(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 120202212 A
(43)申请公布日 2025.06.24

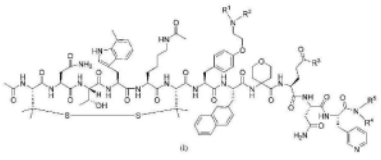
(21)申请号 202380079192.7
(22)申请日 2023.11.30
(66)本国优先权数据
202211530438.1 2022.11.30 CN
202310206299.5 2023.03.03 CN
202310261818.8 2023.03.15 CN
202310349519.X 2023.03.31 CN
202311144489.5 2023.09.05 CN
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2025.05.14
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2023/135637 2023.11.30
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2024/114762 ZH 2024.06.06
(71)申请人 上海翰森生物医药科技有限公司
地址 201203 上海市浦东新区中国(上海)自由贸易试验区金科路3728号11幢
申请人 江苏豪森药业集团有限公司
(72)发明人 董加强 俞文胜 陈运 程宝 龚珍
(74)专利代理机构 上海弼升知识产权代理有限公司 31347
专利代理师 王玥
(51)Int.Cl.
*C07K 7/64*(2006.01)
*C07K 1/00*(2006.01)
*A61P 1/00*(2006.01)
*A61P 11/00*(2006.01)
*A61P 17/06*(2006.01)
*A61P 19/02*(2006.01)
*A61P 35/00*(2006.01)
*A61P 37/00*(2006.01)
*A61K 38/00*(2006.01)
*A61K 38/12*(2006.01)

(54)发明名称

一种多肽抑制剂、其制备方法和应用

(57)摘要

本发明涉及一种多肽抑制剂、其制备方法和应用。特别地,本发明涉及通式(I)所示的化合物、其制备方法及含有该化合物的药物组合物,及其作为抑制剂在治疗多种炎症性、自身免疫疾病和癌症的用途,其中通式(I)中的各取代基与说明书中的定义相同。



CN 120202212 A

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2024 年 6 月 6 日 (06.06.2024)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2024/114762 A1

(51) 国际专利分类号:

| | |
|---|---|
| ***C07K 7/64*** (2006.01) | ***A61P 19/02*** (2006.01) |
| ***C07K 1/00*** (2006.01) | ***A61P 35/00*** (2006.01) |
| ***A61P 1/00*** (2006.01) | ***A61P 37/00*** (2006.01) |
| ***A61P 11/00*** (2006.01) | ***A61K 38/00*** (2006.01) |
| ***A61P 17/06*** (2006.01) | ***A61K 38/12*** (2006.01) |

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/135637

(22) 国际申请日: 2023 年 11 月 30 日 (30.11.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

| | | |
|---|---|---|
| 202211530438.1 | 2022年11月30日 (30.11.2022) | CN |
| 202310206299.5 | 2023年3月3日 (03.03.2023) | CN |
| 202310261818.8 | 2023年3月15日 (15.03.2023) | CN |
| 202310349519.X | 2023年3月31日 (31.03.2023) | CN |
| 202311144489.5 | 2023年9月5日 (05.09.2023) | CN |

(71) 申请人: 上海翰森生物医药科技有限公司 **(SHANGHAI HANSOH BIOMEDICAL CO., LTD.)** [CN/CN]; 中国上海市浦东新区中国（上海）自由贸易试验区金科路 3728 号 11 幢, Shanghai 201203 (CN)。 江苏豪森药业集团有限公司 **(JIANGSU HANSOH PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD.)** [CN/CN]; 中国江苏省连云港市经济技术开发区, Jiangsu 222069 (CN)。

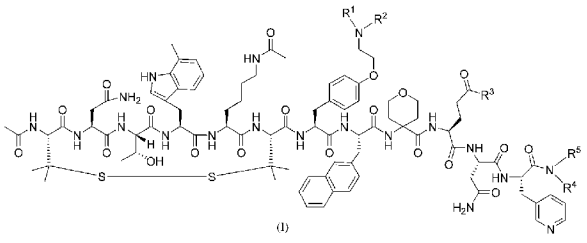
(72) 发明人: 董加强 **(DONG, Jiaqiang)**; 中国上海市浦东新区中国（上海）自由贸易试验区金科路 3728号11幢, Shanghai 201203 (CN)。 俞文胜 **(YU, Wensheng)**; 中国上海市浦东新区中国（上海）自由贸易试验区金科路 3728 号 11 幢, Shanghai 201203 (CN)。 陈运 **(CHEN, Yun)**; 中国上海市浦东新区中国（上海）自由贸易试验区金科路 3728 号 11 幢, Shanghai 201203 (CN)。 程宝 **(CHENG, Bao)**; 中国上海市浦东新区中国（上海）自由贸易试验区金科路 3728 号 11 幢, Shanghai 201203 (CN)。 龚珍 **(GONG, Zhen)**; 中国上海市浦东新区中国（上海）自由贸易试验区金科路 3728号11幢, Shanghai 201203 (CN)。

(74) 代理人: 上海弼兴律师事务所 **(SHANGHAI BESHINING LAW OFFICE)**; 中国上海市徐汇区小木桥路 681 号外经大厦 21 楼, Shanghai 200032 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(54) **Title:** POLYPEPTIDE INHIBITOR, AND PREPARATION METHOD THEREFOR AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种多肽抑制剂、其制备方法和应用



(I)

(57) **Abstract:** The present invention relates to a polypeptide inhibitor, and a preparation method therefor and the use thereof. In particular, the present invention relates to a compound represented by general formula (I), a preparation method therefor, a pharmaceutical composition containing the compound, and the use of the compound as an inhibitor in treating various inflammatory and autoimmune diseases and cancers. The definitions of substituents in general formula (I) are the same as those in the description.

(57) 摘要: 本发明涉及一种多肽抑制剂、其制备方法和应用。特别地，本发明涉及通式(I)所示的化合物、其制备方法及含有该化合物的药物组合物，及其作为抑制剂在治疗多种炎症性、自身免疫疾病和癌症的用途，其中通式(I)中的各取代基与说明书中的定义相同。

WO 2024/114762 A1

[见续页]

**(84)** 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:
— 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))
— 发明人资格(细则4.17(iv))

本国际公布:
— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

# 一种多肽抑制剂、其制备方法和应用

本申请要求申请日为 2022 年 11 月 30 日的中国专利申请 2022115304381 的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文；

本申请要求申请日为 2023 年 03 月 03 日的中国专利申请 2023102062995 的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文；

本申请要求申请日为 2023 年 03 月 15 日的中国专利申请 2023102618188 的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文；

本申请要求申请日为 2023 年 03 月 31 日的中国专利申请 202310349519X 的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文；

本申请要求申请日为 2023 年 09 月 05 日的中国专利申请 2023111444895 的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文。

## 技术领域

本发明属于生物医药领域，具体涉及一种多肽抑制剂及其制备方法和应用。

## 背景技术

细胞因子 IL23 在人体的天然免疫和适应性免疫中扮演重要角色。IL-23 诱导淋巴细胞表达炎性细胞因子，其中最显著的有辅助性 T 细胞（TH17）、固有淋巴样细胞（ILC）和γδT 细胞。IL-23 异二聚受体由两个亚单位 IL-23R 和 IL-12Rβ1 组成，IL-23R 是 IL-23 途径独有的亚单位。IL-12Rβ1 与 IL-12 受体共享。类似地，IL-23 细胞因子由两个亚单位 p19 和 p40 组成，p19 亚单位为 IL-23 独有，p40 与 IL-12 共享。

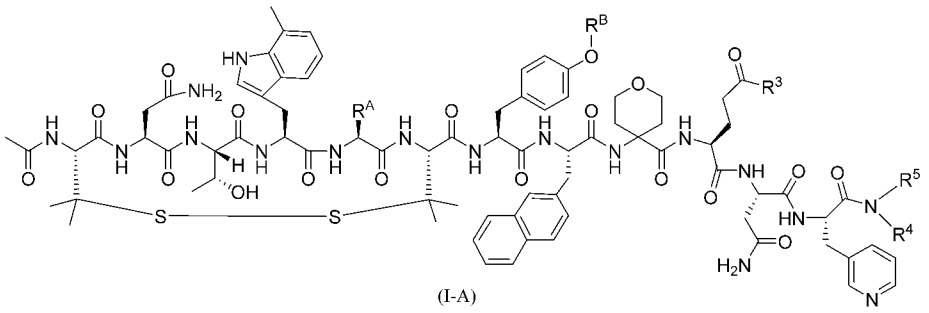
IL-23 为 Th17 细胞生成和存活提供必要条件。与此同时大量临床前模型和临床实践的证据表明，Th17 细胞在包括炎性肠病、银屑病、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮(SLE)和多发性硬化(MS)的许多自体免疫疾病的病理学中发挥着至关重要的作用。来自临床前模型和临床实践的证据表明阻断 IL23 信号的转导在自体免疫疾病的治疗时是有效的，但是 IL-23 和 IL-12 途径共享配体以及受体亚单位的性质意味着更加复杂的生物学过程，而且肿瘤发生，感染易感性以及自体免疫紊乱等数据表明 IL-23 阻断相较 IL-12 阻断似乎在效果和安全性方面具有治疗优势。

抗体疗法的局限性包括高昂的生产成本，更差的稳定性，对运输、储存、使用以及生产时的条件要求更高，并且通常在治疗时需要输注或注射，这对患者依从性来说是一种挑战。抗体免疫抑制疗法通常是全身性的，接受治疗的结核病患者会面临复发以及其他严重感染的风险。因此在很多发展中国家开展抗 TNF 或者抗 IL23 疗法时需要排除较高比例的潜伏结核或乙型肝炎（HBV）患者。系统性抗体疗法半衰期很长，以至于产生抗药抗体（ADA）中和抗体药物并导致疗效下降。抗 TNF 抗体的间歇性剂量大大增加了 ADA 发展的可能性，这会增加患者的治疗风险。

因此，本发明的目的：通过阻断 IL-23R 来特异性阻断 IL-23 异二聚受体的分子、包括这些分子的组合物、筛选这些分子的方法以及使用这些分子用以治疗多种炎症性、自身免疫疾病和癌症的方法。这些分子应具有良好的亲和力以及特异性，并且分布于炎症疾病组织，这样不会显著影响系统免疫。

## 发明内容

本发明的目的在于提供一种通式( I-A )所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其中通式( I-A )所示的化合物结构如下：



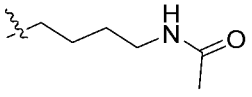
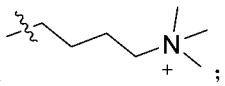
(I-A)

其中：

$R^A$ 选自-$(CH_2)_{mA}$-$R^{AA}$；

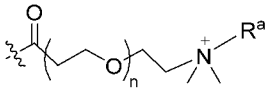
$R^{AA}$ 选自-$NH_2$，-$N^+H_3$，-$N^+(CH_3)_3$ 或-NH-C(O)-$CH_3$；

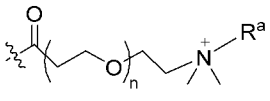
$m^A$ 选自 1-6 的整数；

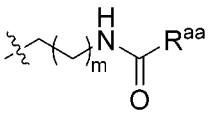
优选地，$R^A$ 选自  或 ；

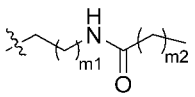
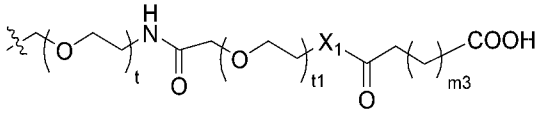
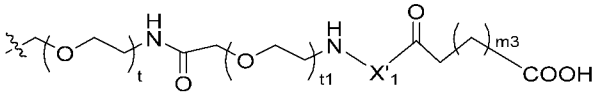
$R^B$ 选自-$(CH_2)_{mB}$-$R^{BB}$；

$R^{BB}$ 选自-$NR^1R^2$，-$N^+(R^1)_2R^2$ 或-NH-C(O)-$R^1$；

$R^1$ 选自 H，烷基， 或氨基酸，优选地，$R^1$ 选自 H，烷基；

$R^2$ 选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^a$ 选自 H，烷基， 或氨基酸；

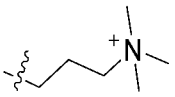
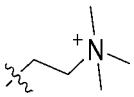
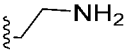
$R^{aa}$ 选自烷基，，， 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

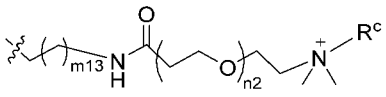
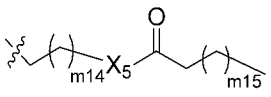
$X'_1$ 选自氨基酸；

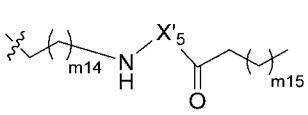
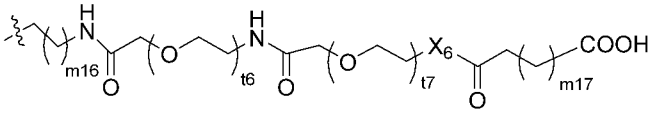
优选地，$R^{BB}$ 选自-$NH_2$，-$N^+H_3$，-$N^+(CH_3)_3$ 或-NH-C(O)-$CH_3$；

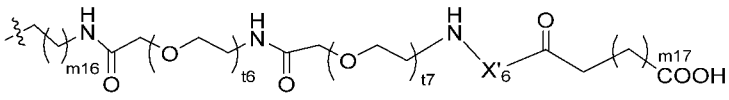
$m^B$ 选自 1-6 的整数；

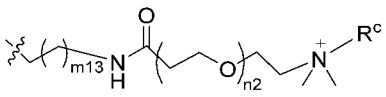
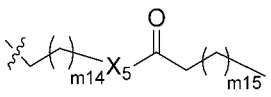
优选地，$R^B$ 选自 ，或；

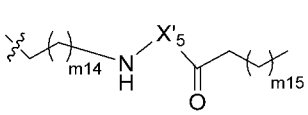
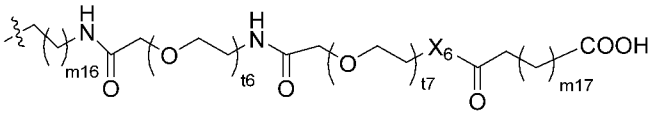
$R^3$ 选自羟基，烷基，-$NR^6R^7$ 或氨基酸；

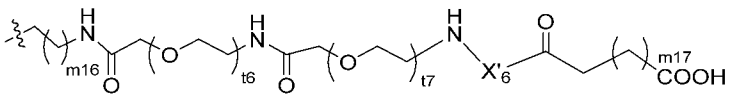
$R^6$ 选自 H，烷基，-$CH_2C(O)NH_2$，，，

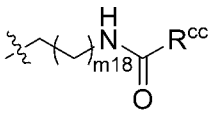

，

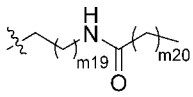
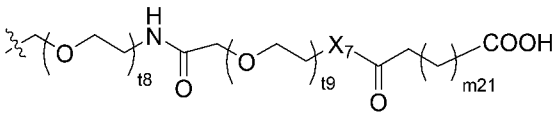
或氨基酸；

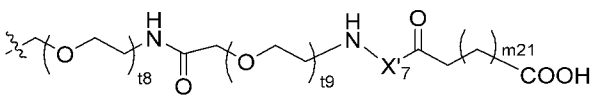
$R^7$ 选自 H，烷基，-$CH_2C(O)NH_2$，，，


，

或氨基酸；

$R^c$ 选自 H，烷基，或氨基酸；

$R^{cc}$ 选自烷基，，，

或氨基酸；

$X_5$ 选自氨基酸；

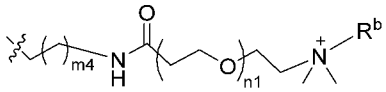
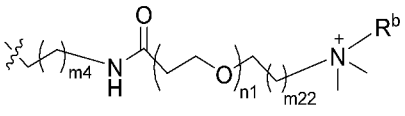
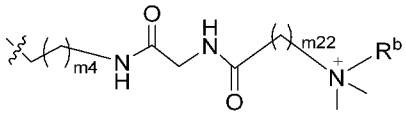
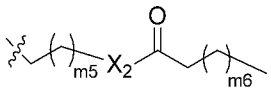
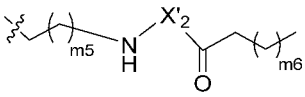
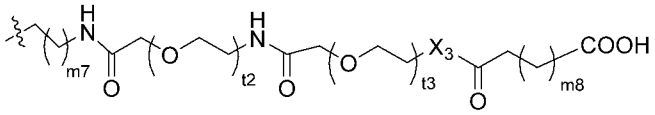
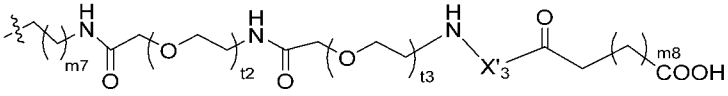
$X'_5$ 选自氨基酸；

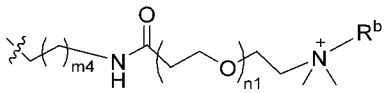
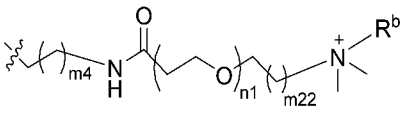
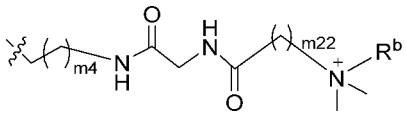
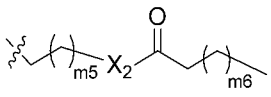
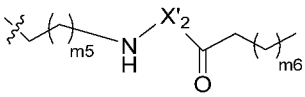
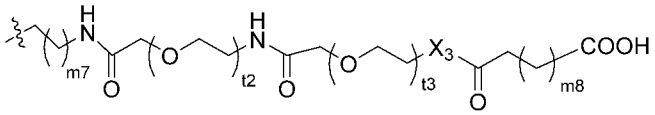
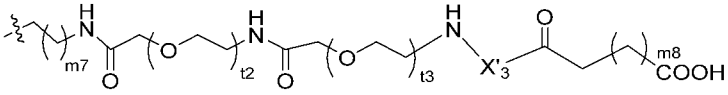
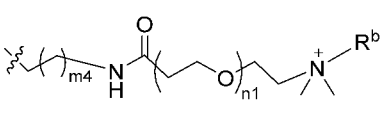
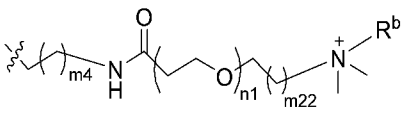
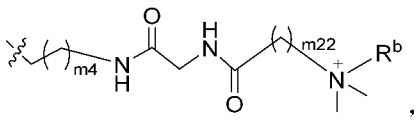
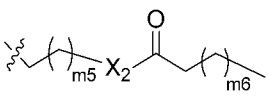
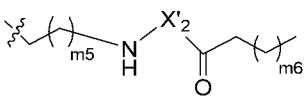
$X_6$选自氨基酸；

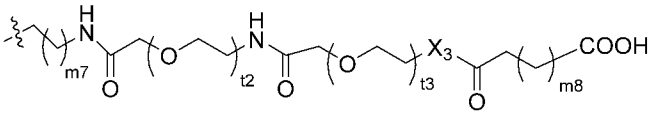
$X'_6$选自氨基酸；

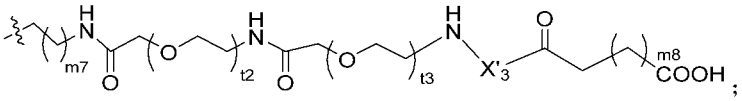
$X_7$选自氨基酸；

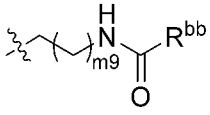
$X'_7$选自氨基酸；

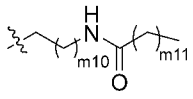
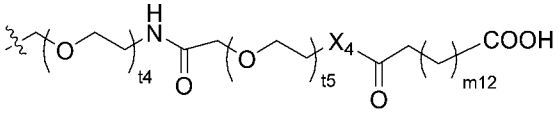
$R^4$选自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，，或氨基酸；

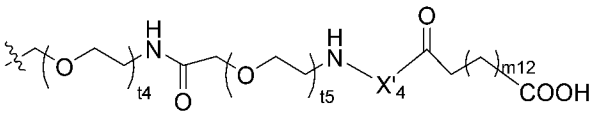
$R^5$选自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，，或氨基酸；优选地，选自，，，，，


，


；

$R^b$选自 H，烷基，或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$选自烷基，，，

或氨基酸；

$X_2$选自氨基酸；

$X'_2$选自氨基酸；

$X_3$选自氨基酸；

$X'_3$选自氨基酸；

$X_4$选自氨基酸；

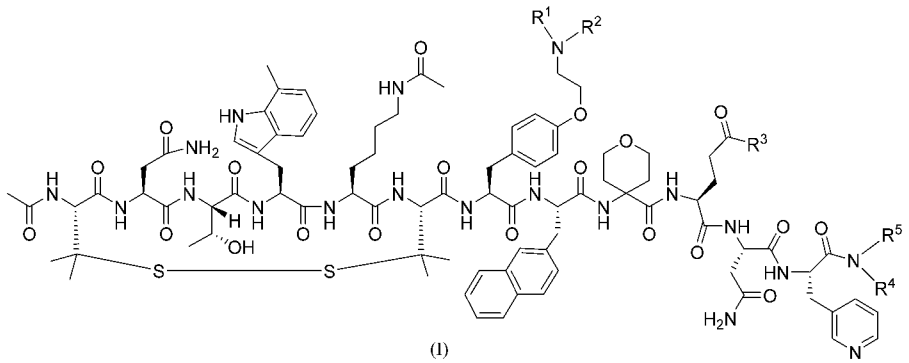
$X'_4$选自氨基酸；

n1~n2 各自独立地选自 0-12 的整数；

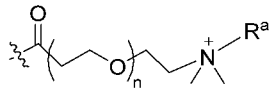
t2~t9 各自独立地选自 0-12 的整数；

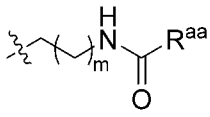
m4~m22 各自独立地选自 0-24 的整数。

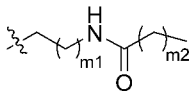
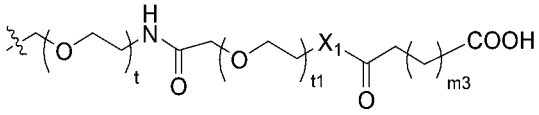
本发明的目的在于提供一种通式(Ⅰ)所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其中通式(Ⅰ)所示的化合物结构如下：


(I)

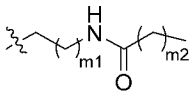
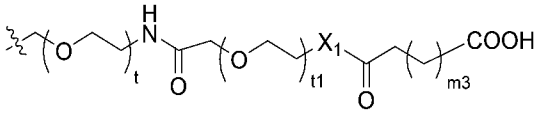
其中：

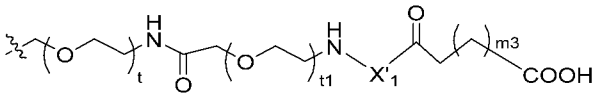
$R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^a$ 选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^{aa}$ 选自烷基，， 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

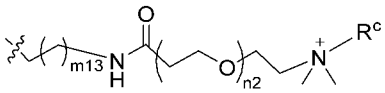
优选地，$R^{aa}$ 选自烷基，，，

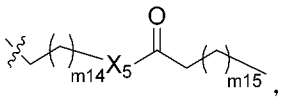
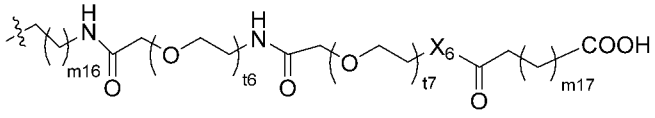
 或氨基酸；

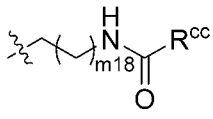
$X_1$ 选自氨基酸；

$X'_1$ 选自氨基酸；

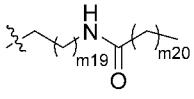
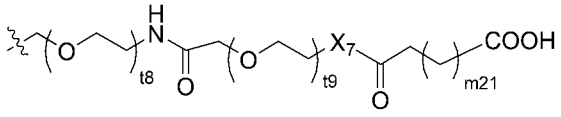
$R^3$ 选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

$R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

， 或氨基酸；



$R^c$ 选自 H，烷基，或氨基酸；

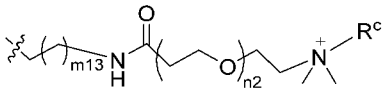
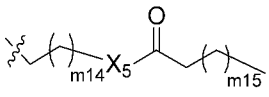
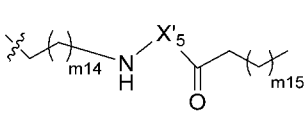
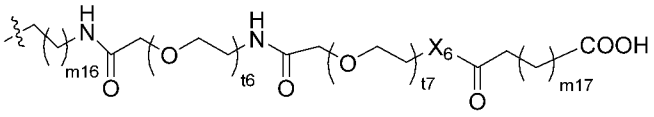
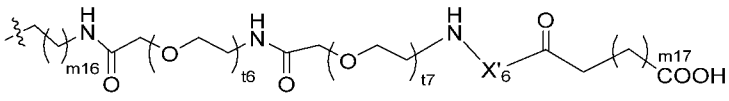
$R^{cc}$ 选自烷基，， 或氨基酸；

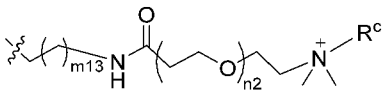
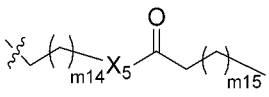
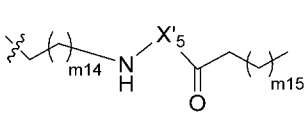
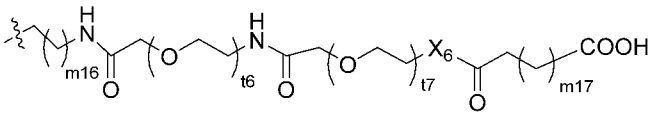
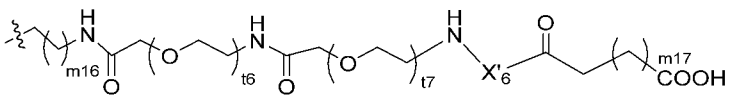
$X_5$ 选自氨基酸；

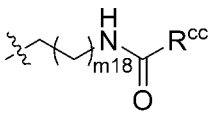
$X_6$ 选自氨基酸；

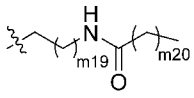
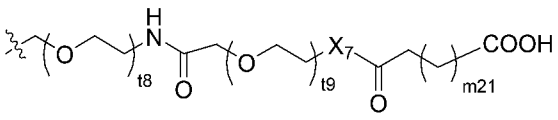
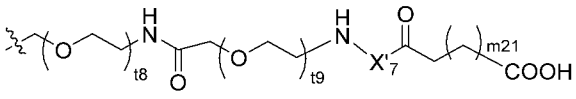
$X_7$ 选自氨基酸；

优选地，$R^3$ 选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

$R^6$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，或氨基酸；

$R^7$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，或氨基酸；

$R^c$ 选自 H，烷基，或氨基酸；

$R^{cc}$ 选自烷基，，，或氨基酸；

$X_5$ 选自氨基酸；

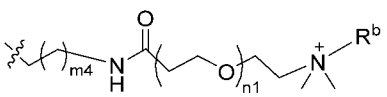
$X'_5$ 选自氨基酸；

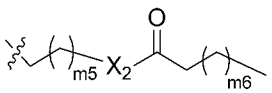
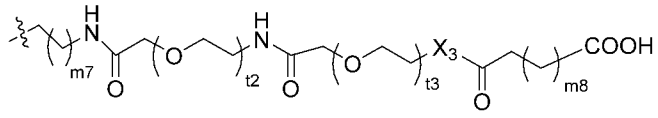
$X_6$ 选自氨基酸；

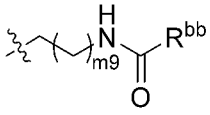
$X'_6$ 选自氨基酸；

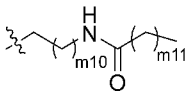
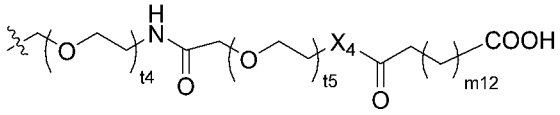
$X_7$ 选自氨基酸；

$X'_7$ 选自氨基酸；

$R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，



或氨基酸；

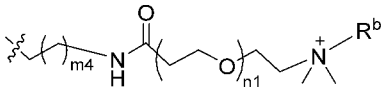
$R^b$ 选自 H，烷基，
或氨基酸；

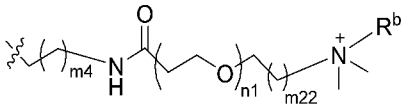
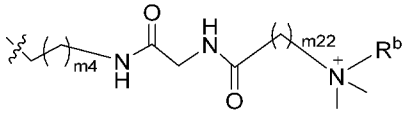
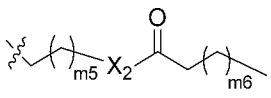
$R^{bb}$ 选自烷基，，
或氨基酸；

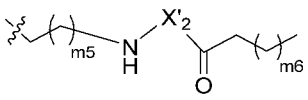
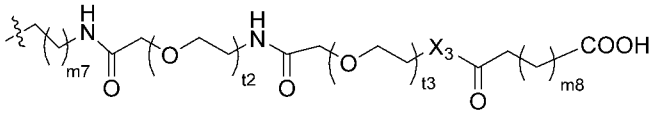
$X_2$ 选自氨基酸；

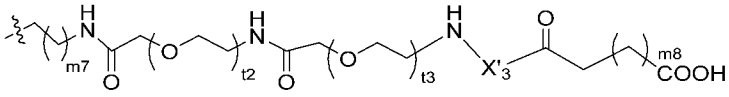
$X_3$ 选自氨基酸；

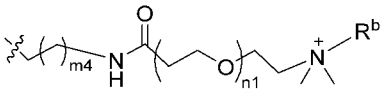
$X_4$ 选自氨基酸；

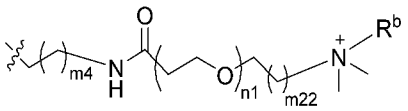
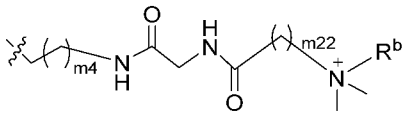
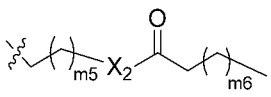
优选地，$R^4$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

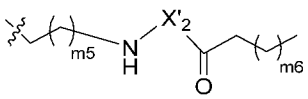
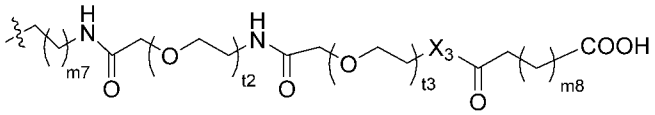
，，，

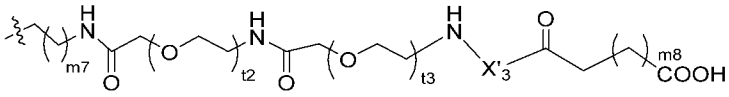
，，

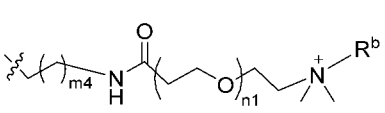
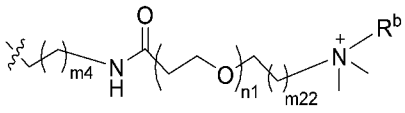
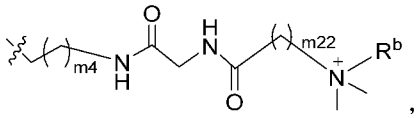

或氨基酸；

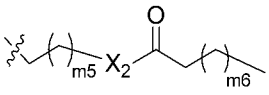
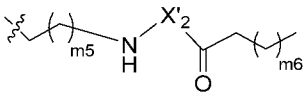
$R^5$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

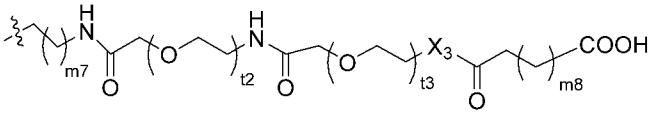
，，，

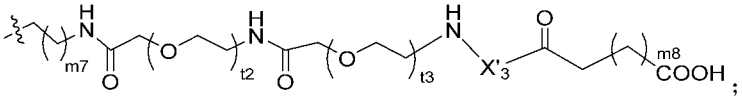
，，

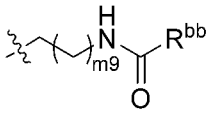

或氨基酸；优选地，选自

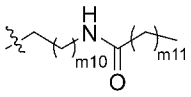
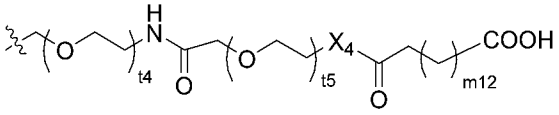

，
，
，

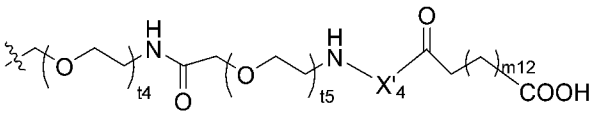

，
，


，


；

$R^b$ 选自 H，烷基，或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$ 选自烷基，，，

或氨基酸；

$X_2$ 选自氨基酸；

$X'_2$ 选自氨基酸；

$X_3$ 选自氨基酸；

$X'_3$ 选自氨基酸；

$X_4$ 选自氨基酸；

$X'_4$ 选自氨基酸；

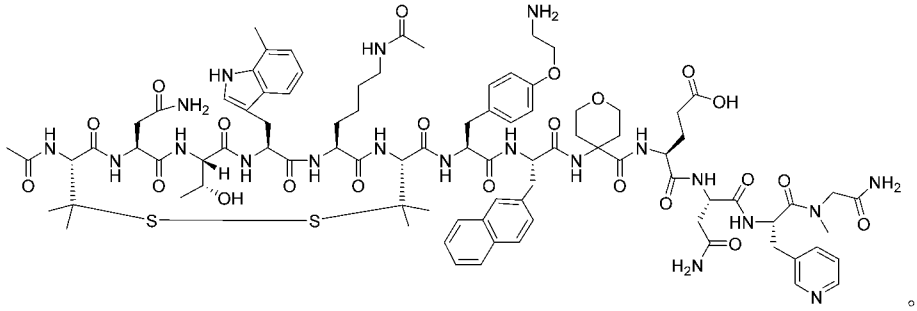
n~n2 各自独立地选自 0-12 的整数；

t~t9 各自独立地选自 0-12 的整数；

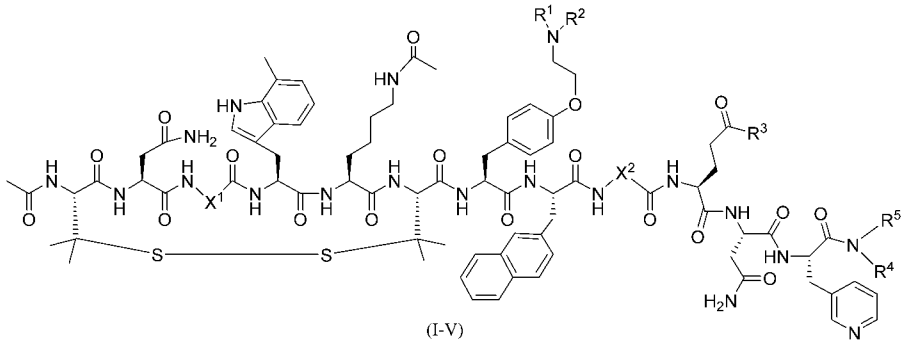
m~m21 各自独立地选自 0-24 的整数；

m22 选自 0-24 的整数；

所述化合物不为



本发明的另一个目的在于提供一种通式(I-V)所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其中通式(I-V)所示的化合物结构如下：

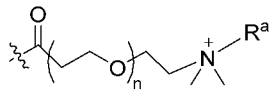


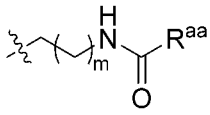
(I-V)

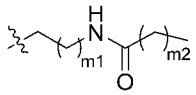
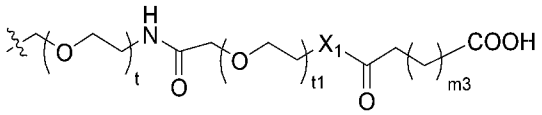
其中：

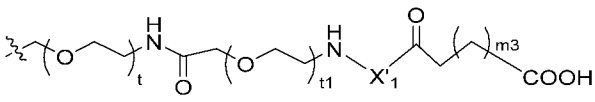
$X^1$ 选自氨基酸；

$X^2$ 选自氨基酸；

$R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^a$ 选自 H，烷基， 或氨基酸；

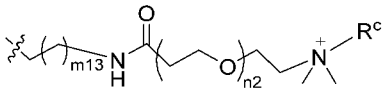
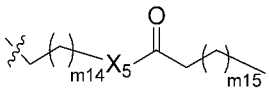
$R^{aa}$ 选自烷基，，，

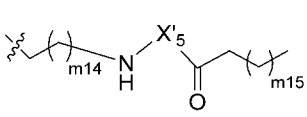
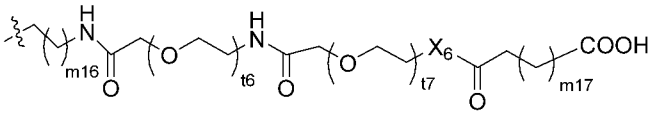
 或氨基酸；

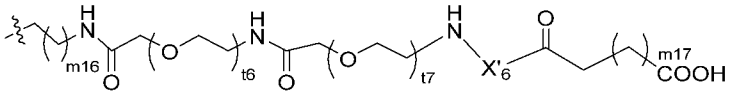
$X_1$ 选自氨基酸；

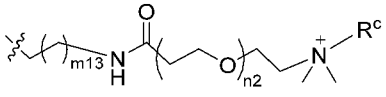
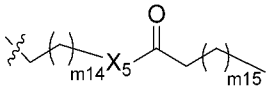
$X'_1$ 选自氨基酸；

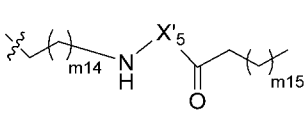
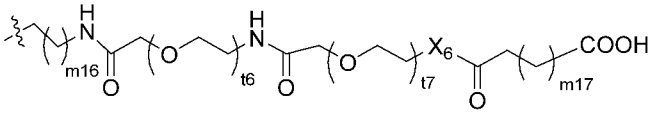
$R^3$ 选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

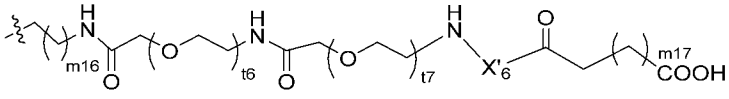
$R^6$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

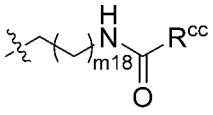


，

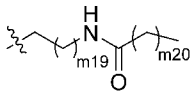
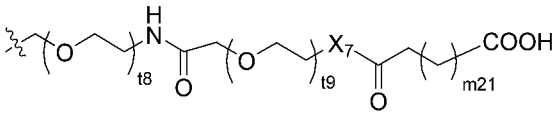

或氨基酸；

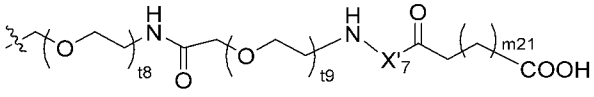
$R^7$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，



，


或氨基酸；

$R^c$ 选自 H，烷基，或氨基酸；

$R^{cc}$ 选自烷基，，，


或氨基酸；

$X_5$ 选自氨基酸；

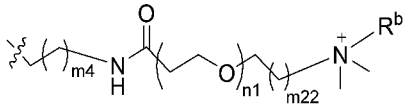
$X'_5$ 选自氨基酸；

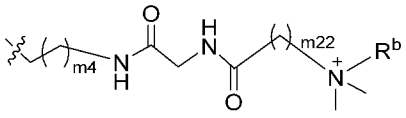
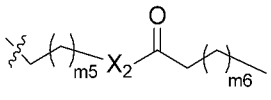
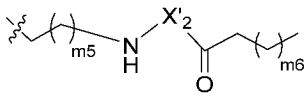
$X_6$ 选自氨基酸；

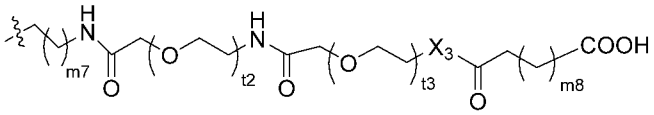
$X'_6$ 选自氨基酸；

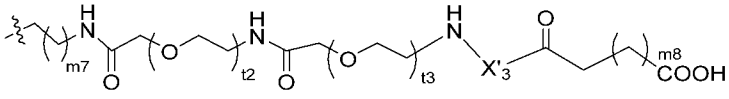
$X_7$ 选自氨基酸；

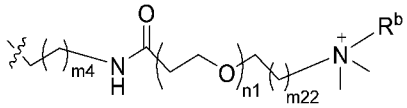
$X'_7$ 选自氨基酸；

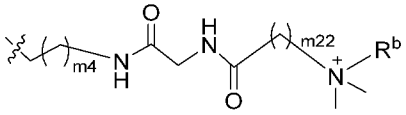
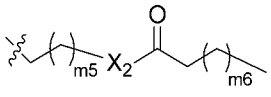
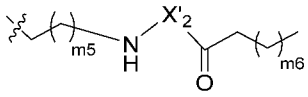
$R^4$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

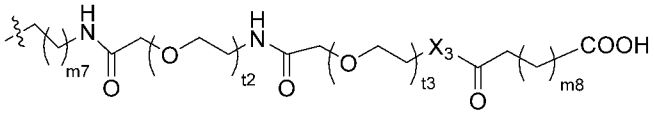

，
，
，

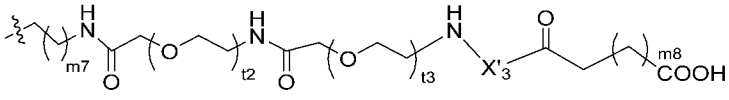

，

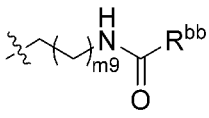

或氨基酸；

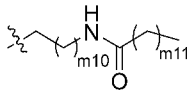
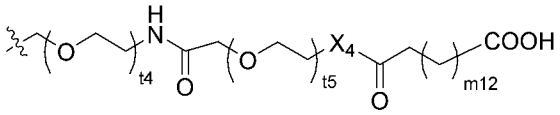
$R^5$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，
，

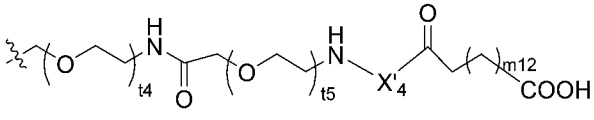

，
，
，


，


或氨基酸；

$R^b$ 选自 H，烷基，
或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$ 选自烷基，
，
，


或氨基酸；

$X_2$ 选自氨基酸；

$X'_2$ 选自氨基酸；

$X_3$ 选自氨基酸；

$X'_3$ 选自氨基酸；

$X_4$ 选自氨基酸；

$X'_4$ 选自氨基酸；

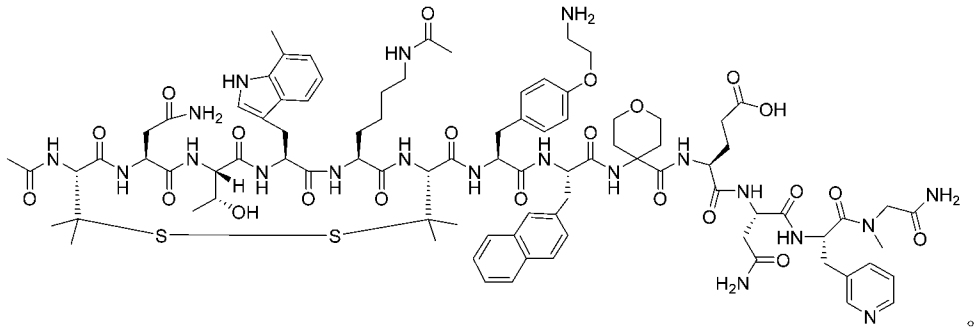
n~n2 各自独立地选自 0-12 的整数；

t~t9 各自独立地选自 0-12 的整数；

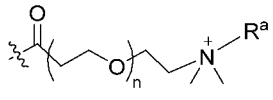
m~m21 各自独立地选自 0-24 的整数；

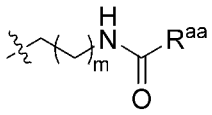
m22 选自 0-24 的整数；

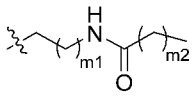
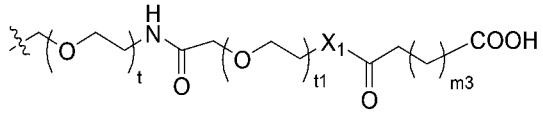
所述化合物不为



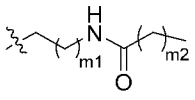
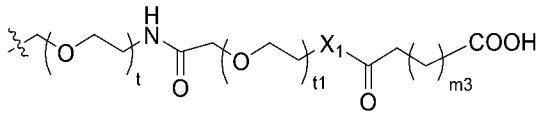
。

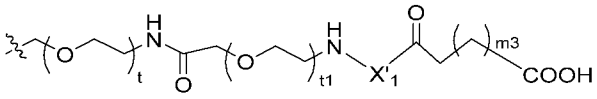
本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，$R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^a$ 选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^{aa}$ 选自烷基，， 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

优选地，$R^{aa}$ 选自烷基，，，

 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

$X'_1$ 选自氨基酸；

$R^3$ 选自羟基；

$R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$；

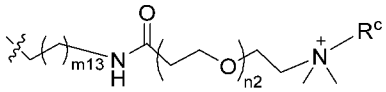
n 选自 0-12 的整数；

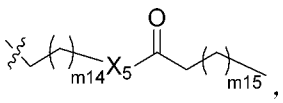
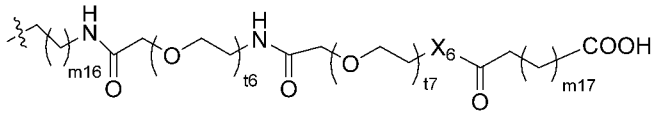
t~t1 各自独立地选自 0-12 的整数；

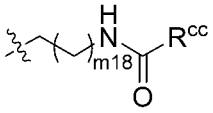
m~m3 各自独立地选自 0-24 整数。

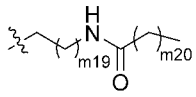
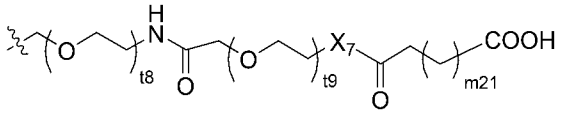
本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，$R^1$ 和 $R^2$ 选自 H；

$R^3$ 选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

$R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，或氨基酸；

$R^c$ 选自 H，烷基，或氨基酸；

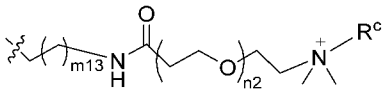
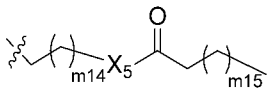
$R^{cc}$ 选自烷基，，或氨基酸；

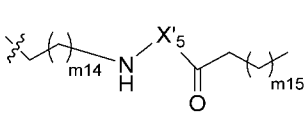
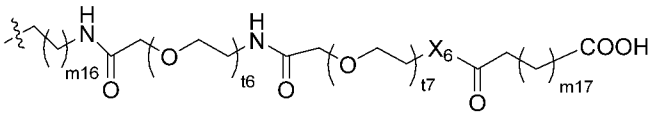
$X_5$ 选自氨基酸；

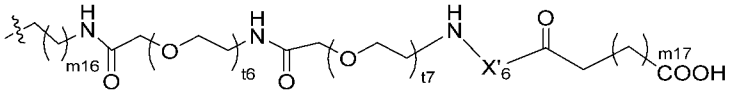
$X_6$ 选自氨基酸；

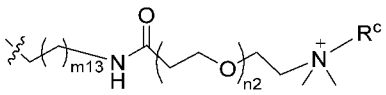
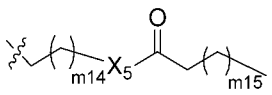
$X_7$ 选自氨基酸；

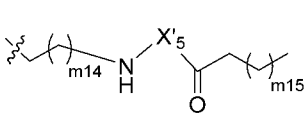
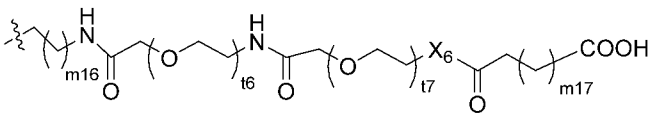
优选地，$R^3$ 选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

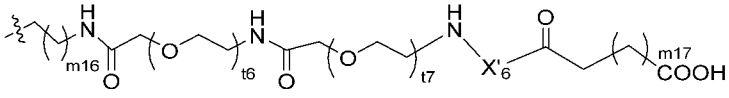
$R^6$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

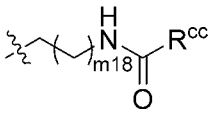
，

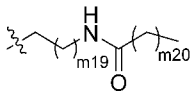
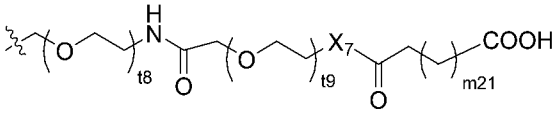
或氨基酸；

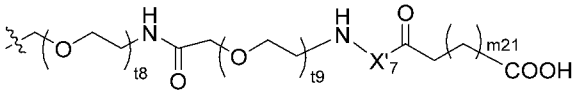
$R^7$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

，

或氨基酸；

$R^c$ 选自 H，烷基，或氨基酸；

$R^{cc}$ 选自烷基，，，

或氨基酸；

$X_5$ 选自氨基酸；

$X'_5$ 选自氨基酸；

$X_6$ 选自氨基酸；

$X'_6$ 选自氨基酸；

$X_7$ 选自氨基酸；

$X'_7$ 选自氨基酸；

$R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$；

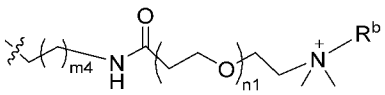
n2 选自 0-12 的整数；

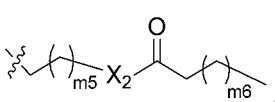
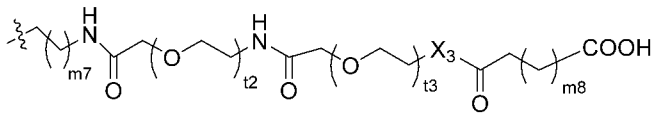
t6~t9 各自独立地选自 0-12 的整数；

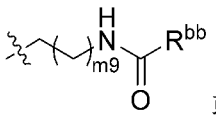
m13~m21 各自独立地选自 0-24 的整数。

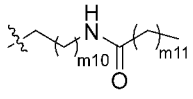
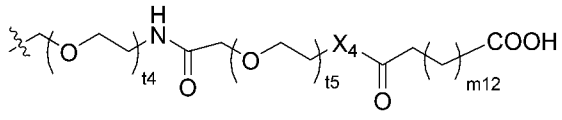
本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，$R^1$ 和 $R^2$ 选自 H；

$R^3$ 选自羟基；

$R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，或氨基酸；

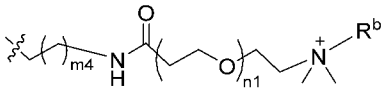
$R^b$ 选自 H，烷基，或氨基酸；

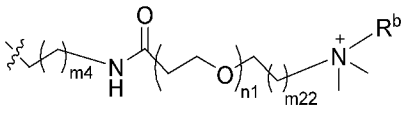
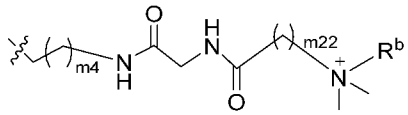
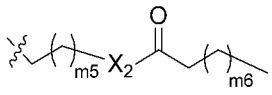
$R^{bb}$选自烷基，，或氨基酸；

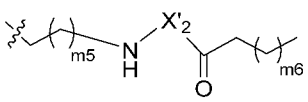
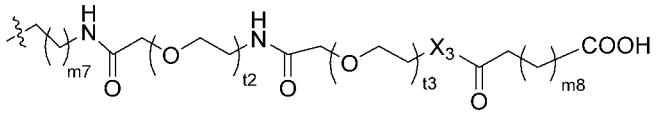
$X_2$选自氨基酸；

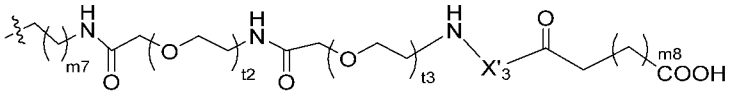
$X_3$选自氨基酸；

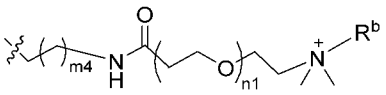
$X_4$选自氨基酸；

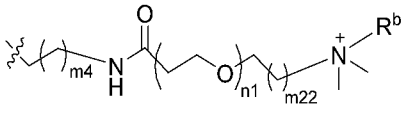
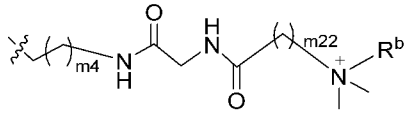
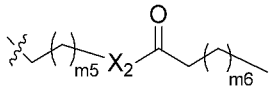
优选地，$R^4$选自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

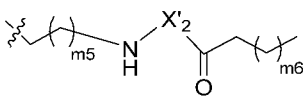
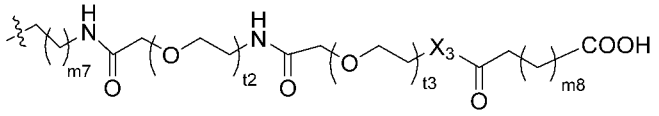
，，，

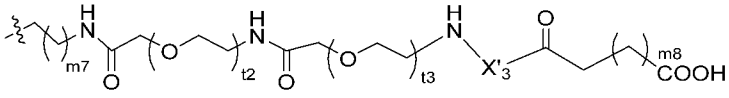
，，

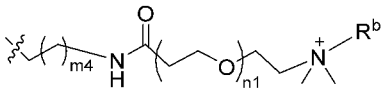
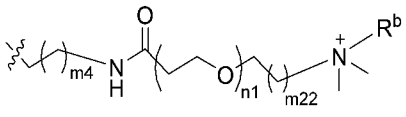
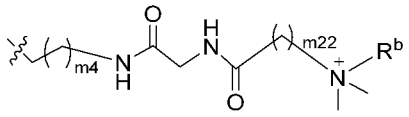
或氨基酸；

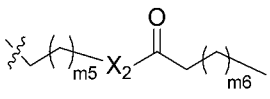
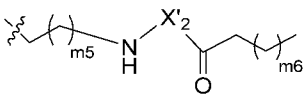
$R^5$选自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

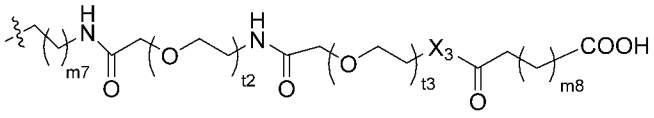
，，，

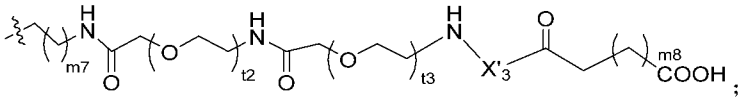
，，

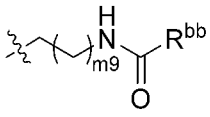
或氨基酸；优选地，选自

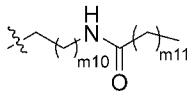
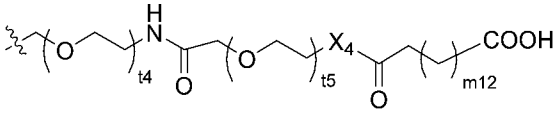
，，，

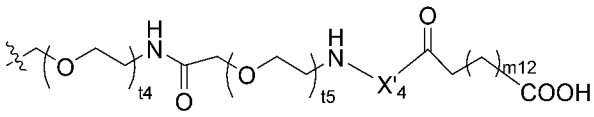
，，


，


；

$R^b$ 选自 H，烷基， 或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$ 选自烷基，，，

或氨基酸；

$X_2$ 选自氨基酸；

$X'_2$ 选自氨基酸；

$X_3$ 选自氨基酸；

$X'_3$ 选自氨基酸；

$X_4$ 选自氨基酸；

$X'_4$ 选自氨基酸；

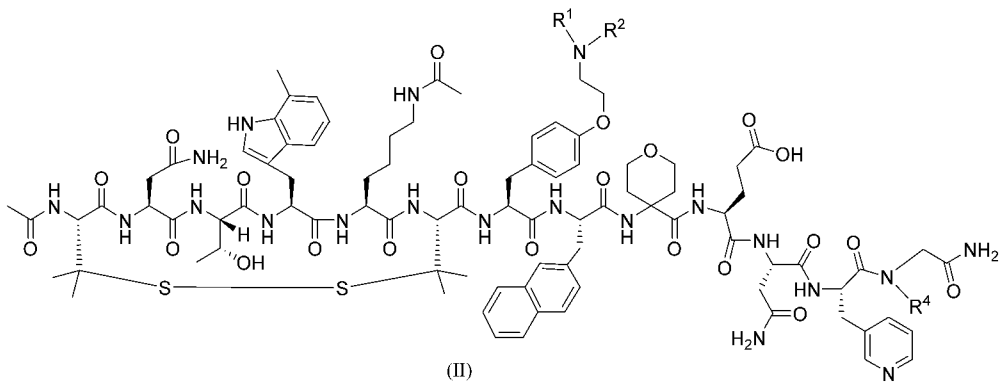
n1 选自 0-12 的整数；

t2~t5 各自独立地选自 0-12 的整数；

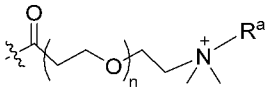
m4~m12 各自独立地选自 0-24 的整数；

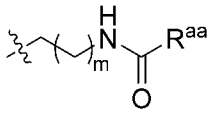
m22 选自 0-24 的整数。

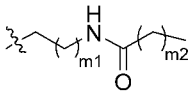
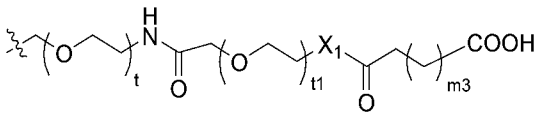
本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，所述化合物进一步如通式（II）所示：


(II)

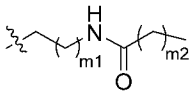
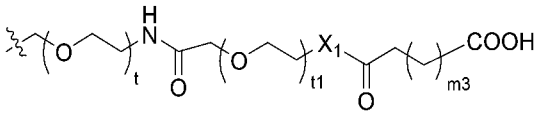
其中：

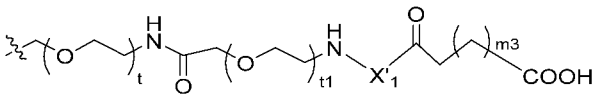
$R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^a$ 选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^{aa}$ 选自烷基，， 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

优选地，$R^{aa}$ 选自烷基，，，

 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

$X'_1$ 选自氨基酸；

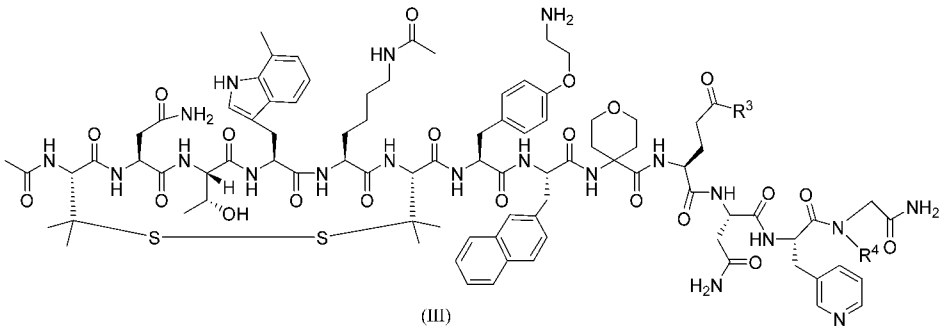
$R^4$ 选自 H 或烷基；

n 选自 0-12 的整数；

t~t1 各自独立地选自 0-12 的整数；

m~m3 各自独立地选自 0-24 的整数。

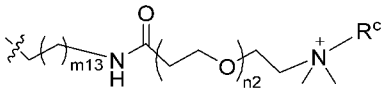
本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，所述化合物进一步如通式（III）所示：

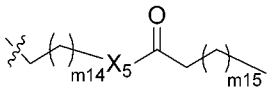
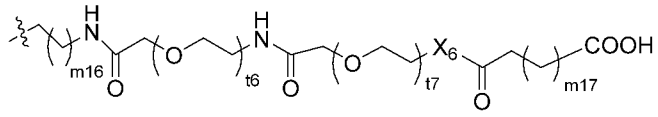


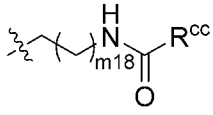
(III)

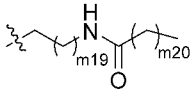
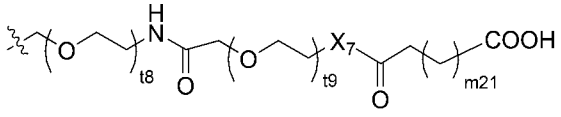
其中：

$R^3$ 选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

$R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，或氨基酸；

$R^c$ 选自 H，烷基，或氨基酸；

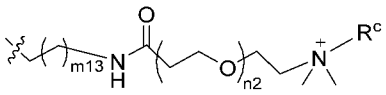
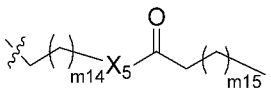
$R^{cc}$ 选自烷基，，或氨基酸；

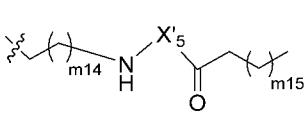
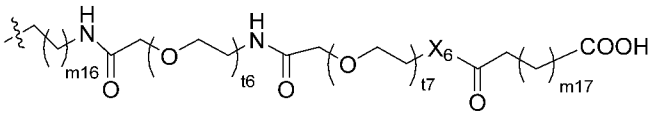
$X_5$ 选自氨基酸；

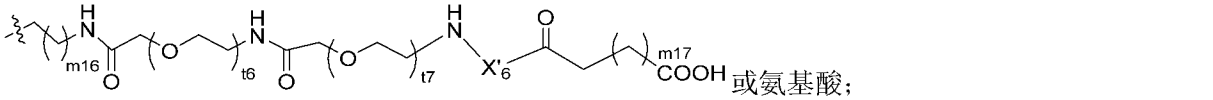
$X_6$ 选自氨基酸；

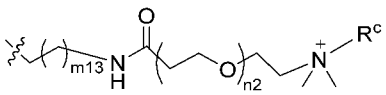
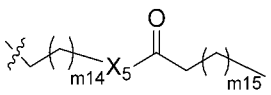
$X_7$ 选自氨基酸；

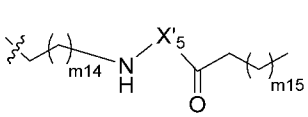
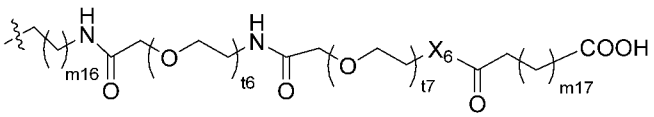
优选地，$R^3$ 选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

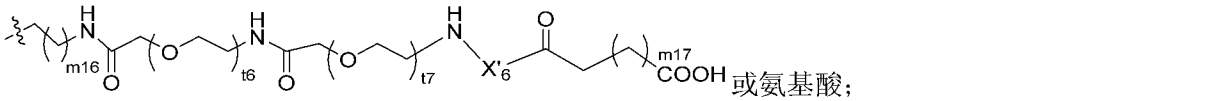
$R^6$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

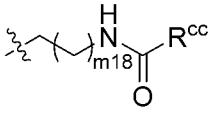
，

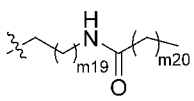
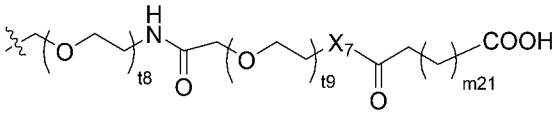
或氨基酸；

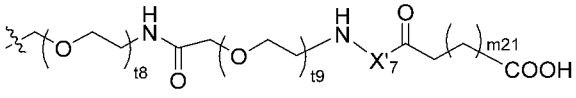
$R^7$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

，

或氨基酸；

$R^c$选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^{cc}$ 选自烷基，，，

或氨基酸；

$X_5$选自氨基酸；

$X'_5$选自氨基酸；

$X_6$选自氨基酸；

$X'_6$选自氨基酸；

$X_7$选自氨基酸；

$X'_7$选自氨基酸；

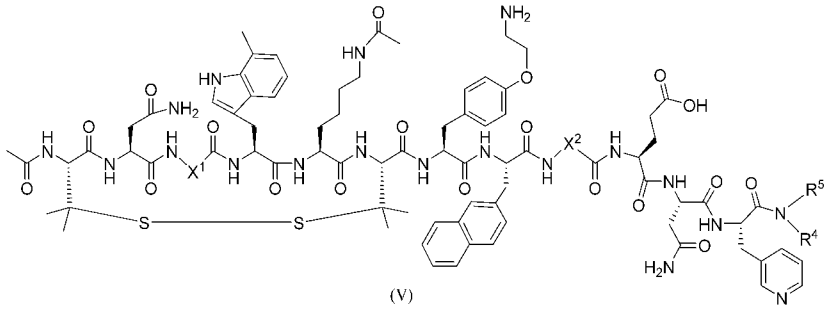
$R^4$选自 H 或烷基；

n2 选自 0-12 的整数；

t6~t9 各自独立地选自 0-12 的整数；

m13~m21 各自独立地选自 0-24 的整数。

本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，所述化合物进一步如通式( V )所示的化合物结构如下：

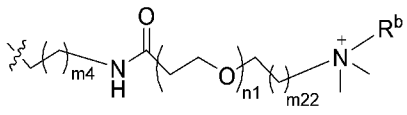


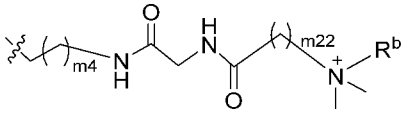
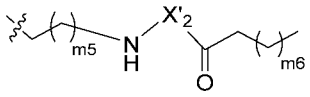
(V)

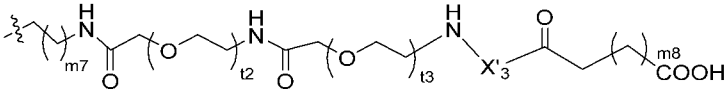
其中：

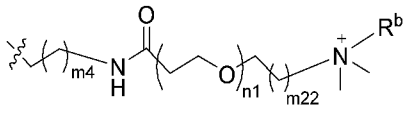
$X^1$选自氨基酸；

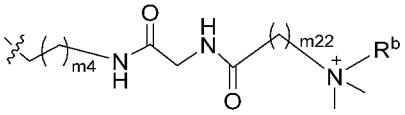
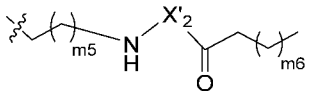
$X^2$选自氨基酸；

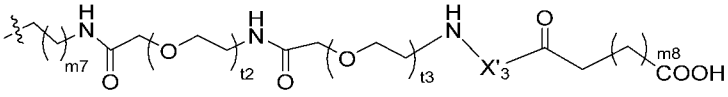
$R^4$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

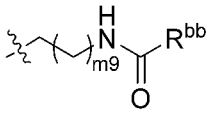
，，

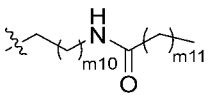
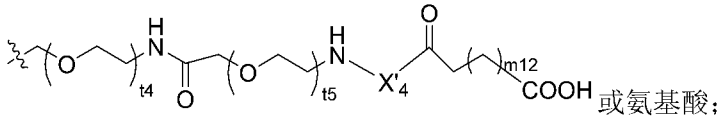
或氨基酸；

$R^5$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，，

或氨基酸；

$R^b$ 选自 H，烷基，或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$ 选自烷基，，或氨基酸；

$X'_2$ 选自氨基酸；

$X'_3$ 选自氨基酸；

$X_4$ 选自氨基酸；

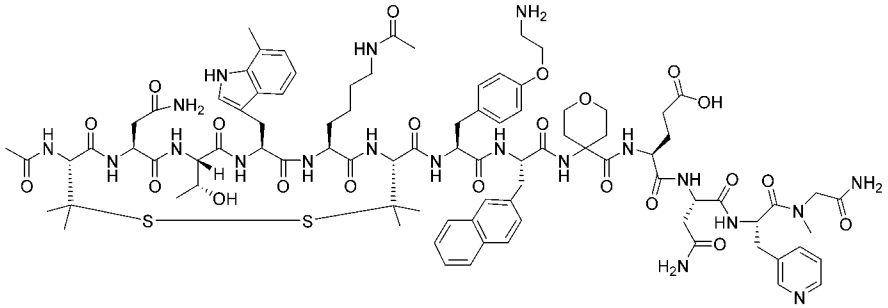
n1 选自 0-12 的整数；

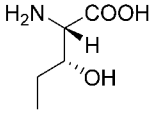
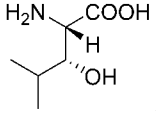
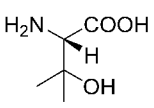
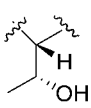
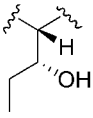
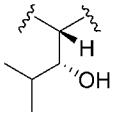
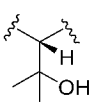
t2~t5 各自独立地选自 0-12 的整数；

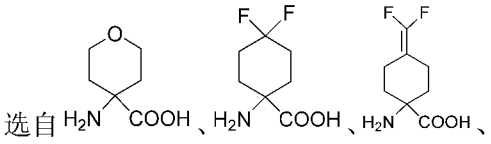
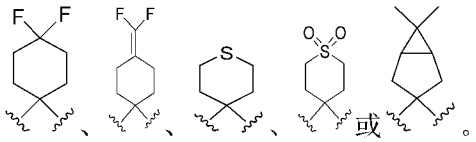
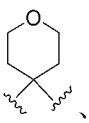
m4~m12 各自独立地选自 0-24 的整数；

m22 选自 0-12 的整数；

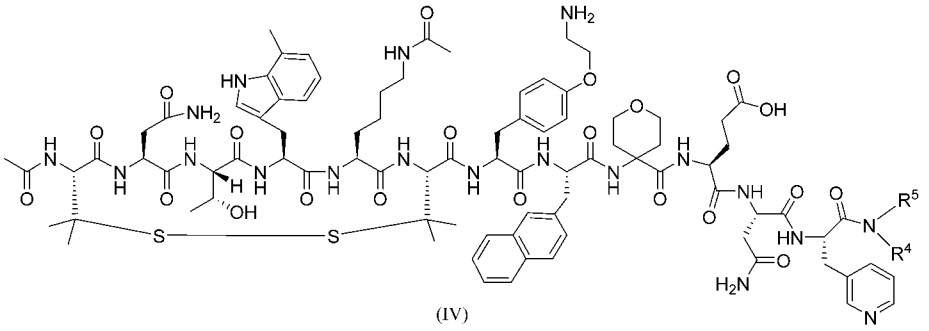
所述化合物不为

。

本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，$X^1$ 选自 Thr、、或；优选为、、或。

本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，$X^2$选自、；优选为、。

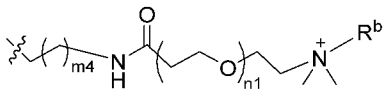
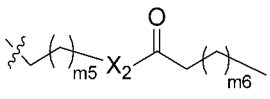
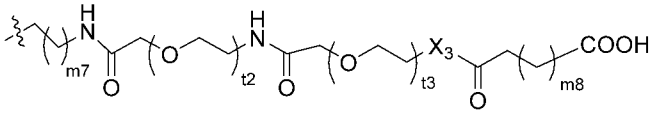
本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，所述化合物进一步如通式（IV）所示：

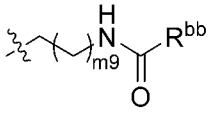


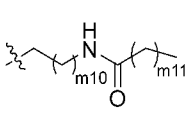
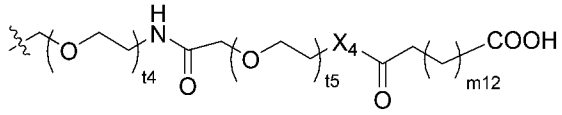
(IV)

其中：

$R^4$选自 H 或烷基；

$R^5$选自烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或氨基酸；

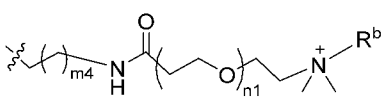
$R^b$选自 H，烷基，或氨基酸；

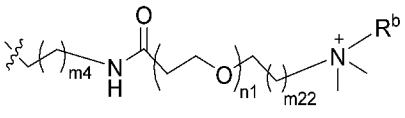
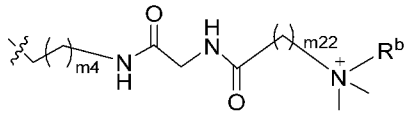
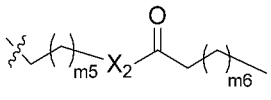
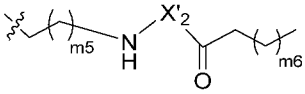
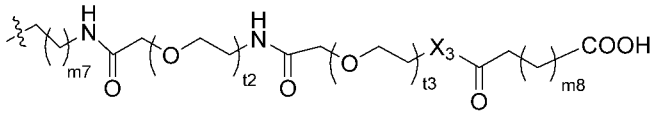
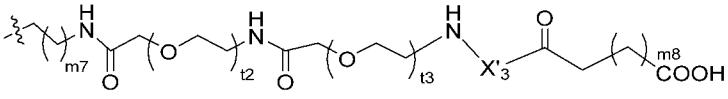
$R^{bb}$选自烷基，，或氨基酸；

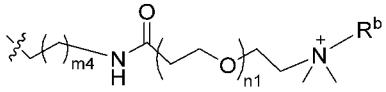
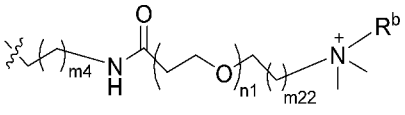
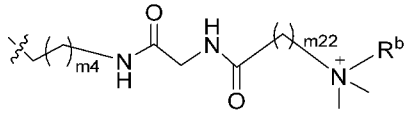
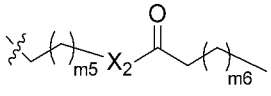
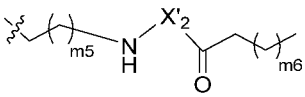
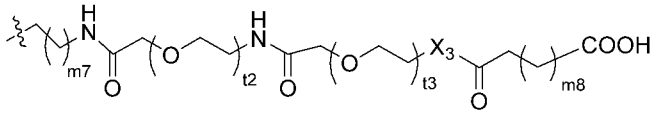
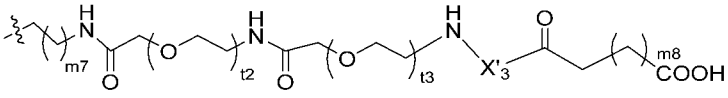
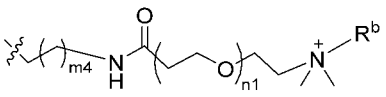
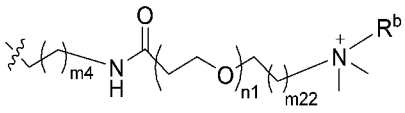
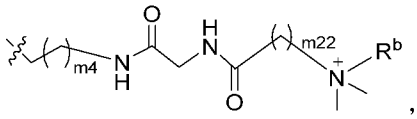
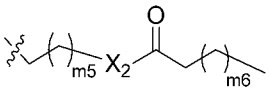
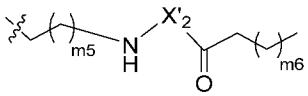
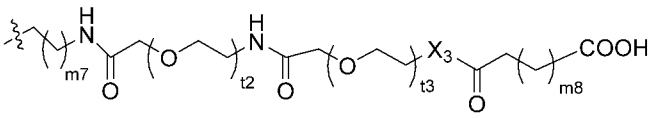
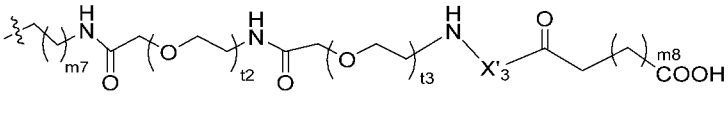
$X_2$选自氨基酸；

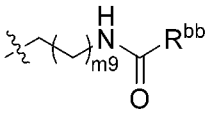
$X_3$选自氨基酸；

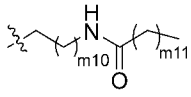
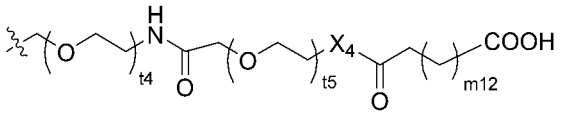
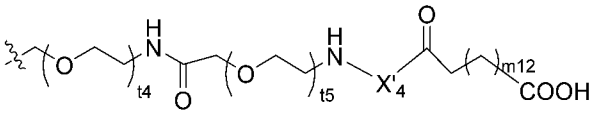
$X_4$选自氨基酸；

优选地，$R^4$选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，


，
，
，
，
，
或氨基酸；

$R^5$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，
，
，
，
，
，
，
或氨基酸；优选地，选自
，
，
，
，
，
，
；


$R^b$ 选自 H，烷基，或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$ 选自烷基，，，或氨基酸；

$X_2$ 选自氨基酸；

$X'_2$ 选自氨基酸；

$X_3$ 选自氨基酸；

$X'_3$ 选自氨基酸；

$X_4$ 选自氨基酸；

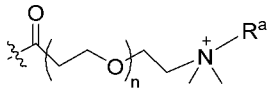
$X'_4$ 选自氨基酸；

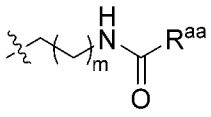
n1 选自 0-12 的整数；

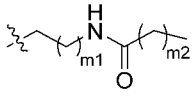
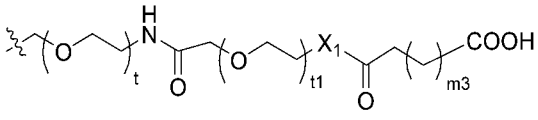
t2~t5 各自独立地选自 0-12 的整数；

m4~m12 各自独立地选自 0-24 的整数；

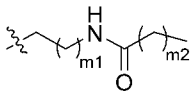
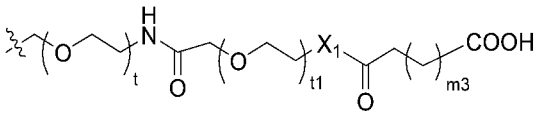
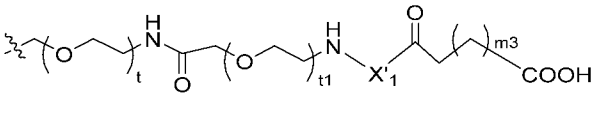
m22 选自 0-24 的整数。

本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，$R^1$ 选自 H，$C_{1-6}$ 烷基，或氨基酸；

$R^a$ 选自 H，$C_{1-6}$ 烷基，或氨基酸；

$R^{aa}$ 选自 $C_{1-6}$ 烷基，，或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

优选地，$R^{aa}$ 选自 $C_{1-6}$ 烷基，，，或氨基酸；

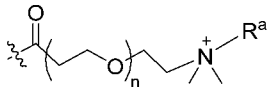
$X_1$ 选自氨基酸；

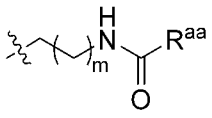
$X'_1$ 选自氨基酸；

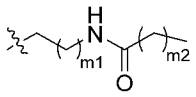
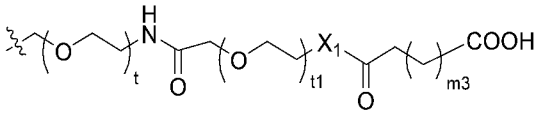
n 选自 0-12 的整数；

t~t1 各自独立地选自 0-12 的整数;

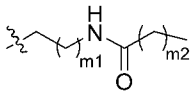
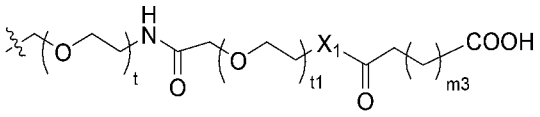
m~m3 各自独立地选自 0-24 的整数。

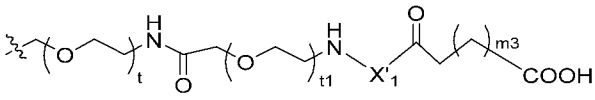
本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，$R^2$ 选自 H，$C_{1-6}$ 烷基， 或氨基酸；

$R^a$ 选自 H，$C_{1-6}$ 烷基， 或氨基酸；

$R^{aa}$ 选自 $C_{1-6}$ 烷基，， 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

优选地，$R^{aa}$ 选自 $C_{1-6}$ 烷基，，，

 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

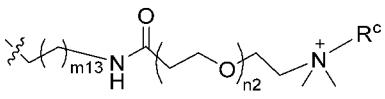
$X'_1$ 选自氨基酸；

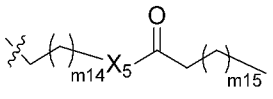
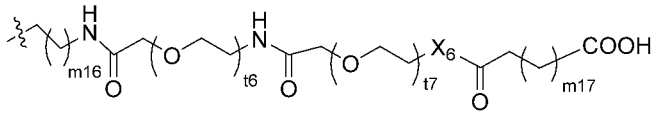
n 选自 0-12 的整数；

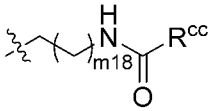
t~t1 各自独立地选自 0-12 的整数;

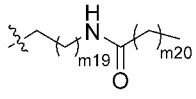
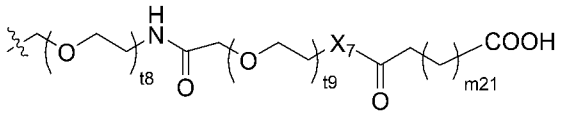
m~m3 各自独立地选自 0-24 的整数。

本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，$R^3$ 选自羟基，$C_{1-6}$ 烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

$R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

， 或氨基酸；

$R^c$ 选自 H，烷基， 或氨基酸；

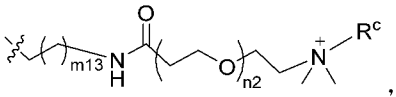
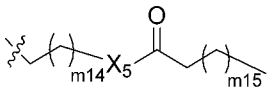
$R^{cc}$选自烷基，，或氨基酸；

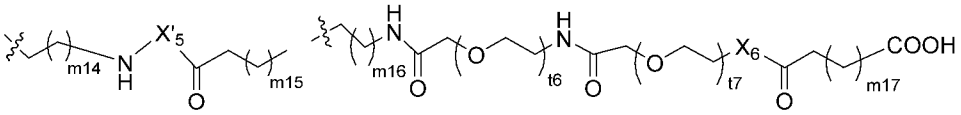
$X_5$选自氨基酸；

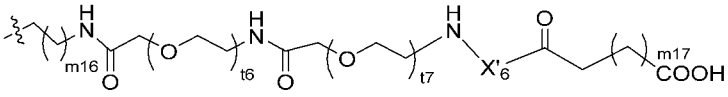
$X_6$选自氨基酸；

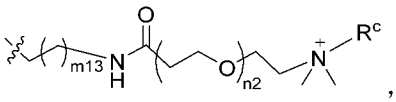
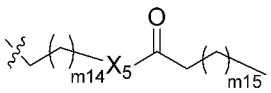
$X_7$选自氨基酸；

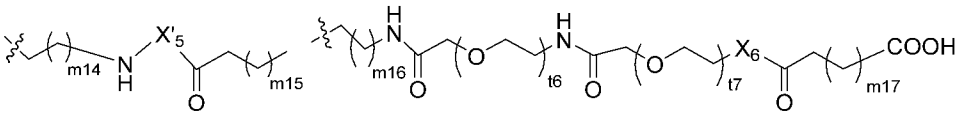
优选地，$R^3$选自羟基，$C_{1-6}$烷基，$-NR^6R^7$或氨基酸；

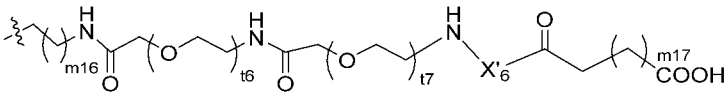
$R^6$选自 H，$C_{1-6}$烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

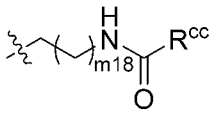
，

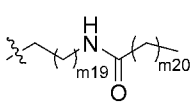
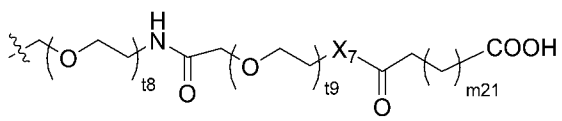
或氨基酸；

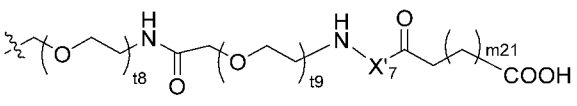
$R^7$选自 H，$C_{1-6}$烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

，

或氨基酸；

$R^c$选自 H，$C_{1-6}$烷基，或氨基酸；

$R^{cc}$选自$C_{1-6}$烷基，，，

或氨基酸；

$X_5$选自氨基酸；

$X'_5$选自氨基酸；

$X_6$选自氨基酸；

$X'_6$选自氨基酸；

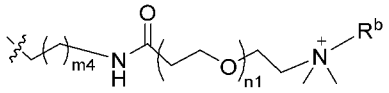
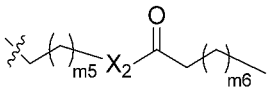
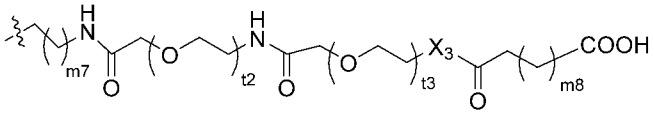
$X_7$选自氨基酸；

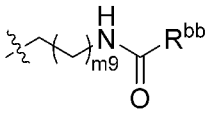
$X'_7$选自氨基酸；

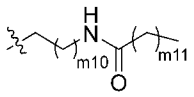
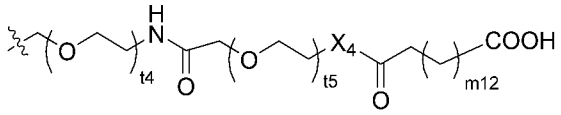
n2 选自 0-12 的整数；

t6~t9 各自独立地选自 0-12 的整数；

m13~m21 各自独立地选自 0-24 的整数。

本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，$R^4$选自 H，$C_{1-6}$烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或氨基酸；

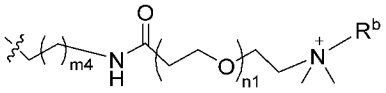
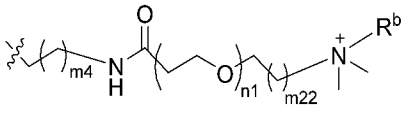
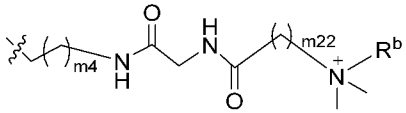
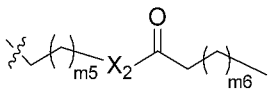
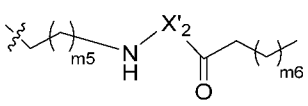
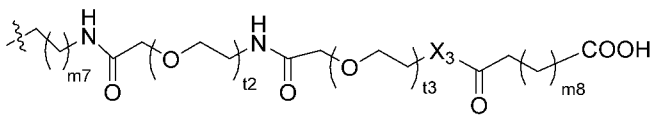
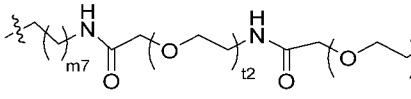
$R^b$选自 H，$C_{1-6}$烷基，或氨基酸；

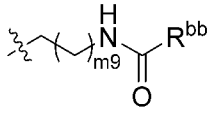
$R^{bb}$选自 $C_{1-6}$烷基，，或氨基酸；

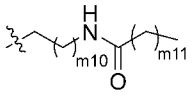
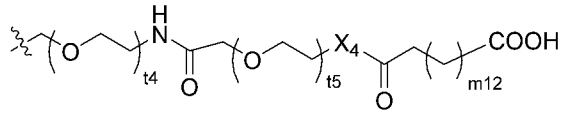
$X_2$选自氨基酸；

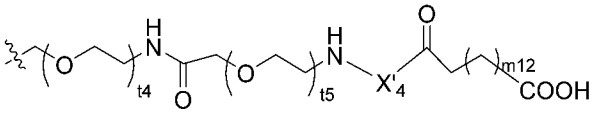
$X_3$选自氨基酸；

$X_4$选自氨基酸；

优选地，$R^4$选自 H，$C_{1-6}$烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，，或氨基酸；

$R^b$选自H，$C_{1-6}$烷基，或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$选自$C_{1-6}$烷基，，，

或氨基酸；

$X_2$选自氨基酸；

$X'_2$选自氨基酸；

$X_3$选自氨基酸；

$X'_3$选自氨基酸；

$X_4$选自氨基酸；

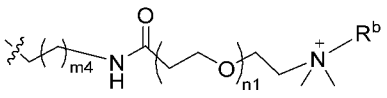
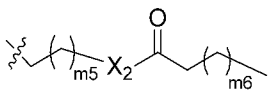
$X'_4$选自氨基酸；

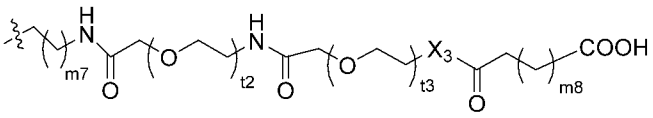
n1选自0-12的整数；

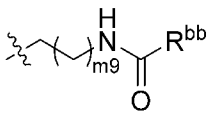
t2~t5各自独立地选自0-12的整数；

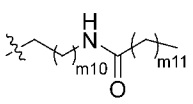
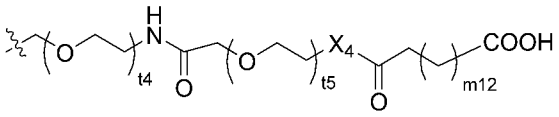
m4~m12各自独立地选自0-24的整数；

m22选自0-24的整数。

本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，$R^5$选自H，$C_{1-6}$烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

或氨基酸；

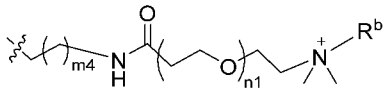
$R^b$选自H，$C_{1-6}$烷基，或氨基酸；

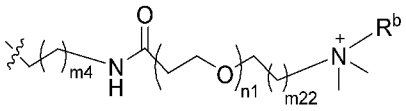
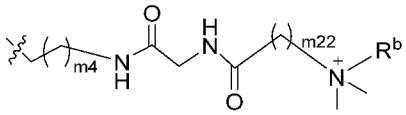
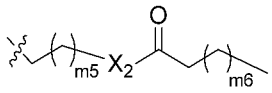
$R^{bb}$选自$C_{1-6}$烷基，，或氨基酸；

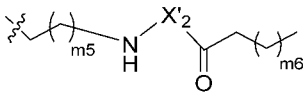
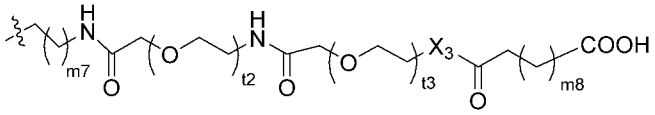
$X_2$选自氨基酸；

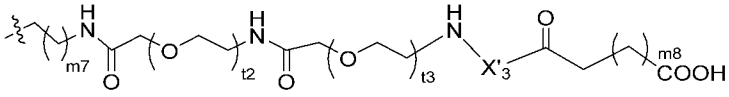
$X_3$选自氨基酸；

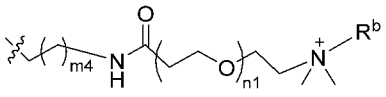
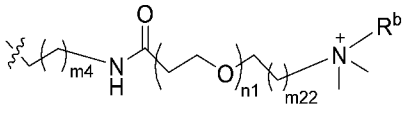
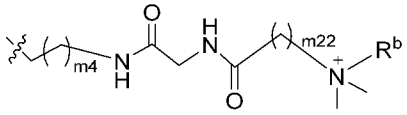
$X_4$选自氨基酸；

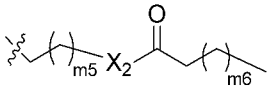
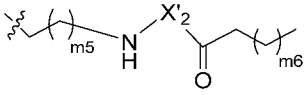
优选地，$R^5$选自H，$C_{1-6}$烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

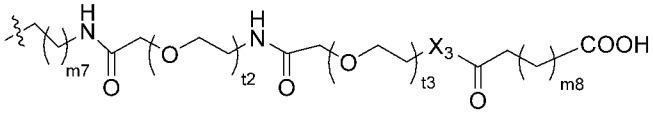
，，，

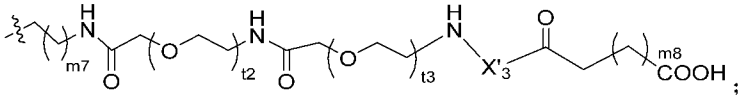
，，

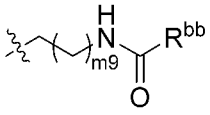
或氨基酸，进一步优选地，选自

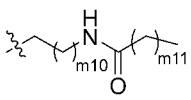
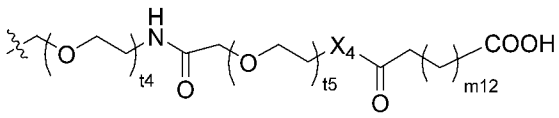
，，，

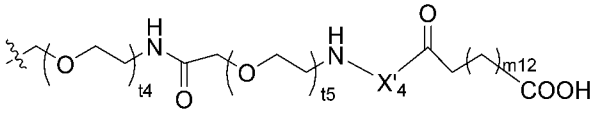
，，

，

；

$R^b$选自H，$C_{1-6}$烷基，或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$选自$C_{1-6}$烷基，，，

或氨基酸；

$X_2$选自氨基酸；

$X'_2$选自氨基酸；

$X_3$选自氨基酸；

$X'_3$ 选自氨基酸；

$X_4$ 选自氨基酸；

$X'_4$ 选自氨基酸；

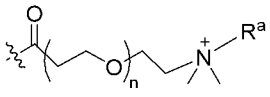
n1 选自 0-12 的整数；

t2~t5 各自独立地选自 0-12 的整数；

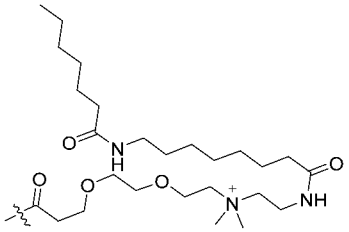
m4~m12 各自独立地选自 0-24 的整数；

m22 选自 0-24 的整数。

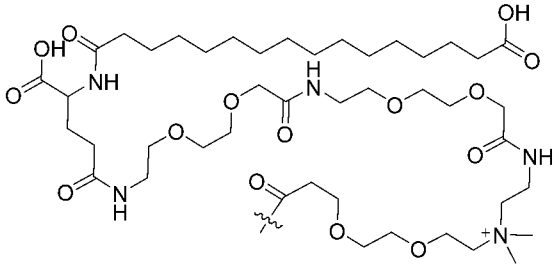
本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，



选自

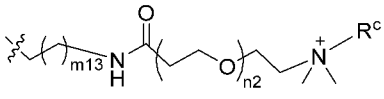


或

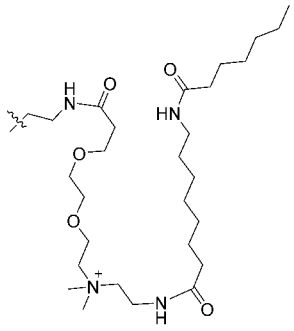


。

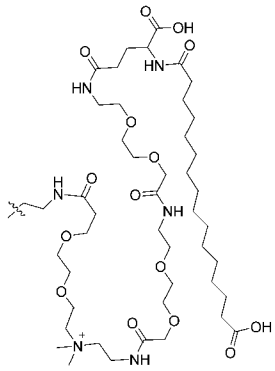
本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，



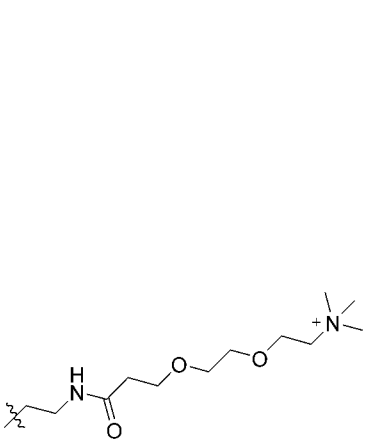
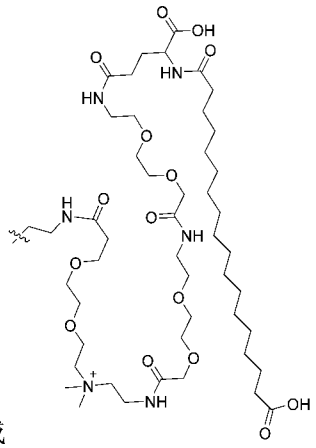
选自



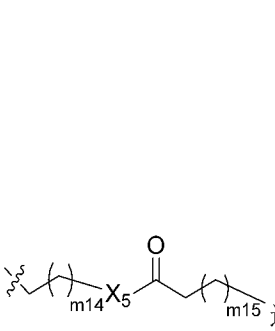
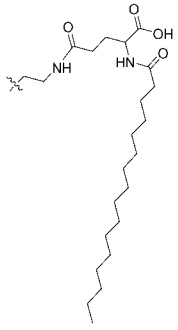
，

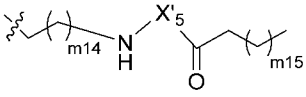
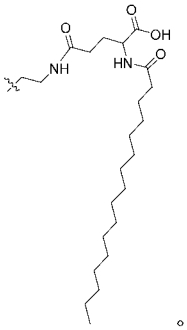


，

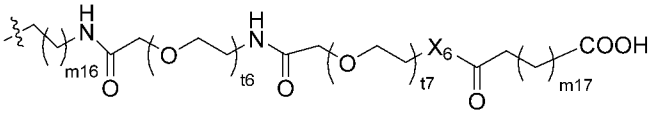
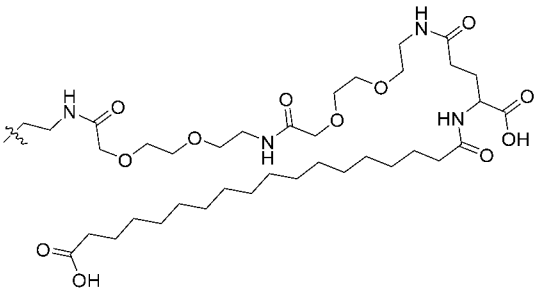

或

。

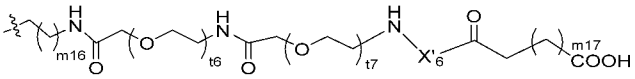
本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，

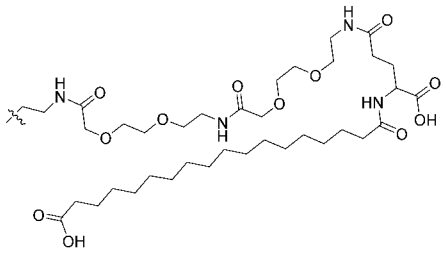

选自

；

或者，

选自

。

本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，

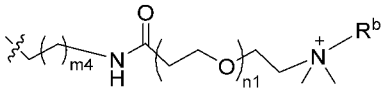

选自

；

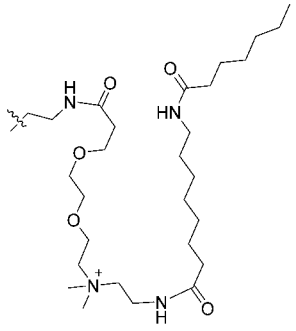
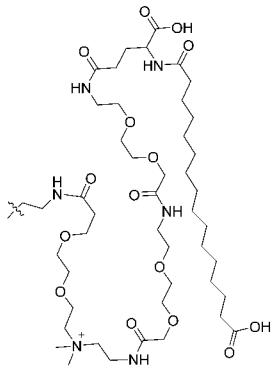
或者，

选自

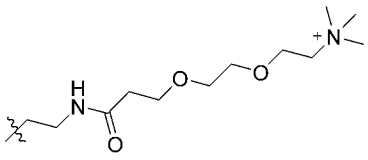


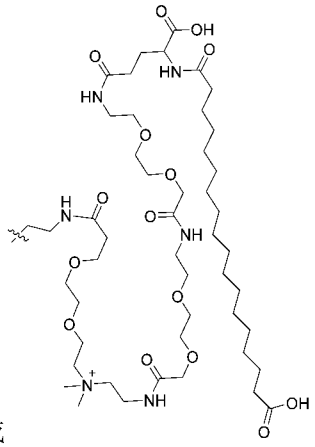
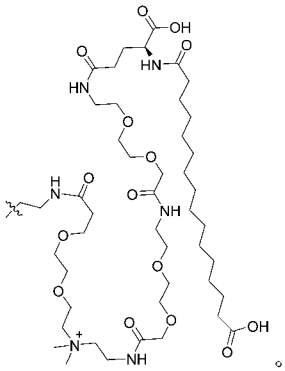
。

本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，

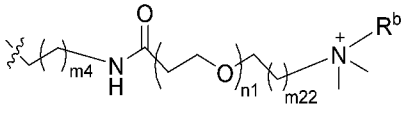


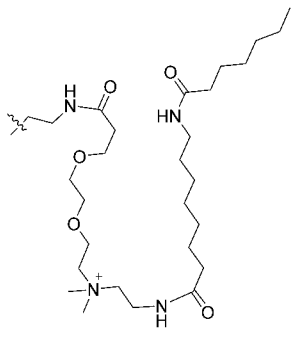
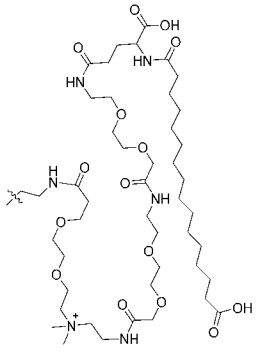
选自 ，，

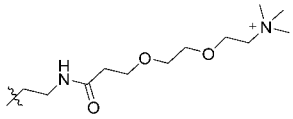
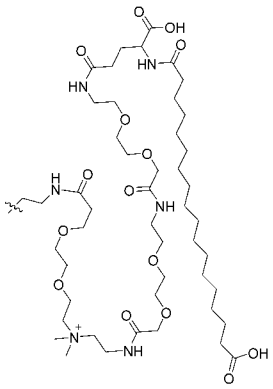
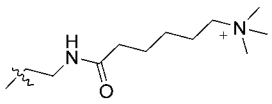
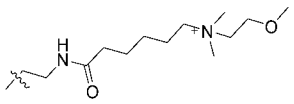
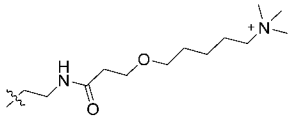
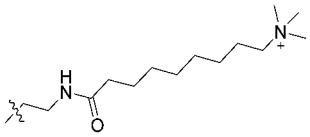
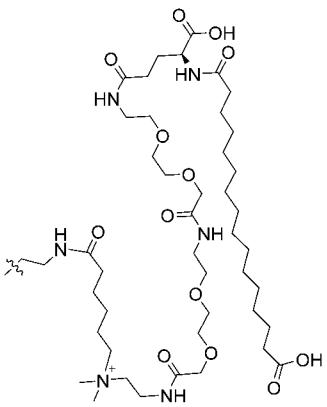
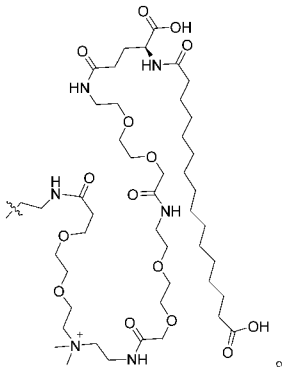


或 ；优选自 。

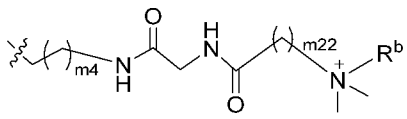
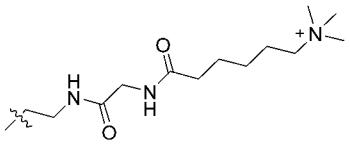
本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，



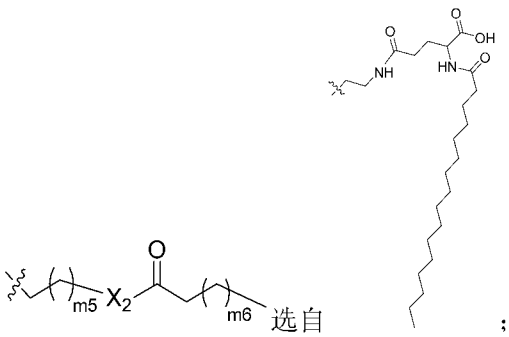
选自 ，，


，
，
，
，
，
或
；优选自
。

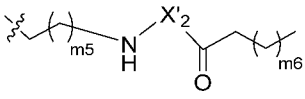
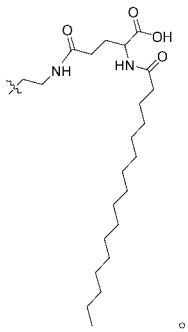
本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，


选自
。

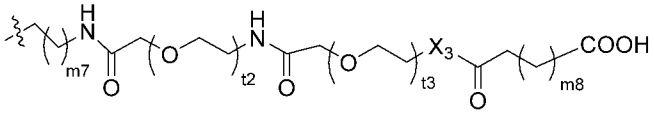
本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，

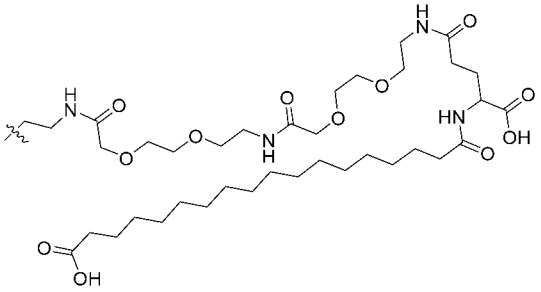

选自

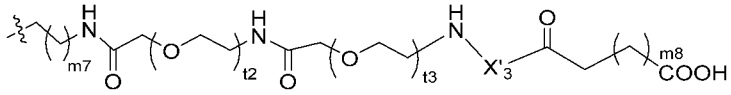
；

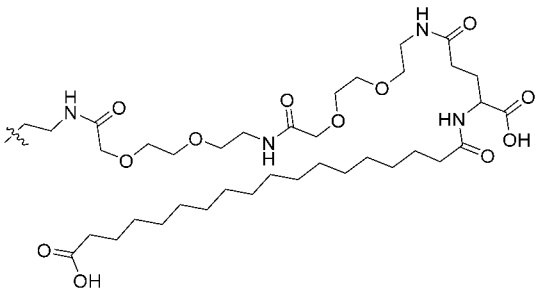
或者，选自。

本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，

选自

，

或者选自

。

本发明优选地实施方案中，所述氨基酸为 Gly， Ala，Val，Leu，Ile，Phe，Trp，Tyr，Asp，His，Asn，Glu，Lys，Gln，Met，Arg，Ser，Thr，Cys 或 Pro；

优选地，任基酸为 Gln；

更优选地，氨基酸为 Gln 或 Glu。

本发明进一步实施方式中，所述的 n 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

n1 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

n2 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t1 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t2 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t3 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t4 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t5 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t6 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t7 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t8 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t9 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

m 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m1 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m2 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m3 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m4 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m5 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m6 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m7 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m8 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m9 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m10 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m11 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m12 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m13 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m14 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m15 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m16 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m17 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

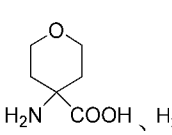
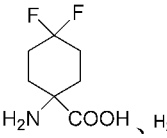
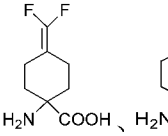
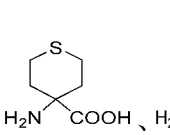
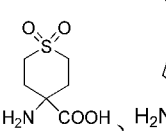
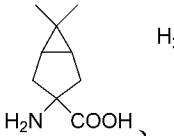
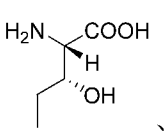
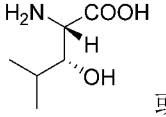
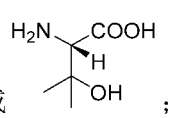
m18 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

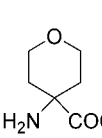
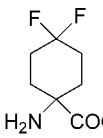
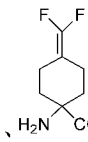
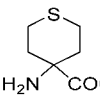
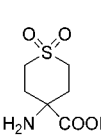
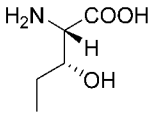
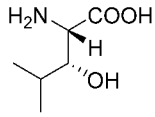
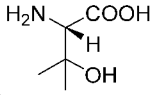
m19 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m20 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m21 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24。

m22 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24。

本发明优选地实施方案中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，氨基酸为 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Trp、Tyr、Asp、His、Asn、Glu、Lys、Gln、Met、Arg、Ser、Thr、Cys、Pro、、、、、、、、、 或 ；

优选地，氨基酸为 Glu、Thr、、、、、、、、或。

本发明还提供制备上述化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐的方法，其特征在于，基于固相或液相合成；

优选地，所述合成方法包括：

1）基于固相合成方法，合成树脂肽；

2）将步骤 1）得到的树脂肽进行切割，得到多肽中间体；

3）多肽中间体与侧链进行缩合反应；

4）将步骤 3）得到的肽段脱除保护基后，成环得到终产物；

进一步优选地，所述合成方法包括：

1）基于 Fmoc 方法的固相合成方法，合成树脂肽，乙酸酐封端；

2）将步骤 1）得到的树脂肽进行切割，得到多肽中间体；

3）多肽中间体与侧链采用偶联剂进行缩合反应；

4）将步骤 3）得到的肽段脱除保护基后，通过二硫键氧化成环得到终产物。

本发明进一步涉及一种药物组合物，其包括治疗有效剂量的所述化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

在本发明的优选地实施方案中，所述药物组合物选自片剂、胶囊剂、液体制剂或注射剂。

在本发明的优选地实施方案中，所述药物组合物为速释制剂或缓释制剂。

在本发明的某些实施方案中，所述化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，可以通过任何便利的方法给予，例如，通过口服，肠胃外，口腔，舌下，鼻腔，直肠，鞘内或经皮给予，以及相应地调整的药物组合物。

在本发明的某些实施方案中，所述化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，可以配制成液体或固体制剂，例如糖浆剂，混悬剂，乳剂，片剂，胶囊剂，粉剂，颗粒剂，或锭剂。

本发明进一步涉及所述化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，或其药物组合物在制备 IL-23R 抑制剂药物中的应用。本发明进一步涉及所述化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，或其药物组合物在制备治疗炎症性、自身免疫疾病和癌症，如炎症性肠病(IBD)、溃疡性结肠炎、克隆氏病、乳糜泻(非热带性口炎性腹泻)、与血清阴性关节病相关的肠病、显微镜下结肠炎、胶原性结肠炎、嗜酸性球性胃肠炎、与放射性疗法或化学疗法相关的结肠炎、与如白血球黏附缺乏症-1 的先天性免疫病症相关的结肠炎、慢性肉芽肿病、1b 型肝糖贮积病、赫曼斯基-普拉克症候群、薛迪克-东氏症候群和韦-奥二氏症候群、在直肠结肠切除术和回肠肛管吻合术之后造成的结肠袋炎、胃肠癌、胰脏炎、胰岛素依赖型糖尿病、乳房炎、胆囊炎、胆管炎、胆管周围炎、慢性支气管炎、慢性鼻窦炎、哮喘、牛

皮癣、牛皮癣性关节炎、肠易激综合症(IBS)、多发性硬化(MS)、银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎、寻常性天疱疮、器官移植排斥、克隆病、系统性红斑狼疮(SLE)或糖尿病疾病药物中的应用。

本发明进一步涉及所述化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，或其药物组合物在制备治疗炎症性、自身免疫疾病和癌症，如炎症性肠病(IBD)、溃疡性结肠炎、克隆氏病、乳糜泻(非热带性口炎性腹泻)、与血清阴性关节病相关的肠病、显微镜下结肠炎、胶原性结肠炎、嗜酸性球性胃肠炎、与放射性疗法或化学疗法相关的结肠炎、与如白血球黏附缺乏症-1 的先天性免疫病症相关的结肠炎、慢性肉芽肿病、1b 型肝糖贮积病、赫曼斯基-普拉克症候群、薛迪克-东氏症候群和韦-奥二氏症候群、在直肠结肠切除术和回肠肛管吻合术之后造成的结肠袋炎、胃肠癌、胰脏炎、胰岛素依赖型糖尿病、乳房炎、胆囊炎、胆管炎、胆管周围炎、慢性支气管炎、慢性鼻窦炎、哮喘、牛皮癣、牛皮癣性关节炎、肠易激综合症(IBS)、多发性硬化(MS)、银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎、寻常性天疱疮、器官移植排斥、克隆病、系统性红斑狼疮(SLE)或糖尿病疾病疾病的方法。

本发明进一步涉及一种治疗预防和/或治疗预制备治疗炎症性、自身免疫疾病和癌症，如炎症性肠病(IBD)、溃疡性结肠炎、克隆氏病、乳糜泻(非热带性口炎性腹泻)、与血清阴性关节病相关的肠病、显微镜下结肠炎、胶原性结肠炎、嗜酸性球性胃肠炎、与放射性疗法或化学疗法相关的结肠炎、与如白血球黏附缺乏症-1 的先天性免疫病症相关的结肠炎、慢性肉芽肿病、1b 型肝糖贮积病、赫曼斯基-普拉克症候群、薛迪克-东氏症候群和韦-奥二氏症候群、在直肠结肠切除术和回肠肛管吻合术之后造成的结肠袋炎、胃肠癌、胰脏炎、胰岛素依赖型糖尿病、乳房炎、胆囊炎、胆管炎、胆管周围炎、慢性支气管炎、慢性鼻窦炎、哮喘、牛皮癣、牛皮癣性关节炎、肠易激综合症(IBS)、多发性硬化(MS)、银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎、寻常性天疱疮、器官移植排斥、克隆病、系统性红斑狼疮(SLE)或糖尿病疾病疾病的方法，其包括向患者施用治疗有效剂量的所述化合物其立体异构体或其药学上可接受的盐，或其药物组合物。

本发明还涉及治疗哺乳动物中的炎症性、自身免疫疾病和癌症，如炎症性肠病(IBD)、溃疡性结肠炎、克隆氏病、乳糜泻(非热带性口炎性腹泻)、与血清阴性关节病相关的肠病、显微镜下结肠炎、胶原性结肠炎、嗜酸性球性胃肠炎、与放射性疗法或化学疗法相关的结肠炎、与如白血球黏附缺乏症-1 的先天性免疫病症相关的结肠炎、慢性肉芽肿病、1b 型肝糖贮积病、赫曼斯基-普拉克症候群、薛迪克-东氏症候群和韦-奥二氏症候群、在直肠结肠切除术和回肠肛管吻合术之后造成的结肠袋炎、胃肠癌、胰脏炎、胰岛素依赖型糖尿病、乳房炎、胆囊炎、胆管炎、胆管周围炎、慢性支气管炎、慢性鼻窦炎、哮喘、牛皮癣、牛皮癣性关节炎、肠易激综合症(IBS)、多发性硬化(MS)、银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎、寻常性天疱疮、器官移植排斥、克隆病、系统性红斑狼疮(SLE)或糖尿病等病症的方法，其包括向所述哺乳动物施用治疗有效量的本发明的化合物或其药学上可接受的盐、酯、前药、溶剂化物、水合物或衍生物。

在一些实施方案中，本方法涉及炎症性、自身免疫疾病和癌症，如炎症性肠病(IBD)、溃疡性结肠炎、克隆氏病、乳糜泻(非热带性口炎性腹泻)、与血清阴性关节病相关的肠病、显微镜下结肠炎、胶原性结肠炎、嗜酸性球性胃肠炎、与放射性疗法或化学疗法相关的结肠炎、与如白血球黏附缺乏症-1

的先天性免疫病症相关的结肠炎、慢性肉芽肿病、1b 型肝糖贮积病、赫曼斯基-普拉克症候群、薛迪克-东氏症候群和韦-奥二氏症候群、在直肠结肠切除术和回肠肛管吻合术之后造成的结肠袋炎、胃肠癌、胰脏炎、胰岛素依赖型糖尿病、乳房炎、胆囊炎、胆管炎、胆管周围炎、慢性支气管炎、慢性鼻窦炎、哮喘、牛皮癣、牛皮癣性关节炎、肠易激综合症(IBS)、多发性硬化(MS)、银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎、寻常性天疱疮、器官移植排斥、克隆病、系统性红斑狼疮(SLE)或糖尿病；

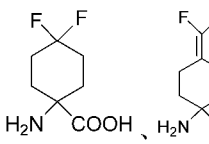
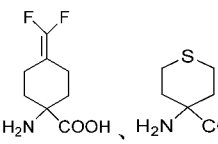
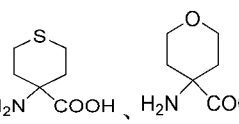
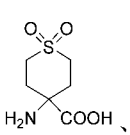
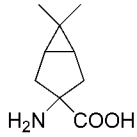
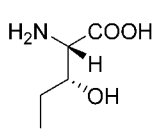
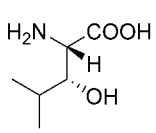
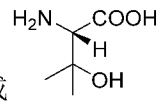
优选炎症性肠病，关节炎或银屑病。

发明的详细说明

除非本文中另外定义，否则本专利申请中所用的科学及技术术语应具有一般本领域技术人员通常所理解的含义。一般而言，本文所述的与化学、分子生物学、细胞及癌症生物学、免疫学、微生物学、药理学及蛋白质及核酸化学结合使用的命名法及此类学科的技术为本领域所熟知且常用的命名法及技术。

术语“肽”广泛地是指通过肽键接合在一起的两个或更多个氨基酸的序列。应理解，此术语不暗指氨基酸聚合物的特定长度，还不意欲暗示或区分使用重组技术、化学或酶促合成产生的多肽或天然存在的多肽。术语肽包括环肽。

术语“氨基酸”指任何及所有氨基酸及其残基，包括天然存在的氨基酸(例如，a-氨基酸)、非天然氨基酸、经修饰氨基酸、合成的氨基酸或罕见的氨基酸，其包括 D-氨基酸及 L-氨基酸两者。天然氨基酸包括自然界中发现的氨基酸，诸如组合至肽链中以形成大量蛋白质的构造组块的 23 个氨基酸。这些立体异构体主要为 L 立体异构体，但细菌包膜及一些抗生素中存在一些 D-氨基酸。20 个“标准”天然氨基酸为丙氨酸(Ala)；精氨酸(Arg)；天冬酰胺(Asn)；天冬氨酸(Asp)；半胱氨酸(Cys)；谷氨酰胺(Gln)；谷氨酸(Glu)；甘氨酸(Gly)；组氨酸(His)；异亮氨酸(Ile)；亮氨酸(Leu)；赖氨酸(Lys)；甲硫氨酸(Met)；苯丙氨酸(Phe)；脯氨酸(Pro)；丝氨酸(Ser)；苏氨酸(Thr)；色氨酸(Trp)；酪氨酸(Tyr)；和缬氨酸(Val)。“非标准”天然氨基酸为吡咯赖氨酸(发现于甲烷类生物体及其他真核生物中)、硒半胱氨酸(存在于许多非真核生物以及大多数真核生物中)及 N-甲酰甲硫氨酸(由细菌、粒线体及叶绿体中的起始密码子 AUG 编码)。“非天然”或“非天然氨基酸”为天然存在或化学合成的非蛋白型氨基酸(即，非天然编码或发现于遗传密码中的氨基酸)。已知超过 140 个非天然氨基酸且可能有成千上万个组合。“非天然”氨基酸的示例包括 β-氨基酸($\beta^3$ 及 $\beta^2$)、高氨基酸、脯氨酸衍生物及丙酮酸衍生物、3 取代的丙氨酸衍生物、甘氨酸衍生物、环取代的苯丙氨酸及酪氨酸衍生物、线性核氨基酸、二氨基酸、D-二氨基酸、α-甲基氨基酸及 N-甲基氨基酸。非天然或非天然氨基酸还包括经修饰的氨基酸。“经修饰”氨基酸包括已经化学修饰以包括非天然存在于氨基酸上的基团或化学部分的氨基酸(例如天然氨基酸)。

优选地，本发明所述的非天然氨基酸包括但不限于，、、、、、、、或。

术语“烷基”指饱和脂肪族烃基团，其为包含 1 至 20 个碳原子的直链或支链基团，优选含有 1 至 8 个碳原子的烷基，更优选 1 至 6 个碳原子的烷基，最优选 1 至 3 个碳原子的烷基。非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2,3-二甲基己基、2,4-二甲基己基、2,5-二甲基己基、2,2-二甲基己基、3,3-二甲基己基、4,4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、2,2-二乙基戊基、正癸基、3,3-二乙基己基、2,2-二乙基己基，及其各种支链异构体等。更优选的是含有 1 至 6 个碳原子的低级烷基，非限制性实施例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基等。

本发明所述的氢原子均可被其同位素氘所取代，本发明涉及的实施例化合物中的任一氢原子也均可被氘原子取代。

“羟基”指-OH 基团。

“THF”指四氢呋喃。

“MeOH”指甲醇。

“DMF”指 *N*,*N*-二甲基甲酰胺。

“TFA”指三氟乙酸。

“TEA”指三乙胺。

“MeI”指碘甲烷。

“DMA”指 *N*,*N*-二甲基乙酰胺。

“$Et_2O$”指乙醚。

“DCM”指二氯甲烷。

“DMAP”指 4-二甲氨基吡啶。

“DCC”指二环己基碳二亚胺。

“DCE”指 1,2 二氯乙烷。

“DIEA”指 *N*,*N*-二异丙基乙胺。

“NBS”指 *N*-溴代琥珀酰亚胺。

“NIS”指 *N*-碘代丁二酰亚胺。

“Cbz-Cl”指氯甲酸苄酯。

“$Pd_2(dba)_3$”指三(二亚苄基丙酮)二钯。

“Dppf”指 1,1’-双二苯基膦二茂铁。

“HATU”指 2-(7-氧化苯并三氮唑)-*N*,*N*,*N*’,*N*’-四甲基脲六氟磷酸酯。

“KHMDS”指六甲基二硅基胺基钾。

“LiHMDS”指双三甲基硅基胺基锂。

“MeLi”指甲基锂。

“n-BuLi”指正丁基锂。

“$NaBH(OAc)_3$”指三乙酰氧基硼氢化钠。

“药物组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或其生理学上/可药用的盐或前体药物与其他化学组分的混合物，以及其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

“可药用盐”是指本发明化合物的盐，这类盐用于哺乳动物体内时具有安全性和有效性，且具有应有的生物活性。

## 具体实施方式

以下结合实施例进一步描述本发明，但这些实施例并非限制着本发明的范围。

实施例

本发明的化合物结构是通过核磁共振 (NMR) 或/和液质联用色谱 (LC-MS)来确定的。NMR 化学位移(δ)以百万分之一 (ppm) 的单位给出。NMR 的测定是用 Bruker AVANCE-400 核磁仪，测定溶剂为氘代二甲基亚砜 (DMSO-$d_6$)，氘代甲醇 ($CD_3OD$) ，氘代氯仿 ($CDCl_3$) 或氘水（$D_2O$），内标为四甲基硅烷 (TMS)。

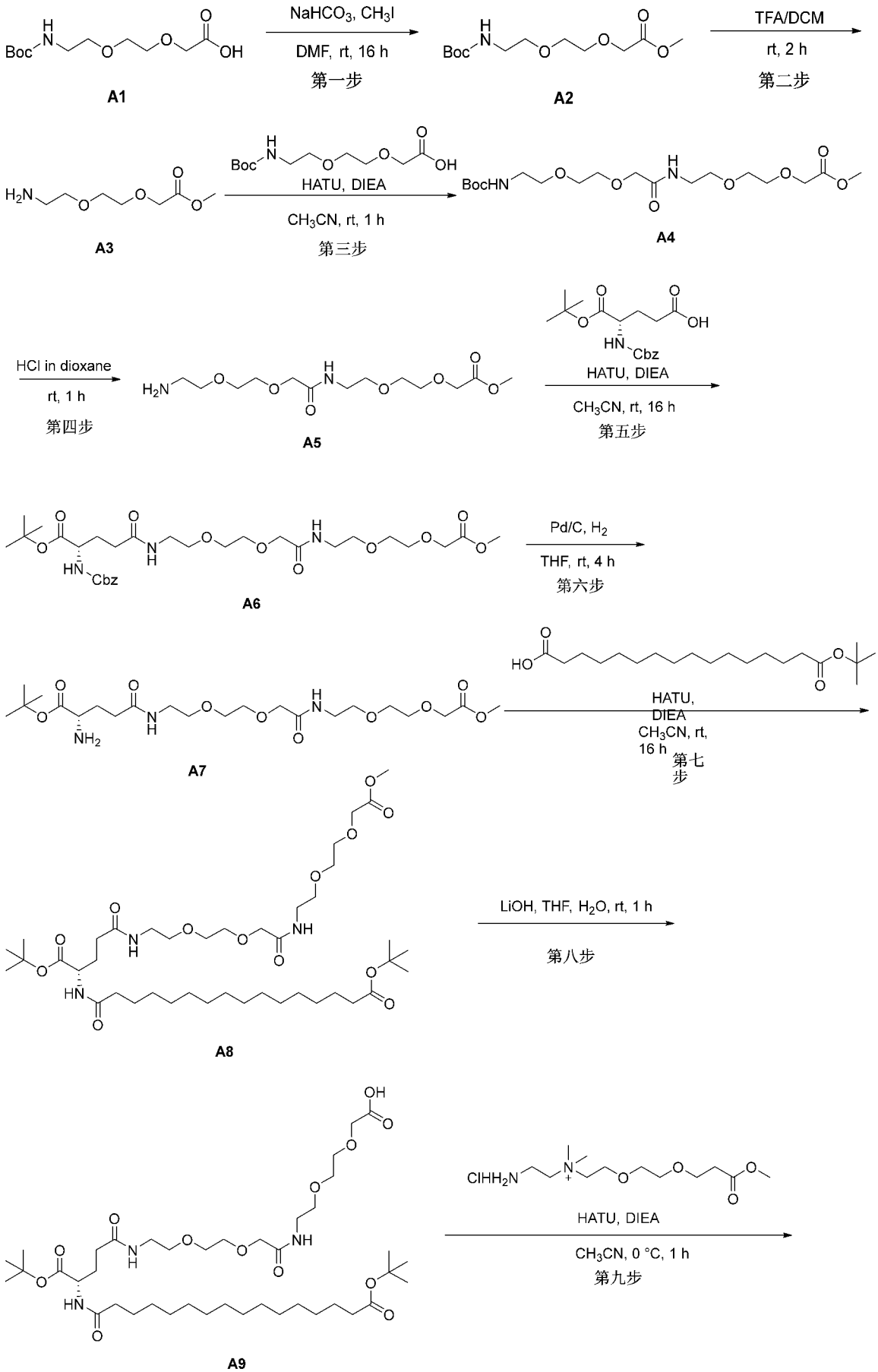
液质联用色谱 LC-MS 的测定用电喷雾离子色谱：Thermo.Scientific-LTQ-XL，HPLC 的测定使用 Agilent 1260 高压液相色谱仪（Phenomenex Gemini C18，4.6×150mm，5μm 色谱柱）。薄层层析硅胶板使用烟台黄海 HSGF254 或青岛 GF254 硅胶板，TLC 采用的规格是 0.15 mm～0.20 mm，薄层层析分离纯化产品采用的规格是 0.4 mm～0.5 mm。柱层析一般使用烟台黄海硅胶 200～300 目硅胶为载体。

本发明实施例中的起始原料是已知的并且可以在市场上买到，或者可以采用或按照本领域已知的方法来合成。

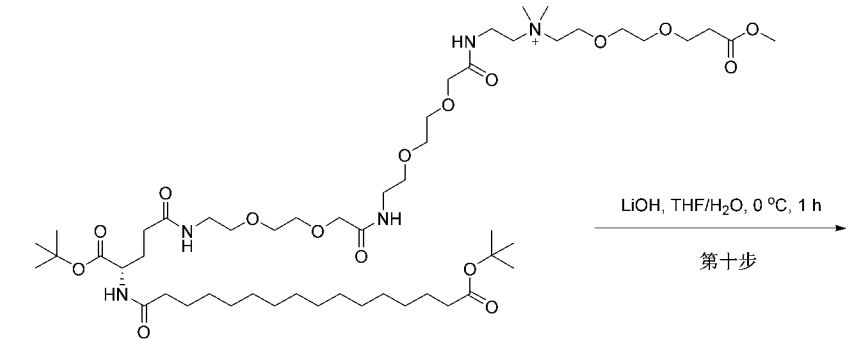
在无特殊说明的情况下，本发明的所有反应均在连续的磁力搅拌下，在干燥氮气或氩气氛下进行，溶剂为干燥溶剂，反应温度单位为摄氏度。

中间体及实施例中纯化化合物采用的硅胶柱色谱法的洗脱剂的体系和薄层色谱法的展开剂体系包括：A：二氯甲烷和甲醇体系，B：正己烷和乙酸乙酯体系，C：二氯甲烷和丙酮体系，溶剂的体积比根据化合物的极性不同而进行调节，也可以加入少量的三乙胺和醋酸等碱性或酸性试剂进行调节。

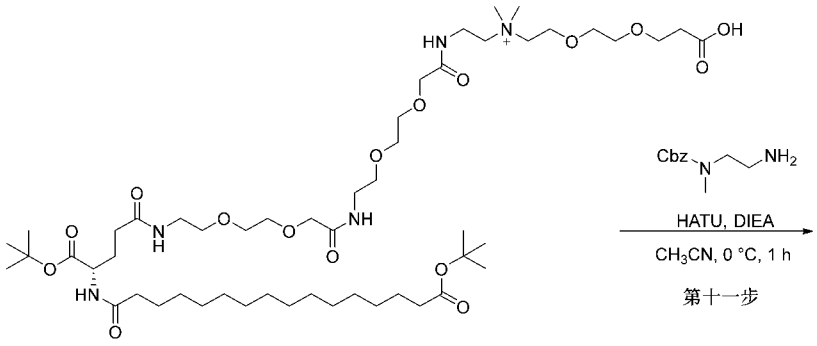
**中间体 A**



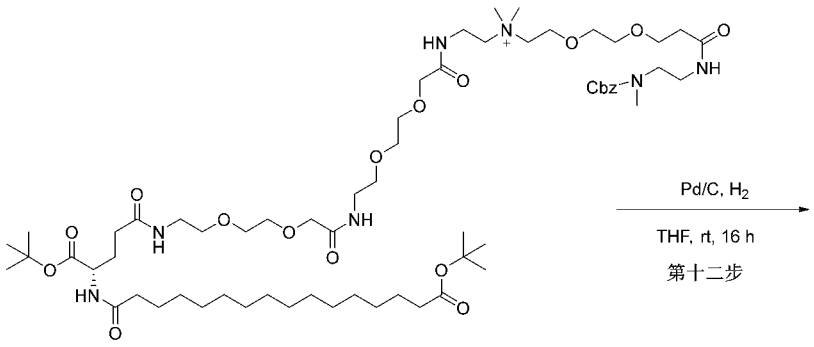

A1 A2 A3 A4 A5 A6 A7 A8 A9



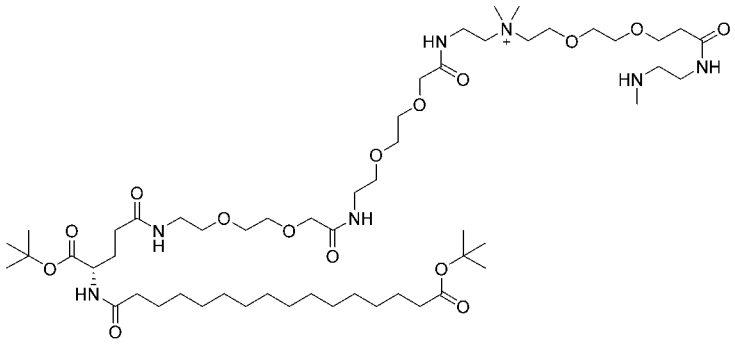

A10




A11




A12



中间体A

第一步

在室温下，向化合物 **A1** (50 g, 0.19 mol)的 DMF (350 mL) 中的溶液中加入 $NaHCO_3$ (79.8 g，0.95 mol）和 MeI（80.9 g，0.57 mol）。将混合物在 30 °C 下搅拌 16 小时，然后用水稀释并用乙酸乙酯萃取。 合并的有机层用饱和食盐水洗涤，经 $Na_2SO_4$ 干燥后过滤，浓缩滤液得到化合物 **A2**（55 g），该粗产物可直接用于下步反应中。

LC/MS：$[M+H]^+$ -100= 178.0。

第二步

将化合物 **A2** (10 g，36.06 mmol)溶于 TFA/DCM (v:v=1:2, 100 mL)中，在室温下搅拌 2 小时。反应液浓缩后得化合物 **A3**（10 g），该粗产物可直接用于下步反应中。

LC/MS：$[M+H]^+$ = 178.1。

第三步

在 0 °C 下，向化合物 **A1** (9.5 g, 36 mmol)的 $CH_3CN$ (250 mL)溶液中加入化合物 **A3** (6.4 g, 36 mmol)、DIEA (23.3 g, 180 mmol)和 HATU (13.6 g, 36 mmol)，反应液在室温下搅拌 1 小时，用水稀释后经乙酸乙酯萃取三次。合并的有机层用饱和食盐水洗涤，经 $Na_2SO_4$ 干燥后过滤。浓缩滤液，残余物经硅胶柱色谱纯化(0%-5%，MeOH/DCM)得到化合物 **A4**（15 g），产率：98.7%。

LC/MS：$[M+H]^+$-100= 323.2。

第四步

将化合物 **A4** (9.1 g，21.54 mmol)溶于 HCl/dioxane (4N，100 mL)中，在室温下搅拌 1 小时。反应液浓缩后得化合物 **A5**（7 g），该粗产物可直接用于下步反应中。

LC/MS：$[M+H]^+$ = 323.4。

第五步

在 0 °C 下，向(S)-4-(((苄氧基)羰基)氨基)-5-(叔丁氧基)-5-氧代戊酸 (7.2 g, 21.34 mmol)的 $CH_3CN$(80 mL)溶液中加入化合物 **A5** (6.88 g, 21.34 mmol)、DIEA (13.79 g, 106.71 mmol)和 HATU (8.05 g, 21.34 mmol)，反应液在室温下搅拌 16 小时。混合物用食盐水稀释后用乙酸乙酯萃取三次。合并的有机层用饱和食盐水洗涤，经 $Na_2SO_4$ 干燥后过滤。滤液浓缩，残余物经硅胶柱色谱纯化(0%-5%，MeOH/DCM)得到化合物 **A6**（7 g），产率：51.1%。

LC/MS：$[M+H]^+$= 642.6。

第六步

在室温下向化合物 **A6** (7 g, 10.91 mmol) 的 THF (150 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (700 mg)，混合物在氢气氛围下（1.5 个大气压）室温搅拌 16 小时。 反应液经硅藻土过滤，滤液减压浓缩得到化合物 **A7**（5.07 g），产率：91.6%。

LC/MS：$[M+H]^+$= 508.4。

第七步

在 0 °C 下，向十六烷二酸单叔丁酯 (4.45 g, 12.99 mmol)的 $CH_3CN$ (80 mL)溶液中加入化合物 **A7** (5.07 g, 10 mmol)、DIEA (6.45 g, 50 mmol)和 HATU (4.45 g, 13 mmol)，反应液在室温下搅拌 16 小时后用食盐水稀释，再用 EtOAc 萃取三次。合并的有机层用饱和食盐水洗涤，经 $Na_2SO_4$ 干燥后过滤。浓缩滤液，残余物经硅胶柱色谱纯化(0%-5%，MeOH/DCM)得到化合物 **A8**（7.7 g），产率：92.6%。

LC/MS：$[M+H]^+$= 832.7;

$^1H$ NMR (400 MHz, $CD_3OD$) δ 4.24 (dd, $J$ = 9.1, 5.1 Hz, 1H), 4.16 (s, 2H), 4.00 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.69 (dt, $J$ = 5.3, 2.7 Hz, 4H), 3.66 – 3.62 (m, 4H), 3.56 (dt, $J$ = 8.4, 5.5 Hz, 4H), 3.44 (t, $J$ = 5.4 Hz, 2H), 3.37

(t, *J* = 5.5 Hz, 2H), 2.29 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.25 – 2.16 (m, 4H), 2.10 (qd, *J* = 7.6, 5.3 Hz, 1H), 1.89 (dt, *J* = 16.5, 7.5 Hz, 1H), 1.64 – 1.52 (m, 4H), 1.45 (d, *J* = 9.1 Hz, 18H), 1.29 (s, 20H)。

第八步

在 0 °C 下，向化合物 **A8**（4 g，4.81 mmol）的 THF（40 mL）溶液中加 LiOH（0.23 g，9.61 mmol）的水（10 mL）溶液，在此温度下反应 1 小时。向反应液中加 1N HCl 调节 pH=4，水相用 EtOAc 萃取三次。合并的有机层用饱和食盐水洗涤，经 $Na_2SO_4$ 干燥后过滤。减压浓缩滤液得化合物 **A9**（4 g），该粗产物可直接用于下步反应中。

LC/MS：$[M+H]^+$= 818.7。

第九步

在 0 °C 下，向化合物 **A9** (3.5 g, 4.28 mmol)的 $CH_3CN$ (40 mL)溶液中依次加入 DIEA (3.32 g, 25.67 mmol)、HATU (1.94 g, 5.13 mmol)和 2-氨基-N-(2-(2-(3-甲氧基-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)-*N*,*N*-二甲基乙烷-1-铵的盐酸盐(1.92 g, 6.42 mmol)，然后将溶液在 0°C 下搅拌 1 小时。混合物经减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物 **A10**（为 TFA 盐，2.16 g），产率：43.7%。

LC/MS：$[M]^+$= 1062.8。

第十步

在 0 °C 下，向化合物 **A10**（2 g，1.88 mmol）的 THF（20 mL）溶液中加入 LiOH 水溶液（135 mg，5.64 mmol，10 mL），在此温度下反应 1 小时。反应液浓缩除去 THF，向残余物中滴加 1N HCl 调节 pH=7，混合物经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物 **A11**（为 TFA 盐，0.7 g），产率：35.5%。

LC/MS：$[M]^+$= 1048.8。

第十一步

在 0 °C 下，向化合物 **A11** (0.7 g, 0.67 mmol)的 $CH_3CN$ (10 mL)溶液中依次加入 DIEA (517 mg, 4.0 mmol)、HATU (302 mg, 0.8 mmol)和 2-氨基-N-(2-(2-(3-甲氧基-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)-*N*,*N*-二甲基乙烷-1-铵的盐酸盐(208 mg, 1.0 mmol)，然后将溶液在 0 °C 下搅拌 1 小时。混合物减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物 **A12**（为 TFA 盐，820 mg），产率：99.2%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$= 620.4。

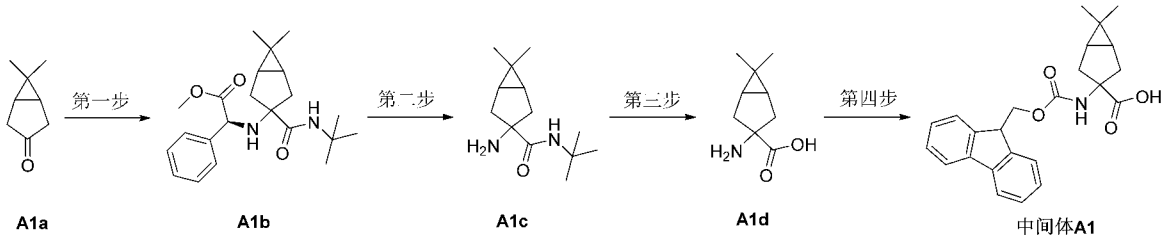
第十二步

在室温下向化合物 **A12** (700 mg, 0.56 mmol) 的 THF (20 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (70 mg)，反应在氢气氛围下（1.5 个大气压）室温下搅拌 16 小时。 反应液经硅藻土过滤，滤液减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物**中间体 A**（为 TFA 盐，600 mg），产率：95.1%。

LC/MS：$[M]^+$= 1104.7。

$^1$H NMR (400 MHz, $CD_3OD$) δ 4.24 (dd, *J* = 9.2, 5.2 Hz, 1H), 4.02 (d, *J* = 14.0 Hz, 4H), 3.94 (s, 2H), 3.74 (q, *J* = 6.1 Hz, 4H), 3.71 – 3.63 (m, 14H), 3.61 – 3.54 (m, 6H), 3.48 (dt, *J* = 10.6, 5.6 Hz, 4H), 3.40 – 3.35 (m, 2H), 3.22 (s, 6H), 3.13 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.73 (s, 3H), 2.51 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.29 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.26 – 2.17 (m, 4H), 2.11 (ddd, *J* = 15.6, 10.3, 6.6 Hz, 1H), 1.95 – 1.82 (m, 1H), 1.59 (dt, *J* = 22.3, 7.1 Hz, 4H), 1.45 (d, *J* = 9.0 Hz, 18H), 1.29 (s, 20H)。

**中间体 A1**




第一步

将 *L*-苯甘氨酸（3.35 g, 40.26 mmol）溶于甲醇（150 mL），冷却至-78 °C，依次滴加 6,6-二甲基双环[3.1.0]己-3-酮 **A1a**（CAS: 13855-29-3, 5.0 g, 40.26 mmol）的甲醇溶液（20 mL）和异氰酸叔丁酯的甲醇溶液（20 mL），逐渐升至室温反应 24 小时。反应液浓缩后溶于 200 mL 乙醚打浆，过滤掉不溶物，滤液浓缩后残余物用硅胶柱层析（EA/PE 体系梯度洗脱）得化合物(2*S*)-2-((3-(叔丁基氨基甲酰基)-6,6-二甲基双环[3.1.0]己-3-基)氨基)-2-苯基乙酸甲酯 **A1b** (10.5 g)，产率：70.0%。

LC/MS: $[M+H]^+$=373.3。

第二步

将(2*S*)-2-((3-(叔丁基氨基甲酰基)-6,6-二甲基双环[3.1.0]己-3-基)氨基)-2-苯基乙酸甲酯 **A1b** (10.0 g, 26.84 mmol)和氢氧化钯（1.13 g, 8.05 mmol）溶于甲醇（200 mL），氢气置换三次，保持氢气氛围，室温反应 16 小时。反应液用硅藻土过滤，滤液浓缩后溶于乙醚（150 mL），用 2N 稀盐酸（50 mL）萃取两次，合并水相，用碳酸钾固体调节 pH 至 8，乙醚（100 mL）萃取两次，减压浓缩得 3-氨基-*N*-(叔丁基)-6,6-二甲基双环[3.1.0]己烷-3-甲酰胺 **A1c** (4.9 g)，产率：81.4%。

LC/MS: $[M+H]^+$=225.2。

第三步

将 3-氨基-*N*-(叔丁基)-6,6-二甲基双环[3.1.0]己烷-3-甲酰胺 **A1c** (4.9 g, 21.84 mmol)溶于 6N 盐酸（50 mL），回流反应 16 小时。反应液冷至室温，用乙醚萃取洗涤，收集水相，减压浓缩得 3-氨基-6,6-二甲基双环[3.1.0]己烷-3-羧酸 **A1d**（盐酸盐，4.4 g），产率：98%。

LC/MS: $[M+H]^+$=170.1。

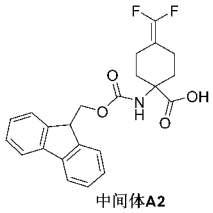
第四步

将 3-氨基-6,6-二甲基双环[3.1.0]己烷-3-羧酸 **A1d**（盐酸盐，4.4 g，21.39 mmol）溶于碳酸氢钠溶液（100 mL），加入 9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯（10.79 g，32.09 mmol）的二氧六环溶液（80 mL），室温反应 1 小时。反应液用乙酸乙酯（100 mL）萃取两次，合并有机相后，用水洗涤。水相用 2N 稀盐酸调节 pH 至 2，再次用乙酸乙酯（50 mL）萃取两次。合并有机相，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液

浓缩后残余物用硅胶柱层析（MeOH/DCM 体系梯度洗脱）得**中间体 A1** 3-(((9*H*-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-6,6-二甲基双环[3.1.0]己烷-3-羧酸 (5.6 g)，产率：66.9%。

LC/MS: $[M-H]^-$=390.2。

**中间体 A2**

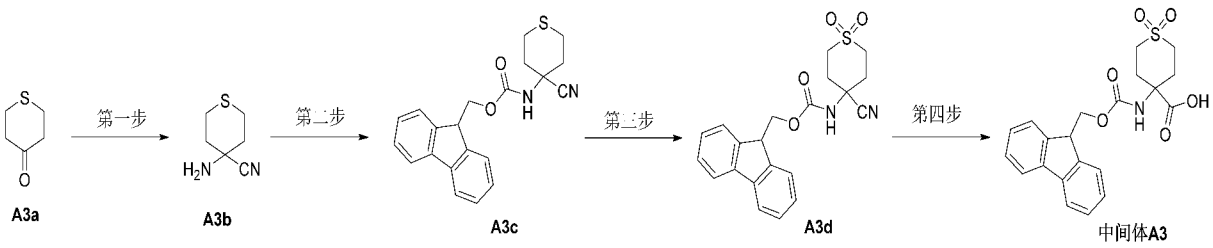



中间体A2

参考**中间体 A1** 的合成方法，经 4-（二氟亚甲基）环己酮(CAS: 137780-61-1)及后续类似实验操作，得**中间体 A2** 1-((((9*H*-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-4-(二氟亚甲基)环己烷-1-甲酸。

LC/MS: $[M-H]^-$=412.1。

**中间体 A3**




A3a A3b A3c A3d 中间体A3

第一步

在 0 ° C 下，向四氢噻喃-4-酮 **A3a** (50 g, 431.0 mmol)的甲醇溶液(30 mL)中加入氨的甲醇溶液（7M，300 mL），保持 0°C 搅拌 3 h。然后滴加三甲基氰硅烷 (44.9 g，452.6 mmol)，滴毕，逐渐升至室温搅拌 1.5 h。反应液浓缩得浅棕色油状物，0 ° C 下使用石油醚(300 mL)打浆，有固体析出。过滤后干燥，得 4-氨基四氢噻喃-4-甲腈 **A3b** (61.5 g)，无需进一步纯化直接投入下步反应。

LC/MS: $[M+H]^+$=143.1。

第二步

将 **A3b** (61.5 g，433.0 mmol)溶于二氧六环(300 mL)和水(300 mL)的混合溶液中，加入碳酸钠(55.1 g，519.7 mmol)。将氯甲酸-9-芴基甲酯(117.6 g，454.7mmol)的二氧六环 (100 mL)溶液，在 0 °C 下滴入反应液中，转至室温搅拌 1 h。反应液加水(400mL)打浆，过滤得白色固体，所得固体用石油醚(300mL)打浆，过滤干燥得(9*H*-芴-9-基)甲基(4-氰基四氢-2*H*-噻喃-4-基)氨基甲酸酯 **A3c** (124 g)，产率：79%。

LC/MS: $[M+H]^+$=365.2。

第三步

将(9*H*-芴-9-基)甲基(4-氰基四氢-2*H*-噻喃-4-基)氨基甲酸酯 **A3c** (50.0 g, 137.4 mmol)溶于二氯甲烷(150 mL)，0 °C 下分批加入 85%的间氯过氧苯甲酸(83.7 g，412.1 mmol)，逐渐升至室温搅拌过夜。反应液过滤，滤饼用二氯甲烷/甲醇=10:1(800 mL)溶清后，用饱和碳酸氢钠溶液洗(300 mL*4)。有机相干

燥后浓缩得(9*H*-芴-9-基)甲基(4-氰基-1,1-二氧四氢-2*H*-噻喃-4-基）氨基甲酸酯 **A3d** (38.1 g)，产率：28.2%。

LC/MS: $[M+H]^+$=396.2。

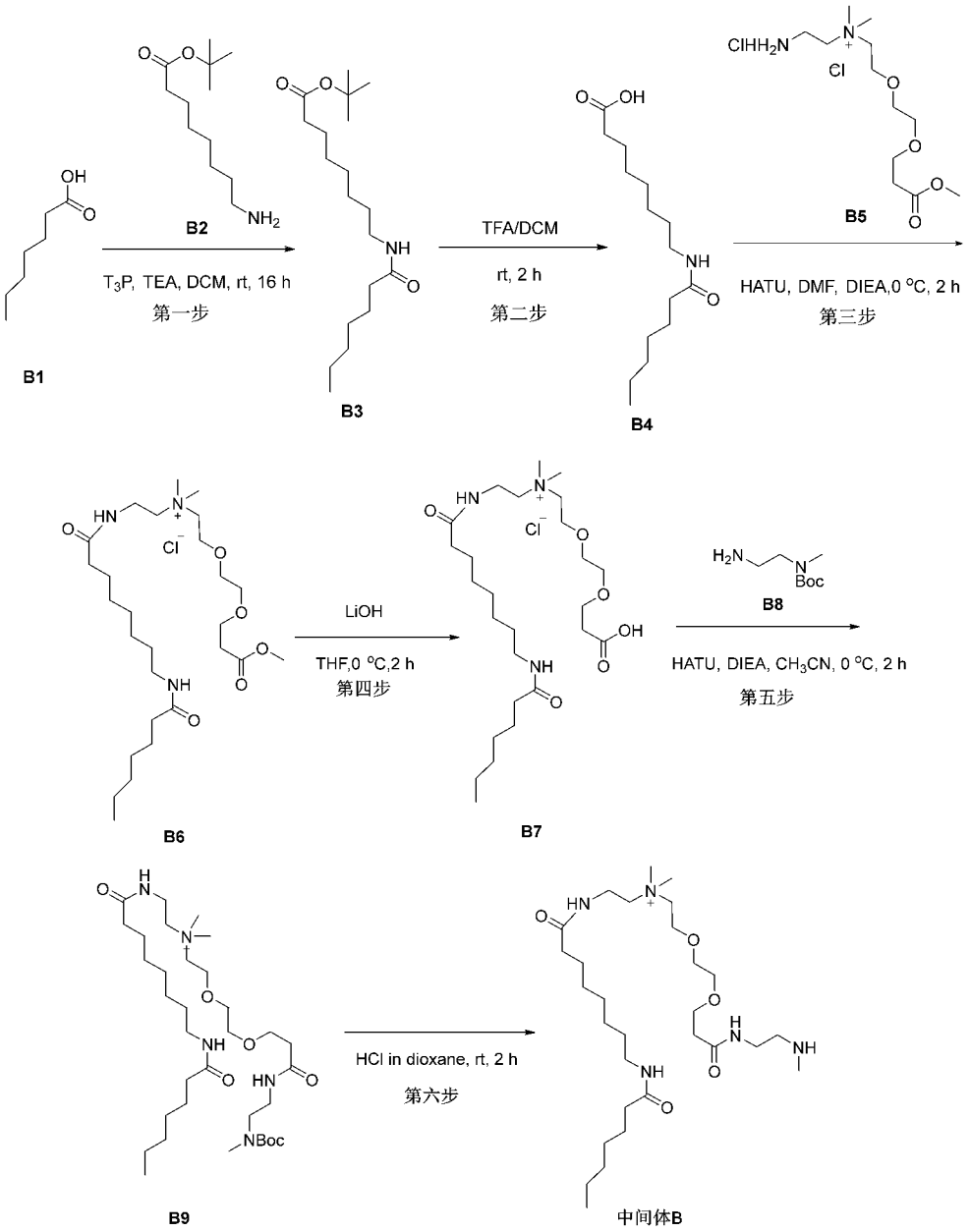
第四步

将 **A3d** (38.1 g，96.2 mmol)溶于 4N 的盐酸二氧六环溶液(300 mL)，再加入浓盐酸(400mL)，90 °C 下搅拌 30 h。反应液中浓缩至 200 mL，加水(400 mL)打浆有固体析出，过滤所得固体用乙酸乙酯(200 mL)打浆，过滤干燥所得固体即为**中间体 A3** (12.77 g，纯度：97.80 %)。

LC/MS: $[M+H]^+$= 416.2;

$^1$H NMR (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 7.91 (d, 3H),7.72 (d, 2H), 7.43 (t, 2H), 7.35 (td, 2H), 4.35 (d, 2H), 4.25 (t, 1H), 3.09 (s, 4H), 2.46 (s, 2H), 2.29 (s, 2H).

**中间体 B**



第一步

在室温下，向化合物 **B1** (2.1 g，16.13 mmol)的 DCM (21 mL)的溶液中加入化合物 **B2** (3.5 g, 16.25 mmol)和 TEA (4.93 g，48.72 mmol)。再在冰浴下加入 $T_3P$ (50%，20.69 g，32.51 mmol)。混合物在室温下搅拌 16 小时后，浓缩加入乙酸乙酯和水，水相继续用乙酸乙酯萃取两次。合并的有机相用 1M HCl 洗涤，再用饱和 $NaHCO_3$ 溶液洗涤，经 $Na_2SO_4$ 干燥后过滤，浓缩滤液得到化合物 **B3** (5 g)，产率：94.6%。该粗产物可直接用于下一步反应中。

LC/MS：$[M+H]^+$-56= 272.2。

第二步

将化合物 **B3** (5 g，15.27 mmol)溶于 TFA/DCM (v:v=1:1, 50 mL) 的溶液中，在室温下搅拌 2 小时。反应液浓缩后用适量的 DCM 溶解后再浓缩，重复 3 次，干燥并浓缩 DCM 后得到化合物 **B4** (2.7 g)，产率：65.2%。该粗产物可直接用于下一步反应中。

LC/MS：$[M+H]^+$=272.2。

第三步

在室温下，向化合物 **B4** (2.7 g，9.95 mmol)的 DMF (30 mL)的溶液中加入化合物 **B5** (4.47 g，14.92 mmol)。冰浴下冷却后，向上述溶液中加入 HATU (4.54 g，11.94 mmol)和 DIEA(7.71 g，59.69 mmol)。将混合物在 0ºC 下搅拌 2 小时，然后浓缩，向残余物中加入适量 $CH_3CN$ 溶解，经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物 **B6** (1.5 g)，产率：29.4%。

LC/MS：$[M]^+$=516.4。

第四步

在冰浴下，向化合物 **B6** (1.5 g，2.9 mmol)的 THF(15 mL)溶液中加入 LiOH (244 mg，5.8 mmol)，在 0ºC 下搅拌 2 小时。反应液用 1 M HCl 调节 pH 至中性后浓缩，残余物用适量的 $CH_3CN$ 溶解，经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物 **B7** (1.3 g)，产率：89.6%。

LC/MS：$[M]^+$=502.4。

第五步

室温下，向化合物 **B7** (1.1 g，2.2 mmol)的 $CH_3CN$ (10 mL)溶液中加入化合物 **B8** (763 mg，4.4 mmol)。冰浴下冷却后加入 HATU (1.0 g，2.6 mmol)和 DIEA(1.41 g，10.9 mmol)。混合物在 0 ºC 下搅拌 2 小时后浓缩，残余物中加入适量 $CH_3CN$ 溶解，经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物 **B9** (1.3 g)，产率：89.8%。

LC/MS：$[M]^+$=658.6。

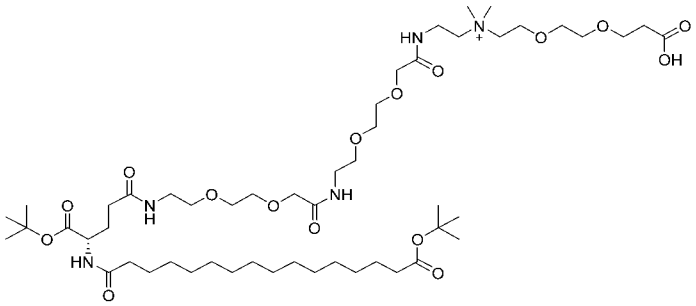
第六步

将化合物 **B9** (1.3 g，1.97 mmol)溶于 HCl/dioxane (4N，100 mL)中，在室温下搅拌 2 小时。反应液浓缩后得到化合物**中间体 B** (为盐酸盐，1.08 g)，产率：98.2%。

LC/MS：$[M]^+$=558.6;

$^1$H NMR (400 MHz, MeOD) δ 3.94 (s, 2H), 3.76 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 3.66 (t, *J* = 4.5 Hz, 8H), 3.52 (dd, *J* = 12.9, 6.7 Hz, 4H), 3.27 – 3.07 (m, 10H), 2.73 (s, 3H), 2.52 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.23 (td, *J* = 7.6, 3.8 Hz, 4H), 1.61 (s, 4H), 1.50 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 1.33 (d, *J* = 9.9 Hz, 12H), 0.91 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H)。

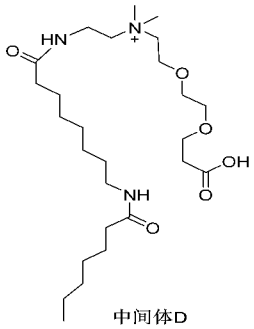
**中间体 C**



中间体C

参考 WO 2021/127460 的制备方法合成**中间体 C**。

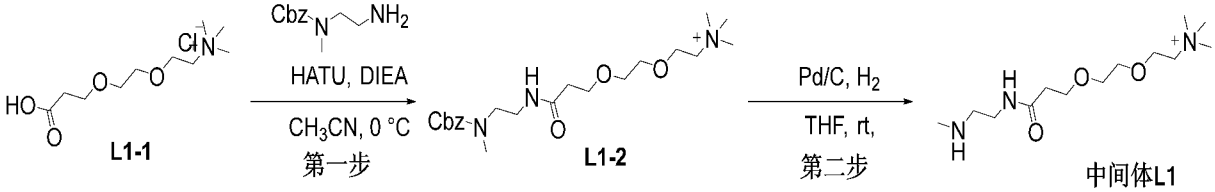
**中间体 D**



中间体D

参考 WO 2021/041770 的制备方法合成**中间体 D**。

**中间体 L1**




第一步

在 0 °C 下，向化合物 **L1-1** (0.9 g, 3.52 mmol)的 $CH_3CN$ (25 mL)溶液中依次加入 DIEA (2.73 g, 21.1 mmol)、HATU (1.61 g, 4.22 mmol)和 *N*-Cbz-*N*-甲基乙二胺(盐酸盐，1.29 g, 5.28 mmol)，然后将溶液在 0 °C 下搅拌 1 小时。混合物减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化($CH_3CN$/0.03%TFA/water，0~100%梯度洗脱)得到化合物 **L1-2**（为 TFA 盐，1.35 g），产率：73%。

LC/MS：$[M]^+$= 410.3。

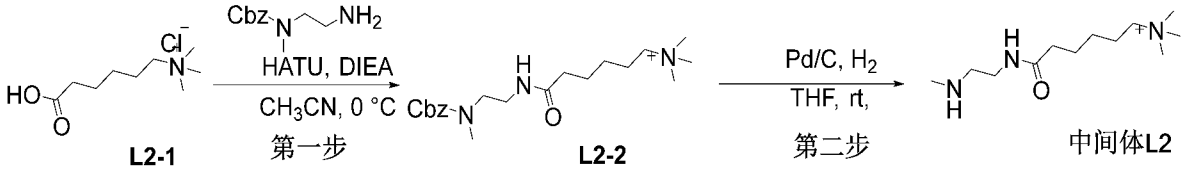
第二步

在室温下向化合物 **L1-2** (1.2 g, 2.29 mmol) 的 THF (50 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (120 mg)，反应在氢气氛围下（1.5 个大气压）室温下搅拌 16 小时。 反应液经硅藻土过滤，滤液减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化($CH_3CN$/0.03%TFA/water，0~100%梯度洗脱)得到化合物**中间体 L1**（为 TFA 盐，760 mg），产率：85%。

LC/MS：$[M]^+$= 276.2。

$^1$H NMR (400 MHz, MeOD) δ 3.99 – 3.91 (m, 2H), 3.77 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 3.70 – 3.62 (m, 4H), 3.62 – 3.52 (m, 4H), 3.23 (s, 9H), 3.10 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.57 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H).

**中间体 L2**




第一步

在 0 °C 下，向化合物 **L2-1** (0.6 g, 2.86 mmol)的 $CH_3CN$ (20 mL)溶液中依次加入 DIEA (2.22 g, 17.2 mmol)、HATU (1.31 g, 3.43 mmol)和 *N*-Cbz-*N*-甲基乙二胺(盐酸盐，1.05 g, 4.29 mmol)，然后将溶液在 0 °C 下搅拌 1 小时。混合物减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化($CH_3CN$/0.03%TFA/water，0~100%梯度洗脱)得到化合物 **L2-2**（为 TFA 盐，1.17 g），产率：86%。

LC/MS：$[M]^+$= 364.3。

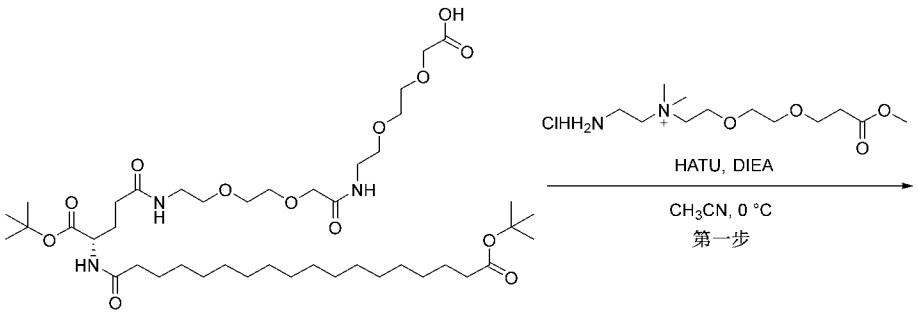
第二步

在室温下向化合物 **L2-2** (1.0 g, 2.29 mmol) 的 THF (50 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (100 mg)，反应在氢气氛围下（1.5 个大气压）室温下搅拌 16 小时。 反应液经硅藻土过滤，滤液减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化($CH_3CN$/0.03%TFA/water，0~100%梯度洗脱)得到化合物**中间体 L2**（为 TFA 盐，0.66 mg），产率：92%。

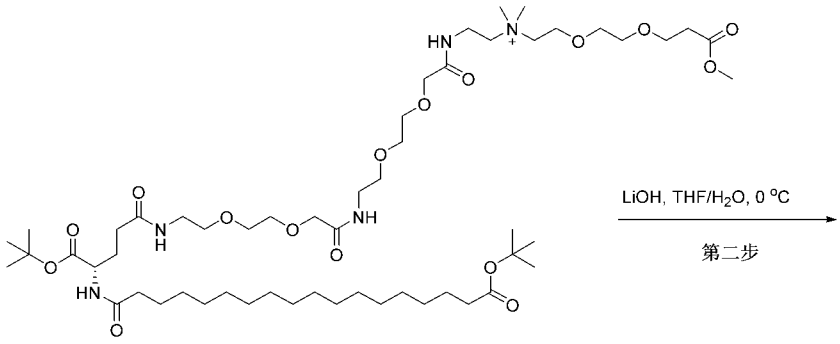
LC/MS：$[M]^+$= 230。

$^1$H NMR (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 8.47-8.37 (m, 2H), 3.35 – 3.21 (m, 4H), 3.05 (s, 9H), 2.79 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.53 – 2.45 (m, 3H), 2.16-2.09 (m, 2H), 1.72 – 1.62 (m, 2H), 1.60-1.51 (m, 2H), 1.29-1.21 (m, 2H).

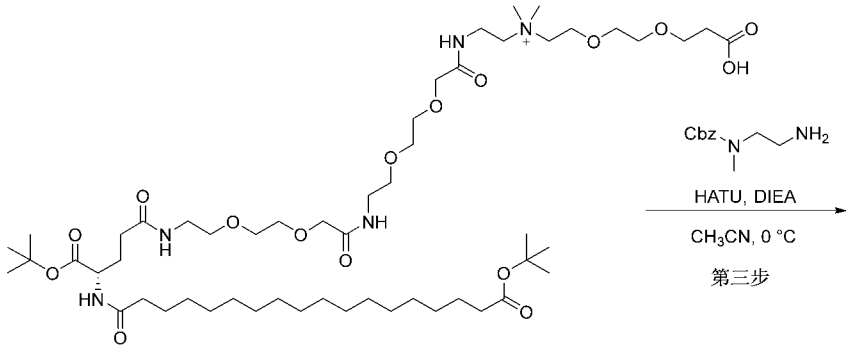
**中间体 L3**


HATU, DIEA
CH3CN, 0 °C
第一步

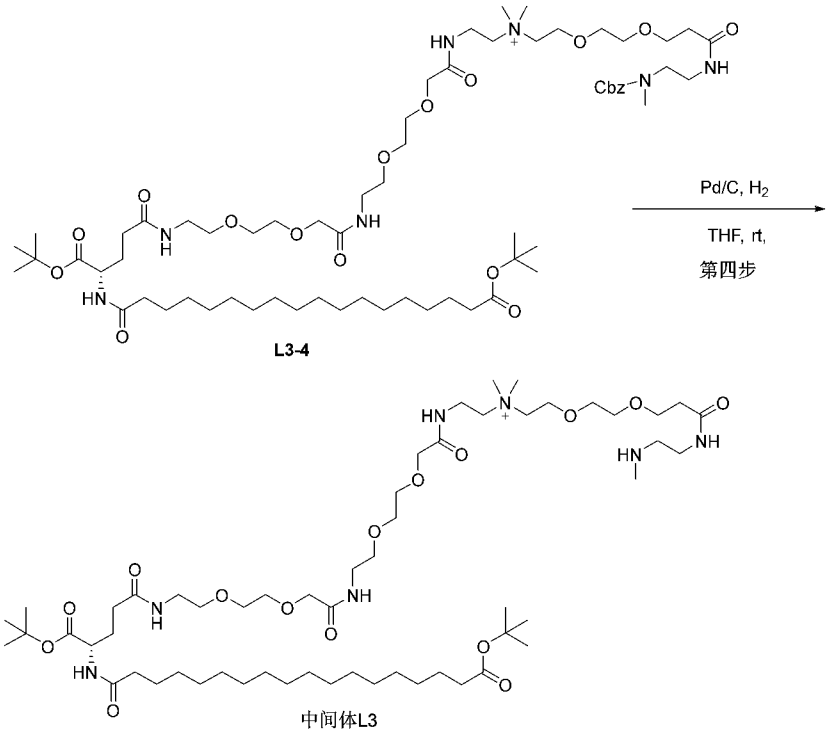
L3-1


LiOH, THF/H2O, 0 °C
第二步

L3-2


HATU, DIEA
CH3CN, 0 °C
第三步

L3-3




第一步

在 0 °C 下，向化合物 **L3-1** (CAS: 1118767-16-0, 4.0 g, 4.73 mmol)的 $CH_3CN$ (45 mL)溶液中依次加入 DIEA (3.67 g, 28.37 mmol)、HATU (2.16 g, 5.67 mmol)和 2-氨基-N-(2-(2-(3-甲氧基-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)-*N*,*N*-二甲基乙烷-1-铵的盐酸盐(2.13 g, 7.09 mmol)，然后将溶液在 0°C 下搅拌 1 小时。混合物经减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物 **L3-2** （为 TFA 盐，3.05 g），产率：53.6%。

LC/MS：$[M]^+$= 1090.8。

第二步

在 0 °C 下，向化合物 **L3-2**（2.4 g，1.99 mmol）的 THF（24 mL）溶液中加入 LiOH 水溶液（143 mg，5.97 mmol，12 mL），在此温度下反应 1 小时。反应液浓缩除去 THF，向残余物中滴加 1N HCl 调节 pH=7，混合物经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物 **L3-3**（为 TFA 盐，1.1 g），产率：46.4%。

LC/MS：$[M]^+$= 1076.7。

第三步

在 0 °C 下，向化合物 **L3-3** (0.8 g, 0.67 mmol)的 $CH_3CN$ (12 mL)溶液中依次加入 DIEA (521 mg, 4.03 mmol)、HATU (306 mg, 0.81 mmol)和 *N*-Cbz-*N*-甲基乙二胺(盐酸盐，245 mg, 1.01 mmol)，然后将溶液在 0 °C 下搅拌 1 小时。混合物减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物 **L3-4**（为 TFA 盐，870 mg），产率：93.8%。

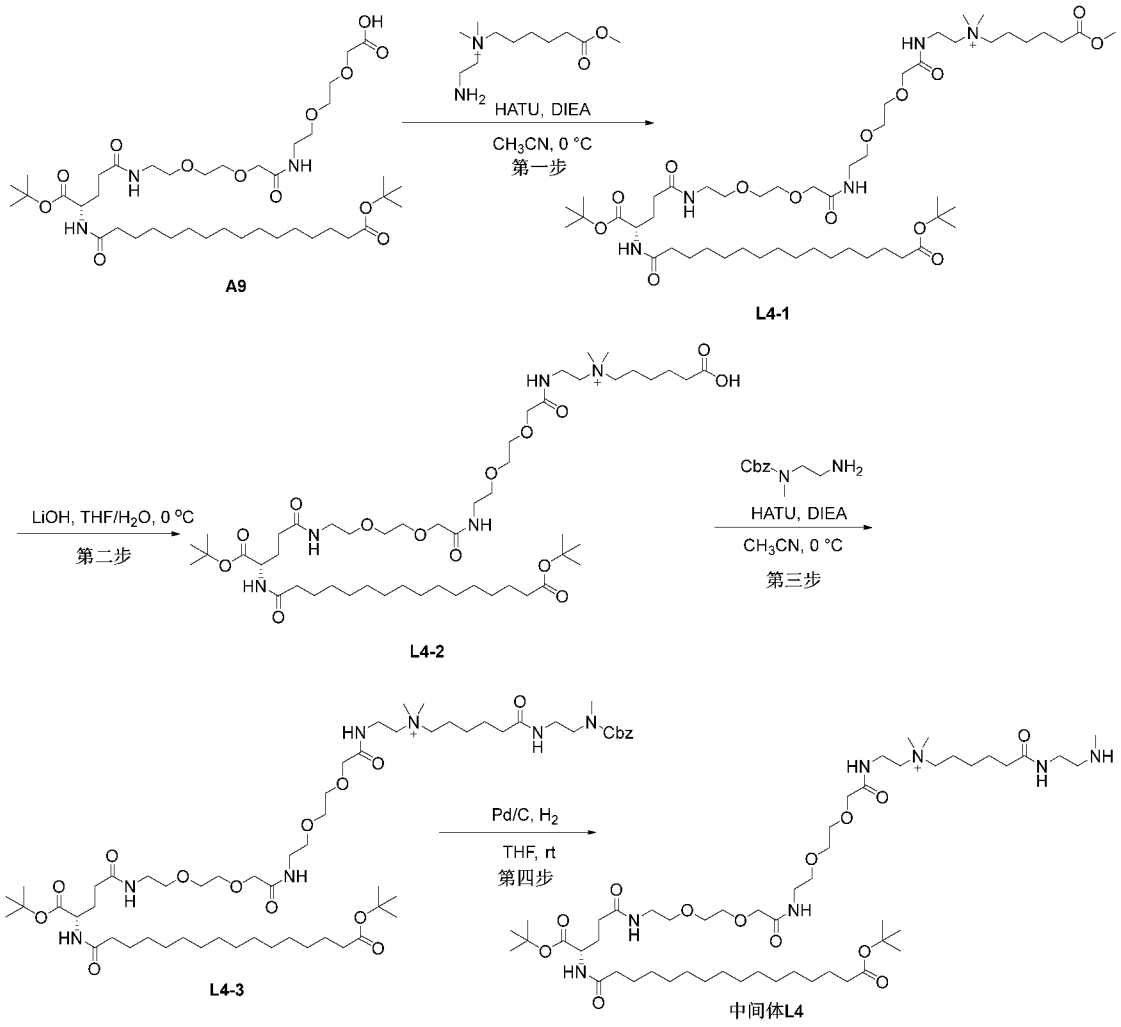
LC/MS：$[(M+H)/2]^+$= 632.9。

第四步

在室温下向化合物 **L3-4** (650 mg, 0.56 mmol) 的 THF (20 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (65 mg)，反应在氢气氛围下（1.5 个大气压）室温下搅拌 16 小时。 反应液经硅藻土过滤，滤液减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物**中间体 L3**（为 TFA 盐，570 mg），产率：97.1%。

LC/MS：$[M]^+$= 1132.8。

**中间体 L4**




第一步

在 0 °C 下，向化合物 **A9** (3.0 g, 3.67 mmol)的 $CH_3CN$ (40 mL)溶液中依次加入 DIEA (2.84 g, 22.0 mmol)、HATU (1.67 g, 4.40 mmol)和 *N*-(2-氨基乙基)-6-甲氧基-*N*,*N*-二甲基-6-氧代己烷-1-铵的盐酸盐 (1.4 g, 5.50 mmol)，然后将溶液在 0°C 下搅拌 1 小时。混合物经减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物 **L4-1** （为 TFA 盐，1.75 g），产率：42.2%。

LC/MS：$[M]^+$= 1016.7。

第二步

在 0 °C 下，向化合物 **L4-1**（1.4 g，1.24 mmol）的 THF（15 mL）溶液中加入 LiOH 水溶液（89 mg，3.71 mmol，5 mL），在此温度下反应 1 小时。反应液浓缩除去 THF，向残余物中滴加 1N HCl 调节 pH=7，混合物经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物 **L4-2**（为 TFA 盐，740 mg），产率：53.6%。

LC/MS：$[M]^+$= 1002.7。

第三步

在 0 °C 下，向化合物 **L3-3** (0.7 g, 0.63 mmol)的 $CH_3CN$ (10 mL)溶液中依次加入 DIEA (486 mg, 3.76 mmol)、HATU (286 mg, 0.75 mmol)和 *N*-Cbz-*N*-甲基乙二胺(盐酸盐，229 mg, 0.94 mmol)，然后将溶液在 0 °C 下搅拌 1 小时。混合物减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物 **L4-3**（为 TFA 盐，770 mg），产率：94.0%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$= 596.9。

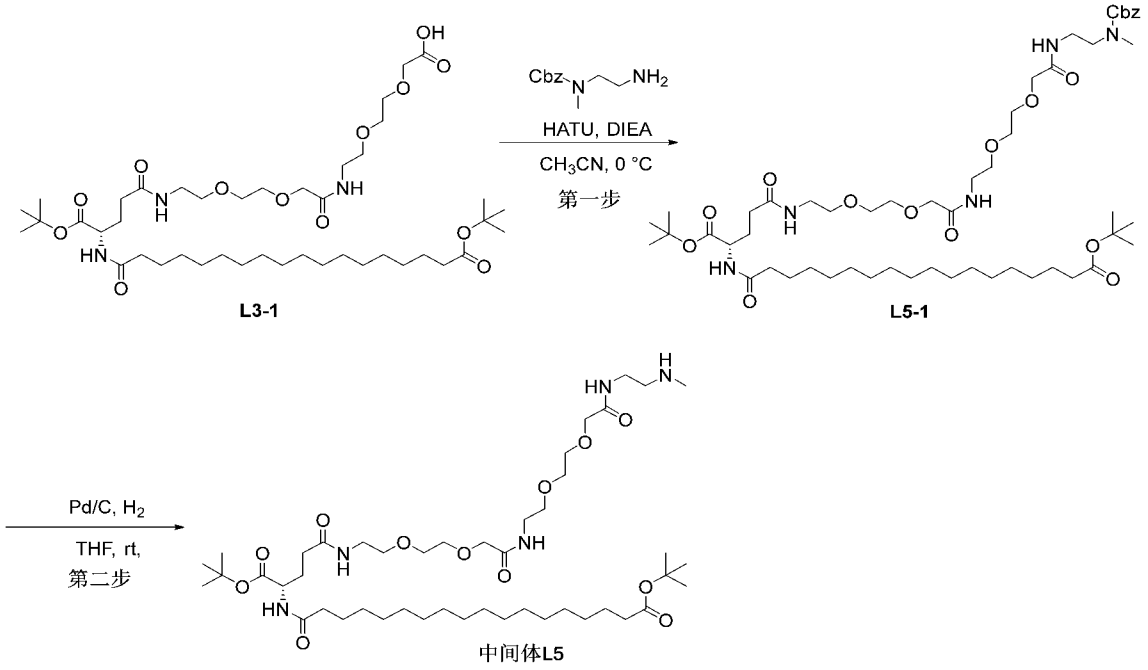
第四步

在室温下向化合物 **L4-3** (0.7 g, 0.56 mmol) 的 THF (20 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (70 mg)，反应在氢气氛围下（1.5 个大气压）室温下搅拌 16 小时。反应液经硅藻土过滤，滤液减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化(5%-40%，40%-70%，$CH_3CN$/0.03%TFA/water)得到化合物**中间体 L4**（为 TFA 盐，590 mg），产率：93.9%。

LC/MS：$[M]^+$= 1044.8。

$^1$H NMR (400 MHz, MeOD) δ 4.31-4.23 (m, 1H), 4.04 (d, *J* = 10.8 Hz, 4H), 3.77-3.67 (m, 10H), 3.64-3.56 (m, 4H), 3.53-3.45 (m, 6H), 3.43-3.36 (m, 4H), 3.20-3.12 (m, 8H), 2.75 (s, 3H), 2.37-2.20 (m, 8H), 2.18-2.09 (m, 1H), 1.98-1.81 (m, 4H), 1.79-1.70 (m, 2H), 1.69-1.53 (m, 5H), 1.47 (d, *J* = 8.0 Hz, 18H), 1.31 (s, 20H).

**中间体 L5**




第一步

在 0 °C 下，向化合物 **L3-1** (2 g, 2.36 mmol)的 $CH_3CN$ (20 mL)溶液中依次加入 DIEA (1.83 g, 14.2 mmol)、HATU (1.08 g, 2.84 mmol)和 *N*-Cbz-*N*-甲基乙二胺(盐酸盐，864 mg, 3.55 mmol)，然后将溶液在 0 °C 下搅拌 1 小时。混合物减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化($CH_3CN$/0.03%TFA/water，0~100%梯度洗脱)得到化合物 **L5-1** (1.9 g)，产率：77.6%。

LC/MS：$[M+H]^+$= 1036.7。

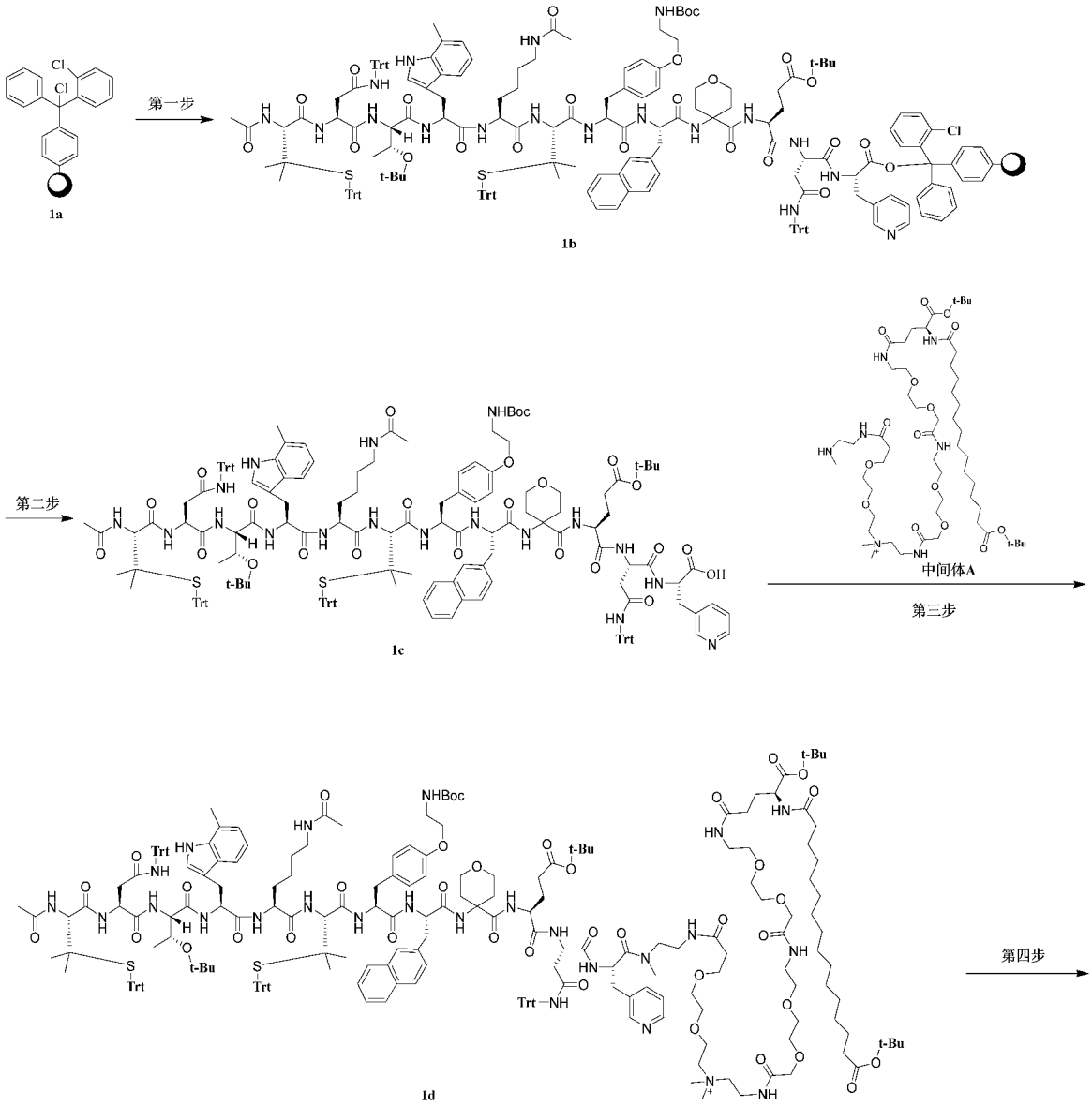
第二步

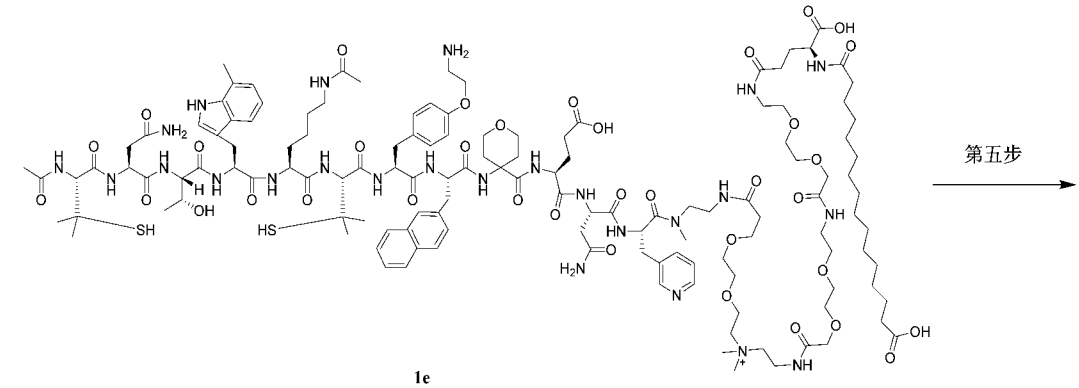
在室温下向化合物 **L1-2** (1.2 g, 1.16 mmol) 的 THF (30 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (120 mg)，反应在氢气氛围下（1.5 个大气压）室温下搅拌 16 小时。 反应液经硅藻土过滤，滤液减压浓缩，残余物经反向柱层析色谱纯化($CH_3CN$/0.03%TFA/water，0~100%梯度洗脱)得到化合物**中间体 L5**（940 mg），产率：90%。

LC/MS：$[M+H]^+$= 902.6。

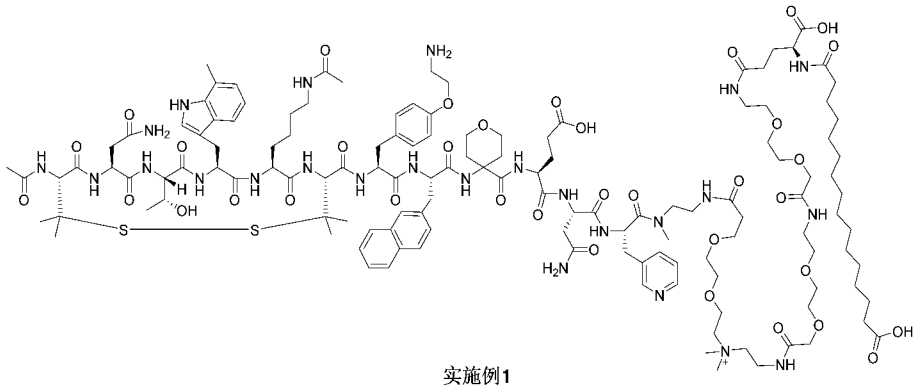
$^1H$ NMR (400 MHz, MeOD) δ 4.27 (dd, *J* = 9.1, 5.2 Hz, 1H), 4.04 (d, *J* = 5.9 Hz, 4H), 3.70 (s, 6H), 3.68 (d, *J* = 5.6 Hz, 3H), 3.62 (dd, *J* = 12.1, 6.8 Hz, 3H), 3.56 (dd, *J* = 9.5, 5.7 Hz, 4H), 3.51 – 3.44 (m, 3H), 3.41 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.08 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.67 (s, 3H), 2.31 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.28 – 2.19 (m, 5H), 2.13 (dd, *J* = 13.7, 5.9 Hz, 1H), 2.05 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 1.91 (dd, *J* = 13.9, 9.1 Hz, 1H), 1.61 (dd, *J* = 16.0, 8.1 Hz, 4H), 1.48 (d, *J* = 9.0 Hz, 18H), 1.31 (s, 24H).

**实施例 1**


第一步
1a
1b
第二步
1c
中间体A
第三步
1d
第四步




1e



实施例1

第一步：全保护的直链肽合成

1.1 挂树脂

1.1.1 称取 0.6 g 2-CTC Resin(替代度 S=1.08 mmol/g) 和 78 mg N-FMOC-L-3-吡啶基丙胺酸，(0.2 mmol,取代度 0.33) 加入到反应柱中，再加入 DCM(10mL),随后加入 0.6 mL DIEA 至反应柱氮气鼓气 2 hrs，然后加入 0.6 mL MeOH 至反应柱氮气继续鼓气 30mins，排废，直至没有液体流出，加入 DMF(30mL)洗涤 5 次每次 1min，排废，直至没有液体流出。

1.1.2 加入 20%的哌啶/DMF(15 mL)至反应柱中，氮气鼓起 20mim，排废，直至没有液体流出。加入 DMF(30mL)洗涤 5 次每次 1min，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

1.2.氨基酸的偶联

1.2.1 Fmoc-Asn(Trt)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Asn(Trt)-OH** | 3.0eq |
| **HBTU** | 2.85eq |
| **DIEA** | 6.00eq |

1. 称取 Fmoc-Asn(Trt)-OH(3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA(6.00eq)补加 5mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU(2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

2. 在 25℃的环境中反应 0.5h，茚三酮检测，树脂无色透明。

3. 抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

1.2.2 Fmoc-Glu(OtBu)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Glu(OtBu)-OH** | 3.0eq |
| **HBTU** | 2.85eq |
| **DIEA** | 6.00eq |

1. 加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反应柱中，氮气鼓起 20min，排废，直至没有液体流出。加入 DMF(20mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2. 称取 Fmoc-Glu(OtBu)-OH(3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA(6.00eq)补加 5mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU(2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3. 在 25℃的环境中反应 0.5h，茚三酮检测，树脂无色透明。

4. 抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

1.2.3 Fmoc-Thp(Gly)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Thp(Gly)-OH** | 3.0eq |
| **HATU** | 2.85eq |
| **DIEA** | 6.00eq |

1. 加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反应柱中，氮气鼓起 20min，排废，直至没有液体流出。加入 DMF(20mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2. 称取 Fmoc-Thp(Gly)-OH(3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA(6.00eq)补加 5mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HATU(2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3. 在 25℃的环境中反应 0.5h，茚三酮检测，树脂无色透明。

4. 抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

1.2.4 Fmoc-2Nal-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-2Nal-OH** | 3.0eq |
| **HATU** | 2.85eq |
| **DIEA** | 6.00eq |

1. 加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反应柱中，氮气鼓起 20min，排废，直至没有液体流出。加入 DMF(20mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。四氯苯醌检测，树脂绿色。

2. 称取 Fmoc-2-Nal-OH(3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA(6.00eq)补加 5mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HATU(2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3. 在 25℃的环境中反应 0.5h，四氯苯醌检测，树脂无色透明。

4. 抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

1.2.5 Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-L-Phenylalanine 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-L-Phenylalanine** | 3.0eq |
| **HBTU** | 2.85eq |
| **DIEA** | 6.00eq |

1．加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反应柱中，氮气鼓起 20min，排废，直至没有液体流出。加入 DMF(20mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2. 称取 Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-L-Phenylalanine (3.0eq) 加入到上述树脂中，加入 DIEA(6.00eq)补加 5mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU(2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3. 在 25℃的环境中反应 0.5h，茚三酮检测，树脂无色透明。

4. 抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

1.2.6 Fmoc-Pen(Trt)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Pen(Trt)-OH** | 3.0eq |
| **HBTU** | 2.85eq |
| **DIEA** | 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反应柱中，氮气鼓起 20min，排废，直至没有液体流出。加入 DMF(20mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.称取 Fmoc-Pen(Trt)-OH(3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA(6.00eq)补加 5mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU(2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25℃的环境中反应 0.5h，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

1.2.7 Fmoc-Lys(Ac)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Lys(Ac)-OH** | 3.0eq |
| **HBTU** | 2.85eq |
| **DIEA** | 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反应柱中，氮气鼓起 20min，排废，直至没有液体流出。加入 DMF(20mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.称取 Fmoc-Lys(Ac)-OH (3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA(6.00eq)补加 5mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU(2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25℃的环境中反应 0.5h，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

1.2.8 Fmoc-(7Me)Trp-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-(7Me)Trp-OH** | 3.0eq |
| **HATU** | 2.85eq |
| **DIEA** | 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反应柱中，氮气鼓起 20min，排废，直至没有液体流出。加入 DMF(20mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.称取 Fmoc-(7Me)Trp-OH (3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA(6.00eq)补加 5mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU(2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25℃的环境中反应 0.5h，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

1.2.9 Fmoc-Thr(Tbu)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Thr(Tbu)-OH** | 3.0eq |
| **HBTU** | 2.85eq |
| **DIEA** | 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反应柱中，氮气鼓起 20min，排废，直至没有液体流出。加入 DMF(20mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.称取 Fmoc-Thr(Tbu)-OH (3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA(6.00eq)补加 5mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU(2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25℃的环境中反应 0.5h，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

1.2.10 Fmoc-Asn(Trt)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Asn(Trt)-OH** | 3.0eq |
| **HBTU** | 2.85eq |
| **DIEA** | 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反应柱中，氮气鼓起 20min，排废，直至没有液体流出。加入 DMF(20mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.称取 Fmoc-Asn (Trt)-OH(3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA(6.00eq)补加 5mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU(2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25℃的环境中反应 0.5h，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

1.2.11 Fmoc-Pen(Trt)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Pen(Trt)-OH** | 3.0eq |
| **HBTU** | 2.85eq |
| **DIEA** | 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反应柱中，氮气鼓起 20min，排废，直至没有液体流出。加入 DMF(20mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.称取 Fmoc-Pen(Trt)-OH(3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA(6.00eq)补加 5mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU(2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25℃的环境中反应 0.5h，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

1.2.12 $Ac_2O$ 封端

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **$Ac_2O$** | 5.0eq |
| **DIEA** | 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反应柱中，氮气鼓起 20min，排废，直至没有液体流出。加入 DMF(20mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.加入 DMF (10 mL)，DIEA(6.00eq), $Ac_2O$(5.0eq)加入到上述树脂中，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25℃的环境中反应 10 min，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

第二步：全保护的直链肽切割

2.1 用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排废，直至没有液体流出

2.2 用 MeOH(20mL)收缩树脂，每次 3min，排废，直至没有液体流出，然后用甲叔醚 20 mL 洗树脂三次，将树脂用氮气吹干，备用.

2.3 将配好的 20% HFIP/DCM 溶液 50 mL 倒入反应器内，鼓氮气，反应 30min 一次，切割三次后，将所有滤液收集起来，减压浓缩干，再加入 DCM 50 mL 继续减压浓缩干。

2.4 加入乙腈 100 mL，水 100 mL 超声至产物均匀分散，然后使用冻干机冻干，得到中间体 **1c** 500mg, 纯度 75%，产率 62%。

LC/MS：$[M+H]^+$=3012.7；$[M+H-243]^+$= 2769.7

第三步：中间体 **1c** 与**中间体 A** 缩合

取上述中间体 **1c** 200 mg (0.06 mmol), 加入 DMF 1 mL，DIEA (3eq, 0.18 mmol),再加入**中间体 A** (77 mg, 0.06 mmol, 1eq),再缓慢滴加 HATU(23 mg, 0.06 mmol, 1eq)溶在 DMF 0.2 mL 中)，使用 Tof-LCMS 检测原料消耗完全，产物极性非常小，梯度 80-100，2min. LC/MS：$[M]^+$=4099.20, $[M-243]^+$=3856.2.

反应完全后使用油泵将 DMF 旋干，备用

第四步：直链肽的切割

4.1．按如下体积配置切割液

| 试剂 | 比例 |
|---|---|
| **TFA** | 90 |
| **Tis** | 2.5 |
| **$H_2O$** | 2.5 |
| **Mpr** | 5.0 |

将第三步得到的粗肽加入配好的切割液，在摇床震荡 2.5h，过滤，滤液加入到 10 倍体积冰异丙醚中，离心，再用异丙醚洗涤 3 次。在真空干燥 2h 得到粗肽。LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1402.8；$[(M+2H)/3]^+$= 936.1。

第五步：二硫键的氧化

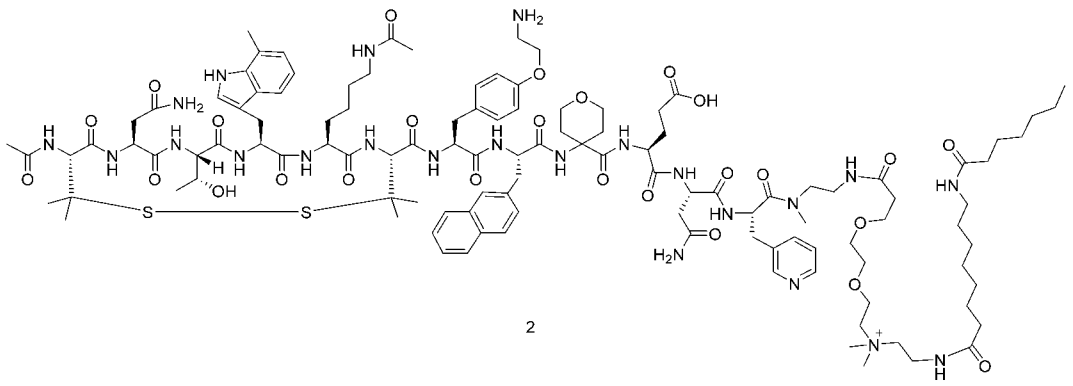
5.1 将第四步得到的粗肽 160 mg，加入水 100 mL，乙腈 100 mL,溶解澄清后缓慢滴加 0.1M 的 $I_2$/MeOH 直至溶液变成亮黄色。继续搅拌 5 分钟黄色没有消失，然后滴加 0.1 M 硫代硫酸钠至黄色消失，搅拌两分钟无变化后，将样品冻干纯化得到 43mg 产物**实施例 1**，纯度 97.41%，产率：18.7%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1401.8；$[(M+2H)/3]^+$= 935.1。

纯化条件:

| 分离条件 | |
|---|---|
| 溶解条件 | Dissolve in 30% $CH_3CN$-$H_2O$ |
| 仪器 | Gilson GX-281 |
| 流动相 | A: $H_2O$ (0.075% TFA in $H_2O$) |
| | B: $CH_3CN$ |
| 梯度 | 30-60%-60 min.保留时间: 21 min |
| 柱型 | Gemini,5μm,c18,110A+luna,c18,10μm,100A |
| 流速 | 20 mL/Min |
| 检测波长 | 214/254 nm |
| 柱温 | 30 °C |

**实施例 2**

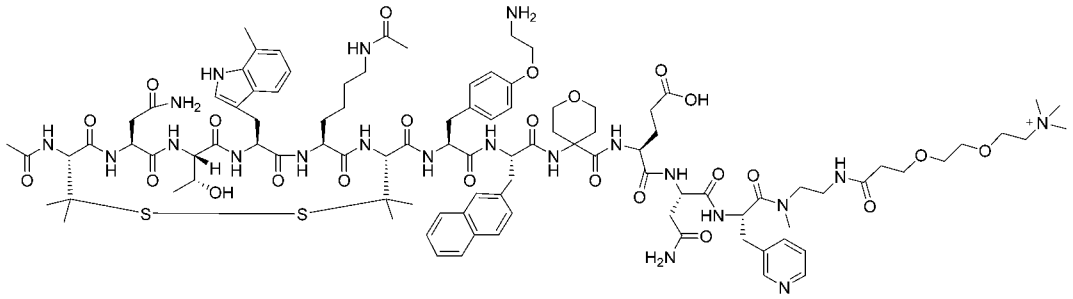


2

参考**实施例 1** 的合成方法，经**中间体 B** 与多肽中间体 **1c** 的反应及后续类似实验操作，得到 26.4 mg 产物**实施例 2**，纯度 92.94%，产率：13.6%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1184.8；$[(M+2H)/3]^+$= 790.2。

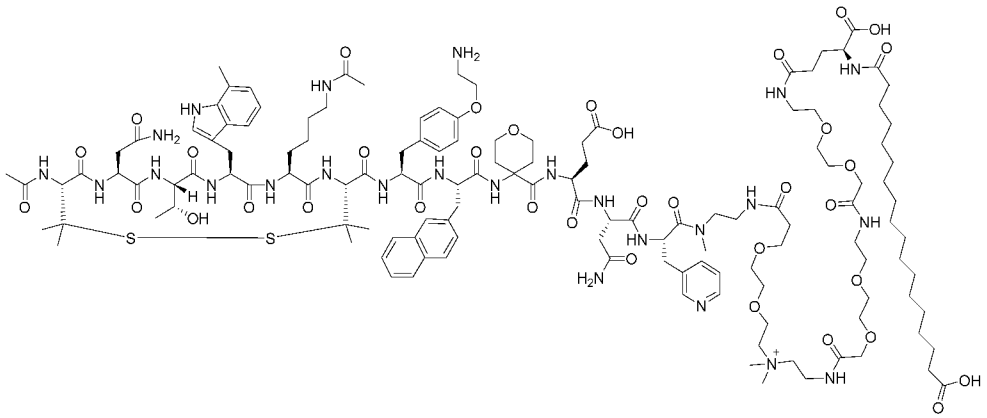
**实施例 3**



参考**实施例 1** 的合成方法，经**中间体 L1** 与多肽中间体 **1c** 的反应及后续类似实验操作，得 42.0 mg 产物**实施例 3**，纯度 96.4%，产率：20.2%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1043.5。

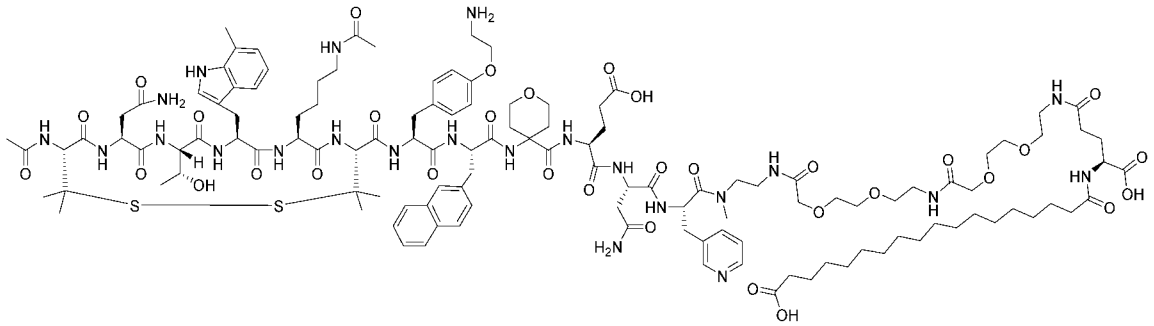
**实施例 4**



参考**实施例 1** 的合成方法，经**中间体 L3** 与多肽中间体 **1c** 的反应及后续类似实验操作，得 28.1mg 产物**实施例 4**，纯度：96.2%，产率：14.9%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1415.7；$[(M+2H)/3]^+$= 944.2。

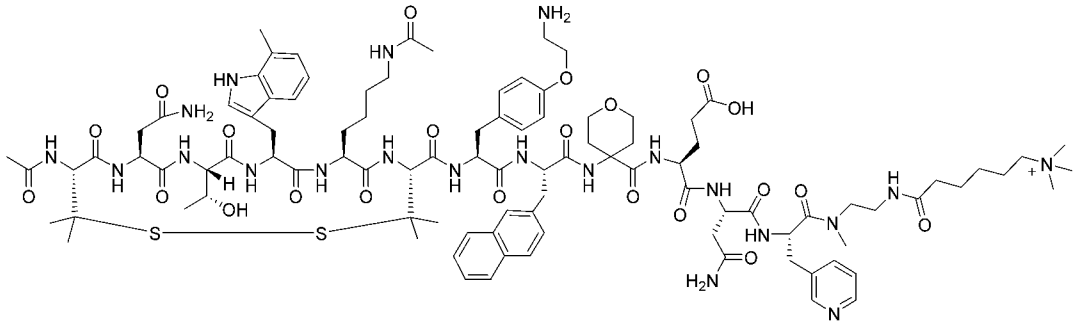
**实施例 6**



参考**实施例 1** 的合成方法，经**中间体 L5** 与多肽中间体 **1c** 的反应及后续类似实验操作，得 31.2 mg 产物**实施例 6**，纯度：97.8%，产率：18.1%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1300.1；$[(M+2H)/3]^+$= 867.1。

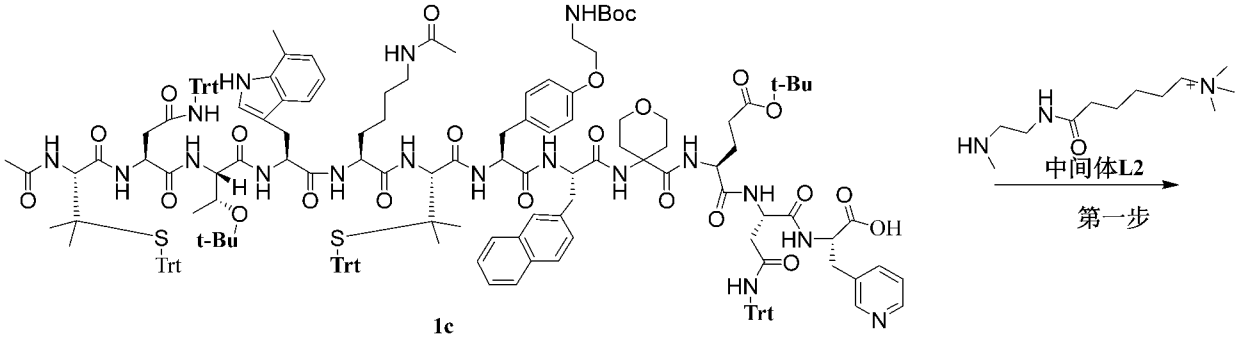
**实施例 12**



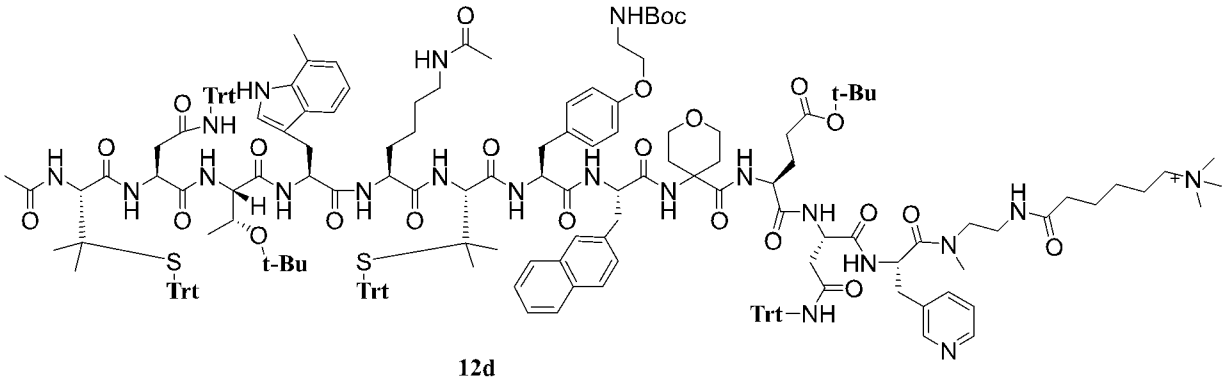
参考**实施例 1** 的合成方法，经**中间体 L2** 与多肽中间体 **1c** 的反应及后续类似实验操作，得 23.8 mg 产物**实施例 12**，纯度：95.7%，产率：17.5%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1020.5。

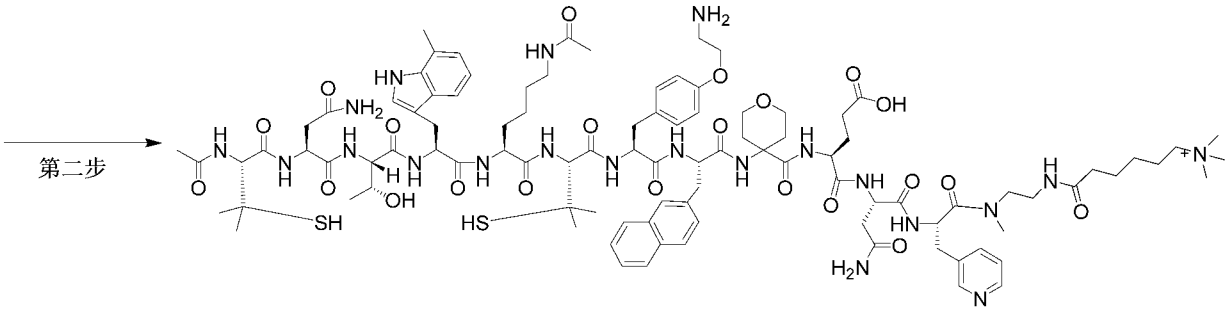
**实施例 12** 还可用以下方法制备：



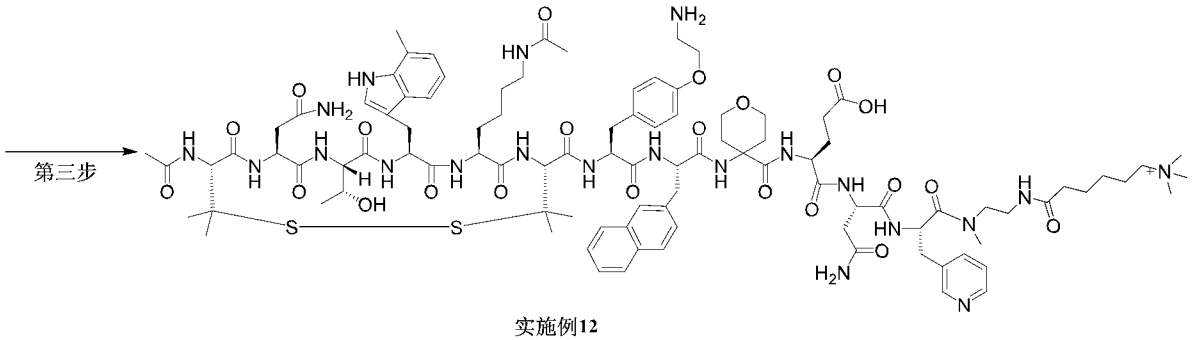

**1c**



12d



12e



实施例12

第一步：中间体 **1c** 与中间体 **L2** 缩合

取上述中间体 **1c**（200 mg，0.06 mmol），加入 DMF（1 mL），DIEA （10eq，0.6 mmol），再加入**中间体 L2**（28 mg，0.12 mmol，2eq），再缓慢滴加 HATU（69 mg, 0.18 mmol, 3eq）溶在 DMF（0.2 mL）中，使用 Tof-LCMS 检测原料消耗完全。反应完全后将 DMF 旋干，得中间体 **12d**，备用。

第二步：脱保护基

按如下体积配置切割液

| 试剂 | 比例 |
|---|---|
| **TFA** | 92.5 |
| **Tis** | 2.5 |
| **$H_2O$** | 2.5 |
| **DTT** | 2.5 |

将上步得到的中间体 **12d** 加入配好的切割液，在摇床震荡 2.5 小时，过滤，滤液加入到 10 倍体

积冰异丙醚中，离心，再用异丙醚洗涤 3 次，真空干燥 2 小时得到中间体 **12e**。

第三步：二硫键的氧化与纯化、转盐

将上述得到的中间体 **12e**（190 mg），加入水（160 mL）， 乙腈（40 mL），溶解澄清后缓慢滴加 0.1M 的 $I_2$/MeOH，直至溶液变成亮黄色。继续搅拌 5 分钟黄色没有消失，然后滴加 0.1 M 硫代硫酸钠至黄色消失，搅拌两分钟无变化后，得**实施例 12** 反应液。

**3.1 纯化**

将反应液经下述纯化条件进行纯化。

**纯化条件:**

| 分离条件 | |
|---|---|
| 溶解条件 | Dissolve in 30%ACN-$H_2O$ |
| 仪器 | 汉邦 NEWSTYLE 制备型色谱仪 |
| 流动相 | A: $H_2O$ (0.1% TFA in $H_2O$) |
| | B: $CH_3CN$ |
| 梯度 | 25-60%-60 min. Retention time: 30 min |
| 柱型 | Waters Xselect CSH C18（20×250mm，10μm） |
| 流速 | 15 mL/Min |
| 检测波长 | 214/254 nm |
| 柱温 | 室温 |

纯化液经 RP-HPLC 检测后，合并纯度合格部分，用纯化水稀释一倍后备用。

**3.2 转盐及冻干**

**转盐条件:**

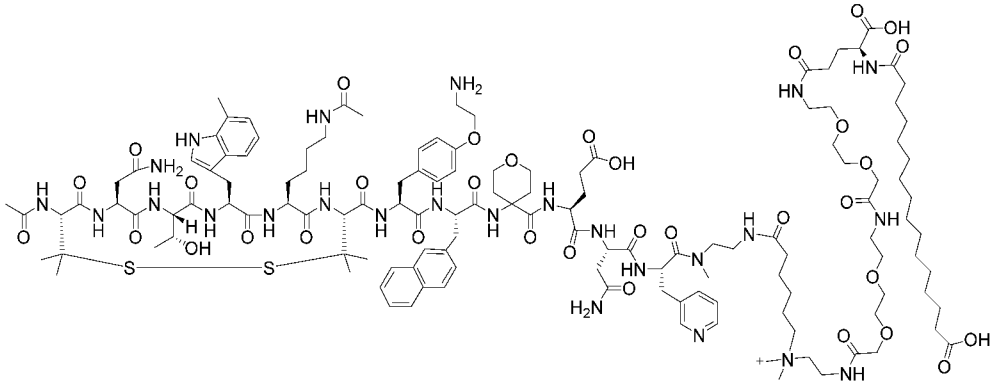
| 分离条件 | |
|---|---|
| 溶解条件 | 上步所得 |
| 仪器 | 汉邦 NEWSTYLE 制备型色谱仪 |
| 流动相 | A: 0 .5％AcOH/水 |
| | B: 0 .5％AcOH/ACN |
| | C：0.15M （NH4OAc/水） |
| 梯度 | 5％MPB/ MPC（20min）-5％MPB/MPA（20min）-60％MPB/MPA（10min） |
| 柱型 | Waters Xselect CSH C18（20×250mm，10μm） |
| 流速 | 15 mL/Min |
| 检测波长 | 214/254 nm |
| 柱温 | 室温 |

使用相同制备型 RP-HPLC 柱用含 5％MPB 的 MPA 在 15ml/min 下平衡 15 分钟。(MPA＝0 .5％AcOH/水，MPB＝0 .5％AcOH/ACN，MPC＝0 .15M $NH_4OAc$/水)。将稀释后的纯化液在 15ml/min 下

负载至色谱柱上。用 5%MPB/ MPC 洗涤 20 分钟，随后用 5%MPB/MPA 洗涤 20 分钟，最后用 60% MPB/MPA 将产品洗脱下来。减压浓缩除去有机溶剂，冻干得到终产物**实施例 12**，35 mg，纯度 96.1 %，收率：18.4%.

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1020.5。

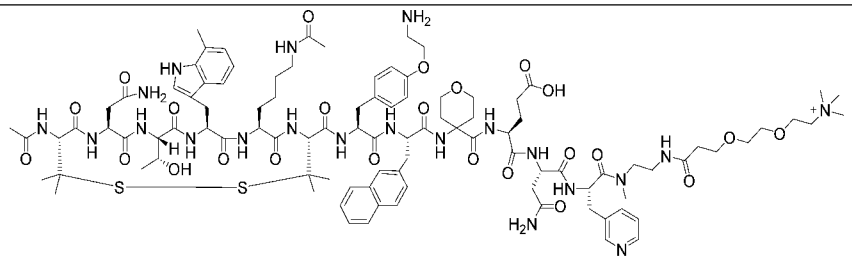
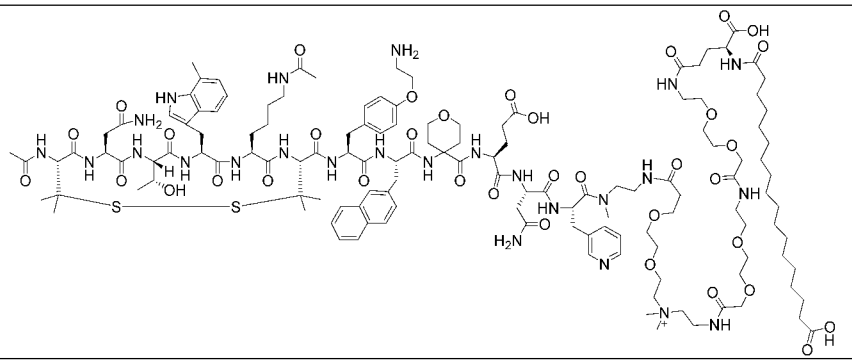
**实施例 20**

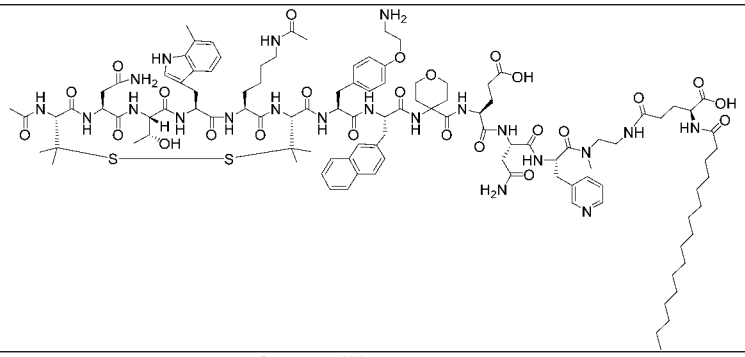
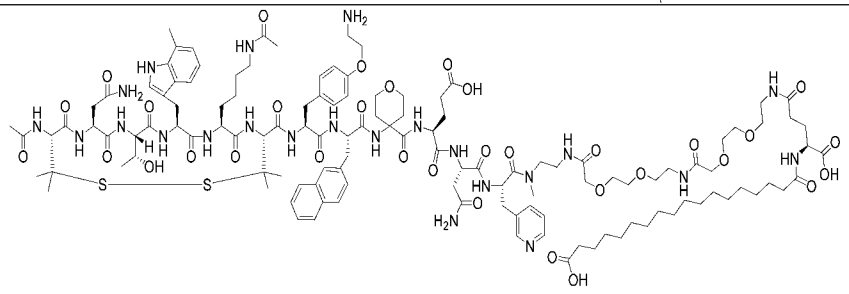
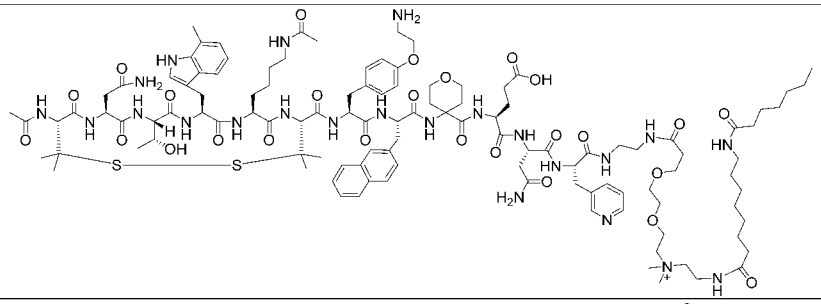
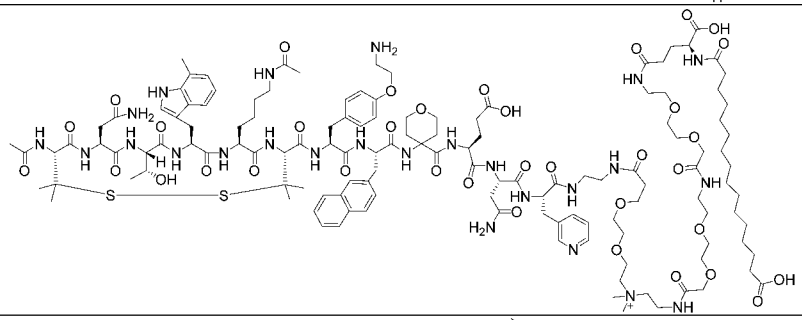
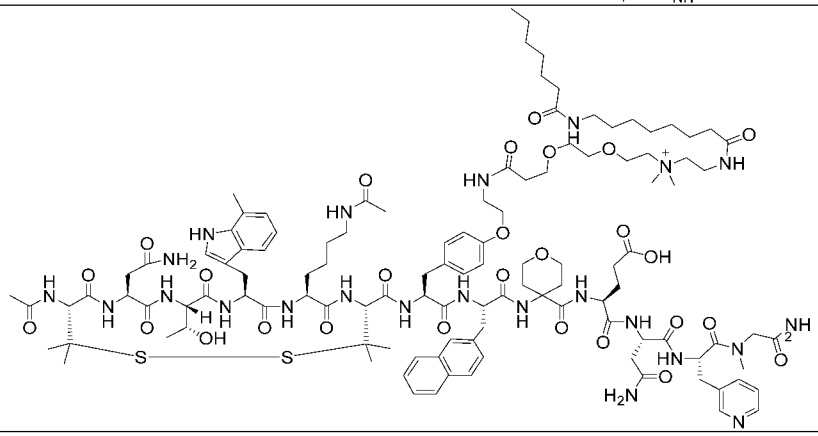


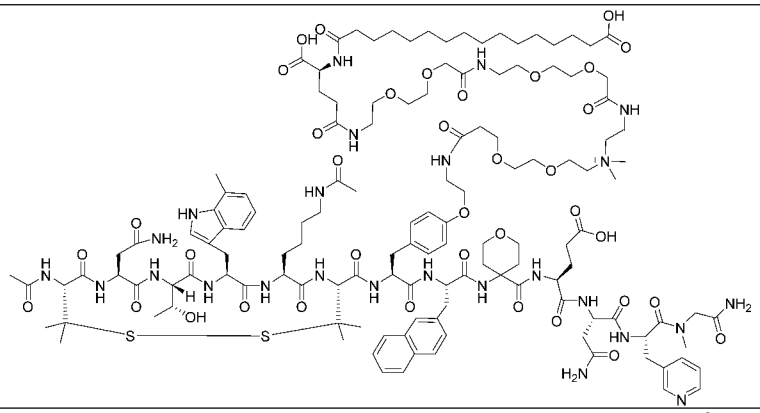
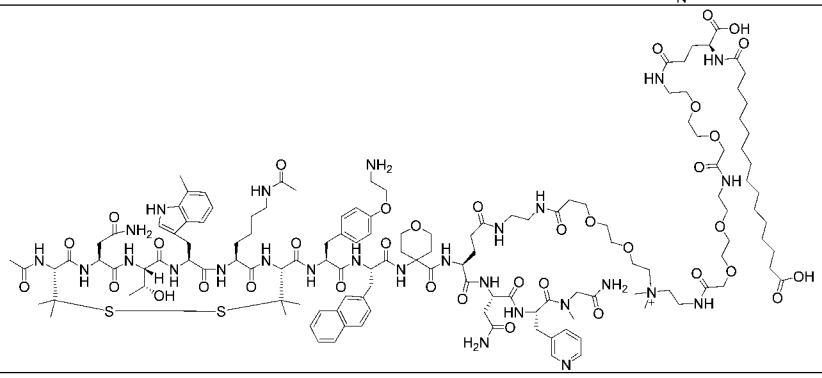
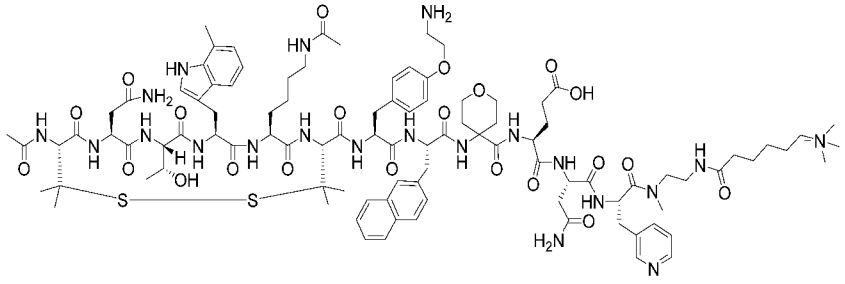
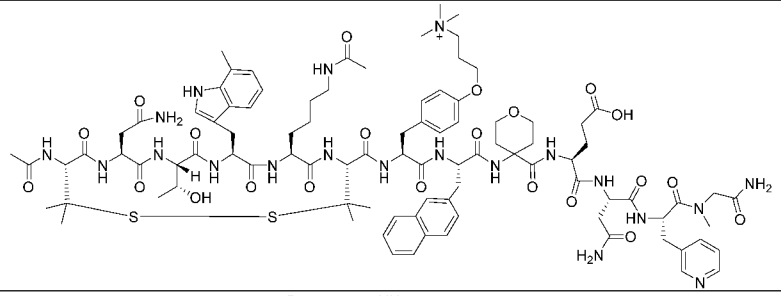
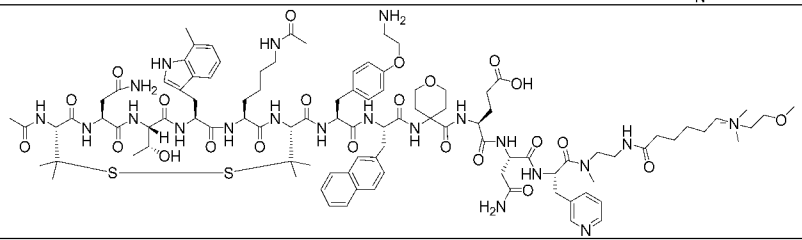
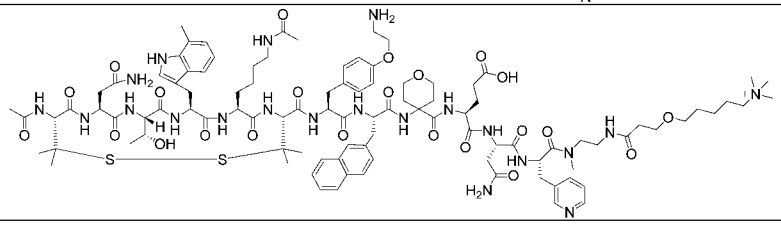
参考**实施例 1** 的合成方法，经中间体 **L4** 与多肽中间体 **1c** 的反应及后续类似实验操作，得 35.1 mg 产物**实施例 20**，纯度：97.1%，产率：19.1%。

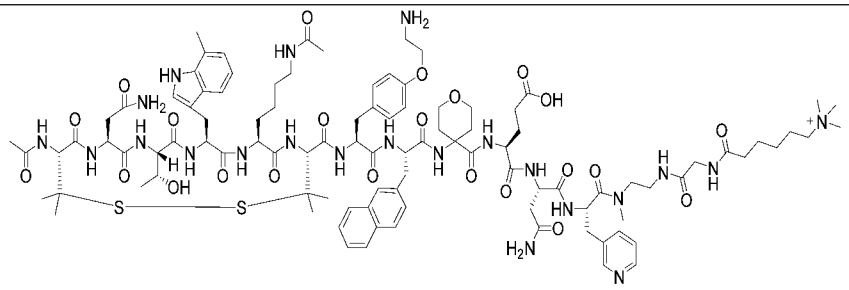
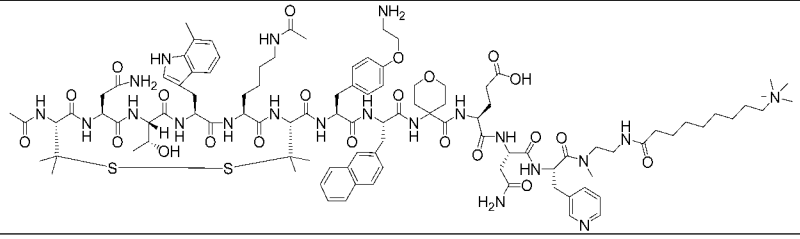
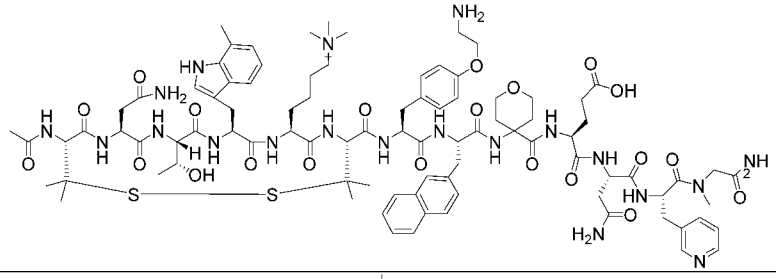
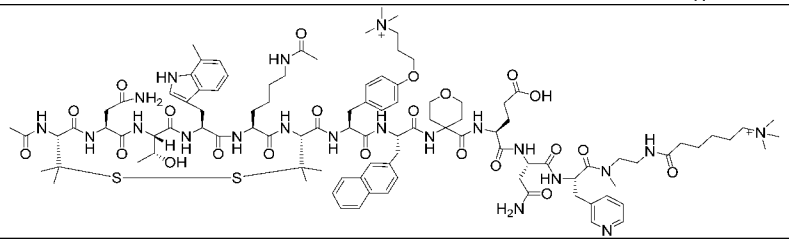
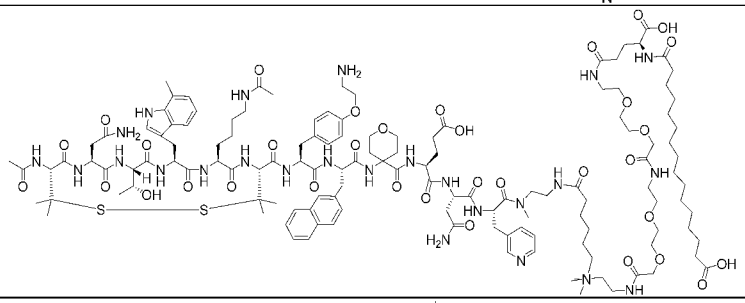
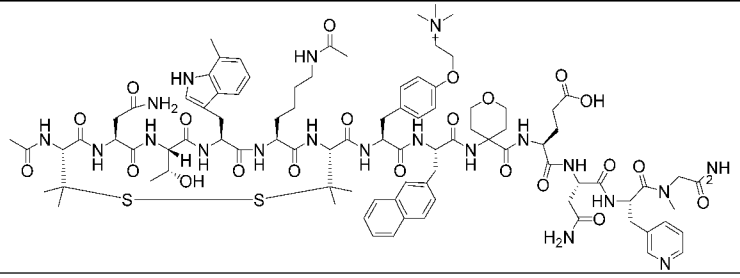
LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1378.7；$[(M+2H)/3]^+$= 919.5。

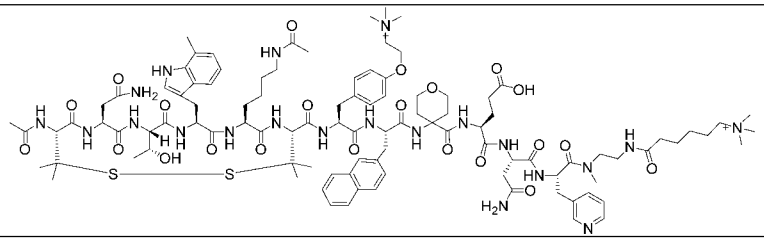
其他实施例参考上述制备方法制备：

| 序号 | 结构 | MS m/z (ESI) |
|---|---|---|
| 3 |  | 1043.5<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 4 |  | 1415.7<br>$[(M+H)/2]^+$ |

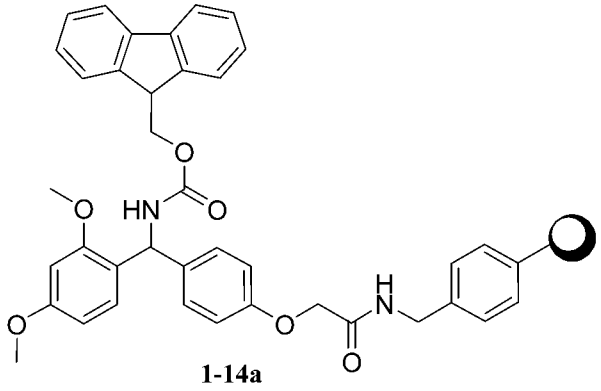
| | | |
|---|---|---|
| 5 |  | 1126.2<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 6 |  | 1300.1<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 7 |  | 1177.9<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 8 |  | 1394.7<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 9 |  | 1191.6<br>$[(M+H)/2]^+$ |

| | | |
|---|---|---|
| 10 |  | 1408.7<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 11 |  | 1429.6<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 12 |  | 1020.5<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 13 |  | 978.0<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 14 |  | 1042.5<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 15 |  | 1042.5<br>$[(M+H)/2]^+$ |

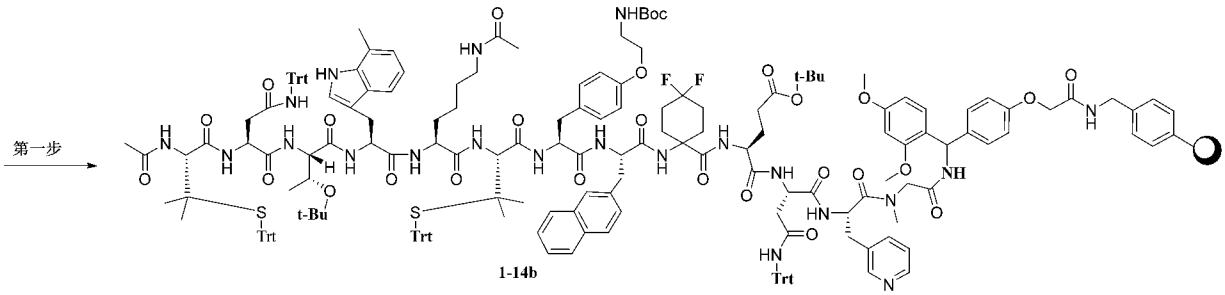
| | | |
|---|---|---|
| 16 |  | 1049.0<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 17 |  | 1041.5<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 18 |  | 949.4<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 19 |  | 1048.5<br>$[M/2]^+$ |
| 20 |  | 1378.7<br>$[(M+H)/2]^+$ |
| 21 |  | 970.9<br>$[(M+H)/2]^+$ |

| | | |
|---|---|---|
| 22 |  | 1041.5<br>$[M/2]^+$ |

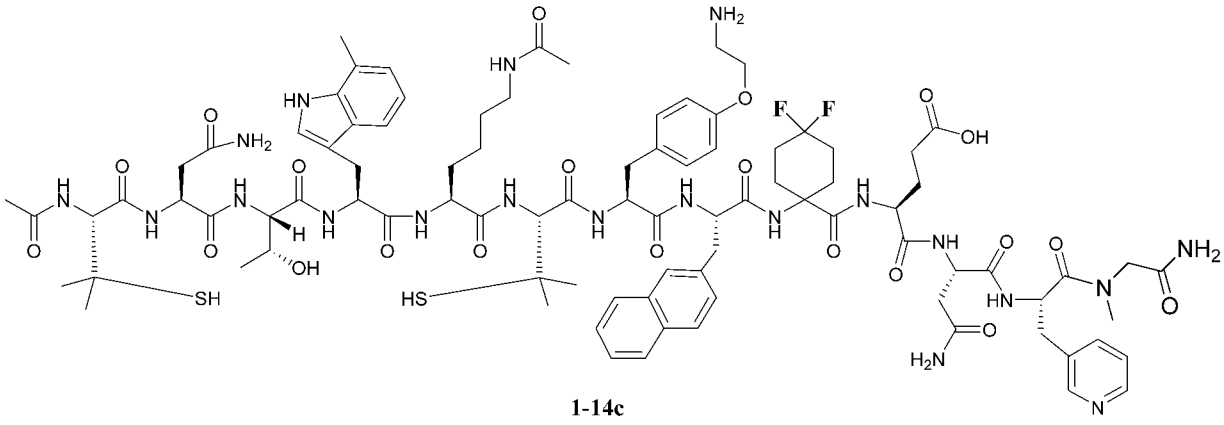
实施例 **1-14**



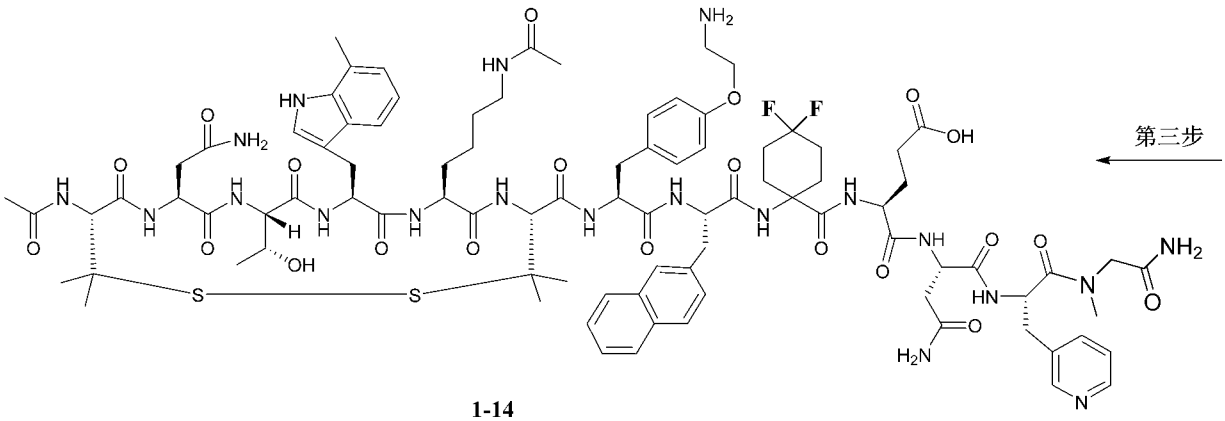
**1-14a**



**1-14b**



**1-14c**




1-14

第一步：全保护的直链肽固相合成

1.1 挂树脂

1.1.1 溶胀

称取 Rink Amide-AM Resin（**1-14a** , 0.4g，替代度 0.5-0.7 mmol/g）加入至反应柱中，加入 DMF（10mL），氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。

1.1.2 挂树脂

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL），氮气鼓泡 30 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10mL）洗涤 5 次每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，茚三酮检测，树脂呈蓝色。

2）称取芴甲氧羰酰基肌氨酸（186.6 mg，0.6 mmol）、*N,N'*-二异丙基碳二亚胺（76 mg）和 1-羟基苯并三氮唑（81mg）加入到反应柱中。

3）加入 DMF（10mL）溶解，氮气鼓泡 4 小时。

4）抽干溶剂。树脂依次用 DMF（10 mL）、异丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

取样，茚三酮检测，树脂无色。

1.2.氨基酸的偶联

1.2.1 Fmoc-3-(4-吡啶基)-*L*-丙氨酸的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-3-(4-吡啶基)-*L*-丙氨酸** | 3.0eq |
| ***N,N'*-二异丙基碳二亚胺（DIC）** | 3.0eq |
| **1-羟基苯并三氮唑（HOBt）** | 3.0eq |

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反应柱中，氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10 mL）洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，四氯苯醌检测，树脂蓝色。

2）称取 Fmoc-3-(4-吡啶基)-*L*-丙氨酸（234 mg）、*N,N'*-二异丙基碳二亚胺（76 mg）和 1-羟基苯并三氮唑（81mg）加入到反应柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮气鼓泡，室温下反应 3 小时。

取样，四氯苯醌检测，树脂无色透明。

4）抽干溶剂，树脂依次用 10 mL DMF（10 mL）、10 mL 异丙醇（10 mL）、10 mL DMF（10 mL）、10 mL DMF（10 mL）、10 mL DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

1.2.2 Fmoc-Asn(Trt)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Asn(Trt)-OH** | 3.0eq |
| ***N,N'*-二异丙基碳二亚胺（DIC）** | 3.0eq |
| **1-羟基苯并三氮唑（HOBt）** | 3.0eq |

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反应柱中，氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10 mL）洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，茚三酮检测，树脂蓝色。

2）称取 Fmoc-Asn(Trt)-OH（358 mg）、*N,N'*-二异丙基碳二亚胺（76 mg）和 1-羟基苯并三氮唑（81mg）加入到反应柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解,氮气鼓泡，室温下反应 3 小时。

取样，茚三酮检测，树脂无色透明。

4）抽干溶剂，树脂依次用 DMF（10 mL）、异丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

1.2.3 Fmoc-Glu(OtBu)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Glu(OtBu)-OH** | 3.0eq |
| ***N,N'*-二异丙基碳二亚胺（DIC）** | 3.0eq |
| **1-羟基苯并三氮唑（HOBt）** | 3.0eq |

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反应柱中，氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10 mL）洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，茚三酮检测，树脂蓝色。

2）称取 Fmoc-Glu(OtBu)-OH（255 mg）、*N,N'*-二异丙基碳二亚胺（76 mg）和 1-羟基苯并三氮唑（81mg）加入到反应柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解,氮气鼓泡，室温下反应 3 小时。

取样，茚三酮检测，树脂无色透明。

4）抽干溶剂，树脂依次用 DMF（10 mL）、异丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、

DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

1.2.4 1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-4,4-二氟-环己烷甲酸的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-4,4-二氟-环己烷甲酸** | 3.0eq |
| ***N,N'*-二异丙基碳二亚胺（DIC）** | 3.0eq |
| **1-羟基苯并三氮唑（HOBt）** | 3.0eq |

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反应柱中，氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10 mL）洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，茚三酮检测，树脂蓝色。

2）称取 1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-4,4-二氟-环己烷甲酸（241 mg）、*N,N'*-二异丙基碳二亚胺（76 mg）和 1-羟基苯并三氮唑（81mg）加入到反应柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解,氮气鼓泡，室温下反应 3 小时。

取样，茚三酮检测，树脂无色透明。

4）抽干溶剂，树脂依次用 DMF（10 mL）、异丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

1.2.5 Fmoc-2Nal-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-2Nal-OH** | 3.0eq |
| ***N,N'*-二异丙基碳二亚胺（DIC）** | 3.0eq |
| **1-羟基苯并三氮唑（HOBt）** | 3.0eq |

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反应柱中，氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10 mL）洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，四氯苯醌检测，树脂红褐色。

2）称取 Fmoc-2Nal-OH（262 mg）、*N,N'*-二异丙基碳二亚胺（76 mg）和 1-羟基苯并三氮唑（81mg）加入到反应柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮气鼓泡，室温下反应 3 小时。

取样，四氯苯醌检测，树脂无色透明。

4）抽干溶剂，树脂依次用 DMF（10 mL）、异丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

1.2.6 Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-*L*-Phenylalanine 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-*L*-Phenylalanine** | 3.0eq |
| ***N,N'*-二异丙基碳二亚胺（DIC）** | 3.0eq |

| | |
|---|---|
| **1-羟基苯并三氮唑（HOBt）** | 3.0eq |

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反应柱中，氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10 mL）洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，茚三酮检测，树脂蓝色。

2）称取 Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-*L*-Phenylalanine（328 mg）、*N,N'*-二异丙基碳二亚胺（76 mg）和 1-羟基苯并三氮唑（81mg）加入到反应柱中。

3）加入 DMF（10mL）溶解，氮气鼓泡，室温下反应 3 小时。

取样，茚三酮检测，树脂无色透明。

4）抽干溶剂，树脂依次用 DMF（10 mL）、异丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

1.2.7 Fmoc-Pen(Trt)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Pen(Trt)-OH** | 3.0eq |
| ***N,N'*-二异丙基碳二亚胺（DIC）** | 3.0eq |
| **1-羟基苯并三氮唑（HOBt）** | 3.0eq |

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反应柱中，氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10 mL）洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，茚三酮检测，树脂蓝色。

2）称取 Fmoc-Pen(Trt)-OH（368 mg）、*N,N'*-二异丙基碳二亚胺（76 mg）和 1-羟基苯并三氮唑（81mg）加入到反应柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮气鼓泡，室温下反应 3 小时。

取样，茚三酮检测，树脂无色透明。

4）抽干溶剂，树脂依次用 DMF（10 mL）、异丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

1.2.8 Fmoc-Lys(Ac)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Lys(Ac)-OH** | 3.0eq |
| ***N,N'*-二异丙基碳二亚胺（DIC）** | 3.0eq |
| **1-羟基苯并三氮唑（HOBt）** | 3.0eq |

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反应柱中，氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10 mL）洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，茚三酮检测，树脂蓝色。

2）称取 Fmoc-Lys(Ac)-OH（246 mg）、*N,N'*-二异丙基碳二亚胺（76 mg）和 1-羟基苯并三氮唑（81mg）加入到反应柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮气鼓泡，室温下反应 3 小时。

取样，茚三酮检测，树脂无色透明。

4）抽干溶剂，树脂依次用 DMF（10 mL）、异丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

1.2.9 Fmoc-(7Me)Trp-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-(7Me)Trp-OH** | 3.0eq |
| ***N,N'*-二异丙基碳二亚胺（DIC）** | 3.0eq |
| **1-羟基苯并三氮唑（HOBt）** | 3.0eq |

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反应柱中，氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10 mL）洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，茚三酮检测，树脂蓝色。

2）称取 Fmoc-(7Me)Trp-OH（264 mg）、*N,N'*-二异丙基碳二亚胺（76 mg）和 1-羟基苯并三氮唑（81mg）加入到反应柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮气鼓泡，室温下反应 3 小时。

取样，茚三酮检测，树脂无色透明。

4）抽干溶剂，树脂依次用 DMF（10 mL）、异丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

1.2.10 Fmoc-Thr(Tbu)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Thr(Tbu)-OH** | 3.0eq |
| ***N,N'*-二异丙基碳二亚胺（DIC）** | 3.0eq |
| **1-羟基苯并三氮唑（HOBt）** | 3.0eq |

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反应柱中，氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10 mL）洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，茚三酮检测，树脂蓝色。

2）称取 Fmoc-Thr(Tbu)-OH（238 mg）、*N,N'*-二异丙基碳二亚胺（76 mg）和 1-羟基苯并三氮唑（81mg）加入到反应柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮气鼓泡，室温下反应 3 小时。

取样，茚三酮检测，树脂无色透明。

4）抽干溶剂，树脂依次用 DMF（10 mL）、异丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

1.2.11 Fmoc-Asn(Trt)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|

| | |
|---|---|
| **Fmoc-Asn(Trt)-OH** | 3.0eq |
| ***N,N'*-二异丙基碳二亚胺（DIC）** | 3.0eq |
| **1-羟基苯并三氮唑（HOBt）** | 3.0eq |

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反应柱中，氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10 mL）洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，茚三酮检测，树脂蓝色。

2）称取 Fmoc-Asn(Trt)-OH（358 mg）、*N,N'*-二异丙基碳二亚胺（76 mg）和 1-羟基苯并三氮唑（81mg）加入到反应柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮气鼓泡，室温下反应 3 小时。

取样，茚三酮检测，树脂无色透明。

4）抽干溶剂，树脂依次用 DMF（10 mL）、异丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

1.2.12 Fmoc-Pen(Trt)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Pen(Trt)-OH** | 3.0eq |
| ***N,N'*-二异丙基碳二亚胺（DIC）** | 3.0eq |
| **1-羟基苯并三氮唑（HOBt）** | 3.0eq |

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反应柱中，氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10 mL）洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，茚三酮检测，树脂蓝色。

2）称取 Fmoc-Pen(Trt)-OH（368 mg）、*N,N'*-二异丙基碳二亚胺（76 mg）和 1-羟基苯并三氮唑（81mg）加入到反应柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮气鼓泡，室温下反应 3 小时。

取样，茚三酮检测，树脂无色透明。

4）抽干溶剂，树脂依次用 DMF（10 mL）、异丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

1.2.13 $Ac_2O$ 封端

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **乙酸酐（$Ac_2O$）** | 5.0eq |
| ***N,N*-二异丙基乙胺（DIEA）** | 6.00eq |

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反应柱中，氮气鼓泡 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF（10 mL）洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

取样，茚三酮检测，树脂蓝色。

2）加入 DCM (10 mL)，DIEA（6.0eq），$Ac_2O$（5.0eq）加入到上述树脂中，鼓氮气，调节好氮

气使树脂均匀鼓泡。

3）在室温下反应 30 分钟。

取样，茚三酮检测，树脂无色透明。

4）树脂依次用 DMF（10 mL）、异丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗涤。每次洗涤保持氮气鼓泡并搅拌 2~3 分钟后再抽干溶剂。

5）收样洗涤：树脂用异丙醚（10 mL）氮气鼓泡并搅拌洗涤 2~3 分钟，抽干。再重复此操作三次，得到树脂肽 **1-14b**。

第二步：直链肽的裂解与脱保护

按如下体积配置切割液

| 试剂 | 比例% |
|---|---|
| **三氟乙酸（TFA）** | 92.5 |
| **三异丙基硅烷（Tis）** | 2.5 |
| **二硫苏糖醇（DTT）** | 2.5 |
| **$H_2O$** | 2.5 |

将得到的树脂肽 **1-14b** 加入 10 mL 配好的切割液，在 25 ℃水浴摇床震荡 2.5 小时，过滤，滤液加入到 10 倍体积冰异丙醚中，离心，弃去上清液。再用异丙醚洗涤 3 次，真空干燥 2 小时得到粗肽 **1-14c**。

第三步：二硫键的氧化

将上述得到的粗肽 **1-14c**（190 mg）加入到水（100 mL）和乙腈（100 mL）中，溶解澄清后向其中缓慢滴加 0.1M 的 $I_2$/MeOH，直至溶液变成亮黄色。继续搅拌 5 分钟黄色没有消失，然后滴加 0.1 M 硫代硫酸钠至黄色消失，搅拌两分钟无变化后，将样品经下述纯化条件进行纯化。

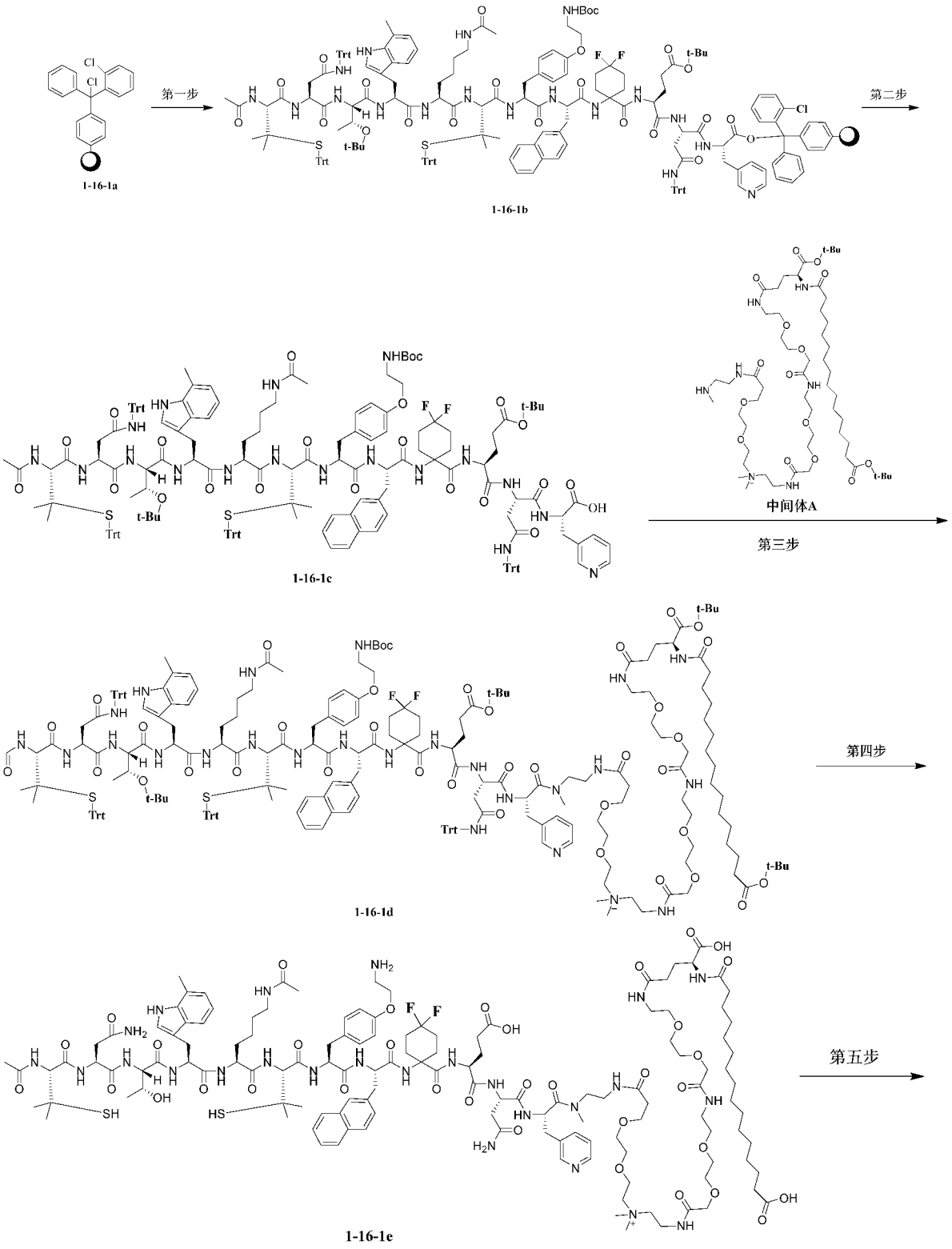
纯化条件:

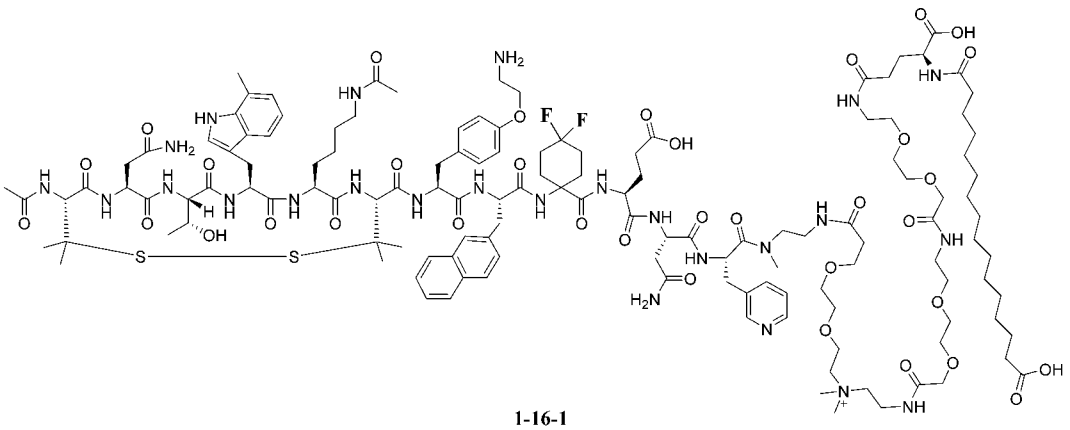
| 分离条件 | |
|---|---|
| 溶解条件 | Dissolve in 30%ACN-$H_2O$ |
| 仪器 | 汉邦 NEWSTYLE 制备型色谱仪 |
| 流动相 | A: $H_2O$ (0.1% TFA in $H_2O$) |
| | B: $CH_3CN$ |
| 梯度 | 30-60%-60 min. Retention time: 30 min |
| 柱型 | Waters Xselect CSH C18（50×250mm，10μm） |
| 流速 | 7 mL/Min |
| 检测波长 | 214/254 nm |
| 柱温 | 室温 |

将纯化液减压浓缩除去有机溶剂，冻干得到 45 mg 终产物**实施例 1-14**，纯度 97.5 %，收率：11.7%.

MS：m/z = 1931.8, $[M+H]^+$；m/z = 966.4, $[M+2H]^{2+}$。

实施例 1-16-1





1-16-1

第一步：全保护的直链肽合成

1.1 挂树脂

1.1.1 称取 0.6 g 2-CTC Resin (**1-16-1a**,替代度 S=1.08 mmol/g) 和 78 mg *N*-Fmoc-*L*-3-吡啶基丙胺酸，(0.2 mmol,取代度 0.33) 加入到反应柱中，再加入 DCM (10 mL), 随后加入 0.6 mL DIEA 至反应柱氮气鼓气 2 小时，然后加入 0.6 mL MeOH 至反应柱氮气继续鼓气 30 分钟，排废，直至没有液体流出，加入 DMF (30 mL) 洗涤 5 次每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

1.1.2 加入 20%的哌啶/DMF(15 mL)至反应柱中，氮气鼓起 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF (30mL)洗涤 5 次每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

1.2.氨基酸的偶联

1.2.1 Fmoc-Asn(Trt)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Asn(Trt)-OH** | 358 mg, 3.0eq |
| **HBTU** | 216 mg, 2.85eq |
| **DIEA** | 155 mg, 6.00eq |

1. 称取 Fmoc-Asn(Trt)-OH(358 mg, 3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)补加 5mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

2. 在 25 ℃的环境中反应 0.5 小时，茚三酮检测，树脂无色透明。

3. 抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

1.2.2 Fmoc-Glu(OtBu)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Glu(OtBu)-OH** | 255 mg, 3.0eq |
| **HBTU** | 216 mg, 2.85eq |
| **DIEA** | 155 mg, 6.00eq |

1. 加入 20%的哌啶/DMF(20 mL)至反应柱中，氮气鼓起 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加

入 DMF (20 mL)洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2. 称取 Fmoc-Glu(OtBu)-OH(255 mg, 3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)补加 5 mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3. 在 25 ℃的环境中反应 0.5 小时，茚三酮检测，树脂无色透明。

4. 抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

1.2.3 1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-4,4-二氟-环己烷甲酸的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-4,4-二氟-环己烷甲酸** | 241 mg, 3.0eq |
| **HATU** | 217 mg, 2.85eq |
| **DIEA** | 155 mg, 6.00eq |

1. 加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反应柱中，氮气鼓起 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF (20 mL)洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2. 称取 1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-4,4-二氟-环己烷甲酸 (CAS: 1986905-26-3, 241 mg, 3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)补加 5 mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HATU (217 mg, 2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3. 在 25 ℃的环境中反应 0.5 小时，茚三酮检测，树脂无色透明。

4. 抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

1.2.4 Fmoc-2Nal-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-2Nal-OH** | 262 mg, 3.0eq |
| **HATU** | 217 mg, 2.85eq |
| **DIEA** | 155 mg, 6.00eq |

1. 加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反应柱中，氮气鼓起 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF (20 mL)洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。四氯苯醌检测，树脂绿色。

2. 称取 Fmoc-2-Nal-OH (262 mg, 3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)补加 5mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HATU (217 mg, 2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3. 在 25 ℃的环境中反应 0.5 小时，四氯苯醌检测，树脂无色透明。

4. 抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

1.2.5 Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-*L*-Phenylalanine 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-** | 328 mg, 3.0eq |

| | |
|---|---|
| ***L*-Phenylalanine** | |
| **HBTU** | 216 mg, 2.85eq |
| **DIEA** | 155 mg, 6.00eq |

1．加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反应柱中，氮气鼓起 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF(20mL)洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2. 称取 Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-*L*-Phenylalanine (328 mg, 3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)补加 5 mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3. 在 25 ℃的环境中反应 0.5 小时，茚三酮检测，树脂无色透明。

4. 抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

1.2.6 Fmoc-Pen(Trt)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Pen(Trt)-OH** | 368 mg, 3.0eq |
| **HBTU** | 216 mg, 2.85eq |
| **DIEA** | 155 mg, 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反应柱中，氮气鼓起 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF (20 mL)洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.称取 Fmoc-Pen(Trt)-OH(368 mg, 3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)补加 5 mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25 ℃的环境中反应 0.5 小时，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

1.2.7 Fmoc-Lys(Ac)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Lys(Ac)-OH** | 246 mg, 3.0eq |
| **HBTU** | 216 mg, 2.85eq |
| **DIEA** | 155 mg, 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反应柱中，氮气鼓起 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF (20 mL)洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.称取 Fmoc-Lys(Ac)-OH (246 mg, 3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)补加 5 mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25 ℃的环境中反应 0.5 小时，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

1.2.8 Fmoc-(7Me)Trp-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-(7Me)Trp-OH** | 264 mg, 3.0eq |
| **HATU** | 217 mg, 2.85eq |
| **DIEA** | 155 mg, 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反应柱中，氮气鼓起 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF (20 mL)洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.称取 Fmoc-(7Me)Trp-OH (264 mg, 3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)补加 5 mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HATU (217 mg, 2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25 ℃的环境中反应 0.5 小时，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20mL 每次)，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

1.2.9 Fmoc-Thr(Tbu)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Thr(Tbu)-OH** | 238mg, 3.0eq |
| **HBTU** | 216 mg, 2.85eq |
| **DIEA** | 155 mg, 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反应柱中，氮气鼓起 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF (20 mL)洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.称取 Fmoc-Thr(Tbu)-OH (238 mg, 3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)补加 5 mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25 ℃的环境中反应 0.5 小时，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

1.2.10 Fmoc-Asn(Trt)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Asn(Trt)-OH** | 358 mg, 3.0eq |
| **HBTU** | 216 mg, 2.85eq |
| **DIEA** | 155 mg, 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反应柱中，氮气鼓起 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF (20 mL)洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.称取 Fmoc-Asn(Trt)-OH(358 mg, 3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)补加 5 mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25 ℃的环境中反应 0.5 小时，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

1.2.11 Fmoc-Pen(Trt)-OH 的偶联

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **Fmoc-Pen(Trt)-OH** | 368 mg, 3.0eq |
| **HBTU** | 216 mg, 2.85eq |
| **DIEA** | 155 mg, 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反应柱中，氮气鼓起 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF (20mL)洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.称取 Fmoc-Pen(Trt)-OH(368 mg, 3.0eq)加入到上述树脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)补加 5 mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待氨基酸溶解后加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25 ℃的环境中反应 0.5 小时，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。

1.2.12 $Ac_2O$ 封端

| 原料 | 投料量 |
|---|---|
| **$Ac_2O$** | 102 mg, 5.0eq |
| **DIEA** | 155 mg, 6.00eq |

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反应柱中，氮气鼓起 20 分钟，排废，直至没有液体流出。加入 DMF (20 mL)洗涤 5 次，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出。茚三酮检测，树脂蓝色。

2.加入 DMF (10 mL)，DIEA (155 mg, 6.00eq), $Ac_2O$ (102 mg, 5.0eq)加入到上述树脂中，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起。

3.在 25 ℃的环境中反应 10 分钟，茚三酮检测，树脂无色透明。

4.抽掉反应液，用 DMF 洗涤 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出，得到直链肽 **1-16-1b**。

第二步：全保护的直链肽切割

2.1 用 DMF 洗涤 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分钟，排废，直至没有液体流出

2.2 用 MeOH (20 mL)收缩树脂，每次 3 分钟，排废，直至没有液体流出，然后用甲叔醚 20 mL 洗树脂三次，将树脂用氮气吹干，备用.

2.3 将配好的 20% HFIP/DCM 溶液 50 mL 倒入反应器内，鼓氮气，反应 30 分钟一次，切割三次后，将所有滤液收集起来，减压浓缩干，再加入 DCM 50 mL 继续减压浓缩干。

2.4 加入乙腈 100 mL，水 100 mL 超声至产物均匀分散，然后使用冻干机冻干，得到中间体 **1-16-1c** 480 mg, 纯度 76%，产率 60%。

LC/MS：$[M+H]^+$=3044.4；$[M+H-243]^+$= 2801.4

第三步：中间体 **1-16-1c** 与**中间体 A** 缩合

取上述中间体 **1-16-1c** (200 mg，0.06 mmol)，加入 DMF 1 mL，DIEA (3eq, 0.18 mmol),再加入**中间体 A** (77 mg, 0.06 mmol, 1eq),再缓慢滴加 HATU(23 mg, 0.06 mmol, 1eq, 溶在 DMF 0.2 mL 中)，使用 Tof-LCMS 检测原料消耗完全，使用油泵将 DMF 旋干，得到中间体 **1-16-1d** 粗品，备用。

LC/MS：$[M]^+$=4130.2, $[M-243]^+$=3887.2.

第四步：直链肽的切割

4.1．按如下体积配置切割液

| 试剂 | 比例 |
|---|---|
| **TFA** | 90 |
| **Tis** | 2.5 |
| **$H_2O$** | 2.5 |
| **Mpr** | 5.0 |

将第三步得到的粗肽加入配好的切割液，在摇床震荡 2.5h，过滤，滤液加入到 10 倍体积冰异丙醚中，离心，再用异丙醚洗涤 3 次。在真空干燥 2h 得到粗肽 **1-16-1e**。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1419.2；$[(M+2H)/3]^+$= 946.5。

第五步：二硫键的氧化

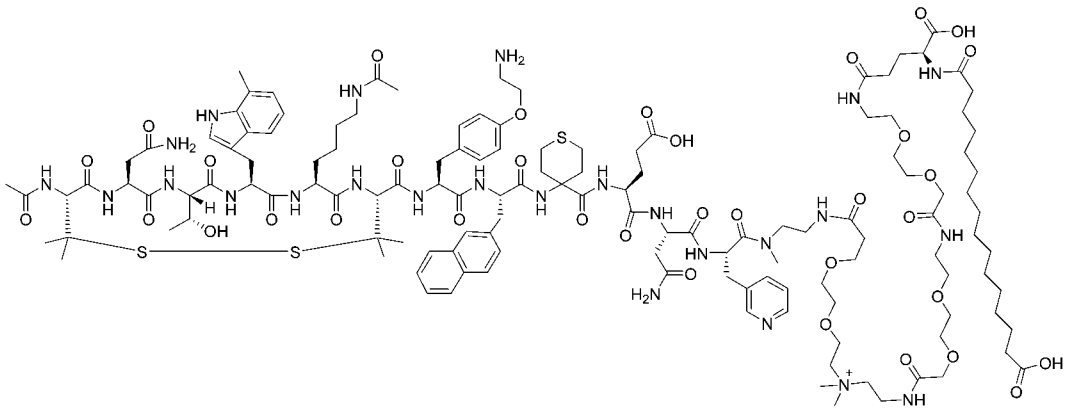
5.1 将第四步得到的粗肽 **1-16-1e** 160 mg，加入水 100 mL，乙腈 100 mL,溶解澄清后缓慢滴加 0.1M 的 $I_2$/MeOH 直至溶液变成亮黄色。继续搅拌 5 分钟黄色没有消失，然后滴加 0.1 M 硫代硫酸钠至黄色消失，搅拌两分钟无变化后，将样品冻干纯化得到 42 mg 产物**实施例 1-16-1**，纯度 97.1%，产率：18.0%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1418.2；$[(M+2H)/3]^+$= 945.8。

纯化条件:

| 分离条件 | |
|---|---|
| 溶解条件 | Dissolve in 10%ACN-$H_2O$ |
| 仪器 | Waters 2545 泵，waters 2489 检测器 |
| 流动相 | A: $H_2O$ (0.1% TFA in $H_2O$) |
| | B: $CH_3CN$ |
| 梯度 | B%, 10-30%-5min, 30-40%-45 min. Retention time: 20 min |
| 柱型 | Welch LP-C18（21.2h LP-C，10μm） |
| 流速 | 20 mL/min |
| 检测波长 | 220/254 nm |
| 柱温 | 室温 |

**实施例 3-16-1**

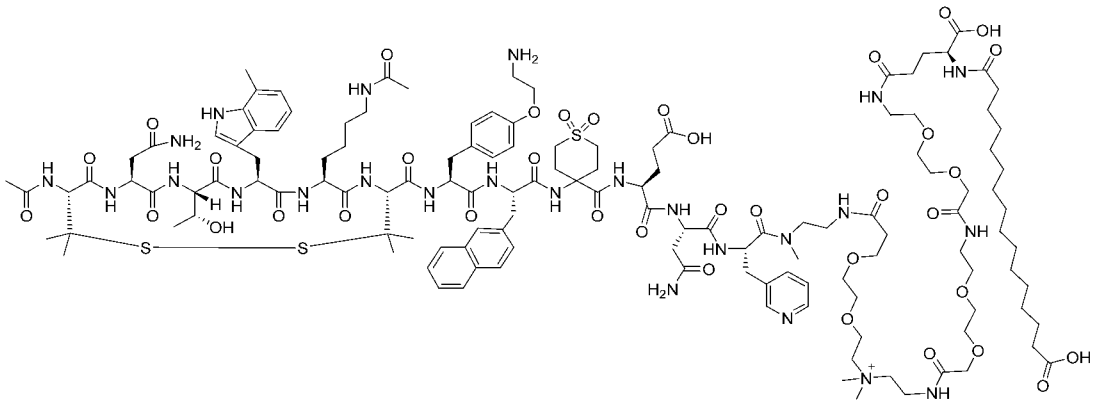


**实施例 3-16-1** 可以参照如下方法制备：

参考**实施例 1-16-1** 的制备方法，其中第一步直链肽固相合成中的 1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-4,4-二氟-环己烷甲酸替换为(9*H*-芴-9-基)甲基(4-氰基四氢-2*H*-噻喃-4-基)氨基甲酸酯 **A3c**，得到 120 mg 产物**实施例 3-16-1**，纯度 98.5%，产率：23.0%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1409.6；$[(M+2H)/3]^+$= 940.8。

**实施例 4-16-1**



**实施例 4-16-1** 可以参照如下方法制备：

参考**实施例 1-16-1** 的制备方法，其中第一步直链肽固相合成中的 1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-4,4-二氟-环己烷甲酸替换为**中间体 A3**，得到 110 mg 产物**实施例 4-16-1**，纯度 99.4%，产率：21.0%。

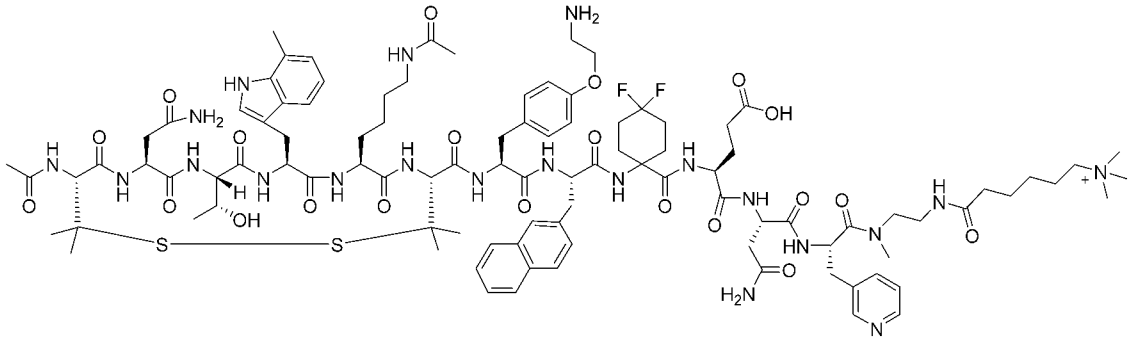
LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1425.7；$[(M+2H)/3]^+$= 951.0。

纯化条件:

| 分离条件 | |
|---|---|
| 溶解条件 | Dissolve in 10%ACN-$H_2O$ |
| 仪器 | Waters 2545 泵，waters 2489 检测器 |
| 流动相 | A: $H_2O$ (0.1% TFA in $H_2O$) |
| | B: $CH_3CN$ |
| 梯度 | B%, 10-30%-5min, 30-40%-45 min. Retention time: 20 min |
| 柱型 | Welch LP-C18（21.2h LP-C，10μm） |

| | |
|---|---|
| 流速 | 20 mL/min |
| 检测波长 | 220/254 nm |
| 柱温 | 室温 |

**实施例 1-19**

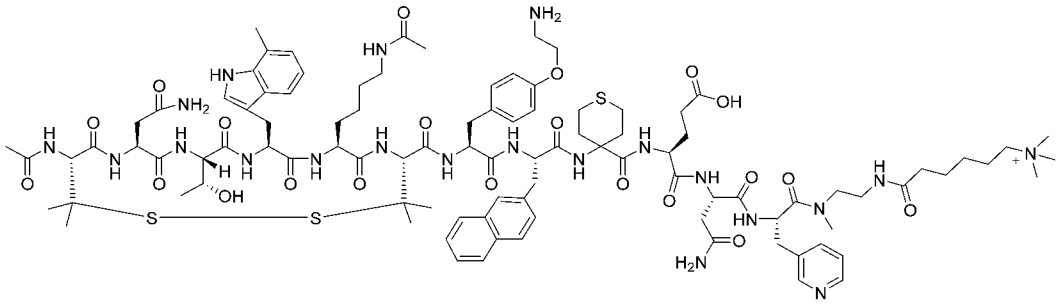


**实施例 1-19** 可以参照如下方法制备：

参考实施例 **1-16-1** 的制备方法，其中第三步直链肽与侧链偶合中的**中间体 A** 替换为**中间体 L2**，得到 110 mg 产物**实施例 1-19**，纯度 95.1%，产率：15.4%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1037.5；$[(M+2H)/3]^+$=692.4。

**实施例 3-19**

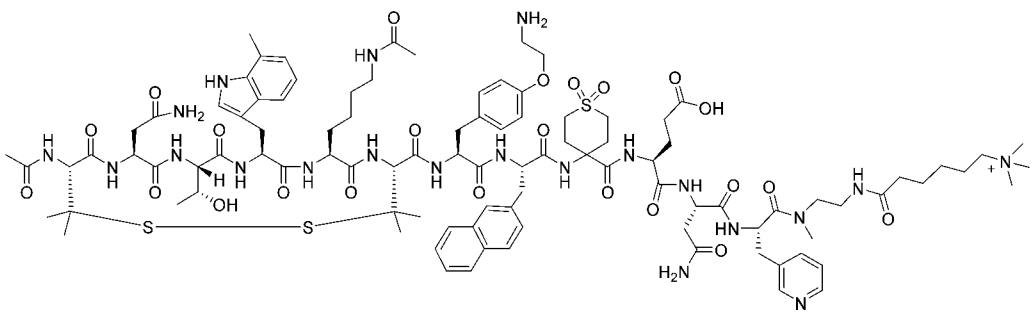


**实施例 3-19** 可以参照如下方法制备：

参考**实施例 1-16-1** 的制备方法，其中第一步直链肽固相合成中的 1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-4,4-二氟-环己烷甲酸替换为(9*H*-芴-9-基)甲基(4-氰基四氢-2*H*-噻喃-4-基)氨基甲酸酯 **A3c**，第三步直链肽与侧链偶合中的侧链**中间体 A** 替换为**中间体 L2**，得到 110 mg 产物**实施例 3-19**，纯度 99.0%，产率：15.4%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1028.5；$[(M+2H)/3]^+$=686.4。

**实施例 4-19**

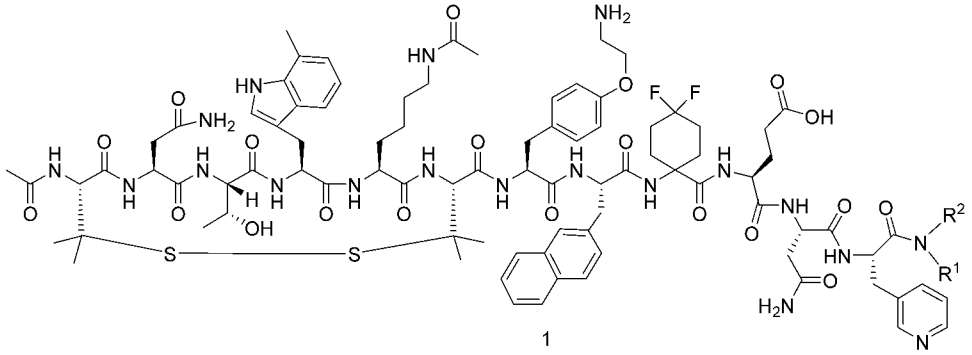


**实施例 4-19** 可以参照如下方法制备：

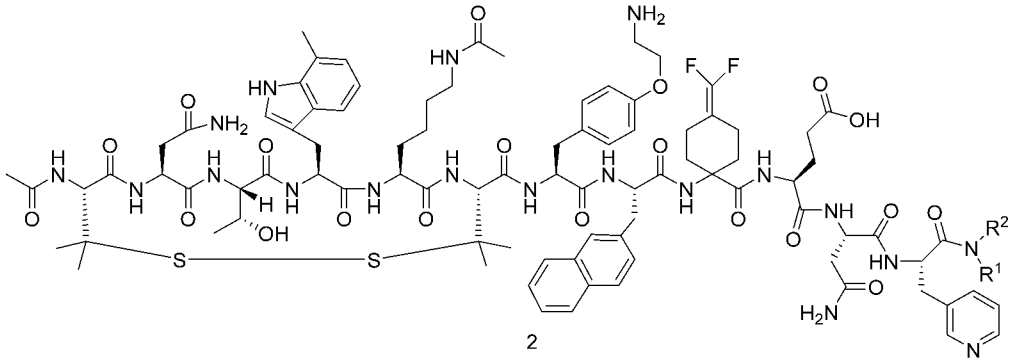
参考**实施例 1-16-1** 的制备方法，其中第一步直链肽固相合成中的 1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-4,4-二氟-环己烷甲酸替换为中间体 **A3**，第三步直链肽与侧链偶合中的侧链中间体 **A** 替换为中间体 **L2**，得到 102 mg 产物实施例 **4-19**，纯度 99.8%，产率：14.2%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1044.5；$[(M+2H)/3]^+$=697.0。

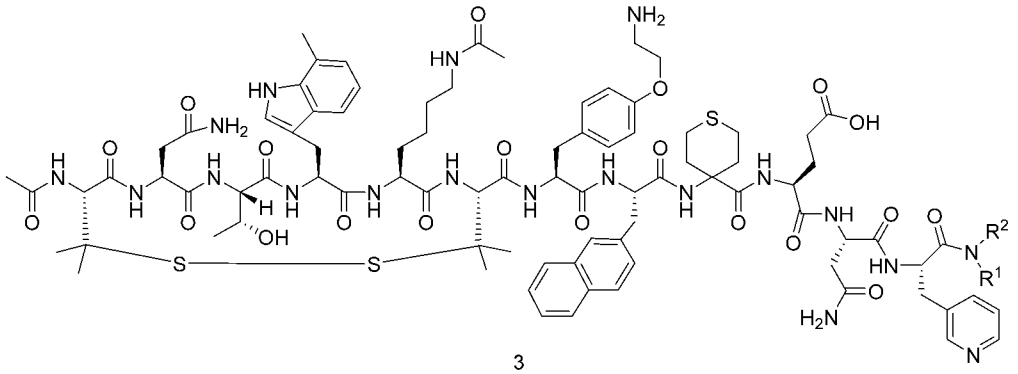
下述实施例可参考上述制备方法制备：



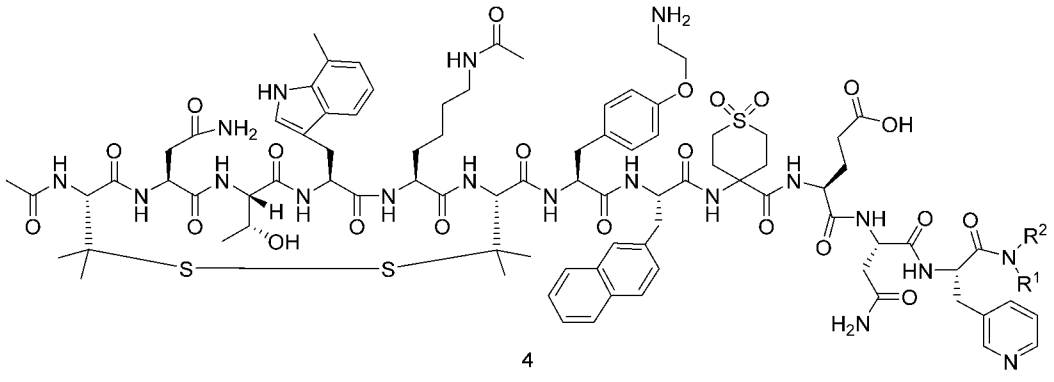
1



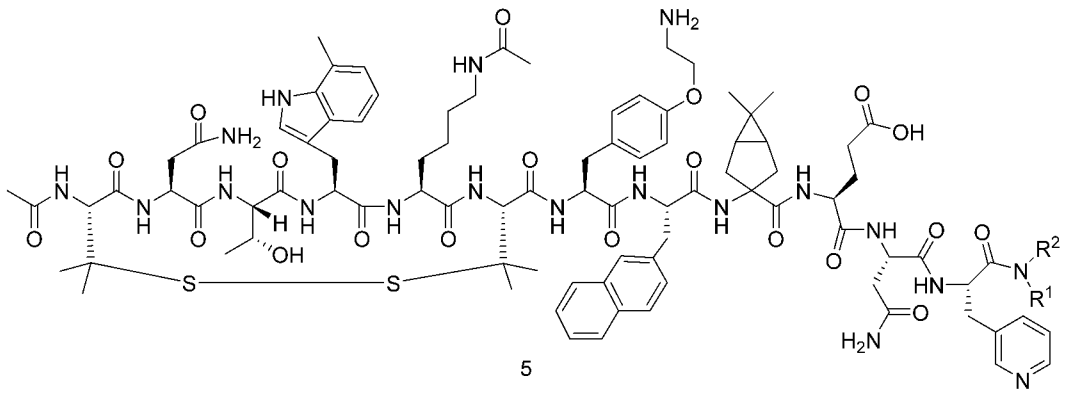
2



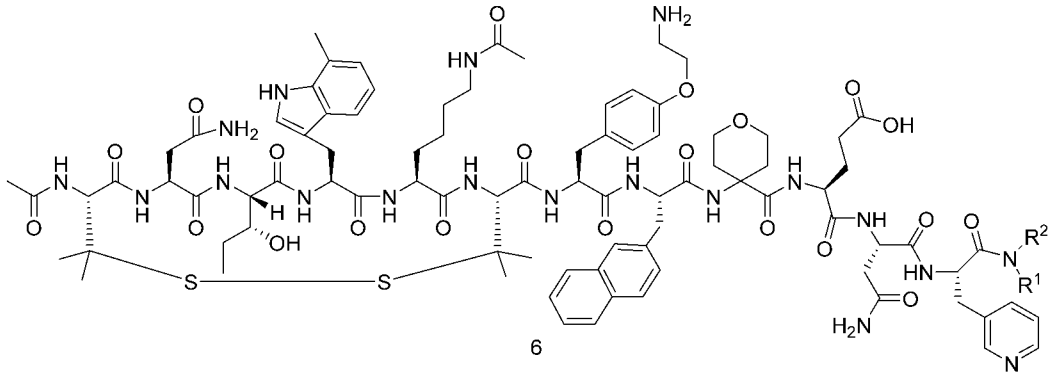
3



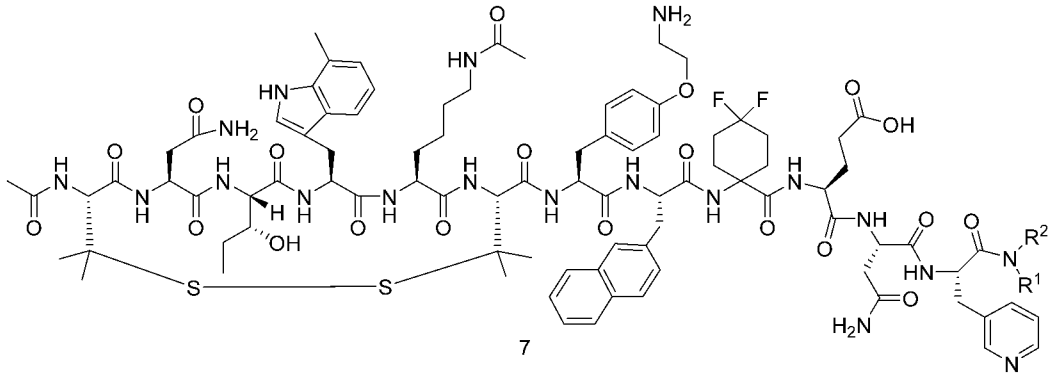
4



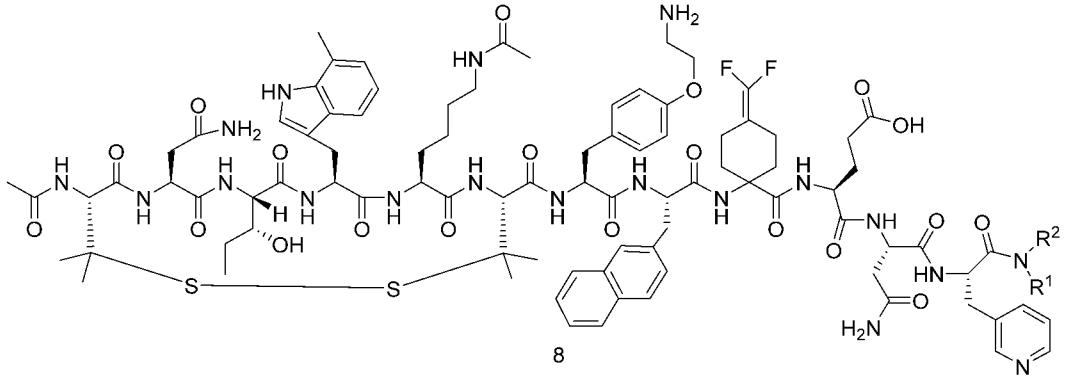
5



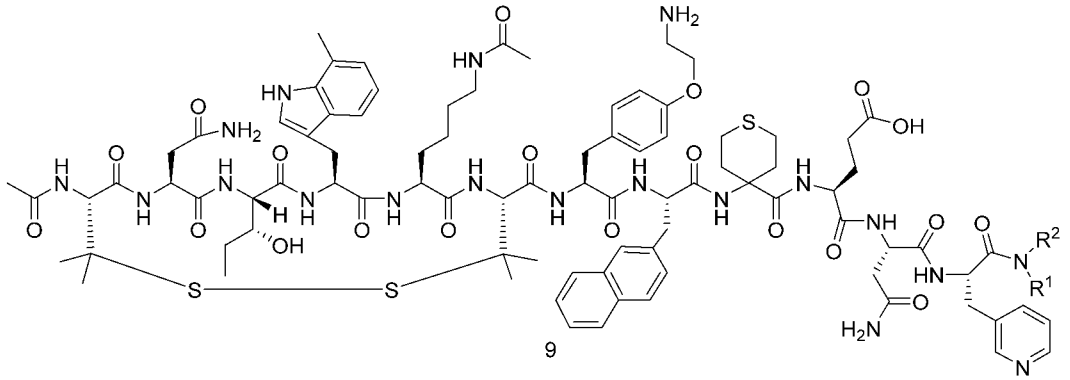
6



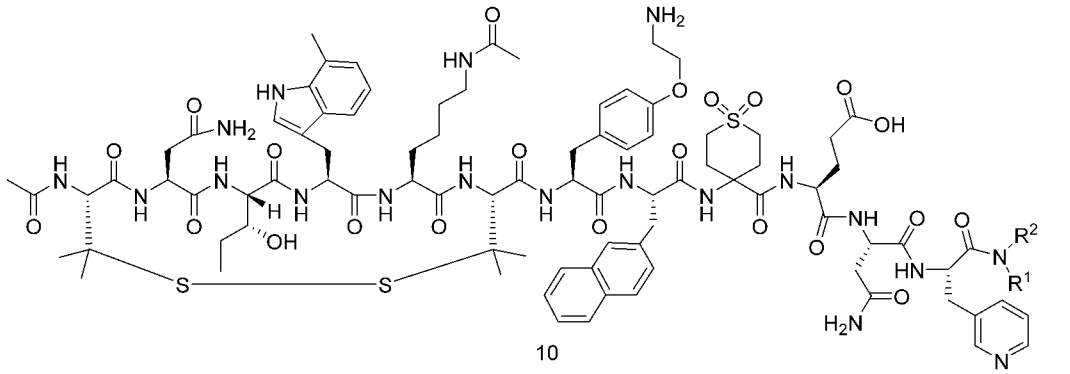
7



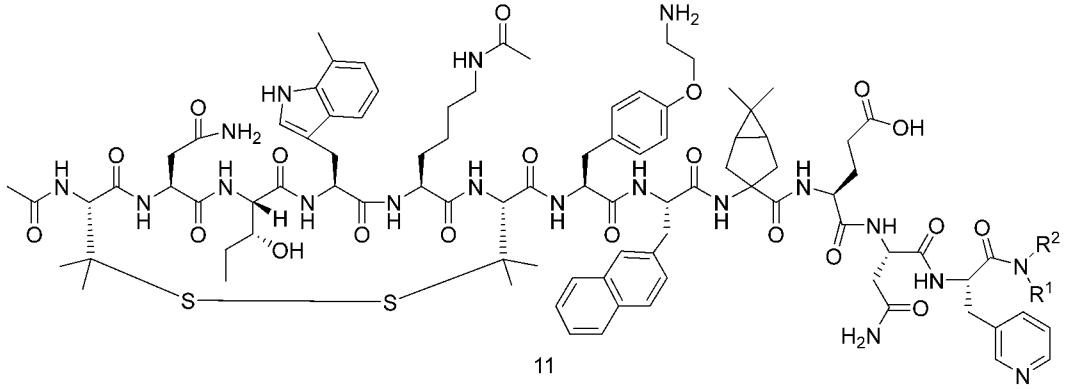
8



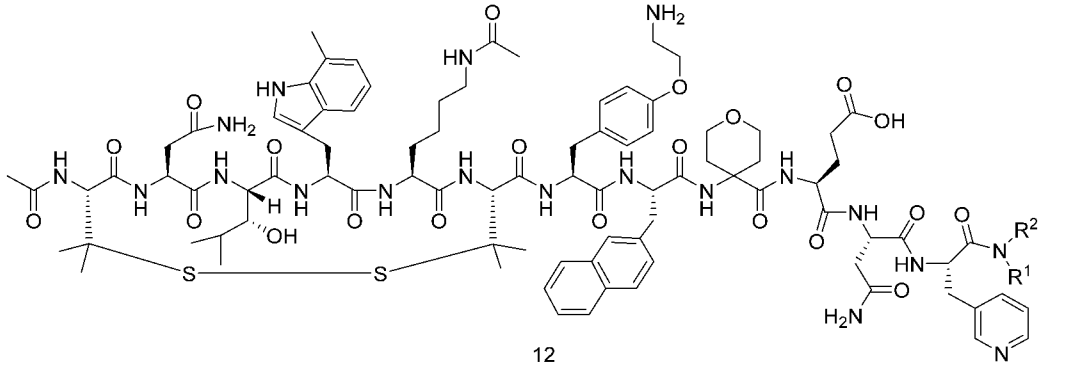
9



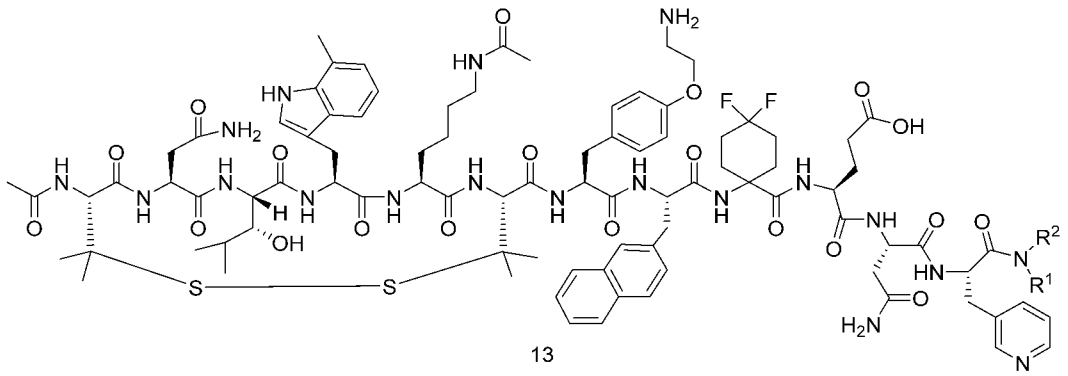
10



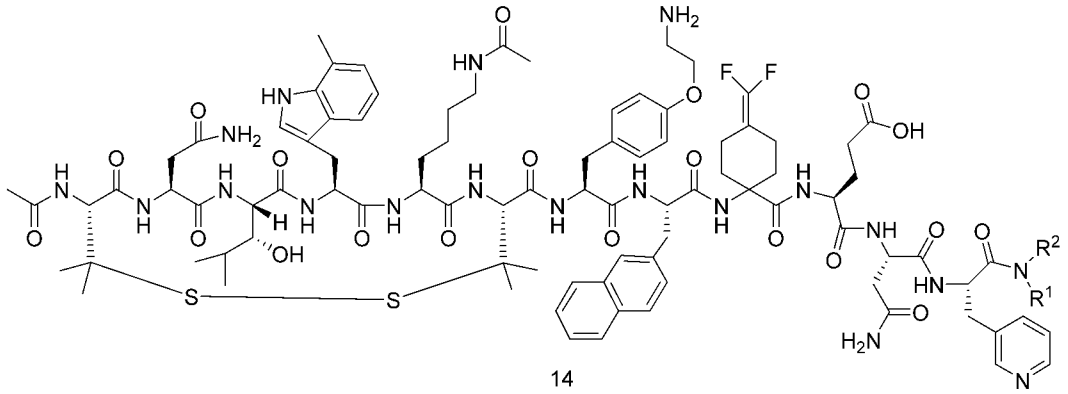
11



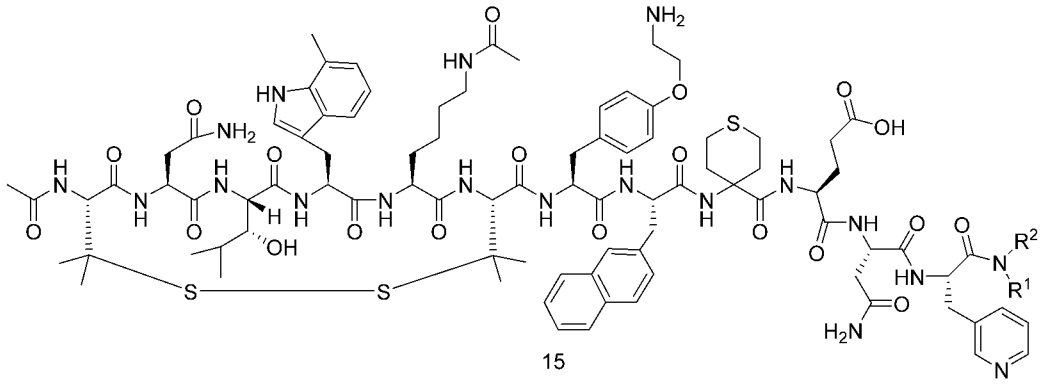
12



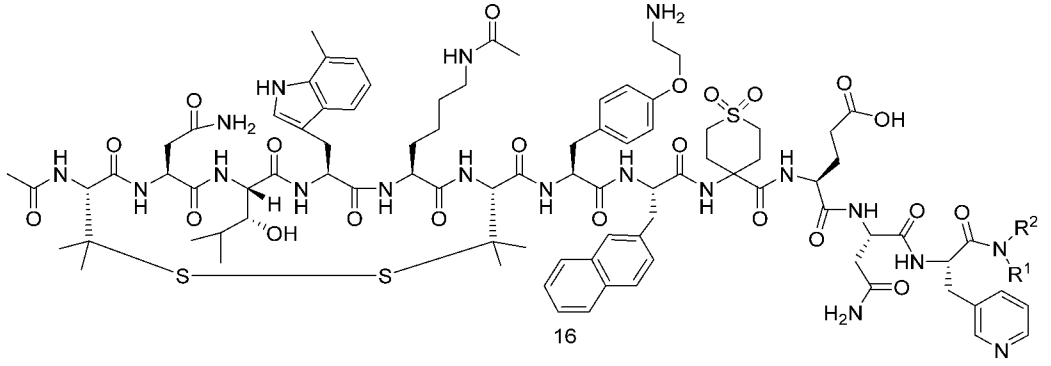
13



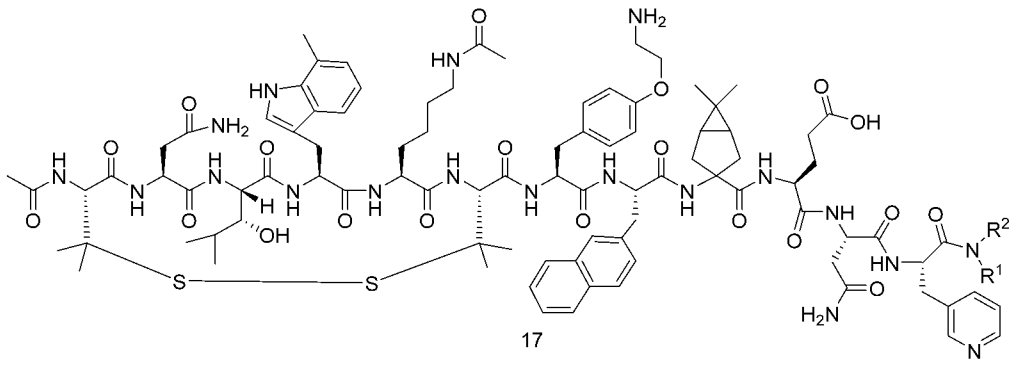
14



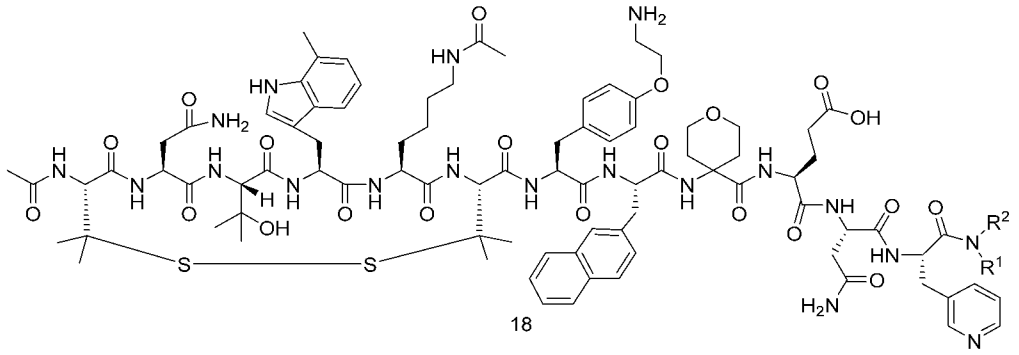
15



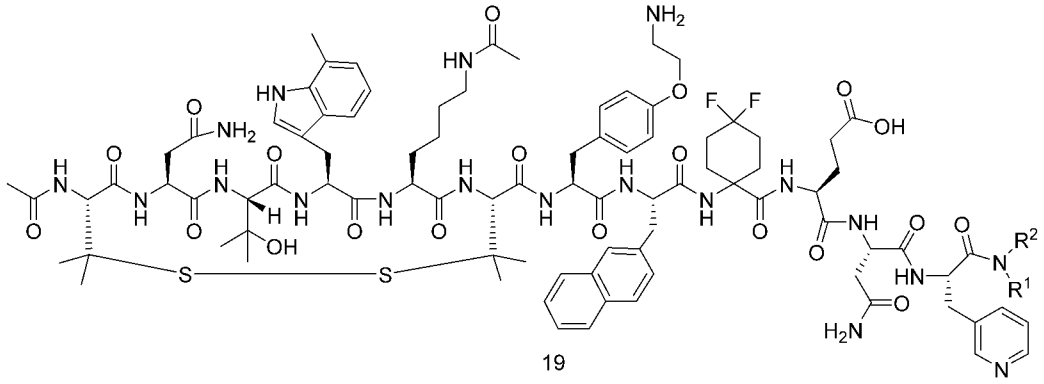
16



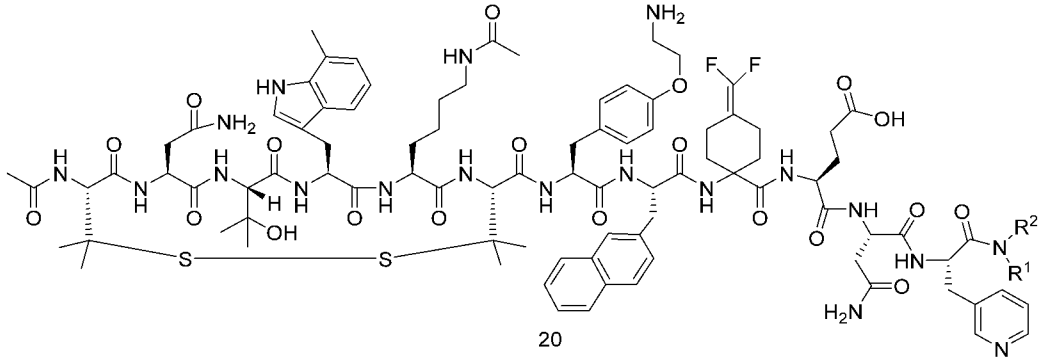
17



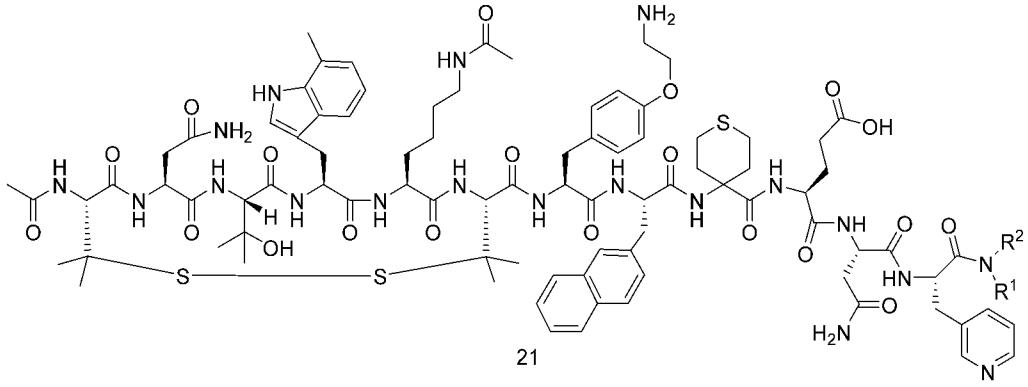
18



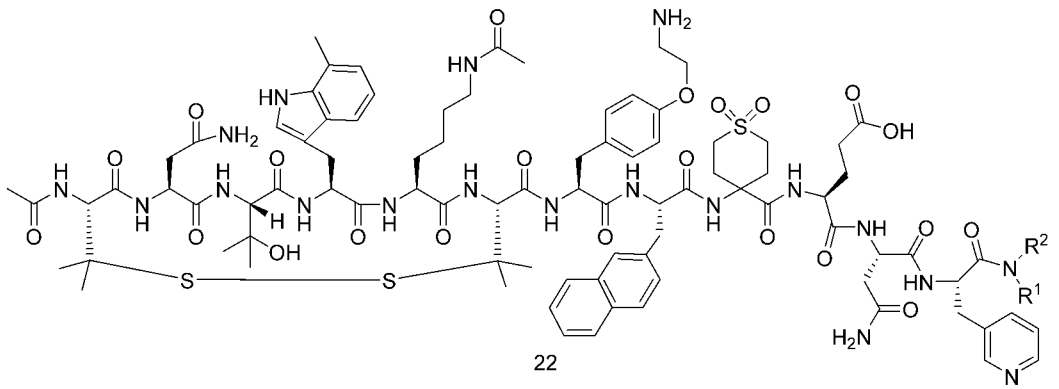
19



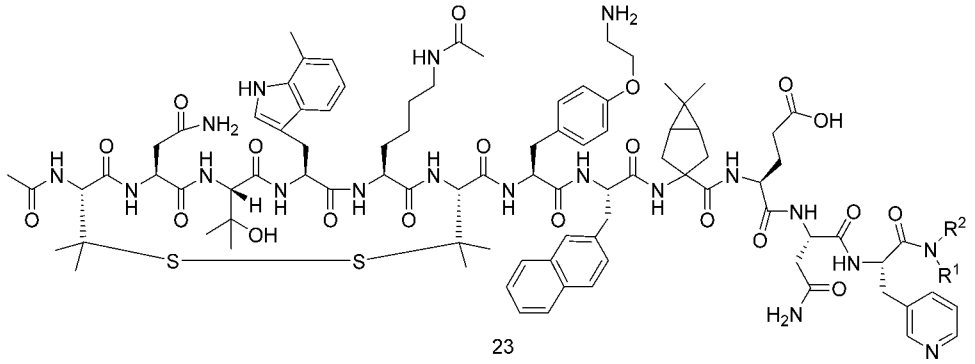
20



21



22

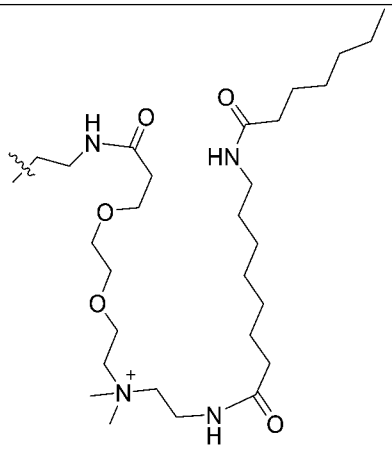


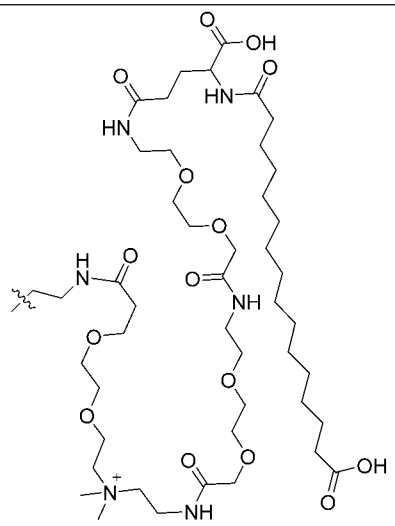
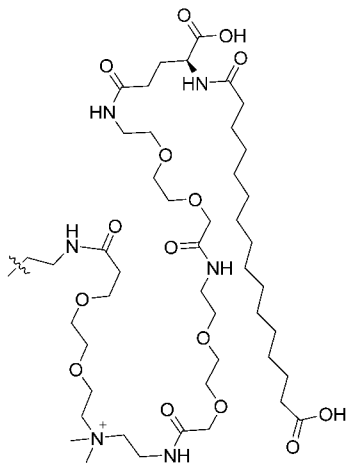
23

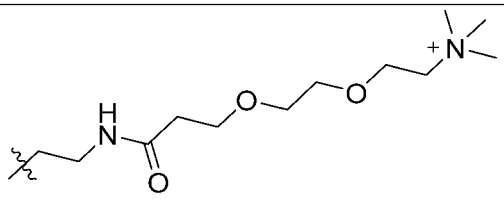
其中，$R^1$ 和 $R^2$ 选自以下结构

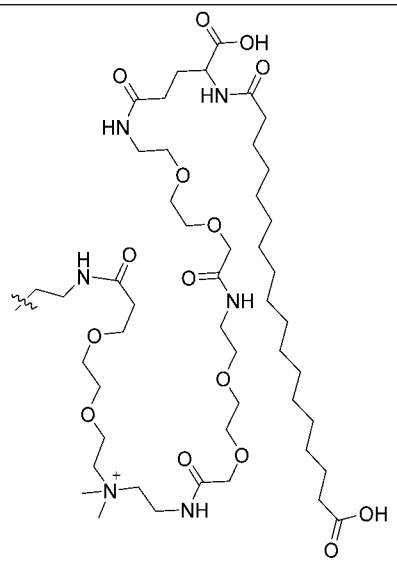
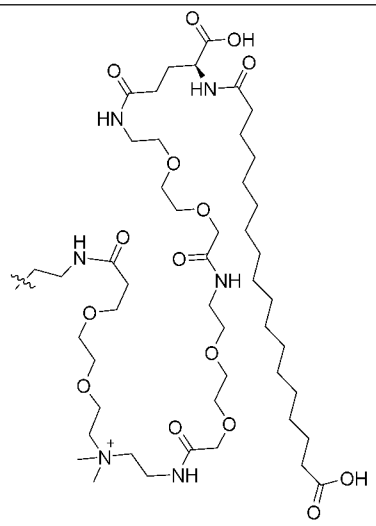
表 1

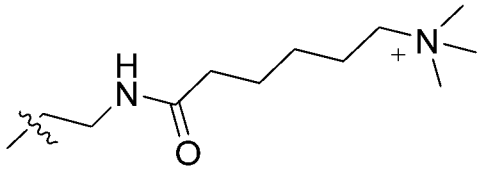
| 通式 | $R^2$ | 化合物 | $R^1$ | 化合物 | $R^1$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | $-CH_2C(O)NH_2$ | 1-1 | -H | 1-14 | $-CH_3$ |
| 2 | | 2-1 | | 2-14 | |
| 3 | | 3-1 | | 3-14 | |
| 4 | | 4-1 | | 4-14 | |
| 5 | | 5-1 | | 5-14 | |
| 6 | | 6-1 | | 6-14 | |
| 7 | | 7-1 | | 7-14 | |
| 8 | | 8-1 | | 8-14 | |
| 9 | | 9-1 | | 9-14 | |
| 10 | | 10-1 | | 10-14 | |
| 11 | | 11-1 | | 11-14 | |
| 12 | | 12-1 | | 12-14 | |
| 13 | | 13-1 | | 13-14 | |
| 14 | | 14-1 | | 14-14 | |
| 15 | | 15-1 | | 15-14 | |
| 16 | | 16-1 | | 16-14 | |

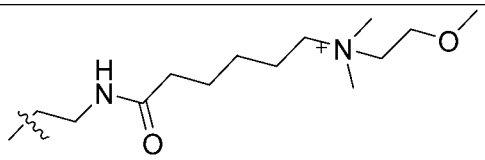
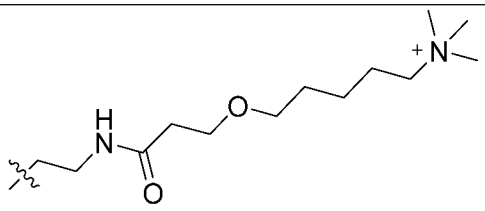
| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 17 | | 17-1 | | 17-14 | |
| 18 | | 18-1 | | 18-14 | |
| 19 | | 19-1 | | 19-14 | |
| 20 | | 20-1 | | 20-14 | |
| 21 | | 21-1 | | 21-14 | |
| 22 | | 22-1 | | 22-14 | |
| 23 | | 23-1 | | 23-14 | |
| 1 |  | 1-2 | | 1-15 | |
| 2 | | 2-2 | | 2-15 | |
| 3 | | 3-2 | | 3-15 | |
| 4 | | 4-2 | | 4-15 | |
| 5 | | 5-2 | | 5-15 | |
| 6 | | 6-2 | | 6-15 | |
| 7 | | 7-2 | | 7-15 | |
| 8 | | 8-2 | | 8-15 | |
| 9 | | 9-2 | | 9-15 | |
| 10 | | 10-2 | | 10-15 | |
| 11 | | 11-2 | | 11-15 | |
| 12 | | 12-2 | | 12-15 | |
| 13 | | 13-2 | | 13-15 | |
| 14 | | 14-2 | | 14-15 | |
| 15 | | 15-2 | | 15-15 | |
| 16 | | 16-2 | | 16-15 | |
| 17 | | 17-2 | | 17-15 | |
| 18 | | 18-2 | | 18-15 | |
| 19 | | 19-2 | | 19-15 | |
| 20 | | 20-2 | | 20-15 | |
| 21 | | 21-2 | | 21-15 | |
| 22 | | 22-2 | | 22-15 | |
| 23 | | 23-2 | | 23-15 | |
| 1 | | 1-3 | | 1-16 | |
| 2 | | 2-3 | | 2-16 | |
| 3 | | 3-3 | | 3-16 | |

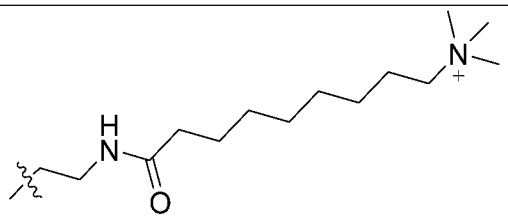
| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 4 |  | 4-3 | | 4-16 | |
| 5 | | 5-3 | | 5-16 | |
| 6 | | 6-3 | | 6-16 | |
| 7 | | 7-3 | | 7-16 | |
| 8 | | 8-3 | | 8-16 | |
| 9 | | 9-3 | | 9-16 | |
| 10 | | 10-3 | | 10-16 | |
| 11 | | 11-3 | | 11-16 | |
| 12 | | 12-3 | | 12-16 | |
| 13 | | 13-3 | | 13-16 | |
| 14 | | 14-3 | | 14-16 | |
| 15 | | 15-3 | | 15-16 | |
| 16 | | 16-3 | | 16-16 | |
| 17 | | 17-3 | | 17-16 | |
| 18 | | 18-3 | | 18-16 | |
| 19 | | 19-3 | | 19-16 | |
| 20 | | 20-3 | | 20-16 | |
| 21 | | 21-3 | | 21-16 | |
| 22 | | 22-3 | | 22-16 | |
| 23 | | 23-3 | | 23-16 | |
| 1 |  | 1-3-1 | | 1-16-1 | |
| 2 | | 2-3-1 | | 2-16-1 | |
| 3 | | 3-3-1 | | 3-16-1 | |
| 4 | | 4-3-1 | | 4-16-1 | |
| 5 | | 5-3-1 | | 5-16-1 | |
| 6 | | 6-3-1 | | 6-16-1 | |
| 7 | | 7-3-1 | | 7-16-1 | |
| 8 | | 8-3-1 | | 8-16-1 | |
| 9 | | 9-3-1 | | 9-16-1 | |
| 10 | | 10-3-1 | | 10-16-1 | |
| 11 | | 11-3-1 | | 11-16-1 | |
| 12 | | 12-3-1 | | 12-16-1 | |
| 13 | | 13-3-1 | | 13-16-1 | |

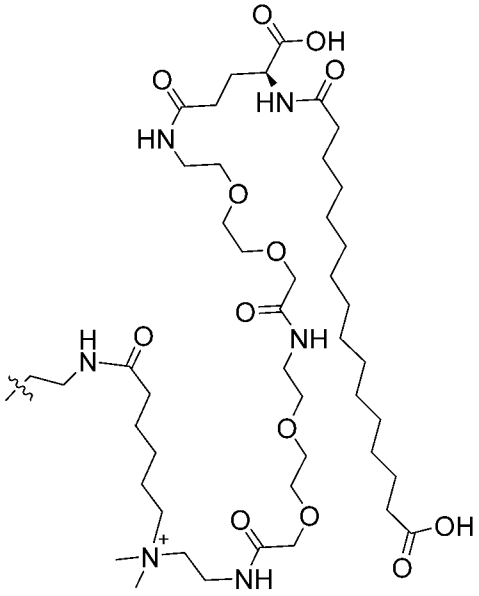
| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 14 | | 14-3-1 | | 14-16-1 | |
| 15 | | 15-3-1 | | 15-16-1 | |
| 16 | | 16-3-1 | | 16-16-1 | |
| 17 | | 17-3-1 | | 17-16-1 | |
| 18 | | 18-3-1 | | 18-16-1 | |
| 19 | | 19-3-1 | | 19-16-1 | |
| 20 | | 20-3-1 | | 20-16-1 | |
| 21 | | 21-3-1 | | 21-16-1 | |
| 22 | | 22-3-1 | | 22-16-1 | |
| 23 | | 23-3-1 | | 23-16-1 | |
| 1 |  | 1-4 | | 1-17 | |
| 2 | | 2-4 | | 2-17 | |
| 3 | | 3-4 | | 3-17 | |
| 4 | | 4-4 | | 4-17 | |
| 5 | | 5-4 | | 5-17 | |
| 6 | | 6-4 | | 6-17 | |
| 7 | | 7-4 | | 7-17 | |
| 8 | | 8-4 | | 8-17 | |
| 9 | | 9-4 | | 9-17 | |
| 10 | | 10-4 | | 10-17 | |
| 11 | | 11-4 | | 11-17 | |
| 12 | | 12-4 | | 12-17 | |
| 13 | | 13-4 | | 13-17 | |
| 14 | | 14-4 | | 14-17 | |
| 15 | | 15-4 | | 15-17 | |
| 16 | | 16-4 | | 16-17 | |
| 17 | | 17-4 | | 17-17 | |
| 18 | | 18-4 | | 18-17 | |
| 19 | | 19-4 | | 19-17 | |
| 20 | | 20-4 | | 20-17 | |
| 21 | | 21-4 | | 21-17 | |
| 22 | | 22-4 | | 22-17 | |
| 23 | | 23-4 | | 23-17 | |

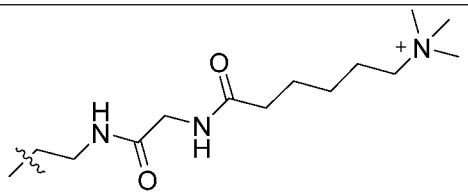
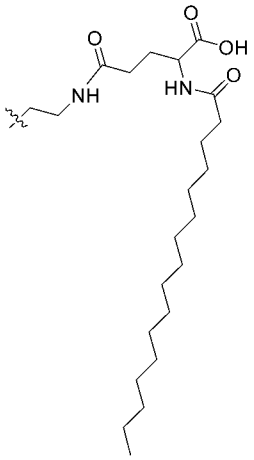
| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 |  | 1-5 | | 1-18 | |
| 2 | | 2-5 | | 2-18 | |
| 3 | | 3-5 | | 3-18 | |
| 4 | | 4-5 | | 4-18 | |
| 5 | | 5-5 | | 5-18 | |
| 6 | | 6-5 | | 6-18 | |
| 7 | | 7-5 | | 7-18 | |
| 8 | | 8-5 | | 8-18 | |
| 9 | | 9-5 | | 9-18 | |
| 10 | | 10-5 | | 10-18 | |
| 11 | | 11-5 | | 11-18 | |
| 12 | | 12-5 | | 12-18 | |
| 13 | | 13-5 | | 13-18 | |
| 14 | | 14-5 | | 14-18 | |
| 15 | | 15-5 | | 15-18 | |
| 16 | | 16-5 | | 16-18 | |
| 17 | | 17-5 | | 17-18 | |
| 18 | | 18-5 | | 18-18 | |
| 19 | | 19-5 | | 19-18 | |
| 20 | | 20-5 | | 20-18 | |
| 21 | | 21-5 | | 21-18 | |
| 22 | | 22-5 | | 22-18 | |
| 23 | | 23-5 | | 23-18 | |
| 1 |  | 1-5-1 | | 1-18-1 | |
| 2 | | 2-5-1 | | 2-18-1 | |
| 3 | | 3-5-1 | | 3-18-1 | |
| 4 | | 4-5-1 | | 4-18-1 | |
| 5 | | 5-5-1 | | 5-18-1 | |
| 6 | | 6-5-1 | | 6-18-1 | |
| 7 | | 7-5-1 | | 7-18-1 | |
| 8 | | 8-5-1 | | 8-18-1 | |
| 9 | | 9-5-1 | | 9-18-1 | |
| 10 | | 10-5-1 | | 10-18-1 | |

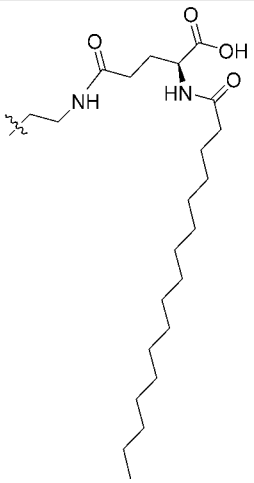
| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 11 | | 11-5-1 | | 11-18-1 | |
| 12 | | 12-5-1 | | 12-18-1 | |
| 13 | | 13-5-1 | | 13-18-1 | |
| 14 | | 14-5-1 | | 14-18-1 | |
| 15 | | 15-5-1 | | 15-18-1 | |
| 16 | | 16-5-1 | | 16-18-1 | |
| 17 | | 17-5-1 | | 17-18-1 | |
| 18 | | 18-5-1 | | 18-18-1 | |
| 19 | | 19-5-1 | | 19-18-1 | |
| 20 | | 20-5-1 | | 20-18-1 | |
| 21 | | 21-5-1 | | 21-18-1 | |
| 22 | | 22-5-1 | | 22-18-1 | |
| 23 | | 23-5-1 | | 23-18-1 | |
| 1 |  | 1-6 | | 1-19 | |
| 2 | | 2-6 | | 2-19 | |
| 3 | | 3-6 | | 3-19 | |
| 4 | | 4-6 | | 4-19 | |
| 5 | | 5-6 | | 5-19 | |
| 6 | | 6-6 | | 6-19 | |
| 7 | | 7-6 | | 7-19 | |
| 8 | | 8-6 | | 8-19 | |
| 9 | | 9-6 | | 9-19 | |
| 10 | | 10-6 | | 10-19 | |
| 11 | | 11-6 | | 11-19 | |
| 12 | | 12-6 | | 12-19 | |
| 13 | | 13-6 | | 13-19 | |
| 14 | | 14-6 | | 14-19 | |
| 15 | | 15-6 | | 15-19 | |
| 16 | | 16-6 | | 16-19 | |
| 17 | | 17-6 | | 17-19 | |
| 18 | | 18-6 | | 18-19 | |
| 19 | | 19-6 | | 19-19 | |
| 20 | | 20-6 | | 20-19 | |

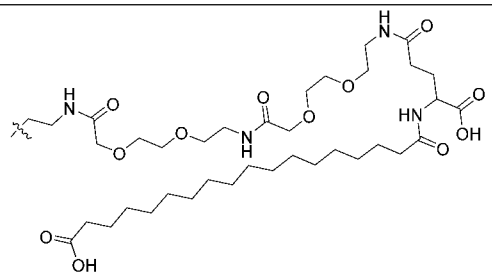
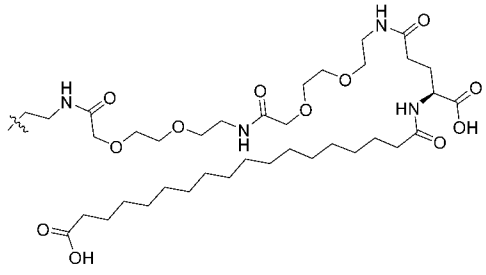
| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 21 | | 21-6 | | 21-19 | |
| 22 | | 22-6 | | 22-19 | |
| 23 | | 23-6 | | 23-19 | |
| 1 |  | 1-7 | | 1-20 | |
| 2 | | 2-7 | | 2-20 | |
| 3 | | 3-7 | | 3-20 | |
| 4 | | 4-7 | | 4-20 | |
| 5 | | 5-7 | | 5-20 | |
| 6 | | 6-7 | | 6-20 | |
| 7 | | 7-7 | | 7-20 | |
| 8 | | 8-7 | | 8-20 | |
| 9 | | 9-7 | | 9-20 | |
| 10 | | 10-7 | | 10-20 | |
| 11 | | 11-7 | | 11-20 | |
| 12 | | 12-7 | | 12-20 | |
| 13 | | 13-7 | | 13-20 | |
| 14 | | 14-7 | | 14-20 | |
| 15 | | 15-7 | | 15-20 | |
| 16 | | 16-7 | | 16-20 | |
| 17 | | 17-7 | | 17-20 | |
| 18 | | 18-7 | | 18-20 | |
| 19 | | 19-7 | | 19-20 | |
| 20 | | 20-7 | | 20-20 | |
| 21 | | 21-7 | | 21-20 | |
| 22 | | 22-7 | | 22-20 | |
| 23 | | 23-7 | | 23-20 | |
| 1 |  | 1-8 | | 1-21 | |
| 2 | | 2-8 | | 2-21 | |
| 3 | | 3-8 | | 3-21 | |
| 4 | | 4-8 | | 4-21 | |
| 5 | | 5-8 | | 5-21 | |
| 6 | | 6-8 | | 6-21 | |
| 7 | | 7-8 | | 7-21 | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 8 | | 8-8 | | 8-21 | |
| 9 | | 9-8 | | 9-21 | |
| 10 | | 10-8 | | 10-21 | |
| 11 | | 11-8 | | 11-21 | |
| 12 | | 12-8 | | 12-21 | |
| 13 | | 13-8 | | 13-21 | |
| 14 | | 14-8 | | 14-21 | |
| 15 | | 15-8 | | 15-21 | |
| 16 | | 16-8 | | 16-21 | |
| 17 | | 17-8 | | 17-21 | |
| 18 | | 18-8 | | 18-21 | |
| 19 | | 19-8 | | 19-21 | |
| 20 | | 20-8 | | 20-21 | |
| 21 | | 21-8 | | 21-21 | |
| 22 | | 22-8 | | 22-21 | |
| 23 | | 23-8 | | 23-21 | |
| 1 |  | 1-9 | | 1-22 | |
| 2 | | 2-9 | | 2-22 | |
| 3 | | 3-9 | | 3-22 | |
| 4 | | 4-9 | | 4-22 | |
| 5 | | 5-9 | | 5-22 | |
| 6 | | 6-9 | | 6-22 | |
| 7 | | 7-9 | | 7-22 | |
| 8 | | 8-9 | | 8-22 | |
| 9 | | 9-9 | | 9-22 | |
| 10 | | 10-9 | | 10-22 | |
| 11 | | 11-9 | | 11-22 | |
| 12 | | 12-9 | | 12-22 | |
| 13 | | 13-9 | | 13-22 | |
| 14 | | 14-9 | | 14-22 | |
| 15 | | 15-9 | | 15-22 | |
| 16 | | 16-9 | | 16-22 | |
| 17 | | 17-9 | | 17-22 | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 18 | | 18-9 | | 18-22 | |
| 19 | | 19-9 | | 19-22 | |
| 20 | | 20-9 | | 20-22 | |
| 21 | | 21-9 | | 21-22 | |
| 22 | | 22-9 | | 22-22 | |
| 23 | | 23-9 | | 23-22 | |
| 1 |  | 1-10 | | 1-23 | |
| 2 | | 2-10 | | 2-23 | |
| 3 | | 3-10 | | 3-23 | |
| 4 | | 4-10 | | 4-23 | |
| 5 | | 5-10 | | 5-23 | |
| 6 | | 6-10 | | 6-23 | |
| 7 | | 7-10 | | 7-23 | |
| 8 | | 8-10 | | 8-23 | |
| 9 | | 9-10 | | 9-23 | |
| 10 | | 10-10 | | 10-23 | |
| 11 | | 11-10 | | 11-23 | |
| 12 | | 12-10 | | 12-23 | |
| 13 | | 13-10 | | 13-23 | |
| 14 | | 14-10 | | 14-23 | |
| 15 | | 15-10 | | 15-23 | |
| 16 | | 16-10 | | 16-23 | |
| 17 | | 17-10 | | 17-23 | |
| 18 | | 18-10 | | 18-23 | |
| 19 | | 19-10 | | 19-23 | |
| 20 | | 20-10 | | 20-23 | |
| 21 | | 21-10 | | 21-23 | |
| 22 | | 22-10 | | 22-23 | |
| 23 | | 23-10 | | 23-23 | |
| 1 | | 1-11 | | 1-24 | |
| 2 | | 2-11 | | 2-24 | |
| 3 | | 3-11 | | 3-24 | |
| 4 | | 4-11 | | 4-24 | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 5 |  | 5-11 | | 5-24 | |
| 6 | | 6-11 | | 6-24 | |
| 7 | | 7-11 | | 7-24 | |
| 8 | | 8-11 | | 8-24 | |
| 9 | | 9-11 | | 9-24 | |
| 10 | | 10-11 | | 10-24 | |
| 11 | | 11-11 | | 11-24 | |
| 12 | | 12-11 | | 12-24 | |
| 13 | | 13-11 | | 13-24 | |
| 14 | | 14-11 | | 14-24 | |
| 15 | | 15-11 | | 15-24 | |
| 16 | | 16-11 | | 16-24 | |
| 17 | | 17-11 | | 17-24 | |
| 18 | | 18-11 | | 18-24 | |
| 19 | | 19-11 | | 19-24 | |
| 20 | | 20-11 | | 20-24 | |
| 21 | | 21-11 | | 21-24 | |
| 22 | | 22-11 | | 22-24 | |
| 23 | | 23-11 | | 23-24 | |
| 1 |  | 1-12 | | 1-25 | |
| 2 | | 2-12 | | 2-25 | |
| 3 | | 3-12 | | 3-25 | |
| 4 | | 4-12 | | 4-25 | |
| 5 | | 5-12 | | 5-25 | |
| 6 | | 6-12 | | 6-25 | |
| 7 | | 7-12 | | 7-25 | |
| 8 | | 8-12 | | 8-25 | |
| 9 | | 9-12 | | 9-25 | |
| 10 | | 10-12 | | 10-25 | |
| 11 | | 11-12 | | 11-25 | |
| 12 | | 12-12 | | 12-25 | |
| 13 | | 13-12 | | 13-25 | |
| 14 | | 14-12 | | 14-25 | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 15 | | 15-12 | | 15-25 | |
| 16 | | 16-12 | | 16-25 | |
| 17 | | 17-12 | | 17-25 | |
| 18 | | 18-12 | | 18-25 | |
| 19 | | 19-12 | | 19-25 | |
| 20 | | 20-12 | | 20-25 | |
| 21 | | 21-12 | | 21-25 | |
| 22 | | 22-12 | | 22-25 | |
| 23 | | 23-12 | | 23-25 | |
| 1 |  | 1-12-1 | | 1-25-1 | |
| 2 | | 2-12-1 | | 2-25-1 | |
| 3 | | 3-12-1 | | 3-25-1 | |
| 4 | | 4-12-1 | | 4-25-1 | |
| 5 | | 5-12-1 | | 5-25-1 | |
| 6 | | 6-12-1 | | 6-25-1 | |
| 7 | | 7-12-1 | | 7-25-1 | |
| 8 | | 8-12-1 | | 8-25-1 | |
| 9 | | 9-12-1 | | 9-25-1 | |
| 10 | | 10-12-1 | | 10-25-1 | |
| 11 | | 11-12-1 | | 11-25-1 | |
| 12 | | 12-12-1 | | 12-25-1 | |
| 13 | | 13-12-1 | | 13-25-1 | |
| 14 | | 14-12-1 | | 14-25-1 | |
| 15 | | 15-12-1 | | 15-25-1 | |
| 16 | | 16-12-1 | | 16-25-1 | |
| 17 | | 17-12-1 | | 17-25-1 | |
| 18 | | 18-12-1 | | 18-25-1 | |
| 19 | | 19-12-1 | | 19-25-1 | |
| 20 | | 20-12-1 | | 20-25-1 | |
| 21 | | 21-12-1 | | 21-25-1 | |
| 22 | | 22-12-1 | | 22-25-1 | |
| 23 | | 23-12-1 | | 23-25-1 | |
| 1 | | 1-13 | | 1-26 | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 2 |  | 2-13 | | 2-26 | |
| 3 | | 3-13 | | 3-26 | |
| 4 | | 4-13 | | 4-26 | |
| 5 | | 5-13 | | 5-26 | |
| 6 | | 6-13 | | 6-26 | |
| 7 | | 7-13 | | 7-26 | |
| 8 | | 8-13 | | 8-26 | |
| 9 | | 9-13 | | 9-26 | |
| 10 | | 10-13 | | 10-26 | |
| 11 | | 11-13 | | 11-26 | |
| 12 | | 12-13 | | 12-26 | |
| 13 | | 13-13 | | 13-26 | |
| 14 | | 14-13 | | 14-26 | |
| 15 | | 15-13 | | 15-26 | |
| 16 | | 16-13 | | 16-26 | |
| 17 | | 17-13 | | 17-26 | |
| 18 | | 18-13 | | 18-26 | |
| 19 | | 19-13 | | 19-26 | |
| 20 | | 20-13 | | 20-26 | |
| 21 | | 21-13 | | 21-26 | |
| 22 | | 22-13 | | 22-26 | |
| 23 | | 23-13 | | 23-26 | |
| 1 |  | 1-13-1 | | 1-26-1 | |
| 2 | | 2-13-1 | | 2-26-1 | |
| 3 | | 3-13-1 | | 3-26-1 | |
| 4 | | 4-13-1 | | 4-26-1 | |
| 5 | | 5-13-1 | | 5-26-1 | |
| 6 | | 6-13-1 | | 6-26-1 | |
| 7 | | 7-13-1 | | 7-26-1 | |
| 8 | | 8-13-1 | | 8-26-1 | |
| 9 | | 9-13-1 | | 9-26-1 | |
| 10 | | 10-13-1 | | 10-26-1 | |
| 11 | | 11-13-1 | | 11-26-1 | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 12 | | 12-13-1 | | 12-26-1 | |
| 13 | | 13-13-1 | | 13-26-1 | |
| 14 | | 14-13-1 | | 14-26-1 | |
| 15 | | 15-13-1 | | 15-26-1 | |
| 16 | | 16-13-1 | | 16-26-1 | |
| 17 | | 17-13-1 | | 17-26-1 | |
| 18 | | 18-13-1 | | 18-26-1 | |
| 19 | | 19-13-1 | | 19-26-1 | |
| 20 | | 20-13-1 | | 20-26-1 | |
| 21 | | 21-13-1 | | 21-26-1 | |
| 22 | | 22-13-1 | | 22-26-1 | |
| 23 | | 23-13-1 | | 23-26-1 | |

**生物学测试评价**

以下结合测试例进一步描述解释本发明，但这些实施例并非意味着限制本发明的范围。

**测试例 1**：本发明化合物与 IL23 竞争结合 IL23R 实验

1.1 实验目的：测定本发明化合物和 IL23 竞争结合 IL23R 的效率

1.2 实验仪器和试剂：

1.2.1 仪器

| 仪器名称 | 厂家 | 规格型号 |
|---|---|---|
| EnVision | PerkinElmer | ENVISION 2015 |

1.2.2 试剂

| 试剂材料 | 厂家 | 货号 |
|---|---|---|
| IL23/IL23R BINDING ASSAY KITS | PerkinElmer | 64BDPIL23PEH |
| White 384-shallow well Microplate | PerkinElmer | 6008280 |

1.3 实验方法：

将本发明化合物在 IL23/IL23R BINDING ASSAY KITS（PerkinElmer Cat#64BDPIL23PEH）中筛选。本发明化合物筛选使用多孔板（适合 HTRF 测定）的形式进行，通常先向多孔板孔中分别加入 2 μl 若干本发明化合物和 KIT 中的 STANDARD SOLUTIONS，所有的孔需要加入 4 μl Tag1-IL23、4 μl Tag2-IL23R 以及 10 μL of pre-mixed Anti-Tag1 Eu Cryptate Antibody and Anti-Tag2 d2 reagent。使用不透光覆膜将多孔板避光，室温孵育 2 小时后去除不透光覆膜，使用 HTRF 兼容的检测仪器读取信号值以检测 $IC_{50}$ 值。

1.4 实验数据处理方法

抑制率计算如下:

% inhibition =(Signal cmpd-Signal Ave_PC)/(Signal Ave_VC-Signal Ave_PC)×100。H=Ave (DMSO) ；L= Ave (Guselkumab)

计算化合物的 $IC_{50}$ 值:

利用 Graphpad 中的 log(inhibitor) vs. response -- Variable slope (four parameters)对 HTRF 实验结果数据进行非线性回归拟合，拟合曲线并得出 $IC_{50}$ 值。

Y=Bottom + (Top-Bottom)/(1+10^((Log$IC_{50}$-X)*HillSlope))

X: log of inhibitor concentration; Y: % Inhibition

1.5 实验结果：

| 实施例 | IL23 竞争结合 IL23R $IC_{50}$ (nM) |
|---|---|
| 1 | 1.20 |
| 2 | 0.23 |
| 3 | 1.23 |
| 6 | 1.25 |
| 12 | 1.14 |
| 1-14 | 1.14 |
| 3-14 | 1.09 |
| 4-14 | 1.11 |
| 1-16-1 | 2.73 |
| 3-16-1 | 1.24 |
| 4-16-1 | 1.23 |
| 1-19 | 1.35 |
| 3-19 | 1.13 |
| 4-19 | 1.18 |

1.6 实验结论：本发明的优选实施例化合物与 IL23 竞争结合 IL23R 抑制试验中显示优异的生物活性。

**测试例 2**：本发明化合物与 IL12 竞争结合 IL12Rβ1 实验

2.1 实验目的：测定本发明化合物与 IL12 竞争结合 IL12Rβ1 的效率

2.2 实验仪器和试剂

2.2.1 仪器

| 仪器名称 | 厂家 | 规格型号 |
|---|---|---|
| EnVision | PerkinElmer | ENVISION 2015 |

2.2.2 试剂

| 试剂材料 | 厂家 | 货号 |
|---|---|---|
| IL12/IL12RB1 BINDING ASSAY KITS | PerkinElmer | 64BDIL12PEG |
| White 384-shallow well Microplate | PerkinElmer | 6008280 |

2.3 实验方法：

将本发明化合物在 IL12/IL12RB1 BINDING ASSAY KITS（PerkinElmer Cat# 64BDIL12PEG）中筛选。本发明化合物筛选使用多孔板（适合 HTRF 测定）的形式进行，通常先向多孔板孔中分别加入 2 μl 若干本发明化合物和 KIT 中的 STANDARD SOLUTIONS，所有的孔需要加入 4 μl Tag1-IL12、4 μl Tag2-IL12Rb1 以及 10 μL of pre-mixed Anti-Tag1 Eu Cryptate Antibody and Anti-Tag2 XL665 reagent。使用不透光覆膜将多孔板避光，室温孵育 2 小时后去除不透光覆膜，使用 HTRF 兼容的检测仪器读取信号值以检测 $IC_{50}$ 值。

2.4 实验数据处理方法

抑制率计算如下:

% inhibition =(Signal cmpd-Signal Ave_PC)/(Signal Ave_VC-Signal Ave_PC)×100。H=Ave (DMSO) ；L= Ave (Guselkumab)

计算化合物的 $IC_{50}$ 值:

利用 Graphpad 中的 log(inhibitor) vs. response -- Variable slope (four parameters)对 HTRF 实验结果数据进行非线性回归拟合，拟合曲线并得出 $IC_{50}$ 值。

$Y=Bottom + (Top-Bottom)/(1+10^{((LogIC_{50}-X)*HillSlope)})$

X: log of inhibitor concentration; Y: % Inhibition

2.5 实验结论：

通过以上方案得出本发明所示的化合物在与 IL12 竞争结合 IL12Rβ1 抑制试验中显示出大于 1000nM ( $IC_{50}$ )的生物活性。

**测试例 3**：本发明化合物阻断 hIL23 激活 DB 细胞中 STAT3 磷酸化的实验

3.1 实验目的：在 DB 细胞中测定本发明化合物对于 hIL23 激活 STAT3 磷酸化的抑制活性

3.2 实验仪器和试剂

3.2.1 仪器

| 仪器名称 | 厂家 | 规格型号 |
|---|---|---|
| EnVision | PerkinElmer | ENVISION 2015 |

3.2.2 试剂

| 试剂材料 | 厂家 | 货号 |
|---|---|---|
| DB cell | ATCC | CRL-2289 |
| 胎牛血清（FBS） | GIBCO | 10099-141 |

| | | |
|---|---|---|
| RPMI Medium 1640 | GIBCO | A10491-01 |
| Guselkumab | 武汉科斯坦生物 | CSD00323 |
| Recombinant Human IL-23 Protein | R&D | 1290-IL-010/CF |
| PathScan Phospho-Stat3 (Tyr705) Sandwich ELISA Kit | CST | 7300C |

3.3 实验方法：将上述产生的化合物加入 DB（ATCC Cat#CRL-2289）细胞抑制 rhIL-23 细胞因子的信号转导。化合物筛选使用多孔板（适合 ELISA 测定）的形式进行，通常在上述若干本发明化合物存在的情况下，使用 rhIL-23(0.5nM，R&D SYSTEMS)对 $6.25\times10^6$ 细胞/毫升的 DB 细胞在含 10%FBS 的 RPMI 培养基(Invitrogen)中加以刺激，半小时后使用 50 μL 2×裂解液 (CST)冰上裂解。裂解物使用 PathScan Phospho-Stat3 (Tyr705) Sandwich ELISA Kit（CST Cat#7300C）测定 p-STAT3 含量，以此计算本发明化合物阻断 DB 细胞上 rhIL23 信号转导的活性。

3.4 实验数据处理方法

抑制率计算如下:

Inhibition%=(Ave_H-Sample)/(Ave_H-Ave_L)×100

H=Ave (DMSO) ； L= Ave (Guselkumab)

计算化合物的 $IC_{50}$ 值:

利用 Graphpad 中的 log(inhibitor) vs. response -- Variable slope (four parameters)对 ELISA 实验结果数据进行非线性回归拟合，拟合曲线并得出 $IC_{50}$ 值。

Y=Bottom + (Top-Bottom)/(1+10^((Log$IC_{50}$-X)*HillSlope))

X: log of inhibitor concentration; Y: % Inhibition

3.5 实验结果：

| 实施例 | pStat3 $IC_{50}$ (pM) |
|---|---|
| 1 | 25.0 |
| 2 | 10.0 |
| 3 | 1.4 |
| 12 | 6.0 |
| 1-14 | 1.4 |
| 3-14 | 1.4 |
| 4-14 | 1.6 |
| 1-16-1 | 4.8 |
| 3-16-1 | 8.9 |
| 4-16-1 | 3.6 |
| 1-19 | 0.5 |
| 3-19 | 0.9 |

| | |
|---|---|
| 4-19 | 0.1 |

3.6 实验结论：本发明的优选实施例化合物对于 hIL23 激活 STAT3 磷酸化的抑制试验中显示出优异的抑制活性。

**测试例 4**：大鼠药代动力学测定

4.1. 研究目的：以 SD 大鼠为受试动物，研究实施例化合物口服或 IV 给药在大鼠体内（血浆）的药代动力学行为。

4.2. 试验方案

4.2.1 试验药品：

本发明实施化合物，自制。

4.2.2 试验动物：

SD 大鼠每组 3 只，雄性。上海杰思捷实验动物有限公司，动物生产许可证号(SCXK（沪）2013-0006 N0.311620400001794)。

4.2.3 药物配制：

口服给药药物配制：20%Labrasol

20%Labrasol: 称量 40 ml Labrasol 至 500ml 玻璃瓶，加 PBS 至 200ml，磁力搅拌使其完全溶解，配制成 20%Labrasol。

称取实施例化合物溶于该溶液中，摇匀，超声 5 分钟，得到无色澄清溶液，浓度为 0.5 mg/mL。

静脉给药药物配制：PBS

称取实施例化合物溶于该溶液中，涡旋、超声 5 分钟，过 0.22μm 滤膜，得到无色澄清溶液，浓度为 0.2 mg/mL。

4.2.4 给药：

SD 大鼠每组 3 只，雄性；禁食过夜后分别 PO 给药，剂量为 5 mg/kg，给药体积 10 mL/kg。

SD 大鼠每组 3 只，雄性；禁食一夜后分别 IV 给药，剂量为 1 mg/kg，给药体积 5 mL/kg。

4.2.5 样品采集：

于给药前和给药后 0.083h（IV），0.25h，0.5 h，1.0 h，2.0 h，4.0 h，6.0 h，8.0 h，24.0 h 颈静脉采血 0.2 mL，置于 EDTA-2K 试管中，4℃ 6000 rpm 离心 6min 分离血浆，于-20°C 保存；给药后 4 h 进食。

4.3 样品处理：

1）血浆样品 50 μL 加入 200 μL 乙腈沉淀，混合后 4500rpm 离心 15 分钟。

2）取处理后上清溶液进行 LC/MS/MS 分析待测化合物的浓度，LC/MS/MS 分析仪器：AB Sciex Triple Quad 6500+。

4.4 液相分析：

- 液相条件：Shimadzu LC-30AD 泵
- 色谱柱：HALO 90A PFP 2.7μm 2.1×30mm 移动相：A 液为 5%乙腈水溶液（0.1%甲酸），B 液为

95%乙腈水溶液（0.1%甲酸）

- 流速：0.6 mL/min
- 洗脱时间：0-2.0 分钟，洗脱液如下：

| 时间/分钟 | A 液 | B 液 |
|---|---|---|
| 0.20 | 95% | 5% |
| 1.50 | 5% | 95% |
| 1.70 | 5% | 95% |
| 1.71 | 95% | 5% |
| 2.00 | 95% | 5% |

4.5. 试验结果与分析

药代动力学主要参数用WinNonlin 8.1计算得到。

| 实施例 | 药代实验(IV 给药,1 mg/kg) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 血药浓度 | 曲线面积 | | 半衰期 | 平均滞留时间 | 清除率 |
| | $C_0$(ng/mL) | $AUC_{0-t}$ (ng/mL×h) | $AUC_{0-\infty}$ (ng/mL×h) | $t_{1/2}$(h) | MRT(h) | CL(mL/min/kg) |
| PN-235 | 4292 | 2617 | 2671 | 0.7 | 0.9 | 6.2 |
| 1 | 10268 | 45367 | 46708 | 4.9 | 6.1 | 0.35 |
| 1-16-1 | 12648 | 46149 | 47609 | 5.0 | 6.2 | 0.35 |
| 3-16-1 | 15062 | 41550 | 42565 | 4.7 | 5.4 | 0.39 |
| 4-16-1 | 17405 | 51530 | 53332 | 5.1 | 6.3 | 0.31 |

4.6 实验结论：

数据显示在大鼠药代动力学评价实验中，本发明的优选实施例化合物相对于 PN-235 具有更强的血药浓度和更高的暴露量。

**测试例 5**：比格犬药代动力学测定

5.1. 研究目的：以比格犬为受试动物，研究实施例化合物 IV 给药在大鼠体内（血浆）的药代动力学行为。

5.2. 试验方案

5.2.1 试验药品：

本发明实施化合物，自制。

5.2.2 试验动物：

比格犬每组 3 只，雄性，仪征安立卯生物科技有限公司。

5.2.3 药物配制：

静脉给药药物配制：PBS

称取实施例化合物溶于该溶液中，涡旋、超声 5 分钟，过 0.22μm 滤膜，得到无色澄清溶液，浓度为 0.1 mg/mL。

5.2.4 给药：

比格犬每组 3 只，雄性；禁食一夜后分别 IV 给药，剂量为 0.2 mg/kg，给药体积 2 mL/kg。

5.2.5 样品采集：

于给药前和给药后 0.083h（IV），0.25 h，0.5 h ，1 h，2 h，4 h，6 h，8 h ，24 h，48 h，72 h，96 h，120 h，144 h，168 h 前肢静脉采血 0.5mL，置于 EDTA-2K 试管中，4℃ 6000 rpm 离心 6min 分离血浆，于-20°C 保存；给药后 4 h 进食。

5.3 样品处理：

1）血浆样品 50 μL 加入 200 μL 乙腈沉淀，混合后 4500rpm 离心 15 分钟。

2）取处理后上清溶液进行 LC/MS/MS 分析待测化合物的浓度，LC/MS/MS 分析仪器：AB Sciex Triple Quad 6500+。

5.4 液相分析：

- 液相条件：ExionLC
- 色谱柱：ACQUITYTM Premier Peptide CSH C18 130A 1.7μm 2.1*100 mm Column 流动相：A 液为 5%乙腈水溶液（0.1%甲酸），B 液为 95%乙腈水溶液（0.1%甲酸）
- 流速：0.6 mL/min
- 洗脱时间：0-2.0 分钟，洗脱液如下：

| 时间 (min) | 流 速 (mL/min) | A (%) | B (%) |
|---|---|---|---|
| 0.00 | 0.6 | 95.0 | 5.0 |
| 0.20 | 0.6 | 95.0 | 5.0 |
| 2.00 | 0.6 | 5.0 | 95.0 |
| 2.50 | 0.6 | 5.0 | 95.0 |
| 2.60 | 0.6 | 80.0 | 20.0 |
| 2.80 | 0.6 | 5.0 | 95.0 |
| 2.90 | 0.6 | 95.0 | 5.0 |
| 3.50 | 0.6 | 95.0 | 5.0 |

5.5. 试验结果与分析

药代动力学主要参数用WinNonlin 8.1计算得到。

| 实施例 | 药代实验(IV 给药,0.2 mg/kg) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 血药浓度 | 曲线面积 | 半衰期 | 平均滞留时间 | 清除率 |

| | $C_0$(ng/mL) | $AUC_{0-t}$ (ng/mL×h) | $AUC_{0-\infty}$ (ng/mL×h) | $t_{1/2}$(h) | MRT(h) | CL(mL/min/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| PN-235 | 1251 | 2016 | 2031 | 4.1 | 3.1 | 1.68 |
| 1-16-1 | 2749 | 68798 | 76403 | 53.8 | 66.9 | 0.04 |
| 4-16-1 | 3190 | 96145 | 112150 | 91.7 | 80.6 | 0.03 |

5.6 实验结论：

数据显示在犬药代动力学评价实验中，本发明的优选实施例化合物相对于 PN-235 具有更强的血药浓度和更高的暴露量。

**测试例 6**：本发明化合物溶解度测定

6.1 研究目的：研究化合物在PBS中的溶解度。

6.2 实验仪器和试剂：

| 仪器和试剂 | 型号 | 来源 |
|---|---|---|
| pH7.4等渗液（PBS） | / | 实验室配制 |
| 电子天平 | 2.1g/XPR2 | 梅特勒托利多 |
| 移液器 | 2-20μL | Eppendorf |
| 涡旋混合器 | LAB DANCER | IKA |
| 超声波清洗器 | SL2200LHC | 上海科导超声仪器有限公司 |

6.3 实验方法：

称取2mg左右的化合物，加入适量的PBS溶液，超声10s，溶清。室温放置过夜未见析出。

6.4 实验结果与结论：

在室温条件下，本发明的优选实施例化合物呈现出优异的溶解度优势，如实施例1-16-1溶解度在39.58 ~59.38mg/mL；实施例4-16-1溶解度大于124.75mg/mL。

**测试例 7**： 本发明化合物在胃肠道模拟液中的稳定性

7.1 研究目的：研究实施例化合物在胃肠道模拟液中的稳定性。

7.2 实验仪器和试剂：

7.2.1 试剂

乙腈（F22M4L201，Fisher）、三氟乙酸（17110655，TEDIA）、氢氧化钠（20170616，国药）、胰酶（20220811，沪试）、胃蛋白酶（20220909，沪试）、磷酸二氢钾（20210528，沃凯）、氯化钠（20200105，沪试）、盐酸（20181203，国药）、无水磷酸二氢钠（20200602，沪试）、3F Powder（FFF-0723-B，Biorelevant）、冰醋酸（20181112，国药）。

7.2.2 仪器

高效液相色谱仪（1260，Agilent）、电子天平（MCE-C，Sartorius）、pH计（Five Easy Plus，METTLER TOLEDO）、移液器（500-5000μL，100-1000μL，10-100μL，Eppendorf）、超声波清洗器（SK5200LHC，上海科导超声仪器有限公司）。

7.3 实验方法：

7.3.1 流动相和胃肠道模拟液的配制

0.05%三氟乙酸水溶液：量取 2L 的纯化水，加 1mL 的三氟乙酸，混匀后超声即得。

0.05%三氟乙酸乙腈溶液：量取 2L 的乙腈，加 1mL 的三氟乙酸，混匀后超声即得。

SIF（E）：称取 69.48mg 磷酸二氢钾、108.49mg 胰酶，加纯化水 10mL，混匀后，用 1N 氢氧化钠水溶液（约 210μL）调节 pH 至 6.76。

SGF（E）：称取 21.64mg 氯化钠、33.70mg 胃蛋白酶，加纯化水 10mL，加盐酸 20μL，用 1N 氢氧化钠水溶液（约 120μL）调节 pH 至 1.98。

FaSSIF：称取 0.42g 氢氧化钠、3.43g 无水磷酸二氢钠、6.19g 氯化钠，加纯化水 1L，超声使其溶解后用 1N 氢氧化钠或 1N 盐酸水溶液调节 pH 至 6.50，加入 2.24g 3F Powder，搅拌至溶解即得。

FeSSIF：称取 4.04g 氢氧化钠、8.65g 冰醋酸、11.87g 氯化钠，加纯化水 1L，超声使其溶解后用 1N 氢氧化钠或 1N 盐酸水溶液调节 pH 至 5.0，加入 11.2g 3F Powder，搅拌至溶解即得。

7.3.2 稳定性测定

称取 2mg 左右化合物，加入适量纯化水，超声使其溶清，作为化合物的 Stock 溶液。取 Stock 溶液 50μL，分别加入 950μLSGF、FaSSIF、FeSSIF、SGF（E）和 SIF（E），混匀后，考察不同的时间点的样品稳定性。

7.4 液相分析：

液相色谱条件如下：

| | | | |
|---|---|---|---|
| 流动相 | A：0.05%三氟乙酸水溶液；B：0.05%三氟乙酸乙腈溶液 | | |
| 色谱柱 | Waters XBridge C18（4.6*150mm，3.5μm） | | |
| 柱温 | 40℃ | | |
| 样品盘温度 | 37℃ | | |
| 流速 | 1.0mL/min | | |
| 波长 | 210nm | | |
| 进样体积 | 20μL | | |
| 梯度方法 | 时间（min） | A% | B% |
| | 0.00 | 90.0 | 10.0 |
| | 9.00 | 10.0 | 90.0 |
| | 11.00 | 10.0 | 90.0 |
| | 11.50 | 90.0 | 10.0 |
| | 15.00 | 90.0 | 10.0 |

7.5 试验结果与分析

本发明的优选实施例化合物在胃肠模拟液中具有优异的稳定性。

**测试例 8：** 本发明化合物在肝微粒体中体外代谢稳定性考察

8.1 研究目的：研究本实施例化合物在小鼠、大鼠、犬和人肝微粒体中的I相及部分II相代谢稳定性情况。

8.2 实验试剂

8.2.1 试剂

本发明化合物（自制）、肝微粒体（H0610/M1000/D1000，Xenotech）、磷酸缓冲液（Lot#SLBS7904和Lot#SLBR3106V，pH 7.4， Gibco）、NADPH（还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸，上海毕得医药科技股份有限公司）、UDPGA（Sigma），Alamethicin（Lot#GR3226732-1，百灵威）、甲醇（Merck）、乙腈（Merck）、DMSO（Sigma）、7-Hydroxycoumarin（百灵威）。

8.2.2 药物配置

受试化合物用DMSO配置为10 mM储备液，于-20 于C冰箱保存待用。

8.3 实验步骤

1）配制缓冲液

取1M的$K_2HPO_4 \cdot PO_2O$ (AR 级) 4.01 mL和1M的 $KH_2PO_4$ (AR级) 0.99 mL，超纯水溶解并定容至50 mL，配制终浓度为100 mM的磷酸缓冲液。

2）配制化合物工作液

化合物的工作液配制：将1 μL化合物储备溶液加入999 μL 磷酸缓冲液，终浓度为 10 μM。根据化合物性质，可适当调整配置比例，调整最终浓度。

3）配制肝微粒体工作液

156.3 μL 20 mg/mL 微粒体，用100 mM磷酸缓冲液稀释到5 mL，混匀，终浓度为0.625 mg/mL。

4）准备NADPH和UDPGA

称取33.3 mg的NADPH和25.8 mg的UDPGA，加入2 mL 的100 mM磷酸缓冲液，终浓度均为20 mM。

5）准备打孔剂（Alamethicin）

称取1 mg Alamethicin加入200 μL甲醇，配制成 5 mg/mL的溶液。再从该溶液中取出10 μL，加入990 μL磷酸缓冲液中（pH 7.4），终浓度为50 μg/mL。

6）配制反应终止液

用乙腈稀释内标做终止液，储存在2-8稀释冰箱。

7）孵育流程

在96孔板中依次加入400 μL配制好的肝微粒体、25 μL化合物工作液（10 μM）和25 μL Alamethicin（50 μg/mL），于37 μg 预孵育10 min。随后加入50 μL 配制好的NADPH/UDPGA启动反应，37 应，孵育，反应体系的总体积为 500 μL，各成分最终含量：本实施例化合物（0.5 μM）、肝微粒体（0.5 mg/mL）、NADPH（1 mM）、UDPGA（1 mM）、Alamethicin（2.5 μg/mL）。

分别在0, 5, 15, 30, 60和 120 min时间点取出50 μL，加入200 μL含有内标的冷终止液终止样品反应，3500 rpm 离心10min，取上清液进LC-MS/MS分析。

8.4 生物分析

1) 色谱条件

仪器:岛津 LC-20 AD

色谱柱：Phenomenex Gemiu® C18（50*4.6 mm，5 μm 粒径）

流动相：A：乙腈，B: 0.1 % 甲酸溶液

冲洗梯度：0.2~1.6min 5%A 到 95%A，3.0~3.1min 95%A 到 5%A

流速：1.0ml/min

运行时间：4.0min

进样体积：5 μL

2) 质谱条件

仪器: API4000 型液相色谱质谱联用仪，AB Sciex 公司

离子源：电喷雾离子化源（ESI）

干燥气体：N2，温度 500 体 C

电喷雾电压：5000V

检测方式：正离子检测

扫描方式：反应监测（MRM）方式

扫描时间：0.8401s

8.5 数据处理

将原始数据按照以下公式进行计算：

剩余率%= 任一时间点化合物与内标的峰面积比值/0 分钟时化合物与内标的峰面积比值×钟时化

$T_{1/2}$=0.693/$K_e$，其中 $K_e$ 表示消除速率常数。

通过 $K_e$ 计算体外肝微粒体固有清除率（$CL_{int}$）和肝固有清除率（$CL_{int,liver}$）

$CL_{int}$ = 0.693 / $T_{1/2}$ /微粒体蛋白含量（孵育时微粒体浓度 mg/mL）

$CL_{int,liver}$ = $CL_{int}$ nt 肝脏中微粒体蛋白量（mg/g）××肝重体重比

根据充分搅拌模型（well-stirred model），推算体内肝清除率（CL）

CL = （$CL_{int,liver}$ nt,liver 率）/（$CL_{int,liver}$ nt,liver 率），其中 fu 表示血液中的游离分数，默认为 1。

公式中的参数见下表

| 种属 | 体重（kg） | 肝血流量（mL/min/kg） | 微粒体蛋白量（mg/g liver weight） | 肝重体重比（g/kg body weight） |
|---|---|---|---|---|
| 小鼠 | 0.025 | 90 | 45 | 60 |
| 大鼠 | 0.25 | 72 | 61 | 40 |
| 猴 | 5 | 44 | 45 | 32 |
| 犬 | 12 | 55 | 55 | 32 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 人 | 70 | 20 | 40 | 24 |

8.6 实验结论：

结果表明，本发明的优选实施例化合物在各种属肝微粒体中均呈现稳定的代谢效果。

**测试例 9**：本发明化合物在肝/肾组织匀浆中的代谢稳定性

9.1 实验目的：用于检测本实施例化合物在大鼠、犬、猴肝/肾组织中的代谢稳定性。

9.2 实验试剂

大鼠肝组织匀浆（药明康德）、猴肝组织匀浆（药明康德）、犬肝组织匀浆（药明康德）、人肝组织匀浆（BioreclamationIVT，S06585）、大鼠肾组织匀浆（药明康德）、猴肾组织匀浆（药明康德）、犬肾组织匀浆（药明康德）、人肾组织匀浆（BioreclamationIVT，S06585）。

9.3 实验步骤

1）溶液配制

受试化合物工作溶液：用 995μL 二甲基亚砜（工作溶液浓度：50μM，100%DMSO）稀释 5μL 化合物储备溶液（10mM 二甲基亚亚砜溶液）；

对照地洛瑞林（Deslorelin）工作溶液：用 495μL 二甲基亚砜（工作溶液浓度：100μM，100%DMSO）稀释 5μL Deslorelin 储备溶液（10mM 在二甲基亚亚砜（DMSO）中）；

对照司美格鲁肽（Semagulide）工作溶液：用 450μL 二甲基亚砜（工作溶液浓度：100μM，100%DMSO）稀释 50μL Semaguliide 储备溶液（1mM 二甲基亚亚砜溶液）。

2）孵育过程

实验前，将合并的冷冻肝/肾匀浆在 37℃的水浴中解冻。

将 98μL/孔的空白肝/肾匀浆等分试样加入所有 96 孔反应板中。（空白，T0、T10、T30、T60 和 T120）

将 2μL/孔的工作溶液（50 或 100μM）等分试样加入除空白外的所有反应板中。（T0、T10、T30、T60 和 T120）

将所有含有化合物和肝/肾匀浆混合物的反应板在 37°C 水浴中孵育。

将反应板在 37°C 下孵育，并启动计时器。

孵育结束时，将 100μL 4%$H_3PO_4$ 与 100μL 样品混合，然后加入 800μL 停止溶液（以甲苯磺丁脲和拉贝洛尔为内标的甲醇）以沉淀蛋白质。充分混合。

将每个板密封并摇动 20 分钟

摇动后，将每个板在 4000rpm 和 4°C 下离心 20 分钟

离心后，将 150μL 上清液从每个反应板转移到其相应的生物酰化板中。

在 LC-MS/MS 分析之前，密封每个生物分析板并振荡 10 分钟。

9.4 数据处理

试验化合物在肝/肾脏匀浆中孵育后的剩余百分比使用以下方程式计算：

% 剩余= 100 x (PAR 孵育时间点 / PAR 在 T0 时间)，其中 PAR 是分析物与内标物（is）的峰面

积比，孵育时间点为 T0（0 分钟）、Tn（n=0、10、30、60、120 分钟）。

9.5 实验结论

结果表明，本发明的优选实施例化合物在肝组织和肾组织匀浆中具有优异的稳定性。

**测试例 10**：本发明化合物在血浆中的稳定性考察

10.1 研究目的：研究本实施例化合物在小鼠、大鼠、犬、人血浆中的稳定性情况。

10.2 实验仪器

离心机(Eppendorf 5804R/5424R)、涡旋仪( IKA VORTEX GENIUS 3)、移液枪(Eppendorf 10~100μL, Eppendorf 100~1000μL， RAININ 0.5~10μL)、水浴锅(上海恒科)。

10.3 实验步骤

1）溶液配制

血浆制备：动物或人全血采集后，装入含有抗凝剂的试管中，3500 rpm 离心 10 min ,收集上层淡黄色血浆；

10 μM 受试化合物工作溶液：用 DMSO 配置储备液，用 100 mM 磷酸缓冲液配置工作液；

10 μM 阳性对照工作溶液：

普鲁卡因：称取 2.36 mg 普鲁卡因，并用 1 mL DMSO 稀释成 10 mM 储备液；移取 10 μL of 10 mM 储备液 至 1 mL 100 mM 磷酸缓冲液中，终浓度为 100 μM；

依那普利：称取 4.93 mg 依那普利，并用 1 mL DMSO 稀释成 10 mM 储备液；移取 10 μL of 10 mM 储备液 至 1 mL 100 mM 磷酸缓冲液中，终浓度为 100 μM。

2）孵育过程

在 96 孔板中，依次加入 285 μL 血浆、15 μL 10 μM 化合物（受试化合物、阳性对照），37℃ 孵育。

在 0、15、30、60、90、120 min(取点可微调)时分别取出 40 μL，加入 160 μL 含有内标的乙腈终止液。

离心(3500rpm,10min)后取 50 μL 上清液，加入 50 μL $DDH_2O$ 稀释后 LC-MS/MS 进样。

10.4 生物分析

1）色谱条件

仪器:岛津 LC-20 AD

色谱柱：Phenomenex Gemiu ® $C_{18}$（50*4.6 mm ，5 μm 粒径）

流动相：A：乙腈，B: 0.1% 甲酸溶液

冲洗梯度：0~8 min：5% A→95% A，2.0~2.1 min：90%A→5% A

流速：0.8 mL/min

运行时间：5.0 min

进样体积：5 μL

2）质谱条件

仪器: API4000 型液相色谱质谱联用仪，美国 AB 公司

离子源：电喷雾离子化源（ESI）

干燥气体：N2，温度 500℃

电喷雾电压：5500V

检测方式：正离子检测

扫描方式：反应监测（MRM）方式

扫描时间：0.1s

10.5 实验结果和数据处理

所有计算均使用 Microsoft Excel 进行。峰面积比由提取的离子色谱图确定。

通过以下方程计算在每个时间点残留的化合物百分比：

剩余百分比 t 小时（%）=峰面积比 t 小时/峰面积比 0 小时′时′比

式中，峰面积比 t hr 为对照化合物和试验化合物在 t min 时的峰面积比；

斜率值 k 通过母体药物剩余百分比与孵育时间曲线的自然对数的线性回归确定。

体外半衰期（体外 $t_{1/2}$）由斜率值确定：

体外 $t_{1/2}$=-（0.693/k）

| 实施例 | 4h 剩余率% | | | | $t_{1/2}$ (h) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 人 | 大鼠 | 小鼠 | 犬 | 人 | 大鼠 | 小鼠 | 犬 |
| 1 | 94.29 | 98.65 | 93.76 | 99.66 | 64.63 | 75.72 | 31.96 | 148.36 |
| 1-16-1 | 94.81 | 103.76 | 103.59 | 90.47 | 41.28 | 603.43 | 2005.26 | 75.50 |
| 4-16-1 | 96.56 | 98.72 | 113.80 | 101.32 | 94.50 | 74.87 | ∞ | ∞ |

10.6 实验结论：

本发明的优选实施例化合物在小鼠、大鼠、犬、人血浆中均呈现出优异的稳定性。

**测试例 11**：本发明化合物在 IL23 诱导大鼠耳炎模型中的体内药效学研究

11.1 实验目的：评价化合物在 IL23 诱导大鼠耳炎模型中的体内药效。

11.2 实验仪器与试剂

11.2.1 实验仪器

冰箱（BCD-268TN，Haier）、生物安全柜（BSC-1300II A2，上海博讯实业有限公司医疗设备厂）、超净工作台（CJ-2F，苏州市冯氏实验动物设备有限公司）、电动移液助吸器（Easypet 3，Eppendorf）、恒温水浴锅（HWS-12，上海一恒科学）、超声波清洗器（115F0032，上海科导）、纯水仪（Pacific TII，Thermo）、磁力搅拌器（08-2G，驰久）、电子天平（CPA2202S，赛多利斯）、电子天平（BSA2202S-CW，赛多利斯）、超声波细胞粉碎机（JY92-IIN，宁波新芝）、千分尺（MDC-25PX，三丰）。

11.2.2 实验试剂

IL-23 Protein, Rat, Recombinant（CT045-R08H，Sino Biological）、PBS（10010-049，gibco）、促渗剂、异氟烷（R510-22-10，瑞沃德）、4%组织细胞固定液（AR-0211，鼎国）。

11.3 实验步骤

11.3.1 动物采购

SD 大鼠，6-8 周，雄性，购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司。

11.3.2 耳炎模型建立

a, 动物适应一周后，用记号笔标记尾号，动物进行称重后，按照体重随机分组；

b, 造模前一天（即 D-1），按实验设计及分组对动物进行灌胃给药操作；

c, rrIL-23 用 PBS 稀释至 50μg/ml 浓度，分装至 1ml 离心管，-80℃储存备用；

d, 造模第一天（即 D0），按实验设计及分组对动物进行灌胃给药操作，半小时后用异氟烷麻醉大鼠，测量右耳初始厚度后，向右耳皮内注射 IL-23（1μg，20μL）或 20μL PBS；

e, 造模第二天（即 D1），按实验设计及分组对动物进行灌胃给药操作，半小时后用异氟烷麻醉大鼠，测量右耳初始厚度后，向右耳皮内注射 IL-23（1μg，20μL）或 20μL PBS；

f, 造模第三天（即 D2），按实验设计及分组对动物进行灌胃给药操作，半小时后用异氟烷麻醉大鼠，测量右耳初始厚度后，向右耳皮内注射 IL-23（1μg，20μL）或 20μL PBS；

g, 造模第四天（即 D3），按实验设计及分组对动物进行灌胃给药操作，半小时后用异氟烷麻醉大鼠，测量右耳初始厚度后，向右耳皮内注射 IL-23（1μg，20μL）或 20μL PBS；

h, 实验第五天（即 D4），测量最终右耳厚度。按实验设计及分组对动物进行灌胃给药操作，1h 后动物安乐死，取血及耳组织样本。耳朵分两份，一份速冻，用于炎症因子 mRNA 检测；另一份用 4% 组织细胞固定液固定做组织学处理和分析（HE 染色）；血浆用于 PK 检测。

11.4 数据处理：

a, 各组动物每天的耳厚度减去初始耳厚度（耳增厚），与 Model 组（Vehicle）进行比较。

b, 实验最后一天 Day4-Day0 耳厚的结果用 Graphpad prism 9 作图分析。运用 One-way ANOVA Dunnett 检验进行耳厚变化的组间差异分析，$p<0.05$ 认为有显著性差异。耳厚抑制率(%)=[1-(给药组平均值/模型组平均值)]×100%。

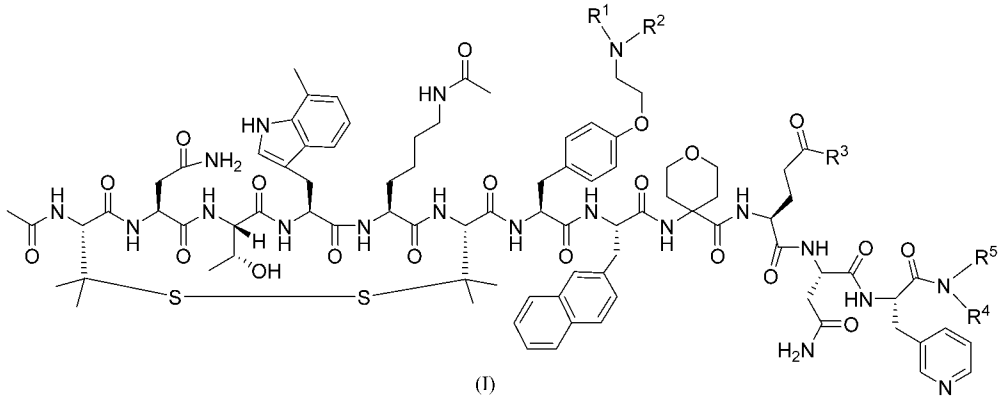
11.5 实验结果：

| 实施例 | Day 4 抑制率，10 mg/kg |
|---|---|
| PN-235 (BID) | 55.35% |
| 1 (QD) | 51.22% |
| 1-16-1 (QD) | 70.77% |
| 4-16-1 (QD) | 56.60% |

11.6 实验结论：在 IL23 诱导大鼠耳炎模型中，本发明的优选实施例化合物能有效抑制耳增厚，其在一天一次给药方式下比 PN-235 一天两次给药的抑制耳增厚效果还要显著，实现延长给药周期的目的。

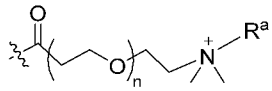
# 权利要求

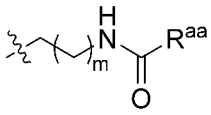
1. 一种通式(Ⅰ)所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐：

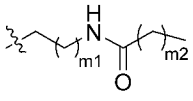
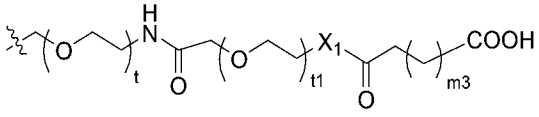


(I)

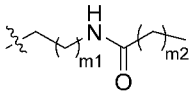
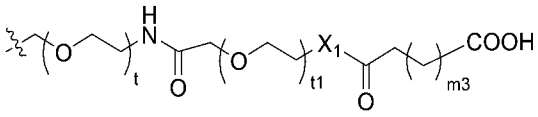
其中：

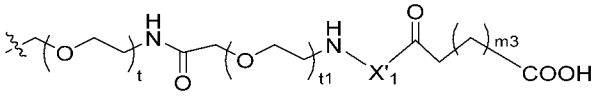
$R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^a$ 选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^{aa}$ 选自烷基，， 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

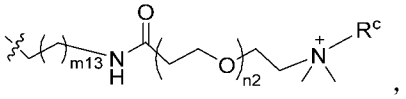
优选地，$R^{aa}$ 选自烷基，，，

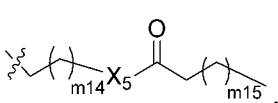
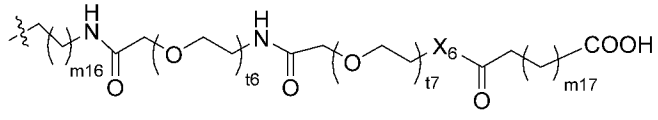
 或氨基酸；

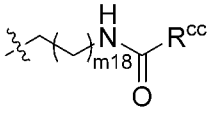
$X_1$ 选自氨基酸；

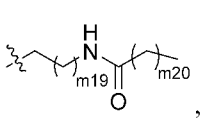
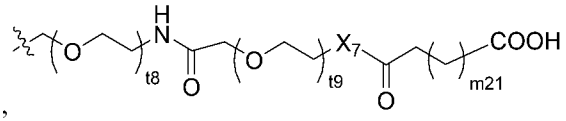
$X'_1$ 选自氨基酸；

$R^3$ 选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

$R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

， 或氨基酸；

$R^c$选自H，烷基，或氨基酸；

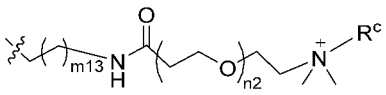
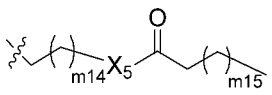
$R^{cc}$选自烷基，，或氨基酸；

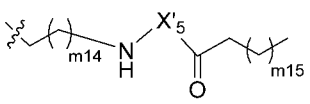
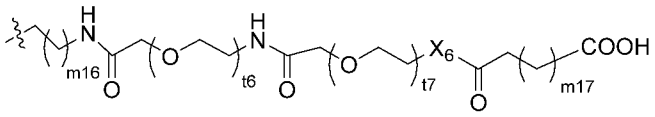
$X_5$选自氨基酸；

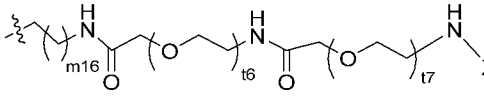
$X_6$选自氨基酸；

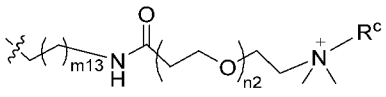
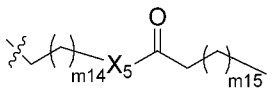
$X_7$选自氨基酸；

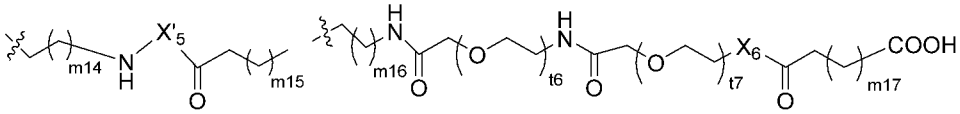
优选地，$R^3$选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$或氨基酸；

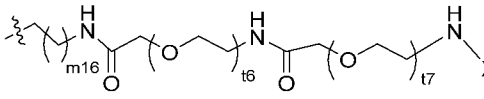
$R^6$选自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

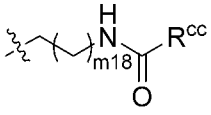
，，

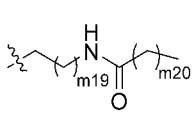
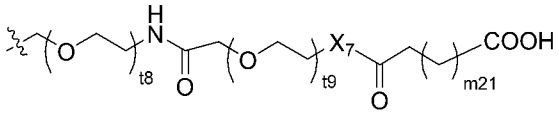
或氨基酸；

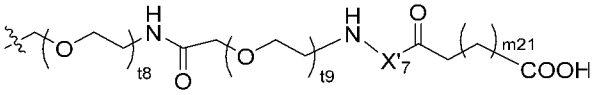
$R^7$选自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

，

或氨基酸；

$R^c$选自H，烷基，或氨基酸；

$R^{cc}$选自烷基，，，

或氨基酸；

$X_5$选自氨基酸；

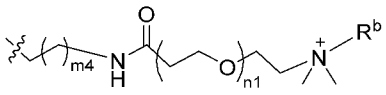
$X'_5$选自氨基酸；

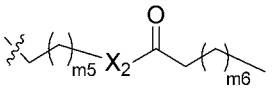
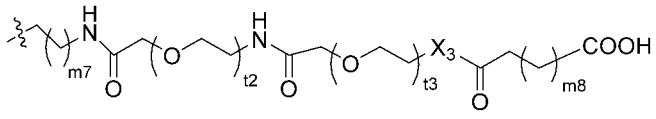
$X_6$选自氨基酸；

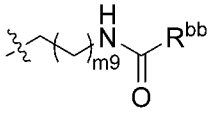
$X'_6$选自氨基酸；

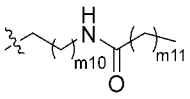
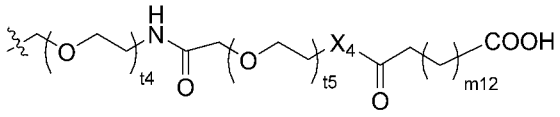
$X_7$选自氨基酸；

$X'_7$选自氨基酸；

$R^4$和$R^5$各自独立地选自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，或氨基酸；

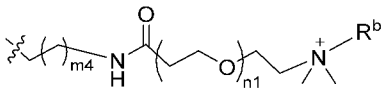
$R^b$选自H，烷基，或氨基酸；

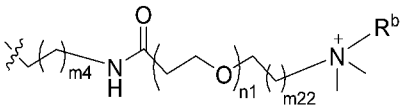
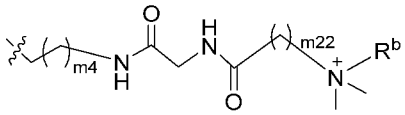
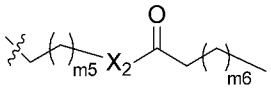
$R^{bb}$选自烷基，，或氨基酸；

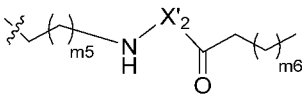
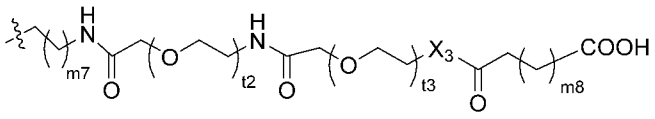
$X_2$选自氨基酸；

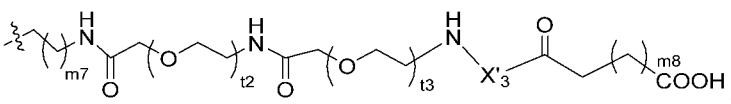
$X_3$选自氨基酸；

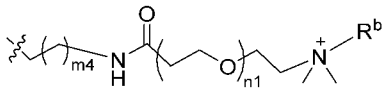
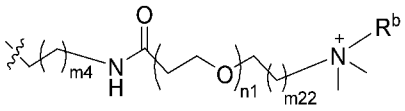
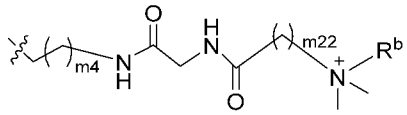
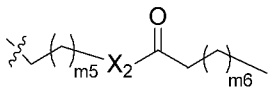
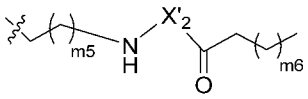
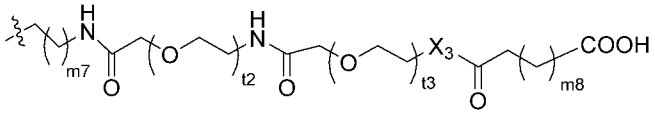
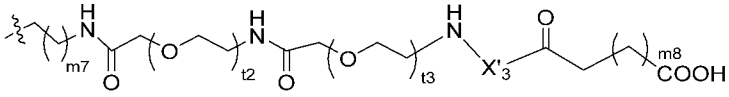
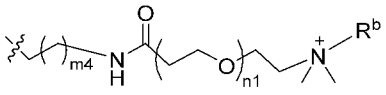
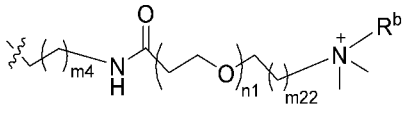
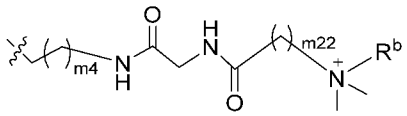
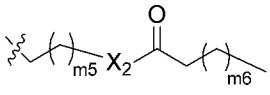
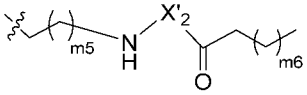
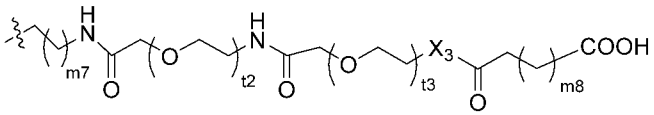
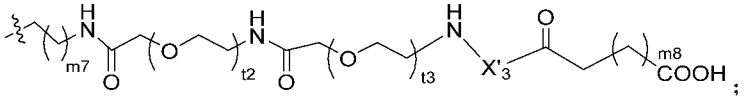
$X_4$选自氨基酸；

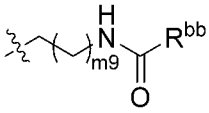
优选地，$R^4$选自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，，，

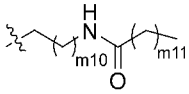
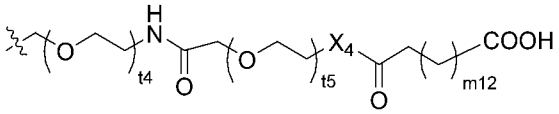
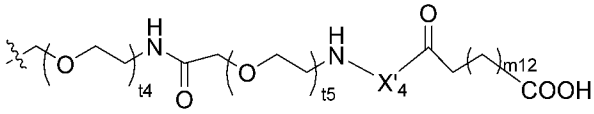
，，

或氨基酸；

$R^5$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，，或氨基酸；优选地，选自，，，，，，；



$R^b$ 选自 H，烷基，或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$ 选自烷基，，，或氨基酸；

$X_2$ 选自氨基酸；

$X'_2$ 选自氨基酸；

$X_3$ 选自氨基酸；

$X'_3$ 选自氨基酸；

$X_4$ 选自氨基酸；

$X'_4$ 选自氨基酸；

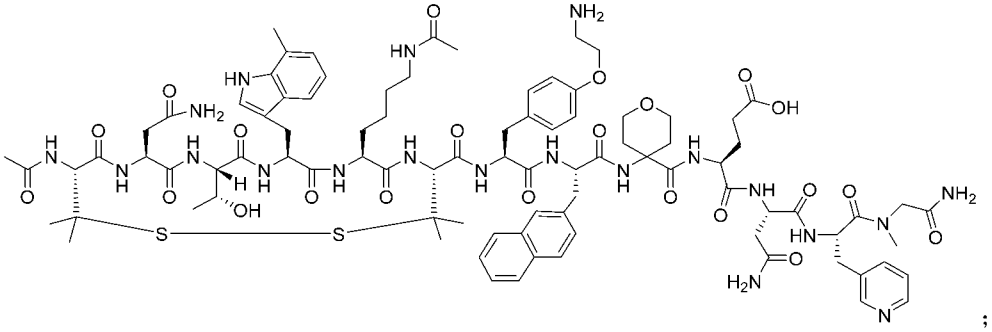
n~n2 各自独立地选自 0-12 的整数；

t~t9 各自独立地选自 0-12 的整数；

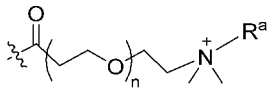
m~m21 各自独立地选自 0-24 的整数；

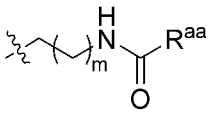
m22 选自 0-24 的整数；

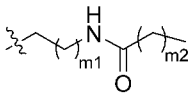
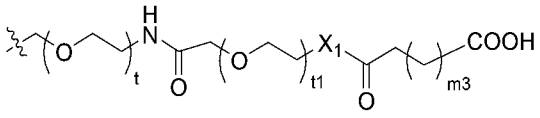
所述化合物不为


；

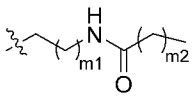
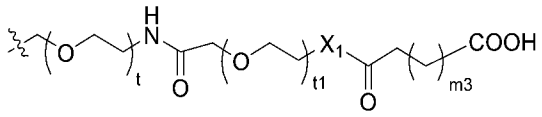
优选地，

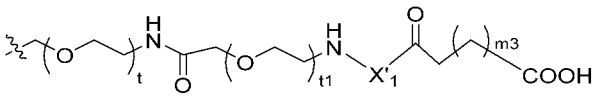
$R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^a$ 选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^{aa}$ 选自烷基，， 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

优选地，$R^{aa}$ 选自烷基，，，

 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

$X'_1$ 选自氨基酸；

$R^3$ 选自羟基；

$R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$；

n 选自 0-12 的整数；

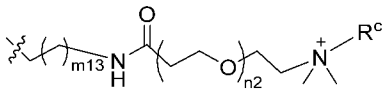
t~t1 各自独立地选自 0-12 的整数；

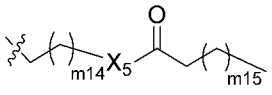
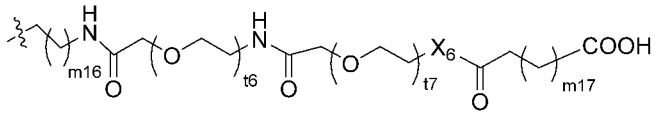
m~m3 各自独立地选自 0-24 的整数；

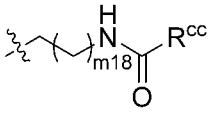
或，

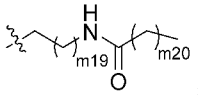
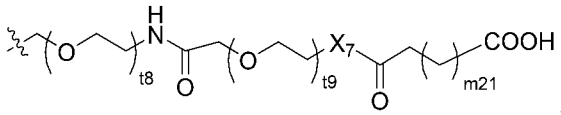
$R^1$ 和 $R^2$ 选自 H；

$R^3$ 选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

$R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，或氨基酸；

$R^c$ 选自 H，烷基，或氨基酸；

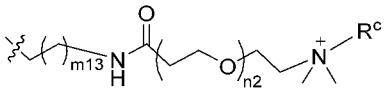
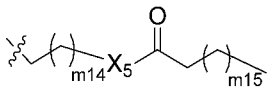
$R^{cc}$ 选自烷基，，或氨基酸；

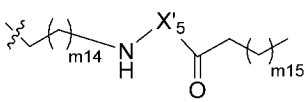
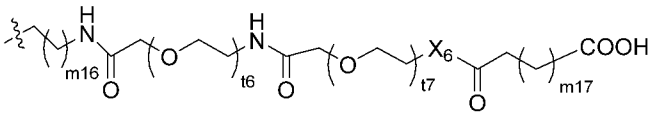
$X_5$ 选自氨基酸；

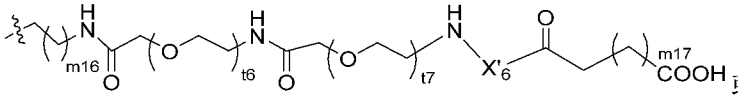
$X_6$ 选自氨基酸；

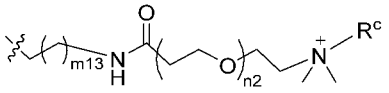
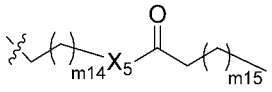
$X_7$ 选自氨基酸；

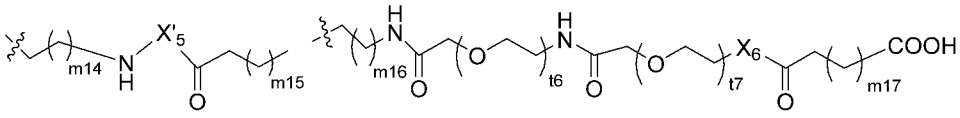
优选地，$R^3$ 选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

$R^6$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

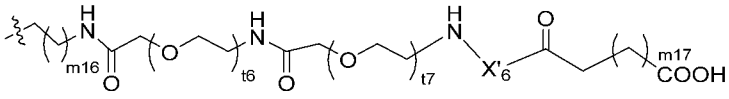
，，

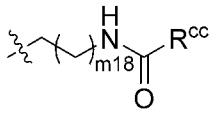
或氨基酸；

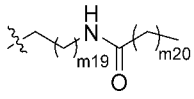
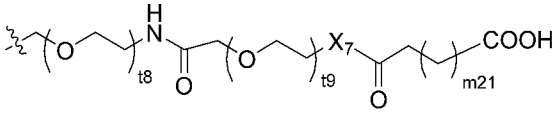
$R^7$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

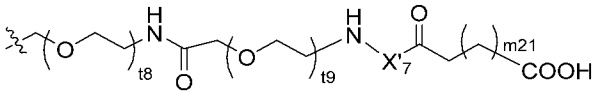


，


或氨基酸；

$R^c$ 选自 H，烷基，或氨基酸；

$R^{cc}$ 选自烷基，，，


或氨基酸；

$X_5$ 选自氨基酸；

$X'_5$ 选自氨基酸；

$X_6$ 选自氨基酸；

$X'_6$ 选自氨基酸；

$X_7$ 选自氨基酸；

$X'_7$ 选自氨基酸；

$R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$；

n2 选自 0-12 的整数；

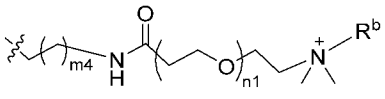
t6~t9 各自独立地选自 0-12 的整数；

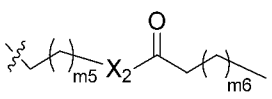
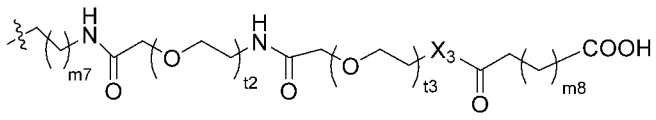
m13~m21 各自独立地选自 0-24 的整数；

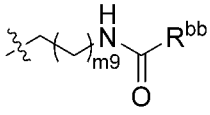
或，

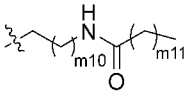
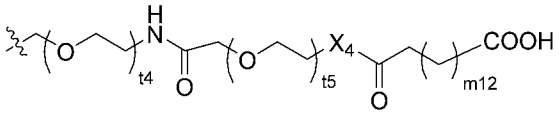
$R^1$ 和 $R^2$ 选自 H；

$R^3$ 选自羟基；

$R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，
或氨基酸；

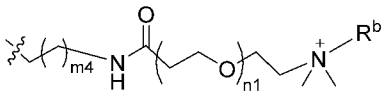
$R^b$选自H，烷基， 或氨基酸；

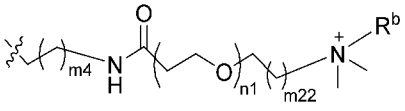
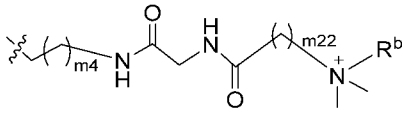
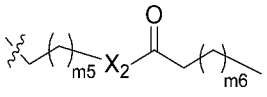
$R^{bb}$选自烷基，， 或氨基酸；

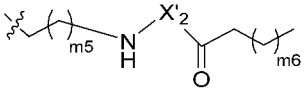
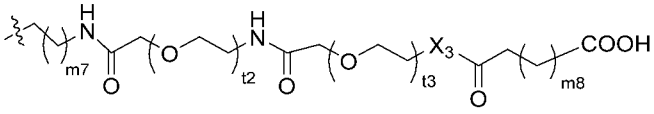
$X_2$选自氨基酸；

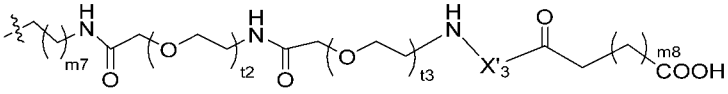
$X_3$选自氨基酸；

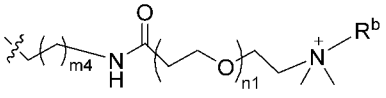
$X_4$选自氨基酸；

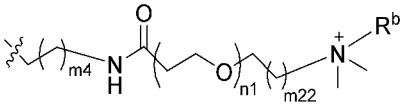
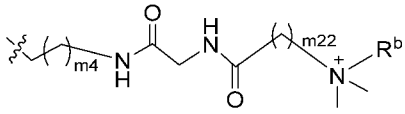
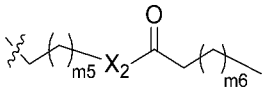
优选地，$R^4$选自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

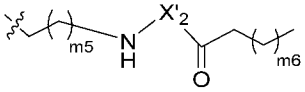
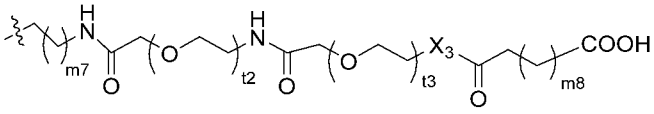
，，，

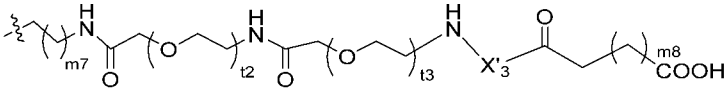
，，

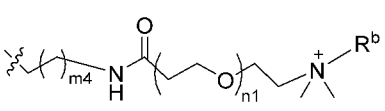
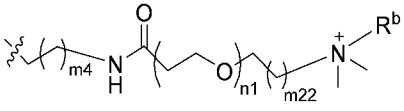
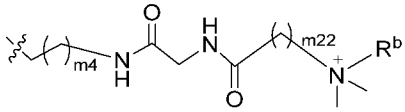
或氨基酸；

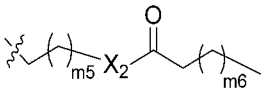
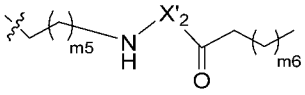
$R^5$选自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

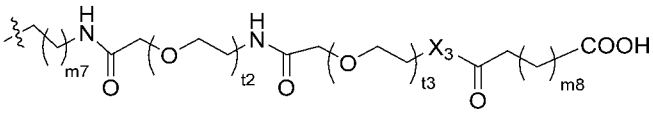
，，，

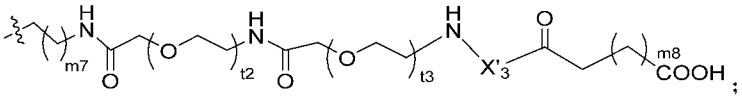
，，

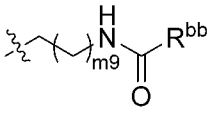
或氨基酸；优选地，选自

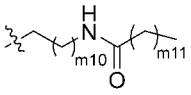
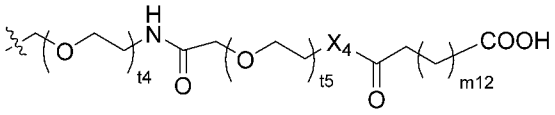
，，，

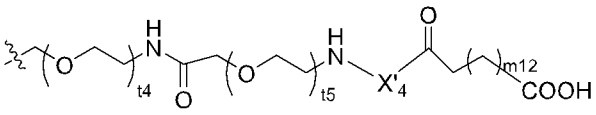

，，

，

；

$R^b$选自 H，烷基，或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$选自烷基，，，

或氨基酸；

$X_2$选自氨基酸；

$X'_2$选自氨基酸；

$X_3$选自氨基酸；

$X'_3$选自氨基酸；

$X_4$选自氨基酸；

$X'_4$选自氨基酸；

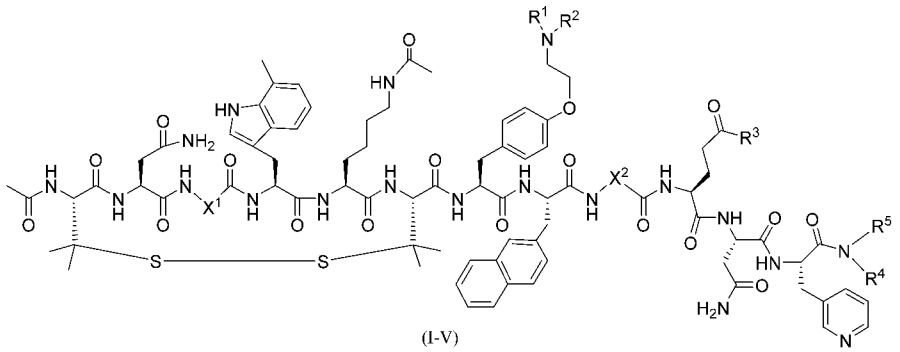
n1 选自 0-12 的整数；

t2~t5 各自独立地选自 0-12 的整数；

m4~m12 各自独立地选自 0-24 的整数；

m22 选自 0-24 的整数。

2. 一种通式( I-V )所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐：

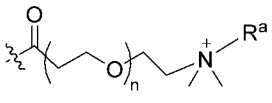


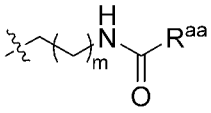
(I-V)

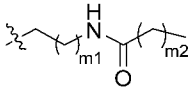
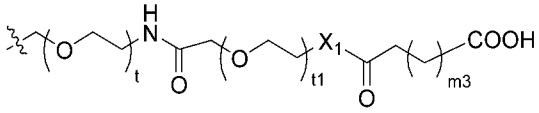
其中：

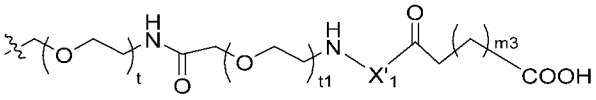
$X^1$ 选自氨基酸；

$X^2$ 选自氨基酸；

$R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自 H，烷基，或氨基酸；

$R^a$ 选自 H，烷基，或氨基酸；

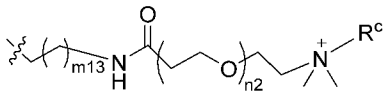
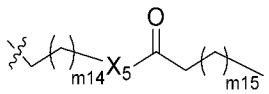
$R^{aa}$ 选自烷基，，，

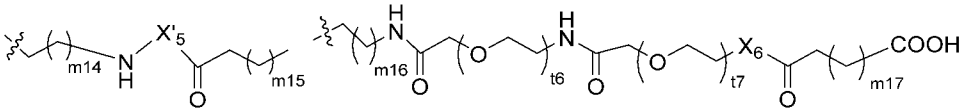
或氨基酸；

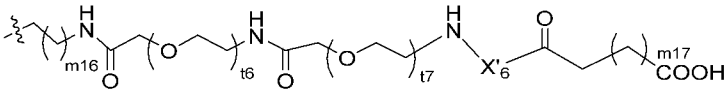
$X_1$ 选自氨基酸；

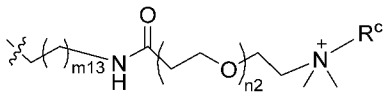
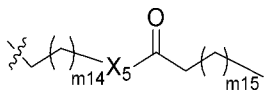
$X'_1$ 选自氨基酸；

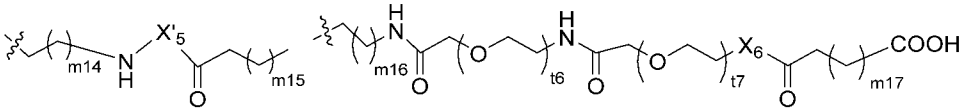
$R^3$ 选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

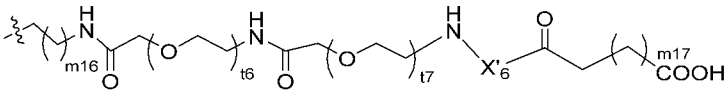
$R^6$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

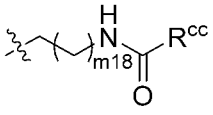
，

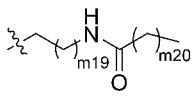
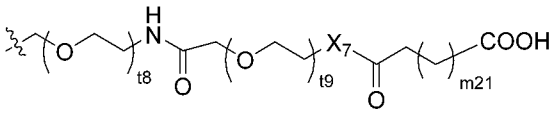
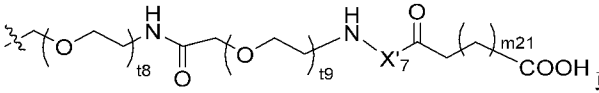
或氨基酸；

$R^7$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

，

或氨基酸；

$R^c$选自H，烷基，或氨基酸；

$R^{cc}$选自烷基，，，或氨基酸；

$X_5$选自氨基酸；

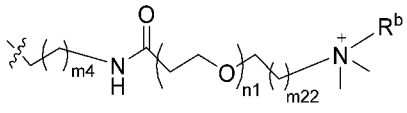
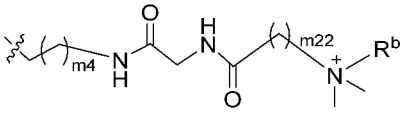
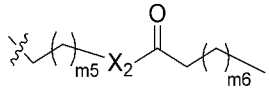
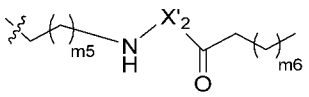
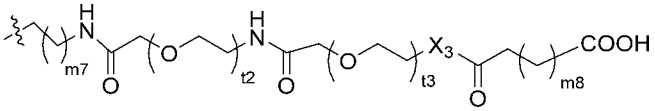
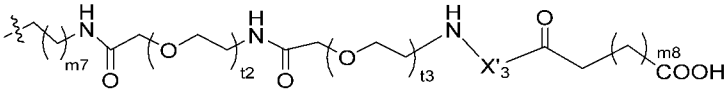
$X'_5$选自氨基酸；

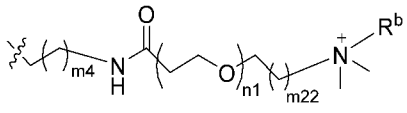
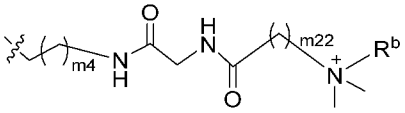
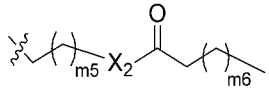
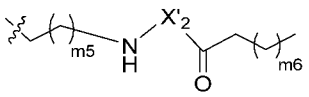
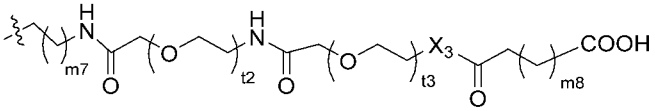
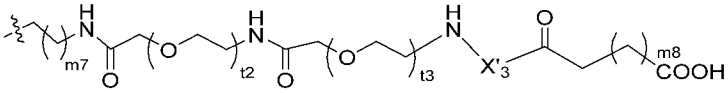
$X_6$选自氨基酸；

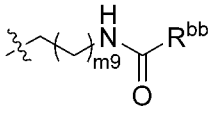
$X'_6$选自氨基酸；

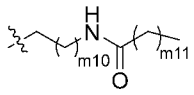
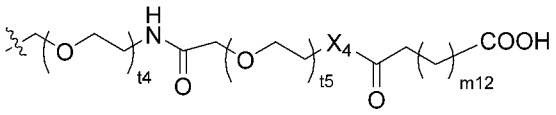
$X_7$选自氨基酸；

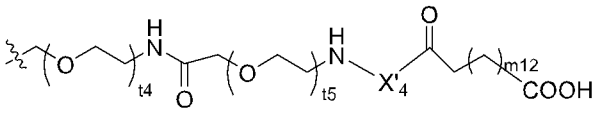
$X'_7$选自氨基酸；

$R^4$选自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，或氨基酸；

$R^5$选自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，或氨基酸；

$R^b$选自 H，烷基， 或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$ 选自烷基，，，

或氨基酸；

$X_2$选自氨基酸；

$X'_2$选自氨基酸；

$X_3$选自氨基酸；

$X'_3$选自氨基酸；

$X_4$选自氨基酸；

$X'_4$选自氨基酸；

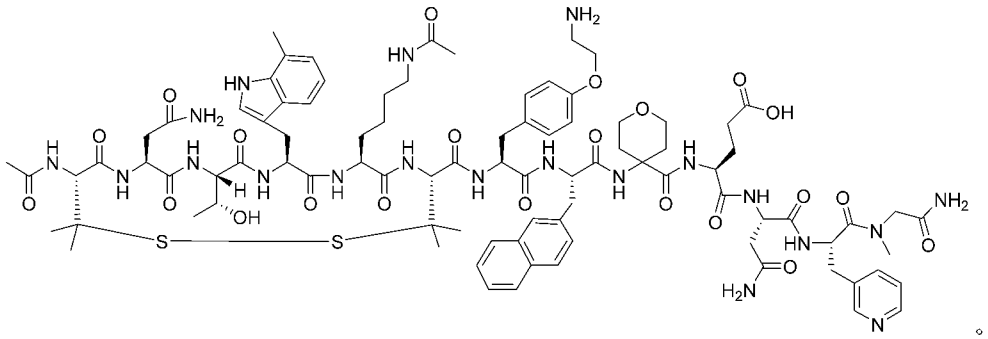
n~n2 各自独立地选自 0-12 的整数；

t~t9 各自独立地选自 0-12 的整数；

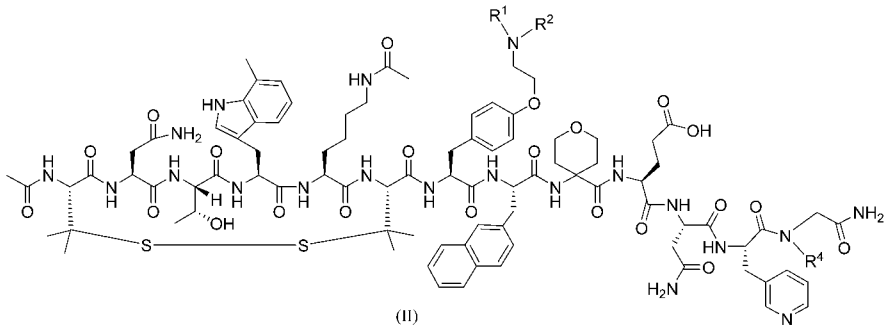
m~m21 各自独立地选自 0-24 的整数；

m22 选自 0-24 的整数；

所述化合物不为

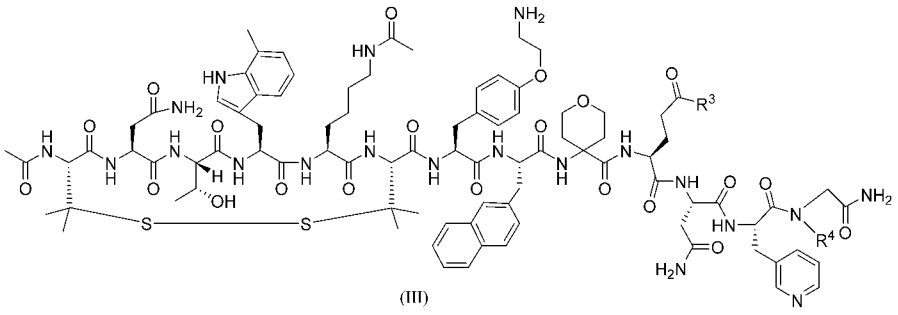
。

3. 根据权利要求 1-2 任一所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，所述化合物进一步如通式（II）或（III）所示：



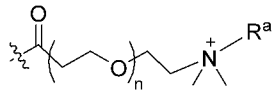
(II)

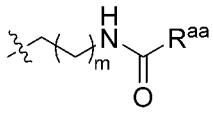
或

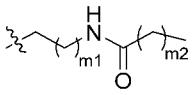
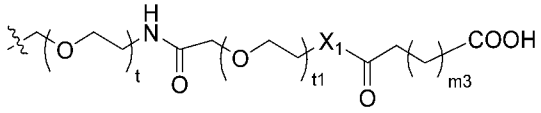


(III)

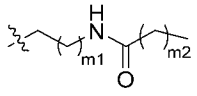
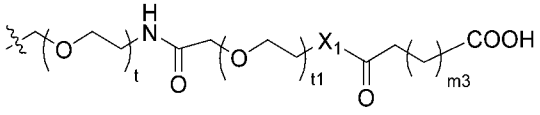
其中：

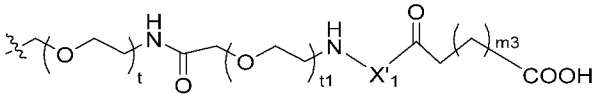
$R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^a$ 选自 H，烷基， 或氨基酸；

$R^{aa}$ 选自烷基，， 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

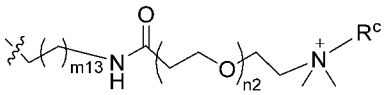
优选地，$R^{aa}$ 选自烷基，，，

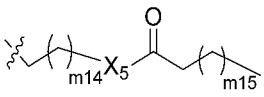
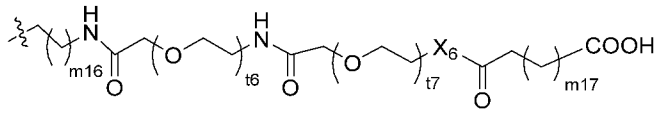
 或氨基酸；

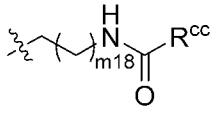
$X_1$ 选自氨基酸；

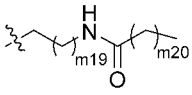
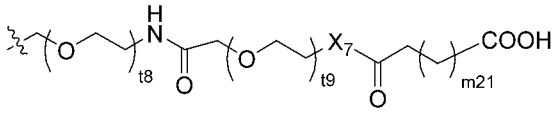
$X'_1$ 选自氨基酸；

$R^3$ 选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

$R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，或氨基酸；

$R^c$ 选自 H，烷基，或氨基酸；

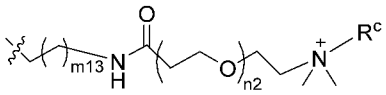
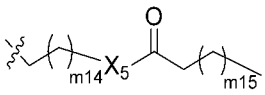
$R^{cc}$ 选自烷基，，或氨基酸；

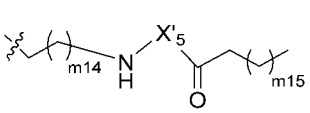
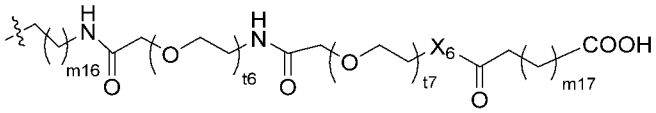
$X_5$ 选自氨基酸；

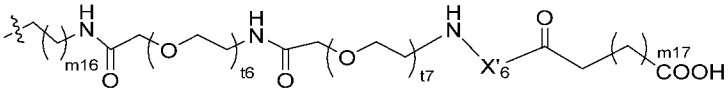
$X_6$ 选自氨基酸；

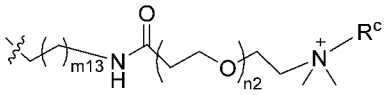
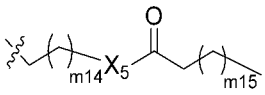
$X_7$ 选自氨基酸；

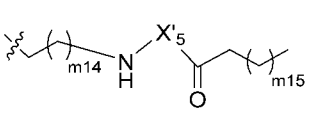
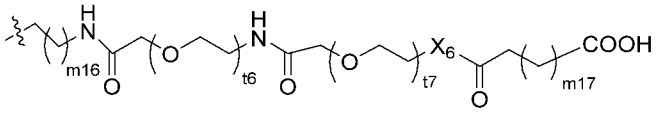
优选地，$R^3$ 选自羟基，烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

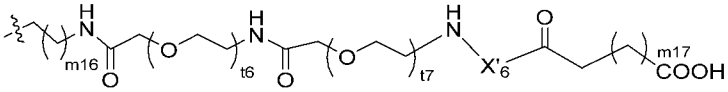
$R^6$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

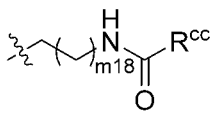
，

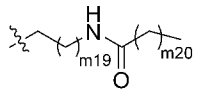
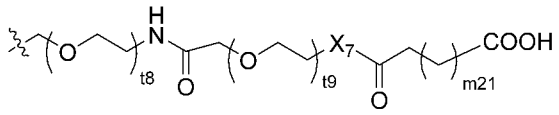
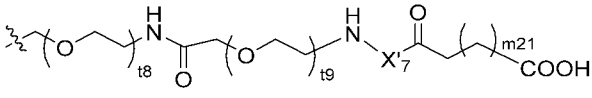
或氨基酸；

$R^7$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

，

或氨基酸；

或氨基酸；

$R^{cc}$ 选自烷基，，，或氨基酸；

$X_5$选自氨基酸；

$X'_5$选自氨基酸；

$X_6$选自氨基酸；

$X'_6$选自氨基酸；

$X_7$选自氨基酸；

$X'_7$选自氨基酸；

$R^4$选自 H 或烷基；

n 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t1 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

m 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m1 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m2 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m3 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

n2 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t6 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t7 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t8 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t9 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

m13 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m14 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m15 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m16 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，

22，23 或 24；

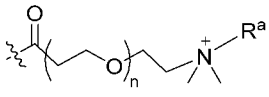
m17 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

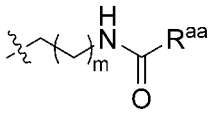
m18 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

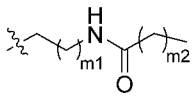
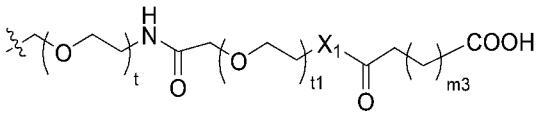
m19 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m20 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

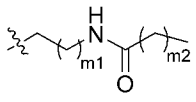
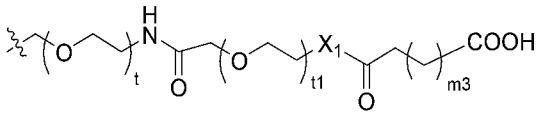
m21 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24。

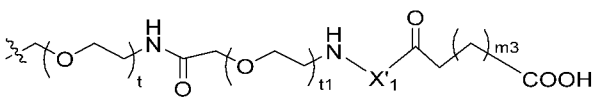
4. 根据权利要求 1-3 任一所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，$R^1$ 选自 H，$C_{1-6}$ 烷基， 或氨基酸；

$R^a$ 选自 H，$C_{1-6}$ 烷基， 或氨基酸；

$R^{aa}$ 选自 $C_{1-6}$ 烷基，， 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

优选地，$R^{aa}$ 选自 $C_{1-6}$ 烷基，，，

 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

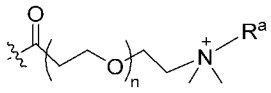
$X'_1$ 选自氨基酸；

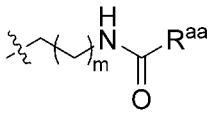
n 选自 0-12 的整数；

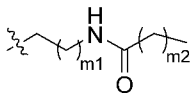
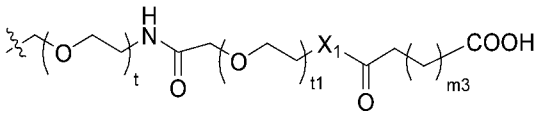
t~t1 各自独立地选自 0-12 的整数；

m~m3 各自独立地选自 0-24 的整数；

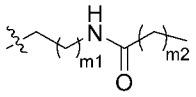
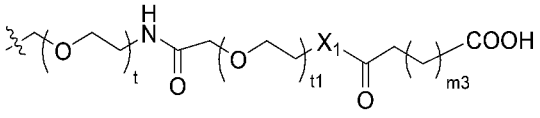
和/或，

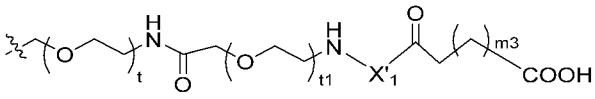
$R^2$ 选自 H，$C_{1-6}$ 烷基， 或氨基酸；

$R^a$ 选自 H，$C_{1-6}$ 烷基， 或氨基酸；

$R^{aa}$ 选自 $C_{1-6}$ 烷基，， 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

优选地，$R^{aa}$ 选自 $C_{1-6}$ 烷基，，，

 或氨基酸；

$X_1$ 选自氨基酸；

$X'_1$ 选自氨基酸；

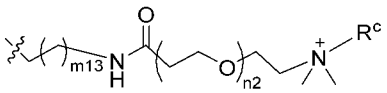
n 选自 0-12 的整数；

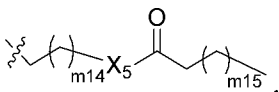
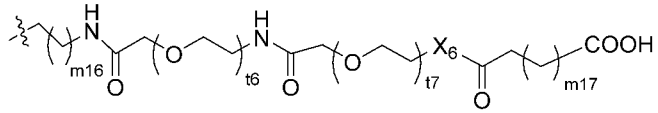
t~t1 各自独立地选自 0-12 的整数；

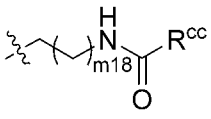
m~m3 各自独立地选自 0-24 的整数；

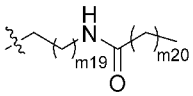
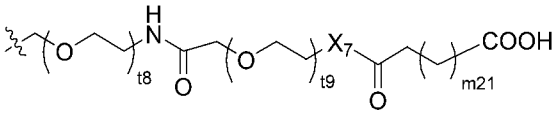
和/或，

$R^3$ 选自羟基，$C_{1-6}$ 烷基，$-NR^6R^7$ 或氨基酸；

$R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

， 或氨基酸；

$R^c$ 选自 H，烷基， 或氨基酸；

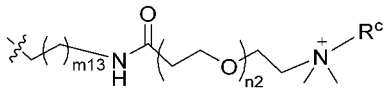
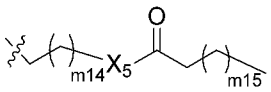
$R^{cc}$ 选自烷基，， 或氨基酸；

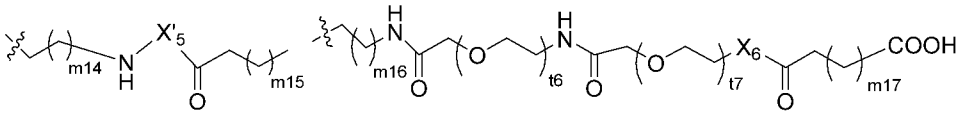
$X_5$ 选自氨基酸；

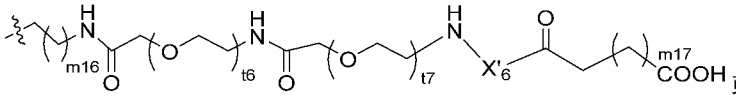
$X_6$选自氨基酸；

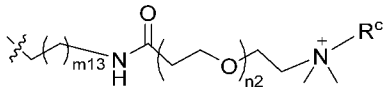
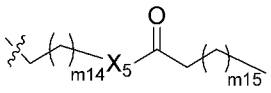
$X_7$选自氨基酸；

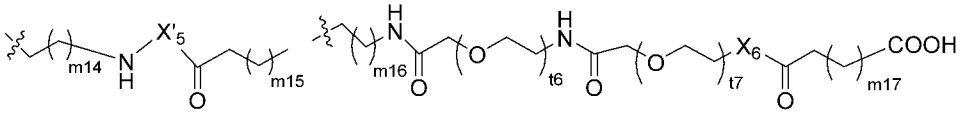
优选地，$R^3$选自羟基，$C_{1-6}$烷基，$-NR^6R^7$或氨基酸；

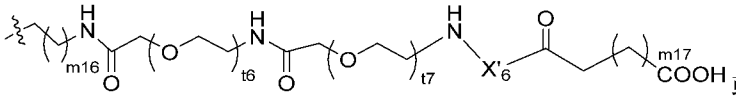
$R^6$选自 H，$C_{1-6}$烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

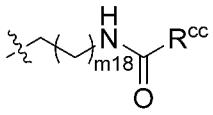
，

或氨基酸；

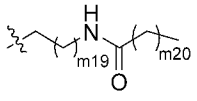
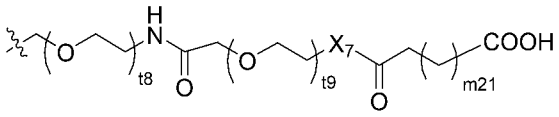
$R^7$选自 H，$C_{1-6}$烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

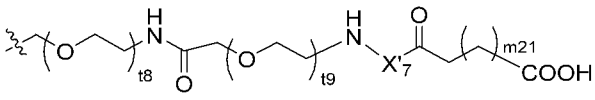
，

或氨基酸；



$R^c$选自 H，$C_{1-6}$烷基，或氨基酸；

$R^{cc}$选自$C_{1-6}$烷基，，，

或氨基酸；

$X_5$选自氨基酸；

$X'_5$选自氨基酸；

$X_6$选自氨基酸；

$X'_6$选自氨基酸；

$X_7$选自氨基酸；

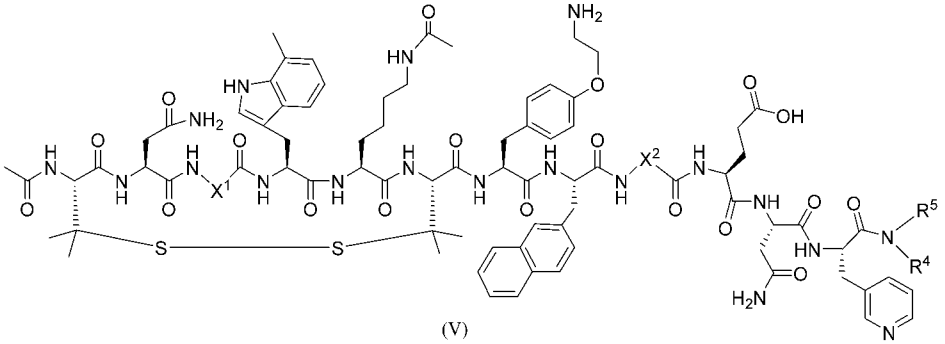
$X'_7$选自氨基酸；

n2 选自 0-12 的整数；

t6~t9 各自独立地选自 0-12 的整数；

m13~m21 各自独立地选自 0-24 的整数。

5. 根据权利要求 2 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，所述化合物进一步如通式( V )所示：

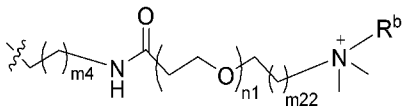
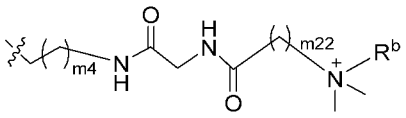
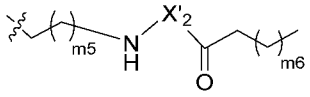
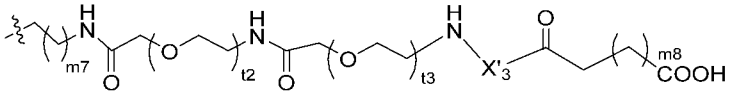


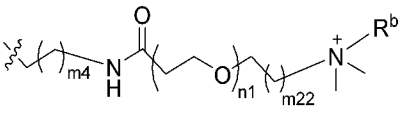
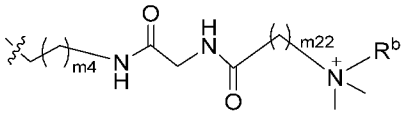
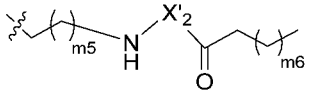
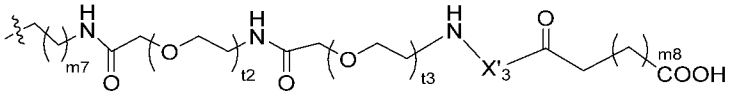
(V)

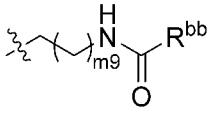
其中：

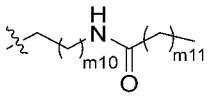
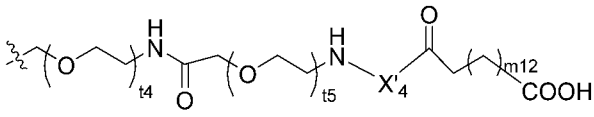
$X^1$ 选自氨基酸；

$X^2$ 选自氨基酸；

$R^4$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，或氨基酸；

$R^5$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，或氨基酸；

$R^b$选自 H，烷基，或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$选自烷基，，或氨基酸；

$X'_2$选自氨基酸；

$X'_3$选自氨基酸；

$X_4$选自氨基酸；

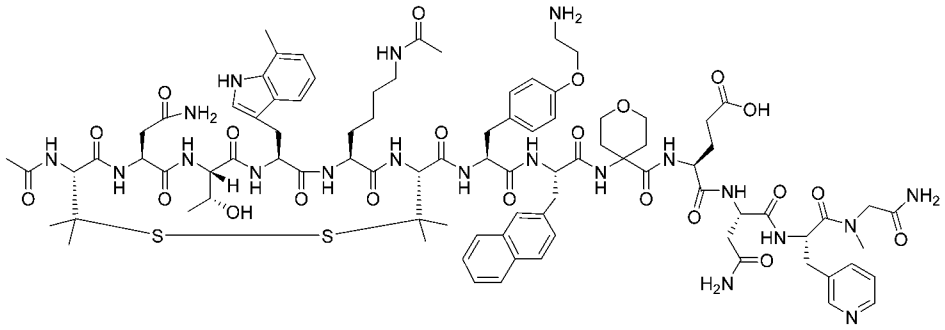
n1 选自 0-12 的整数；

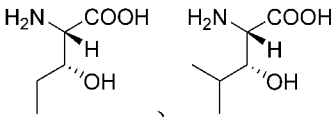
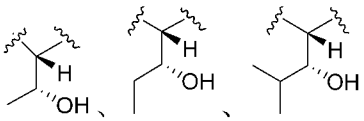
t2~t5 各自独立地选自 0-12 的整数；

m4~m12 各自独立地选自 0-24 的整数；

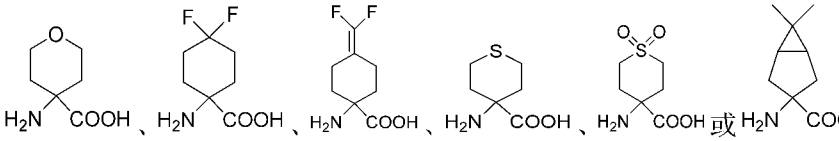
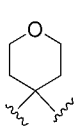
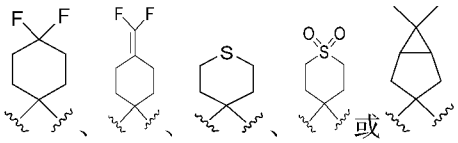
m22 选自 0-12 的整数；

所述化合物不为

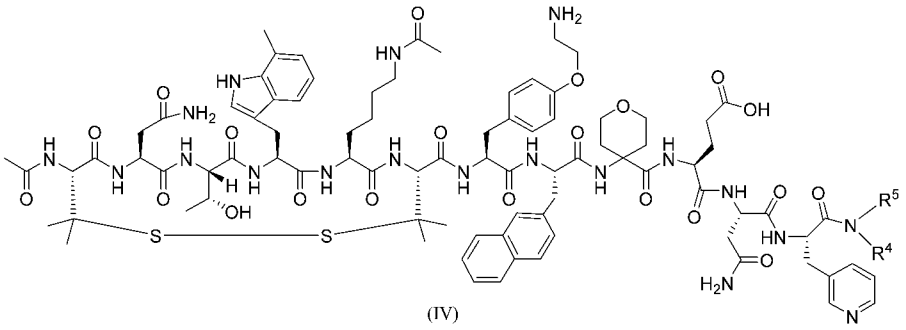
。

6. 根据权利要求 2 或 5 任一所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，$X^1$选自选自 Thr、；优选为；

和/或，

$X^2$选自；优选为、。

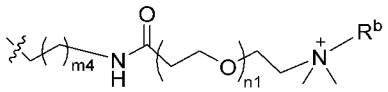
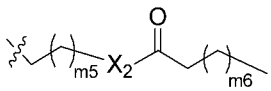
7. 根据权利要求 1-2 或 5 任一所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，所述化合物进一步如通式（IV）所示：

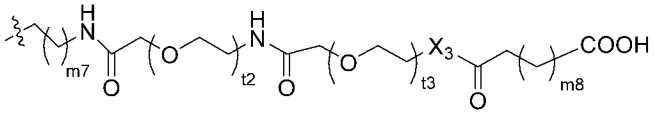


(IV)

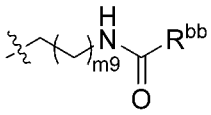
其中：

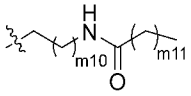
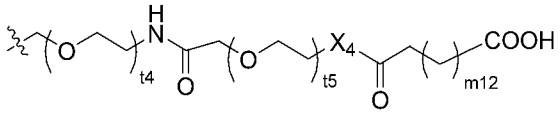
$R^4$ 选自 H 或烷基；

$R^5$ 选自烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，



或氨基酸；

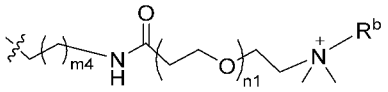
$R^b$ 选自 H，烷基，或氨基酸；

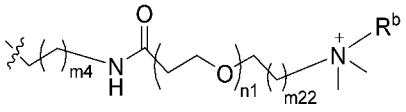
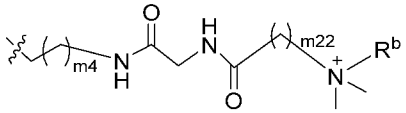
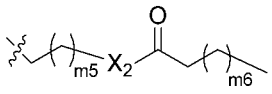
$R^{bb}$ 选自烷基，，或氨基酸；

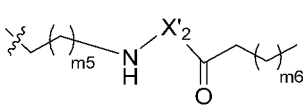
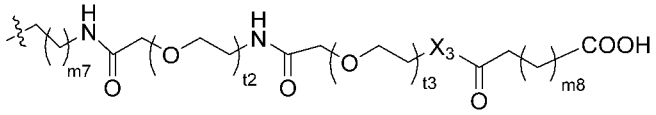
$X_2$ 选自氨基酸；

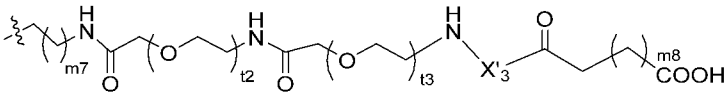
$X_3$ 选自氨基酸；

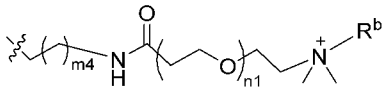
$X_4$ 选自氨基酸；

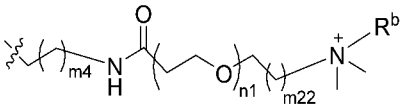
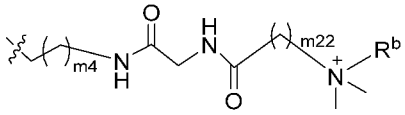
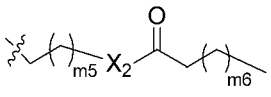
优选地，$R^4$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

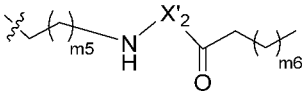
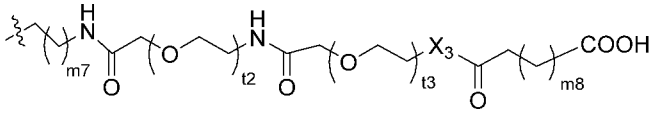
，，，

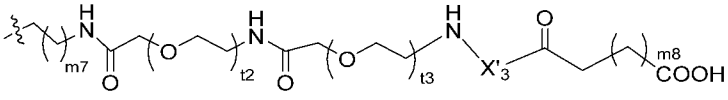
，，

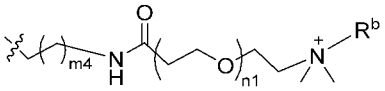
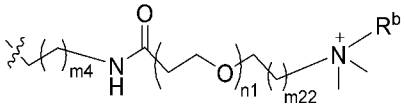
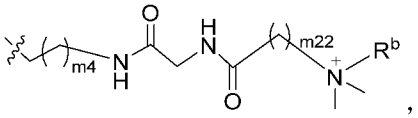
或氨基酸；

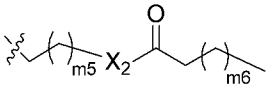
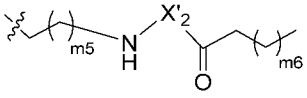
$R^5$ 选自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

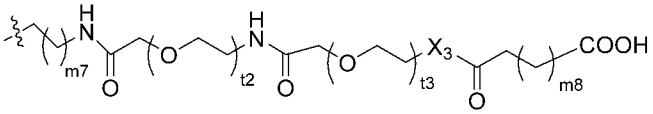
，，，

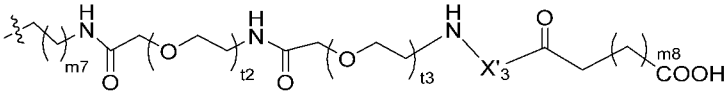
，，

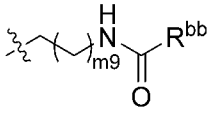
或氨基酸；优选地，选自

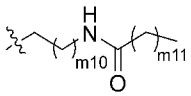
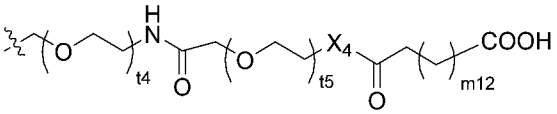
，，，

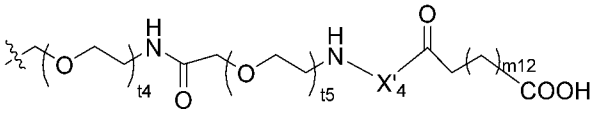
，，

，

；

$R^b$ 选自 H，烷基，或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$ 选自烷基，，，

或氨基酸；

$X_2$选自氨基酸；

$X'_2$选自氨基酸；

$X_3$选自氨基酸；

$X'_3$选自氨基酸；

$X_4$选自氨基酸；

$X'_4$选自氨基酸；

n1 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t2 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t3 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t4 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t5 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

m4 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m5 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m6 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m7 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m8 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m9 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

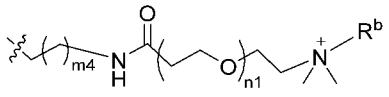
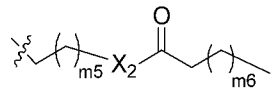
m10 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

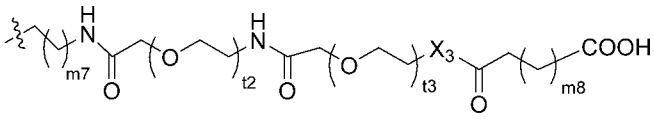
m11 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

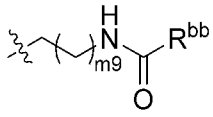
m12 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

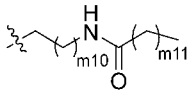
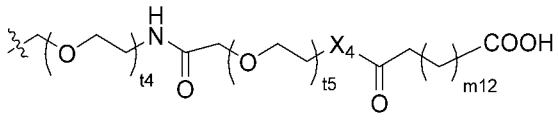
m22 选自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24。

8. 根据权利要求 1-2 或 4-7 任一所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在

于，$R^4$选自 H，$C_{1-6}$烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

或氨基酸；

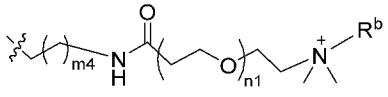
$R^b$选自 H，$C_{1-6}$烷基，或氨基酸；

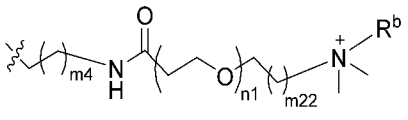
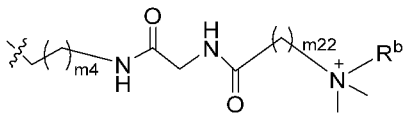
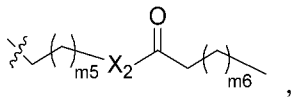
$R^{bb}$选自 $C_{1-6}$烷基，，或氨基酸；

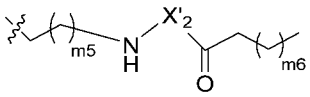
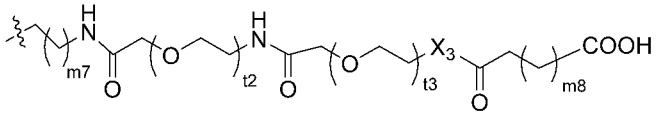
$X_2$选自氨基酸；

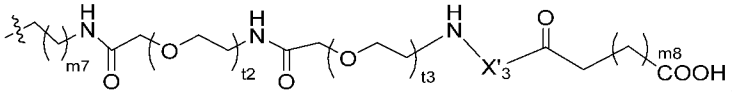
$X_3$选自氨基酸；

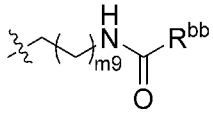
$X_4$选自氨基酸；

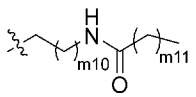
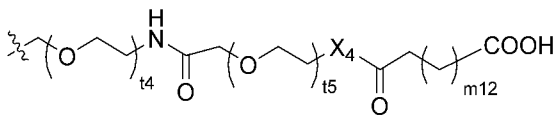
优选地，$R^4$选自 H，$C_{1-6}$烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

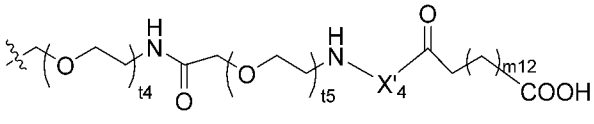
，，，

，，

或氨基酸；

$R^b$选自 H，$C_{1-6}$烷基，或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$选自 $C_{1-6}$烷基，，，

或氨基酸；

$X_2$选自氨基酸；

$X'_2$选自氨基酸；

$X_3$选自氨基酸；

$X'_3$选自氨基酸；

$X_4$选自氨基酸；

$X'_4$选自氨基酸；

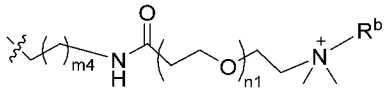
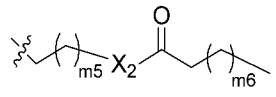
n1 选自 0-12 的整数；

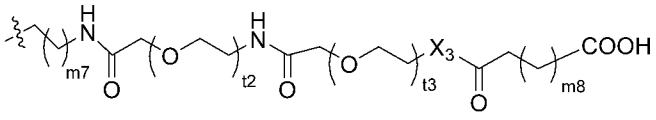
t2~t5 各自独立地选自 0-12 的整数；

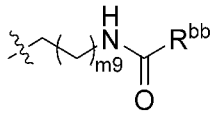
m4~m12 各自独立地选自 0-24 的整数；

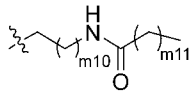
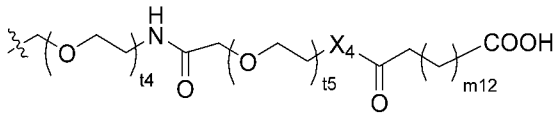
m22 选自 0-24 的整数；

和/或，

$R^5$选自 H，$C_{1-6}$烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

或氨基酸；

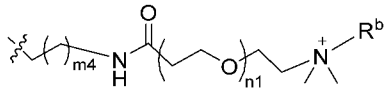
$R^b$选自 H， $C_{1-6}$烷基，或氨基酸；

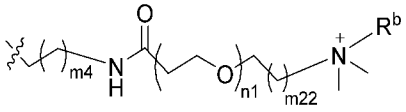
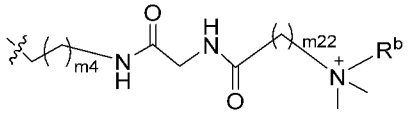
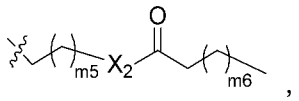
$R^{bb}$选自 $C_{1-6}$烷基，，或氨基酸；

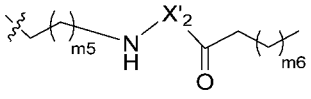
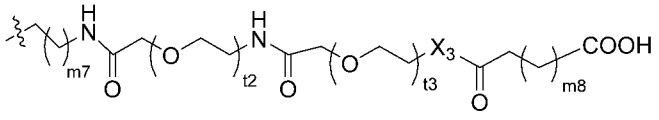
$X_2$选自氨基酸；

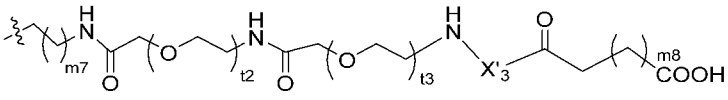
$X_3$选自氨基酸；

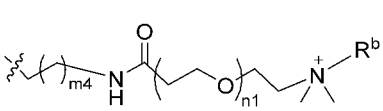
$X_4$选自氨基酸；

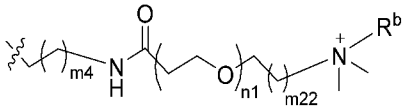
优选地，$R^5$选自 H，$C_{1-6}$烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

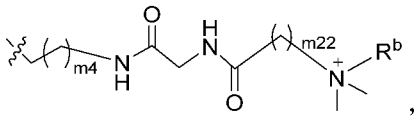
，，，

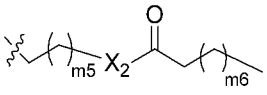
，，

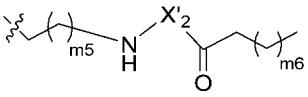

或氨基酸，进一步优选地，选自

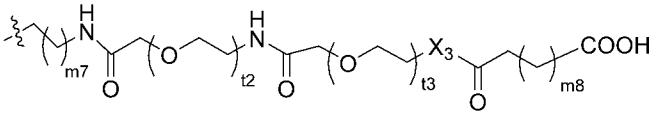

，

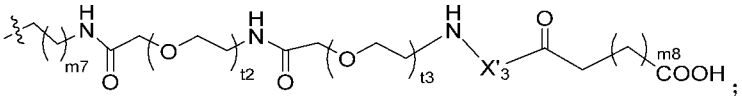

，

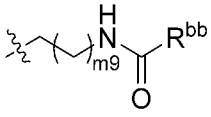

，

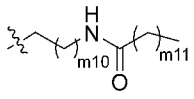
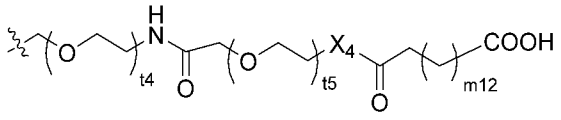

，

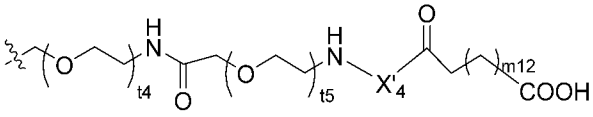

，


，


；

$R^b$ 选自 H，$C_{1\text{-}6}$ 烷基，
或氨基酸，所述烷基可以进一步被羟基或烷氧基取代；

$R^{bb}$ 选自 $C_{1\text{-}6}$ 烷基，
，
，


或氨基酸；

$X_2$ 选自氨基酸；

$X'_2$ 选自氨基酸；

$X_3$ 选自氨基酸；

$X'_3$ 选自氨基酸；

$X_4$ 选自氨基酸；

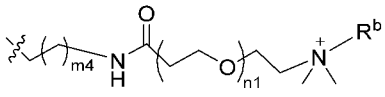
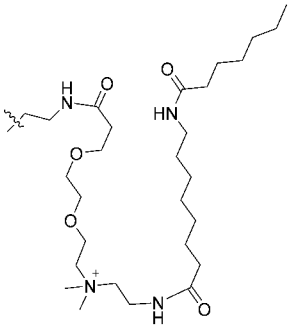
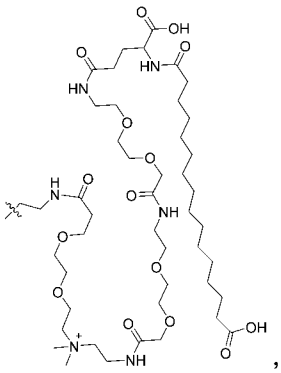
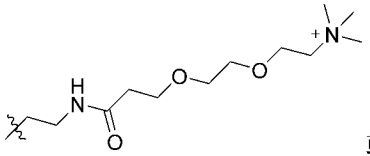
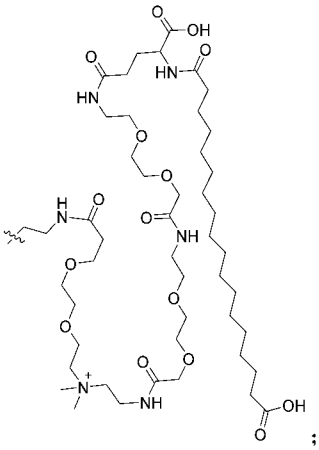
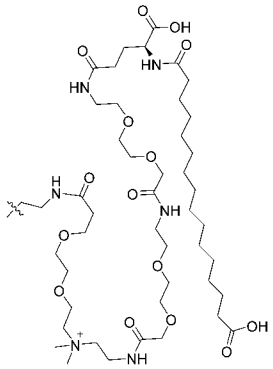
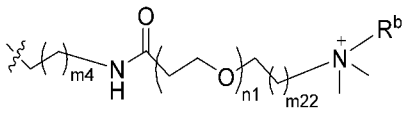
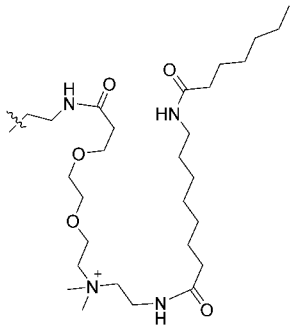
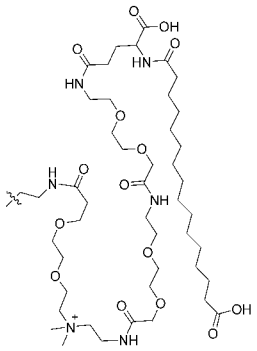
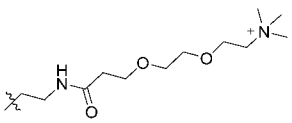
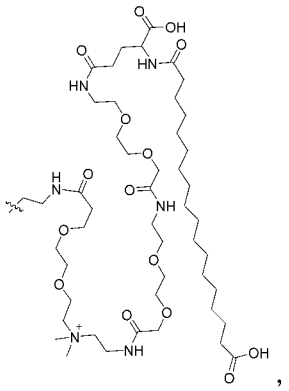
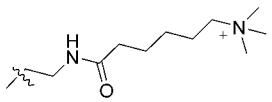
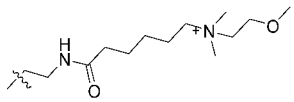
$X'_4$ 选自氨基酸；

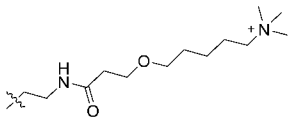
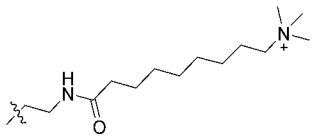
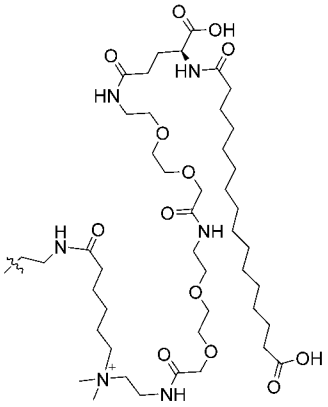
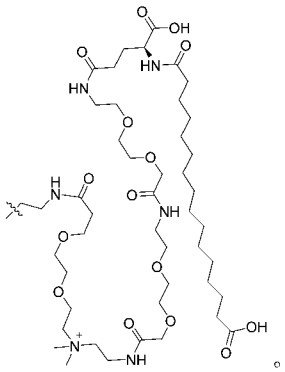
n1 选自 0-12 的整数；

t2~t5 各自独立地选自 0-12 的整数；

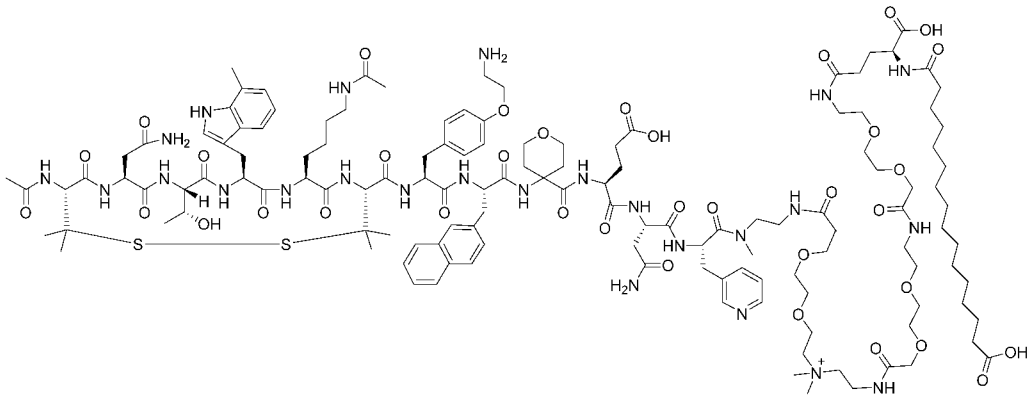
m4~m12 各自独立地选自 0-24 的整数；

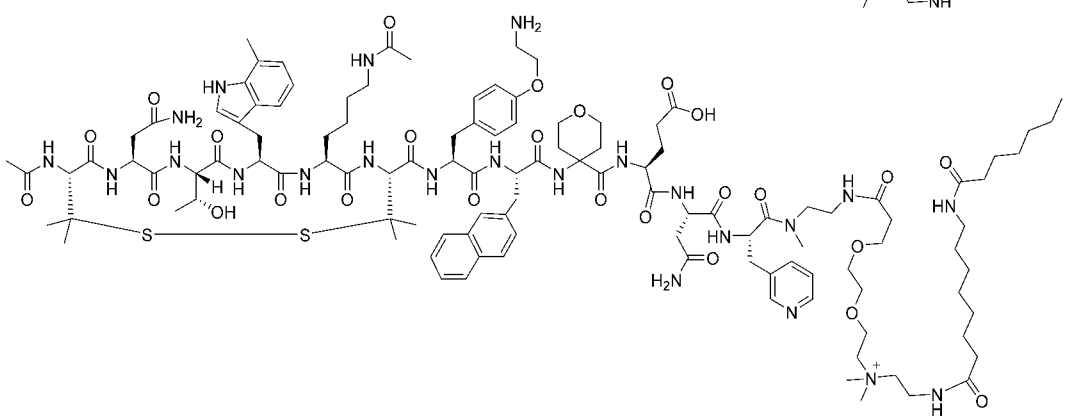
m22 选自 0-24 的整数；

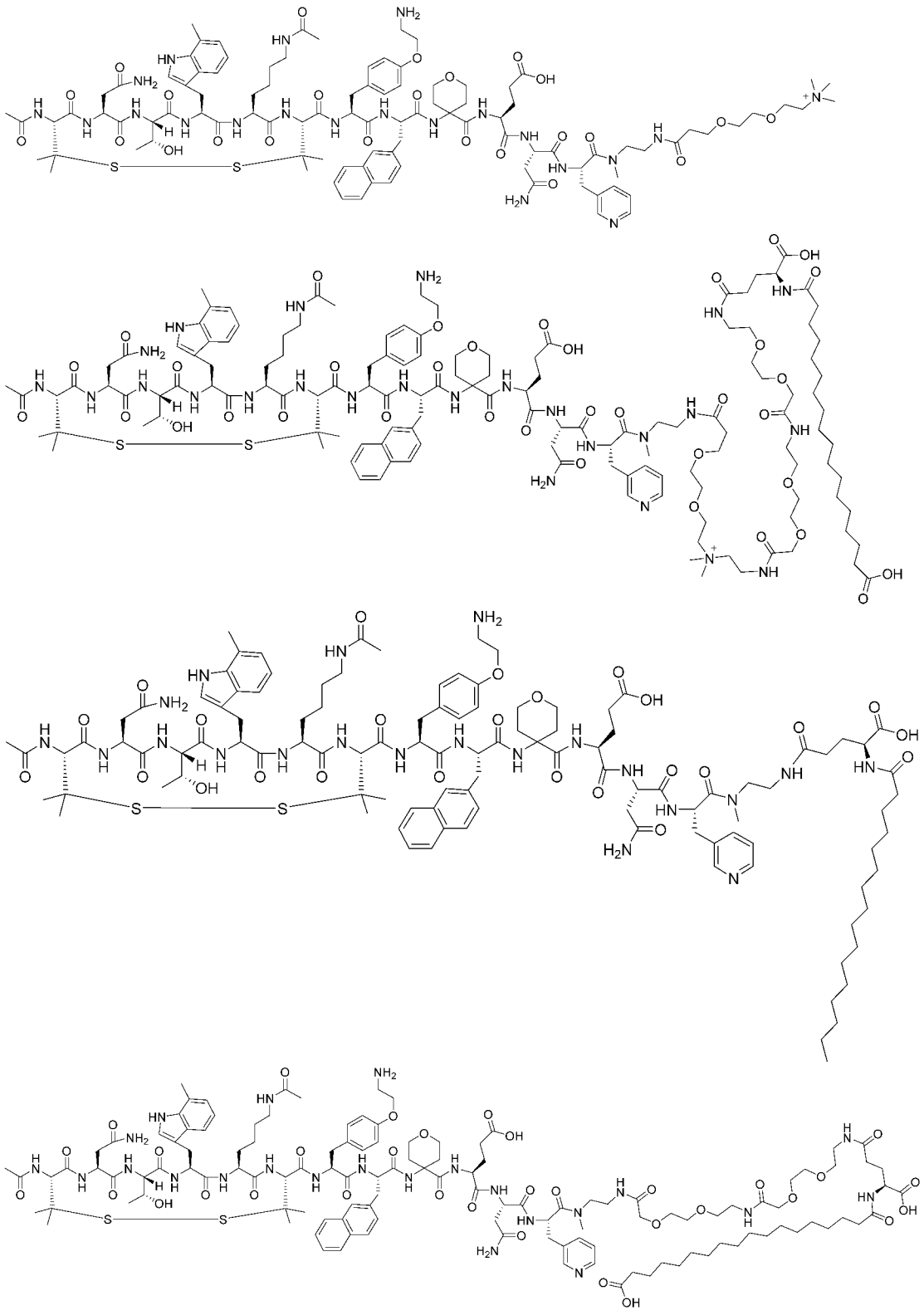
优选地， 选自 ，， 或 ；优选自 ； 选自 ，，，，，，

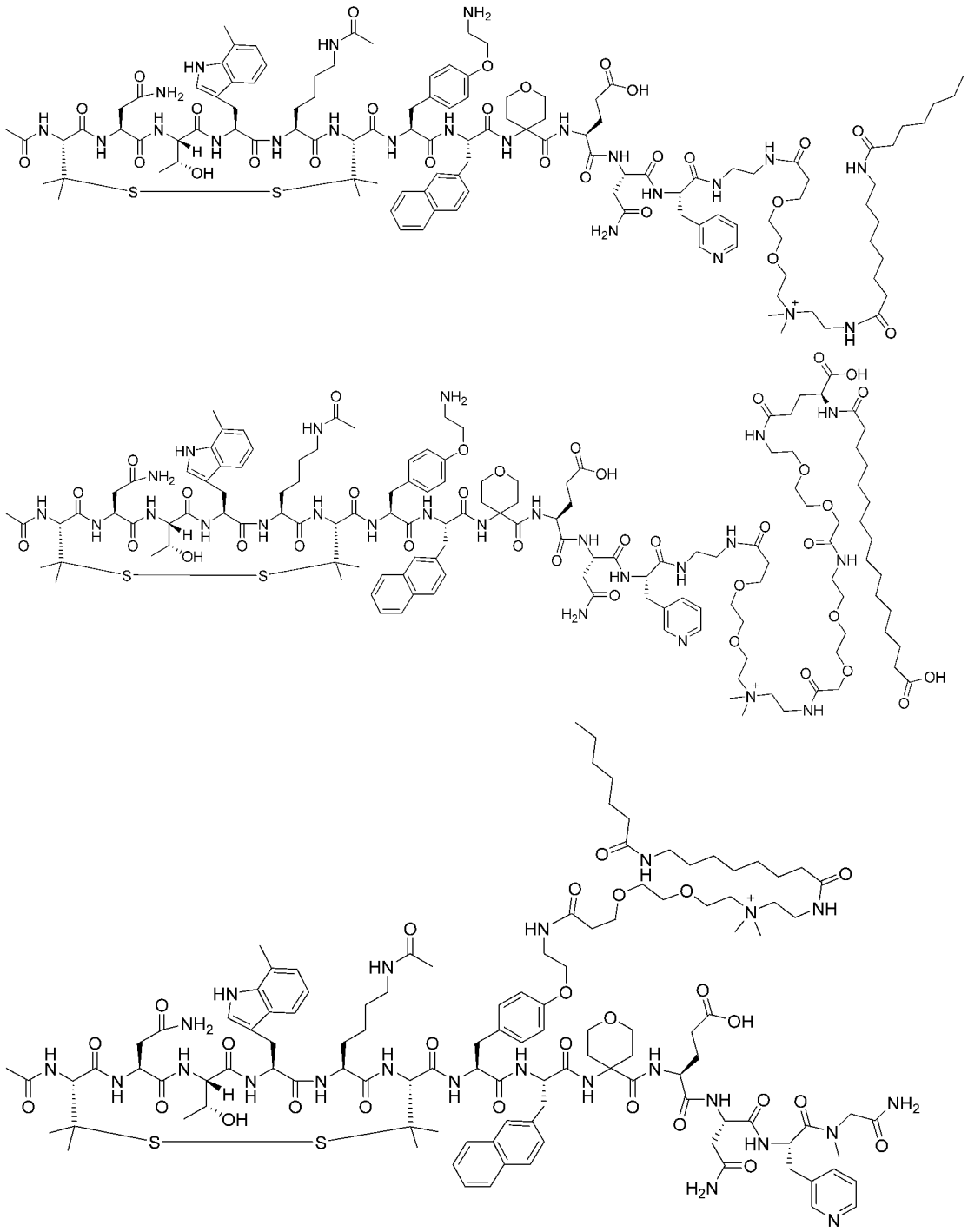

，
或
；优选自
。

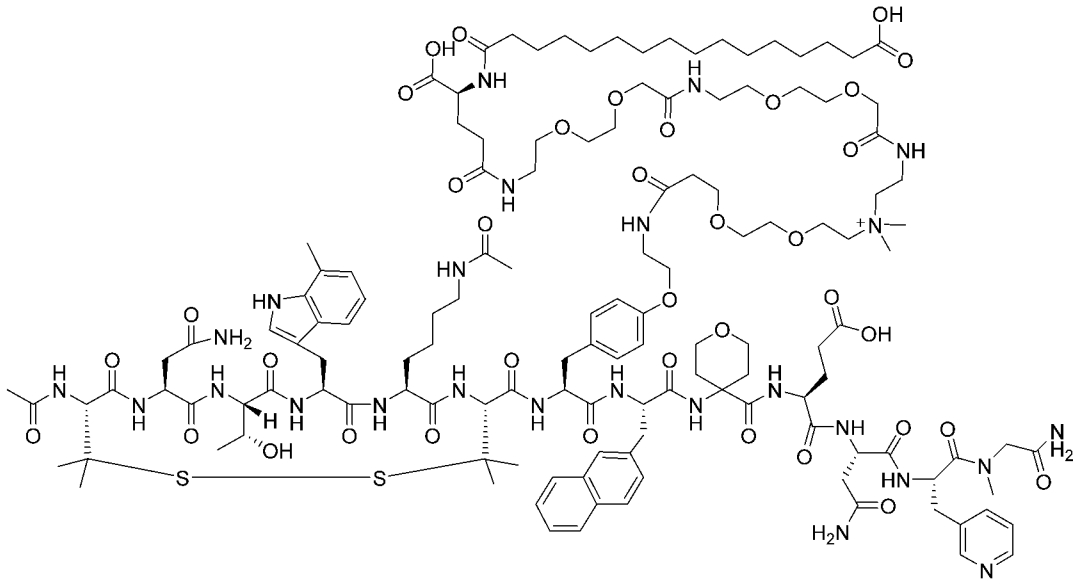
9. 如下化合物、其立体异构体或其药学上可接受盐，其特征在于，选自如下化合物：

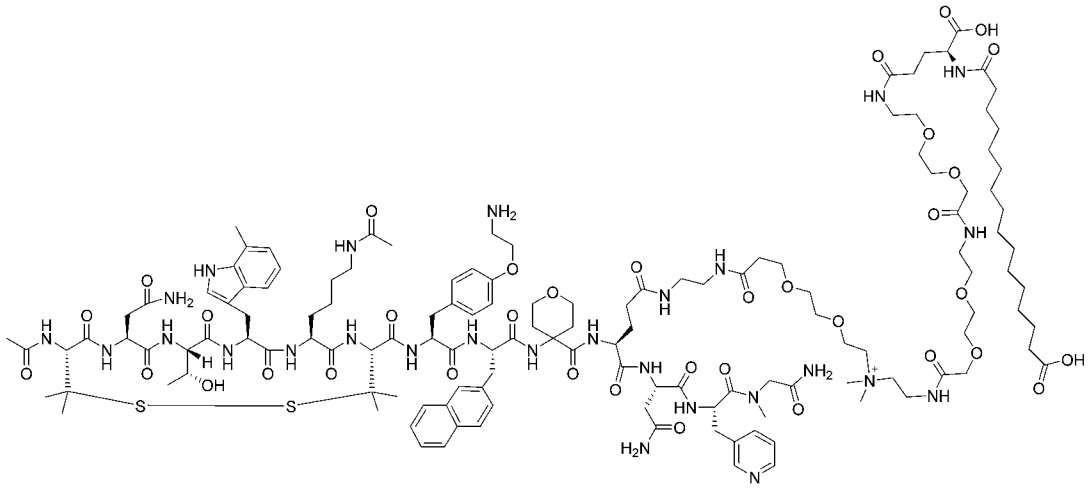


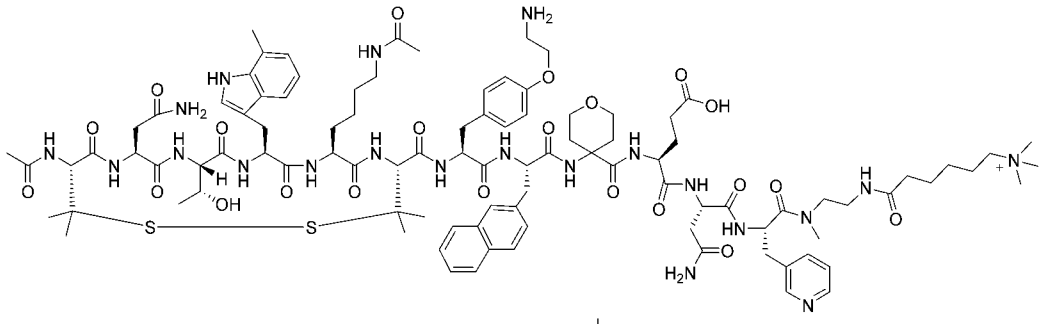


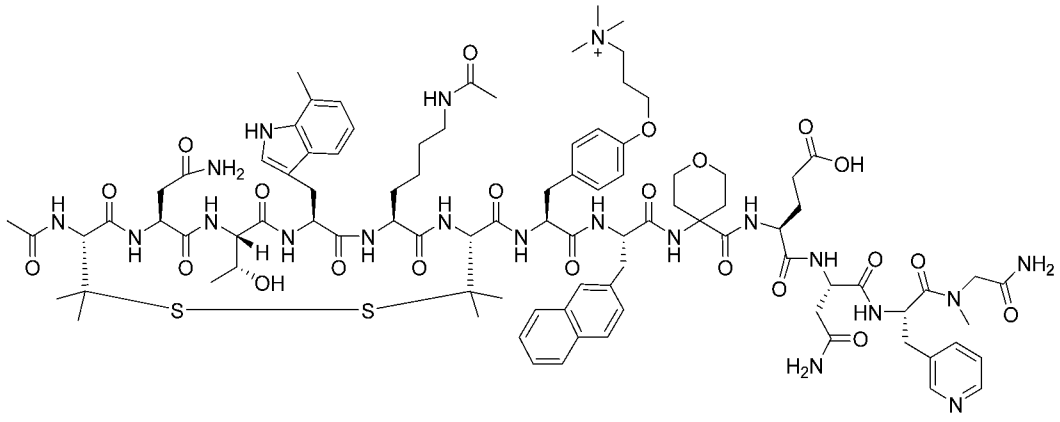


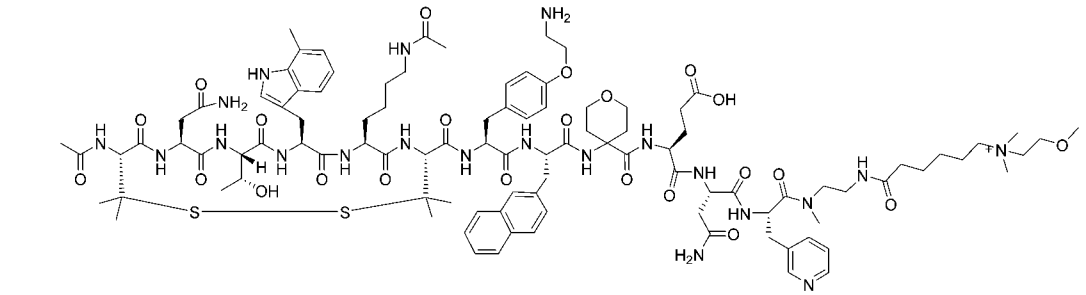


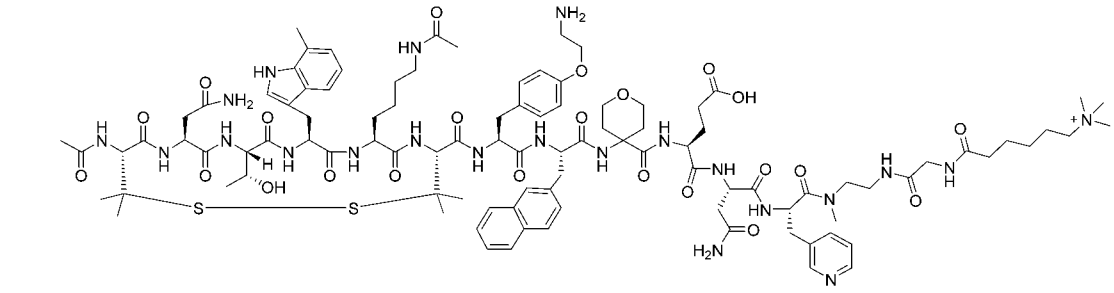


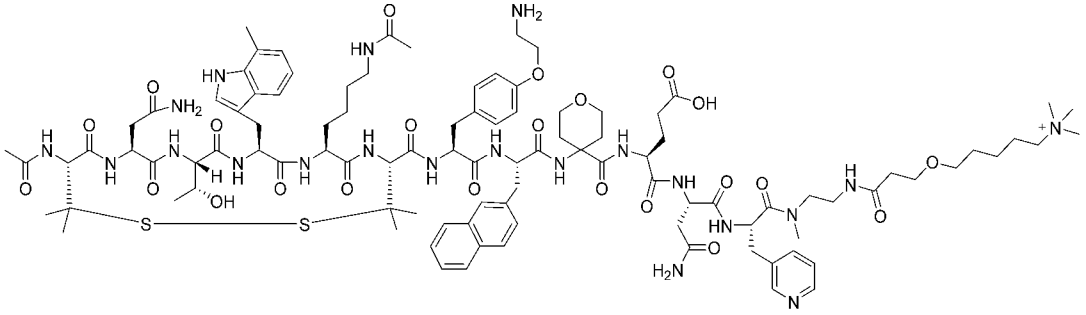


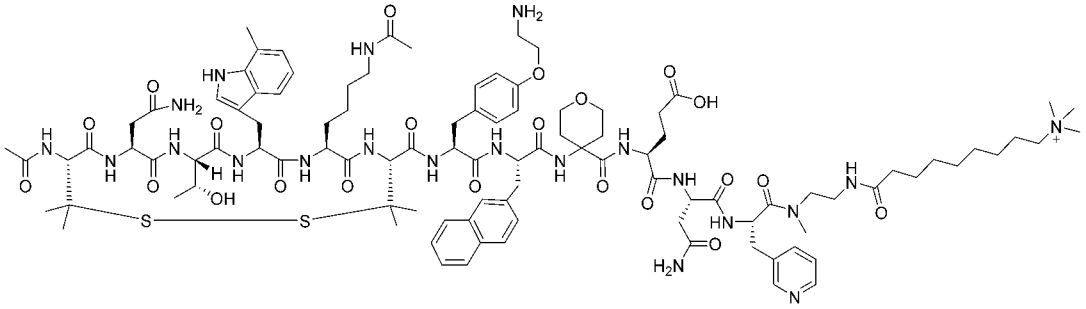


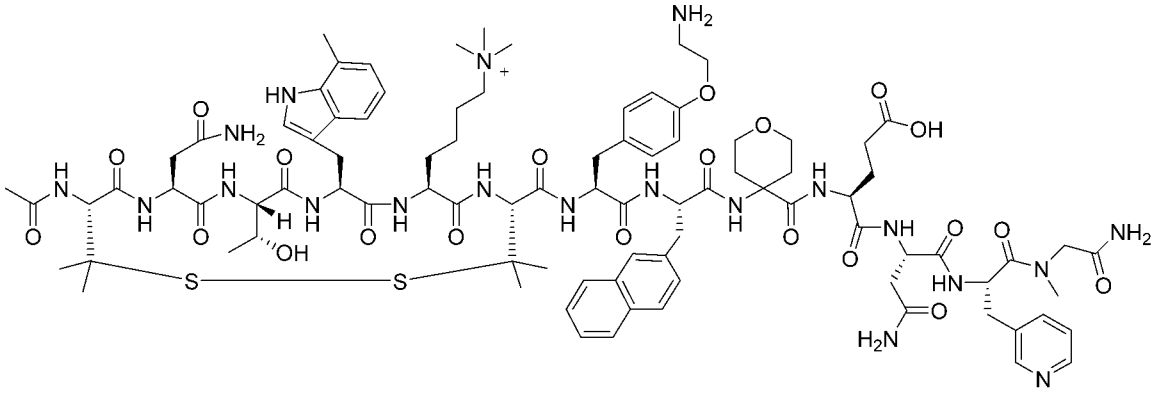


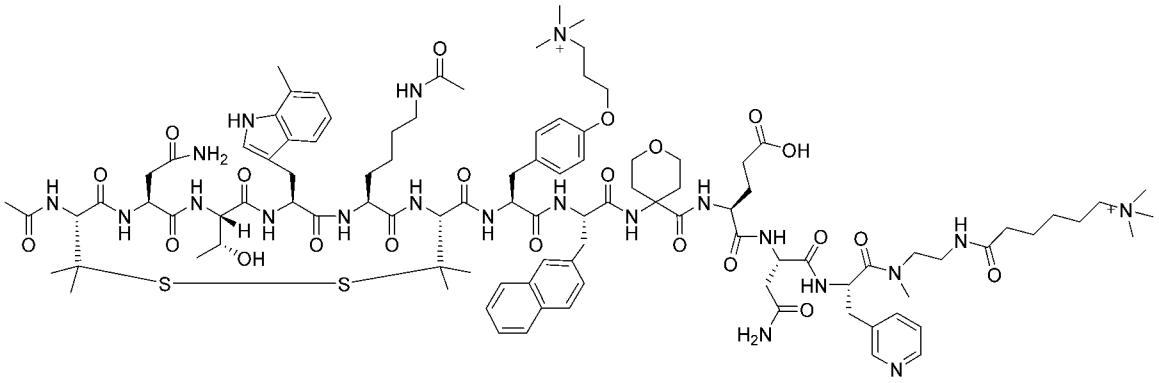


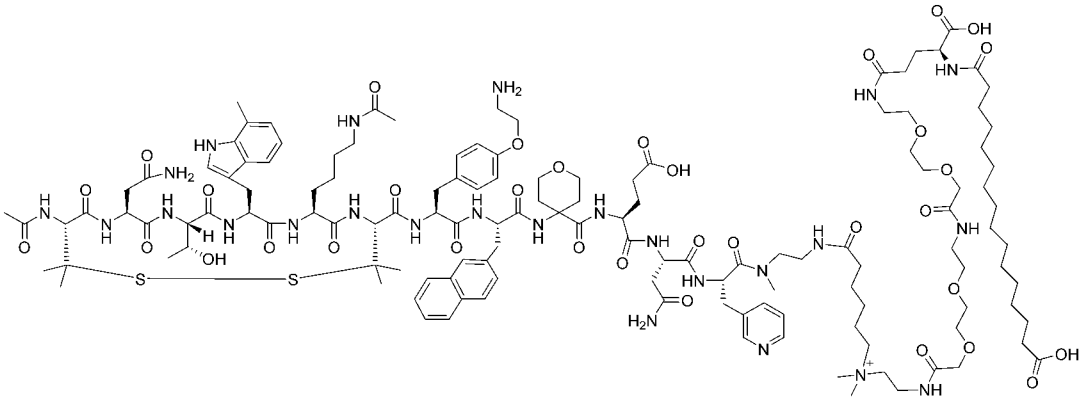


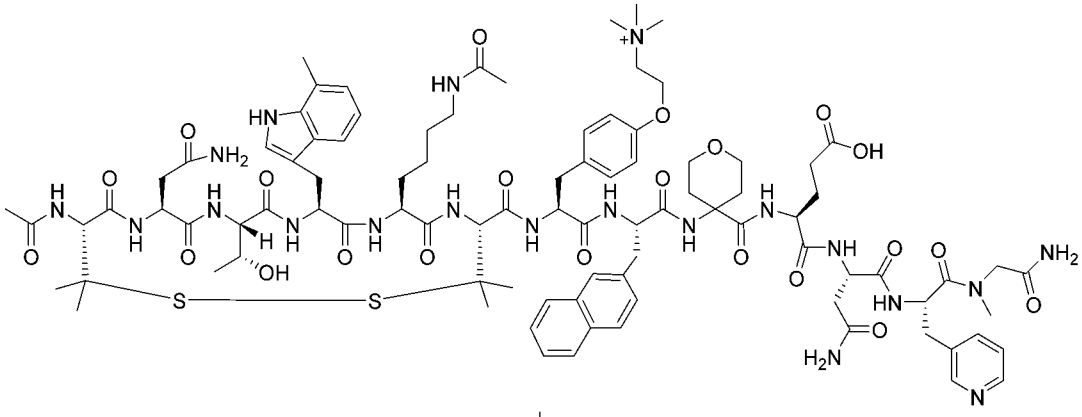


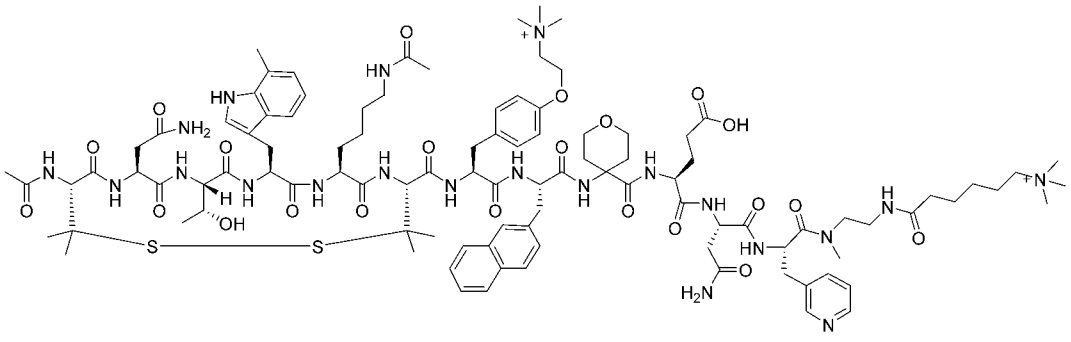


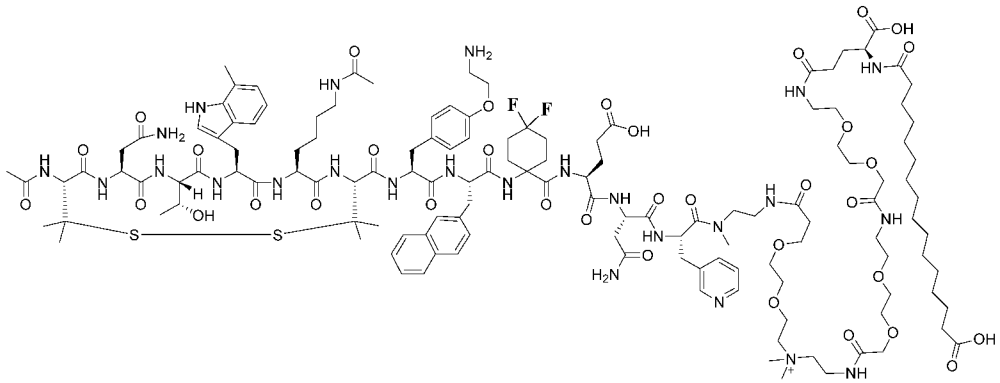


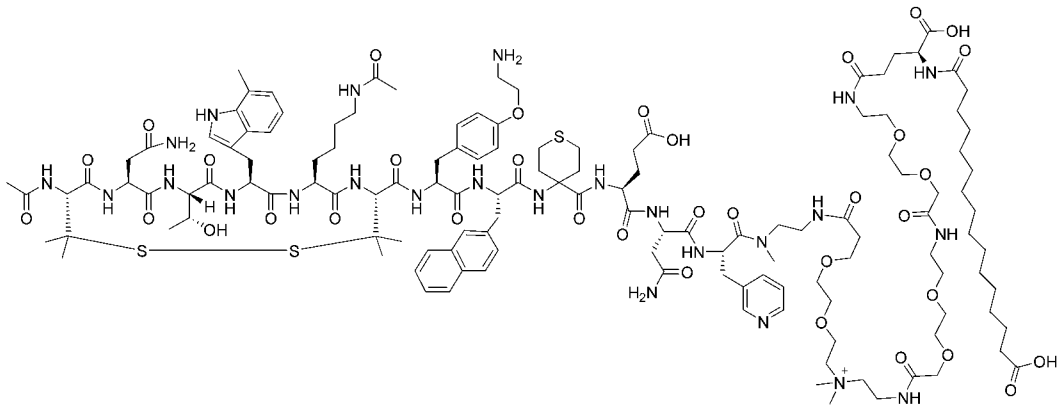


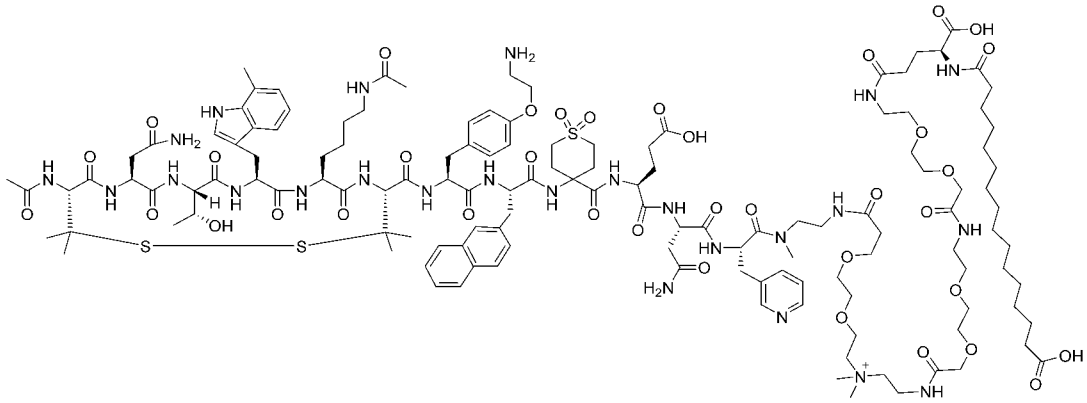


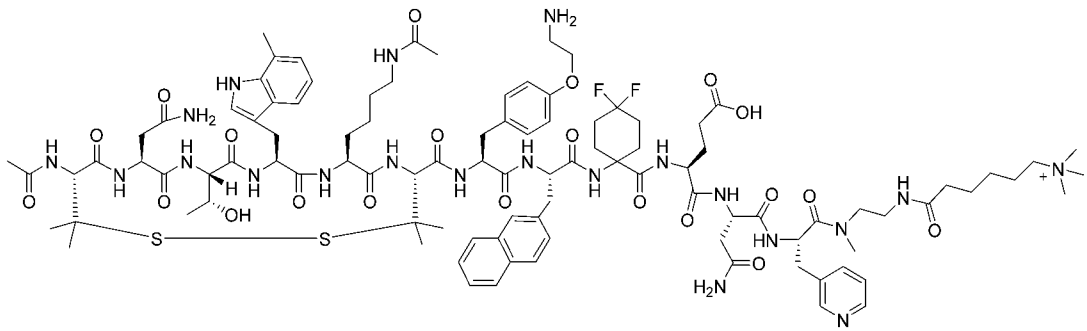


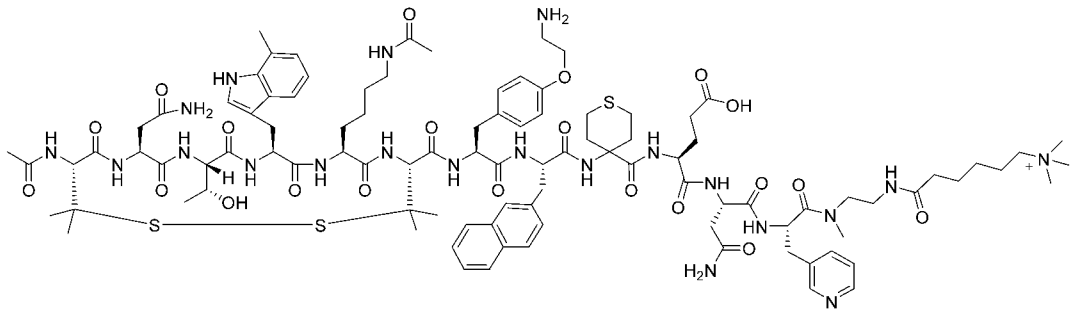




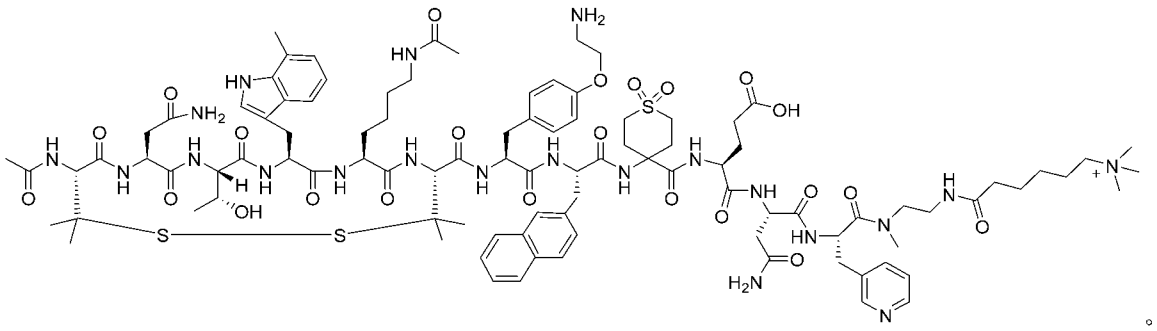








或



。

10. 制备权利要求 1-9 任一项所述化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐的方法，其特征在于，基于固相或液相合成；

优选地，所述合成方法包括：

1）基于固相合成方法，合成树脂肽；

2）将步骤 1）得到的树脂肽进行切割，得到多肽中间体；

3）多肽中间体与侧链进行缩合反应；

4）将步骤 3）得到的肽段脱除保护基后，成环得到终产物；

进一步优选地，所述合成方法包括：

1）基于 Fmoc 方法的固相合成方法，合成树脂肽，乙酸酐封端；

2）将步骤 1）得到的树脂肽进行切割，得到多肽中间体；

3）多肽中间体与侧链采用偶联剂进行缩合反应；

4）将步骤 3）得到的肽段脱除保护基后，通过二硫键氧化成环得到终产物。

11. 一种药物组合物，其包括治疗有效剂量的权利要求 1-9 任一项所述化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

12. 根据权利要求 1-9 任一项所述化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，或权利要求 11 所述的药物组合物在制备 IL-23R 抑制剂药物中的应用。

13. 根据权利要求 1-9 任一项所述化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，或权利要求 11 所述的药物组合物在制备治疗炎症性、自身免疫疾病和癌症，如炎症性肠病(IBD)、溃疡性结肠炎、克隆氏病、乳糜泻(非热带性口炎性腹泻)、与血清阴性关节病相关的肠病、显微镜下结肠炎、胶原性结肠炎、嗜酸性球性胃肠炎、与放射性疗法或化学疗法相关的结肠炎、与如白血球黏附缺乏症-1 的先天性免疫病症相关的结肠炎、慢性肉芽肿病、1b 型肝糖贮积病、赫曼斯基-普拉克症候群、薛迪克-东氏症候群和韦-奥二氏症候群、在直肠结肠切除术和回肠肛管吻合术之后造成的结肠袋炎、胃肠癌、胰脏炎、胰岛素依赖型糖尿病、乳房炎、胆囊炎、胆管炎、胆管周围炎、慢性支气管炎、慢性鼻窦炎、哮喘、牛皮癣、牛皮癣性关节炎、肠易激综合症(IBS)、多发性硬化(MS)、银屑病、银屑病关节炎、类风

湿性关节炎、寻常性天疱疮、器官移植排斥、克隆病、系统性红斑狼疮(SLE)或糖尿病疾病药物中的应用；优选炎症性肠病(IBD)、类风湿性关节炎或银屑病。

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
**PCT/CN2023/135637**

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K7/64(2006.01)i; C07K1/00(2006.01)i; A61P1/00(2006.01)i; A61P11/00(2006.01)i; A61P17/06(2006.01)i; A61P19/02(2006.01)i; A61P35/00(2006.01)i; A61P37/00(2006.01)i; A61K38/00(2006.01)i; A61K38/12(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC:C07K,A61P,A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

DWPI, VEN, CNABS, CNTXT, ENTXT, PUBMED, ISI Web of Science, CNKI, 万方数据知识服务平台, Wanfang Data Knowledge Service Platform, 百度学术, BAIDU SCHOLAR, STN: 通式(I), 白介素23, 抑制剂, 拮抗, 拮抗物, IL23, IL23R, IL-23, +NTWK+, inhibitor?, 环肽, cyclic-peptide, pen-asn-thr-trp-lys, 2nal, 3-萘基-L-丙氨酸, thp等.

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X | CN 115298196 A (CENTOCOR ORTHO BIOTECH, INC.; PROTAGONIST THERAPEUTICS INC.) 04 November 2022 (2022-11-04)<br>abstract, claims 176 and 179, and description, paragraphs [1003], [1029], [1131]-[1143], [1623], and [1640], SEQ ID NO:104, 121, and tables 1, 2, 4, and 8 | 1-13 |
| X | WO 2022109328 A1 (JANSSEN PHARMACEUTICA NV; PROTAGONIST THERAPEUTICS INC.) 27 May 2022 (2022-05-27)<br>abstract, claims 1, 2, and 70, and description, paragraph [0436], and SEQ ID NO:1 | 1, 3, 4, 7, 8, 10-13 |
| A | CN 107206254 A (PROTAGONIST THERAPEUTICS INC.) 26 September 2017 (2017-09-26)<br>abstract, and claims 11, 16, and 41 | 1-13 |
| A | CN 113563423 A (PROTAGONIST THERAPEUTICS INC.) 29 October 2021 (2021-10-29)<br>abstract, and claims 16 and 41 | 1-13 |
| A | CN 115279782 A (CENTOCOR ORTHO BIOTECH, INC.; PROTAGONIST THERAPEUTICS INC.) 01 November 2022 (2022-11-01)<br>abstract, and claims 101-118 | 1-13 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report |
|---|---|
| **06 March 2024** | **16 March 2024** |

| Name and mailing address of the ISA/CN | Authorized officer |
|---|---|
| **China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)**<br>**China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088** | Telephone No. |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**
**Information on patent family members**

International application No.
**PCT/CN2023/135637**

| Patent document cited in search report | Publication date (day/month/year) | Patent family member(s) | Publication date (day/month/year) |
|---|---|---|---|
| CN 115298196 A | 04 November 2022 | BR 112022013957 A2 | 11 October 2022 |
| | | AR 121070 A1 | 13 April 2022 |
| | | KR 20220141807 A | 20 October 2022 |
| | | PE 20230370 A1 | 06 March 2023 |
| | | AU 2021207653 A1 | 04 August 2022 |
| | | JP 2023139158 A | 03 October 2023 |
| | | MX 2022008741 A | 03 October 2022 |
| | | TW 202140517 A | 01 November 2021 |
| | | CL 2022001893 A1 | 03 March 2023 |
| | | WO 2021146441 A1 | 22 July 2021 |
| | | CO 2022009931 A2 | 21 October 2022 |
| | | JP 2023511552 A | 20 March 2023 |
| | | DOP 2022000147 A | 15 January 2023 |
| | | CA 3167751 A1 | 22 July 2021 |
| | | EP 4090670 A1 | 23 November 2022 |
| | | IL 294680 A | 01 September 2022 |
| | | JOP 20220169 A1 | 30 January 2023 |
| | | US 2021261622 A1 | 26 August 2021 |
| | | US 11845808 B2 | 19 December 2023 |
| | | CR 20220332 A | 28 November 2022 |
| | | ECSP 22063238 A | 30 September 2022 |
| WO 2022109328 A1 | 27 May 2022 | CO 2023007172 A2 | 20 June 2023 |
| | | CA 3202226 A1 | 27 May 2022 |
| | | TW 202237167 A | 01 October 2022 |
| | | CL 2023001417 A1 | 15 December 2023 |
| | | AU 2021383828 A1 | 06 July 2023 |
| | | EP 4247403 A1 | 27 September 2023 |
| | | IL 302996 A | 01 July 2023 |
| | | UY 39527 A | 30 June 2022 |
| | | US 2022177532 A1 | 09 June 2022 |
| | | DOP 2023000091 A | 29 December 2023 |
| | | KR 20230110570 A | 24 July 2023 |
| | | JP 2023545212 A | 26 October 2023 |
| | | JP 7397239 B2 | 12 December 2023 |
| CN 107206254 A | 26 September 2017 | US 2021363185 A1 | 25 November 2021 |
| | | US 11884748 B2 | 30 January 2024 |
| | | JP 2017530090 A | 12 October 2017 |
| | | SG 10201810154 WA | 28 December 2018 |
| | | US 2018079783 A1 | 22 March 2018 |
| | | US 10023614 B2 | 17 July 2018 |
| | | CA 2955460 A1 | 21 January 2016 |
| | | BR 112017001010 A2 | 14 November 2017 |
| | | US 2018022778 A1 | 25 January 2018 |
| | | US 10196424 B2 | 05 February 2019 |
| | | US 2018079782 A1 | 22 March 2018 |
| | | US 10035824 B2 | 31 July 2018 |
| | | SG 11201700327 WA | 27 February 2017 |
| | | KR 20170033372 A | 24 March 2017 |
| | | KR 102482790 B1 | 29 December 2022 |
| | | US 2016145306 A1 | 26 May 2016 |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**
**Information on patent family members**

International application No.
**PCT/CN2023/135637**

| Patent document cited in search report | | | Publication date (day/month/year) | Patent family member(s) | | | Publication date (day/month/year) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | US | 9624268 | B2 | 18 April 2017 |
| | | | | WO | 2016011208 | A1 | 21 January 2016 |
| | | | | JP | 2020128443 | A | 27 August 2020 |
| | | | | JP | 6995933 | B2 | 21 February 2022 |
| | | | | US | 2019337983 | A1 | 07 November 2019 |
| | | | | US | 10941183 | B2 | 09 March 2021 |
| | | | | IL | 285614 | A | 30 September 2021 |
| | | | | AU | 2015289642 | A1 | 02 February 2017 |
| | | | | AU | 2015289642 | B2 | 25 February 2021 |
| | | | | RU | 2017105115 | A | 17 August 2018 |
| | | | | RU | 2017105115 | A3 | 21 January 2019 |
| | | | | RU | 2736637 | C2 | 19 November 2020 |
| | | | | RU | 2736637 | C9 | 08 February 2021 |
| | | | | EP | 3169403 | A1 | 24 May 2017 |
| | | | | EP | 3169403 | A4 | 24 January 2018 |
| | | | | EP | 3169403 | B1 | 14 February 2024 |
| | | | | IL | 250111 | A0 | 30 March 2017 |
| | | | | IL | 250111 | B | 31 August 2021 |
| CN | 113563423 | A | 29 October 2021 | None | | | |
| CN | 115279782 | A | 01 November 2022 | EP | 4090669 | A1 | 23 November 2022 |
| | | | | JP | 2023511551 | A | 20 March 2023 |
| | | | | WO | 2021146454 | A1 | 22 July 2021 |
| | | | | US | 2022402983 | A1 | 22 December 2022 |
| | | | | KR | 20220141808 | A | 20 October 2022 |
| | | | | BR | 112022014011 | A2 | 20 December 2022 |
| | | | | AU | 2021209086 | A1 | 04 August 2022 |
| | | | | CA | 3168135 | A1 | 22 July 2021 |
| | | | | MX | 2022008740 | A | 23 September 2022 |

# 国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2023/135637

A. 主题的分类

C07K7/64(2006.01)i；C07K1/00(2006.01)i；A61P1/00(2006.01)i；A61P11/00(2006.01)i；A61P17/06(2006.01)i；A61P19/02(2006.01)i；A61P35/00(2006.01)i；A61P37/00(2006.01)i；A61K38/00(2006.01)i；A61K38/12(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC:C07K,A61P,A61K

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用））

DWPI,VEN,CNABS,CNTXT,ENTXT,PUBMED,ISI Web of Science,CNKI,万方数据知识服务平台,百度学术,STN(和检索词):通式（I），白介素23,抑制剂,拮抗,拮抗物, IL23, IL23R, IL-23, +NTWK+, inhibitor?，环肽，cyclic-peptide，pen-asn-thr-trp-lys，2nal，3-萘基-L-丙氨酸，thp等。

C. 相关文件

| 类 型* | 引用文件，必要时，指明相关段落 | 相关的权利要求 |
|---|---|---|
| X | CN 115298196 A (詹森生物科技公司 领导医疗有限公司) 2022年11月4日 (2022 - 11 - 04)<br>摘要，权利要求176，179，说明书第[1003]，[1029]，[1131]-[1143]，[1623]，[1640]段，SEQ ID NO:104，121，表1，2，4，8 | 1-13 |
| X | WO 2022109328 A1 (JANSSEN PHARMACEUTICA NV;PROTAGONIST THERAPEUTICS INC;) 2022年5月27日 (2022 - 05 - 27)<br>摘要，权利要求1，2，70，说明书第[0436]段,SEQ ID NO:1 | 1，3，4，7，8，10-13 |
| A | CN 107206254 A (领导医疗有限公司) 2017年9月26日 (2017 - 09 - 26)<br>摘要，权利要求11，16，41 | 1-13 |
| A | CN 113563423 A (领导医疗有限公司) 2021年10月29日 (2021 - 10 - 29)<br>摘要，权利要求16，41 | 1-13 |
| A | CN 115279782 A (詹森生物科技公司 领导医疗有限公司) 2022年11月1日 (2022 - 11 - 01)<br>摘要，权利要求101-118 | 1-13 |

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“D” 申请人在国际申请中引证的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

| 国际检索实际完成的日期 | 国际检索报告邮寄日期 |
|---|---|
| 2024年3月6日 | 2024年3月16日 |
| ISA/CN的名称和邮寄地址<br>中国国家知识产权局<br>中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 | 受权官员<br>张宁<br>电话号码 (+86) 010-62411548 |

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2023/135637

| 检索报告引用的专利文件 | | | 公布日<br>(年/月/日) | 同族专利 | | | 公布日<br>(年/月/日) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CN | 115298196 | A | 2022年11月4日 | BR | 112022013957 | A2 | 2022年10月11日 |
| | | | | AR | 121070 | A1 | 2022年4月13日 |
| | | | | KR | 20220141807 | A | 2022年10月20日 |
| | | | | PE | 20230370 | A1 | 2023年3月6日 |
| | | | | AU | 2021207653 | A1 | 2022年8月4日 |
| | | | | JP | 2023139158 | A | 2023年10月3日 |
| | | | | MX | 2022008741 | A | 2022年10月3日 |
| | | | | TW | 202140517 | A | 2021年11月1日 |
| | | | | CL | 2022001893 | A1 | 2023年3月3日 |
| | | | | WO | 2021146441 | A1 | 2021年7月22日 |
| | | | | CO | 2022009931 | A2 | 2022年10月21日 |
| | | | | JP | 2023511552 | A | 2023年3月20日 |
| | | | | DOP | 2022000147 | A | 2023年1月15日 |
| | | | | CA | 3167751 | A1 | 2021年7月22日 |
| | | | | EP | 4090670 | A1 | 2022年11月23日 |
| | | | | IL | 294680 | A | 2022年9月1日 |
| | | | | JOP | 20220169 | A1 | 2023年1月30日 |
| | | | | US | 2021261622 | A1 | 2021年8月26日 |
| | | | | US | 11845808 | B2 | 2023年12月19日 |
| | | | | CR | 20220332 | A | 2022年11月28日 |
| | | | | ECSP | 22063238 | A | 2022年9月30日 |
| WO | 2022109328 | A1 | 2022年5月27日 | CO | 2023007172 | A2 | 2023年6月20日 |
| | | | | CA | 3202226 | A1 | 2022年5月27日 |
| | | | | TW | 202237167 | A | 2022年10月1日 |
| | | | | CL | 2023001417 | A1 | 2023年12月15日 |
| | | | | AU | 2021383828 | A1 | 2023年7月6日 |
| | | | | EP | 4247403 | A1 | 2023年9月27日 |
| | | | | IL | 302996 | A | 2023年7月1日 |
| | | | | UY | 39527 | A | 2022年6月30日 |
| | | | | US | 2022177532 | A1 | 2022年6月9日 |
| | | | | DOP | 2023000091 | A | 2023年12月29日 |
| | | | | KR | 20230110570 | A | 2023年7月24日 |
| | | | | JP | 2023545212 | A | 2023年10月26日 |
| | | | | JP | 7397239 | B2 | 2023年12月12日 |
| CN | 107206254 | A | 2017年9月26日 | US | 2021363185 | A1 | 2021年11月25日 |
| | | | | US | 11884748 | B2 | 2024年1月30日 |
| | | | | JP | 2017530090 | A | 2017年10月12日 |
| | | | | SG | 10201810154 | WA | 2018年12月28日 |
| | | | | US | 2018079783 | A1 | 2018年3月22日 |
| | | | | US | 10023614 | B2 | 2018年7月17日 |
| | | | | CA | 2955460 | A1 | 2016年1月21日 |
| | | | | BR | 112017001010 | A2 | 2017年11月14日 |
| | | | | US | 2018022778 | A1 | 2018年1月25日 |
| | | | | US | 10196424 | B2 | 2019年2月5日 |
| | | | | US | 2018079782 | A1 | 2018年3月22日 |
| | | | | US | 10035824 | B2 | 2018年7月31日 |
| | | | | SG | 11201700327 | WA | 2017年2月27日 |
| | | | | KR | 20170033372 | A | 2017年3月24日 |
| | | | | KR | 102482790 | B1 | 2022年12月29日 |
| | | | | US | 2016145306 | A1 | 2016年5月26日 |

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2023/135637

| 检索报告引用的专利文件 | | | 公布日<br>(年/月/日) | 同族专利 | | | 公布日<br>(年/月/日) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | US | 9624268 | B2 | 2017年4月18日 |
| | | | | WO | 2016011208 | A1 | 2016年1月21日 |
| | | | | JP | 2020128443 | A | 2020年8月27日 |
| | | | | JP | 6995933 | B2 | 2022年2月21日 |
| | | | | US | 2019337983 | A1 | 2019年11月7日 |
| | | | | US | 10941183 | B2 | 2021年3月9日 |
| | | | | IL | 285614 | A | 2021年9月30日 |
| | | | | AU | 2015289642 | A1 | 2017年2月2日 |
| | | | | AU | 2015289642 | B2 | 2021年2月25日 |
| | | | | RU | 2017105115 | A | 2018年8月17日 |
| | | | | RU | 2017105115 | A3 | 2019年1月21日 |
| | | | | RU | 2736637 | C2 | 2020年11月19日 |
| | | | | RU | 2736637 | C9 | 2021年2月8日 |
| | | | | EP | 3169403 | A1 | 2017年5月24日 |
| | | | | EP | 3169403 | A4 | 2018年1月24日 |
| | | | | EP | 3169403 | B1 | 2024年2月14日 |
| | | | | IL | 250111 | A0 | 2017年3月30日 |
| | | | | IL | 250111 | B | 2021年8月31日 |
| CN | 113563423 | A | 2021年10月29日 | | 无 | | |
| CN | 115279782 | A | 2022年11月1日 | EP | 4090669 | A1 | 2022年11月23日 |
| | | | | JP | 2023511551 | A | 2023年3月20日 |
| | | | | WO | 2021146454 | A1 | 2021年7月22日 |
| | | | | US | 2022402983 | A1 | 2022年12月22日 |
| | | | | KR | 20220141808 | A | 2022年10月20日 |
| | | | | BR | 112022014011 | A2 | 2022年12月20日 |
| | | | | AU | 2021209086 | A1 | 2022年8月4日 |
| | | | | CA | 3168135 | A1 | 2021年7月22日 |
| | | | | MX | 2022008740 | A | 2022年9月23日 |