  333.0 [ $M+H$ ]<sup>+</sup>,保留时间=1.41分钟。

[0641] (1S)-3-{[3-(氯羰基)双环[1.1.1]戊-1-基]羰基}-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基107的制备。

[0642]



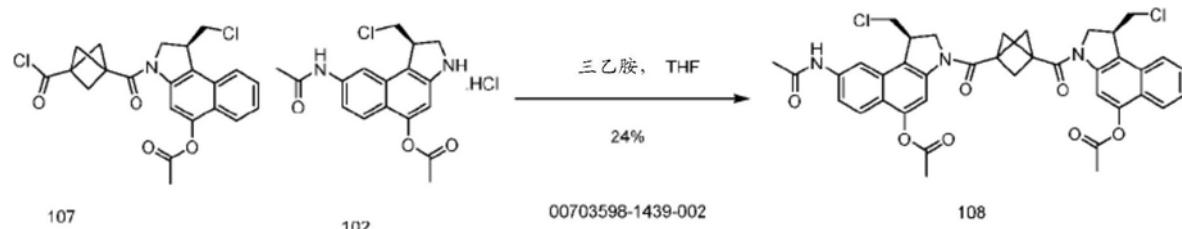
[0643] 步骤1:遵循一般步骤A,使用3-(叔丁氧羰基)双环[1.1.1]戊烷-1-羧酸105(212毫克,1.0毫摩尔)、草酰氯(0.094毫升,1.10毫摩尔)、四氢呋喃(3毫升)、二氯甲烷(6毫升)及1

滴N,N-二甲基甲酰胺,即制得灰白色固体状的105(235毫克,定量)。粗制物105系原样地立即用于下一步骤中。

[0644] 步骤2:遵循一般步骤B,使用11(311毫克,0.997毫摩尔)、105(230毫克,0.997毫摩尔)、三乙胺(0.292毫升,2.09毫摩尔)及四氢呋喃(20毫升),再使用硅胶色谱法(梯度:10%至75%丙酮的庚烷液)予以纯化。将适当的试管结合,再于真空中浓缩以得白色固状物。将三氟乙酸(5.0毫升,65毫摩尔)加至正搅拌的粗制材料的10毫升二氯甲烷溶液中。令反应于室温搅拌约90分钟。将反应于真空中浓缩。再材料以二氯甲烷溶解,转移至分液漏斗。然后以1N水性盐酸、盐水及水清洗。将有机层于硫酸钠上干燥,过滤,然后于真空中浓缩,其后置于高真空底下以得白色固状物。使用粗制材料且遵循一般步骤A连同草酰氯(0.010毫升,0.121毫摩尔)、四氢呋喃(4毫升)、二氯甲烷(2毫升)及1滴N,N-二甲基甲酰胺,即制得白色固体状的107(52毫克,49%,3步骤)。粗制物107系原样地立即用于下一步骤中。

[0645] 乙酸(1R)-8-(乙酰氨基)-3-[ (3-{[(1S)-5-(乙酰氧基)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-5-酯108的制备

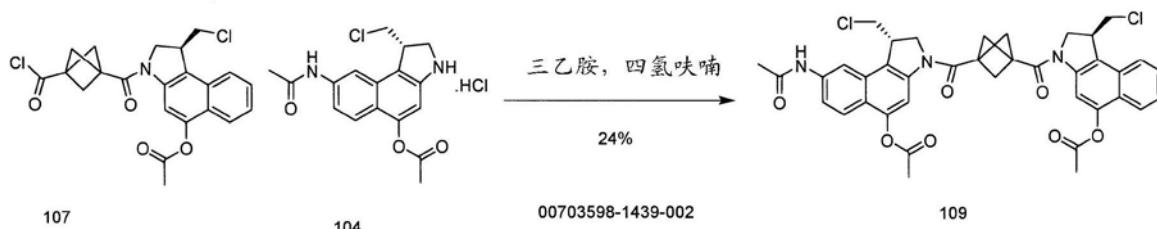
[0646]



[0647] 遵循一般步骤B,使用107(21毫克,0.057毫摩尔)、102(24.6毫克,0.057毫摩尔)、三乙胺(0.024毫升,0.171毫摩尔)及四氢呋喃(6毫升),再进行制备HPLC纯化法(方法H1),即制得灰白色固体状的108(5.8毫克,14%)。LC-MS(方案B): $m/z$  728.1 [ $M+H$ ]<sup>+</sup>,保留时间=2.12分钟。

[0648] 乙酸(1S)-3-[ (3-{[(1S)-8-(乙酰氨基)-5-(乙酰氧基)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯109的制备。

[0649]

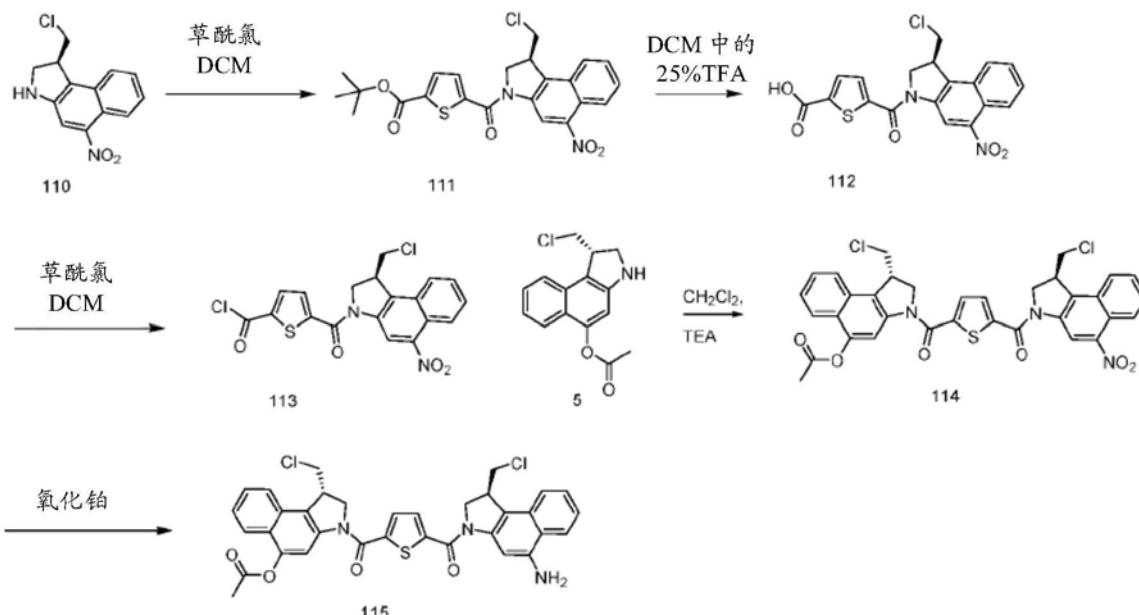


[0650] 遵循一般步骤B,使用107(29.4毫克,0.068毫摩尔)、104(25毫克,0.068毫摩尔)、三乙胺(0.028毫升,0.028毫摩尔)及四氢呋喃(8毫升),再使用中压反相C18色谱法(梯度:10%至75%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化,即制得白色固体状的109(11.8毫克,24%)。LC-MS(方案B): $m/z$  728.0 [ $M+H$ ]<sup>+</sup>,保留时间=2.13分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>): $\delta$  10.25(s,1H), 8.27(s,1H), 8.20(s,1H), 8.06(s,1H), 8.04-7.98(m,1H), 7.92-7.80(m,2H), 7.63-7.55(m,2H), 7.50-7.45(m,1H), 4.56-4.33(m,5H), 4.29-4.17

(m, 1H) , 4.16–3.94 (m, 4H) , 2.62 (s, 6H) , 2.48–2.43 (m, 6H) , 2.11 (s, 3H)。

[0651] 乙酸(5)-3-[5-((S)-5-氨基-1-氯甲基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-羧基)-噻吩-2-羧基]-1-氯甲基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯115的制备

[0652]



[0653] 步骤1: 将草酰氯(0.66毫摩尔, 0.066毫升)加至含有噻吩-2,5-二羧酸单叔丁酯(152毫克, 0.66毫摩尔)的5毫升无水二氯甲烷液的已以氮吹洗的圆底烧瓶中。将1滴N,N-二甲基甲酰胺加至此溶液中。将反应混合物搅拌3小时,再于真空中浓缩成粗制残留物。然后将残留物加至含110(200毫克, 0.66毫摩尔)的15毫升无水二氯甲烷液的圆底烧瓶中。将反应搅拌2小时。将残留物以15毫升二氯甲烷稀释,再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥,过滤及浓缩成粗制固状物。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%-100%乙酸乙酯的庚烷液),即得黄色固体状的111(185毫克, 58%)。LC-MS:m/z 473[M+H<sup>+</sup>],保留时间=2.25分钟。

[0654] 步骤2: 将111加至10毫升25%三氟乙酸的二氯甲烷液中。将反应搅拌30分钟。将粗制反应混合物于真空中浓缩,即得黄色固体状的112。LC-MS:m/z 416[M+H<sup>+</sup>],保留时间=1.65分钟。

[0655] 步骤3: 将草酰氯(0.24毫摩尔, 0.02毫升)加至含有112(100毫克, 0.24毫摩尔)的5毫升无水二氯甲烷液的已以氮吹洗的圆底烧瓶中。将1滴N,N-二甲基甲酰胺加至此溶液中。将反应混合物搅拌3小时,再于真空中浓缩,即得黄色固体状的113(100毫克, 0.24毫摩尔, 定量)。LCMS,置于甲醇中:m/z 282.0[M+H<sup>+</sup>, 为甲醇分解产物]。保留时间=1.95分钟。

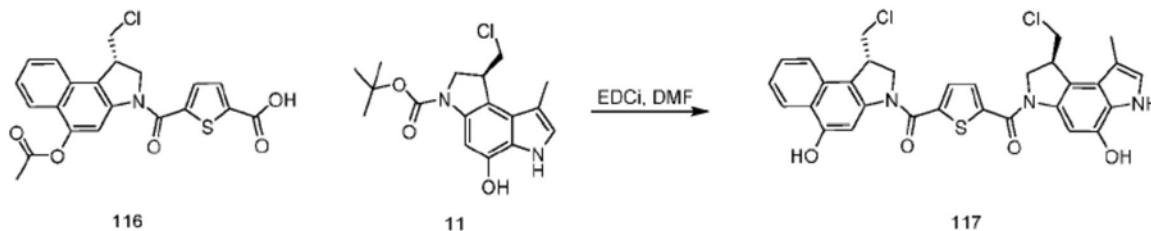
[0656] 步骤4: 将113(40毫克, 0.092毫摩尔)加至含有5(28毫克, 0.092毫摩尔)的5毫升二氯甲烷液的圆底烧瓶中。然后将三乙胺(0.088毫升)加入,再将系统于室温搅拌1小时。将粗制反应混合物于真空中浓缩,再置回25毫升二氯甲烷中,再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥,过滤及将滤液浓缩成粗制固状物。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%-100%乙酸乙酯的庚烷液),即得黄色固体状的114(40毫克, 64%)。LC-MS:m/z 674[M+H<sup>+</sup>],保留时间=2.25分钟。

[0657] 步骤5: 将氧化铂(5毫克, 0.02毫摩尔)加至含114(30毫克, 0.044毫摩尔)的15毫升

无水四氢呋喃液的帕尔烧瓶(Parr flask)中。将系统盖上橡胶隔片,氢化反应于氢下、于50Psi发生3小时。3小时后,将帕尔烧瓶以氮吹洗,再将粗制反应通过赛力特硅藻土中使用乙酸乙酯过滤。然后将含有期望粗制产物的滤液浓缩。接着进行硅胶色谱法(梯度:0%-100%乙酸乙酯的庚烷液),即得黄色固体状的115(15毫克,50%)。LC-MS: $m/z$  644[M+H<sup>+</sup>],保留时间=2.06分钟。

[0658] ((S)-1-氯甲基-5-羟基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-基)-[5-((S)-1-氯甲基-5-羟基-8-甲基-1,6-二氢-2H-吡咯并[3,2-e]吲哚-3-羰基)-噻吩-2-基]-甲酮117的制备。

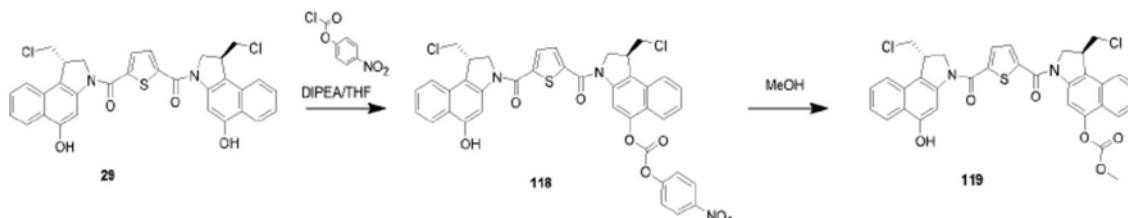
[0659]



[0660] 将N,N-二甲基甲酰胺(5毫升)置于含有11(34毫克,0.1毫摩尔)的备有搅拌棒的圆底烧瓶内,再逐滴加至含有5-((S)-5-乙酰氧基-1-氯甲基-1,2-二氢-苯并[e]吲哚-3-羰基)-噻吩-2-羧酸(42,44毫克,0.1毫摩尔)、3-(乙基亚氨基亚甲基氨基)-N,N-二甲基丙-1-胺(59毫克,0.3毫摩尔)及碳酸氢钠(36毫克,0.4毫摩尔)的5毫升N,N-二甲基甲酰胺液的圆底烧瓶中。将反应搅拌30分钟。将3毫升1M水性盐酸加入,再将粗制反应混合物于真空中浓缩。然后进行反相色谱法(梯度:0%-65%乙腈的水液),即得浅白色固体状的117(15毫克,24%)。LC-MS: $m/z$  604[M-H<sup>+</sup>],保留时间=1.93分钟。

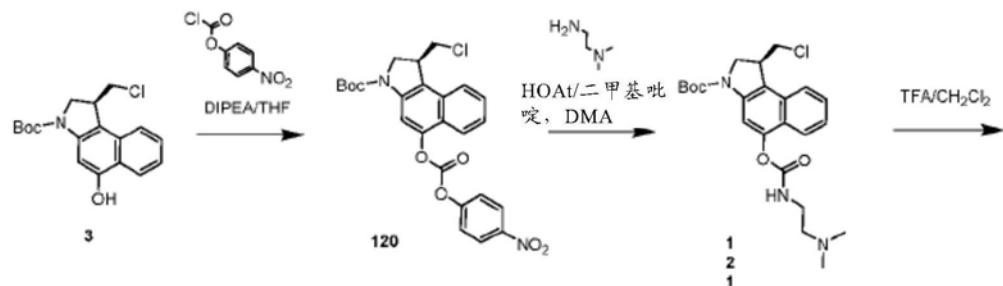
[0661] 甲基碳酸(S)-1-(氯甲基)-3-(5-((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)-噻吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯119的制备

[0662]

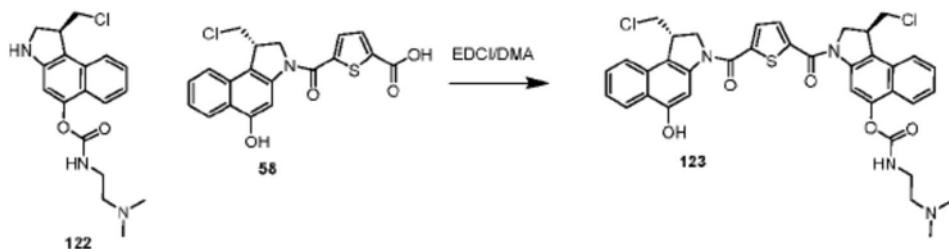


[0663] 于0℃将氯甲酸4-硝苯酯(11毫克,0.054毫摩尔)的四氢呋喃(1毫升)溶液加至29(27毫克,0.045毫摩尔)的四氢呋喃(3毫升)及N,N-二异丙基乙胺(DIPEA,0.032毫升,0.18毫摩尔)溶液中。将混合物于0℃搅拌2小时,再于室温搅拌过夜。LC-MS显现相应的单-PNP碳酸酯118形成。将甲醇(1毫升)加至反应混合物中。搅拌5分钟后,将其于真空中浓缩,再将残留物通过Gilson HPLC(乙腈/水,0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得灰白色固体状的119(5毫克,20%)。LC-MS: $m/z$  660.7[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.06分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),δ8.53(d),7.80(m),7.72(d),7.45(m),7.34(m),4.72(m),4.62(d),4.30(m),4.11(t),4.04(s),3.86(d),3.71(d),3.47(t),3.24(m)。

[0664] (2-(二甲氨基)乙基)氨基甲酸(S)-1-(氯甲基)-3-(5-((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)-噻吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯123的制备



[0665]

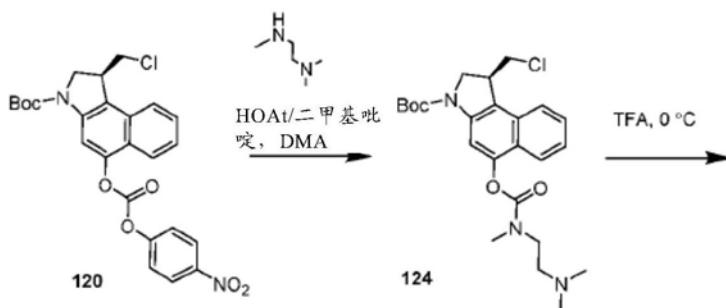


[0666] 步骤1:于0℃将氯甲酸4-硝苯酯(164毫克,0.78毫摩尔)的四氢呋喃(1毫升)溶液加至3(200毫克,0.60毫摩尔)的四氢呋喃(6毫升)及N,N-二异丙基乙胺(0.315毫升,1.8毫摩尔)溶液中,再将混合物于室温搅拌2小时。浓缩,再将残留物以乙酸乙酯(EA)及水处理,以乙酸乙酯萃取,以水及盐水清洗。于硫酸镁上干燥,将溶剂于真空中移出以得黄色泡沫状的PNP碳酸酯120(300毫克,100%)。LC-MS:m/z 399.0[M+H],保留时间=2.37分钟。

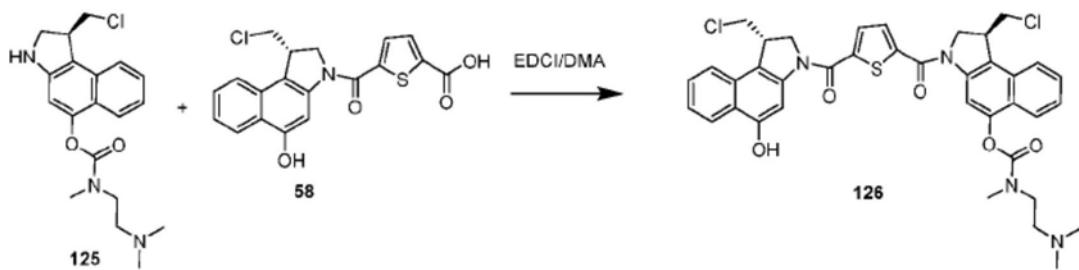
[0667] 步骤2:将N,N-二甲基乙二胺(35毫克,0.4毫摩尔)加至上述PNP碳酸酯120(100毫克,0.2毫摩尔)的N,N-二甲基乙酰胺(DMA,3毫升)溶液中,其后将二甲基吡啶(0.07毫升,0.6毫摩尔)及HOAt(14毫克,0.1毫摩尔)加入。将混合物于室温搅拌4小时。将混合物通过Gilson HPLC(乙腈/水,0.02%三氟乙酸)进行纯化,即得黄色玻璃状的1-(氯甲基)-5-((2-(二甲氨基)乙基)氨基甲酰基)氧基)-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-羧酸氨基甲酸(S)-叔丁酯121(86毫克,77%)。LC-MS:m/z 448.1[M+H],保留时间=0.70分钟。

[0668] 步骤3:将上述化合物121(38毫克,0.067毫摩尔)以三氟乙酸(0.5毫升)及二氯甲烷(2毫升)处理2小时,然后于真空中浓缩以得相应的脱保护胺122,将其溶于N,N-二甲基乙酰胺(3毫升)中。将(S)-5-(1-(氯甲基)-5-羟基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羧酸[58](26毫克,0.067毫摩尔)加至此溶液中,其后将EDCI(27毫克,0.14毫摩尔)加入,再将混合物于室温搅拌过夜。将粗制物通过Gilson HPLC(乙腈/水,0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得123(4.5毫克,8%)。LC-MS:m/z 717.4[M+H],保留时间=1.38分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),δ8.24(d),8.0(d),7.75(d),7.64(s),7.55-7.34(m),4.62(m),4.13(t),4.05(t),3.94(t),3.64(t),3.57-3.45(m),3.33(s),3.25(s),2.89(s)。

[0669] 甲基(2-(甲氨基)乙基)氨基甲酸(S)-1-(氯甲基)-3-(5-((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯126的制备



[0670]

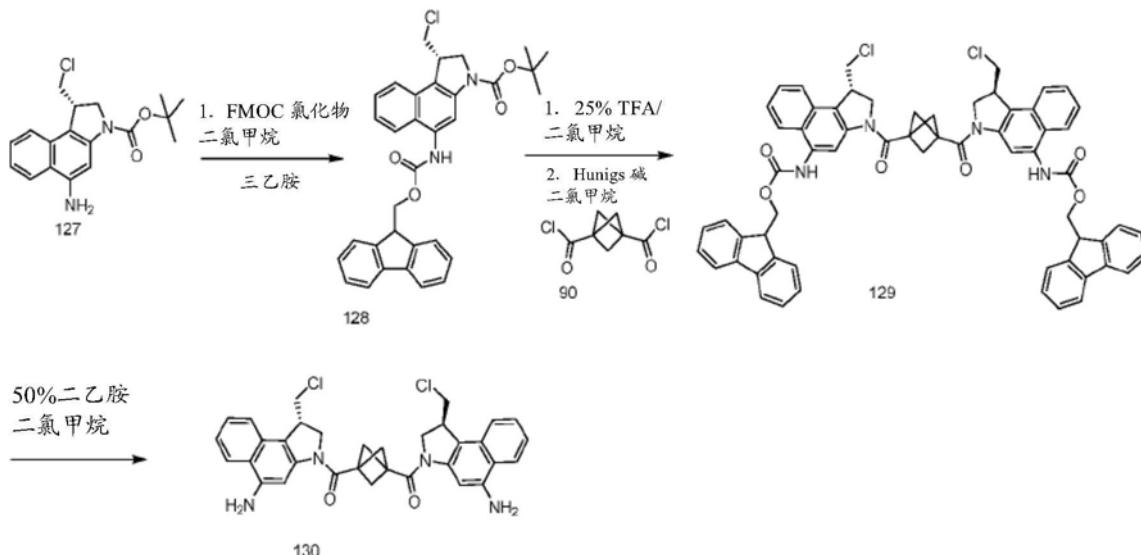


[0671] 步骤1：将N,N,N-三甲基乙二胺(222毫克,0.28毫摩尔)加至上述120的溶液中,其后将二甲基吡啶(0.37毫升,3.2毫摩尔)及HOAt(29毫克,0.2毫摩尔)加入。将混合物于室温搅拌1小时。将混合物浓缩,再将残留物以乙酸乙酯稀释,以盐水清洗,于硫酸镁上干燥。将粗制反应产物通过ISCO使用甲醇/二氯甲烷(0-20%)予以纯化,即得白色泡沫状的124(245毫克,50%)。LC-MS:m/z 462.2[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.45分钟。

[0672] 步骤2:将上述化合物124(40毫克,0.087毫摩尔)以预冷却的三氟乙酸(1毫升)于0℃处理10分钟。将三氟乙酸于真空下移出以得相应的脱保护胺125,将其溶于N,N-二甲基乙酰胺(3毫升)中。将(S)-5-(1-(氯甲基)-5-羟基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羧酸[58](34毫克,0.087毫摩尔)加至此溶液中,其后将EDCI(35毫克,0.17毫摩尔)加入,再将混合物于室温搅拌过夜。将粗制物通过Gilson HPLC(乙腈/水,0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得灰白色固体状的126(25毫克,39%)。LC-MS:m/z 731.1[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.71分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>),δ10.49(s),8.26(s),8.14(d),7.98(d),7.88(d),7.66(t),7.77(t),7.40(t),4.89(t),4.78(t),4.55(d),4.43(d),4.23(s),4.08-3.91(m),3.73(s),3.50(s),3.40(s),3.26(s),2.89(m)。

[0673] 双环[1.1.1]戊烷-1,3-二基双{[(1S)-5-氨基-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]甲酮}130的制备

[0674]



[0675] 步骤1：将5毫升无水二氯甲烷加至含芴基甲氧羰基氯(560毫克,2.1毫摩尔)备有搅拌棒的圆底烧瓶中,再将系统以氮吹洗。将127(800毫克,2.1毫摩尔)其后三乙胺(0.3毫升,2.1毫摩尔)加入。让系统搅拌5小时。将粗制反应混合物置于乙酸乙酯中,再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)、碳酸氢钠及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥,过滤及将滤液浓缩成粗制残留物。将粗制产物通过硅胶色谱法(梯度:0%至100%乙酸乙酯的庚烷液)予以纯化,即得黄色固体状的128(1.096克,

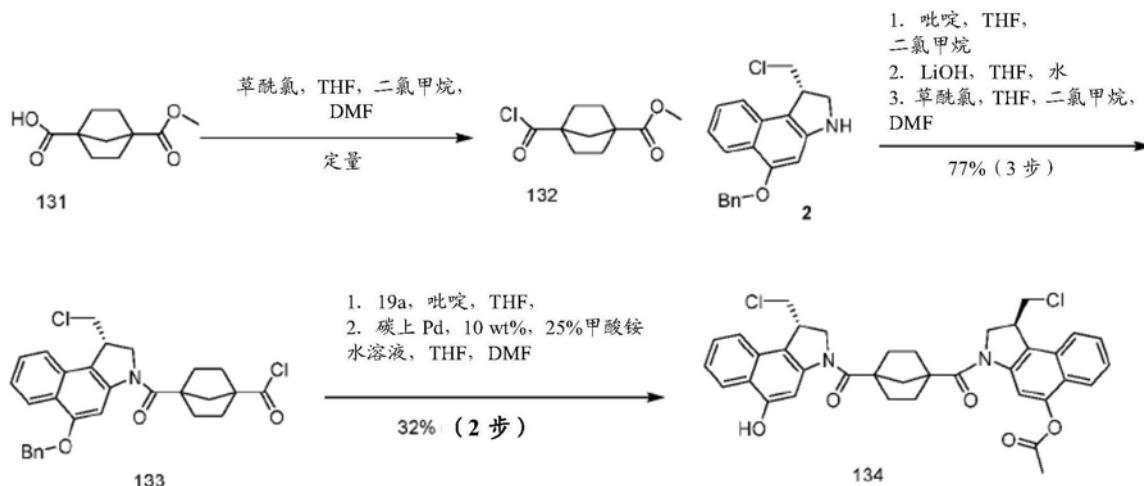
[0676] 91%)。LC-MS(方案B): $m/z$  455[M-Boc]<sup>+</sup>,保留时间=2.58分钟。

[0677] 步骤2:将15毫升25%三氟乙酸的二氯甲烷液加至128(1000毫克,1.96毫摩尔)的备有搅拌棒的圆底烧瓶中。将溶液搅拌30分钟。将反应混合物于真空下浓缩,再置于50%二氯甲烷及庚烷中,再于真空下浓缩。将此步骤重复3次(以移出过量的三氟乙酸),浓缩后得白色固状物。将此白色固状物加至正搅拌的双环[1.1.1]戊烷-1,3-二羰基二氯90的10毫升无水二氯甲烷溶液中。将反应搅拌1小时,再浓缩成粗制玻璃状物。将粗制反应混合物置于乙酸乙酯中,再转移至分液漏斗。将有机层以1M盐酸(3x)、水(3x)、碳酸氢钠及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥,过滤及将滤液浓缩成粗制残留物。将粗制产物通过硅胶色谱法(梯度:0%至100%乙酸乙酯的庚烷液)予以纯化,即得黄色固体状的129(250毫克,12%)。LC-MS(方案B): $m/z$  1030.7[M-H]<sup>-</sup>,保留时间=2.29分钟。

[0678] 步骤3:将10毫升1:1二氯甲烷的二乙胺液加至含有(双环[1.1.1]戊烷-1,3-二基双{羰基[(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二基]})双氨基甲酸双(9H-芴-9-基甲酯)129(20毫克,0.19毫摩尔)的备有搅拌棒的圆底烧瓶中。将溶液搅拌3小时。将反应混合物于真空下浓缩,再置于50%二氯甲烷的庚烷液中,再于真空下浓缩。将此步骤重复3次(以移出过量的二乙胺),浓缩后得白色固状物。将粗制产物通过硅胶色谱法(梯度:0%至10%甲醇的二氯甲烷液)予以纯化,即得黄色固体状的130(4毫克,30%)。LC-MS(方案B): $m/z$  585.1[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.99分钟。

[0679] 乙酸(1S)-1-(氯甲基)-3-[4-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[2.2.1]庚-1-基]羧基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯134的制备。

[0680]



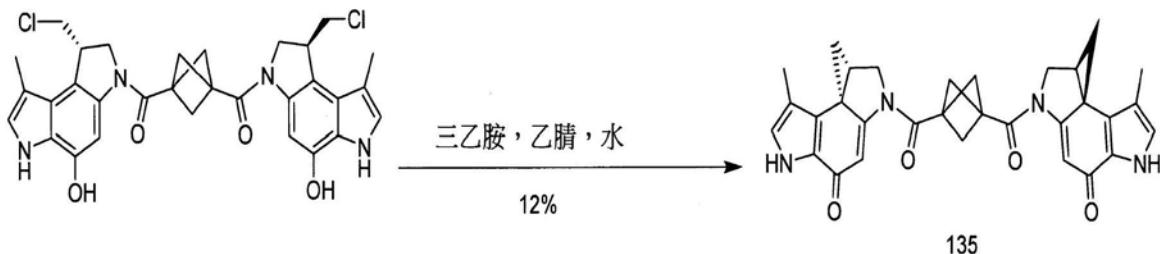
[0681] 步骤1: 遵循一般步骤A, 使用4-(甲氧羰基)双环[2.2.1]庚烷-1-羧酸131(75毫克, 0.38毫摩尔)、草酰氯(0.032毫升, 0.378毫摩尔)、四氢呋喃(1.5毫升)、二氯甲烷(1.5)及1滴N,N-二甲基甲酰胺, 即制得白色油状及固状混合的132(85毫克, 定量)。粗制物132系原样地立即用于下一步骤中。

[0682] 步骤2: 遵循一般步骤B, 使用2(125毫克, 0.346毫摩尔)、132(75毫克, 0.35毫摩尔)、吡啶(0.112毫升, 1.38毫摩尔)、二氯甲烷(2毫升)及四氢呋喃(6毫升), 再使用硅胶色谱法(梯度: 0%至25%丙酮的庚烷液)予以纯化, 将适当的试管结合及于真空中浓缩以得白色固状物。将氢氧化锂(52.9毫克, 2.21毫摩尔)的1.5毫升水溶液加至正搅拌的粗制材料的6毫升四氢呋喃溶液中。令反应于室温搅拌约3.5小时。将反应浓缩成较小量, 转移至分液漏斗, 再以二氯甲烷稀释。将反应以1N盐酸清洗。将水性层以二氯甲烷清洗一次。将有机层结合, 以盐水清洗, 于硫酸钠上干燥, 过滤, 然后于真空中浓缩, 其后置于高真空底下。遵循遵循一般步骤A, 使用粗制材料、草酰氯(0.024毫升, 0.281毫摩尔)、四氢呋喃(4.0毫升)、二氯甲烷(4.0毫升)及1滴N,N-二甲基甲酰胺, 即制得白色油状及固状混合的133(85毫克, 定量)。粗制物133系原样地立即用于下一步骤中。

[0683] 步骤3: 遵循一般步骤B, 使用19a(79.9毫克, 0.256毫摩尔)、133(130毫克, 0.256毫摩尔)、吡啶(0.103毫升, 1.28毫摩尔)及四氢呋喃(6毫升), 将此反应于真空中浓缩后制得粗制淡粉红色固状物。于0℃将10重量%钯/碳(100毫克)加至正搅拌的粗制材料的3毫升N,N-二甲基甲酰胺及1毫升四氢呋喃溶液中, 其后将25%甲酸铵水溶液(0.4毫升)加入。令反应于0℃搅拌约90分钟。将反应通过C18管塞中过滤, 将该管塞以70%/30%乙腈及水的溶液(每一相中均含0.02%三氟乙酸)清洗。使用genevac将材料减量, 即得淡灰色固体状的134(54毫克, 32%, 2步骤)。LC-MS(方案B):  $m/z$  657.1 [ $M+H$ ]<sup>+</sup>, 保留时间=2.10分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 10.32 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.11–8.07 (s, 1H), 8.02–7.96 (m, 2H), 7.91–7.86 (d, 1H), 7.83–7.78 (d, 1H), 7.63–7.57 (m, 1H), 7.52–7.45 (m, 2H), 7.36–7.30 (m, 1H), 4.54–4.38 (m, 3H), 4.35–4.27 (m, 2H), 4.16–4.05 (m, 2H), 4.02–3.90 (m, 2H), 3.80–3.73 (m, 1H), 2.47 (s, 3H), 2.26–2.03 (m, 10H)。

[0684] (3bR,4aS,3b'R,4a'S)-6,6'-(双环[1.1.1]戊烷-1,3-二基二羰基)双(3-甲基-4,4a,5,6-四氢环丙[c]吡咯并[3,2-e]吲哚-8(1H)-酮)的制备。

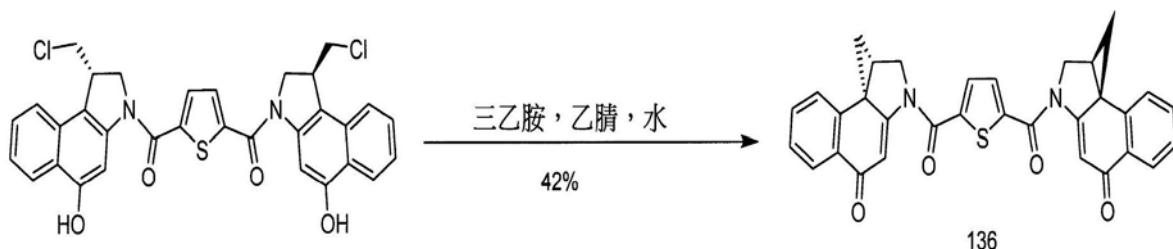
[0685]



[0686] 将三乙胺(0.40毫升,2.9毫摩尔)加至109(21毫克,0.026毫摩尔)的2毫升乙腈混合液中,其后将0.4毫升水加入。令反应于室温搅拌约40分钟。将反应于真空中浓缩。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%至10%甲醇的二氯甲烷液)。将适当的试管结合,再于真空中浓缩,即得淡棕色固体状的135(1.6毫克,12%)。LC-MS(方案B): $m/z$  521.3 [M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.28分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ11.47(s,2H),6.85(s,4H),4.29-4.22(m,2H),4.17-4.10(m,2H),3.19-3.09(m,2H),1.97(s,6H),1.93-1.87(m,2H),1.27-1.22(m,2H)。

[0687] (1aS,9bR,1a'S,9b'R)-3,3'-(噻吩-2,5-二基二羰基)双(1,1a,2,3-四氢-5H-苯并[e]环丙[c]吲哚-5-酮)的制备。

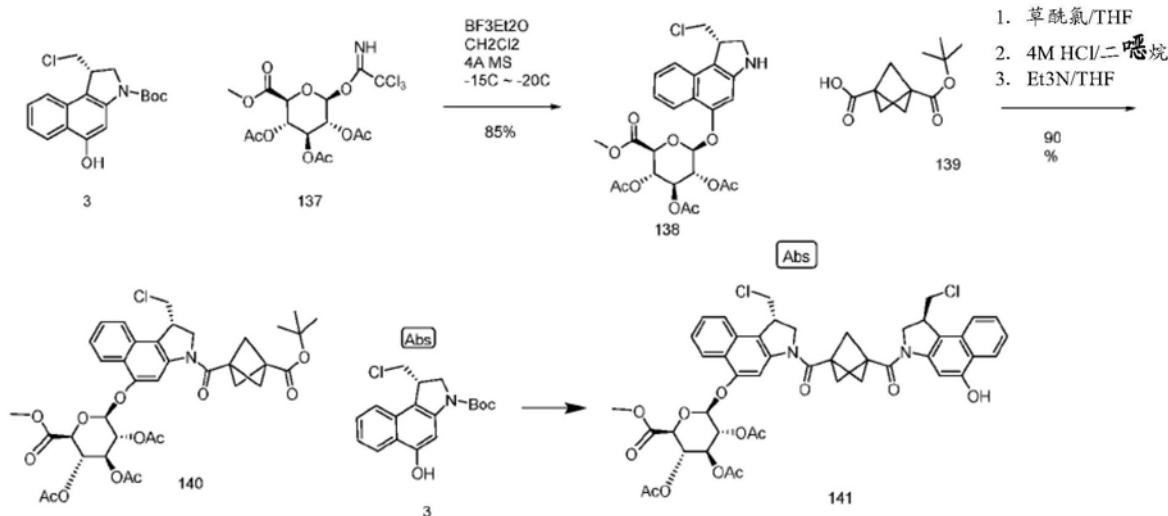
[0688]



[0689] 将三乙胺(0.40毫升,2.9毫摩尔)加至57(44毫克,0.073毫摩尔)的3毫升乙腈混合液中,其后将0.4毫升水加入。令反应于室温搅拌约40分钟。将反应于真空中浓缩。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%至5%甲醇的二氯甲烷液)。将适当的试管结合,再于真空中浓缩,即得淡棕色固体状的136(16.3毫克,39%)。LC-MS(方案B): $m/z$  531.1 [M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.55分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ8.05-8.01(d,2H),7.80(s,2H),7.65-7.59(t,2H),7.48-7.43(t,2H),7.28-7.23(d,2H),6.76(s,2H),4.57-4.51(m,2H),4.34-4.26(m,2H),1.85-1.76(m,4H)。

[0690] 2,3,4-三-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖苷酸(1S)-1-(氯甲基)-3-[3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基]羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯甲酯141。

[0691]



[0692] 将140(464毫克,0.6毫摩尔)溶于二氯甲烷(4毫升)中,将三氟乙酸(2毫升)加入,再将混合物密封2小时。将混合物于真空中浓缩以得相应的酸LC-MS(方案B):688.0[M+H]<sup>+</sup>,保留时间0.98分钟。将其溶于四氢呋喃(8毫升)中,冷却至0℃,将草酰氯(0.9毫升,2M的二氯甲烷液)其后2滴N,N-二甲基甲酰胺加入。将混合物于0℃搅拌5分钟,然后于室温搅拌50分钟。于真空中浓缩以得相应的酰基氯。

[0693] LC-MS:702.1(于Larry为1.05分钟,相应甲酯的峰);

[0694] 将4溶于四氢呋喃(10毫升)中,冷却至0℃,将上述酰基氯其后三乙胺(0.5毫升,4.0毫摩尔)加入。将混合物于0℃搅拌30分钟。将混合物以乙酸乙酯稀释,以水及盐水清洗,于硫酸镁上干燥。将溶剂于减压下移出,再将残留物以甲醇处理。将所得固状物通过过滤法收集,即得绿色固体状的141(414毫克,73.5%)。LC-MS(方案B):903.2[M+H]<sup>+</sup>,保留时间1.11分钟。

表 1 – 另外的有效负载体

ID	结构	合成方法	M/S
142		68	759.5 [M+H] <sup>+</sup>
143		68	747.4 [M+H] <sup>+</sup>
144		68	689.4 [M+H] <sup>+</sup>
[0695]		141	765.1 [M+H] <sup>+</sup>
146		60	659.2 [M+H] <sup>+</sup>
147		60	593.2 [M+H] <sup>+</sup>
148		141	893.2 [M+H] <sup>+</sup>

表 1 - 另外的有效负载体

ID	结构	合成方法	M/S
149		68	893.2 [M+H] <sup>+</sup>
151		141	919.2 [M+H] <sup>+</sup>
152		68	671.2 [M+H] <sup>+</sup>
[0696]		141	933.2 [M+H] <sup>+</sup>
154		60	590.2 [M+H] <sup>+</sup>
155		68	687.1 [M+H] <sup>+</sup>
156		68	687.2 [M+H] <sup>+</sup>

表 1 - 另外的有效负载体

ID	结构	合成方法	M/S
157		68	701.2 [M+H] <sup>+</sup>
158		68	700.6 [M+H] <sup>+</sup>
159		68	713.2 [M+H] <sup>+</sup>
[0697]			
160		68	715.1 [M+H] <sup>+</sup>
161		65	666.1 [M+H] <sup>+</sup>
162		134	643.2 [M+H] <sup>+</sup>

表 1 - 另外的有效负载体

ID	结构	合成方法	M/S
[0698]	163 	65	667.1 [M+H] <sup>+</sup>
	164 	141	779.1 [M+H] <sup>+</sup>
	165 	60	570.2 [M+H] <sup>+</sup>
	166 	135	506.2 [M+H] <sup>+</sup>
	167 	135	506.2 [M+H] <sup>+</sup>
	168 	68	659.2 [M+H] <sup>+</sup>

表 1 - 另外的有效负载体

ID	结构	合成方法	M/S
169		60	792.2 [M+H] <sup>+</sup>
170 [0699]		134	645.0 [M+H] <sup>+</sup>
171		196	683.1 [M+H] <sup>+</sup>
172		60	786.4 [M+H] <sup>+</sup>

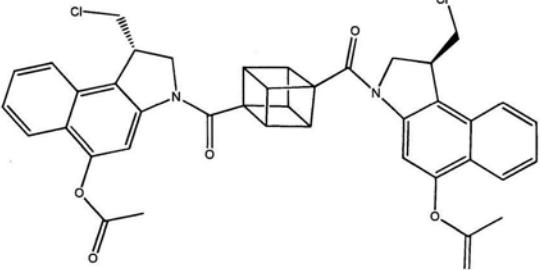
表 1 - 另外的有效负载体

ID	结构	合成方法	M/S
173		184	724.3 [M+H] <sup>+</sup>
174 [0700]		60	604.4 [M+H] <sup>+</sup>
175		134	657.2 [M+H] <sup>+</sup>
176		68	681.2 [M+H] <sup>+</sup>

表 1 - 另外的有效负载体

ID	结构	合成方法	M/S
177		68	709.2 [M+H] <sup>+</sup>
178 [0701]		68	754.4 [M+H] <sup>+</sup>
179		141	777.3 [M+H] <sup>+</sup>
180		68	590.5 [M+H] <sup>+</sup>

表 1 - 另外的有效负载体

ID	结构	合成方法	M/S
[0702]	181 	68	707.3 [M+H] <sup>+</sup>

[0703] 表1的化合物名称提供如下：

[0704]

表 2- 其它有效负载体, IUPAC 名称

142	二乙酸 3,4-二氢-2H-噻吩并[3,4-b][1,4]二氧杂环庚三烯-6,8-二基双[羰基(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]
143	二乙酸(3,4-二甲氧基噻吩-2,5-二基)双[羰基(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]
144	二乙酸 1,3,4-噻二唑-2,5-二基双[羰基(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]
145	((S)-1-(氯甲基)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基)(5-((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-基)甲酮
146	3,3'-噻吩-2,5-二基双{1-[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]丙-1-酮}
147	双环[1.1.1]戊烷-1,3-二基双{[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基]甲酮}

[0705]

表 2- 其它有效负载体, IUPAC 名称

148	(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(((S)-1-(氯甲基)-3-(5-((S)-1-(氯甲基)-5-((甲基(2-(甲氨基)乙基)氨基甲酰基)氧基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸
149	乙酸(1S)-3-[(5-{{[(2-{{[(1S)-5-(乙酰氧基)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}-1H-吲哚-5-基}氨基甲酰基}氨基}-1H-吲哚-2-基)羰基]-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-5-酯}
150	噻吩-2,5-二基双{[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基]甲酮}
151	三乙酸(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((S)-1-(氯甲基)-3-(5-((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三酯
152	二乙酸双环[1.1.1]戊烷-1,3-二基双[羰基(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]
153	三乙酸(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(((S)-1-(氯甲基)-3-((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三酯
154	[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基](3-{{[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)甲酮
155	二乙酸噻吩-2,5-二基双[羰基(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]

[0706]

表 2- 其它有效负载体, IUPAC 名称

156	二乙酸环丁烷-1,1-二基双[(1-氧代乙烷-2,1-二基)(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]
157	二乙酸环戊烷-1,1-二基双[(1-氧代乙烷-2,1-二基)(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]
158	二乙酸双环[1.1.1]戊烷-1,3-二基双[(1-氧代乙烷-2,1-二基)(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]
159	二乙酸双环[2.2.2]辛烷-1,4-二基双[羧基(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]
160	二乙酸噻吩-2,5-二基双[(1-氧代乙烷-2,1-二基)(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]
161	磷酸二氢(1S)-3-[(3-{[(1S)-5-氨基-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羧基}双环[1.1.1]戊-1-基)羧基]-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯
162	乙酸(1S)-1-(氯甲基)-3-[(3-{2-[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]-2-氧代乙基}双环[1.1.1]戊-1-基)羧基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯
163	磷酸二氢(1S)-1-(氯甲基)-3-[(3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羧基}双环[1.1.1]戊-1-基)羧基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯
164	(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(((S)-1-(氯甲基)-3-(5-((S)-1-(氯甲基)-5-羟基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-基)噻吩-2-羧基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸
165	2,2'-亚氨基双{1-[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基]乙酮}

[0707]

表 2- 其它有效负载体, IUPAC 名称

166	3-氨基-1,5-双[(1aS,9bR)-5-氧代-1a,2-二氢-1H-苯并[e]环丙[c]吲哚-3(5H)-基]戊烷-1,5-二酮
167	(2S)-2-氨基-1,5-双[(1aS,9bR)-5-氧代-1a,2-二氢-1H-苯并[e]环丙[c]吲哚-3(5H)-基]戊烷-1,5-二酮
168	二乙酸顺-环丁烷-1,3-二基双[羧基(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]
169	双{2-[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基]-2-氧代乙基}氨基甲酸 9H-芴-9-基甲酯
170	乙酸(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羧基}噻吩-2-基)羧基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯
171	磷酸二氢(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羧基}噻吩-2-基)羧基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯
172	双{2-[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]-2-氧代乙基}氨基甲酸 9H-芴-9-基甲酯
173	双[(磷酸)二氢]亚氨基双[(1-氧代乙烷-2,1-二基)(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]
174	(3R,5S)-哌啶-3,5-二基双{[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]甲酮}
175	乙酸(1S)-1-(氯甲基)-3-{[(1S,5S)-5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羧基}双环[3.1.1]庚-1-基]羧基}-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯
176	二乙酸苯-1,4-二基双[羧基(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]

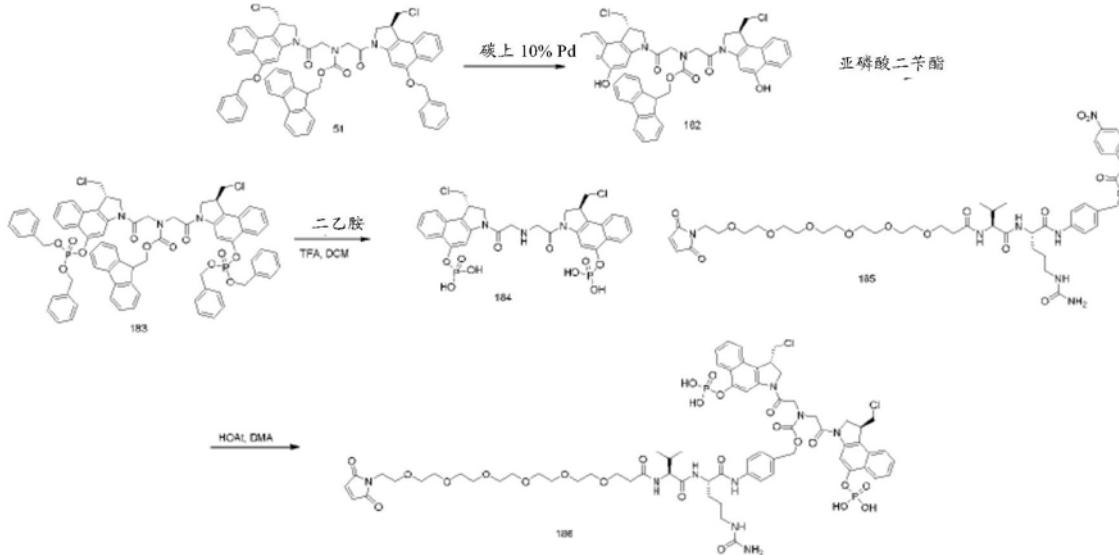
[0708]

表 2- 其它有效负载体, IUPAC 名称

177	二乙酸苯-1,3-二基双[(1-氧代乙烷-2,1-二基)(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]
178	二乙酸(5-硝基苯-1,3-二基)双[(1-氧代乙烷-2,1-二基)(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]
179	$\beta$ -D-吡喃葡萄糖昔酸(1S)-1-(氯甲基)-3-[3-{(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基}双环[1.1.1]戊-1-基]乙酰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯
180	[(1S)-5-氨基-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基](3-{(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基}双环[1.1.1]戊-1-基)甲酮
181	二乙酸五环[4.2.0.0~2,5~.0~3,8~.0~4,7~]辛烷-1,4-二基双[羧基(1S)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3,5-二酯]

[0709] 双((S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1H-苯并[e]吲哚-3(2H)-基)-2-氧代乙基氨基甲酸4-((23S,26S)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-23-异丙基-21,24-二氧代-26-(3-脲基丙基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂-22,25-二氮杂二十七烷酰氨基)苄酯(186)的制备

[0710]



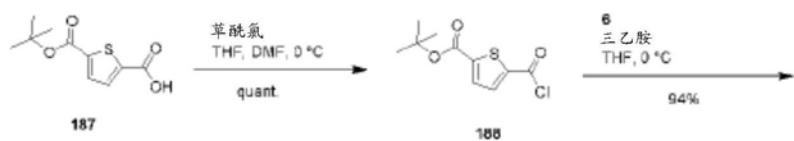
[0711] 步骤1: 将正搅拌的51(120毫克, 0.124毫摩尔)的10毫升四氢呋喃溶液于氮下使用冰浴冷却至0℃。然后将10重量%钯/活性碳(106毫克, 0.298毫摩尔)加入, 其后将1毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌5小时。然后将反应通过赛力特硅藻土垫中过滤, 接着将滤液于真空中浓缩。然后进行硅胶色谱法(梯度: 0%-100%乙酸乙酯的庚烷液), 即得浅白色固体状的182(35毫克, 36%)。LC-MS:m/z 786[M+H<sup>+</sup>], 保留时间=2.22分钟。

[0712] 步骤2: 将亚磷酸二苄酯(0.9毫升, 4.32毫摩尔)及4-二甲氨基吡啶(催化性)加至正搅拌的182(274毫克, 0.348毫摩尔)的10毫升四氢呋喃及10毫升乙腈、四氯化碳(2.04毫升, 21.0毫摩尔)及N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱, 1.12毫升, 6.45毫摩尔)溶液中。令反应于室温搅拌约20分钟。将粗制反应混合物于真空中浓缩, 然后进行硅胶色谱法(梯度: 0%-100%乙酸乙酯的庚烷液), 即得浅白色固体状的183(239毫克, 52%)。LC-MS:m/z 1308[M+H<sup>+</sup>], 保留时间=2.70分钟。

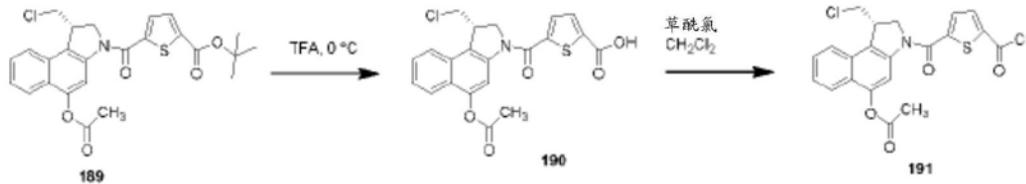
[0713] 步骤3: 将5毫升二氯甲烷及5毫升二乙胺加至含183(200毫克, 0.153毫摩尔)的备有搅拌棒的圆底烧瓶中。将溶液搅拌3小时。将反应混合物于真空中浓缩, 再置于50%二氯甲烷及庚烷中, 且再度于真空中浓缩。将此步骤重复3次。将粗制残留物置于10毫升25%三氟乙酸的二氯甲烷液中, 其后将硫酚(1毫升)加入。将反应于室温搅拌二天。将粗制反应混合物于真空中浓缩, 然后进行硅胶色谱法(梯度: 0%-100%乙酸乙酯的庚烷液), 即得浅白色固体状的184(60毫克, 47%)。LC-MS:m/z 724[M+H<sup>+</sup>], 保留时间=1.02分钟。

[0714] 步骤4: 将10毫升N,N-二甲基乙酰胺加至含184(75毫克, 0.1毫摩尔)的圆底烧瓶中, 再将系统以氮吹洗将185(99毫克, 0.104毫摩尔)加至此正搅拌的溶液中, 其后将HOAt(416毫克, 0.104毫摩尔)及N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱, 1滴)加入。将系统于45℃搅拌3小时。将粗制反应混合物于真空中浓缩, 然后进行反相色谱, 即得白色固体状的186(34毫克, 21%)。LC-MS:m/z 1546[M+H<sup>+</sup>], 保留时间=1.23分钟。

[0715] 乙酸(S)-3-(5-(氯羰基)噻吩-2-羧基)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯191的制备



[0716]



[0717] 步骤1: 于0℃将草酰氯(0.677毫升, 7.88毫摩尔)加至正搅拌的5-(叔丁氧羰基)噻吩-2-羧酸(187)的20毫升四氢呋喃溶液中, 其后将1滴N,N-二甲基甲酰胺加入。令反应于室温于0℃搅拌约1分钟, 然后令其加温至室温。令反应于室温搅拌约90分钟。将反应减量, 再置于高真空底下, 即得白色固体状的188(1.67克, 定量)。然后将粗制材料立即用于下一步骤中。

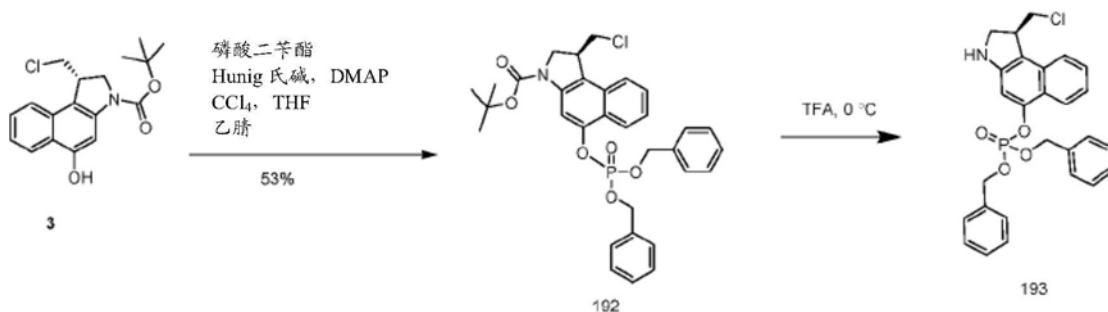
[0718] 步骤2: 于0℃将三乙胺(1.38毫升, 9.87毫摩尔)加至正搅拌的6(1.54克, 4.93毫摩

尔)的25毫升四氢呋喃溶液混合物中,其后立即地将188(1.46克,5.92毫摩尔)的25毫升四氢呋喃溶液加入。令反应于0℃搅拌约1分钟,然后边搅拌令其加温至室温。然后令反应于室温搅拌约45分钟。将反应减量至硅石上。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%~100%丙酮的庚烷液)。将适当的试管浓缩,再置于高真空底下,即得棕色固体状的189(2.24克,94%)。LC-MS(方案B): $m/z$  486.3[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.19分钟。

[0719] 步骤3:于0℃将189(144毫克,0.3毫摩尔)以预冷却的三氟乙酸(3毫升)处理30分钟,然后于真空中浓缩以得相应的酸190。LC-MS: $m/z$  430.3[M+H],保留时间=1.59分钟。将190溶于四氢呋喃(3毫升)中,于0℃将草酰氯(0.2毫升,2M的二氯甲烷液,0.4毫摩尔)加入,其后将2滴N,N-二甲基甲酰胺(催化量)加入,将混合物于0℃搅拌5分钟,然后于室温搅拌2小时。于真空中浓缩,即得黄色固体状的191。

[0720] (1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)磷酸(S)-二苄酯(193)的制备

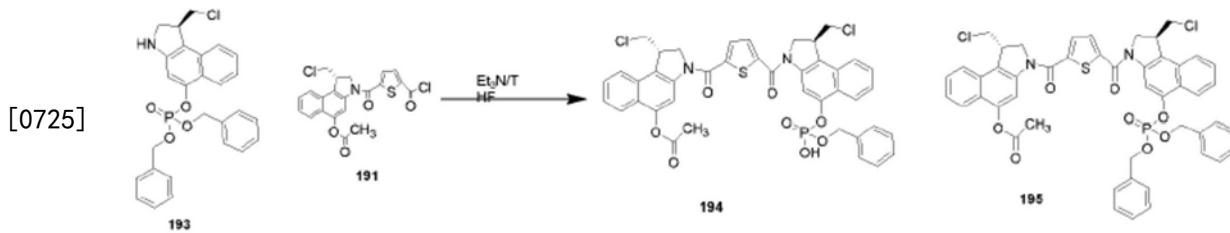
[0721]



[0722] 步骤1:将四氯化碳(3.61毫升,37.3毫摩尔)加至正搅拌的3(889毫克,2.66毫摩尔)的20毫升四氢呋喃及20毫升乙腈溶液中,其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,2.0毫升,11.5毫摩尔)、膦酸二苄酯(3.65毫升,16.5毫摩尔)及4-二甲氨基吡啶(65.1毫克,0.533毫摩尔)加入。令反应于室温搅拌约20分钟。将反应浓缩成较小量,以数毫升二甲亚砜稀释,然后注至25克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度:5%至85%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化,且将适当的试管使用genevac浓缩,即得清澈淡棕色油状/固状混合的192(839毫克,53%)。LC-MS(方案B): $m/z$  595.3[M+2H]<sup>+</sup>,保留时间=2.47分钟。

[0723] 步骤2:将三氟乙酸(16毫升,210毫摩尔)加至正搅拌的192(834毫克,1.40毫摩尔)的16毫升二氯甲烷溶液中。令反应于室温搅拌1分钟,然后立即减量,其后置于高真空底下,即得绿色油状/固状混合的193(701毫克,定量)。LC-MS(方案B): $m/z$  494.2[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.17分钟。

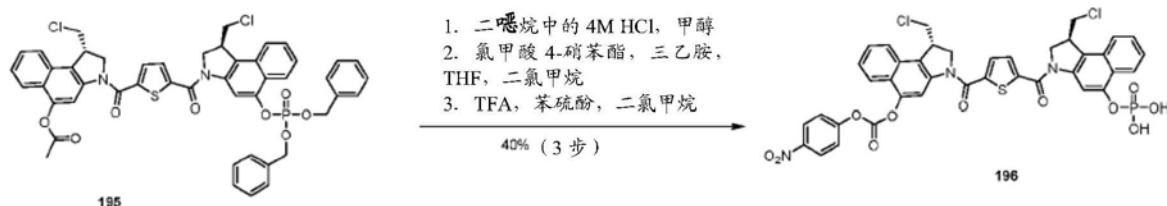
[0724] 乙酸(1S)-3-(5-((1S)-5-(((苄氧基)(羟基)磷酰基)氧基)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羰基)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯[194]及乙酸(S)-3-(5-((S)-5-((双(苄氧基)磷酰基)氧基)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羰基)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯[195]的制备



[0726] 于0℃将193溶于四氢呋喃(3毫升)中,将三乙胺(0.165毫升,1.2毫摩尔)加入,其后将191的四氢呋喃(2毫升)溶液加入。将混合物于0℃搅拌5分钟,再于室温搅拌2小时。将反应混合物于真空中浓缩,再将残留物通过Gilson HPLC(乙腈/水,0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得黄色固体状的194(50毫克,21%)。LC-MS: $m/z$  815.4[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=0.96分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) ,δ8.42(s),8.16(s),8.07(d),8.02(d),7.94(d),7.90(s),7.64(q),7.54(q),7.10-7.29(m),5.14(d),4.86(q),4.52(t),4.42(m),4.11-4.00(m)及绿色固体状的195(50毫克,19%)。LC-MS: $m/z$  905.4[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.43分钟。

[0727] 碳酸(1S)-1-(氯甲基)-3-[[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羧基]噻吩-2-基]羧基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯4-硝苯酯(196)的制备。

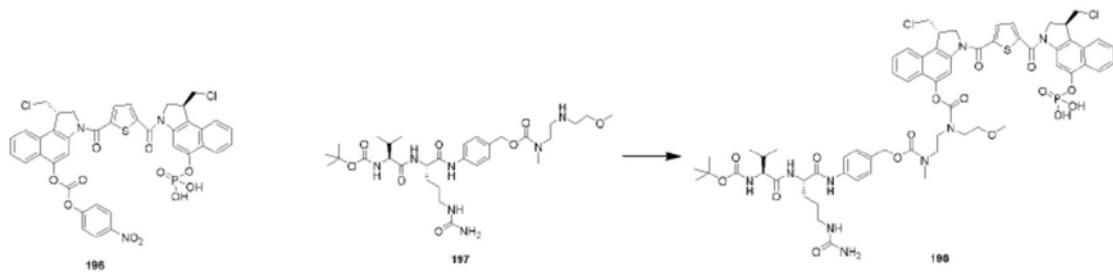
[0728]



[0729] 将4M盐酸的二噁烷液(8.0毫升,230毫摩尔)加至正搅拌的195(200毫克,0.221毫摩尔)的8毫升甲醇溶液中。令反应于室温搅拌约20分钟。将反应减量。将粗制材料置于8毫升四氢呋喃及8毫升二氯甲烷中。于0℃将氯甲酸4-硝苯酯(86.3毫克,0.428毫摩尔)加至此正搅拌的溶液中,其后将三乙胺(0.179毫升,1.28毫摩尔)加入。令反应于0℃搅拌约1分钟,然后边搅拌边令其加温至室温。令反应于室温搅拌约20分钟。将反应减量,然后置于高真空底下。将三氟乙酸(5毫升,70毫摩尔)加至正搅拌的粗制材料的10毫升二氯甲烷混合液中,其后将硫酚(0.107毫升,1.04毫摩尔)加入。令反应于室温搅拌约6至7小时。将反应浓缩成较小量,以数毫升二甲亚砜稀释,然后注至25克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度:5%至60%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化,且将适当的试管使用Genevac浓缩,即得黄色固体状的196(71毫克,40%)。LC-MS(方案B): $m/z$  848.3[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.78分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.51(br s),8.35-8.41(m),8.09-8.15(m),8.00,7.97-8.02(d),7.87-7.93(m),7.80-7.86(m),7.67-7.73(m),7.58-7.65(m),7.50-7.55(m),4.80-4.93(m),4.42-4.58(m),4.31-4.37(m),3.96-4.15(m)。

[0730] (2-((((S)-1-(氯甲基)-3-((S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羧基)噻吩-2-羧基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)羧基)(2-甲氧基乙基)氨基乙基(甲基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-((叔丁基)氨基)乙基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰氨基)苄酯[198]的制备

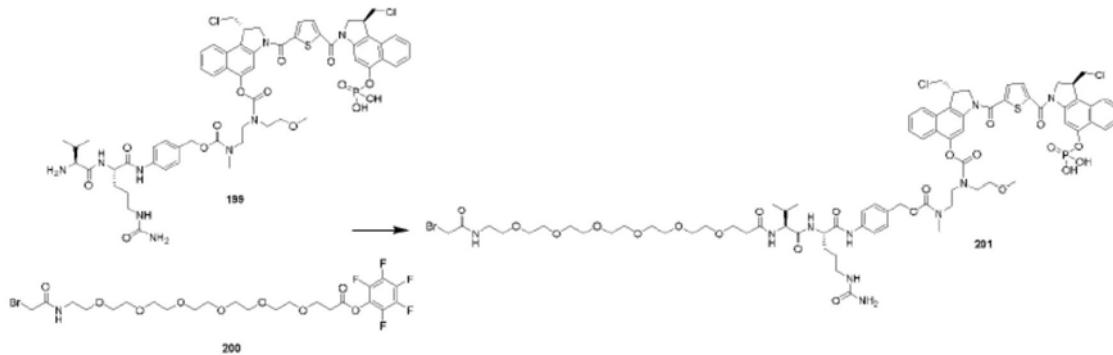
[0731]



[0732] 将196(15毫克,0.018毫摩尔)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1毫升),将197(17毫克,0.023毫摩尔)的N,N-二甲基甲酰胺(1毫升)溶液加入,其后将N,N-二异丙基乙胺(0.013毫升,0.072毫摩尔)及二甲基吡啶(0.008毫升,0.072毫摩尔)、HOAt(2.6毫克)加入。将混合物于室温搅拌30分钟。通过LC-MS观察到反应于30分钟内完成。将粗制物通过Gilson HPLC(0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得淡黄色固体状的产物198(13毫克,53%)。LC-MS:m/z 1346.8[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.77分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>),δ8.39(s),8.15(d),8.01(m),7.89(m),7.63(m),7.53(m),7.45-7.23(m),6.73(d),5.98(s),5.07-4.95(m),4.84(t),4.51(m),4.49-4.60(m),4.08-3.95(m),3.84-3.63(m),3.00-2.89(m),1.68-1.59(m),0.85(m)。

[0733] (2-((((S)-1-(氯甲基)-3-((S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)羰基)(2-甲氧基乙基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酸4-((26S,29S)-1-溴-26-异丙基-2,24,27-三氧化-29-(3-脲基丙基)-6,9,12,15,18,21-六氧杂-3,25,28-三氮杂三十烷酰氨基)苄酯[201]的制备

[0734]

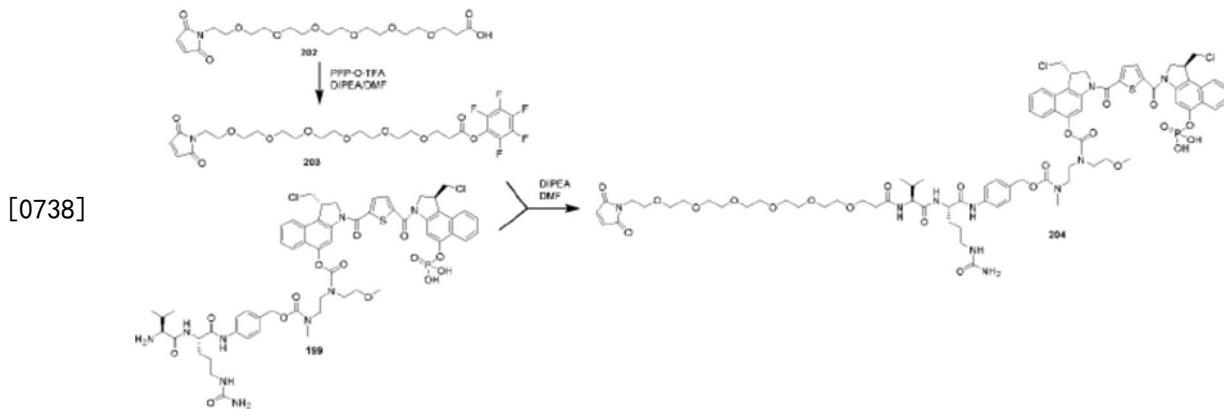


[0735] 步骤1:将198(13毫克,0.01毫摩尔)以预冷却的三氟乙酸(0℃,2毫升)处理2分钟,再于真空中浓缩,即得黄色固体状的产物199(14毫克,三氟乙酸盐,100%)。LC-MS:m/z 1247.9[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.57分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMF-d<sub>7</sub>),δ10.13(s),8.65(d),8.45(s),8.17(d),7.95-7.85(m),7.65-7.22(m),5.04-4.97(m),4.81(dd),4.56(s),4.33(d),4.07-3.94(m),3.73-3.64(m),3.50(s),3.55-3.09(m),2.95-2.85(m),2.21(dd),1.76(m),1.62(m),1.46(s),0.99(m)。

[0736] 步骤2:将199(5毫克,0.004毫摩尔)加至1-溴-2-氧代-6,9,12,15,18,21-六氧杂-3-氮杂二十四烷-24-酸全氟苯酯200(3.8毫克,0.006毫摩尔)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5毫升)溶液中,其后将N,N-二异丙基乙胺(0.003毫升,0.016毫摩尔)加入。将混合物于室温搅

拌1小时。将粗制物通过Gilson HPLC使用乙腈/水(0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得黄色固体状的产物201(3毫克,40%)。LC-MS: $m/z$  1704.0[M+H],保留时间=1.61分钟。 $^1H$  NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>),δ9.88(s),8.30(s),8.24(s),8.06(m),7.91(m),7.81(m),7.54(m),7.47(m),7.43-7.13(m),5.91(s),4.98-4.85(m),4.76(m),4.43(m),4.30(s),4.14(m),4.00-3.90(m),3.52(m),3.16(m),2.92-2.86(m),2.31-2.25(m),1.90(s),1.52(s),1.34(s),1.32(m),0.78(m)。

[0737] (2-((((S)-1-(氯甲基)-3-((S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)羰基)(2-甲氨基乙基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酸4-((23S,26S)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-23-异丙基-21,24-二氧代-26-(3-脲基丙基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂-22,25-二氮杂二十七烷酰氨基)苄酯[206]的合成

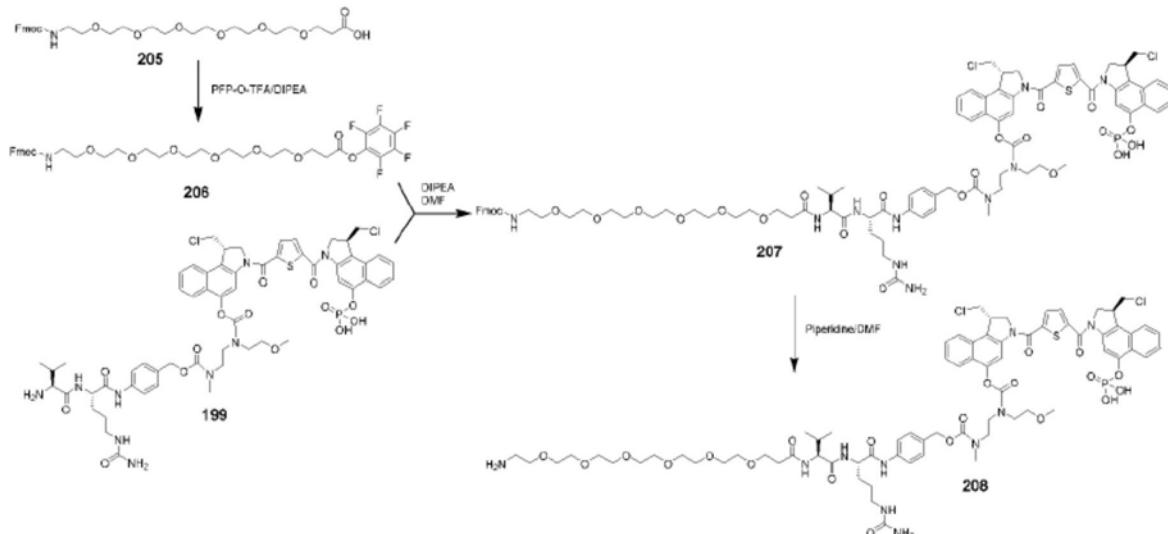


[0739] 步骤1: 将202(227毫克,0.52毫摩尔)溶于二氯甲烷(2毫升)及N,N-二甲基甲酰胺(2毫升)中,将PFP-O-TFA(0.19毫升,1.05毫摩尔)及N,N-二异丙基乙胺(0.275毫升,1.57毫摩尔)加入。将混合物于室温搅拌2小时。于真空中浓缩,再将残留物通过Gilson HPLC(0.02%三氟乙酸)予以纯化,即得黄色油状的相应PFP酯203(34毫克,11%)。LC-MS: $m/z$  623.4[M+Na],保留时间=0.92分钟。

[0740] 步骤2: 将203(3毫克,0.005毫摩尔)加至199(7毫克,0.005毫摩尔)的N,N-二甲基甲酰胺(0.3毫升)溶液中,其后将N,N-二异丙基乙胺(0.005毫升,0.03毫摩尔)加入。将混合物于室温搅拌2小时。将反应混合物进行Gilson HPLC分离(0.02%三氟乙酸),即得黄色固体状的产物204(4.6毫克,60%)。LC-MS: $m/z$  1664.1[M+H],保留时间=1.63分钟。 $^1H$  NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>),δ8.39(s),8.14(m),8.10-7.99(m),7.63(m),7.55-7.5(m),7.48(s),7.02(s),6.52(s),5.99(s),5.07-4.95(m),4.84(t),4.52(t),4.38(s),4.24(t),4.08-3.99(m),3.61-3.48(m),3.00-2.89(m),2.68(s),2.34(s),0.86(dd)。

[0741] (2-((((S)-1-(氯甲基)-3-((S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)羰基)(2-甲氨基乙基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酸4-((23S,26S)-1-氨基-23-异丙基-21,24-二氧代-26-(3-脲基丙基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂-22,25-二氮杂二十七烷酰氨基)苄酯[208]的制备

[0742]



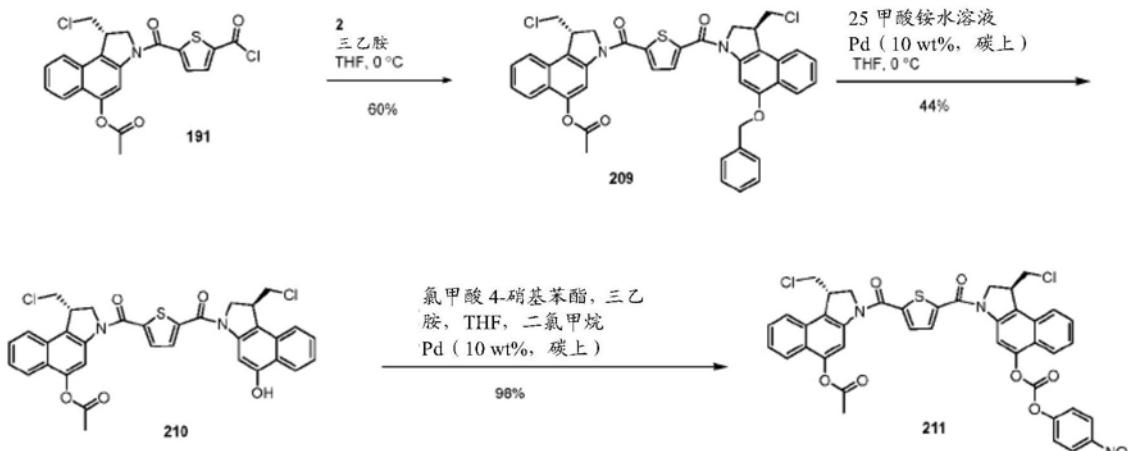
[0743] 步骤1: 将205 (43毫克, 0.07毫摩尔) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (2毫升) 中, 将PFP-O-TFA (0.026毫升, 0.14毫摩尔) 其后N,N-二异丙基乙胺 (0.038毫升, 0.21毫摩尔) 加入。将混合物于室温搅拌2小时。将粗制物通过Gilson HPLC (0.02%三氟乙酸) 予以纯化, 即得无色油状的产物206 (39毫克, 72%)。LC-MS:m/z 742.2[M+H], 保留时间=2.17分钟。

[0744] 步骤2: 将199 (7毫克, 0.005毫摩尔) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (0.6毫升) 中, 将上述PFP酯206 (3.7毫克, 0.005毫摩尔) 的二氯甲烷 (0.1毫升) 溶液加入, 其后将N,N-二异丙基乙胺 (0.005毫升, 0.03毫摩尔) 加入。将混合物于室温搅拌1小时。粗制产物207:LC-MS:m/z 1805.3[M+H], 保留时间=1.97分钟。

[0745] 步骤3: 将哌啶 (0.02毫升, 0.2毫摩尔) 加至上述反应混合物207中, 再将混合物于室温搅拌30分钟。于真空中浓缩, 再将粗制物通过Gilson HPLC (0.02%三氟乙酸) 予以纯化, 即得黄色固体状的产物208 (4.2毫克, 三氟乙酸盐, 50%)。LC-MS:m/z 1584.0[M+H], 保留时间=1.54分钟。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) , δ9.98 (s) , 8.38 (s) , 8.14 (m) , 7.98 (m) , 7.88 (m) , 7.70 (s) , 7.62 (m) , 7.54 (m) , 7.47 (m) , 7.27 (m) , 6.01 (s) , 5.06-5.00 (m) , 4.84 (m) , 4.51 (m) , 4.37 (m) , 4.25 (m) , 4.08 (m) , 4.02 (m) , 3.59 (m) , 3.25 (m) , 2.98 (m) , 2.37 (m) , 1.97 (s) , 1.69 (s) , 1.59 (s) , 1.39 (m) , 0.86 (dd)。

[0746] 乙酸 (1S)-1-(氯甲基)-3-[ (5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-{(4-硝基苯氧基)羰基}氧基}-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基] 羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯 (211) 的制备。

[0747]



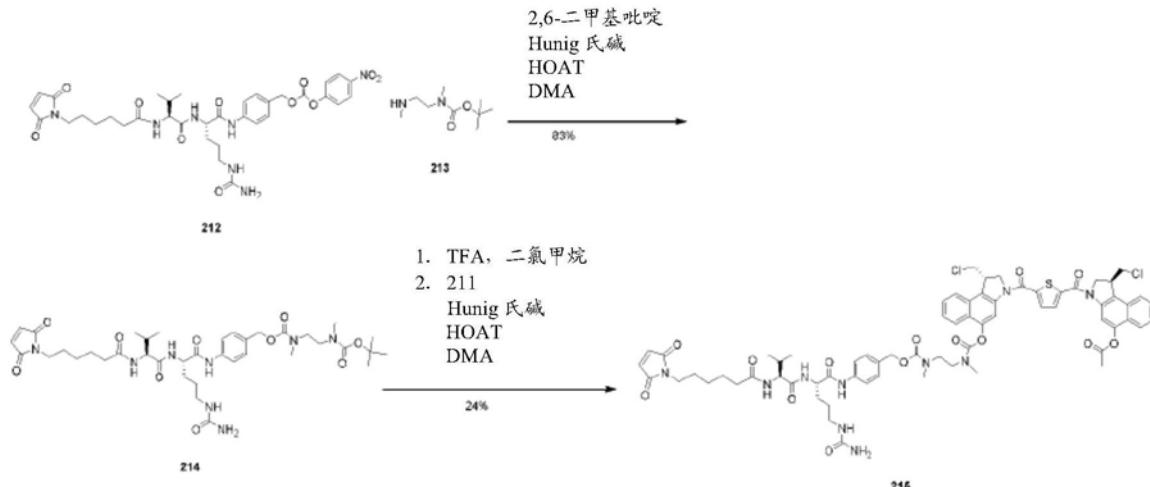
[0748] 步骤1:于氮下、于0℃将三乙胺(0.333毫升,2.39毫摩尔)加至正搅拌的2(425毫克,1.31毫摩尔)的5毫升四氢呋喃溶液中,其后将191(535毫克,1.19毫摩尔)的5毫升四氢呋喃溶液立即加入。令反应于0℃搅拌5分钟,然后边搅拌边令其加温至室温。令反应于室温搅拌约30分钟。将反应减量至硅石上。然后进行硅胶色谱法(梯度:5%-80%丙酮的庚烷液)予以纯化。将适当的试管浓缩,再置于高真空底下,即得黄色固体状的产物209(530毫克,60%)。LC-MS(方案B):m/z 735.1[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.48分钟。

[0749] 步骤6:将正搅拌的209(610毫克,0.829毫摩尔)的15毫升四氢呋喃溶液于氮下使用冰浴冷却至0℃。然后将10重量%钯/活性碳(203毫克)加入,其后将2毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌12至24小时。将反应以乙醚稀释,其后将硫酸钠加入。将反应通过赛力特硅藻土垫中过滤,再将赛力特硅藻土以乙醚清洗两次。将有机相结合,然后减量。将残留物通过中压反相C18色谱法(梯度:5%至80%乙腈的水液,每一相中均含0.02%三氟乙酸)予以纯化,且将适当试管使用genevac浓缩,即得黄色固体状的210(206毫克,44%)。LC-MS(方案B):m/z 645.0[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.08分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO) $\delta$  10.49(br s),8.13-8.18(d),8.05-8.10(d),7.93-7.97(d),7.83-7.91(m),7.63-7.69(t),7.53-7.58(m),7.38-7.43(m),4.83-4.92(m),4.74-4.82(m),4.50-4.55(d),4.39-4.47(m),4.20-4.27(m),4.01-4.15,3.88-3.96(m),3.57-3.68(m),1.74-1.80,1.36-1.39(m)。

[0750] 步骤7:于0℃将氯甲酸4-硝苯酯(122毫克,0.604毫摩尔)加至正搅拌的210(195毫克,0.302毫摩尔)的12毫升二氯甲烷及8毫升四氢呋喃溶液中,其后将三乙胺(0.168毫升,1.21毫摩尔)加入。令反应于0℃搅拌5分钟,然后边搅拌边令其加温至室温。令反应于室温搅拌约30分钟。将反应减量。将残留物通过中压反相C18色谱法(梯度:5%至85%乙腈的水液,每一相中均含0.02%三氟乙酸)予以纯化,且将适当试管使用genevac浓缩,即得黄色固体状的211(240毫克,98%)。LC-MS(方案B):m/z 810.3[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.35分钟。

[0751] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬胺酰-N-[4-({[2-[{(1S)-3-[5-[(1S)-5-(乙酰氨基)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基]羰基]-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基]氨基)羰基}(甲基)氨基]乙基}(甲基)氨基甲酰基]氨基]甲基)苯基]-N~5~-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(215)的制备

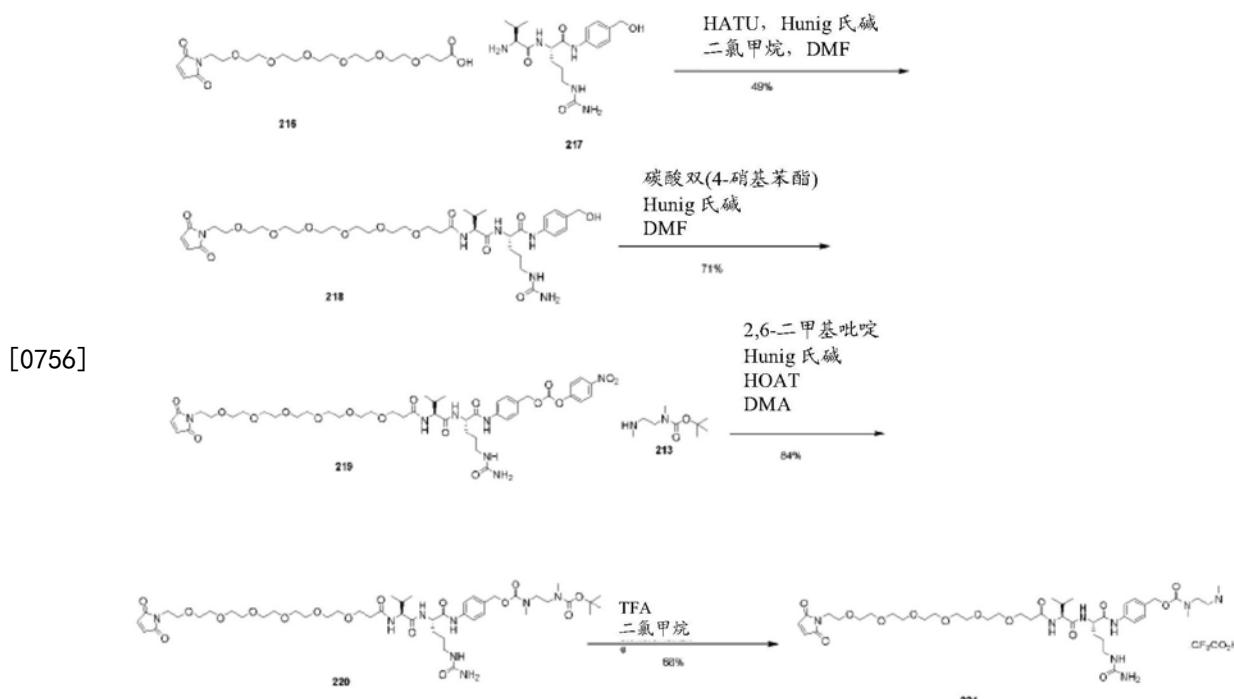
[0752]



[0753] 步骤1：将2,6-二甲基吡啶(0.236毫升,2.03毫摩尔)加至正搅拌的212(750毫克,1.02毫摩尔)及213甲基[2-(甲氨基)乙基]氨基甲酸叔丁酯(192毫克,1.02毫摩尔)的6毫升N,N-二甲基乙酰胺溶液中,其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,0.354毫升,2.03毫摩尔)及HOAT(69.1毫克,0.5毫摩尔)加入。令反应于室温搅拌约40分钟。将反应注至25克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上,然后通过中压反相C18色谱法(梯度:5%至45%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化,且将适当的试管使用genevac浓缩,即得白色固体状的214(663毫克,83%)。LC-MS(方案B):m/z 787.3[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.45分钟。

[0754] 步骤2:将三氟乙酸(1毫升,10毫摩尔)加至正搅拌的214(40.9毫克,0.052毫摩尔)的2毫升二氯甲烷溶液中。令反应于室温搅拌约40分钟。将反应减量,然后置于高真空底下。将粗制材料置于2毫升N,N-二甲基乙酰胺中,再将N,N-二异丙基乙胺(0.03毫升,0.17毫摩尔)加至此正搅拌的溶液中,其后将2,6-二甲基吡啶(0.02毫升,0.17毫摩尔)、HOAT(5.9毫克,0.043毫摩尔),然后211(35毫克,0.043毫摩尔)的1毫升N,N-二甲基乙酰胺溶液加入。令反应于室温搅拌约40分钟。将反应注至5克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上,然后通过中压反相C18色谱法(梯度:5%至60%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化,且将适当的试管使用genevac浓缩,即得黄色固体状的215(14.1毫克,24%)。LC-MS(方案B):m/z 1359.3[M+3H]<sup>+</sup>,保留时间=2.01分钟。HR-MS:m/z 1359.4549[M+3H]<sup>+</sup>。

[0755] N-[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-基]-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-{4-[({甲基[2-(甲氨基)乙基]氨基甲酰基}氨基)甲基]苯基}-L-鸟氨酰胺(215)的制备。



[0757] 步骤1: 将20毫升二氯甲烷、2毫升N,N-二甲基甲酰胺、HATU(501毫克, 1.32毫摩尔)及N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱, 0.92毫升, 5.3毫摩尔)加至含1-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-酸216(628毫克, 1.45毫摩尔)的圆底烧瓶中。令反应于室温搅拌2分钟, 其后将L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-[4-(羟甲基)苯基]-L-鸟氨酰胺217(500毫克, 1.32毫摩尔)加入。令反应于室温搅拌约90分钟, 其后经由加入三氟乙酸令反应中止。将反应浓缩成较小量, 以数毫升二甲亚砜稀释, 然后注至25克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度: 5%至40%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化, 且将适当的试管使用genevac浓缩, 即得清澈固状的218(514毫克, 49%)。LC-MS(方案B): m/z 795.5 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.01分钟。

[0758] 步骤2: 将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱, 0.096毫升, 0.554毫摩尔)加至正搅拌的218(210毫克, 0.264毫摩尔)及碳酸双(4-硝基苯酯)(161毫克, 0.528毫摩尔)的4毫升N,N-二甲基甲酰胺溶液中。令反应于室温搅拌约2小时。将反应注至25克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度: 5%至55%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化, 且将适当的试管使用genevac浓缩, 即得固状的219(180毫克, 71%)。LC-MS(方案B): m/z 960.5 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.48分钟。

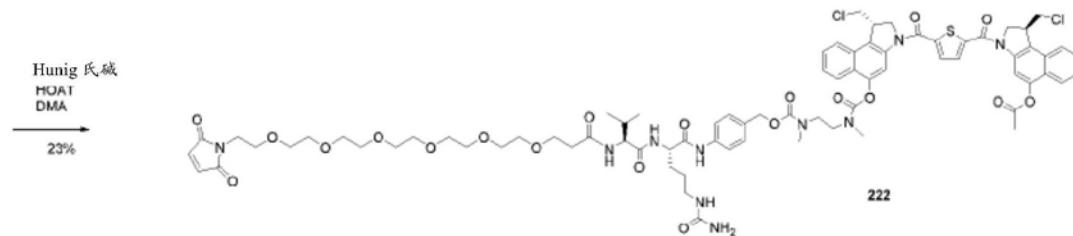
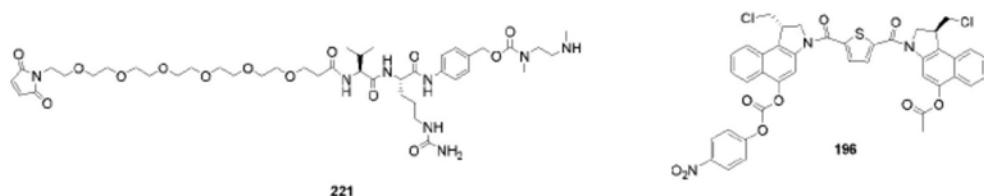
[0759] 步骤3: 将2,6-二甲基吡啶(0.154毫升, 1.33毫摩尔)加至正搅拌的219(640毫克, 0.667毫摩尔)及213[依J.Med.Chem.1992, 33, 559-567中所述地制备](127毫克, 0.674毫摩尔)的6毫升N,N-二甲基乙酰胺溶液中, 其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱, 0.232毫升, 1.33毫摩尔)及HOAT(9.1毫克, 0.67毫摩尔)加入。令反应于室温搅拌约15分钟。将反应注至25克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度: 5%至40%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化, 且将适当的试管使用genevac浓缩, 即得蜡样白色固体状的220(564毫克,

84%）。LC-MS（方案B）： $m/z$  1009.7 $[M+H]^+$ ，保留时间=1.43分钟。

[0760] 步骤4:将三氟乙酸(3.0毫升,40毫摩尔)加至正搅拌的220(470毫克,0.466毫摩尔)的6毫升二氯甲烷混合液中。令反应于室温搅拌约10分钟。将反应减量。将残留物通过中压反相C18色谱法(梯度:5%至30%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化,且将适当的试管使用genevac浓缩,即得白色油状/固状混合的221(326毫克,68%)。LC-MS(方案B): $m/z$  909.8 [ $M+H$ ]<sup>+</sup>,保留时间=0.91分钟。

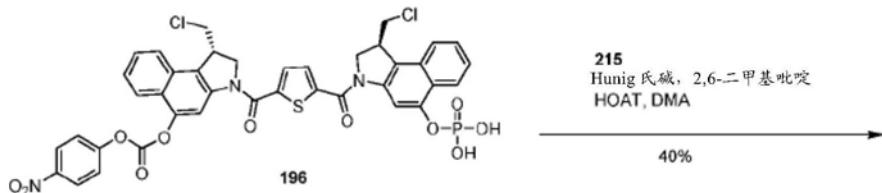
[0761] N-[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-基]-L-缬氨酰基-N-[4-({[2-[({[(1S)-3-[5-[(1S)-5-(乙酰氨基)-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基)羰基]-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基]氧基)羰基}(甲基)氨基]乙基}(甲基)氨基甲酰基]氨基]甲基苯基]-N~5~-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(222)的制备。

[0762]

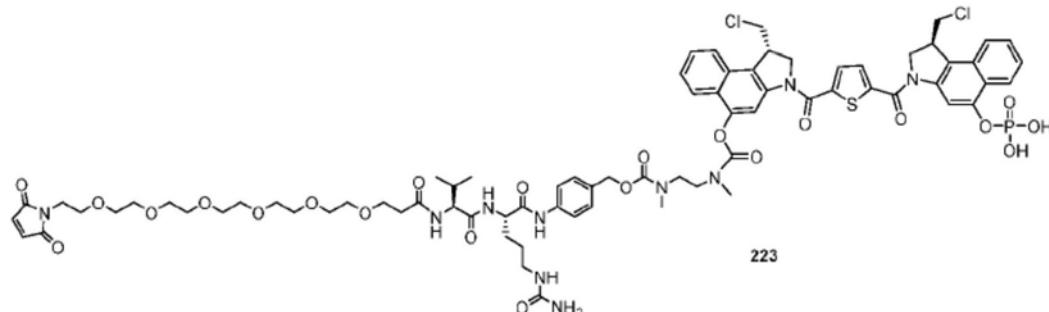


[0763] 将N,N-二异丙基乙胺(0.03毫升,0.172毫摩尔)加至正搅拌的221(50.1毫克,0.05毫摩尔)的1毫升N,N-二甲基乙酰胺混合液及至此正搅拌的溶液中,其后将2,6-二甲基吡啶(0.02毫升,0.172毫摩尔)、HOAT(5.9毫克,0.043毫摩尔)及211(35毫克,0.043毫摩尔)的1毫升N,N-二甲基乙酰胺溶液加入。令反应于室温搅拌约40分钟。将反应注至5克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度:5%至60%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化,且将适当的试管使用genevac浓缩,即得黄色/白色固体状的222(15.4毫克,23%)。LC-MS(方案B): $m/z$  1580.4 $[M+2H]^+$ ,保留时间=1.95分钟。HRMS: $m/z$  790.7923 $[M+2H]^+$ 。

[0764] N-[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-基]-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-[4-({{[(2-{[(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基]羰基}-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基]羰基}(甲基)氨基}乙基)(甲基)氨基甲酰基]氨基}甲基)苯基]-L-鸟氨酰胺(223)的制备



[0765]



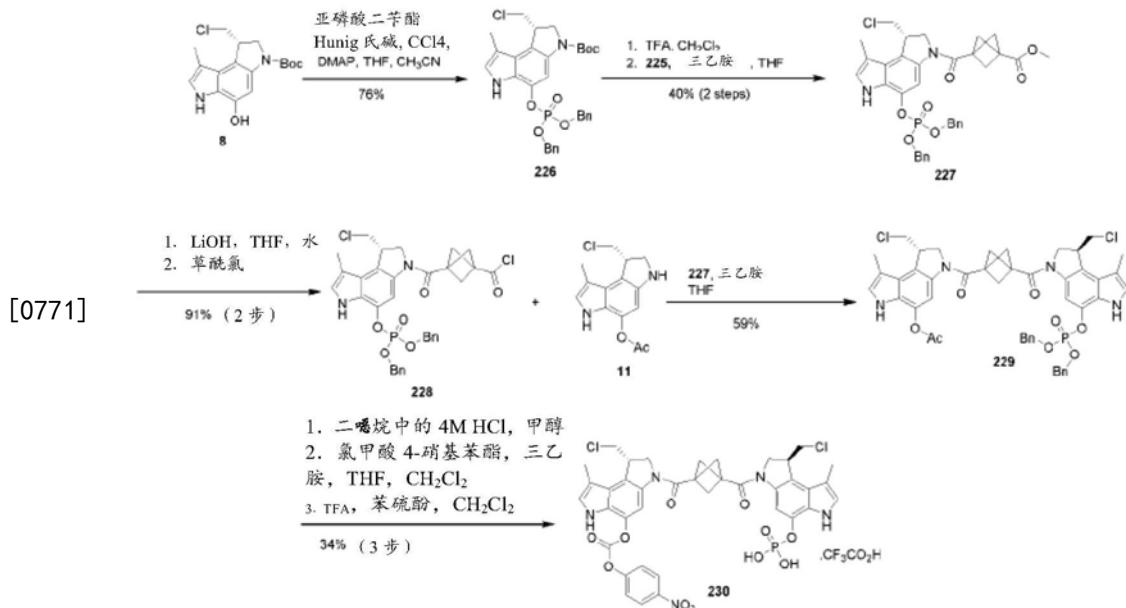
[0766] 步骤1: 将221 (17.3毫克, 0.019毫摩尔) 以溶于1.5毫升N,N-二甲基乙酰胺中的溶液形式加至正搅拌的196 (29.8毫克, 0.035毫摩尔) 的0.5毫升N,N-二甲基乙酰胺溶液中, 其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱, 0.024毫升, 0.14毫摩尔)、2,6-二甲基吡啶(0.016毫升, 0.14毫摩尔) 及HOAT (4.8毫克, 0.035毫摩尔) 加入。将反应于室温搅拌约20分钟。将反应注至5克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度: 5%至75%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)其后制备HPLC纯化法(方法B)予以纯化, 且将适当的试管使用genevac浓缩, 即得黄色固体状的222 (22.6毫克, 40%)。LC-MS (方案B) : $m/z$  1619.9 [M+3H]<sup>+</sup>, 保留时间 = 1.62分钟。HPLC (方案D) : 保留时间 = 9.339分钟。

[0767] 3-(氯羰基)双环[1.1.1]戊烷-1-羧酸甲酯(225)的制备。



[0769] 于0℃将草酰氯(0.381毫升, 4.44毫摩尔)加至正搅拌的224的12毫升四氢呋喃溶液中, 其后将1滴N,N-二甲基甲酰胺加入。令反应于0℃搅拌约1分钟, 然后边搅拌边令其升温至室温。令反应于室温搅拌约30分钟。将反应减量, 然后置于高真空, 即得白色固体状的225 (701毫克, 定量)。

[0770] 4-硝苯基碳酸(8S)-8-(氯甲基)-6-[ (3-{[(1S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰氨基)-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-酯三氟乙酸盐230的制备。



[0772] 步骤1：将四氯化碳(18.1毫升,187毫摩尔)加至正搅拌的8(4.5克,13.4毫摩尔)的80毫升四氢呋喃及80毫升乙腈溶液中,其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,9.31毫升,53.4毫摩尔)、亚磷酸二苄酯(17.7毫升,80.2毫摩尔)及4-二甲氨基吡啶(326毫克,2.67毫摩尔)加入。令反应于室温搅拌约10分钟。将反应减量至硅石上。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%-20%丙酮的庚烷液)。将适当的试管浓缩,再置于高真空底下,即得淡黄色固体状的226(6.04克,76%)。LC-MS(方案B): $m/z$  614.3[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>,保留时间=2.38分钟。

[0773] 步骤2:将三氟乙酸(24毫升,310毫摩尔)加至正搅拌的226(2.15克,3.60毫摩尔)的24毫升二氯甲烷溶液中。令反应于室温搅拌约60秒,立即减量,然后置于真空(皮带泵)底下。于0℃将三乙胺(1.49毫升,10.7毫摩尔)加至正搅拌的粗制材料(2.59克,3.57毫摩尔)的15毫升四氢呋喃溶液中,其后将225(674毫克,3.57毫摩尔)的15毫升四氢呋喃溶液立即加入。令反应于0℃搅拌约5分钟,然后边搅拌边令其加温至室温。令反应于室温搅拌约20分钟。将反应减量至硅石上。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%-30%丙酮的庚烷液)。将适当的试管浓缩再置于高真空底下,即得白色固体状的227(920毫克,40%,2步骤)。LC-MS(方案B): $m/z$  649.2[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.04分钟。

[0774] 步骤3:将溶于4毫升水的氢氧化锂(330毫克,13.8毫摩尔)加至正搅拌的227(895毫克,1.38毫摩尔)的16毫升四氢呋喃溶液中。令反应于室温搅拌约90分钟。将二氯甲烷其后水性1N氢氯酸加入。将材料转移至分液漏斗。将有机层分离出,再将水性层以二氯甲烷清洗两次。将有机层结合,以盐水、水清洗一次,于硫酸钠上干燥,过滤,然后减量,其后置于高真空底下。将粗制材料置于15毫升四氢呋喃及5毫升二氯甲烷中,然后冷却至0℃。于0℃将草酰氯(0.140毫升,1.63毫摩尔)加至此正搅拌的溶液中,其后将1滴N,N-二甲基甲酰胺加入。令反应加温至室温,然后于室温搅拌约60分钟。将反应减量,然后置于高真空底下,即得淡棕色固体状的228(820毫克,91%,2步骤)。粗制材料系原样地用于下一步骤中。

[0775] 步骤4:于0℃将三乙胺(0.348毫升,2.50毫摩尔)加至正搅拌的11(527毫克,1.50毫摩尔)的12毫升四氢呋喃溶液中,其后将溶于12毫升四氢呋喃的228(816毫克,1.25毫摩尔)立即加入。令反应于0℃搅拌约5分钟,其后边搅拌边令其加温至室温。令反应于室温搅拌约30分钟。将反应减量至硅石上。然后进行硅胶色谱法(梯度:0%-45%丙酮的庚烷液)。

将适当的试管浓缩,再置于高真空底下,即得白色固体状的229(660毫克,59%)。LC-MS(方案B): $m/z$  895.3[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.21分钟。

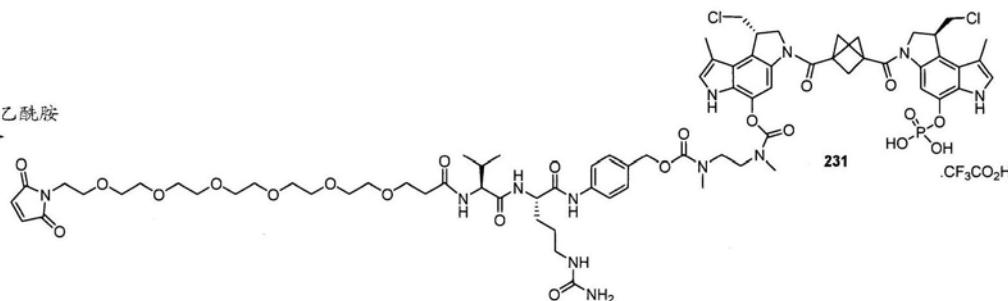
[0776] 步骤5:将4M氢氯酸的二噁烷液(20毫升,80毫摩尔)加至正搅拌的229(652毫克,0.728毫摩尔)的20毫升甲醇溶液中。令反应于室温搅拌约24分钟。将反应减量,然后置于高真空底下。于0℃将氯甲酸对硝苯酯(191毫克,0.946毫摩尔)加至正搅拌的粗制材料的16毫升二氯甲烷及16毫升四氢呋喃溶液中,其后将三乙胺(0.508毫升,3.64毫摩尔)立即加入。令反应于0℃搅拌约5分钟,然后边搅拌边令其加温至室温。令反应于室温搅拌约10分钟。将反应减量。将三氟乙酸(12毫升,160毫摩尔)的12毫升二氯甲烷溶液加至正搅拌的粗制材料的12毫升二氯甲烷溶液中,其后将硫酚(0.745毫升,7.28毫摩尔)加入。令反应于室温搅拌约6小时。将反应减量。将粗制材料以数毫升二甲亚砜稀释,然后注至25克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度:15%至60%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化,且将适当的试管使用genevac浓缩,即得淡黄色固体状的230(267毫克,34%,3步骤)。LC-MS(方案B): $m/z$  838.3[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.68分钟。

[0777] N-[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-基]-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-[4-((2-{[(8S)-8-(氯甲基)-6-[(3-{[(1S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰氧基)-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-基]氧基)羰基](甲基)氨基]乙基](甲基)氨基甲酰基]氨基]甲基]苯基]-L-鸟氨酰胺三氟乙酸盐(231)的制备。

[0778]

230, 215  
N,N-二异丙基乙胺  
2,6-二甲基吡啶  
HOAT, N,N-二甲基乙酰胺

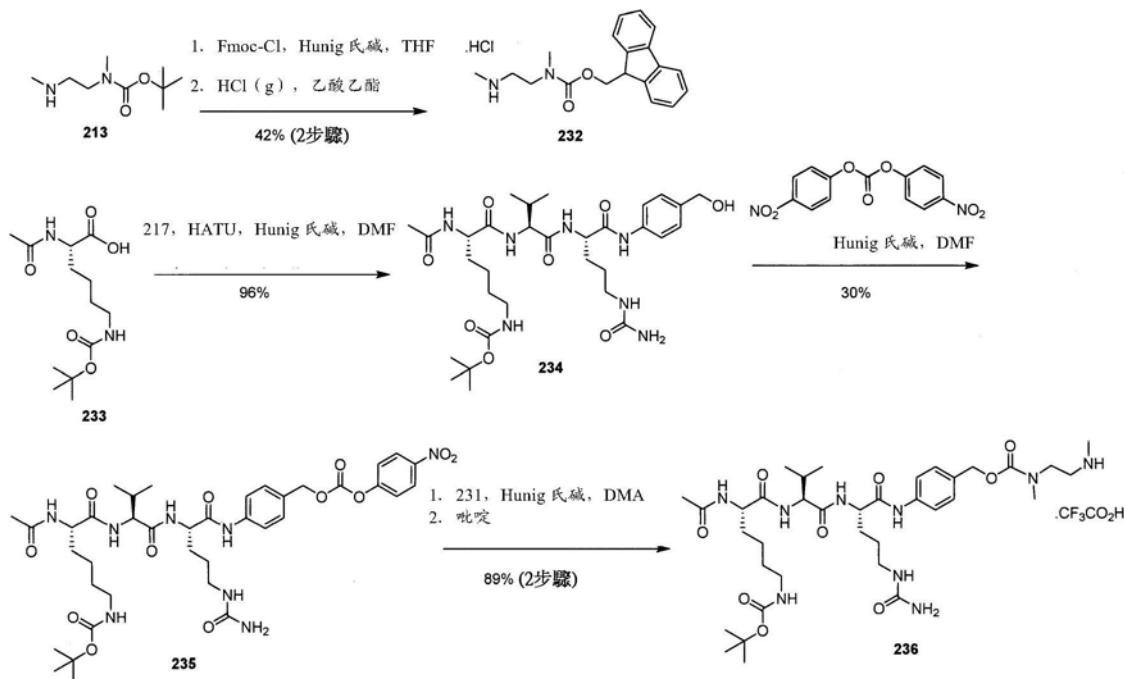
48%



[0779] 步骤1:将3.0毫升N,N-二甲基乙酰胺加至含230(90毫克,0.11毫摩尔)及215(121毫克,0.118毫摩尔)的2打兰管瓶中,其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,0.0748毫升,0.429毫摩尔)、2,6-二甲基吡啶(0.0497毫升,0.429毫摩尔)及HOAT(14.7毫克,0.108毫摩尔)加入。令反应于室温搅拌约15分钟。将粗制反应注至12克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度:5%至45%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化,其后通过方法H进行第二纯化,且将适当的试管使用genevac浓缩,即得白色固体状的231(117毫克,60%)。LC-MS(方案B): $m/z$  1607.8[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.60分钟。

[0780] N~2~-乙酰基-N~6~-(-叔丁氧羰基)-L-离胺酰基-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-{4-[(甲基[2-(甲氨基)乙基]氨基甲酰基]氨基]甲基]苯基}-L-鸟氨酰胺三氟乙酸盐(236)的制备。

[0781]



[0782] 步骤1:于0℃将Fmoc-Cl(22克,85.0毫摩尔)以溶于450毫升四氢呋喃的溶液形式逐滴加至正搅拌的化合物213(16.0克,85.0毫摩尔)及N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,23克,178毫摩尔)的450毫升四氢呋喃溶液中。将混合物于0℃搅拌10分钟。令反应于室温搅拌过夜。将反应以乙酸乙酯稀释,然后以水性氯化铵及盐水清洗。将有机层分离出,于硫酸钠上干燥再减量。将残留物通过硅胶色谱法(梯度:2.5%-50%乙酸乙酯的石油醚液)予以纯化。将适当试管浓缩。将材料溶于150毫升乙酸乙酯中,其后将150毫升氢氯酸的乙酸乙酯液加入。令反应于室温搅拌过夜。将反应浓缩,再将300毫升甲基叔丁基醚(MTBE)加入。将所得沉淀物通过过滤法收集,即得白色固体状的232(10.4克,42%,2步骤)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>),δ8.89(br,2H),7.91(d,2H),7.66(d,2H)7.42(m,2H),7.36(m,2H),4.34(m,3H),3.51(m,1H),3.04(m,1H),2.85(s,3H),2.72(m,1H),2.32(m,1H)。

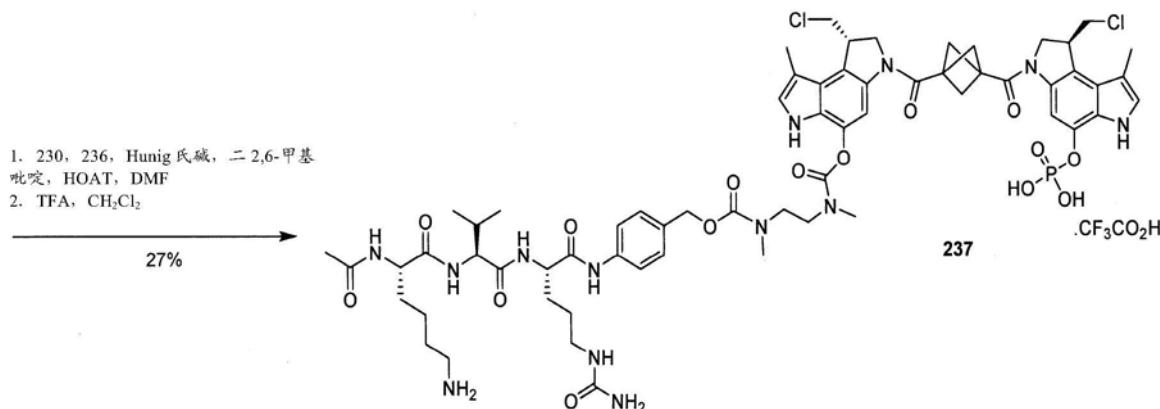
[0783] 步骤2:将233(366毫克,1.27毫摩尔)、HATU(660毫克,1.65毫摩尔)及N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,0.302毫升,1.6毫摩尔)加至217(481毫克,1.27毫摩尔)的10毫升N,N-二甲基甲酰胺溶液中。令反应于室温搅拌约30分钟。将反应以乙酸乙酯稀释,其导致固体粉碎。令此浆体搅拌约30分钟。将固状物通过过滤法收集,以新鲜乙酸乙酯润洗,再于高真空下干燥,即得棕色固体状的234(797毫克,97%)。LC-MS(方案B):m/z 650.3[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=0.64分钟。

[0784] 步骤3:将碳酸双(4-硝苯酯)(9.54克,31.4毫摩尔)加至化合物234(18.5克,28.5毫摩尔)的N,N-二甲基甲酰胺(500毫升)溶液中,其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,5.5克,42.8毫摩尔)加入。令反应于室温搅拌约12小时。将反应浓缩。将残留物通过硅胶色谱法(梯度:1%-10%甲醇的二氯甲烷液)予以纯化,即得白色固体状的235(6.9克,29.7%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>),δ8.30(d,2H),8.12(d,1H),8.01(d,1H),7.70(d,1H),7.64(d,2H),7.56(d,2H),7.40(d,2H),6.78(m,1H),5.98(m,1H),5.43(s,2H),5.24(s,2H),4.49(m,1H),4.19(m,2H),2.86(m,4H),1.99(m,1H),1.60(m,3H),1.36(m,16H),0.82(m,6H)。

[0785] 步骤4: 将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱, 0.316毫升, 1.82毫摩尔)加至正搅拌的235(500毫克, 0.605毫摩尔)及232(210毫克, 0.605毫摩尔)的3.0毫升N,N-二甲基乙酰胺溶液中。令反应于室温搅拌约30分钟。然后将哌啶(0.598毫升, 6.05毫摩尔)加至反应中。令反应于室温搅拌另约15分钟。将粗制反应注至12克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度: 5%至35%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化。将适当的试管使用genevac浓缩, 即得清澈白色固体状的236(475毫克, 89%, 2步骤)。LC-MS(方案B): m/z 764.4 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.03分钟。

[0786] N~2~-乙酰基-L-离胺酰基-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-[4-({[(2-{[(8S)-8-(氯甲基)-6-[3-{[(1S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰氧基)-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-基}氧基)羰基](甲基)氨基}乙基)(甲基)氨基甲酰基]氧基]甲基]苯基]-L-鸟氨酰胺三氟乙酸盐(237)的制备。

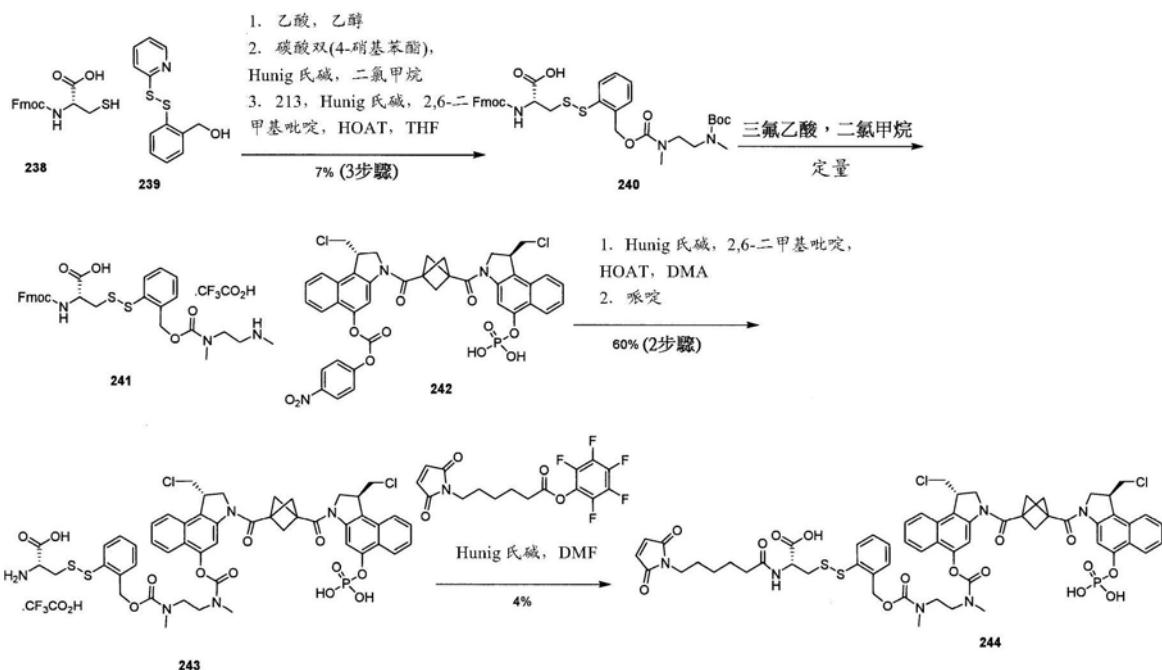
[0787]



[0788] 将N,N-二甲基甲酰胺(2.0毫升)加至含230(100毫克, 0.119毫摩尔)及236(115毫克, 0.131毫摩尔)的2打兰管瓶中, 其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱, 0.0831毫升, 0.477毫摩尔)、2,6-二甲基吡啶(0.0552毫升, 0.477毫摩尔)及HOAT(16.2毫克, 0.119毫摩尔)加入。令反应于室温搅拌约10分钟。将反应减量。将二氯甲烷(2毫升)加至粗制样品中。将三氟乙酸(1.0毫升, 13毫摩尔)加至正搅拌的混合物中。令反应于室温搅拌约30分钟。将反应减量。将粗制材料溶于二甲亚砜中, 再注至12克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度: 10%至50%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化, 其后通过方法G进行第二纯化, 且将适当的试管使用genevac浓缩, 即得白色固体状的237(55.8毫克, 27%)。LC-MS(方案B): m/z 1362.8 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.44分钟。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 10.96-10.83 (m), 10.06-9.97 (m), 8.16-7.97 (m), 7.87-7.66 (m), 7.59-7.47 (m), 7.37-6.97 (m), 6.54 (s), 6.05 (s), 5.47 (s), 5.12-4.96 (m), 4.45-3.91 (m), 3.74-2.83 (m), 2.76-2.68 (m), 2.59-2.52 (m), 2.39-2.32 (m), 2.02-1.93 (m), 1.83 (s), 1.71-1.21 (m), 0.88-0.77 (m)。

[0789] 3-{[2-({[(2-{[(1S)-1-(氯甲基)-3-[3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基](甲基)氨基}乙基)(甲基)氨基甲酰基]氧基]甲基]苯基]二硫

基}-N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-丙氨酸(244)的制备  
[0790]



[0791] 步骤1:于0℃将乙酸(2.41克,40.1毫摩尔)加至正搅拌的N-[ (9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-L-半胱氨酸238(17.9克,52.1毫摩尔)的无水乙醇(360毫升)混合液中。然后于0℃将[2-(吡啶-2-基二硫基)苯基]甲醇239(10克,40.104毫摩尔)的无水乙醇(200毫升)溶液加至反应混合物中。将混合物于室温搅拌20分钟。将反应混合物于真空中浓缩以得黄色油状物。将此残留物通过制备HPLC(方法M)予以纯化以得黄色胶状物(3.5克)。于0℃将碳酸双(4-硝基苯酯)(1.9克,6.23毫摩尔)加至正搅拌的此粗制材料(2.5克,5.191毫摩尔)的无水二氯甲烷(100毫升)溶液中,其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,805毫克,6.23毫摩尔)加入。将混合物于0℃搅拌½小时,然后令其加温至室温。令反应于室温搅拌约23小时。将反应混合物加温至30℃,再令其于30℃搅拌约18小时。将反应混合物加温至40℃,再令其于40℃搅拌约6小时。将反应混合物以1M氢氯酸(20毫升x2)、盐水清洗,于硫酸钠上干燥,再于真空中浓缩以得黄色油状的残留物(3.89克)。将残留物通过硅胶色谱法(梯度:0%至4%甲醇的二氯甲烷液)予以纯化以得黄色固状物(2.48克)。于0℃将213(635毫克,3.37毫摩尔)加至正搅拌的此粗制材料的四氢呋喃(35毫升)溶液中,其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,793毫克,6.14毫摩尔)、2,6-二甲基吡啶(657毫克,6.14毫摩尔)及HOAT(41.8毫克,0.307毫摩尔)加入。令反应混合物加温至室温,然后于室温搅拌40分钟。将反应混合物以乙酸乙酯(200毫升)稀释,以1M HCl(30毫升,x2)及盐水清洗。将有机相于硫酸钠上干燥,再于真空中浓缩以得黄色油状的粗制产物(3.6克)。将粗制产物通过硅胶色谱法(梯度:0%至4%甲醇的二氯甲烷液)予以纯化,以得黄色胶状的产物(2.35克)。然后将产物通过制备HPLC使用(方法M,30分钟期间使用梯度50% B至80% B,然后5分钟期间95%)予以纯化。将混合物于真空中浓缩,再以乙酸乙酯(100毫升,x3)萃取。将有机层结合,以盐水清洗,于钠上干燥,再于真空中浓缩,即得黄色胶状的240(1.45克,7%,3步骤)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7.91-7.89 (m, 3H), 7.74-7.72 (m, 3H), 7.44-7.31 (m, 7H), 5.14 (s, 2H), 4.34-4.24 (m, 4H), 3.31-3.29 (m, 3H), 3.10-3.09 (m, 1H), 3.04-3.02 (m, 1H), 2.86-2.82 (d, 3H), 2.75-2.73 (m, 2H),

2.67–2.50 (m, 2H), 1.38–1.31 (m, 9H)。

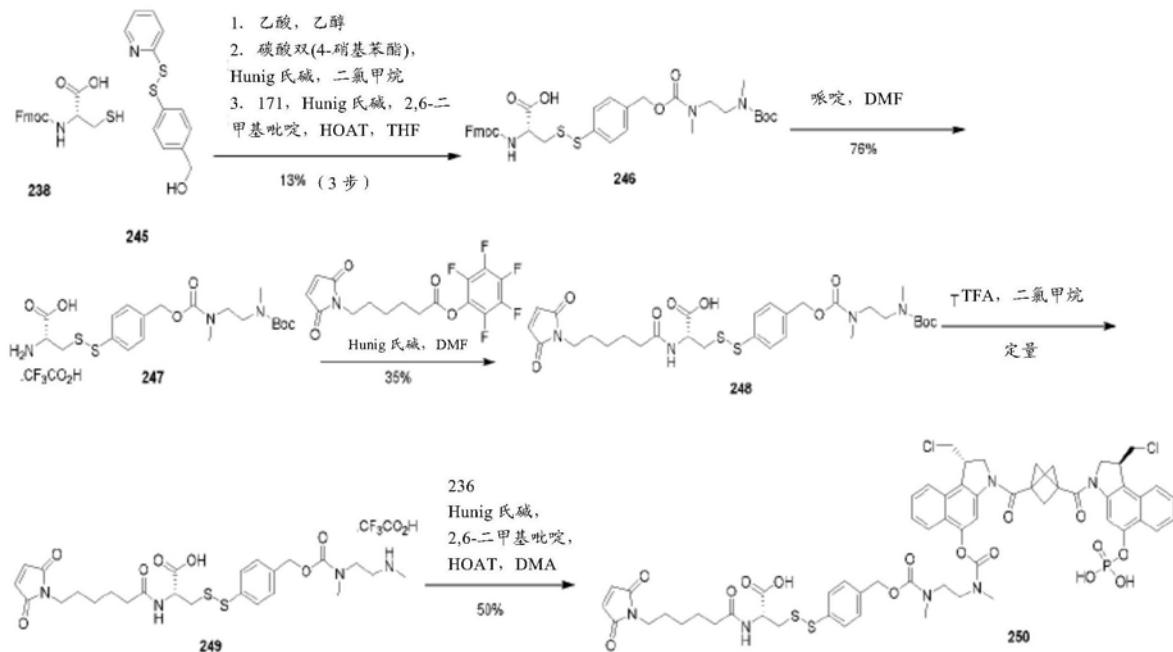
[0792] 步骤2: 将三氟乙酸(2毫升, 30毫摩尔)加至正搅拌的240(35毫克, 0.050毫摩尔)的4毫升二氯甲烷溶液中。令反应于室温搅拌约10分钟。将反应于真空中浓缩, 再置于高真空底下, 即得白色固体状的241(40毫克, 定量)。LC-MS (方案B) : m/z 596.5 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.38分钟。

[0793] 步骤3: 将2.0毫升N,N-二甲基乙酰胺加至含241(29.8毫克, 0.042毫摩尔)及242碳酸(1S)-1-(氯甲基)-3-[ (3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基) 羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯4-硝苯酯[使用制备229中所述的化学制得](35.0毫克, 0.042毫摩尔)的管瓶中, 其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱, 0.0293毫升, 0.168毫摩尔)、2,6-二甲基吡啶(0.0195毫升, 0.168毫摩尔)及HOAT(5.72毫克, 0.042毫摩尔)立即加入。令反应于室温搅拌约10分钟。然后将哌啶(0.30毫升, 3毫摩尔)加至反应中, 再令反应于室温搅拌约10分钟。将粗制反应注至12克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度: 5%至65%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化, 且将适当的试管使用genevac浓缩, 即制得灰色固体状的243(30毫克, 60%)。LC-MS (方案B) : m/z 838.3 [M+2H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.55分钟。

[0794] 步骤4: 将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱, 0.0118毫升, 0.0677毫摩尔)加至正搅拌的243(20毫克, 0.017毫摩尔)及6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸五氟苯酯(7.03毫克, 0.0186毫摩尔)的1.5毫升N,N-二甲基甲酰胺溶液中。令反应于室温搅拌约15分钟。将粗制反应注至5克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度: 20%至70%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸), 其后制备HPLC纯化法(方法I1)予以纯化, 且将适当的试管使用genevac浓缩, 即制得灰色固体状的244(0.8毫克, 4%)。LC-MS (方案D) : m/z 630.8 [1/2M+1H]<sup>+</sup>, 保留时间=10.786分钟。

[0795] 3-{[4-{[(2-{[(1S)-1-(氯甲基)-3-[ (3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基) 羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基] 氧基] 羰基} (甲基) 氨基} 乙基} (甲基) 氨基甲酰基] 氧基} 甲基} 苯基} 二硫基} -N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) 己酰基]-L-丙氨酸250的制备

[0796]



[0797] 步骤1:于0℃将乙酸(1.93克,32.1毫摩尔)加至正搅拌的N-[ (9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-L-半胱氨酸238(11.6克,33.7毫摩尔)的无水乙醇(230毫升)混合液中。然后于0℃将[4-(吡啶-2-基二硫基) 苯基]甲醇245(10克,40.104毫摩尔)的无水乙醇(160毫升)溶液加至反应混合物中。令混合物加温至室温,然后于室温搅拌4小时。将反应混合物于真空中浓缩以得黄色油状物。将此残留物通过制备HPLC(方法M,30分钟期间使用梯度45% B至75% B,然后5分钟期间95%)予以纯化以得黄色胶状物(8.5克)。于0℃将碳酸双(4-硝基苯酯)(6.06克,19.9毫摩尔)加至正搅拌的此粗制材料(8.0克,16.61毫摩尔)的无水二氯甲烷(320毫升)溶液中,其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,2.58克,19.9毫摩尔)加入。将混合物于0℃搅拌10分钟,然后令其加温至室温。令反应于室温搅拌约15小时。然后将另外的碳酸双(4-硝基苯酯)(1.52克,4.98毫摩尔)及N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,644毫克,4.98毫摩尔,0.3当量)加至反应混合物中。令反应于室温搅拌另2小时。将反应混合物以1M氢氯酸(50毫升×2)、盐水清洗,于硫酸钠上干燥,再于真空中浓缩以得黄色油状的残留物(17.1克)。将残留物通过硅胶色谱法(梯度:0%至7%甲醇的二氯甲烷液)予以纯化以得黄色油状物。于0℃将171(1.89克,10.0毫摩尔)加至正搅拌的此粗制材料的四氢呋喃(103毫升)溶液中,其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,2.36克,18.2毫摩尔)、2,6-二甲基吡啶(1.96克,18.2毫摩尔)及HOAT(124毫克,0.912毫摩尔)加入。令反应混合物加温至室温,然后于室温搅拌60分钟。将反应混合物以乙酸乙酯(200毫升)稀释,以1M氢氯酸(30毫升,x2)及盐水清洗。将有机相于硫酸钠上干燥,再于真空中浓缩以得黄色油状的粗制产物(7.5克)。将粗制产物通过硅胶色谱法(梯度:0%至4%甲醇的二氯甲烷液)予以纯化,以得黄色胶状的产物(4.0克)。然后将产物通过制备(方法M,30分钟期间使用梯度50% B至80% B,然后5分钟期间95%)予以纯化。将混合物于真空中浓缩,再以乙酸乙酯(100毫升,x3)萃取。将有机层结合,以盐水清洗,于钠上干燥,再于真空中浓缩,即得白色固体状的246(3.0克,13%,3步骤)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7.89–7.87 (d, 2H), 7.71–7.70 (d, 2H), 7.55–7.52 (m, 2H), 7.50–7.41 (m, 2H), 7.39–7.30 (m, 4H), 4.97 (s, 2H), 4.30–4.22 (m, 4H), 3.29 (br, 4H), 3.10–3.01

(m, 2H), 2.82–2.80 (d, 3H), 2.73 (s, 1H), 2.66 (s, 2H), 1.32–1.30 (d, 9H)。

[0798] 步骤2: 将哌啶(1.13毫升, 11.5毫摩尔)加至正搅拌的246(499毫克, 0.717毫摩尔)的4.0N,N-二甲基甲酰胺溶液中。令反应于室温搅拌约5分钟。将粗制反应注至12克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度: 5%至50%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化, 且将适当的试管使用genevac浓缩, 即制得灰色固体状的3-{[4-(4,7,10,10-四甲基-3,8-二氧化代-2,9-二氧化杂-4,7-二氮杂十一烷-1-基)苯基]二硫基}-L-丙氨酸247(320毫克, 76%)。LC-MS(方案B): m/z 474.5 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.19分钟。

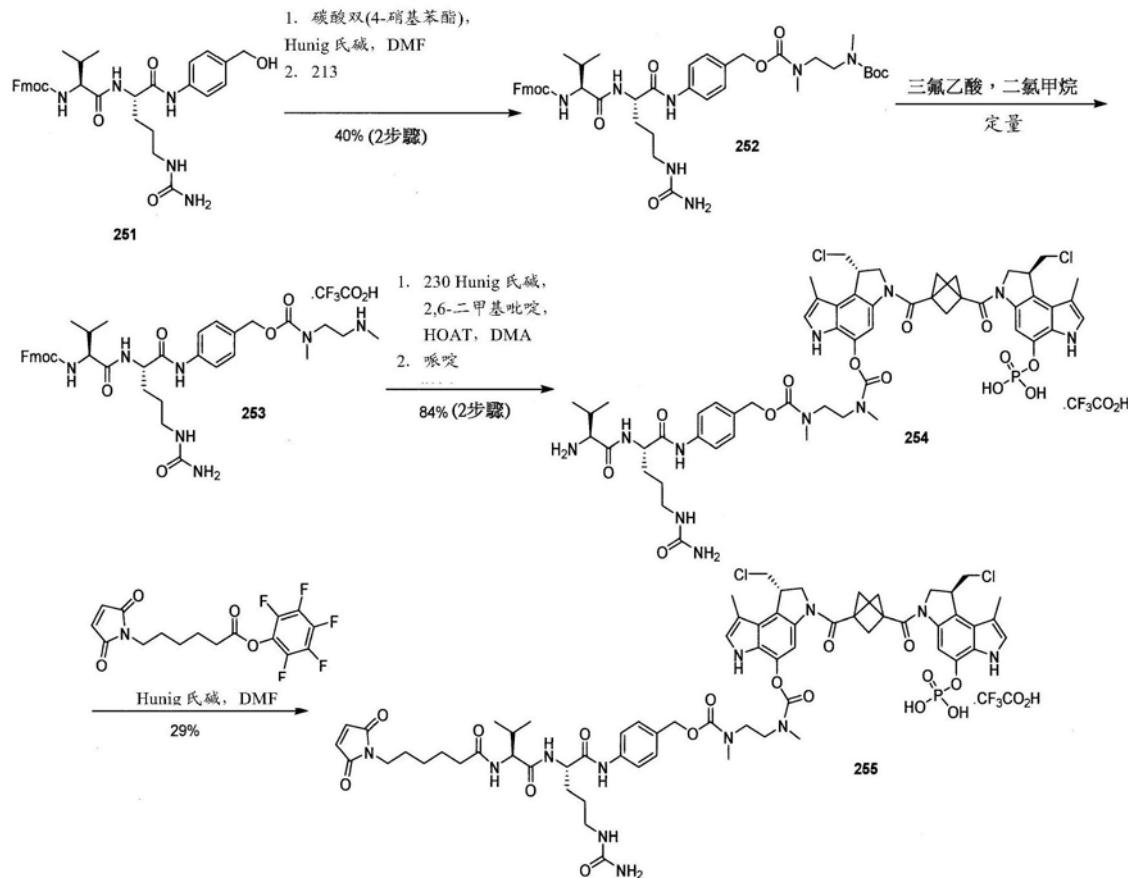
[0799] 步骤3: 将2毫升N,N-二甲基甲酰胺加至正搅拌的247(140毫克, 0.238毫摩尔)及6-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸五氟苯酯(98.9毫克, 0.262毫摩尔)的溶液中, 其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱, 0.124毫升, 0.715毫摩尔)立即加入。令反应于室温搅拌约5分钟。将粗制反应注至12克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度: 10%至70%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化, 且将适当的试管使用genevac浓缩, 即制得清澈固状的N-[6-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-3-{[4-(4,7,10,10-四甲基-3,8-二氧化代-2,9-二氧化杂-4,7-二氮杂十一烷-1-基)苯基]二硫基}-L-丙氨酸248(56毫克, 35%)。LC-MS(方案B): m/z 667.3 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.71分钟。

[0800] 步骤4: 将三氟乙酸(2毫升, 30毫摩尔)加至正搅拌的248(35毫克, 0.050毫摩尔)的4毫升二氯甲烷溶液中。令反应于室温搅拌约10分钟。将反应于真空中浓缩, 再置于高真空底下, 即制得白色固体状的249(40毫克, 定量)。

[0801] 步骤4: 将1.6毫升N,N-二甲基乙酰胺加至含249(18.0毫克, 0.0264毫摩尔)及242(22.0毫克, 0.0264毫摩尔)的管瓶中, 其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱, 0.0184毫升, 0.106毫摩尔)、2,6-二甲基吡啶(0.0123毫升, 0.106毫摩尔)及HOAT(3.60毫克, 0.0264毫摩尔)立即加入。令反应于室温搅拌约10分钟。将粗制反应注至12克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度: 10%至60%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)其后制备HPLC纯化法(方法I2)予以纯化, 且将适当的试管使用genevac浓缩, 即制得白色固体状的250(16.7毫克, 50%)。LC-MS(方案B): m/z 1261.4 [M+3H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.71分钟。

[0802] N-[6-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-[4-({[(2-{{[(8S)-8-(氯甲基)-6-[(3-[(1S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰氧基)-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚3(2H)-基]羰基}双环[1.1.1]成-1-基)羰基]-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-基}氧基)羰基](甲基)氨基}乙基)(甲基)氨基甲酰基]氨基]甲基]苯基]-L-鸟氨酰胺255的制备。

[0803]



[0804] 步骤1：将N-[ (9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-L-缬氨酰基-N～5～氨基甲酰基-N-[4-(羟甲基) 苯基]-L-鸟氨酰胺251 (725毫克, 1.2毫摩尔) 溶于6毫升N,N-二甲基甲酰胺中, 其后音波处理约10分钟。然后将搅拌棒加入, 再令此溶液于室温搅拌。然后将碳酸双(4-硝基苯酯) (403毫克, 1.33毫摩尔) 加入, 其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱, 0.44毫升, 2.5毫摩尔) 加入。令反应于室温搅拌约5小时。将溶于1毫升N,N-二甲基甲酰胺的213 (227毫克, 1.2毫摩尔) 加入。令反应于室温搅拌约1分钟。将粗制反应注至24克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度: 5%至60%乙腈的水液, 每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化, 且将适当的试管使用genevac浓缩, 即制得棕色固体状的N-[ (9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-L-缬氨酰基-N～5～氨基甲酰基-N-[4-(4,7,10,10-四甲基-3,8-二氧化代-2,9-二氧杂-4,7-二氮杂十一烷-1-基) 苯基]-L-鸟氨酰胺252 (395毫克, 40%, 2步骤)。LC-MS(方案B): m/z 816.7 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.88分钟。

[0805] 步骤2: 将三氟乙酸(2毫升, 30毫摩尔)加至正搅拌的252 (197毫克, 0.241毫摩尔)的6毫升二氯甲烷混合液中。令反应于室温搅拌约20分钟。将反应于真空中浓缩, 再置于高真空底下, 即制得白色及淡棕色固体状的N-[ (9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-L-缬氨酰基-N～5～氨基甲酰基-N-[4-(4,7,10,10-四甲基-3,8-二氧化代-2,9-二氧杂-4,7-二氮杂十一烷-1-基) 苯基]-L-鸟氨酰胺253 (210毫克, 定量)。LC-MS(方案B): m/z 716.7 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.27分钟。

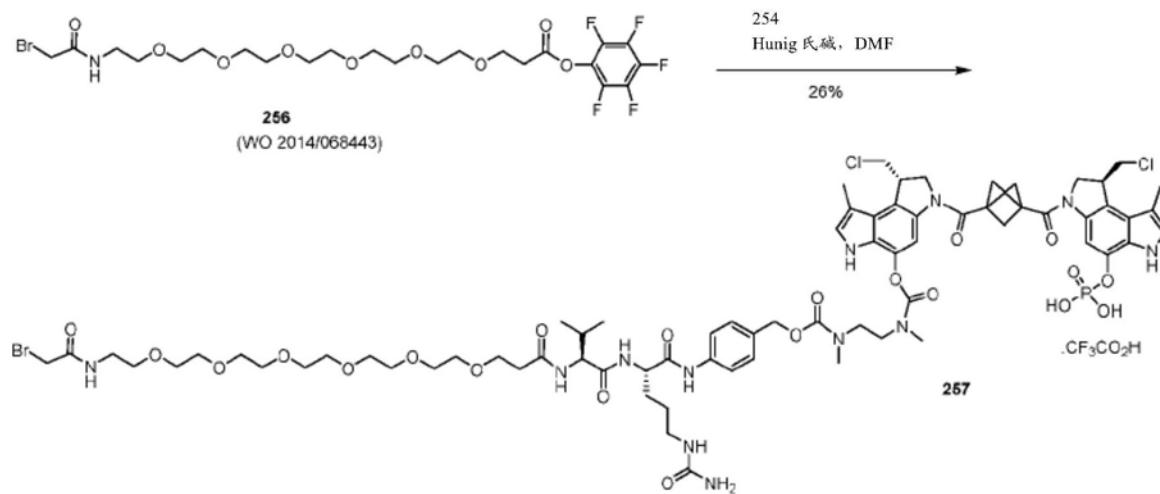
[0806] 步骤3: 将2.0毫升N,N-二甲基乙酰胺加至含230 (48毫克, 0.053毫摩尔) 及253

(52.4毫克,0.063毫摩尔)的管瓶中,其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,0.036毫升,0.211毫摩尔)、2,6-二甲基吡啶(0.024毫升,0.211毫摩尔)及HOAT(7.1毫克,0.0525毫摩尔)立即加入。令反应于室温搅拌约10分钟。然后将哌啶(0.30毫升,3毫摩尔)加入,再令反应于室温搅拌约10分钟。将粗制反应注至12克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度:10%至50%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)予以纯化,且将适当的试管使用genevac浓缩,即制得淡灰色固体状的254(68毫克,84%,2步骤)。LC-MS(方案B): $m/z$  1193.5[M+2H]<sup>+</sup>,保留时间=1.46分钟。

[0807] 步骤4:将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,0.0136毫升,0.0782毫摩尔)加至正搅拌的254(30毫克,0.020毫摩尔)及6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸五氟苯酯(8.11毫克,0.0215毫摩尔)的2.0毫升N,N-二甲基甲酰胺溶液中,令反应于室温搅拌约10分钟。将粗制反应注至5克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度:5%至50%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)其后第二制备HPLC纯化法(方法J1)予以纯化。将适当的试管使用genevac浓缩,即制得淡棕色固体状的255(9.1毫克,29%)。LC-MS(方案B): $m/z$  1386.9[M+2H]<sup>+</sup>,保留时间=1.60分钟。

[0808] N-(24-溴-23-氧代-4,7,10,13,16,19-六氧杂-22-氮杂二十四烷-1-酰基)-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-[4-{[(2-{[(8S)-8-(氯甲基)-6-[(3-{[(1S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰氧基)-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基]羧基}双环[1.1.1]戊-1-基)羧基]-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-基]氧基]羧基}(甲基)氨基]乙基)(甲基)氨基甲酰基]氨基]甲基]苯基]-L-鸟氨酰胺257的制备。

[0809]

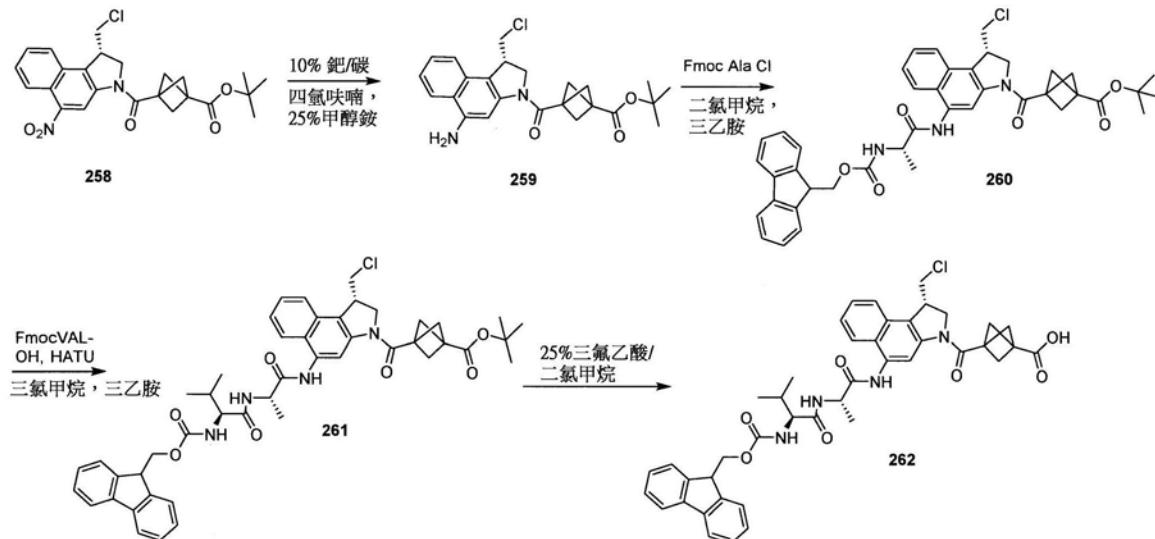


[0810] 将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,0.0136毫升,0.0782毫摩尔)加至正搅拌的254(30毫克,0.020毫摩尔)及1-溴-2-氧代-6,9,12,15,18,21-六氧杂-3-氮杂二十四烷-24-酸五氟苯酯2556(13.8毫克,0.0215毫摩尔)[依W02014/068443中所述地制得]的2.0毫升N,N-二甲基甲酰胺溶液中。令反应于室温搅拌约40分钟。将粗制反应注至5克C18前置柱(该柱已事先以乙腈然后以水均衡,每一相中均含有0.02%三氟乙酸)上。将材料通过中压反相C18色谱法(梯度:5%至50%乙腈的水液,每一相中均含有0.02%三氟乙酸),其后第二制备

HPLC纯化法(方法K1)予以纯化。将适当的试管使用genevac浓缩,即制得白色固体状的257(10.8毫克,26%)。LC-MS(方案B): $m/z$  1649.7[M+3H]<sup>+</sup>,保留时间=1.53分钟。

[0811] N-[ (9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-L-缬氨酰基-N-[ (1S)-3-[ (3-羧基双环[1.1.1]戊-1-基) 羰基]-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基]-L-丙胺酰胺261的制备

[0812]



[0813] 步骤1: 将正搅拌的3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-硝基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊烷-1-羧酸叔丁酯258(依类似于189的法制备)(980毫克,2.14毫摩尔)的7毫升四氢呋喃溶液于氮下使用冰浴冷却至0℃。然后将10重量%钯/活性碳(30毫克)加入,其后将2毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌3小时。完成后,将反应混合物通过赛力特硅藻土垫中过滤,再将滤液于真空下浓缩。将粗制产物通过硅胶色谱法(梯度:0%至10%甲醇的二氯甲烷液)予以纯化,即得黄色固体状的3-{[(1S)-5-氨基-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊烷-1-羧酸叔丁酯259(905毫克,98%)。LC-MS(方案B): $m/z$  427[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.92分钟。

[0814] 步骤2: 将(S)-(1-氯-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(695毫克,2.11毫摩尔)加至正搅拌的259(900,2.11毫摩尔)的5毫升无水二氯甲烷溶液中,其后将三乙胺(0.5毫升)逐滴加入。令反应搅拌2小时。完成后,将反应混合物于真空下浓缩。将粗制产物通过硅胶色谱法(梯度:0%至100%乙酸乙酯的庚烷液)予以纯化,即得白色固体状的3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-((N-[(9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-L-丙胺酰基) 氨基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基] 羰基} 双环[1.1.1] 戊烷-1-羧酸叔丁酯260(1.102克,73%)。LC-MS(方案B): $m/z$  720[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.32分钟。

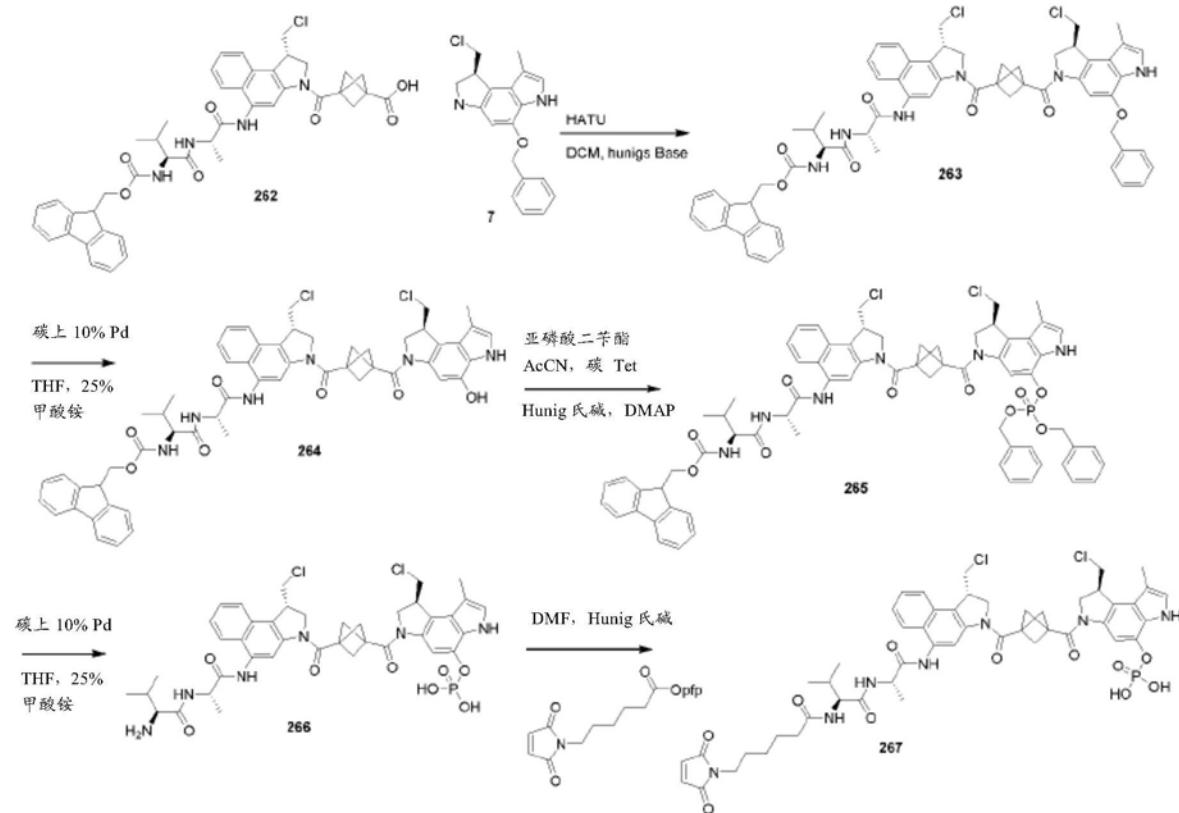
[0815] 步骤3: 将15毫升1:1二氯甲烷的二乙胺液加至含260(1000毫克,1.388毫摩尔)的备有搅拌棒的圆底烧瓶中。将溶液搅拌3小时。将反应混合物于真空下浓缩,再置于50%二氯甲烷的庚烷液中,且再度于真空下浓缩。将此步骤重复3次(以移出过量的二乙胺),浓缩后可得粗制白色固状物。将此粗制白色固状物加至含((9H-芴-9-基) 甲氧基) 羰基-L-缬氨酸(471毫克,1.38毫摩尔)及HATU(350毫克,1.38毫摩尔)的10毫升无水二氯甲烷液的圆底烧瓶中。然后将三乙胺(0.5毫升)加入,再将反应于室温搅拌3小时。完成后,将反应混合物于真空下浓缩。将粗制产物通过硅胶色谱法(梯度:0%至100%乙酸乙酯的庚烷液)予以

纯化,即得白色固体状的N-[ (9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-L-缬氨酰基-N-[(1S)-3-{[3-(叔丁氧羰基) 双环[1.1.1]戊-1-基] 羰基}-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基]-L-丙胺酰胺261 (1.005克,88%)。LC-MS (方案B) : $m/z$  819[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.31分钟。

[0816] 步骤4:将10毫升25%三氟乙酸的二氯甲烷液加至含261 (1000毫克,1.22毫摩尔) 的圆底烧瓶中。将反应搅拌3小时。将溶液搅拌3小时。将反应混合物于真空下浓缩,再置于50%二氯甲烷及庚液中,再于真空下浓缩。将此步骤重复3次(以移出过量的三氟乙酸),浓缩后,即得白色固体状的262 (920毫克,98%)。LC-MS (方案B) : $m/z$  763[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.88分钟。

[0817] N-[6-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) 己酰基]-L-缬氨酰基-N-[(1S)-1-(氯甲基)-3-{[3-{[(1S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰氧基)-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基] 羰基} 双环[1.1.1]戊-1-基] 羰基}-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基]-L-丙胺酰胺266的制备。

[0818]



[0819] 步骤1:将HATU (298毫克,0.76毫摩尔) 加至含N-[ (9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-L-缬氨酰基-N-[(1S)-3-{[3-羧基双环[1.1.1]戊-1-基] 羰基}-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基]-L-丙胺酰胺262 (580毫克,0.76毫摩尔) 的5毫升四氢呋喃液的圆底烧瓶中。将溶液混合物于室温搅拌30分钟。然后将(1S)-5-(苄氧基)-1-(氯甲基)-8-甲基-1,2,3,6-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚7其后0.3毫升N,N-二异丙基乙胺(Hunig's base)加入。将反应搅拌1小时,再浓缩成粗制玻璃状物。将粗制反应混合物通过硅胶色谱法(梯度:0%至10%甲醇的二氯甲烷液)予以纯化,即合成白色固状的N-[ (9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-L-缬氨酰基-N-[(1S)-3-{[3-{[(1S)-5-([双(苄氧基)磷酰基]氧基)-1-(氯甲基)-8-甲基-1,6-二氢吡

咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基]-L-丙胺酰胺263(723毫克,98%)。LC-MS(方案B):m/z 1071[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.45分钟。

[0820] 步骤2:将正搅拌的263(100毫克,0.932毫摩尔)的7毫升四氢呋喃溶液于氮下使用冰浴冷却至0℃。然后将10重量%钯/活性碳(10毫克)加入,其后将0.5毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌1小时。完成后,将反应混合物通过赛力特硅藻土垫中过滤,再将滤液于真空下浓缩。将粗制产物通过硅胶色谱法(梯度:0%至10%甲醇的二氯甲烷液)予以纯化,即合成黄色固体状的N-[ (9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-L-缬氨酰基-N-{ (1S)-1-(氯甲基)-3-[ (3-{ [(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基] 羰基} 双环[1.1.1]戊-1-基) 羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}-L-丙胺酰胺264(821毫克,89%)。LC-MS(方案B):m/z 981[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.16分钟。

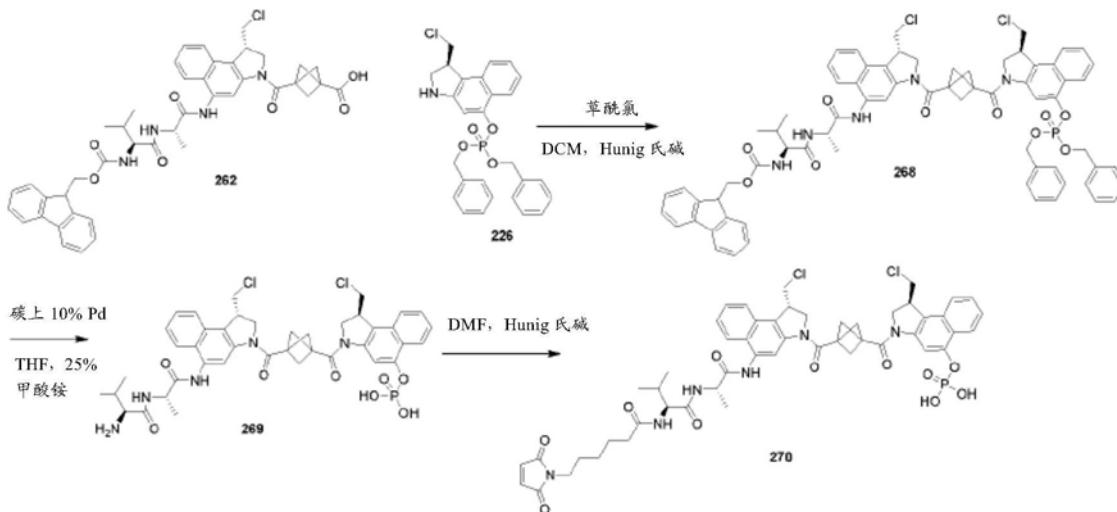
[0821] 步骤3:将四氯化碳(2.04毫升,21.0毫摩尔)加至正搅拌的264(650毫克,0.66毫摩尔)的10毫升四氢呋喃及10毫升乙酰氰(AcCN)溶液中,其后将N,N-二异丙基乙胺(Hunig氏碱,1.12毫升,6.45毫摩尔)、亚磷酸二苄酯(694毫克,2.65毫摩尔)及4-二甲氨基吡啶(催化量)加入。令反应于室温搅拌20分钟。将反应浓缩成粗制玻璃状物。将粗制反应混合物通过硅胶色谱法(梯度:0%至10%甲醇的二氯甲烷液)予以纯化,即得白色玻璃状的N-[ (9H-芴-9-基甲氧基) 羰基]-L-缬氨酰基-N-{ (1S)-3-[ (3-{ [(1S)-5-{ [双(苄氧基) 磷酰基] 氧基}-1-(氯甲基)-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基] 羰基} 双环[1.1.1]戊-1-基) 羰基]-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}-L-丙胺酰胺265(502毫克,66%)。LC-MS(方案B):m/z 1243[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=2.46分钟。

[0822] 步骤4:将正搅拌的264(100毫克,0.932毫摩尔)的7毫升四氢呋喃溶液于氮下使用冰浴冷却至0℃。然后将10重量%钯/活性碳(10毫克)加入,其后将0.5毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌1小时。完成后,将反应混合物通过赛力特硅藻土垫中过滤,再将滤液于真空下浓缩。将粗制产物通过硅胶色谱法(梯度:0%至10%甲醇的二氯甲烷液)予以纯化,即得黄色固体状的L-缬氨酰基-N-{ (1S)-1-(氯甲基)-3-[ (3-{ [(1S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰基)-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基] 羰基} 双环[1.1.1]戊-1-基) 羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}-L-丙胺酰胺265(25毫克,18%)。LC-MS(方案B):m/z 839[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.54分钟。

[0823] 步骤5:将5毫升无水二氯甲烷加至备有搅拌棒及6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸五氟苯酯(18毫克,0.046毫摩尔)的圆底烧瓶中,再将系统以氮吹洗。将265(40毫克,0.046毫摩尔)及三乙胺(0.05毫升)加至此溶液中。让系统搅拌1小时。将反应于真空中浓缩,再纯化,即得267(20%9毫克方法N),保留时间=15.462分钟。LC-MS(方案B):m/z 1032[M+H]<sup>+</sup>,保留时间=1.55分钟。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ11.34(s,1H),9.89(s,1H),8.43(s,1H),8.20(d,J=6.8Hz,2H),7.91(dd,J=14.4,8.4Hz,3H),7.85-7.74(m,2H),7.49(t,J=7.7Hz,1H),7.35(t,J=7.8Hz,1H),6.96(d,J=25.4Hz,4H),4.52(t,J=7.1Hz,1H),4.37(dq,J=22.0,10.7Hz,4H),4.18(dt,J=19.7,8.5Hz,2H),4.07-3.85(m,4H),3.58(t,J=9.8Hz,1H),3.43-3.12(m,34H),2.71(d,J=8.2Hz,1H),2.62-2.37(m,49H),2.28(s,3H),2.09(qt,J=14.0,7.1Hz,3H),1.98-1.86(m,1H),1.39(dt,J=22.2,7.2Hz,11H),1.22-1.05(m,6H),0.78(dd,J=9.7,6.7Hz,10H)。

[0824] N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰基-N-{(1S)-1-(氯甲基)-3-[3-{{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基}羧基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}-L-丙胺酰胺270的制备

[0825]



[0826] 步骤1: 将226(214毫克, 0.36毫摩尔)置于二氯甲烷(2毫升)中, 再将三氟乙酸(0.5毫升)加入, 脱保护完成后, 将溶剂移出。将草酰氯(0.024毫升, 0.26毫摩尔)加至含262(200毫克, 0.26毫摩尔)的5毫升二氯甲烷液的已以氮吹洗的圆底烧瓶中。将1滴N,N-二甲基甲酰胺加至此溶液中, 再将系统搅拌3小时。将反应通过真空浓缩。将残留物置于二氯甲烷中, 再加至含脱保护226的15毫升二氯甲烷液及三乙胺(0.144毫升)的圆底烧瓶中。将反应于室温搅拌2小时。将粗制反应混合物通过真空浓缩, 再置于25毫升二氯甲烷中, 再转移至分液漏斗。将有机层以1M氢氯酸(3x)、水(3x)及盐水(2x)清洗。将有机层于硫酸钠上干燥, 过滤及将滤液浓缩成粗制固状物。将粗制产物通过硅胶色谱法(梯度: 0%-10%甲醇的二氯甲烷液)予以纯化, 即得黄色固体状的N-[9H-芴-9-基甲氧基]羧基]-L-缬氨酰基-N-{(1S)-3-[3-{{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(双(苄氧基)磷酰基)氧基}-1-(氯甲基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]双环[1.1.1]戊-1-基}羧基]-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}-L-丙胺酰胺268(75毫克, 23%)。LC-MS(方案B): m/z 1238[M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=2.53分钟。

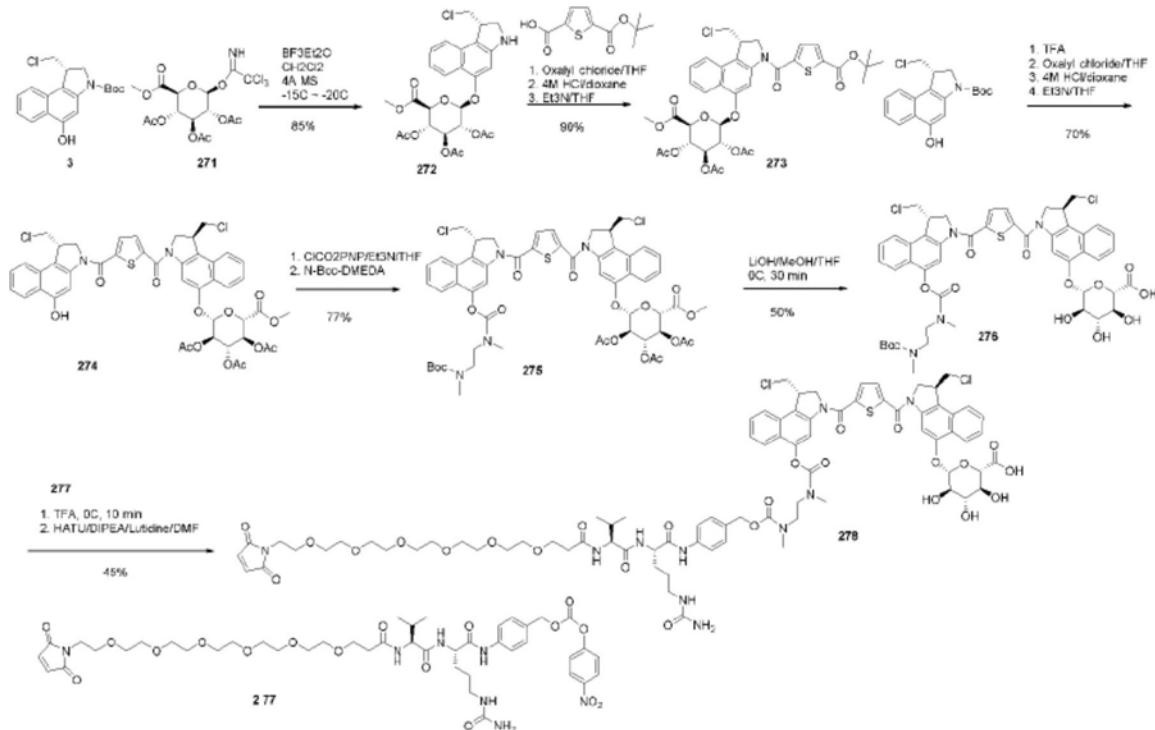
[0827] 步骤2: 将正搅拌的268(75毫克, 0.061毫摩尔)的5毫升四氢呋喃溶液于氮下使用冰浴冷却至0℃。然后将10重量%钯/活性碳(5毫克)加入, 其后将0.5毫升25%甲酸铵的水液徐缓地逐滴加入。令反应于0℃搅拌3小时。完成后, 将反应混合物通过赛力特硅藻土垫中过滤, 再将滤液于真空下浓缩。将粗制产物置于乙酸乙酯中, 再将固状物过滤, 即得淡黄色固体状的L-缬氨酰基-N-{(1S)-1-(氯甲基)-3-[3-{{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]双环[1.1.1]戊-1-基}羧基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}-L-丙胺酰胺269(20毫克, 30%)。LC-MS(方案B): m/z 838[M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.27分钟。

[0828] 步骤3: 将5毫升无水二氯甲烷加至备有搅拌棒及6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸五氟苯酯(9.0毫克, 0.024毫摩尔)的圆底烧瓶中, 再将系统以氮吹洗。将269(20毫克, 0.024毫摩尔)及三乙胺(0.05毫升)加至此溶液中。让系统搅拌1小时。将反应于真空下浓缩, 再通过HPLC方法N予以纯化, 即得270(5毫克, 20%)保留时间=10.734分钟。LC-

MS (方案B) : $m/z$  1031 [M+H]<sup>+</sup>, 保留时间=1.54分钟。

[0829] (2S,3S,4S,5R,6S)-6-((S)-1-(氯甲基)-3-(5-((S)-1-(氯甲基)-5-(((2-(((4-((23S,26S)-1-(2,5-二氯代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-23-异丙基-21,24-二氯代-26-(3-脲基丙基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂-22,25-二氮杂二十七烷-27-酰氨基)苄基)氨基)羧基)(甲基)氨基乙基)(甲基)氨基甲酰基)氨基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羧基)噻吩-2-羧基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氨基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸278的制备。

[0830]



[0831] 步骤1: 将(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-羧酸叔丁酯3(683毫克, 2.05毫摩尔)溶于二氯甲烷(70毫升)中, 将4埃分子筛(4Å MS, 3.8克, 粉末, <5微米, 活化)加入, 再将混合物于室温搅拌30分钟。将α-D-葡萄糖醛酸甲酯2,3,4-三乙酸盐1-2,2,2-三氯乙亚氨酸盐271(1178毫克, 2.45毫摩尔)加至反应混合物中, 再冷却至-15℃。将三氟化硼●乙醚(BF<sub>3</sub>●Et<sub>2</sub>O, 0.13毫升, 1.02毫摩尔)的二氯甲烷(10毫升)溶液徐缓加入, 再将反应混合物于低于-20℃搅拌1小时。将三氟化硼·乙醚(BF<sub>3</sub>●Et<sub>2</sub>O, 0.76毫升, 6毫摩尔)的二氯甲烷(10毫升)溶液加至混合物中以移除Boc基, 再令反应混合物加温至室温2小时。将混合物通过赛力特硅藻土垫中过滤, 且将滤液浓缩以得绿色泡沫状物(黏)。将4M氢氯酸(2毫升)加入, 且再度浓缩, 即得绿色泡沫状的粗制产物272, 1130毫克(94%), 其系用于下一步骤中而不必进一步纯化。

[0832] 步骤2: 将噻吩二酸的单叔丁酯187(189毫克, 0.83毫摩尔)溶于四氢呋喃(10毫升)中, 冷却至0℃, 再将草酰氯(2M的二氯甲烷液, 0.8毫升, 1.6毫摩尔)其后N,N-二甲基甲酰胺(2滴)加入。将混合物于0℃搅拌5分钟, 然后于室温搅拌1小时。于真空中浓缩以得灰白色固体状的相应酰基氯。将上述固状物与272(246毫克, 0.42毫摩尔)混合, 再与四氢呋喃(10毫升)于0℃处理, 其后将三乙胺(0.29毫升, 2毫摩尔)加入。将混合物于0℃搅拌5分钟, 再于室

温搅拌30分钟。将混合物浓缩，再将残留物通过于硅胶中使用乙酸乙酯/庚烷(EA/Hep, 50/50)进行柱色谱予以纯化，即得黄色固状物273(302毫克, 90%) LC-MS: 760.1。

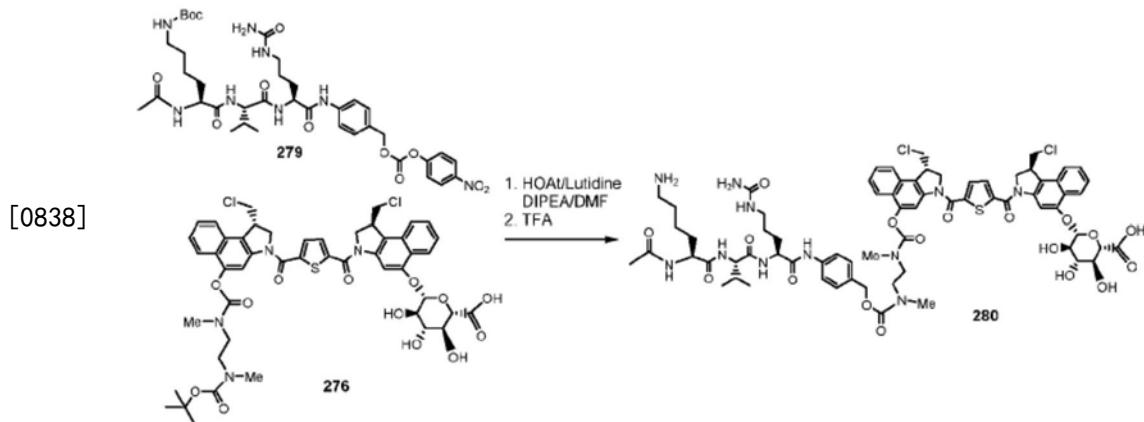
[0833] 步骤3：将273(790毫克, 1.04毫摩尔)以三氟乙酸(2毫升)及二氯甲烷(4毫升)于室温处理1小时。浓缩以得黄色固状物。将此固状物溶于四氢呋喃(10毫升)中，冷却至0℃，将草酰氯(2M的二氯甲烷液, 1毫升, 2毫摩尔)其后N,N-二甲基甲酰胺(1滴)加入。将混合物于0℃搅拌5分钟，然后于室温搅拌1小时。浓缩以得黄色固体状的酰基氯。将3(118毫克, 1.56毫摩尔)以4M氢氯酸(4毫升)处理1小时。于真空中浓缩以得绿色固体状的脱Boc化合物。将其溶于四氢呋喃(10毫升)中，于0℃将上述酰基氯的四氢呋喃(10毫升)溶液加入，其后将三乙胺(0.58毫升, 4.16毫摩尔)加入，再将混合物于室温搅拌30分钟。将混合物以乙酸乙酯稀释，以水及盐水清洗，于硫酸镁上干燥。将其于真空中浓缩，再将残留物以甲醇处理，将所得固状物通过过滤法收集，即得黄色固状产物274(668毫克, 70%)。LC-MS: 919.1。

[0834] 步骤4：将274(576毫克, 0.63毫摩尔)溶于四氢呋喃(20毫升)中，冷却至0℃，将氯甲酸对硝苯酯(263毫克, 1.26毫摩尔)的二氯甲烷(2毫升)溶液其后三乙胺(0.52毫升, 3.76毫摩尔)加入。将混合物于0℃搅拌5分钟，然后于室温搅拌2小时。LC-MS显示碳酸酯完全形成。将213(354毫克, 1.88毫摩尔)的四氢呋喃(2毫升)液加至上述混合物中，再于室温搅拌30分钟。将混合物以乙酸乙酯稀释，以水及盐水清洗，再于硫酸镁上干燥。于真空中浓缩以得固状残留物，将其以甲醇处理以形成沉淀物。将所得固状物通过过滤法收集，即得黄色固状产物275(550毫克, 77%)。

[0835] 步骤5：将275(550毫克, 0.48毫摩尔)溶于四氢呋喃/甲醇(1/1, 10毫升)中，冷却至0℃，将氢氧化锂单水合物(LiOH·H<sub>2</sub>O, 206毫克, 4.8毫摩尔)的水(3毫升)溶液加入，再将混合物于0℃搅拌1小时。将乙酸(300毫克)加入以将上述溶液中和，于真空中浓缩。将残留物通过Gilson HPLC(0.02%三氟乙酸)予以纯化，即得黄色固状产物276(243毫克, 50%)。

[0836] 步骤6：将276(50毫克, 0.05毫摩尔)以预冷却的三氟乙酸(2毫升)于0℃处理5分钟，再于真空中浓缩以得黄色固体状的脱Boc化合物。将上述固状物溶于N,N-二甲基甲酰胺(2毫升)中，将277(48毫克, 0.05毫摩尔)其后二甲基吡啶(0.035毫升, 0.3毫摩尔)、N,N-二异丙基乙胺(0.052毫升, 0.3毫摩尔)，以及HOAt(7毫克, 0.05毫摩尔)加入。将混合物于30℃搅拌7小时。将粗制物进行Gislon HPLC(0.02%三氟乙酸)，即得黄色固状产物278(39毫克, 45%)。LC-MS: 1715.8/1737.8(于Larry为1.71分钟); 1713.7(-)。

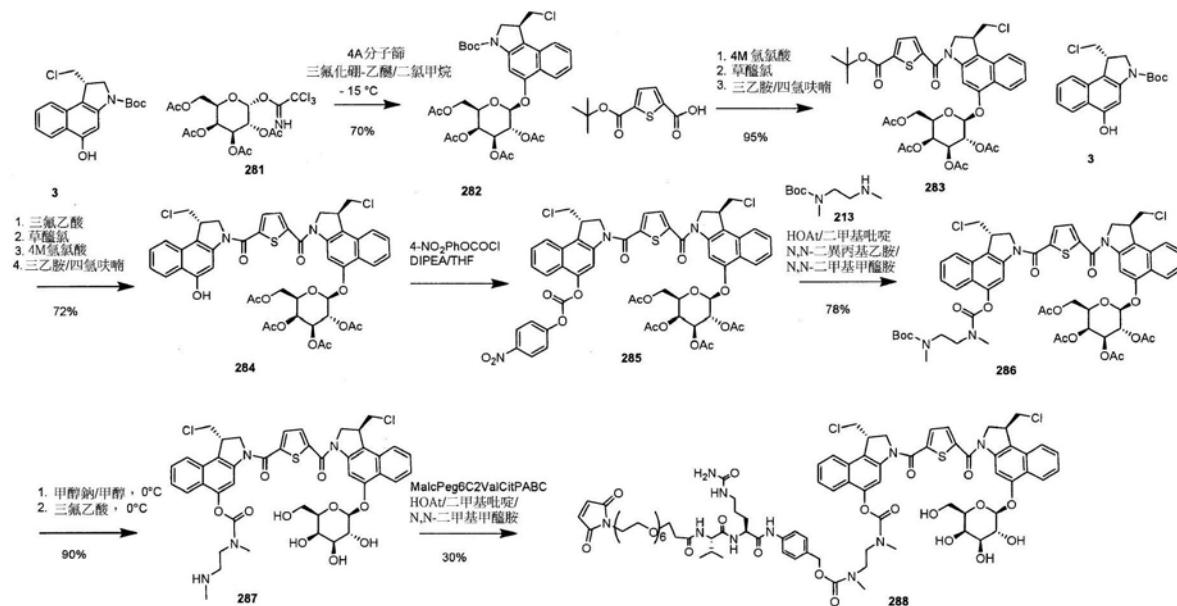
[0837] (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(((S)-3-(5-((S)-5-(((2-((((4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-乙酰氨基-6-氨基己酰氨基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰氨基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酰基)氧基)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羰基)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸280的制备



[0839] 将276以三氟乙酸(2毫升)于0℃处理1小时。将其于真空中浓缩。将其溶于N,N-二甲基甲酰胺(2毫升)中,将279(59毫克,0.07毫摩尔),其后二甲基吡啶(0.033毫升,0.29毫摩尔)、N,N-二异丙基乙胺(0.051毫升,0.29毫摩尔)及HOAt(7毫克,0.05毫摩尔)加入。将混合物于30℃搅拌4小时。浓缩,再将残留物通过Gilson HPLC(0.02%三氟乙酸)予以纯化以得黄色固状产物48毫克(62%)。将其以预冷却的三氟乙酸(1.5毫升)处理5分钟,然后于真空中浓缩以得粗制黄色固状物。将粗制物通过Gilson HPLC(0.02%三氟乙酸)予以纯化,冻干后,即得黄色粉状产物280(21毫克,43%)。LC-MS:1470.6。

[0840] (4-((23S,26S)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-23-异丙基-21,24-二氧化-26-(3-脲基丙基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂-22,25-二氮杂二十七烷-27-酰氨基)苯基)乙-1,2-二基双(甲基氨基甲酸)(S)-1-(氯甲基)-3-(5-(S)-1-(氯甲基)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]𫫇唑-3-羧基)噻吩-2-羧基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]𫫇唑-5-酯的制备

[0841]



[0842] 步骤1: 将3(775毫克,2.3毫摩尔)溶于二氯甲烷(80毫升)中,将4埃分子篩( $4\text{\AA}$  MS, 6.2克,粉末,<5微米,活化)加入,再将混合物于室温搅拌30分钟。将 $\alpha$ -D-半乳糖苷酶2,3,4,6-四乙酸盐1-2,2,2-三氯乙亚氨酸盐281(1260毫克,2.3毫摩尔)加至反应混合物中,再冷

却至-15℃。将三氟化硼·乙醚( $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , 0.144毫升, 1.2毫摩尔)的二氯甲烷(10毫升)溶液徐缓加入, 再将反应混合物于-15℃至-20℃搅拌1小时。将反应混合物通过赛力特硅藻土垫中过滤, 且将滤液浓缩。将粗制物通过ISCO使用甲醇/二氯甲烷(0-20%)予以纯化, 即得绿色固体状产物282(1400毫克, 91%)。

[0843] 步骤2: 将噻吩二酸的单叔丁酯187(300毫克, 1.3毫摩尔)溶于四氢呋喃(10毫升)中, 冷却至0℃, 再将草酰氯(2M的二氯甲烷液, 1毫升, 2毫摩尔)其后N,N-二甲基甲酰胺(2滴)加入。将混合物于0℃搅拌5分钟, 然后于室温搅拌1小时。于真空中浓缩以得白色固体状的相应酰基氯。将282(664毫克, 1毫摩尔)以4M氢氯酸(4毫升)于室温处理1小时。将其于真空中浓缩以得脱Boc胺绿色固体状物。将上述固状物与四氢呋喃(10毫升)于0℃混合, 将三乙胺(0.83毫升, 6毫摩尔)加入。将混合物于0℃搅拌5分钟, 再于室温搅拌30分钟。将混合物以乙酸乙酯稀释, 以水及盐水清洗, 于硫酸镁上干燥。于真空中浓缩, 再将残留物以甲醇处理, 且再度浓缩以得固状残留物, 将其由甲醇中予以再结晶。将所得黄色固状物通过过滤法收集, 即得黄色固状产物283(500毫克, 65%)。

[0844] 步骤3: 将283(200毫克, 0.26毫摩尔)溶于四氢呋喃(6毫升)中, 于0℃将草酰氯(0.64毫升, 2M的二氯甲烷液)加入, 其后N,N-二甲基甲酰胺(2滴)加入。将混合物于0℃搅拌5分钟, 然后于室温搅拌0.5小时。于真空中浓缩以得黄色固体状的相应酰基氯。将3(138毫克, 0.41毫摩尔)以4M氢氯酸(1毫升的二噁烷液)处理2小时。于真空中浓缩以得绿色泡沫状的脱Boc胺。将其溶于四氢呋喃(5毫升)中, 于0℃将上述酰基氯的四氢呋喃(5毫升)液加入, 其后将三乙胺(0.23毫升, 1.55毫摩尔)加入。将混合物于0℃搅拌5分钟, 然后于室温搅拌1小时。将混合物以乙酸乙酯稀释, 以水及盐水清洗, 于硫酸镁上干燥。于真空中浓缩以得固状残留物, 再其以甲醇处理, 再将所得固状物通过过滤法收集及以乙醚清洗, 以得黄色固状产物。将滤液浓缩, 再通过Gilson HPLC分离法使用乙腈/水(0.02%三氟乙酸)予以纯化, 即得黄色固状产物284(200毫克, 83%)。

[0845] 步骤4: 将284(68毫克, 0.073毫摩尔)溶于四氢呋喃(3毫升)中, 冷却至0℃, 将氯甲酸4-硝苯酯(46毫克, 0.22毫摩尔)的二氯甲烷(0.6毫升)溶液加入, 其后将三乙胺(0.061毫升, 0.44毫摩尔)加入。将混合物于0℃搅拌5分钟, 然后于室温搅拌1小时以得285。将N-Boc DMEDA(55毫克, 0.29毫摩尔)加至上述反应混合物中, 再于室温搅拌另1小时。于真空中浓缩, 再将残留物通过Gilson HPLC予以纯化, 即得黄色固状产物286(65毫克, 78%)。

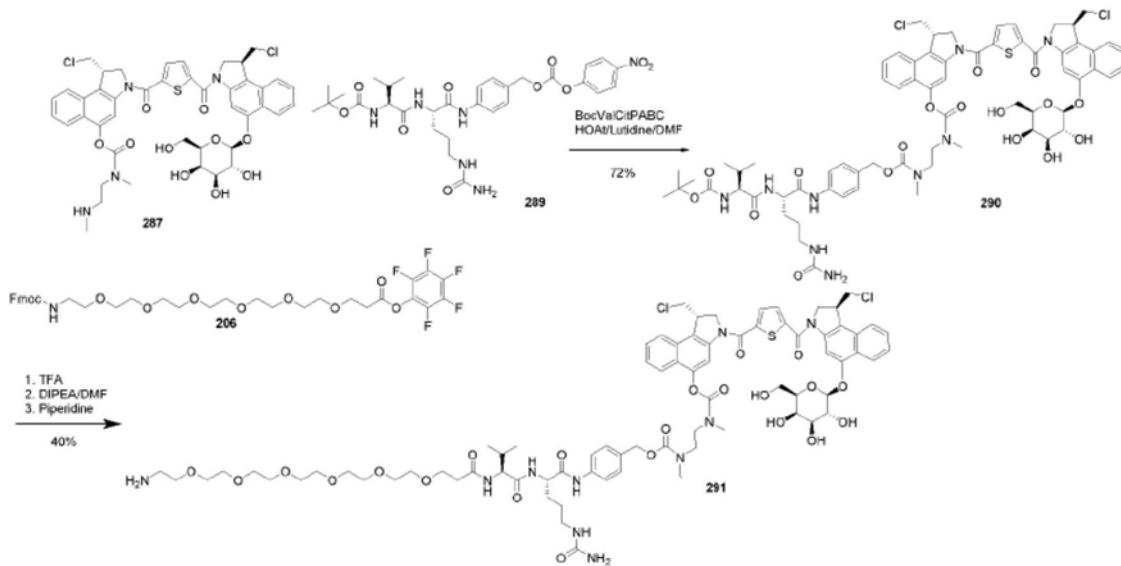
[0846] 步骤5: 于0℃将286(10毫克, 0.009毫摩尔)溶于甲醇(1毫升)中, 将甲醇钠( $\text{MeONa}$ , 0.054毫升, 0.5M的甲醇液, 0.027毫摩尔)加入, 再将混合物于0℃搅拌5分钟。将混合物以乙酸(0.4毫升, 0.1M的甲醇液)中和, 再于真空中浓缩以得黄色固状产物。将其以预冷却的三氟乙酸(0.8毫升)处理2分钟, 再于真空中浓缩, 即得黄色固体状的脱Boc化合物287(8.3毫克, 90%)。

[0847] 步骤6: 将287(8.3毫克, 0.008毫摩尔)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1毫升)中, 将Malc-Peg6C2ValCitPABC(9.6毫克, 0.01毫升)其后二甲基吡啶(0.004毫升)、N,N-二异丙基乙胺(0.006毫升)及HOAt(1.1毫克, 0.008毫摩尔)加入。将混合物于室温搅拌4小时。将粗制物通过Gilson HPLC(0.02%三氟乙酸)予以纯化, 即得黄色固状产物288(4毫克, 30%)。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz,  $\text{METHANOL-d}_4$ )  $\delta = 8.42$  (d,  $J = 8.2\text{Hz}$ , 1H), 8.15 (d,  $J = 7.4\text{Hz}$ , 1H), 7.95 (d,  $J = 8.2\text{Hz}$ , 1H), 7.91 (d,  $J = 8.2\text{Hz}$ , 1H), 7.84 (d,  $J = 8.6\text{Hz}$ , 1H), 7.80-7.66 (m, 2H), 7.63-7.48

(m, 4H), 7.43 (br.s., 3H), 7.23 (d, J=7.8Hz, 1H), 6.81 (s, 2H), 5.26–5.12 (m, 2H), 5.09 (d, J=8.6Hz, 1H), 4.71–4.54 (m, 4H), 4.49 (br.s., 1H), 4.33–4.15 (m, 3H), 4.10–3.95 (m, 4H), 3.93–3.77 (m, 6H), 3.77–3.64 (m, 8H), 3.64–3.54 (m, 24H), 3.51 (br.s., 1H), 3.23–3.03 (m, 5H), 3.03–2.95 (m, 2H), 2.60–2.51 (m, 2H), 2.13 (d, J=7.0Hz, 1H), 1.90 (br.s., 1H), 1.72 (br.s., 1H), 1.57 (br.s., 2H), 0.99 (t, J=6.4Hz, 6H)。LC-MS: 1702.3/829.9/748.7。

[0848] ((S)-1-(氯甲基)-3-(5-((S)-1-(氯甲基)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)乙-1,2-二基双(甲基氨基甲酸)4-((23S,26S)-1-氨基-23-异丙基-21,24-二氧代-26-(3-脲基丙基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂-22,25-二氮杂二十七烷-27-酰氨基)苄酯289的制备

[0849]



[0850] 步骤1: 将BocValCitPABC 287 (30.9毫克, 0.048毫摩尔) 加至286 (32毫克, 0.032毫摩尔) 的N,N-二甲基甲酰胺 (2毫升) 溶液中, 其后将二甲基吡啶 (0.015毫升)、N,N-二异丙基乙胺 (0.022毫升) 及HOAt (4.4毫克) 加入。将混合物于室温搅拌5小时。将粗制物接受Gilson HPLC分离 (0.02%三氟乙酸), 即得黄色固状产物288 (32毫克, 72%)。

[0851] 步骤2: 将288 (16毫克, 0.012毫摩尔) 以预冷却的三氟乙酸 (1毫升) 处理5分钟, 再于真空中浓缩以得黄色固体状的脱Boc化合物。将上述固状物溶于N,N-二甲基甲酰胺 (0.5毫升) 中, 将N,N-二异丙基乙胺 (0.013毫升) 加入, 其后将206 (12毫克, 0.016毫摩尔) 的二氯甲烷 (0.1毫升) 溶液加入。将混合物于室温搅拌1小时。将哌啶 (0.2毫升) 加至上述溶液中, 再搅拌30分钟。于真空中浓缩, 将残留物通过Gilson HPLC使用乙腈/水 (0.02%三氟乙酸) 予以纯化, 即得黄色固体状的产物289 (8毫克, 40%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 9.89 (br.s., 1H), 8.35–8.21 (m, 1H), 8.15–8.00 (m, 2H), 7.96 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.91–7.84 (m, 1H), 7.84–7.72 (m, 4H), 7.63 (br.s., 2H), 7.58–7.50 (m, 3H), 7.50–7.44 (m, 2H), 7.40 (d, J=6.2Hz, 2H), 7.18 (br.s., 2H), 5.90 (br.s., 1H), 5.06–4.90 (m, 2H), 4.87 (d, J=7.4Hz, 1H), 4.83–4.68 (m, 2H), 4.42 (t, J=12.3Hz, 2H), 4.32 (br.s., 2H), 4.23 (br.s., 1H), 4.19–4.11 (m, 1H), 4.10–3.95 (m, 3H), 3.95–3.80 (m, 2H), 3.77–3.62 (m, 3H), 3.60–3.46 (m, 15H), 3.15 (br.s., 2H), 3.06 (br.s., 1H), 2.89 (d, J=5.1Hz, 3H), 2.92 (d, J=5.1Hz, 3H), 2.86–2.74

(m, 3H), 2.35–2.21 (m, 1H), 1.96–1.82 (m, 1H), 1.61 (br. s., 1H), 1.52 (br. s., 1H), 1.43–1.21 (m, 2H), 0.76 (d, J=6.6Hz, 3H), 0.79 (d, J=6.2Hz, 3H); 1622.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0852]

表 3 – 另外的连接子有效负载体

ID	结构	使用类似于 化合物 ID 的方法制备	MS: m/z
292		198	1042.2 [M+H] <sup>+</sup>
293		198	921.1 [M+Na]
294		198	1659.70 [M+3H] <sup>+</sup>
295		198	1647.1 [M+3H] <sup>+</sup>

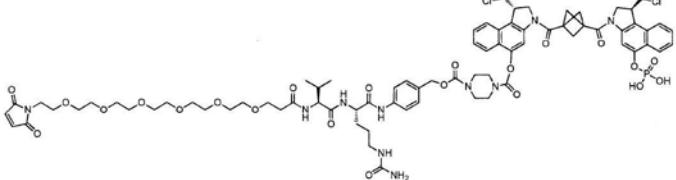
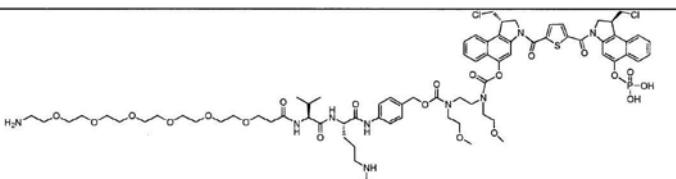
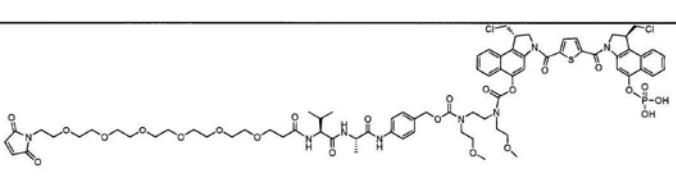
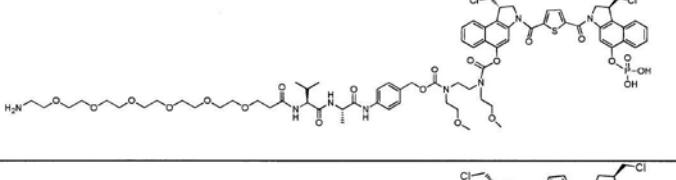
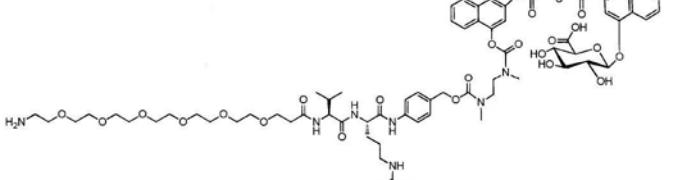
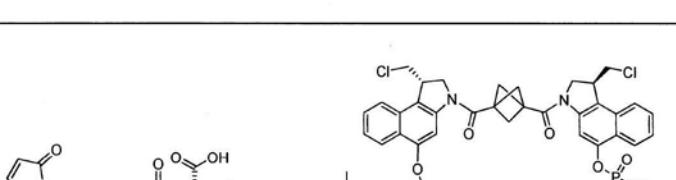
[0853]

表 3 - 另外的连接子有效负载体

ID	结构	使用类似于 化合物 ID 的方法制备	MS: m/z
296		198	1614.6 [M-H] <sup>-</sup>
297		104 <sup>1</sup>	1454.5 [M+H] <sup>+</sup>
298		198	1629.6 [M+H] <sup>+</sup>
299		198	1705.6 [M+H] <sup>+</sup>
300		198	1372.4 [M+H] <sup>+</sup>

[0854]

表3- 另外的连接子有效负载体

ID	结构	使用类似于 化合物 ID 的方法制备	MS: m/z
301		198	1599.6 [M+H] <sup>+</sup>
302		198	1625.6 [M+H] <sup>+</sup>
303		198	1619.5 [M+H] <sup>+</sup>
304		198	1539.5 [M+H] <sup>+</sup>
305		291	1633.6 [M+H] <sup>+</sup>
306		250	1199.3 [M+H] <sup>+</sup>

[0855]

表3- 另外的连接子有效负载体

ID	结构	使用类似于化合物ID的方法制备	MS: <i>m/z</i>
307		250	1227.1 [M+H] <sup>+</sup>
308		267	895.7 [M+H] <sup>+</sup>
309		250	1213.1 [M+H] <sup>+</sup>
310		250	1009.9 [M+H] <sup>+</sup>

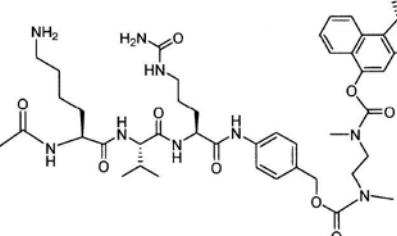
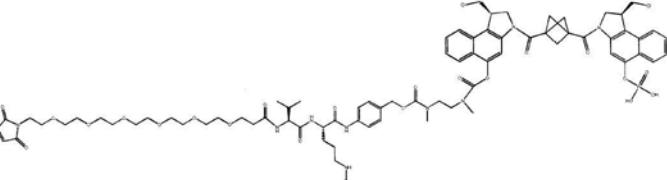
[0856]

表 3 - 另外的连接子有效负载体

ID	结构	使用类似于 化合物 ID 的方法制备	MS: m/z
311		267	892.9 [M+H] <sup>+</sup>
312		267	889.2 [M+H] <sup>+</sup>
313		267	880.9 [M+H] <sup>+</sup>
314		291	1618.6 [M+H] <sup>+</sup>

[0857]

表 3 - 另外的连接子有效负载体

ID	结构	使用类似于化合物 ID 的方法制备	MS: <i>m/z</i>
315		280	1453.9 [M+H] <sup>+</sup>
316		204	1604.2 [M+H] <sup>+</sup>

[0858]

表 4 - 另外的连接子-有效负载体, IUPAC 名称

ID	化学名称
292	乙酸(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{{[(1S)-1-(氯甲基)-5-({{[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-13-甲基-12-氧代-3,6,9-三氧杂-13-氮杂十五烷-15-基](甲基)氨基甲酰基}氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯
293	乙酸(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{{[(1S)-1-(氯甲基)-5-{{[(2-{[2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}乙基)氨基甲酰基}氧基}-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯

[0859]

294	N-(24-溴-23-氧代-4,7,10,13,16,19-六氧杂-22-氮杂二十四烷-1-酰基)-L-缬氨酰基-N～5～-氨基甲酰基-N-[4-({[(2-{[(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基](甲基)氨基}乙基)(甲基)氨基甲酰基]氨基]甲基]苯基]-L-鸟氨酰胺
295	N-[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-基]-L-缬氨酰基-N～5～-氨基甲酰基-N-[4-({[(2-{[(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基](乙基)氨基}乙基)(乙基)氨基甲酰基]氨基]甲基]苯基]-L-鸟氨酰胺
296	3-[(2,2-二甲基丙氧基)磺酰基]-N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-丙胺酰基-L-缬氨酰基-N～5～-氨基甲酰基-N-[4-({[(2-{[(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基](甲基)氨基}乙基)(甲基)氨基甲酰基]氨基]甲基]苯基]-L-鸟氨酰胺
297	((S)-1-(氯甲基)-3-(5-((S)-1-(氯甲基)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)乙-1,2-二基双(甲基氨基甲酸)4-((S)-2-((S)-2-乙酰氨基-6-氨基己酰氨基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰氨基)苄酯

[0860]

298	N-[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-基]-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-[4-({[(2-{[(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}呋喃-2-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基](乙基)氨基}乙基)(乙基)氨基甲酰基]氨基}甲基]苯基]-L-鸟氨酰胺
299	N-[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-基]-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-(4-{7-[(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基]-4-(2-甲氧基乙基)-3-氧代-2,10-二氧杂-4,7-二氮杂十一烷-1-基}苯基]-L-鸟氨酰胺
300	N~2~-乙酰基-L-离胺酰基-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-[4-({[(2-{[(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基](甲基)氨基}乙基)(甲基)氨基甲酰基]氨基}甲基]苯基]-L-鸟氨酰胺
301	N-[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-基]-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-(4-{[(4-[(1S)-1-(氯甲基)-3-[(3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基]哌嗪-1-基}氧基]甲基}苯基]-L-鸟氨酰胺

[0861]

302	N-(21-氨基-4,7,10,13,16,19-六氧杂二十一烷-1-酰基)-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-(4-{7-[({(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基]-4-(2-甲氧基乙基)-3-氧化-2,10-二氧杂-4,7-二氮杂十一烷-1-基}苯基)-L-鸟氨酰胺
303	N-[1-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧化代-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-基]-L-缬氨酰基-N-(4-{7-[({(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基]-4-(2-甲氧基乙基)-3-氧化代-2,10-二氧杂-4,7-二氮杂十一烷-1-基}苯基)-L-丙胺酰胺
304	N-(21-氨基-4,7,10,13,16,19-六氧杂二十一烷-1-酰基)-L-缬氨酰基-N-(4-{7-[({(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基]-4-(2-甲氧基乙基)-3-氧化代-2,10-二氧杂-4,7-二氮杂十一烷-1-基}苯基)-L-丙胺酰胺
305	(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(((S)-3-(5-((S)-5-(((2-((((4-((23S,26S)-1-氨基-23-异丙基-21,24-二氧化代-26-(3-脲基丙基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂-22,25-二氮杂二十七烷-27-酰氨基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酰基)氧基)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-3-羰基)噻吩-2-羰基)-1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基)氧基)-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-羧酸
306	3-[(2-{[(2-{[(4-{[(1S)-1-(氯甲基)-3-[(3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基](甲基)氨基}乙基)(甲基)氨基甲酰基]氧基}乙基)二硫基]-N-[6-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-丙氨酸

[0862]

307	3-[(2-{{(2-{{(1S)-1-(氯甲基)-3-[(3-{{(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基](甲基)氨基}乙基)(甲基)氨基甲酰基]氧基}乙基)二硫基]-N-[6-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸
308	[2-(吡啶-2-基二硫基)乙基]氨基甲酸(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{{(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}噻吩-2-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯
309	3-{{(2R)-1-{{(2-{{(1S)-1-(氯甲基)-3-[(3-{{(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基](甲基)氨基}乙基)(甲基)氨基甲酰基]氧基}丙-2-基]二硫基}-N-[6-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-丙氨酸
310	(2R)-2-(吡啶-2-基二硫基)丙基乙-1,2-二基双(甲基氨基甲酸)(1S)-1-(氯甲基)-3-[(3-{{(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯
311	甲基[2-(吡啶-2-基二硫基)乙基]氨基甲酸(1S)-1-(氯甲基)-3-[(3-{{(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯
312	[6-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己基]氨基甲酸(1S)-1-(氯甲基)-3-[(3-{{(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯

[0863]

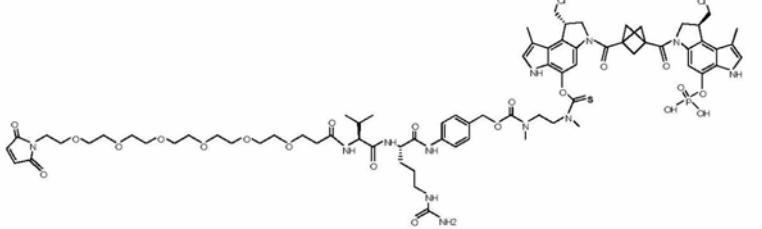
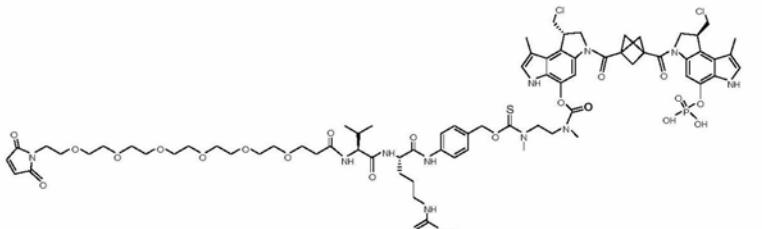
313	[2-(吡啶-2-基二硫基)乙基]氨基甲酸(1S)-1-(氯甲基)-3-[3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基]羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-酯
314	N-(21-氨基-4,7,10,13,16,19-六氧杂二十一烷-1-酰基)-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-[4-({[(2-{[(1S)-1-(氯甲基)-3-[3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(β-D-吡喃葡萄糖醛酸基氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基]羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基](甲基)氨基}(甲基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-L-鸟氨酰胺
315	N~2~-乙酰基-L-离胺酰基-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-[4-({[(2-{[(1S)-1-(氯甲基)-3-[3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(β-D-吡喃葡萄糖醛酸基氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基]羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基](甲基)氨基}(甲基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-L-鸟氨酰胺
316	N-[1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-基]-L-缬氨酰基-N~5~-氨基甲酰基-N-[4-({[(2-{[(1S)-1-(氯甲基)-3-[3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰氧基)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吲哚-3-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基]羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吲哚-5-基}氧基)羰基](甲基)氨基}(甲基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-L-鸟氨酰胺

[0864] 本发明进一步提供表5A及5B中所述的化合物

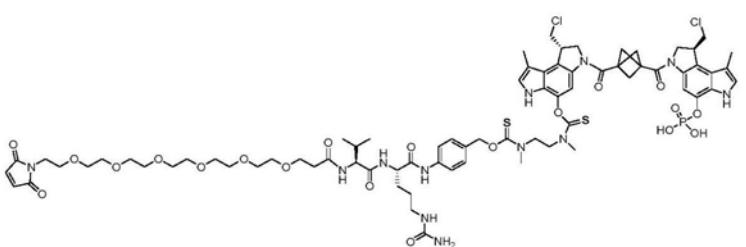
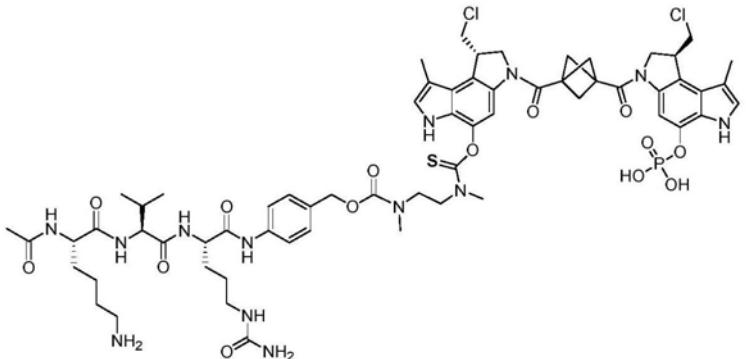
[0865]

表 5A 代表性硫代氨基甲酸酯连接子有效负载体			
ID	结构	建议的合成方法	M/S (预测)

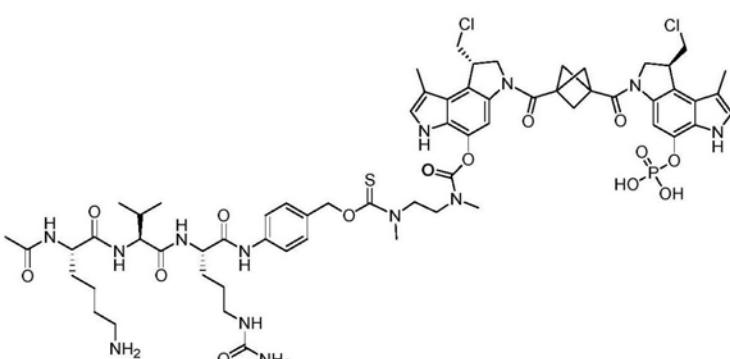
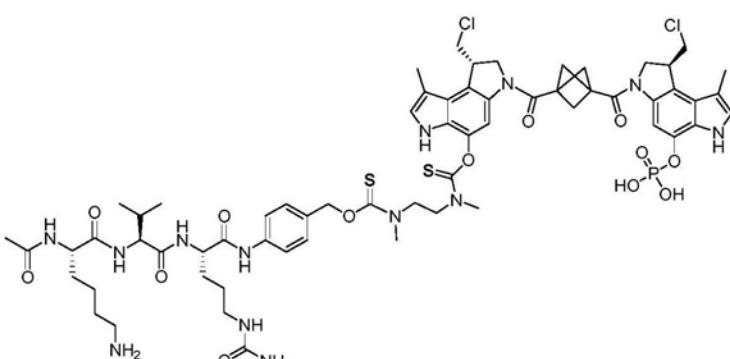
[0866]

317	 <p>(2-((((S)-8-(氯甲基)-6-((S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰氧基)-1,2,3,6-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3-羰基)双环[1.1.1]戊烷-1-羰基)-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-基)氧基)硫羰基)(甲基氨基)乙基)(甲基氨基甲酸4-((23S,26S)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-23-异丙基-21,24-二氧代-26-(3-脲基丙基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂-22,25-二氮杂二十七烷-27-酰氨基)苄酯</p>	231	1622.5 7
318	 <p>(2-(((4-((23S,26S)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-23-异丙基-21,24-二氧代-26-(3-脲基丙基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂-22,25-二氮杂二十七烷-27-酰氨基)苄基)氧基)硫羰基)(甲基氨基)乙基)(甲基氨基甲酸(S)-8-(氯甲基)-6-((S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰氧基)-1,2,3,6-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3-羰基)双环[1.1.1]戊烷-1-羰基)-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-酯</p>	231	1622.5 7

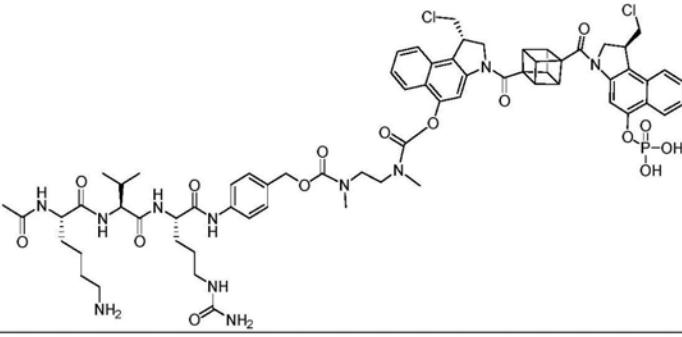
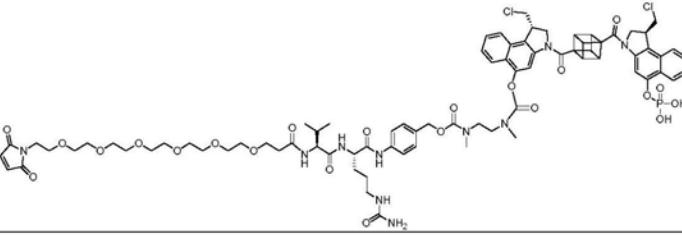
[0867]

319	 <p>O-((23S,26S)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-23-异丙基-21,24-二氧代-26-(3-脲基丙基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂-22,25-二氮杂十七烷-27-酰氨基)苄基乙-1,2-二基双(甲基硫代氨基甲酸)O’-((S)-8-(氯甲基)-6-(3-((S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰氧基)-1,2,3,6-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3-羧基)双环[1.1.1]戊烷-1-羧基)-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-酯)</p>	231	1641.6 5
320	 <p>(2-((((S)-8-(氯甲基)-6-(3-((S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰氧基)-1,2,3,6-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3-羧基)双环[1.1.1]戊烷-1-羧基)-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-基)氧基)硫簇基)(甲基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-乙酰氨基-6-氨基己酰氨基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰氨基)苄酯</p>	237	1377.4 9

[0868]

321	 <p>(2-(((4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-乙酰氨基-6-氨基己酰氨基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰氨基)苄基)氧基)硫羰基)(甲基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酸(S)-8-(氯甲基)-6-(3-((S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰氧基)-1,2,3,6-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3-羰基)双环[1.1.1]戊烷-1-羰基)-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-酯</p>	237	1377.4 9
322	 <p>O'-(S)-8-(氯甲基)-6-(3-((S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰氧基)-1,2,3,6-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3-羰基)双环[1.1.1]戊烷-1-羰基)-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-基)乙-1,2-二基 双 ( 甲 基 硫 代 氨 基 甲 酸 )O-(4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-乙酰氨基-6-氨基己酰氨基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酰氨基)苄酯)</p>	237	1393.4 7

[0869]

表 5B 代表性立方烷连接子有效负载体			
ID	结构	合成方法	M/S (预测)
323		237	1392.5 [M+H] <sup>+</sup>
324		231	1636.1 [M+H] <sup>+</sup>

[0870] 用于分析的HPLC及LC-MS条件

[0871] 方案A:柱:Waters Acquity UPLC HSS T3,2.1毫米x 50毫米,C18,1.7微米;流动相A:0.1%甲酸的水液(v/v);流动相B:0.1%甲酸的乙腈液(v/v);梯度:于0.1分钟期间5% B,于0.9分钟期间5%至95% B,于0.1分钟期间95% B;流速:1.25毫升/分钟。温度:60℃;检测:200-450奈米;MS (+) 范围100-2000道耳顿;注入量:5微升;仪器:Waters Acquity。

[0872] 方案B:柱:Waters Acquity UPLC HSS T3,2.1毫米x 50毫米,C18,1.7微米;流动相A:0.1%甲酸的水液(v/v);流动相B:0.1%甲酸的乙腈液(v/v);梯度:于0.1分钟期间5% B,于2.5分钟期间5%至95% B,于0.35分钟期间95% B;流速:1.25毫升/分钟。温度:60℃;检测:200-450奈米;MS (+) 范围100-2000道耳顿;注入量:5微升;仪器:Waters Acquity。

[0873] 方案C:柱:Phenomenex Luna C18 (2),150x 3.0毫米,5微米;流动相A:0.1%甲酸的水液(v/v);流动相B:0.1%甲酸的乙腈液(v/v);梯度:于1.5分钟期间50% B,于6.5分钟期间50%至100% B,然后于3分钟期间100% B;流速:0.75毫升/分钟。温度:45℃;检测:DAD 215奈米,254奈米;MS (+) 范围150-2000道耳顿;注入量:10微升;仪器:Agilent 1200LCMS。

[0874] 方案D:柱:Phenomenex Luna C18PFP (2),150x 3.0毫米,5微米;流动相A:0.1%甲酸的水液(v/v);流动相B:0.1%甲酸的乙腈液(v/v);梯度:于1.5分钟期间0%至5% B,于8.5分钟期间5%至100% B,然后于2分钟期间100% B;流速:0.75毫升/分钟。温度:未控制;检测:DAD 215奈米,254奈米;MS (+) 范围150-2000道耳顿;注入量:10微升;仪器:Agilent 1200LCMS。

[0875] 方案E:柱:Phenomenex Luna C18PFP (2),150x 3.0毫米,5微米;流动相A:0.1%甲酸的水液(v/v);流动相B:0.1%甲酸的乙腈液(v/v);梯度:于1.5分钟期间5% B,于8.5分钟期间5%至100% B,然后于2分钟期间100% B;流速:0.75毫升/分钟。温度:未控制;检测:DAD

215奈米,254奈米;MS (+) 范围150–2000道耳顿;注入量:10微升;仪器:Agilent 1200LCMS。

[0876] 方案F:柱:Xtimate C18,30x 2.1毫米,3微米;流动相A:0.037%三氟乙酸的水液(v/v);流动相B:0.037%三氟乙酸的乙腈液(v/v);梯度:于0.1分钟期间10%B,于3分钟期间10%至80%B,然后于0.1分钟期间80%;流速:1.5毫升/分钟。温度:40℃;检测:DAD 220奈米;MS (+) 范围100–1000道耳顿;注入量:3微升;仪器:Shimadzu。

[0877] 方案G:柱:Xtimate C18,30x 2.1毫米,3微米;流动相A:0.037%三氟乙酸的水液(v/v);流动相B:0.037%三氟乙酸的乙腈液(v/v);梯度:于0.1分钟期间10%B,于3分钟期间10%至80%;然后于0.1分钟期间80%;流速:1.5毫升/分钟。温度:40℃;检测:DAD 220奈米;MS (+) 范围100–1000道耳顿;注入量:3微升;仪器:Shimadzu。

[0878] 方案H:柱:Xtimate C18,30x 2.1毫米,3微米;流动相A:0.037%三氟乙酸的水液(v/v);流动相B:0.037%三氟乙酸的乙腈液(v/v);梯度:于0.1分钟期间0%;于2分钟期间0%至60%;然后于0.1分钟期间60%;流速:1.5毫升/分钟。温度:40℃;检测:DAD 220奈米;MS (+) 范围100–1000道耳顿;注入量:2微升;仪器:Shimadzu。

#### [0879] 用于纯化的HPLC条件

[0880] 方法A:柱:Phenomenex Luna C18 (2),150x 21.2毫米,5微米;流动相A:0.02%甲酸的水液;流动相B:0.02%甲酸的乙腈液;梯度:于1.5分钟期间40%;于8.5分钟期间40%至100%;于0.5分钟期间100%;流速:27毫升/分钟。检测:DAD 215奈米,254奈米;MS (+) 范围150–2000道耳顿;仪器:Waters FractionLynx。

[0881] 方法B:柱:Phenomenex Luna PFP (2),150x 21.2毫米,5微米;流动相A:0.02%甲酸的水液;流动相B:0.02%甲酸的乙腈液;梯度:于1.5分钟期间30%;于8.5分钟期间30%至60%;于0.5分钟期间60%至100%;于2分钟期间100%;流速:27毫升/分钟。检测:DAD 215奈米,254奈米;MS (+) 范围150–2000道耳顿;仪器:Waters FractionLynx。

[0882] 方法C:柱:Phenomenex Synergi Polar RP,150x 21.2毫米,4微米;流动相A:0.02%甲酸的水液;流动相B:0.02%甲酸的乙腈液;梯度:于1.5分钟期间20%;于8.5分钟期间20%至50%;于0.5分钟期间50%至100%;于2分钟期间100%;流速:27毫升/分钟。检测:DAD 210–360奈米;MS (+) 范围150–2000道耳顿;仪器:Waters FractionLynx。

[0883] 方法D:柱:Xtimate C18,30x 2.1毫米,3微米;流动相A:0.2%三氟乙酸的水液(v/v);流动相B:0.2%三氟乙酸的乙腈液(v/v);梯度:于1.5分钟期间25%;于25分钟期间25%至50%;然后于5.0分钟期间100%;流速:90毫升/分钟。温度:未控制;检测:DAD 220奈米;MS (+) 范围100–1000道耳顿;仪器:Shimadzu。

[0884] 方法E:柱:LUNA C18,250x 50毫米,10微米;流动相A:0.2%三氟乙酸的水液(v/v);流动相B:0.2%三氟乙酸的乙腈液(v/v);梯度:于1.5分钟期间25%;于25分钟期间25%至55%;然后于5.0分钟期间100%;流速:90毫升/分钟。温度:未控制;检测:DAD 220奈米;MS (+) 范围100–1000道耳顿;仪器:Shimadzu。

[0885] 方法F:柱:Phenomenex Luna C18 (2),250x 50毫米,10微米;流动相A:0.2%三氟乙酸的水液(v/v);流动相B:0.2%三氟乙酸的乙腈液(v/v);梯度:于30分钟期间35%至65%;然后于5.0分钟期间100%;流速:90毫升/分钟。温度:未控制;检测:DAD 220奈米;MS (+) 范围100–1000道耳顿;仪器:Shimadzu。

[0886] 方法G:柱:Phenomenex Luna C18 (2),250x 50毫米,10微米;流动相A:0.2%三氟

乙酸的水液(v/v);流动相B:0.2%三氟乙酸的乙腈液(v/v);梯度:于1.5分钟期间10%B,于8.5分钟期间10%B至55%;于0.5分钟期间55%至100%;然后保持于100% B 1.5分钟;流速:27毫升/分钟。温度:未控制;检测:DAD 210-360奈米;MS (+) 范围150-2000道耳顿;仪器:305RP Waters Fractional Lynx LCMS。

[0887] 方法H:柱:Phenomenex Luna C18(2),150x 21.2毫米,5微米;流动相A:0.2%三氟乙酸的水液(v/v);流动相B:0.2%三氟乙酸的乙腈液(v/v);梯度:于1.5分钟期间10%;于8.5分钟期间10%至75%;然后于2.0分钟期间75%至100%;流速:27毫升/分钟。温度:未控制;检测:DAD 210-360奈米;MS (+) 范围150-2000道耳顿;仪器:305RP Waters Fractional Lynx LCMS。

[0888] 方法H1:柱:Phenomenex Luna C18(2),150x 21.2毫米,5微米;流动相A:0.2%三氟乙酸的水液(v/v);流动相B:0.2%三氟乙酸的乙腈液(v/v);梯度:于1.5分钟期间1%;于8.5分钟期间1%至100%;然后于2.0分钟期间100%;流速:27毫升/分钟。温度:未控制;检测:DAD 210-360奈米;MS (+) 范围150-2000道耳顿;仪器:305RP Waters Fractional Lynx LCMS。

[0889] 方法I1:柱:Phenomenex Luna PFP(2),150x 21.2毫米,5微米;流动相A:0.02%三氟乙酸的水液(v/v);流动相B:0.02%三氟乙酸的乙腈液;梯度:于1.5分钟期间40%;于8.5分钟期间40%至100%;然后于2.0分钟期间100%;流速:27毫升/分钟;检测:DAD 215奈米,254奈米;MS (+) 范围150-2000道耳顿;仪器:305Waters FractionLynx LCMS。

[0890] 方法I2:柱:Phenomenex Luna PFP(2),150x 21.2毫米,5微米;流动相A:0.02%三氟乙酸的水液;流动相B:0.02%三氟乙酸的乙腈液;梯度:于1.5分钟期间1%;于8.5分钟期间1%至100%;然后于2.0分钟期间100%;流速:27毫升/分钟;检测:DAD 215奈米,254奈米;MS (+) 范围150-2000道耳顿;仪器:305Waters FractionLynx LCMS。

[0891] 方法J1:柱:Phenomenex Synergi Polar RP,150x 21.2毫米,4微米;流动相A:0.02%三氟乙酸的水液;流动相B:0.02%三氟乙酸的乙腈液;梯度:于1.5分钟期间10%;于8.5分钟期间10%至75%;于0.5分钟期间75%至100%;然后于2分钟期间100%;流速:27毫升/分钟;检测:DAD 210-360奈米;MS (+) 范围150-2000道耳顿;仪器:Waters FractionLynx。

[0892] 方法K1:柱:Phenomenex Luna C18(2),250x 50毫米,10微米;流动相A:0.2%三氟乙酸的水液(v/v);流动相B:0.2%三氟乙酸的乙腈液(v/v);梯度:于1.5分钟期间1%;于8.5分钟期间1%至75%;于0.5分钟期间75%至100%;然后保持于100% B 1.5分钟;流速:27毫升/分钟;温度:未控制;检测:DAD 210-360奈米;MS (+) 范围150-2000道耳顿;仪器:305RP Waters Fractional Lynx LCMS。

[0893] 方法L1:柱:ChiralTech AD-H,500X 21.5毫米,5微米;流动相A:二氧化碳(v/v);流动相B:甲醇(v/v);梯度:等位(Iscocractic)条件60%二氧化碳,40%甲醇;流速:36毫升/分钟二氧化碳,24毫升/分钟甲醇。背压100巴;检测:DAD 210;仪器:Thar 80(Waters)。

[0894] 方法M:柱:Phenomenex Synergi,250x 50毫米,10微米;流动相A:0.1%三氟乙酸的水液;流动相B:0.1%三氟乙酸的乙腈液;梯度:于30分钟期间40%至70%;然后于5.0分钟期间95%;流速:80毫升/分钟;检测:DAD 220,254奈米;MS (+) 范围100-1000道耳顿;仪器:Shimadzu LC-20AP。

[0895] 方法N:柱:Phenomenex Luna Phenylhexyl 150x 21.2毫米,5微米;流动相A:0.2%三氟乙酸的水液(v/v);流动相B:0.2%三氟乙酸的乙腈液(v/v);梯度:于1.5分钟期间35%B,于18.5分钟期间35%至100%B,然后于2.0分钟期间100%;流速:27毫升/分钟;温度:未控制;检测:DAD 210-360奈米;MS (+) 范围150-2000道耳顿;仪器:305RP Waters Fractional Lynx LCMS。

[0896] 抗体药物缀合物的范例

[0897] 方案A:用于将抗体与连接子-有效负载体经由内部二硫键缀合的一般步骤。

[0898] IL13Ra2-AB08-v1.0/1.0-人类IgG1抗体[Pfizer,12-13毫克/毫升于达贝尔克氏磷酸盐缓冲盐水(Dulbecco's Phosphate Buffered Saline,DPBS,Lonza,pH 7.4)]中的溶液或VEGFR-1121B-人类IgG1抗体[Pfizer,19.3毫克/毫升于达贝尔克氏磷酸盐缓冲盐水(Dulbecco's Phosphate Buffered Saline,DPBS,Lonza,pH 7.4)]中的溶液经由加入2.9-3当量三(2-羧乙基)膦盐酸盐(TCEP,5mM的DPBS溶液)还原。将反应于37℃培育1-1.25小时,然后令其冷却至周围温度。缀合反应系通过加入7当量连接子-有效负载体[10mM的N,N-二甲基乙酰胺(DMA)溶液]进行。将另外的N,N-二甲基乙酰胺(DMA)加至反应混合物中以于最终反应混合物中达到10-15%(v/v)总有机溶剂组分。将反应于周围温度培育1小时。在抗体药物缀合物1-5(ADC 1-5)方面,于周围温度1小时后,经由加入10当量半胱氨酸(20mM的DPBS溶液)将过量的连接子-有效负载体的反应中止。将中止反应的反应混合物于周围温度陈化15分钟,然后于4℃贮存直至纯化为止。在抗体药物缀合物6-14(ADC 6-14)方面,于周围温度1小时后,经由GE Sephadex胶脱盐柱及DPBS(pH7.4)洗提液将反应混合物脱盐,然后于4℃贮存直至纯化为止。将粗制材料通过粒径排阻色谱法(SEC)使用含GE Superdex 200(10/300GL)柱及DPBS(pH7.4)洗提液的GE AKTA Explorer系统予以纯化。

[0899] 方案B:柱:Agilent Poroshell 300SB-C8,75x 2.1毫米,2.6微米;流动相A:0.1%甲酸的水液(v/v);流动相B:0.1%甲酸的乙腈液(v/v);梯度:起始条件:于4分钟期间20%B至45%;流速:1.0毫升/分钟。温度:60℃;检测:220奈米;MS (+) 范围400-2000道耳顿;注入量:10微升;仪器:Agilent 1100LC,Waters Micro质量ZQ MS。反折积系使用MaxEnt1进行。

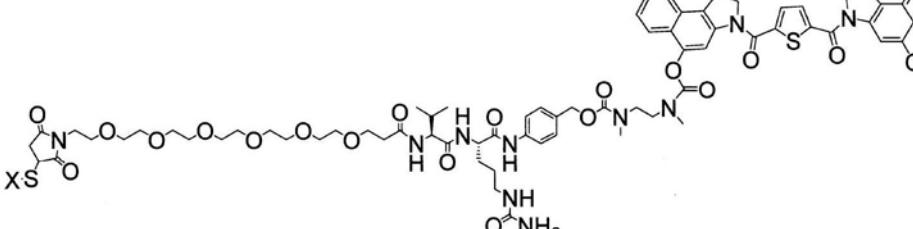
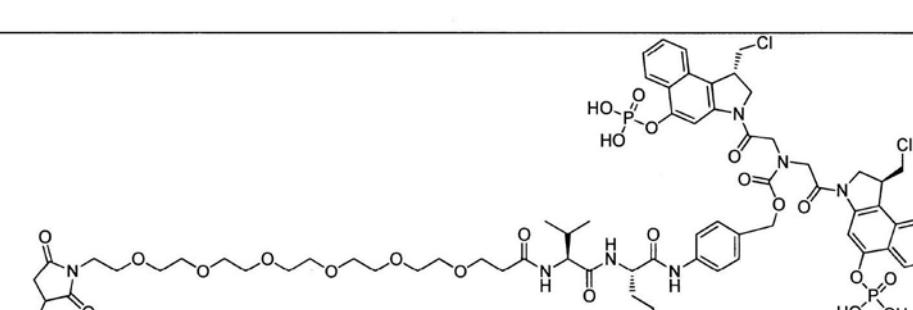
[0900] 方案C:柱:GE Superdex 200(5/150GL);流动相:含2%乙腈的磷酸盐缓冲盐水(PBS,1X,pH 7.4);等位;流速:0.25毫升/分钟。温度:室温;注入量:10微升;仪器:Agilent 1100HPLC。

[0901] 方案D:转谷氨酰胺酶ADC's的制备,以连接子有效负载体AcLys-vc-MMAD为例("Location matters: site of conjugation modulates stability and pharmacokinetics of antibody drug conjugates",Chem Biol.2013,20,161-7)。在C16-HC及C16-LC缀合至AcLys-vcMMAD方面,将抗体于含25mM Tris-HCl(pH 8.0)及150mM氯化钠的缓冲液中调整至5毫克/毫升。将AcLys-vc-MMAD以超过抗体的5倍(C16-HC)或10倍(C16-LC)的摩尔过量加入,且酶反应系通过加入1%(w/v)(C16-HC)或2%(w/v)(C16-LC)细菌转谷氨酰胺酶(Ajinomoto Activa TI,Japan)开始。边和缓摇动边于22℃(C16-HC)或37℃(C16-LC)培育16小时后,将抗体药物缀合物(ADC)使用MabSelect SuRe(GE Healthcare, Inc)使用标准步骤予以纯化。

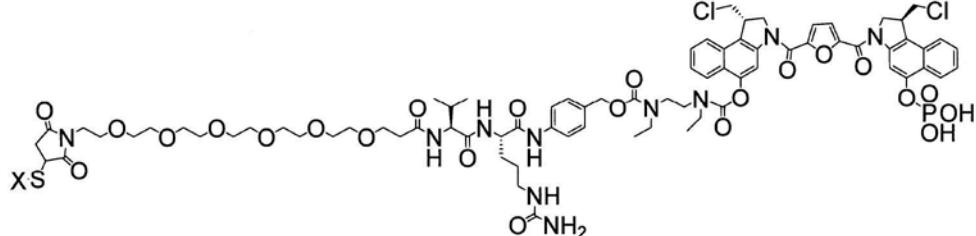
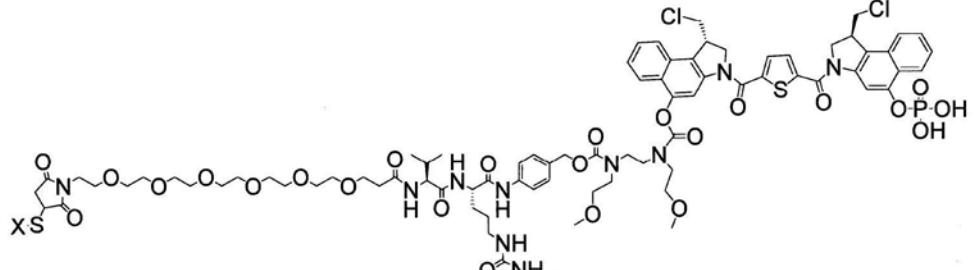
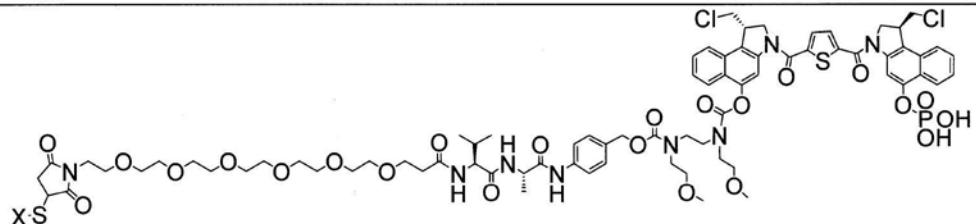
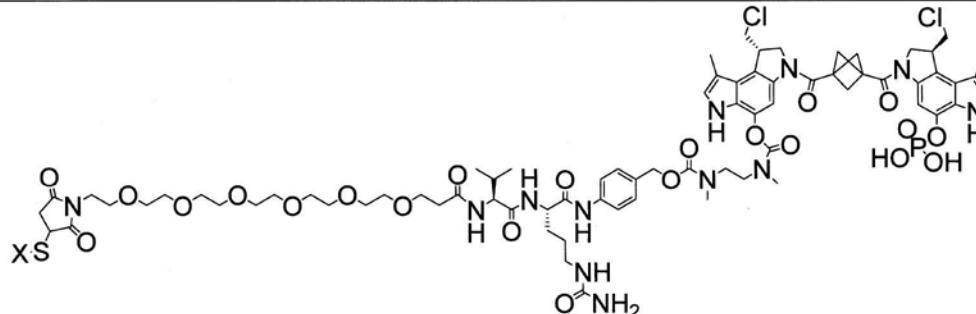
[0902] 本发明进一步提供表6A及6B中所述的化合物。

[0903]

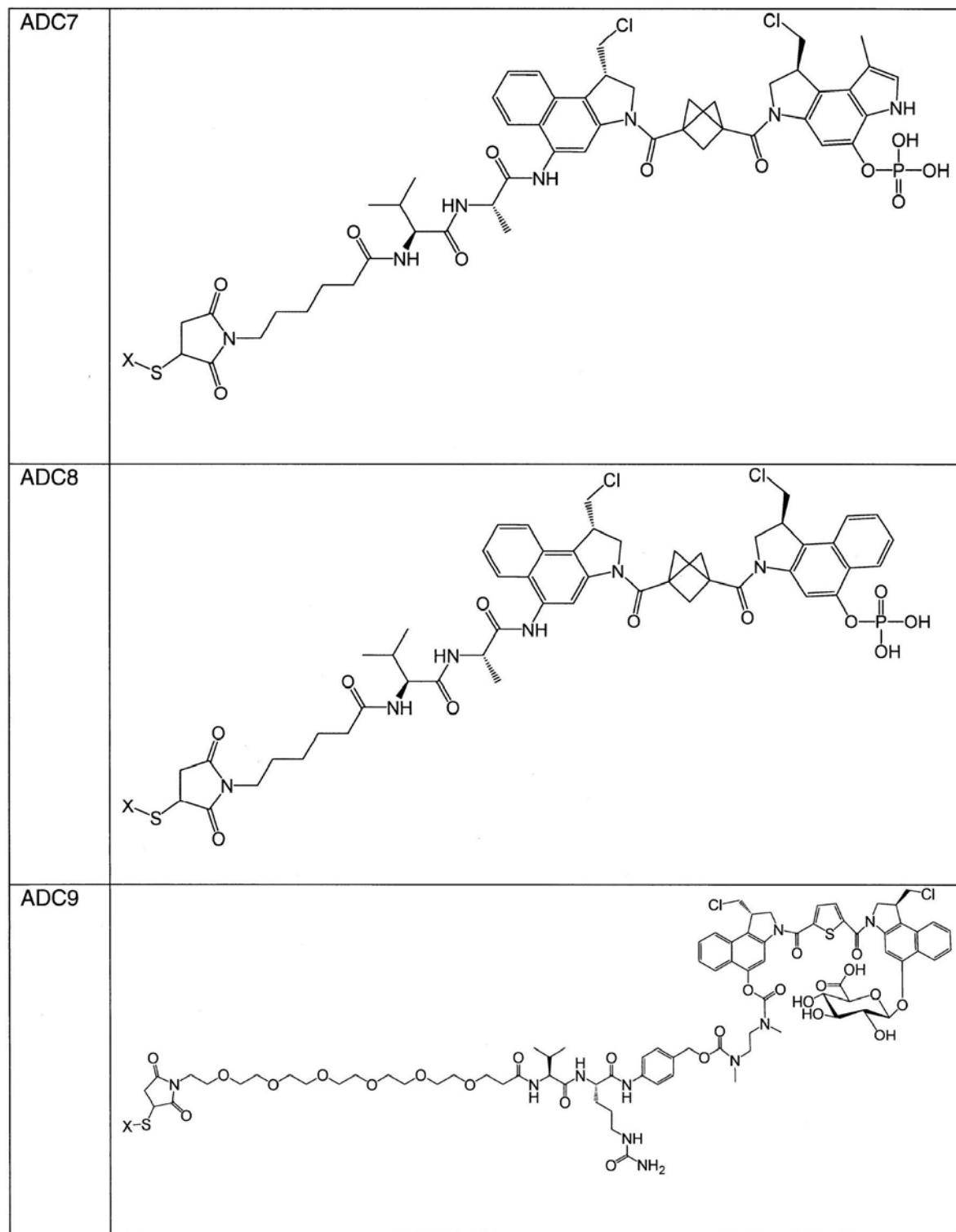
表 6A 抗体药物缀合物

ID	结构
ADC1	 <p>XS</p>
ADC2	 <p>X-S-</p>

[0904]

ADC3	
ADC4	
ADC5	
ADC6	

[0905]



[0906]

ADC10	
ADC11	
ADC12	

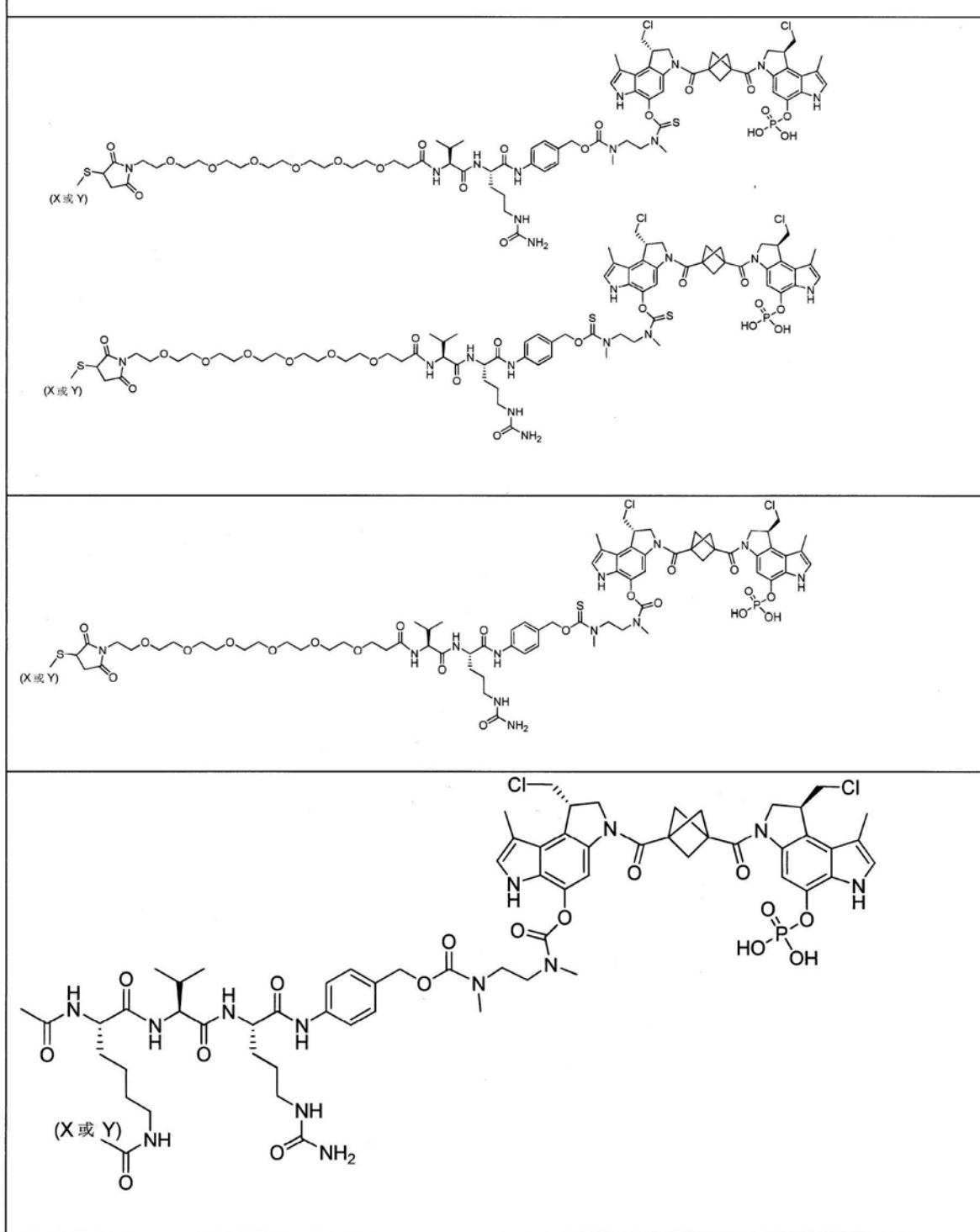
[0907]

ADC13	
ADC14	

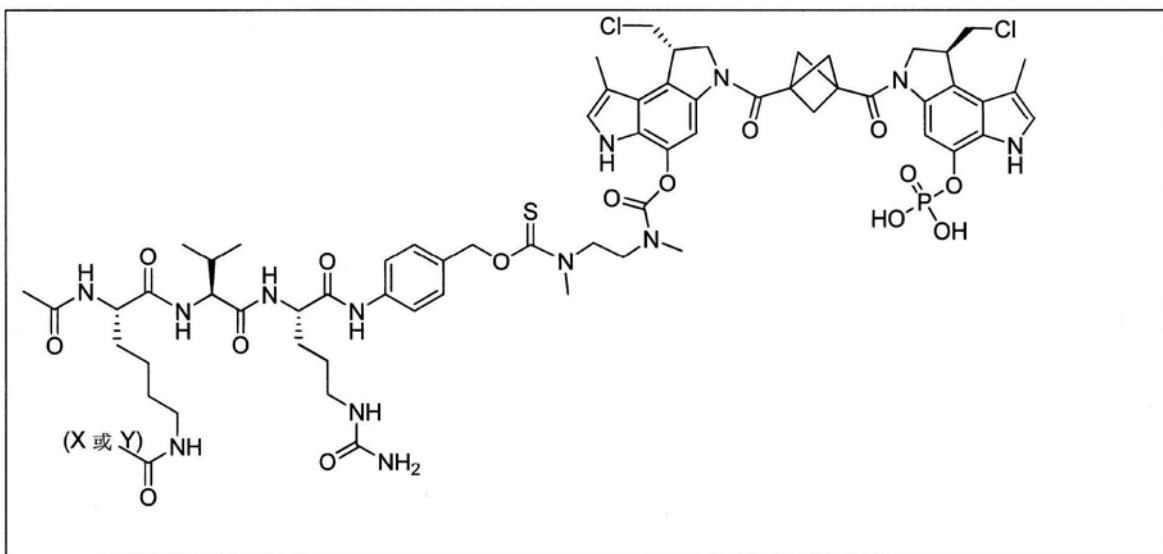
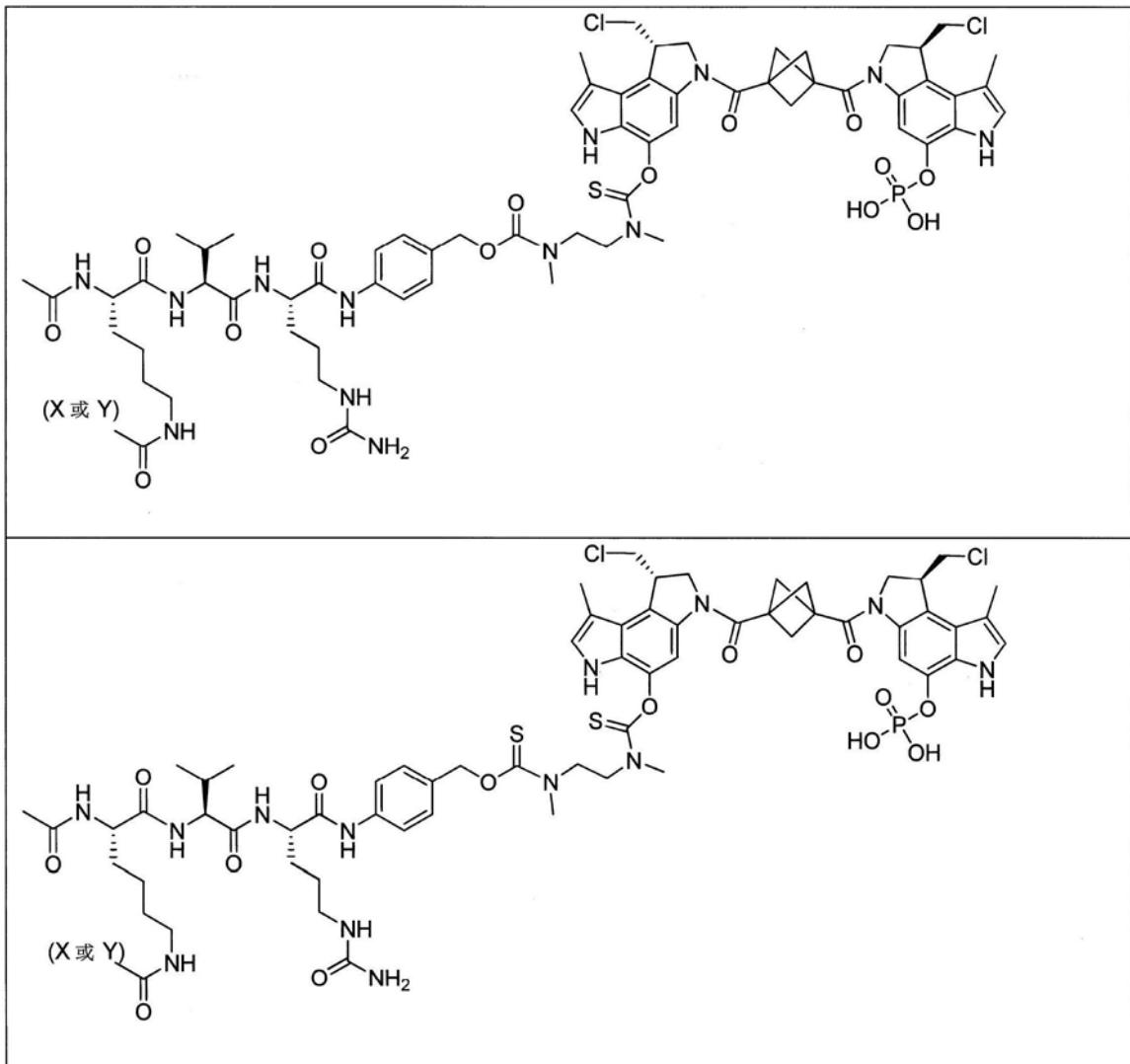
[0908] 上表中，“X及Y”意指抗体。例示的抗体药物缀合物(ADC)缀合至以X表示的IL13抗体(IL13Ra2-AB08-v1.0/1.0-人类IgG1抗体)及以Y表示的VEGF抗体VEGFR-1121B-hG1。

[0909]

表 6B 另外的抗体药物缀合物



[0910]



[0911] 上表中，“X及Y”意指抗体。例示的抗体药物缀合物(ADC)缀合至以X表示的IL13抗体(IL13Ra2-AB08-v1.0/1.0-人类IgG1抗体)及以Y表示的VEGF抗体VEGFR-1121B-hG1。

[0912] 示例的抗体药物缀合物(ADC)-分析数据

[0913]

表 7 – ADC 分析数据

ADC ID	连接子/有效负载体 ID	理论 Δ 质量或连接子-有效负载体分子量	质谱: SEC-HPLC 保留时间和 HPLC Δ 质量, 轻链(LC)部分	每个抗体的负载或药物比(DAR)
ADC1	223	1618	SEC (方案 C): 6.352 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1619	4.0
ADC2	189	1545	SEC (方案 C): 6.388 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1545	2.7
ADC3	298	1630	SEC (方案 C): 6.276 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1631	5.2
ADC4	299	1706	SEC (方案 C): 6.331 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1707	3.5

[0914]

表 7 – ADC 分析数据

ADC5	303	1620	SEC (方案 C): 6.323 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1621	3.3
ADC6	231	1607	SEC (方案 C): 6.606 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1609	3.2
ADC7	266	1032	SEC (方案 C): 6.637 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1032	3.9
ADC8	279	1029	SEC (方案 C): 6.639 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1030	4.1
ADC9	278	1713	SEC (方案 C): 5.779 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1716	5.1
ADC10	231	1607	SEC (方案 C): 6.567 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1609	3.3

[0915]

表 7 – ADC 分析数据

ADC11	266	1032	SEC (方案 C): 6.590 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1032	4.6
ADC12	279	1029	SEC (方案 C): 6.582 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1030	4.5
ADC13	278	1713	SEC (方案 C): 5.577 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1718	4
ADC14	294	1578	SEC (方案 C): 6.491 分钟; HPLC (方案 B): LC Δ 质量 = 1578	3.1

[0916] 用于有效负载体及抗体药物缀合物的生物评估的实验程序

[0917] 细胞系

[0918] 癌细胞系得自ATCC (Manassas, VA)。N87 (衍生自转移肝部位的人类胃癌瘤)、HL60 (白血病)、A375 (黑色素瘤) 及HUVEC (人类脐静脉内皮细胞) 于RPMI 1640培养基中生长。所有培养基均补充10% 胎牛血清、1% 丙酮酸钠及1% L-谷氨酰胺 (Invitrogen, Grand Island, NY)。人类脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 得自Lonza (Allendale, NJ) 且保持于补充EGM-2SingleQuots (Lonza#CC-4176) 的EGM2培养基中。所有细胞均保持于加湿培育箱 (37°C, 5% 二氧化碳) 中。

[0919] 用于有效负载体的细细胞毒性分析步骤

[0920] 将于100微升培养基中的细胞于96孔式盘中培养。将癌细胞系以指定的化合物通过将50微升3X储液一式两份地以10种浓度加入进行处理。将细胞与化合物培育培育四天，然后将30微升CellTiter® 96AQueous One MTS溶液 (Promega Cat#G3582) 加至细胞中，于37°C培育1.5小时，然后于490nm对于Victor读盘仪 (Victor plate reader, Perkin Elmer,

Walther, MA) 上测量吸亮度。相对细胞存活率系以占未经处理对照孔的百分比测出。IC50值使用四参数逻辑模型#203与XLfit v4.2 (IDBS, Guildford, Surrey, UK) 计算出。

[0921] 用于抗体药物缀合物 (ADC) 的细细胞毒性分析步骤

[0922] 第0天: 将于100微升完全培养基中的细胞接种于96孔式透明平底黑盘中, 且培养过夜 (0/N)。第1天: 将50微升3X滴定的测试化合物加入使最终量达150微升, 再于37℃、5% 二氧化碳培养72小时。第4天: 将50微升Cell TiterGlo加至所有孔中, 涡动20–30分钟, 以 Victor 3于冷光程序下读数。数据分析: 活存率%以100X(每一数据点读数-背景平均值) 仅细胞的对照组平均值-背景平均值计算出。

[0923] 下表提供所选择的本发明的有效负载体的IC50数据。

[0924]	表 8 – 有效负载体 IC50 数据		
	化合物编号	N87	HL-60
		IC50 (nM)	IC50 (nM)
	13	0.138	0.014

[0925]

表 8 – 有效负载体 IC50 数据		
16	1.761	0.163
18	173.740	2.188
20	296.612	1.624
23	0.252	0.072
26	10.000	-
29	0.009	<0.001
32	0.052	0.005
35	1.210	-
38	10.000	-
40	1.882	0.177
44	10.000	5.292
48	12.163	1.754
53	-	0.012
56	100.000	6.934
60	10.000	-
65	0.554	0.004
68	0.033	-
71	0.085	-
74	76.494	7.488
79	7.962	0.496
82	3.242	0.359

[0926]

表 8 – 有效负载体 IC50 数据		
85	0.053	0.005
88	0.502	0.022
91	0.057	0.004
97	0.222	0.009
108	3.981	0.431
109	2.296	0.095
115	1.439	0.015
117	0.004	-
119	0.004	-
123	0.003	-
126	0.004	-
130	1.804	0.227
134	-	0.099
135	0.019	0.005
136	0.003	0.005
141	12.689	0.361
142	100.000	10.000
143	100.000	10.000
144	>10.000	3.004
145	0.130	0.051
146	3.102	-

表 8 – 有效负载体 IC50 数据

147	0.017	0.003
149	0.132	0.007
152	0.278	0.008
153	4.474	
154	0.026	0.003
156	10.000	61.079
157	10.000	77.406
158	14.334	4.911
159	2.389	0.045
160	12.692	-
161	10.000	27.250
162	0.749	0.020
163	6.895	0.179
164	-	0.057
165	8.259	0.107
166	5.689	0.659
167	10.000	1.451
168	-	0.097
169	9.821	0.388
170	0.005	-
171	1.554	0.131

[0927]

表 8 – 有效负载体 IC50 数据		
172	13.800	0.474
173	13.097	0.169
174	87.918	1.971
175	-	11.843
176	26.413	0.199
177	2.125	0.196
178	0.484	0.036
179	172.553	14.322
180	0.425	0.048
181	0.005	-

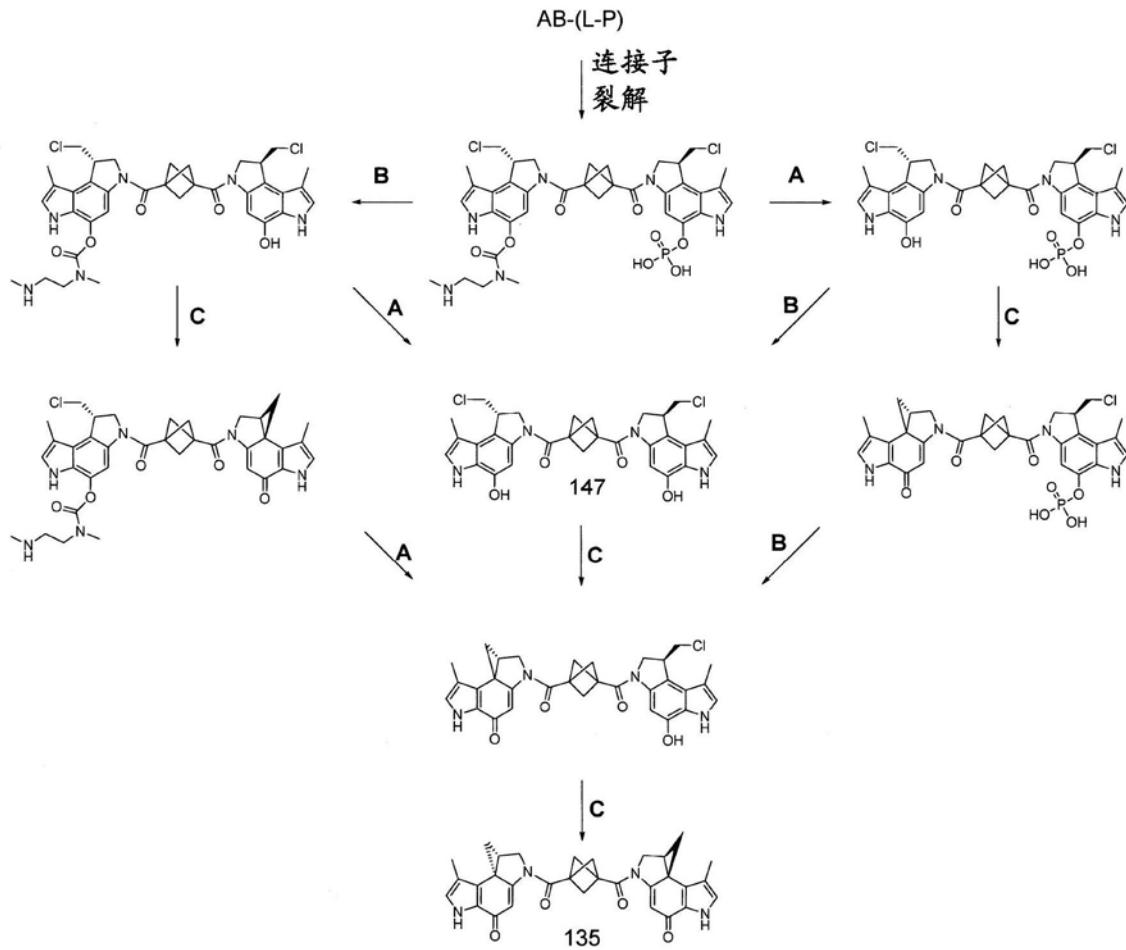
[0928] [0929] 下表提供所选择的本发明的抗体药物缀合物 (ADC) 的 IC50 数据。

表 9 – ADC IC50 数据		
ID	A375 IC50 纳克/毫升	HUVEC IC50 纳克/毫升
ADC1	0.15	-
ADC2	6.36	-
ADC3	2.64	-
ADC4	0.14	-
ADC5	0.14	-
ADC6	0.8	-

表 9 – ADC IC50 数据		
ADC7	2.0	-
ADC8	1.8	-
ADC9	0.2	-
ADC10	-	9.4
ADC11	-	137
ADC12	-	7655
ADC13	-	5.92
ADC14	-	0.88

[0931] [0932] 下列流程以一个连接子类型为例,举例说明抗体药物缀合物(ADC)于给予患者后及连接子由ADC中裂解后,有效负载体如何地释放。各种物质于连接子释放后形成,其于生物媒介中相互转化。所形成的所有物质均作为本发明的一部分请求保护,且均涉及通式F<sup>1</sup>–L<sup>1</sup>–T–L<sup>2</sup>–F<sup>2</sup>。

[0933]



A = 二氨基乙烷的自我毁灭

## B = 磷酸酯的水解

### C = 环丙烷形成